

RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
UNIVERSITÉ KASDI MERBAH - OUARGLA
FACULTÉ DES MATHÉMATIQUES ET SCIENCES DE LA MATIÈRE
DÉPARTEMENT DE CHIMIE



N° d'ordre : Doc/ /2021

THÈSE
POUR OBTENIR LE DIPLÔME DE
DOCTEUR EN SCIENCES

SPÉCIALITÉ : Chimie
OPTION : Chimie organique

PAR :

M^{me} BENGUECHOUA Mebarka Imane

**Etude de l'activité antioxydante des extraits des feuilles
de Pistachier de l'Atlas (*Pistacia atlantica. Desf*)**

Soutenue devant le jury composé de :

M. HADJ-MAHAMMED Mahfoud	Professeur	Université Kasdi Merbah- Ouargla	Président
M. DENDOUGUI Hocine	Professeur	Université Kasdi Merbah- Ouargla	Examineur
M. LAHRECH Mokhtar Boualem	Professeur	Université Ziane Achour- Djelfa	Examineur
M. NADJEMI Boubekour	Professeur	École Normale Supérieure Cheikh Mohamed Elbachir Elibrahimi - Kouba- Alger-	Examineur
M. YOUSFI Mohamed	Professeur	Université Amar Télidji- Laghouat	Directeur de thèse
M. SAÏDI Mokhtar	Professeur	Université Kasdi Merbah- Ouargla	Co-Directeur de thèse

Année universitaire : 2020/2021

Dédicaces

À la mémoire de ma très chère mère, qui a toujours été à mes côtés, qui m'a soutenue et encouragée à être ce que je suis, avec tant d'amour. Chaque ligne de cette thèse, chaque mot et chaque lettre t'exprime la reconnaissance, le respect, l'estime et le merci d'avoir eu une telle maman. Que Dieu le tout puissant lui accorde sa sainte miséricorde

À ma fierté et ma source de volenté, mon cher père que DIEU te garde pour nous

À mon Cher époux qui par sa compréhension, sa tendresse et ses encouragements, a soutenu sans cesse mes efforts durant la réalisation de ce travail

À mes Chers beaux-parents, pour leur amour et leurs soutiens précieux

À mon Cher frère et mes Chères sœurs sources constantes d'encouragements, de confiance et d'affection

À mes très chers Enfants

*À tous ceux qui me sont chers : grande famille et mes amies,
En témoignage de ma profonde affection*

Remerciements

En premier lieu et avant tout je tiens à remercier **DIEU** le tout puissant qui m'a donnée le courage, la patience et la force de terminer ce travail.

Les travaux présentés dans cette thèse ont été menés au laboratoire des Sciences fondamentale **LSF** de l'université Amar Telidji de Laghouat en collaboration avec le laboratoire de chimie organique et de produits naturels et agro-alimentaires **QOPNA** de l'université d'Aveiro au Portugal. Je tiens donc à remercier le professeur **Artur M S Silva**, directeur du **QOPNA** de m'avoir accueillie au sein de son laboratoire.

Je remercie du fond du cœur Monsieur le Pr **YOUSFI Mohamed**, mon directeur de thèse, et je lui adresse ma gratitude et ma profonde reconnaissance de m'avoir accueillie dans son équipe avec gentillesse et bienveillance, ainsi que pour son aide et son soutien absolu. C'était vraiment un privilège d'avoir pu bénéficier de ses conseils.

Je tiens également à remercier Monsieur le Pr **SAIDI Mokhtar de** l'université Kasdi Merbah d'Ouargla, d'avoir accepté de Co encadrer ce modeste travail.

Je tiens à remercier les membres de l'honorable jury pour m'avoir honoré en acceptant d'examiner ce modeste travail.

Il m'est agréable de remercier vivement Monsieur le Pr **GOURINE Nadhir** pour son inestimable soutien et pour le temps énorme qu'il m'a consacré pour mener à bien ce travail.

Mes sentiments de reconnaissance et mes remerciements vont également à tout le personnel des deux laboratoires **LSF** et **QOPNA** pour leurs soutiens permanents sur le plan scientifique et humain.

Mes remerciements les plus sincères à ma chère amie et sœur Dr **BOUKHALKHAL Sarah** pour son aide inestimable, Il ne sera jamais assez pour lui exprimer toute ma reconnaissance pour la confiance, le grand soutien et la disponibilité dont j'ai bénéficié auprès d'elle lors de la réalisation de ce travail.

Mes sentiments de reconnaissance et mes profonds remerciements vont également à ma famille, qui m'a soutenu continuellement tout au long de ces années de travail.

ملخص

تنتج شجرة الفستق الأطلسي (*Pistacia atlantica*) كمية هائلة من الثمار والأوراق والتانينات التي تُستخدم تقليدياً لأغراض طبية. كل هذه الأجزاء من الشجرة غنية بالمركبات الطبيعية النشطة بيولوجياً. في هذه الدراسة اهتمنا بتحديد تأثير وقت القطف على كمية الليبيدات والمركبات الفينولية لأوراق الفستق الأطلسي. حيث قمنا بتحديد تركيبة الأحماض الدهنية للزيوت المستخرجة بواسطة التحليل الكروماتوغرافي الغازي بالتزاوج مع مطياف الكتلة، وتقدير كمية التوكوفيرولات والكاروتينات والستيرولات الكلية عن طريق القياس الطيفي كما تم تقييم النشاط المضاد للأكسدة لهذه المستخلصات عن طريق اختبار β -carotène- acide linoléique و DPPH. بالإضافة إلى ذلك، تم استخلاص المركبات الفينولية وقمنا بتحديد محتوى الفينولات الكلية والفلافونويدات والتانينات. أظهر تقدير الفعالية المضادة للأكسدة بمختلف الاختبارات أن المستخلصات الفينولية ذات فعالية مهمة مضادة للأكسدة. قمنا بتحليل المركبات الفينولية بطريقة الكروماتوغرافيا السائلة UHPLC-DAD-ESI-MSn عالية الكفاءة.

أظهرت النتائج أن محتوى حمض الميريستيك والأحماض الدهنية المشبعة الأخرى زاد أثناء نمو الأوراق، بينما انخفضت الأحماض الدهنية اللينوليك واللينولينيك وغير المشبعة. تم الحصول على أعلى النسب المئوية لحمض اللينولينيك 3: C18 (27.25% \pm 5.92%) واللينوليك 2: C18 (17.68% \pm 3.80%) في المرحلة الأولى من نمو الأوراق، ولكن المستويات المئوية الأعلى من 1: C18 تم الحصول عليها في شهري أوت وسبتمبر (28.83% \pm 6.50%؛ 27.79% \pm 8.63% على التوالي). تتأثر محتويات الدهون والتوكوفيرولات والكاروتينات والستيرولات والأحماض الدهنية المشبعة وغير المشبعة بفترة القطف. أظهر نشاط مضادات الأكسدة قوة أعلى في المرحلة الأولى من تطور الأوراق.

أن محتوى الفينولات الكلية والفلافونويدات والتانينات المكثف زاد خلال الفترة المدروسة. أظهرت نتائج اختبارات النشاط المضاد للأكسدة المختلفة أن أعلى نشاط لوحظ في أوت، ثم انخفض مع نهاية فترة الدراسة. سمح التحليل الكروماتوغرافي باكتشاف المركبات التالية: حمض الكينيك، حمض الديغاليك، حمض الغالويلكوينيك، حمض الغاليك، أحماض الديغالويلكوينيك، الأحماض الثلاثية اللوكوينيك، ميثيل غاليت. توضح هذه النتائج الإمكانيات الغذائية لأوراق الفستق الأطلسي، والتي قد توفر فرصاً للاستغلال الرشيد في الصناعات الغذائية أو للأغراض الطبية.

الكلمات المفتاحية: الفستق الأطلسي، أوراق، دهون، أحماض دهنية، توكوفيرولات، بوليفينولات،

UHPLC-DAD-ESI-MSn ، نشاط مضاد للأكسدة.

Résumé

L'arbre *Pistacia atlantica* produit une énorme quantité de fruits, de feuilles et de galles utilisées traditionnellement à des fins culinaires et médicinales. Toutes ces parties de l'arbre sont riches en composés bioactifs naturels. Dans cette étude, nous nous sommes intéressés à l'étude de l'effet de la période de récolte sur le contenu en lipides et en composés phénoliques des feuilles de *P. atlantica* afin de fournir une base scientifique pour une collecte optimale. Ainsi, la composition en acides gras des huiles extraites a été déterminée par CG et CG/SM, les tocophérols, caroténoïdes et les stérols totaux ont été quantifiés par spectrophotométrie et l'activité antioxydante de ces extraits a été évaluée par le test DPPH et le test β -carotène- acide linoléique. Par ailleurs, les composés phénoliques ont été extraits à partir des tourteaux. La teneur en phénols totaux, en flavonoïdes et en tanins condensés a été déterminée par spectrophotométrie. Les extraits phénoliques de *P. atlantica* possèdent un pouvoir antioxydant important, ce dernier a été déterminé en utilisant les tests : DPPH*, FRAP, ABTS*+ et CUPRAC, par la suite, une analyse UHPLC-DAD-ESI-MSⁿ a été menée. Les résultats obtenus ont montré que la teneur en acide myristique et autres acides gras saturés a augmenté pendant le développement des feuilles, tandis que les acides linoléique, linoléique et les acides gras insaturés ont diminué. Les pourcentages les plus élevés d'acides linoléique C18: 3 ($27,25 \pm 5,92\%$) et linoléique C18: 2 ($17,68 \pm 3,80\%$) ont été obtenus au premier stade de développement des feuilles (jeunes feuilles), mais des niveaux de pourcentage plus élevés de C18: 1, ont été obtenus pour les deux mois consécutifs d'août et de septembre ($28,83 \pm 6,50\%$; $27,79 \pm 8,63\%$, respectivement). Les teneurs en lipides, en tocophérols, en caroténoïdes, en stérols et en acides gras saturés et insaturés dépendaient de la période de récolte. L'activité antioxydante a montré des pouvoirs plus élevés au premier stade de développement. La teneur en phénols totaux, en flavonoïdes et en tanins condensés a augmenté au cours de la période d'étude. Les résultats des différents tests d'activité antioxydante ont montré que le pouvoir antioxydant le plus élevé a été observé en août, puis il a diminué vers la fin de la période d'étude. La composition chimique réalisée par UHPLC-DAD-ESI-MSⁿ a permis la détection de : l'acide quinique, de l'acide digallique, de l'acide galloylquinique, de l'acide gallique, de l'acide trigallique, des acides digalloylquiniques, des acides trigalloylquiniques, du gallate de méthyle. L'ensemble de ces résultats illustre le potentiel nutritionnel des feuilles de *P. atlantica*, et nous a permis de déterminer la période optimale de la cueillette des feuilles qui peuvent offrir des opportunités d'exploitation rationnelle dans les industries alimentaires ou à des fins médicinales.

Mots clés : *Pistacia atlantica*, feuilles, lipides, acides gras, tocophérols, polyphénols, GC/MS ; UHPLC-DAD-ESI-MSⁿ; activité antioxydante.

Abstract

The *Pistacia atlantica* tree produces an enormous amount of fruits, leaves and galls that are traditionally used for culinary and medicinal purposes. All of these parts of the tree are rich in natural bioactive compounds. In this study, we were interested in investigating the effect of harvest time on lipids and phenolic compounds of *P. atlantica* leaves in order to provide a scientific basis for optimal collection. Thus, the fatty acid composition of the extracted oils was determined by CG and CG/MS, total tocopherols, carotenoids and total sterols were quantified by spectrophotometry and the antioxidant activity of these extracts was evaluated by the DPPH test and the β -carotene-linoleic acid test. In addition, phenolic compounds were extracted from the cakes. The content of total phenols, flavonoids and condensed tannins was determined spectrophotometrically. The phenolic extracts of *P. atlantica* have an important antioxidant power, the latter was determined using the tests : DPPH*, FRAP, ABTS*+ and CUPRAC, subsequently, a UHPLC-DAD-ESI-MSn analysis was carried out. The results obtained showed that the content of myristic acid and other saturated fatty acids increased during leaf development, while linoleic, linolenic and unsaturated fatty acids decreased. The highest percentages of linolenic acid C18 : 3 ($27.25 \pm 5.92\%$) and linoleic C18 : 2 ($17.68 \pm 3.80\%$) were obtained at the first stage of leaf development (young leaves), but higher percentage levels of C18 : 1, were obtained for the two consecutive months of August and September ($28.83 \pm 6.50\%$; $27.79 \pm 8.63\%$, respectively). The contents of lipids, tocopherols, carotenoids, sterols and saturated and unsaturated fatty acids depended on the harvest period. Antioxidant activity has shown higher powers at the first stage of development. The content of total phenols, flavonoids and condensed tannins increased during the study period. The results of the various antioxidant activity tests showed that the highest antioxidant power was observed in August, then it decreased towards the end of the study period. The chemical composition carried out by UHPLC-DAD-ESI-MSn allowed the detection of : quinic acid, digallic acid, galloylquinic acid, gallic acid, trigallic acid, digalloylquinic acids, trigalloylquinic acids, methyl gallate. All of these results illustrates the nutritional potential of *P. atlantica* leaves, and made it possible to determine the optimal harvest time that can offer rational exploitations in food industries or for medicinal purposes.

Key words: *Pistacia atlantica*, leaves, lipids, fatty acids, tocopherols, polyphenols, GC/MS ; UHPLC-DAD-ESI-MSn, antioxidant activity.

Partie I

Tableau I. 1 :	Classification botanique de <i>Pistacia atlantica</i> (Yaaqobi et al., 2009).	12
Tableau I. 2 :	Activités antioxydantes des différents extraits des espèces de <i>Pistacia</i>	14
Tableau I. 3 :	Activité antibactérienne des espèces de <i>Pistacia</i>	16
Tableau I. 4 :	Activité antiparasitaire de <i>Pistacia atlantica</i>	17
Tableau I. 5 :	Activité antimutagène des espèces de <i>Pistacia</i>	17
Tableau I. 6 :	Activité antidiabétique de <i>Pistacia atlantica</i>	18
Tableau I. 7 :	Activité anticancéreuse des espèces <i>Pistacia</i>	19
Tableau I. 8 :	Composés chimiques isolés à partir des espèces de <i>Pistacia</i>	21
Tableau I. 9 :	Les principales classes de composés phénoliques	40
Tableau I. 10 :	Des exemples des antioxydants	48

Partie III

Tableau III. 1 :	Teneur en lipides des feuilles de <i>Pistacia atlantica</i> cueillies à différents stades de croissance.	73
Tableau III. 2 :	Teneurs moyennes en lipides pour les trois sites de récolte au cours de la période étudiée.	75
Tableau III. 3 :	Composition relative en acides gras des lipides des feuilles de <i>Pistacia atlantica</i> cueillies à différents stades de croissance.	77
Tableau III. 4 :	Teneur en Tocophérols totaux dans les extraits huileux des feuilles de <i>Pistacia atlantica</i> cueillies à différents stades de croissance.	82
Tableau III. 5 :	Teneur en caroténoïdes dans les extraits huileux des feuilles de <i>Pistacia atlantica</i> cueillies à différents stades de croissance.	86
Tableau III. 6 :	Teneur en stérols totaux dans les extraits huileux des feuilles de <i>Pistacia atlantica</i> cueillies à différents stades de croissance.	89
Tableau III. 7 :	Valeurs d'EC50 des extraits lipidiques des feuilles de <i>Pistacia atlantica</i> au cours de croissance en utilisant le test DPPH.	92
Tableau III. 8 :	Valeurs d'EC50 des extraits lipidiques des feuilles de <i>Pistacia atlantica</i> au cours de croissance en utilisant le test β -carotène.	97

Tableau III.9:	Matrice de Corrélations entre : l'activité antioxydante (tests DPPH et β -carotène), C18: AGI, teneur en tocophérols totaux (TTT) et teneur en caroténoïdes (TC).	102
Tableau III.10:	Matrice de corrélation entre la teneur en tocophérols totaux et le test DPPH au cours de développement des feuilles de <i>Pistacia atlantica</i> .	103
Tableau III.11 :	Variation des différents groupes d'individus étudiés obtenues par la classification CAH pour la composition des principaux acides gras obtenus à partir des feuilles de <i>Pistacia atlantica</i>	107
Tableau III.12 :	Masse, pourcentage massique en phénols totaux et teneurs en : phénols totaux, flavonoïdes et tanins dans les tourteaux des feuilles de <i>Pistacia atlantica</i> cueillies à différents stades de croissance.	113
Tableau III.13 :	Pourcentages moyens des phénols totaux pour les trois sites de récolte au cours de la période étudiée.	115
Tableau III.14 :	Caractérisation de composés phénoliques par UHPLC-ESI-MS/MS dans les extraits de la <i>Pistacia atlantica</i>	128
Tableau III. 15 :	Valeurs d'EC ₅₀ des extraits phénoliques des feuilles de <i>Pistacia atlantica</i> au cours de croissance en utilisant le test DPPH	141
Tableau III. 16 :	Valeurs de l'AEAC (Ascorbic acid Equivalent Antioxidant Capacity) des extraits phénoliques des feuilles de <i>P.A</i> le long de la saison de croissances des feuilles en utilisant le test FRAP.	146
Tableau III. 17 :	Valeurs d'EC ₅₀ des extraits phénoliques des feuilles de <i>Pistacia atlantica</i> le long de la saison d'étude en utilisant le test ABTS.	149
Tableau III. 18 :	Valeurs d'EC ₅₀ des extraits phénoliques des feuilles de <i>Pistacia atlantica</i> le long de la saison d'étude en utilisant le test CUPRAC.	151

Partie I

Figure I.1 :	Pistachier de l'Atlas de la région de Laghouat.	11
Figure I.2 :	Feuilles de pistachier de l'Atlas de la région de Laghouat	11
Figure I.3 :	Les glycérides	32
Figure I.4 :	Isomères des tocophérols	34
Figure I.5 :	Structure de base des Stérols	36
Figure I.6 :	Acide palmitique	38
Figure I.7:	Les polyphénols les plus répandus dans la nature	39
Figure I.8:	Structure chimique commune des flavonoïdes	40
Figure I.9 :	Représentation schématique des divers activateurs et inhibiteurs de production d'espèces réactives de l'oxygène	45

Partie II

Figure II.1 :	Organigramme résumant les étapes de l'étude réalisée	56
Figure II.2 :	Réaction d'un antioxydant avec le radical DPPH	60
Figure II.3 :	Mécanisme réactionnel intervenant lors du test FRAP entre le complexe tripyridyltriazine ferrique Fe (III)-TPTZ et un antioxydant (AH).	66

Partie III

Figure III.1 :	Variation saisonnière de la teneur moyenne en lipides des feuilles de <i>Pistacia atlantica</i>	74
Figure III.2 :	Variation des proportions relatives moyennes des acides gras insaturés (AGI) et saturés (AGS) au cours du développement des feuilles de <i>Pistacia atlantica</i>	79
Figure III.3 :	Variation des proportions relatives moyennes des AGI : acide oléique, acide linoléique et acide α -linoléique au cours du développement des feuilles de <i>P. atlantica</i> .	80
Figure III. 4 :	Courbe d'étalonnage de la vitamine E	82
Figure III. 5 :	Variation de la teneur en tocophérols totaux dans les extraits huileux des feuilles de <i>P. atlantica</i> au cours de la croissance	83

Figure III. 6 :	Variation de la teneur en tocophérols totaux selon les trois sites de récolte au cours de la période étudiée	84
Figure III. 7 :	Courbe d'étalonnage du β -carotène	85
Figure III. 8 :	Variation de la teneur en caroténoïdes dans les extraits huileux des feuilles de <i>P. atlantica</i> au cours de la croissance.	86
Figure III.9 :	Variation de la teneur en caroténoïdes selon les trois sites de récolte au cours de la saison d'étude.	87
Figure III.10 :	Courbe d'étalonnage du cholestérol.	88
Figure III.11 :	Variation de la teneur en stérols totaux dans les extraits huileux des feuilles de <i>P. atlantica</i> au cours de la croissance.	90
Figure III.12 :	Variation de la teneur en stérols totaux selon les trois sites de récolte au cours de la saison d'étude.	91
Figure III.13 :	Valeurs saisonnières d'EC ₅₀ des extraits huileux des feuilles de P.A à différents stades de croissance en utilisant le test DPPH.	94
Figure III.14 :	Variation saisonnière du pouvoir antiradicalaire (PAR) des fractions lipidiques des feuilles de <i>Pistacia atlantica</i> en utilisant le test DPPH.	95
Figure III.15 :	Valeurs saisonnières d'EC ₅₀ des extraits huileux des feuilles de P.A à différents stades de croissance en utilisant le test β -carotène.	98
Figure III.16 :	Variation saisonnière du pouvoir antiradicalaire (PAR) des fractions lipidiques des feuilles de <i>Pistacia atlantica</i> en utilisant le test β -carotène.	99
Figure III.17 :	Dendrogramme de la classification ascendante hiérarchique (CAH) de 22 individus et 11 variables (acides gras obtenus à partir des feuilles de <i>Pistacia atlantica</i>). Les échantillons sont regroupés en utilisant la méthode de Ward avec une mesure de distance euclidienne.	106
Figure III.18 :	Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.	115
Figure III.19 :	Variation de la teneur en phénols totaux des différents échantillons au cours de la période étudiée.	116
Figure III.20 :	Variation de la teneur en phénols totaux pour les trois sites de récolte au cours de la période de croissance des feuilles.	117

Figure III.21 :	Courbe d'étalonnage de la quercétine	117
Figure III.22 :	Variation de la teneur en flavonoïdes totaux des différents échantillons au cours de la période étudiée	118
Figure III.23 :	Variation de la teneur en flavonoïdes totaux pour les trois sites de récolte au cours de la période étudiée	119
Figure III.24 :	Courbe d'étalonnage de la catéchine.	119
Figure III.25 :	Variation de la teneur en tanins condensés des différents échantillons au cours de la période étudiée	120
Figure III.26 :	Variation de la teneur en TC pour les trois sites de récolte au cours de la période étudiée	121
Figure III.27-a :	Profil typique du chromatogramme de l'extrait des feuilles de <i>Pistacia atlantica</i> de l'échantillon D2(11) à 280 nm.	124
Figure III.27-b :	Profil typique du chromatogramme de l'extrait des feuilles de <i>Pistacia atlantica</i> de l'échantillon L2(09) à 280 nm	125
Figure III.27-c :	Profil typique du chromatogramme de l'extrait des feuilles de <i>Pistacia atlantica</i> de l'échantillon D1(05) à 280 nm	126
Figure III.27-d :	Profil typique du chromatogramme du l'extrait de la <i>Pistacia atlantica</i> de l'échantillon K1(08) à 280 nm	127
Figure III.28 :	Spectre MS ² de l'acide digallique	130
Figure III.29 :	Spectre UV, MS ² et MS ³ de l'Acide trigallique	131
Figure III.30 :	Spectre MS ² et MS ³ de Trigalloyl glucose	132
Figure III.31 :	Spectre MS ² et MS ³ des acides Di-O-galloylquiniques	134
Figure III.32 :	Spectre MS ² et MS ³ des acides Tri-O-galloylquiniques	135
Figure III.33:	Spectre MS ² et MS ³ des acides Tetra-O-galloylquiniques (15 et 16)	137
Figure III.34 :	Spectre MS ² et MS ³ de la Quercétine 3- (6-O-galloylgalactoside)	138
Figure III.35 :	Spectre MS des dérivés de gallate de méthyle	139
Figure III.36 :	Valeurs saisonnières d'EC ₅₀ des extraits phénoliques des feuilles de P.A à différents stades de croissance en utilisant le test DPPH.	142
Figure III.37 :	Variation saisonnière du pouvoir antiradicalaire (PAR) des fractions phénoliques des feuilles de <i>Pistacia atlantica</i> en utilisant le test DPPH.	143

Figure III.38 :	Classement des échantillons en fonction des valeurs d'EC ₅₀ et teneurs en PT des extraits des feuilles de <i>Pistacia atlantica</i>	144
Figure III.39 :	Valeurs saisonnières de l'AEAC des extraits phénoliques des feuilles de <i>Pistacia atlantica</i> à différents stades de développement foliaire en utilisant le test FRAP.	147
Figure III.40 :	Valeurs saisonnières d'EC ₅₀ des extraits phénoliques des feuilles de <i>Pistacia atlantica</i> au cours de croissance en utilisant le test ABTS.	150
Figure III.41 :	Valeurs saisonnières d'EC ₅₀ des extraits phénoliques des feuilles de <i>Pistacia atlantica</i> en utilisant le test CUPRAC.	152

ABS	: Absorbance
ABTS	: Acide 2,2'-azinobis(3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique)
ACP	: Analyse en composantes principales
ADN	: Acide 2-desoxyribonucleique
AEAC	: Ascorbic acid equivalent antioxidant capacity
AFNOR	: Association française de Normalisation
AG	: Acide gras
AGI	: Acide gras insaturé
AGMI	: Acide gras monoinsaturé
AGPI	: Acide gras polyinsaturé
AGS	: Acide gras saturé
BHA	: Hydroxyanisole butylé (Butylated hydroxyanisole)
BHT	: Hydroxytoluène butylé (Butylated hydroxytoluene)
CHA	: Classification Hiérarchique Ascendante (Aggregative Hierarchical Clustering (AHC))
CUPRAC	: Capacité antioxydante réduisant les ions de cuivre (Cupric ion Reducing Antioxidant Capacity)
DAD	: Détecteur à barrette de diodes (Diode Array Detector)
DPPH	: 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle
EAG/g MS	: Equivalent acide gallique par gramme de matière sèche
EAOs	: Espèces actives de l'oxygène
EC/g MS	: Equivalent catéchine par gramme de matière sèche
EC ₅₀	: Concentration efficace pour inhiber 50% des radicaux libres
EMAG	: Ester Méthylique d'Acide Gras
EQ/g MS	: Equivalent quercétine par gramme de matière sèche
ESI	: Ionisation par électrospray (Electrospray Ionisation)
FID	: Détecteur à ionisation de flamme (Flame Ionisation Detector)

	: Pouvoir antioxydant réducteur du fer ferrique (Ferric Reducing
FRAP	Antioxydant Power)
FT	: Flavonoïdes totaux
GC	: Chromatographie en phase gazeuse (Gas Chromatography)
GC/MS	: Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (Gas Chromatography/Mass spectroscopy)
	: Chromatographie en phase gazeuse équipée d'un détecteur à ionisation
GC-FID	de flamme (Gas Chromatography/ Flame Ionisation Detector)
GPX	: Gluthathion peroxydase
	: Chromatographie liquide haute performance (High Performance Liquid
HPLC	Chromatography)
I (%)	: Pourcentage d'inhibition
IE	: Impact électronique
	: Union internationale de chimie pure et appliquée (International Union of
IUPAC	Pure and Applied Chemistry)
LDL	: Lipoprotéines de basse densité (Low density Lipoprotein)
M-H	: Ions moléculaires
MV	: Matière végétale
MS	: Spectrométrie de masse (Mass Spectrometry)
MS/MS	: Spectrométrie de masse en tandem
nd	: Non déterminé
PT	: Polyphénols totaux
ROS	: espèces réactives de l'oxygène (Reactive oxygen species)
SG	: Sous-groupe
SOD	: Superoxyde dismutases
ssp	: Sous espèce
Toc	: Tocophérols
TPTZ	: 2,4,6-Tripyridyl-S-triazine
tr	: Trace
TT	: Teneur en tanins
	: Chromatographie liquide ultra haute performance (Ultra High
UHPLC	Performance Liquid Chromatography)

LC-ESI-MS/MS	: Chromatographie liquide Electrospray Ionisation Tandem Spectrométrie de masse (Liquid Chromatography Electrospray Ionization Tandem Mass Spectrometric)
UV	: Ultrat-violet
Vis	: Visible
AA/g	: Equivalent acide ascorbique par gramme de matière sèche

Dédicace	
Remerciement	
Résumé	
Liste des tableaux	i
Liste des figures	iii
Liste des abréviations	vii
Introduction générale	02
<u>Références bibliographiques</u>	05

Partie I : Synthèse bibliographique

Chapitre 1 : Généralités et travaux antérieurs sur *Pistacia atlantica*

1.	Description de <i>Pistacia atlantica</i>	10
2.	Systematique	12
3.	Ecologie et aire de répartition	12
4.	Utilisation	13
5.	Travaux antérieurs	13
5.1.	Activité antioxydante	14
5.2.	Activité antibactérienne	16
5.3.	Activité antiparasitaire	16
5.4.	Activité antimutagène	17
5.5.	Activité antidiabétique	17
5.6.	Activité anticancéreuse	18
5.7.	Composition phytochimique des extraits des espèces de <i>Pistacia</i>	19
	<u>Références bibliographiques</u>	23

Chapitre 2 : Généralité sur les lipides, les composés phénoliques et l'activité antioxydante

1.	Généralités sur Les lipides	31
1.1.	Classification	31
1.1.1.	Lipides vrais	31
a)	Lipides simples	31

b)	Lipides complexes	32
1.1.2.	Composés à caractères lipidiques	33
1.1.3.	Constituants mineurs	34
1.1.3.1.	Tocophérols	34
a)	Structure chimique	34
b)	Rôle biologique de la vitamine E	35
1.1.3.2.	Stérols	35
a)	Structure chimique	35
b)	Rôle biologique des stérols	36
1.2.	Rôle biologique des lipides	37
1.3.	Acides gras	37
1.3.1.	Acides gras saturés (AGS)	38
1.3.2.	Acides gras mono –insaturés (AGMI)	38
1.3.3.	Acides gras poly-insaturés (AGPI)	38
2.	Généralités sur les composés phénoliques	39
2.1.	Classification	39
2.1.1.	Flavonoïdes	40
2.1.2.	Anthocyanosides	41
2.1.3.	Les tanins	41
2.2.	Propriétés physico-chimiques des composés phénoliques	42
2.2.1.	Propriétés physico-chimiques	42
2.2.2.	Propriétés biologiques	42
2.2.3.	Activité anti-inflammatoire	42
2.2.4.	Activité antibactérienne	42
2.2.5.	Activité anticancéreuse	42
2.3.	Polyphénols dans les plantes : Localisation et intérêt.	43
3.	Généralités sur l'activité antioxydante	44
3.1.	Stress oxydatif	44
3.1.1.	Radicaux libres	44
3.1.2.	Mécanisme de production et d'élimination des ROS dans l'organisme	44
3.2.	Antioxydants	45

3.2.1.	Antioxydants synthétiques	46
3.2.2.	Antioxydants naturels	46
	<u>Références bibliographiques</u>	49

Partie II : Matériel et Méthodes

1.	Matière végétale	55
1.1.	La récolte des échantillons	55
2.	Méthodes	55
3.	Etude des lipides de <i>Pistacia atlantica</i>	57
3.1.	Extraction des lipides	57
3.2.	Préparation et analyse des acides gras	57
3.2.1.	Préparation des esters méthyliques d'acides gras (EMAG)	57
3.2.2.	Analyse des EMAG	58
3.2.3.	Conditions chromatographiques GC-FID	58
3.2.4.	Conditions chromatographiques GC/MS	58
3.3.	Dosage des tocophérols totaux	58
3.4.	Dosage des caroténoïdes	59
3.5.	Dosage des stérols	59
3.6.	Evaluation du pouvoir antioxydant des extraits lipidiques	60
3.6.1.	Méthode de réduction du radical libre DPPH	60
3.6.2.	Inhibition par blanchiment du β -carotène	61
3.7.	Analyse des données statistique de la variation de la composition chimique des acides gras des feuilles de <i>Pistacia atlantica</i>	62
4.	Etude des composés phénoliques	62
4.1.	Extraction des composés phénoliques	62
4.2.	Dosage des phénols totaux	63
4.3.	Dosage des flavonoïdes	63
4.4.	Dosage des tanins	64
4.5.	Analyse chromatographique des composés phénoliques	64
4.5.1.	Analyse qualitative des composés phénoliques par UHPLC-DAD-ESI/MS ⁿ	64
4.6.	Evaluation du pouvoir antioxydant des extraits phénoliques bruts	65
4.6.1.	Méthode de réduction du radical libre DPPH	65

4.6.2.	Pouvoir réducteur de l'ion ferrique (FRAP)	65
4.6.3.	Test du radical cation ABTS ^{•+}	67
4.6.4.	Réduction de cuivre (CUPRAC)	68
	<u>Références bibliographiques</u>	69

Partie III : Résultats et Discussion

Chapitre 1 : Valorisation des lipides des feuilles de *Pistacia atlantica*

1.	Teneur en lipides	73
2.	Variation saisonnière de la composition en acides gras des lipides des feuilles de <i>Pistacia atlantica</i>	76
3.	Teneur en tocophérols totaux	81
4.	Teneur en caroténoïdes	85
5.	Teneur en stérols totaux	87
6.	Variation saisonnière de l'activité antioxydante des extraits lipidiques des feuilles de <i>Pistacia atlantica</i>	91
a.	Pouvoir anti-radicalaire des extraits lipidiques par le test DPPH• (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle)	92
b.	Inhibition par blanchiment du β -carotène	96
7.	Recherche des Corrélations	100
7.1.	Corrélation entre les deux tests d'activité antioxydante DPPH et β -carotène	100
7.2.	Corrélation entre la teneur en tocophérol totaux et le test DPPH	100
7.3.	Corrélations entre la teneur en tocophérols totaux, C18: AGI et les activités antioxydantes	103
8.	Analyse statistique des données relatives à la composition en acide gras	104
	<u>Références bibliographiques</u>	108

Chapitre 2 : Étude des composés phénoliques des feuilles de
Pistacia atlantica

1.	Rendement en extraits bruts	112
2.	Dosage des phénols totaux	115
3.	Dosage des flavonoïdes totaux	117
4.	Dosage des tanins condensés	119
5.	Analyse qualitative des composés phénoliques par UHPLC-DAD-ESI/MSn	123
6.	Variation saisonnière de l'activité antioxydante des extraits phénoliques des feuilles de <i>Pistacia atlantica</i>	140
6.1.	Mesure du pouvoir anti-radicalaire par le test au DPPH	140
6.2.	Pouvoir réducteur FRAP	145
6.3.	Pouvoir antioxydant par le test ABTS	148
6.4.	Capacité antioxydante par réduction de cuivre (CUPRAC)	150
	<u>Références bibliographiques</u>	153
	<u>Conclusion générale</u>	157
	<u>Annexes</u>	161

Introduction générale

Les plantes médicinales ont une longue histoire d'utilisation, en particulier dans le traitement de diverses maladies. Des études récentes ont également confirmé scientifiquement leurs effets dans la prévention (**Bahmani et al., 2014 ; Rafieian-Kopaei et al., 2014**) et le traitement d'une grande variété de maladies telles que le cancer (**Nasri et al., 2014 ; Shirzad, H et al., 2011**), cardiovasculaire (**Sadeghi., 2014**) le diabète (**Akbari et al., 2013**), l'hypertension (**Asgary et al., 2013**). Ils sont également capables de diminuer les effets néfastes d'autres médicaments (**Amini et al., 2012**) et même de contrecarrer les toxines métalliques ou autres (**Heidarian et al., 2013**). Il a été démontré que les plantes médicinales possèdent également l'avantage d'avoir de faibles effets secondaires (**Sedighi et al., 2013**). Par conséquent, outre les utilisations dans l'industrie, ils sont également considérés comme des sources fiables de nouveaux médicaments.

Au cours de ces dernières années, nous assistons à un regain d'intérêt des consommateurs pour les produits naturels. C'est pour cela que les industriels développent de plus en plus de procédés mettant en œuvre des extraits et des principes actifs d'origine végétale.

Actuellement, plusieurs questions sont soulevées concernant la sécurité des produits chimiques utilisés en médecine ou dans l'industrie alimentaire. En effet, la peroxydation des lipides au cours des processus de fabrication et de stockage des aliments sous l'action des radicaux libres conduit à la perte de la qualité et de la sécurité des aliments. Les antioxydants de synthèse, généralement utilisés en industrie alimentaire pour retarder l'oxydation des lipides, sont suspectés d'avoir des effets néfastes sur la santé du consommateur (**Wang et al., 2008**). De plus, l'usage excessif d'agents antibactériens et antifongiques chimiques dans la médication humaine ainsi que dans l'élevage animal et la conservation des aliments conduit au développement de microorganismes résistants à la plupart des antibiotiques (**Essawi et al., 2000**). Suite à cette préoccupation, il semble donc important de trouver une alternative. Le développement de nouveaux agents thérapeutiques s'avère indispensable pour lutter contre ces phénomènes de résistance bactérienne et d'oxydation des aliments.

L'Algérie, en raison des conditions climatiques spécifiques, est l'une des sources les plus riches de plantes médicinales susceptibles d'être utilisées dans différents domaines (pharmacie, parfumerie, cosmétique, agroalimentaire) pour leurs propriétés thérapeutiques, organoleptiques et odorantes (**Quezel et al., 1962**).

L'une de ces plantes est le *Pistacia atlantica*, son genre est *Pistacia* et sa famille est Anacardiaceae. Ce genre compte de nombreuses espèces, dont certaines en Asie et dans la région méditerranéenne, ont une grande importance médicale, sociale et économique (**Ozenda., 1991**).

L'arbre *Pistacia atlantica* produit une énorme quantité de fruits, de feuilles et de galles utilisées traditionnellement à des fins culinaires et médicinales et non encore utilisées dans des applications industrielles. Toutes ces parties de l'arbre sont riches en composés bioactifs naturels. Cette plante est considérée comme un aliment fonctionnel, car elle est riche en nutriments, y compris les sucres, les acides gras, les acides aminés, les minéraux, les vitamines et les antioxydants (**Benahmed et al., 2021**). Les fruits contiennent une quantité importante d'huile avec une prédominance d'acides gras insaturés (73-83%) (**Yousfi et al., 2002, 2003 ; Bentireche et al., 2019**), et aussi l'huile est riche en tocophérols (**Guenane et al., 2015**). La consommation fréquente de fruits a montré un risque réduit de maladies cardiovasculaires et des effets abaissant des cholestérols totaux et LDL ainsi que des propriétés pour éliminer les maladies de l'estomac (**Bahmaniet al., 2015**). L'HISPIDIN et la lutéoline sont des antioxydants naturels qui ont été isolés du champignon *Inonotus hispidus* poussant sur *Pistacia atlantica* (**Yousfi et al., 2009**), Les métabolites puissants HISPIDIN inhibe la principale protéase de nCOV-2019 et pourraient constituer une stratégie efficace pour traiter les individus infectés de Coronavirus 2019 (**Serseg et al., 2020**). Les différents organes de cet arbre contiennent de l'huile essentielle à prédominance d'hydrocarbure monoterpénique (**Achili et al., 2020; Gourine et al., 2011**).

Pistacia atlantica est une source très importante d'antioxydants naturels non toxiques en raison de son importante activité antioxydante (**Gourine et al., 2010**). De plus, ces feuilles constituent une source de composés phénoliques avec d'importants antimicrobiens, en particulier antifongiques, antioxydants, antidiabétiques et antihypertenseurs (**Benhammou et al., 2008**). L'huile essentielle de galle a montré des activités antimicrobiennes, antibactériennes, antioxydantes et cytotoxiques (**Sifi et al., 2015**).

La quantité de contenu phénolique, la composition chimique des huiles essentielles des feuilles de *Pistacia atlantica* et les activités antioxydantes dépendent des saisons et varient au cours des différents stades de développement des feuilles (**Gourine et al., 2010 ; Benahmed et al., 2017**). La composition phytochimique des extraits huileux des feuilles, des fruits et des galles varie en fonction des étapes de maturation (**Chelghoum et al., 2020**). Les extraits

lipidiques et les fractions méthanoliques et insaponifiables de galles de *P. Atlantica* ont montré d'importantes activités antioxydantes et inhibitrices d' α -amylase (Hefied et al., 2020).

Sur la base de ce qui a été exposé, il nous a paru intéressant d'une part de confirmer les résultats obtenus au sein de notre laboratoire et d'autre part de mettre en évidence l'effet de la saison de cueillette des feuilles de *Pistacia atlantica* sur le contenu des lipides et des composés phénoliques. La réponse à cette problématique permettrait de déterminer le moment optimale de cueillette des feuilles riches en composés bioactifs et par conséquent orienté l'utilisation des feuilles en fonction de saison de cueillette.

La présente étude est réparties en trois parties principales, dont, La première partie est une revue de synthèse bibliographique sur le pistachier de l'Atlas (*Pistacia atlantica*), détaillant l'état de connaissance sur l'arbre et les différentes activités biologiques des extraits des espèces de *Pistacia*, ainsi qu'un aperçu sur les lipides, les composés phénoliques et l'activité antioxydante.

Dans la deuxième partie, les modes opératoires des techniques employées et les méthodes utilisées ont été détaillés.

La troisième partie présente l'ensemble des résultats obtenus et leurs interprétations. Cette partie est structurée en deux chapitres :

- Le premier chapitre est consacré à l'étude de la fraction lipidique. Nous nous sommes intéressés au rendement d'extraction, à l'analyse des acides gras par CG et CG/SM, au dosage des caroténoïdes, des tocophérols et des stérols totaux par spectrophotométrie ainsi qu'à l'évaluation, sur des systèmes *in vitro*, des propriétés antioxydantes. Par la suite, une analyse statistique de données par le logiciel XLSTAT est également rapportée.
- Le deuxième chapitre, est dédié à l'étude des composés phénoliques issus des tourteaux. Nous avons procédé à l'extraction, au dosage des phénols totaux, des flavonoïdes et des tanins condensés ainsi qu'à l'évaluation de l'activité antioxydante des extraits phénoliques au moyen de quatre différents tests. Une chromatographie liquide à haute performance CLHP a été réalisée par la suite pour une tentative d'identification des composés phénoliques renfermés dans ces extraits.

Références bibliographiques

- Achili I, Amrani A, Bensouici C, Gül F, Altun M, Demirtas I. (2020). Chemical constituents, antioxidant, anticholinesterase and antiproliferative effects of Algerian *Pistacia atlantica* Desf. extracts. *Recent patents on food, nutrition & agriculture.*;11(3):249-56.
- Akbari, F, Ansari Samani, R, Karimi, A, Mortazaei, S, Shahinfard, N, & Rafieian-Kopaei, M. (2013). Effect of turnip on glucose and lipid profiles of alloxan-induced diabetic rats. *Iranian Journal of Endocrinology and Metabolism*, 14(5).
- Amini, F. G., Rafieian-Kopaei, M., Nematbakhsh, M., Baradaran, A., & Nasri, H. (2012). Ameliorative effects of metformin on renal histologic and biochemical alterations of gentamicin-induced renal toxicity in Wistar rats. *Journal of research in medical sciences: the official journal of Isfahan University of Medical Sciences*, 17(7), 621.
- Asgary, S., Kelishadi, R., Rafieian-Kopaei, M., Najafi, S., Najafi, M., & Sahebkar, A. (2013). Investigation of the lipid-modifying and antiinflammatory effects of *Cornus mas* L. supplementation on dyslipidemic children and adolescents. *Pediatric cardiology*, 34(7), 1729-1735.
- Bahmani, M., Saki, K., Rafieian-Kopaei, M., Karamati, S. A., Eftekhari, Z., & Jelodari, M. (2014). The most common herbal medicines affecting *Sarcomastigophora* branches: a review study. *Asian Pacific journal of tropical medicine*, 7, S14-S21.
- Bahmani M, Saki K, Asadbeygi M, Adineh A, Saberianpour S, Rafieian-Kopaei M. (2015). The effects of nutritional and medicinal mastic herb (*Pistacia atlantica*). *J Chem Pharm Res.*;7(1):646-53.
- Belhadj, S. (2001). Les pistacheraies algériennes : état actuel et dégradation. In Ak B. E. (ed.). XI GREMPA Seminar on Pistachios and Almonds. Zaragoza : CIHEAM. *Cahiers Options Méditerranéennes*. N° 56/107-109.
- Benahmed Z, Yousfi M, Viaene J, Dejaegher B, Demeyer K, Mangelings D. (2017). Seasonal, gender and regional variations in total phenolic, flavonoid, and condensed tannins contents and in antioxidant properties from *Pistacia atlantica* ssp. leaves. *Pharm Biol.*;55(1):1185-94.
- Benahmed Z, Yousfi M, Viaene J, Dejaegher B, Demeyer K, Heyden YV. (2021). Four *Pistacia atlantica* subspecies (*atlantica*, *cabulica*, *kurdica* and *mutica*): A review of their botany, ethnobotany, phytochemistry and pharmacology. *J Ethnopharmacol.* ;265:113329.
- Benhammou N, Bekkara FA, Panovska TK. (2008). Antioxidant and antimicrobial activities of the *Pistacia lentiscus* and *Pistacia atlantica* extracts. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*;2(2):22-8.
- Bentireche F, Guenane H, Yousfi M. (2019). Fatty acids, the unsaponifiable matter, and polyphenols as criteria to distinguish *Pistacia atlantica* unripe fruit oil. *J Am Oil Chem Soc.*

- Chelghoum, M., Guenane, H., Harrat, M., & Yousfi, M. (2020). Total Tocopherols, Carotenoids, and Fatty Acids Content Variation of *Pistacia atlantica* from Different Organs' Crude Oils and Their Antioxidant Activity during Development Stages. *Chemistry & Biodiversity*, 17(9), e2000117.
- Essawi, T. and M. Srour. (2000). Screening of some Palestinian medicinal plants for antibacterial activity. *Journal of ethnopharmacology*,. 70(3): p. 343-349.
- Gourine N, Ibrahim S, Emile MG, Mohamed Y. (2011). Chemical composition of the essential oil of unripe galls of *Pistacia atlantica* Desf. from Algeria. *The Natural Products Journal*;1(2):125-7
- Gourine N, Yousfi M, Bombarda I, Nadjemi B, Gaydou E. (2010). Seasonal variation of chemical composition and antioxidant activity of essential oil from *Pistacia atlantica* Desf. leaves. *J Am Oil Chem Soc.*;87(2):157-66.
- Gourine N, Yousfi M, Bombarda I, Nadjemi B, Stocker P, Gaydou EM. (2010). Antioxidant activities and chemical composition of essential oil of *Pistacia atlantica* from Algeria. *Ind Crops Prod.*;31(2):203-8.
- Guenane H, Bombarda I, OuldElhadj MD, Yousfi M. (2015). Effect of Maturation Degree on Composition of Fatty Acids and Tocopherols of Fruit Oil from *Pistacia atlantica* Growing Wild in Algeria. *Nat Prod Commun.*;10(10):1723-8.
- Hefied, F., Ben Ahmed, Z., & Yousfi, M. (2020). In vitro antioxidant and α -amylase inhibitory potential of methanolic and lipid fractions from *Pistacia atlantica* Desf. galls. *Journal of Food Processing and Preservation*, e14956.
- Heidarian, E., Rafieian-Kopaei, M., & Ashrafi, K. (2013). The effect of hydroalcoholic extract of *Allium latifolium* on the liver phosphatidate phosphatase and serum lipid profile in hyperlipidemic rats. *Journal of Babol University of Medical Sciences*, 15(4), 37-46.
- Nasri, H., Tavakoli, M., Ahmadi, A., Baradaran, A., Nematbakhsh, M., & Rafieian-Kopaei, M. (2014). Ameliorative effect of melatonin against contrast media induced renal tubular cell injury. *Pakistan journal of medical sciences*, 30(2), 261.
- Ozenda. P. CNRS, (1991).
- Quezel, P., S. Santa, and O. Schotter, (1962). *Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales-v. 1-2.*
- Rafieian-Kopaei, M., & Nasri, H. (2014). The ameliorative effect of *Zingiber officinale* in diabetic nephropathy. *Iranian Red Crescent Medical Journal*, 16(5).
- Sadeghi, M., Khosravi-Boroujeni, H., Sarrafzadegan, N., Asgary, S., Roohafza, H., Gharipour, M., ... & Rafieian-Kopaei, M. (2014). Cheese consumption in relation to cardiovascular risk factors among Iranian adults-IHHP Study. *Nutrition research and practice*, 8(3), 336.

- Sedighi, M., Nasri, H., Rafieian-kopaei, M., & Mortazaei, S. (2013). Reversal effect of *Achillea millefolium* extract on ileum contractions. *Journal of HrbMed Pharmacology*, 2(1), 5-8.
- Serseg, T., Benarous, K., & Yousfi, M. (2020). Hispidin and Lepidine E: two Natural Compounds and Folic acid as Potential Inhibitors of 2019-novel coronavirus Main Protease (2019-nCoVpro), molecular docking and SAR study. *arXiv preprint arXiv:2004.08920*.
- Shirzad, H., Taji, F., & Rafieian-Kopaei, M. (2011). Correlation between antioxidant activity of garlic extracts and WEHI-164 fibrosarcoma tumor growth in BALB/c mice. *Journal of medicinal food*, 14(9), 969-974.
- Sifi I, Dzoyem JP, Quinten M, Yousfi M, McGaw LJ, Eloff JN. (2015). Antimycobacterial, antioxidant and cytotoxic activities of essential oil of gall of *Pistacia atlantica* Desf. From Algeria. *African Journal of Traditional, Complementary and Alternative medicines*;12(3):150-5.
- Wang, W., et al. (2008). Antioxidative activity of *Rosmarinus officinalis* L. essential oil compared to its main components. *Food chemistry*. **108**(3): p. 1019-1022.
- Yousfi M, Nedjmi B, Bellal R, Ben Bertal D, Palla G. (2002). Fatty Acids and Sterols of *Pistacia atlantica* Fruit Oil. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 79(10),1049-50.
- Yousfi M, Nedjemi B, Belal R, Ben Bertal D. (2003). Étude des acides gras de huile de fruit de pistachier de l'Atlas algérien. *Oléagineux, Corps gras, Lipides.*;10(5-6):425-7.
- Yousfi M, Djeridane A, Bombarda I, Duhem B, Gaydou EM. (2009). Isolation and characterization of a new hispolone derivative from antioxidant extracts of *Pistacia atlantica*. *Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives*; 23(9):1237-42.

Partie I

Synthèse bibliographique

Chapitre 1

Généralités et travaux
antérieurs sur *Pistacia atlantica*

1. Description de *Pistacia atlantica*

Le genre *Pistacia* de la famille des Anacardiaceées, comprend de nombreuses espèces très répandues dans la région méditerranéenne et moyen-Orientale (**Tutin et al., 1968**). Il est représenté en Algérie par quatre espèces à savoir : *Pistacia terebinthus*, *Pistacia vera*, *Pistacia lentiscus*, *Pistacia atlantica*.

Le pistachier de l'Atlas (*Pistacia atlantica*) n'a été décrit qu'en 1799 par le botaniste français René Louiche Desfontaines dans la publication de *Flora atlantica* (**Monjauze, 1968**). Appelé « tiseumlal » en langue berbère, « el botma », « betouma », « el boutma », ou encore « el boutmaïa » en arabe substantif, dont le nom collectif est dit « b'toum » en Afrique du Nord et « boutmela » au Proche-Orient, le pistachier de l'Atlas est une espèce ligneuse et spontanée pouvant atteindre 10 m de haut. L'arbre possède un tronc individualisé et à frondaison hémisphérique (**Quézel P., 1963**) (Figure I.1).

Les feuilles composées de *Pistacia atlantica* sont constituées de sept à neuf folioles, stipulées, à rachis finement ailé et à folioles lancéolées obtuses au sommet (**Fennane et al., 2007**), de couleur vert pâle et sont imparipennées, glabres et sessiles, elles sont caduques et chutent en automne (**Yaaqobi et al., 2009**) (Figure I.2). Les fleurs sont en grappes lâches, les fruits, gros comme un pois, sont des drupes (**Ozenda, 1983**).



Figure I.1 : Arbre de Pistachier de l'Atlas de la région de Laghouat.
(Photo prise par Benguechoua MI)



Figure I.2 : Feuilles de pistachier de l'Atlas de la région de Laghouat
(Photo prise par Benguechoua MI)

2. Systématique

La classification botanique du *Pistacia atlantica* est présentée dans le Tableau I.1.

Tableau I. 1 : Classification botanique de *Pistacia atlantica* Desf. (Yaaqobi et al., 2009).

Règne	<i>Plantae</i>
Embranchement	<i>Tracheobionta</i>
Super-division	<i>Spermatophyta</i>
Division	<i>Magnoliophyta</i>
Classe	<i>Magnoliopsida</i>
Sous-classe	<i>Rosidae</i>
Ordre	<i>Sapindales</i>
Famille	<i>Anacardiaceae</i>
Genre	<i>Pistacia</i>
Espèce	<i>Pistacia atlantica</i>

Selon les données rapportées par **Zohary, 1952**, *Pistacia atlantica* Desf. se subdivise en quatre races éco-géographiques :

- ❖ ssp. *cabulica* (Stocks) Rech. f., localisée au Pakistan, en Afghanistan et au sud de l'Iran
- ❖ ssp. *Mutica* Rech. f. répartie en Caucasic, en Arménie, en Crimée au nord de la Turquie et au nord de l'Iran
- ❖ ssp. *kurdica* Rech. f., distribuée à l'ouest de l'Iran, au sud-est de la Turquie, en Syrie et en Palestine
- ❖ ssp. *atlantica* native des pays du grand Maghreb.

3. Ecologie et aire de répartition

D'après **Zohary (1952,1987)** et **Quézel et Médail (2003)**, cette espèce est commune de deux régions méditerranéenne et irano-touranienne. Cependant, **Manjauze (1980)** et **Ozenda (1983)** la qualifie d'endémique de l'Afrique du nord (**Belhadj et al., 2008**). Elle est tolérante pour plusieurs types du sol incluant les alcalins. Elle se contente d'une faible pluviométrie de l'ordre de 150 mm et parfois moins (**Benhssaini et Belkhodja., 2004**). *Pistacia atlantica* Desf. se régénère et se développe dans les endroits les plus arides où peu d'espèces d'arbres peuvent s'établir et persister. Sa croissance est très lente. Il occupe une aire très vaste englobant le Maroc, l'Algérie, la Tunisie, la Libye, la Syrie, la Jordanie, Palestine, l'Iran et

l'Afghanistan (**Kaska et al., 1996 ; Khaldi et Khouja, 1996 ; Sheibani, 1996**). En Algérie, on le trouve dans les régions arides et semi-arides, en particulier les hautes-Plaines, où il prospère dans les lits d'oueds et Dayas. En raison de sa rusticité et sa résistance à la sécheresse et dans le cadre des reboisements pour la protection de steppe pastorale.

4. Utilisation

Pistacia atlantica est une espèce multi-usage, la population locale l'utilise comme :

- Porte-greffe du pistachier vrai (*P. vera*), puisqu'elle résiste aux conditions édaphiques extrêmes.
- Source de fruits comestibles : la population locale en extrait une huile très appréciée.
- Abri de beaucoup d'animaux : le pistachier de l'Atlas étant le seul arbre de la steppe, il sert de refuge à beaucoup d'animaux contre la chaleur et les radiations solaires.

Monjauze (1968) indique que les populations locales exploitaient la résine de l'écorce du pistachier de l'Atlas dans la fabrication d'onguents en pharmacie traditionnelle. Cette plante est très utile comme antiseptique, antifongique, et dans les maladies abdominales (**Baba Aissa, 2000**).

5. Travaux antérieurs

Plusieurs études dont l'objet était la mise en évidence de nombreuses activités et l'isolement et la caractérisation de molécules biologiquement actives ont montré que les extraits issus de différentes parties de l'arbre de *Pistacia atlantica* possèdent des composés responsables de diverses activités biologiques. Nous présentons en détails les différentes activités biologiques des extraits des espèces de *Pistacia* dans les tableaux I.2 - I.7.

5.1. Activité antioxydante

Divers constituants des fruits et des feuilles de *P. atlantica*, ainsi que d'autres espèces de *Pistacia* ont montré des activités antioxydantes significativement plus élevées que celles des antioxydants standards. L'activité antioxydante des extraits huileux, huiles essentiels et extraits phénoliques de plusieurs espèces de *Pistacia* est présentée dans le tableau I.2.

Tableau I. 2 : Activités antioxydantes des différents extraits des espèces de *Pistacia*

Extraits huileux				
Espèce	Partie étudiée	Méthode utilisée	Résultats	Réf.
<i>P. atlantica</i> (Algérie)	Fruits	DPPH	EC ₅₀ =17,1 à 51,3 mg/mL	Guenane et al., 2017
<i>P. atlantica</i> (Algérie)	Fraction insaponifiable des fruits	DPPH	EC ₅₀ =0,48 à 0,87 mg/mL	Bentireche et al., 2019
<i>P. atlantica</i> (Algérie)	Feuilles, galles et fruits	DPPH	0,0153-0,41 mg/mL	Chelghoum et al., 2020
		Frap	1,51- 17,11 µM αT/g	
		ABTS	0,72- 40,91 µM αT/g	
<i>P. atlantica</i> (Algérie)	Galles	DPPH	101,13-437,8 mg AA/g	Hefied et al., 2020
		FRAP	162,35-553,18 mg AA/g	
		ABTS	49,51-190,45 mg AA/g	
<i>P. lentiscus</i> (Algérie)	Feuilles	DPPH	EC ₅₀ =3,28-4,51 mg/mL	Harrat et al., 2018
		β –carotène	EC ₅₀ =1,43-2,59 mg/mL	
<i>P. lentiscus</i> (Algérie)	Fruits	DPPH	EC ₅₀ =20,61mg/mL	Belyagoubi-Benhammou et al., 2018
<i>P. atlantica</i> (Iran)	Coque	La même activité antioxydante que celle de la tert-butylhydroquinone (TBHQ) à de faibles concentrations (100ppm).		Farhoosh R et al., 2009

Suite du tableau I.2

Espèce	Partie étudiée	Méthode utilisée	Résultats	Réf.
Huiles essentiels				
<i>P. atlantica</i> (Algérie)	Feuilles	DPPH	EC ₅₀ = 8,80 et 27,48 mg / mL	Gourine et al., 2010
		FRAP	AEAC = 4,95-11,81	
<i>P. lentiscus</i> (Algérie)	Feuilles et Fruits	DPPH	Faible activité antiradicalaire	Arab et al., 2014
<i>P. lentiscus</i> (Tunisie)	Feuilles	DPPH β -carotène	EC ₅₀ = 60-110 μg/mL EC ₅₀ = 100-110 μg/mL	Bachrouch et al., 2013
<i>P. lentiscus</i> (Tunisie)	Feuilles	β -carotène	EC ₅₀ = 5,57 à 11,20 mg / mL	Aissi et al., 2016
<i>P. lentiscus</i> (Italie)	Feuilles	DPPH	EC ₅₀ = 0,52-4,61 mmol/l	Barra et al., 2007
<i>P. terbintus</i> (Turquie)	Fruits	H ₂ O ₂ Métal chélate	Inactif contre le radical H ₂ O ₂ Pouvoir remarquable	Orhan et al., 2012
Extraits phénoliques				
<i>P. atlantica</i> (Algérie)	Feuilles	DPPH	EC ₅₀ = 27.76 mg/mL	Benhammou et al., 2007
<i>P. lentiscus</i> (Algérie)			EC ₅₀ = 90.87 mg/mL	
<i>P. atlantica</i> (Algérie)	Feuilles	DPPH	EC ₅₀ = 2.48~10.8 mg/mL	Maamri (2008)
<i>P. lentiscus</i> (Algérie)	Feuilles	DPPH	EC ₅₀ = 0.166 mg/mL	Zitouni et al., 2016
<i>P. atlantica</i> (Iran)	Différentes parties des Fruits	DPPH	EC ₅₀ = 0.068~2.39 mg/mL	Asghar-Hatamnia et al., 2014
<i>P. atlantica</i> (Algérie)	Fruits	DPPH	EC ₅₀ = 21.45~40.51 μg/mL	Guenane et al., 2017
<i>P. atlantica</i> (Algérie)	Feuilles	DPPH	262-675 mg AA/g	Benahmed et al., 2017
		RPC	259-989 mg AA/g	

5.2. Activité antibactérienne

La plupart des extraits des espèces de *Pistacia* se sont avérées posséder des propriétés antibactériennes importantes contre une grande variété de bactéries. Le tableau I. 3 résume quelques-unes.

Tableau I.3: Activité antibactérienne des extraits de *Pistacia*

Espèce	Extrait étudiée	Résultats	Réf
<i>P. atlantica</i> (Algérie)	Huiles essentielles de galles	CMI = 0,13 à 7,99 µl/ml inhibe <i>Escherichia coli</i> , <i>Bacillus cereus</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>MRSA+</i> , <i>Salmonella typhi</i> et <i>Candida albicans</i>	Sifi et al., 2015
<i>P. atlantica</i> (Algérie)	Huiles essentielles de Feuilles et d'oléorésine	Un effet antimicrobien sur les cinq souches : <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Escherichia coli</i> , <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922, <i>Klebsiella pneumoniae</i> et <i>pseudomonas aeruginosa</i>	Benabdallah et al., 2017
<i>P. atlantica</i>	Extrait aqueux de galles	Un rôle antimicrobien protecteur des galles contre : <i>Bacillus spp</i> et <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Gerchman et al., 2011
<i>P. atlantica</i> (Algérie)	Extrait phénolique de Feuilles	Une activité bactérienne importante qui s'étend sur la totalité des souches : <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Escherichia coli</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Djenidi 2012
<i>P. atlantica</i> (Algérie)	Extrait phénolique de Feuilles	<i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Klebsiella pneumoniae</i> , <i>Salmonella Typhi</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Escherichia coli</i> et <i>Candida albicans</i> .	Benhammou et al., 2008
<i>P. lentiscus</i> (Algérie)			
<i>P. veras</i> (Turquie)	Extrait de Gomme	CMI de 0.05 à 1.0 µg/mL qui inhibe <i>Candida albicans</i> , <i>Micrococcus luteus</i> , <i>Klebsiella fragilis</i> , <i>Escherichia coli</i> et <i>M. smegmatis</i>	Yuan et al., 2012

Concentration minimale inhibitrice (CMI).

5.3. Activité antiparasitaire

Les résultats relatifs à l'activité antiparasitaire des extraits de *Pistacia atlantica* sont consignés dans le tableau I. 4.

Tableau I.4: Activité antiparasitaire des extraits de *Pistacia atlantica*

Espèce	Extrait étudiée	Résultats	Réf
<i>P. atlantica</i> (Iran)	Extrait de Gomme	La gomme de <i>P. atlantica</i> var. <i>kurdica</i> peut être utilisée pour contrôler la leishmaniose cutanée causée par <i>L. major</i> et inhiber le développement des lésions de cette dernière.	Taran et al., 2010
<i>P. atlantica</i>	Extrait d'acétate d'éthyle	CI ₅₀ = 3,4 µM envers la souche <i>Plasmodium falciparum</i> K1. Isolement de la substance active flavone 3-méthoxycarpachromène	Adams et al., 2009

5.4. Activité antimutagène

Les données sur l'activité antimutagène des extraits du genre *Pistacia* sont résumées dans le tableau I.5.

Tableau I.5: Activité antimutagène des parties d'espèces de *Pistacia*

Espèce	Extrait étudiée	Résultats	Réf
<i>P. lentiscus</i> (Tunisie)	Huiles essentielles de Feuilles	Effet inhibiteur significatif sur la mutagénicité in vitro, Inhibition mutagénique de 76,7% en 250, de 82,8% en 500, et 96,5% en 1000 g / plaque.	Douissa et al., 2005
<i>P. lentiscus</i> (Tunisie)	Extrait de Fruits	L'acide gallique, l'acide digallique et le 1, 2, 3, 4, 6 pentagalloylglucose, des polyphénols isolés des fruits de <i>P. lentiscus</i> , ont induit une activité inhibitrice contre la mutagénicité et la génotoxicité dans les essais in vitro	Bhour et al., 2010

5.5. Activité antidiabétique

Le tableau I.6 expose quelques résultats sur l'activité antidiabétique de *Pistacia atlantica*

Tableau I.6: Activité antidiabétique des extraits de *Pistacia atlantica*

Espèce	Extrait étudiée	Résultats	Réf
<i>P. atlantica</i>	Extrait de Feuilles	Inhibition de α -glucosidase et α -amylase	Kasabri et al., 2011
		Une activité antihyperglycémique postprandiale égale au glipizide et à la metformine chez le rat et une intolérance au glucose améliorée	
<i>P. atlantica</i> (Iran)	Extrait de fruits (par N-hexane)	la prise orale quotidienne de 200 mg/kg d'extrait de <i>P. atlantica</i> pendant 15 jours conduit à la diminution de la concentration de glucose sanguin dans la plage normale chez les souris diabétiques	Hashemnia et al., 2015
<i>P. atlantica</i> (Algérie)	Extrait de Feuilles	A l'aide des empreintes digitales LC d'extraits de feuilles de <i>P. atlantica</i> les pics probablement responsables à inhiber les enzymes liées au diabète de type 2 (α -amylase et α -glucosidase) et à l'hypertension ont été attribué. Sept pics correspondant à des composés possiblement anti-amylases, tandis que 6 pics étaient considérés comme importants pour inhiber l'activité de l' α -glucosidase. huit pics étaient importants à l'hypertension (inhibent l'activité de l'enzyme de conversion de l'angiotensine-I (ACE-I)	Benahmed et al., 2018

5.6. Activité anticancéreuse

L'activité anticancéreuse des extraits des espèces de *Pistacia* a fait l'objet de plusieurs études comme le montre le tableau I.7.

Tableau I.7: Activité anticancéreuse des extraits des espèces *Pistacia*

Espèce	Extrait étudiée	Résultats	Réf
<i>P. atlantica sub. kurdica</i>	Extrait de Fruits	Effet inhibiteur sur les cellules de carcinome du côlon humain, identique à la Doxorubicine	Rezaei et al., 2012
<i>P. atlantica kurdica</i> (Iran)	Extrait de la peau des fruits (par l'éthanol)	L'extrait induit une cytotoxicité dans les cellules de cancer de la prostate humaine (PC3) et que la réduction de la viabilité cellulaire montrait un schéma dépendant du temps et de la dose et avait moins d'effet cytotoxique sur les cellules fibroblastique de souris.	Amiri et al., 2016
<i>P. lentiscus</i> Grèce	Extrait de Gomme	Inhibition de la croissance tumorale 56,4% ± 5,7 de volumes tumoraux chez les souris immunocompétentes.	Magkouta et al., 2009
<i>P. atlantica subsp. Krudica</i> (Iran)	Extrait de Fruits (par l'éthanol)	Exerce des effets cytotoxiques et anti-prolifératifs sur diverses lignées cellulaires cancéreuses humaines KB	Ashkvandi et al., 2019

5.7. Composition phytochimique

Divers composés phytochimiques ont été identifiés chez les espèces de *Pistacia*. Les plus importants d'entre eux, en se concentrant sur *Pistacia atlantica* sont mentionnés ci-dessous (Tableau I.8). L'huile essentielle est l'un des principaux composants des espèces de *Pistacia* dont il se trouve dans les fruits mûrs et non mûrs, les bourgeons à feuilles, les rameaux, les feuilles, les fleurs, la résine et les galles. L'analyse des huiles essentielles a montré de nombreuses différences qualitatives et quantitatives dans la teneur en huiles essentielles obtenues à partir de diverses parties de la plante. Les différences sont liées à des paramètres tels que les espèces et parties de plantes, le moment de la récolte, les conditions climatiques, l'origine géographique et le genre des cultivars (**Gwala., 2011 ; Benamar et al., 2010**). Les monoterpènes oxygénés et les hydrocarbures sont les principaux constituants de l'huile essentielle. L' α -pinène est le principal composé des hydrocarbures monoterpéniques, que l'on retrouve dans certaines espèces comme *P. atlantica* (**Delazar et al., 2004**). D'autres composants majeurs ont été isolés de diverses parties des espèces de *Pistacia*, y compris les parties aériennes de *P. atlantica* qui contiennent des composés phénoliques et les flavonoïdes avec une activité antioxydante remarquable (**Bozorgi et al., 2013 ; Kawashty et al., 2000**).

La teneur en huile dans les fruits mûrs de *P. atlantica* est d'environ 32,8–45% (Yousfi et al., 2002). L'acide oléique est l'acide gras le plus abondant dans l'huile de *P. atlantica* (Baradaran et al., 2014). D'autres acides gras identifiés dans cette plante sont présentés dans le tableau I.8. Le principal stérol dans les fruits de *P. atlantica* est le sitostérol (Trabelsi et al., 2012). L'huile de fruits de *P. atlantica*, en plus d'avoir une odeur et un goût agréable, est recommandée pour la production d'huiles végétales avec une grande quantité d'acides gras oméga-3 comme l'acide linoléique et l'acide oléique (Trabelsi et al., 2012). Les tocophérols et les tocotriénols sont également abondamment trouvés dans l'huile de coque de *P. atlantica* (Farhoosh et al 2010).

Tableau I.8: Composés chimiques identifiés à partir des extraits des espèces de *Pistacia*

		Composé	Espèce	Partie étudiée	Réf
Huiles essentiels ; Monoterpènes ; Sesquiterpène	α -Pinène	<i>P.atlantica</i>	Fruits, Feuilles, Galle, résine	Delazar et al., 2009 Bozorgi et al., 2013 Gourine et al., 2009	
		<i>P.lentiscus</i>	Fruits, Feuilles, parties aériennes	Mecherara-Idjeri et al., 2008 (part ,II) Gardeli et al.,2008	
		<i>P.vera</i>	Feuilles, fruits non mûrs	Tsokou et al., 2007	
		<i>P.terebinthus</i>	Fruits	Ozcan et al., 2009	
	limonène	<i>P.lentiscus</i>	Fruits, Feuilles	JN Roitman et al., 2011	
		<i>P.terebinthus</i>	Fruits	Couladis M et al., 2003	
	Terpinolène	<i>P.atlantica</i>	Feuilles	JN Roitman et al., 2011	
		<i>P.vera</i>			
	(E)- β -Ocimène	<i>P.vera</i>	Fruits, Feuilles	Flamini et al., 2004	
		<i>P.terebinthus</i>			
	terpinène-4-ol	<i>P.atlantica</i>	Feuilles, fruits non mûrs	Tzakou et al., 2007	
		<i>P.terebinthus</i>	Feuilles	Duru et al., 2003	
		<i>P.lentiscus</i>			
	acétate de bornyle	<i>P.atlantica</i>	Fruits	Barrero et al., 2005	
	sabinene	<i>P.atlantica</i>	Fruits	JN Roitman et al., 2011	
			Fruits non mûrs, Bourgeons à feuilles	Tzakou et al., 2007	
	myrcène	<i>P.lentiscus</i>	Fruits, Feuilles	JN Roitman et al., 2011	
		<i>P.atlantica</i>	Fruits non mûrs, Feuilles	Tzakou et al., 2007	
	p-mentha-1 (7), 8 diène	<i>P.lentiscus</i>	Fruits, Feuilles	Congiu et al., 2002	
<i>P.atlantica</i>		Feuilles, Bourgeons à feuilles	Tzakou et al., 2007		
Δ^3 -carène	<i>P.atlantica</i>	Galle	Gourine et al., 2010		
Spathulénol	<i>P.atlantica</i>	Feuilles	Ait Said et al., 2011		
	<i>P.khinjuk</i>		Taran et al., 2010		

Suite du tableau I.8.

	Composé	Espèce	Partie étudiée	Réf
Tritèrpes	Acide masticadiénonique	<i>P.lentiscus</i>	Résine	Assimopoulou et al., 2005
		<i>P.atlantica</i>		Sharifi et al.,2012
	Acide masticadiénolique	<i>P.lentiscus</i>	Résine	Assimopoulou et al., 2005
		<i>P.atlantica</i>		Sharifi et al.,2012
	Acide morolique	<i>P.lentiscus</i>	Résine	Assimopoulou et al., 2005
		<i>P.atlantica</i>		Sharifi et al.,2012
	Acide oléanolique	<i>P.lentiscus</i>	Résine	Assimopoulou et al., 2005
		<i>P.atlantica</i>		Sharifi et al.,2012
Acide ursonique	<i>P.atlantica</i>	Résine		
Acide- 3-O-acetyl-3-epiisomasticadiénolique	<i>P.atlantica</i>	Résine		
Composés phénoliques	Acide gallique, Hispidine, Ispolone, Litéoline	<i>P.vera</i>	Graine et peau	Tomaino et al., 2010
		<i>P.lentiscus</i>	Feuilles	Romani et al., 2002
		<i>P.atlantica</i>	Galle, Feuilles	Yousfi et al., 2009
	Acide Digallique	<i>P.lentiscus</i>	Fruits	Bhourri et al., 2010
	Catéchine	<i>P.vera</i>	Graine et peau	Tomaino et al., 2010
		<i>P.lentiscus</i>	Feuilles	Romani et al., 2002
	Quercetin-3-glucoside	<i>P.atlantica</i>	Feuilles	Kawashty et al., 2000
	Quercetin-3-Orutinoside	<i>P.vera</i>	Graine et peau	Tomaino et al., 2010
	Luteolin			
	3- Methoxycarpachromene	<i>P.atlantica</i>	Parties aériennes	Adams et al., 2009
	Myricetin-3-glucoside	<i>P. khinjuk</i>	Parties aériennes	Kawashty et al., 2000
3-méthoxycarpachromène	<i>P.atlantica</i>	Parties aériennes	Adams et al., 2009	
Acides gras	Les acides gras repondus dans le reigne vegetale			Yousfi et al., 2002, 2003, 2005
		<i>P.atlantica</i>	Fruits	Satil et al., 2003
				Farhoosh et al., 2008

Références bibliographiques

- Adams M., Plitzko I., Kaiser M., Brunb R., Hamburger M. (2009). HPLC-profiling for antiplasmodial compounds—3-Methoxycarpachromene from *Pistacia atlantica*. *Phytochemistry Letters*.2. Issue 4: 159-162
- Aissi, O., Boussaid, M., Messaoud, C., (2016). Essential oil composition in natural populations of *Pistacia lentiscus* L. from Tunisia: Effect of ecological factors and incidence on antioxidant and antiacetylcholinesterase activities. *Ind. Crops Prod.* 91, 56-65.
- Ait Said S., Fernandez C., Greff S., Derridj A., Gauquelin T., and Mevy J.-P., (2011). “Inter-population variability of leaf morphoanatomical and terpenoid patterns of *Pistacia atlantica* Desf. ssp. *atlantica* growing along an aridity gradient in Algeria,” *Flora*, vol. 206, no. 4, pp. 397–405.
- Amiri M, Kazerouni F, Namaki S, Darbandi H T, Rahimipour H, Boroumand N, Barghi S, Ebrahimi N, and Gheibi Hayat S M. (2016). Cytotoxic Effects of the Ethanol Bane Skin Extract in Human Prostate Cancer Pc3 Cells. *Iran J Cancer Prev*; 9(2): e4755.
- Arab, K., Bouchenak, O., Yahiaoui, K. (2014). Phytochemical study and evaluation of the antimicrobial and antioxidant activity of essential oils and phenolic compounds of *Pistacia lentiscus*. *Journal of Fundamental and Applied Science.* 6, 79-93.
- Asghar-Hatamnia, A. Abbaspour, N., Darvichzadeh, R. (2014). Antioxydant activity and phenolic profile of different parts of bene (*Pistacia atlantica Subsp kurdica*) fruits. *Food chem.* 145 : 306-311.
- Ashkvandi Z. J, Yousefi Shirazi S, Rezaeifar S , Hamedi A , Erfani N.(2019). Cytotoxic Effects of *Pistacia Atlantica* (Baneh) Fruit Extract on Human KB Cancer Cell Line. *Acta Medica (Hradec Králové)* 2019; 62(1): 30–34
- Assimopoulou A. N. and Papageorgiou V. P., (2005). “GC-MS analysis of penta- and tetracyclic triterpenes from resins of *Pistacia* species. Part I. *Pistacia lentiscus* var. *Chia*,” *Biomedical Chromatography*, vol. 19, no. 4, pp. 285–311.
- Baba Aissa, F. (2000). *Encyclopédie des plantes utiles : Flore d'Algérie et du Maghreb*. Ed : EDAS. 217.
- Bachrouch. O, Msaada. K, Aidiwannes. W, Talou. T, Ksouri. R, Salem. N, Abderraba. M, Marzouk. B. (2013). Variations in composition and antioxidant activity of Tunisian *Pistacia lentiscus* L. leaf essential oil. *Plant Biosystems*.
- Baradaran A, Nasri H, Rafieian-Kopaei M. (2014) Oxidative stress and hypertension: Possibility of hypertension therapy with antioxidants. *Journal of Research in Medical Sciences*,19(4).
- Barra, A., Coroneo, V., Dessi, S., Cabras, P. Angioni, A. (2007). Characterization of the volatile constituents in the essential oil of *Pistacia lentiscus* L. from different origins and its antifungal and antioxidant activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55,7093-7098.
- Barrero. A. F, Herrador M. M, Arteaga. J. R et al., (2005). “Chemical composition of the essential oils of *Pistacia atlantica* Desf,” *Journal of Essential Oil Research*, vol. 17, no. 1, pp. 52–54.

- Belhadj S., Derridj A., Auda Y., Gers C., Gauquelin T., (2008). Analyse de la variabilité morphologique chez huit populations spontanées de *Pistacia atlantica* en Algérie. *Botany*, 86 : 520-532
- Belyagoubi-Benhammou, N., Belyagoubi, L., El Zerey-Belaskri, A., Zitouni, A., Ghembaza, N., Benhassaini, H., Atik-Bekkara, F., Piras, A., Falconieri, D., Rosa, A., (2018). Fatty acid composition and antioxidant activity of *Pistacia lentiscus* L. fruit fatty oil from Algeria. *Journal of Food Measurement and Characterization* 12, 1408–1412.
- Benabdallah F.Z., Kouamé R.O., El Bentchikou M., Zellagui A., Gherraf N. (2017). Études ethnobotanique, phytochimique et valorisation de l'activité antimicrobienne des feuilles et de l'oléorésine du pistachier de l'atlas (*Pistacia atlantica* Desf.). *Phytothérapie* volume 15, pages 222–229
- Benahmed Z, Yousfi M, Viaene J, Dejaegher B, Demeyer K, Mangelings D, Vander Heyden Y. (2018). Potentially antidiabetic and antihypertensive compounds identified from *Pistacia atlantica* leaf extracts by LC fingerprinting. *J Pharm Biomed Anal.* 5;149:547-556.
- Benahmed, Z., Yousfi, M., Viaene, J., Dejaegher, B., Demeyer, K., Mangelings, D., & Vander Heyden, Y. (2017). Seasonal, gender and regional variations in total phenolic, flavonoid, and condensed tannins contents and in antioxidant properties from *Pistacia atlantica* ssp. leaves. *Pharmaceutical biology*, 55(1), 1185-1194.
- Benamar H, Rached W, Derdour A, Marouf A. (2010). Screening of Algerian Medicinal Plants for Acetylcholinesterase Inhibitory Activity. *Journal of Biological Sciences*, ,10(1).
- Benhammou N, Atik Bekkara F, Kadifkova P. (2007). Antiradical capacity of the phenolic compounds of *Pistacia lentiscus* L. and *Pistacia atlantica* Desf. *Advances in Food Sciences* ; 29(3): 155-161.
- Benhammou N., Atik Bekkara F. and Panovska T.K., (2008). Antioxidant and antimicrobial activities of the *Pistacia lentiscus* and *Pistacia atlantica* extracts. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 2(2): 22-28.
- Benhssaini H. et Belkhodja M., (2004). Le pistachier de l'Atlas en Algérie entre la survie et disparition. *La feuille et l'aiguille*, 54: 1-2.
- Bentireche F, Guenane H, Yousfi M. (2019). Fatty acids, the unsaponifiable matter, and polyphenols as criteria to distinguish *Pistacia atlantica* unripe fruit oil. *J Am Oil Chem Soc.*
- Bhourri W, Derbel S, Skandrani I, Boubaker J, Bouhlel I, Sghaier MB. (2010). Study of genotoxic, antigenotoxic and antioxidant activities of the digallic acid isolated from *Pistacia lentiscus* fruits *Toxicology in Vitro*, 24(2),509-15.
- Bozorgi M, Memariani Z, Mobli M, Salehi Surmaghi MH, Shams-Ardekani MR, 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*, ID 219815.

- Chelghoum, M., Guenane, H., Harrat, M., & Yousfi, M. (2020). Total Tocopherols, Carotenoids, and Fatty Acids Content Variation of *Pistacia atlantica* from Different Organs' Crude Oils and Their Antioxidant Activity during Development Stages. *Chemistry & Biodiversity*, 17(9), e2000117.
- Congiu R., Falconier D. i, Marongiu B., Piras A., and Porcedda S. (2002). "Extraction and isolation of *Pistacia lentiscus* L. essential oil by supercritical CO₂," *Flavour and Fragrance Journal*, vol. 17, no. 4, pp. 239–244.
- Couladis M, Ozcan M, Tzakou O, Akgul A. (2003). Comparative essential oil composition of various parts of the turpentine tree (*Pistacia terebinthus* L.) growing wild in Turkey. *J Sci Food Agric.*;83(2):136–8.
- Delazar A, Reid R, Sarker S. (2004). GC-MS analysis of the essential oil from the oleoresin of *Pistacia atlantica* VAR. *mutica*. *Chemistry of Natural Compounds*, ,40(1),24-7.
- Djenidi. H (2012). Etude du pistachier de l'Atlas (*Pistacia atlantica* Desf.): essais de germination, extraction des polyphénols et activité antimicrobienne. Mémoire de magister. Université de Mohamed KHEIDER. Biskra.
- Douissa FB, Hayder N, Chekir-Ghedira L, Hammami M, Ghedira K, Mariotte AM, (2005). New study of the essential oil from leaves of *Pistacia lentiscus* L. (Anacardiaceae) from Tunisia. *Flavour Frag J*; 20(4): 410-4.
- Duru M, Cakir A, Kordali S, Zengin H, Harmandar M, Izumi S. (2003) Chemical composition and antifungal properties of essential oils of three *Pistacia* species grown in Turkey. *Fitoterapia*, ,74(1),170-6. Edition. 51, 8876-8880.
- Farhoosh R, Tavakoli J, Khodaparast MHH. (2008). Chemical Composition and Oxidative Stability of Kernel Oils from Two Current Subspecies of *Pistacia atlantica* in Iran. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, ,85,723-729.
- Farhoosh, MHH Khodaparast, A Sharif. (2009). Bene hull oil as a highly stable and antioxidative vegetable oil *European journal of lipid science and technology*, 111(12), 1259-65.
- Farhoosh R, Kafrani MHT. (2010). Frying performance of the hull oil unsaponifiable matter of *Pistacia atlantica* subsp. *mutica*. *European journal of lipid science and technology*, ,112(3),343-8.
- Fennane M., Ibn Tattou M., Ouyahya A., El Oualidi J., (2007). Flore pratique du Maroc. Manuel de détermination des plantes vasculaires. 2ème éd. Institut Scientifique. Rabat. 636 p.
- Flamini. G, Bader. A, Cioni. P. L, Katbeh-Bader. A, and Morelli. I, (2004). "Composition of the essential oil of leaves, galls, and ripe and unripe fruits of Jordanian *Pistacia palaestina* Boiss," *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, vol. 52, no. 3, pp. 572–576.
- Gardeli. C, Vassiliki. P, Athanasios. M, Kibouris. T, and Komaitis. M. (2008). "Essential oil composition of *Pistacia lentiscus* L. and *Myrtus communis* L : evaluation of antioxidant capacity of methanolic extracts," *Food Chemistry*, vol. 107, no. 3, pp. 1120– 1130.

- Gerchman, Y., Inbar, M. (2012). Distinct antimicrobial activities in aphid galls on *Pistacia atlantica* (2011). *Plant Signal Behav.* 6(12): 2008.
- Gourine, N., Yousfi, M., Nadjemi, B., & Bombarda, I. (2009). Chemical composition and antioxidant activity of essential oil of leaves of *Pistacia atlantica* Desf. from Algeria. *Asian Journal of Chemistry*, 21(2), 1249-1257.
- Gourine, N., Yousfi, M., Bombarda, I., Nadjemi, B., P. Stocker., Gaydou, E. (2010). Antioxidant activities and chemical composition of essential oil of *Pistacia atlantica* from Algeria. *Industrial Crops and Products* 31, 203–208.
- Guenane, H., Bentireche, F., Bellakhdar, A., Ould Elhadj, M.D., Yousfi, M., (2017). Total tocopherol content and antioxidant activity of fruit oil from *Pistacia atlantica* Desf. growing wild in Algeria. *Der Pharma Chemica* 9, 153-157.
- Gwala PE. The anti-platelet aggregation activity of *Rapanea melanophloeos*-A Zulu medicinal plant 2011.
- Harrat, M., Benalia, M., Gourine, N., Yousfi, M., (2018). Variability of chemical composition of fatty acids, tocopherols and the antioxidant activity of the lipids from the leaves of *Pistacia lentiscus* L. from Algeria. *Med. J. Nutritio.n Metab.* 11, 199-215.
- Hashemnia M., Nikousefat Z., Yazdani-Rostam M. (2015). Antidiabetic effect of *Pistacia atlantica* and *Amygdalus scoparia* in streptozotocin-induced diabetic mice. *Comparative Clinical Pathology*. 10.1007/s00580-015-206
- Hayder N, Ben Ammar R, Abdelwahed A, Kilani S, Mahmoud A, Ben Chibani J. (2005). Antibacterial and antimutagenic activity of extracts and essential oil from (Tunisian) *Pistacia lentiscus*. *Toxicological & Environmental Chemistry* ,87(4),567-73.
- Hefied, F., Ben Ahmed, Z., & Yousfi, M. (2020). In vitro antioxidant and α -amylase inhibitory potential of methanolic and lipid fractions from *Pistacia atlantica* Desf. galls. *Journal of Food Processing and Preservation*, e14956.
- JN Roitman, GB Merrill, JJ Beck. (2011) Survey of ex situ fruit and leaf volatiles from several *Pistacia* cultivars grown in California. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 91(5),934-42
- Kasabri V, Afifi FU, Hamdan I. (2011). In vitro and in vivo acute antihyperglycemic effects of five selected indigenous plants from Jordan used in traditional medicine. *Journal of ethnopharmacology* ,133(2),888-96.
- Kaska N., Caglar S. and Kafkas S., (1996). Genetic diversity and germplasm conservation of *Pistacia* species in Turkey. In: Workshop “Taxonomy, distribution, conservation and uses of *Pistacia* genetic resources”, Padulosi S., Caruso T. and Barone E., Palermo, Italy, 1995. IPGRI, Rome, Italy, pp: 46-50.
- Kawashty S, Mosharafa S, El-Gibali M, Saleh N. (2000). The flavonoids of four *Pistacia* species in Egypt. *Biochemical Systematics and Ecology*, 28(9),915-7.

- Khalidi A. and Khouja M.K., (1996). Atlas pistachio (*Pistacia atlantica* Desf.). North Africa taxonomy, geographical distribution, utilisation and conservation. In: Workshop "Taxonomy, distribution, conservation and uses of *Pistacia* genetic resources", Padulosi S., Caruso T. and Barone S. Palermo, Italy, 1995. IPGRI, Rome, Italy, pp: 57-62.
- Maamri, S. (2008). Etude de *Pistacia atlantica* de deux régions de sud algérien : dosage des lipides, dosage des polyphénols, essais antileishmaniens. Mémoire de magister. Université M'HAMED BOUGARA Boumerdes. 108p.
- Magkouta, S., Stathopoulos, G. T., Psallidas, I. Papapetropoulos, A., Kolisis, F.N., Roussos, C., Loutrari, H. (2009). Protective effects of mastic oil from *Pistacia lentiscus* variation chia against experimental growth of lewis lung carcinoma. *Nutrition and Cancer*. 61, 640-648.
- Mecherara-Idjeri. S, Hassani. A, Castola. V, and Casanova. J. (2008). "Composition and chemical variability of the essential oil from *Pistacia lentiscus* L. growing wild in Algeria part I: leaf oil," *Journal of Essential Oil Research*, vol. 20, no. 2, pp. 32–38.
- Mecherara-Idjeri. S, Hassani. A, Castola. V, and Casanova. J, "Composition and chemical variability of the essential oil from *Pistacia lentiscus* L. growing wild in Algeria part II: fruit oil," *Journal of Essential Oil Research*, vol. 20, no. 2, pp. 104–107, 2008.
- Monjauze A, (1968). Répartition et écologie de *Pistacia Atlantica* Desf. En Algérie. *Bulletin de la société de l'histoire naturelle de l'Afrique du Nord*. 56 :1-127.
- Monjauze A., (1980). Connaissance du bétoum *Pistacia atlantica* Desf. *Biologie et forêt*. *Revue Forestière Française*, 4 : 357-363.
- Orhan, I. E., Senol, F. S., Gulpinar, A. R., Sekeroglu, N., Kartal, M., Sener, B. (2012). Neuroprotective potential of some terebinth coffee brands and the unprocessed fruits of *Pistacia terebinthus* L. and their fatty and essential oil analyses. *Food Chemistry*. 130, 882-888.
- Özcan, M. M., Tzakou, O., & Couladis, M. (2009). Essential oil composition of the turpentine tree (*Pistacia terebinthus* L.) fruits growing wild in Turkey. *Food Chemistry*, 114(1), 282-285.
- Ozenda P., (1983). Flore du Sahara. 2ème éd. Centre national de la recherche scientifique, Paris, France.
- Quézel P. et Médail F., (2003). *Ecologie et biogéographie des forêts du bassin méditerranéen*. Collection Environnement. Elsevier, Paris, France.
- Quézel P., Santa S., (1963). *Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales*. Tome 2. Centre national de la recherche scientifique, Paris, France.
- Rezaei PF, Fouladdel S, Hassani S, Yousefbeyk F, Ghaffari SM, Amin G. (2012). Induction of apoptosis and cell cycle arrest by pericarp polyphenol-rich extract of Baneh in human colon carcinoma HT29 cells. *Food and Chemical Toxicology*, 50(3),1054-9.

- Romani A., Pinelli P., Galardi C., Mulinacci N., and Tattini M., (2002). "Identification and quantification of galloyl derivatives, flavonoid glycosides and anthocyanins in leaves of *Pistacia lentiscus* L.," *Phytochemical Analysis*, vol. 13, no. 2, pp. 79–86.
- Satil F, Azcan N, Baser K. (2003). Fatty Acid Composition of Pistachio Nuts in Turkey. *Chemistry of natural compounds*, ,39(4),322-4.
- Sharifi M. S. and Hazell S. L., (2012). "Isolation, analysis and antimicrobial activity of the acidic fractions of mastic, Kurdica, Mutica and Cabolica gums from Genus *Pistacia*," *Global Journal of Health Science*, vol. 4, no. 1, pp. 217–228.
- Sheibani A., (1996). Distribution, use and conservation of pistachio in Iran. In: Workshop "Taxonomy, distribution, conservation and uses of *Pistacia* genetic resources", Padulosi S., Caruso T. and Barone E., Palermo, Italy, 1995. IPGRI, Rome, Italy, pp: 51- 56.
- Sifi, I., & Yousfi, M. (2020). Activité antimicrobienne de l'huile essentielle de galles du Pistachier de l'Atlas (*Pistacia atlantica* Desf.) en Algérie. *Phytothérapie*, 18(6), 399-406.
- Taran, M., Mohebal, M., and Esmaeli, J. (2010). In Vivo Efficacy of Gum Obtained *Pistacia Atlantica* in Experimental Treatment of Cutaneous Leishmaniasis. *Iran J Public Health*. 39(1): 36–41
- Tomaino A., Martorana M., Arcoraci T., Monteleone D., Giovinazzo C., and Saija A. (2010). "Antioxidant activity and phenolic profile of pistachio (*Pistacia vera* L., variety Bronte) seeds and skins," *Biochimie*, vol. 92, no. 9, pp. 1115–1122,
- Trabelsi H, Cherif OA, Sakouhi F, Villeneuve P, Renaud J, Barouh N, Boukhchina S, Mayer P. (2012). Total lipid content, fatty acids and 4-desmethylsterols accumulation in developing fruit of *Pistacia lentiscus* L. growing wild in Tunisia *Food chemistry*, 131(2),434-40.
- Tsokou. A, Georgopoulou. K, Melliou. E, Magiatis. P, and Tsitsa. E, (2007). "Composition and enantiomeric analysis of the essential oil of the fruits and the leaves of *Pistacia vera* from Greece," *Molecules*, vol. 12, no. 6, pp. 1233–1239.
- Tutin T.G., Heywood V.H., Burgess N.A., (1968). *Flora Europaea*. Cambridge University Press, Cambridge, UK, vol 2, p. 237.
- Tzakou O, Bazos I, Yannitsaros A. (2007). Volatile metabolites of *Pistacia atlantica* Desf. from Greece. *Flavour and fragrance journal*, ,22(5),358-62.
- Yaaqobi A., El Hafid L., Haloui B., (2009). Etude biologique de *Pistacia atlantica* Desf. de la région orientale du Maroc, *Biomatec Echo*, 3 : 39-49.
- Yousfi M, Nedjmi B, Bellal R, Ben Bertal D, Palla G. (2002). Fatty Acids and Sterols of *Pistacia atlantica* Fruit Oil. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 79(10),1049-50.

- Yousfi M., Djeridane A., Bombarda I., Hamia C., Duhem B., and Gaydou E. M., (2009). "Isolation and characterization of a new hispolone derivative from antioxidant extracts of *Pistacia atlantica*," *Phytotherapy Research*, vol. 23, no. 9, pp. 1237–1242,
- Yuan, K., Jiang, F., Sahli, Z., Achard, M., Roisnel, T., C Bruneau. (2012). Iridiumcatalyzed oxidant-free dehydrogenative C-H bondfunctionalization: selective preparation of n-arylpiperidines through tandem hydrogen transfers. *Angewandte Chemie International Edition*. 51, 8876-8880.
- Zitouni A. Belyagoubi-Benhammou N, Ghembaza N, Toul F, Atik-Bekkara F. (2016). Assessment of Phytochemical Composition and Antioxidant Properties of Extracts from the Leaf, Stem, Fruit and Root of *Pistacia lentiscus* L. *International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research*. 8(4); 627-633.
- Zohary M., (1952). A monographical study of the genus *Pistacia*. J. series. Vol.5. *Palestine Journ Bot*, 4 : 187–228.
- Zohary M., (1987). *Flora Palaestina*. Platanaceae to Umbelliferae. Second printing. Israel Academy of Sciences and Humanities, 2: 296–30.

Chapitre 2

Généralités sur les lipides, les
composés phénoliques et l'activité
antioxydante

1. Généralités sur Les lipides

Les lipides représentent une famille hétérogène de molécules organiques insolubles dans l'eau et dans les solvants polaires et solubles dans les solvants non polaires tels que les hydrocarbures et le chloroforme. Ils comprennent les graisses, les huiles ainsi que les phospholipides et les glycolipides qui constituent les bicouches membranaires. Les stérols (alcools stérols) et les molécules qui comportent une grande chaîne d'hydrocarbures tels que les pigments chlorophylliens ou les caroténoïdes, bien qu'ils soient chimiquement différents, sont considérés comme des lipides sur la base de leur solubilité (**William G ;2003**).

1.1. Classification

Il existe, étant donné la complexité de cette famille de molécules, plusieurs classifications dont l'une des plus importantes est celle qui repose sur la structure ; on distingue ainsi (**Brigitte et al., 2008**) :

1.1.1. Lipides vrais

Des esters d'acides gras et d'alcool. Ils sont saponifiables, c'est-à-dire qu'ils forment des savons lors de leur hydrolyse par une base forte en milieu alcoolique. Ils se subdivisent en lipides simples et lipides complexes :

a) Lipides simples

Composés uniquement de carbone, d'hydrogène et d'oxygène, parmi ces lipides simples, nous trouvons les glycérides, les cériques et les stérides.

- **Glycérides**

Des graisses neutres hydrophobes, insolubles dans l'eau, et dont le point de fusion est d'autant plus élevé que le taux d'acides gras insaturés entrant dans leur composition est plus faible. Leurs principales propriétés chimiques sont dues aux fonctions esters, à la chaîne aliphatique de l'acide gras et, surtout, aux doubles liaisons.

Les glycérides sont donc des esters du glycérol et des acides gras. Ils sont présents dans la quasi-totalité des tissus de tous les êtres vivants. Ils sont particulièrement abondants dans le tissu adipeux, les triglycérides constituant la principale forme de stockage des lipides (**William G. ;2003**). (Figure I.3).

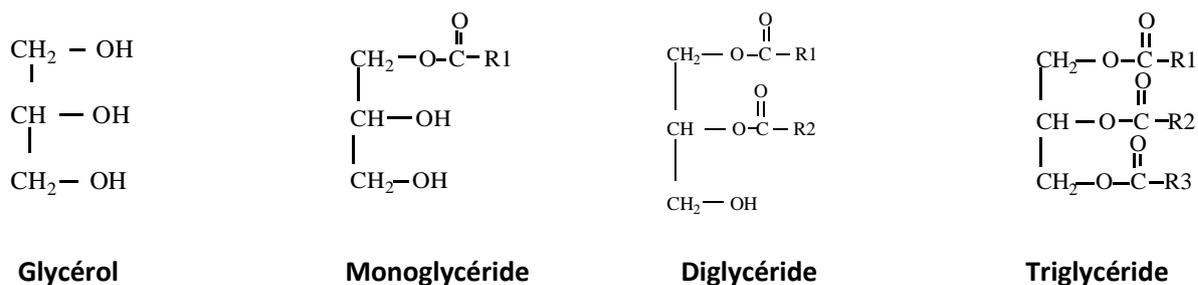


Figure I.3 : Les glycérides

- **Cérides**

Les cérides sont les principaux constituants des cires animales ou végétales. L'alcool estérifiant l'acide gras n'est plus de glycérol mais un alcool à longue chaîne. Les acides gras présents sont en général saturés, rarement insaturés et très rarement hydroxylés. (**Brigitte et al., 2008, Charles et al., 2003**).

Céride = acide gras + alcool à longue chaîne

- **Stérides**

Les stérides sont des esters d'acide gras et de stérol, ils se rattachent à l'enchaînement biochimique ayant pour base l'isoprène actif (**Brigitte et al., 2008 ; Charles et al., 2003**).

Stéride = acide gras + stérol

b) Lipides complexes

Les lipides complexes sont également dénommés hétérolipides, leur molécule renferme non seulement du Carbone, de l'oxygène et de l'hydrogène, mais aussi de l'azote et du phosphore.

Ils comprennent essentiellement deux familles : les glycérophospholipides et les sphingolipides.

- **Glycérophospholipides**

Les glycérophospholipides, encore appelés phospholipides ou phosphoglycérides, résultent de l'association d'acide gras et d'acide phosphatidique (**Brigitte et al., 2008**)

Glycérophospholipide = acide gras + acide phosphatique en position -3 du glycérol.

- **Sphingolipides**

Comparées au glycérophospholipides les glycolipides ont au lieu de glycérol et de son groupement acyle en position 1 un aminoalcool complexe, la sphingosine (**Brigitte et al., 2008**).

1.1.2. Composés à caractères lipidiques

Ce sont les composés naturels qui ne font pas partie des lipides vrais (liaison avec des acides gras, saponifiables) mais qui en possèdent des propriétés (physiques et chimiques), tout particulièrement la solubilité : insolubles dans l'eau et solubles dans les solvants organiques apolaires. Ils se divisent en Icosanoïdes et Isoprénoïdes.

- **Icosanoïdes**

Dérivés d'un acide gras à 20 atomes de carbone : prostaglandines, leucotriènes, thromboxanes, ils jouent un rôle de médiateurs chimiques.

- **Isoprénoïdes**

Appelés aussi lipides isopréniques, avec les terpènes (vitamines liposolubles, composés aromatiques d'huiles essentielles, hormones d'insectes) et les stéroïdes (le cholestérol, Les acides biliaires, la vitamine D, les hormones stéroïdes). (**Brigitte et al., 2008**).

1.1.3. Constituants mineurs :

Les huiles brutes renferment à côté des triglycérides des constituants mineurs comme les stérols, les tocophérols, les hydrocarbures et les caroténoïdes.

1.1.3.1. Tocophérols

a) Structure chimique

Les tocophérols constituent une fraction mineure de l'insaponifiable des corps gras. Ce sont des composés phénoliques possédant un noyau chromane portant en carbone 2 une chaîne latérale tri-isopropénique saturée dans le cas des tocophérols et tri-insaturée dans le cas des tocotriénols. La substitution du noyau aromatique par des groupements méthyles conduit aux quatre combinaisons naturelles données dans la Figure I.4.



Composés			
R ₁	R ₂	A	B
Me	Me	α-tocophérol	α-tocotriénol
H	Me	β-tocophérol	β- tocotriénol
Me	H	γ-tocophérol	γ- tocotriénol
H	H	δ-tocophérol	δ- tocotriénol

Figure I.4 : isomères des tocophérols

b) Rôle biologique de la vitamine E

La vitamine E est connue comme antioxydant, grâce à sa capacité à inhiber les peroxydations lipidiques. (Cheeseman et slatre, 1993). A cet égard, elle participe avec 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 des radicaux libres (Cuvelier et al., 2003). Elle stabilise les membranes cellulaires parce qu'elle participe à la formation des phospholipides membranaire. La vitamine E a une action sur l'agrégation plaquettaire. Les plaquettes sont riches en vitamine E et le déficit en ce dernier induit des microthromboses. En plus la vitamine E démunira l'activité de la lipoxygénase des plaquettes. Également, elle a une action sur le métabolisme des globules rouges. La Vitamine E protège les membranes érythrocytaires contre l'action de la peroxydase de l'hémoglobine sur les AG désaturés. Elle Exerce un effet régulateur sur la synthèse de l'hème et des enzymes héminique comme le cytochrome et la catalase (Frènot et Vierling, 1997).

1.1.3.2. Stérols

a) Structure chimique

Ce sont des composés tétra cyclique comportant le plus souvent 27, ou 28 et même parfois 29 atomes de carbone, ils diffèrent de leurs précurseurs biosynthétiques. Le noyau tétra cyclique possède le plus souvent une double liaison localisée fréquemment en position 5, mais que l'on peut rencontrer en position 7 (Figure I.5). La chaîne latérale R possède huit à neuf ou dix atomes de carbone ; elle peut être saturée où renfermer en 22,24(25) ,24(28) ou 25(27) une ou deux doubles liaisons qui ne sont jamais conjuguées. (Naudet ,1992)

Les stérols constituent une fraction importante de l'insaponifiable. (Naudet, 1992). Le stérol le plus abondant dans le règne végétal et sans conteste les sitostérols, suivi du campestérol, du stigmastérol, de l'isofucostérol et dans règne animal en trouve le cholestérol.

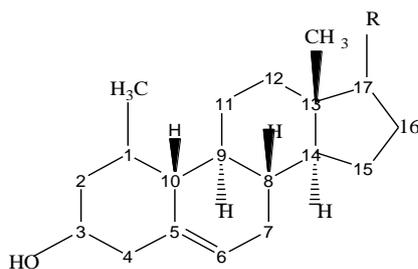


Figure I.5 : Structure de base des Stérols (Naudet, 1992).

b) Rôle biologique des stérols

Les stérols jouent un rôle très important dans le corps humain ce sont les précurseurs des hormones stéroïdiennes (hormone génitale ou corticosurrénal) et acide biliaires, vitamine D, hétéroside cardiotonique de la digital et du strophanthus, saponine, certaine composante du venin de crapaud. (Biochimie médical). Parmi les stérols le cholestérol joue un rôle important, intervient dans les précurseurs de la vitamine D₃ et les précurseurs des sels biliaires (synthétise par le foie et accumule dans les biles) (Frènot et Vierling, 1997).

1.2. Rôle biologique des lipides

Dans l'organisme, les lipides ont 4 fonctions principales :

- ✓ **Réserve d'énergie** : stockés sous forme de triglycérides dans les tissus adipeux, les lipides constituent ainsi une réserve énergétique mobilisable (1g de lipides donne environ 9,3 Kcal) (**Lagarde, 2003; Chos, 2005**).
- ✓ **Un rôle structural** : les acides gras servent à la synthèse d'autres lipides, notamment les phospholipides qui forment les membranes autour des cellules et des organelles. La composition en acides gras de ces phospholipides donne aux membranes des propriétés physiques particulières (élasticité, viscosité) (**Yvon, 1996**).
- ✓ **Un rôle de messager** : les acides gras sont les précurseurs de plusieurs messagers intra et extracellulaires. Par exemple, l'acide arachidonique est le précurseur des eïcosanoïdes, hormones intervenant dans l'inflammation, la coagulation sanguine (**Yvon, 1995**).
- ✓ **Un rôle de transport de vitamines** : les corps gras alimentaires véhiculent quatre vitamines liposolubles : A, D, E et K. (**Yvon, 1995**)

1.3. Acides gras

Les acides gras sont les constituants élémentaires des lipides. Ils sont composés d'une chaîne hydrocarbonée comportant à une extrémité un groupement méthyle CH_3 et à l'autre extrémité un groupement carboxyle COOH . Ils se définissent par leur nombre de carbone, leur degré d'insaturation (nombre de doubles liaisons) et la position des doubles liaisons. Ainsi 14:0 et 16:0 désignent un acide gras à respectivement 14 et 16 atomes de carbone et sans double liaison. 18:1n-9 et 18:1n-7 désignent un acide gras à 18 carbones et une double liaison. Pour ces deux acides gras, les doubles liaisons sont situées respectivement au 9ème et au 7ème carbone en partant de l'extrémité méthyle de la chaîne carbonée. Ceci est également noté 18:1_9 ou 18:1 ω 9 ou 18:1n-9. Les acides gras insaturés sont généralement sous la forme cis (= « du même côté » c'est-à-dire que leurs deux atomes d'hydrogène se trouvent du même côté du plan formé par la double liaison carbone). Les acides gras ont également un nom commun comme l'acide palmitique 16:0, l'acide oléique 18:1n-9, et l'acide linoléique 18:2n-6, leur nom dérivant de leur origine, comme ici, l'huile de palme, l'huile d'olive et l'huile de lin. Il existe également des noms dérivant de la nomenclature gréco-romaine comme l'acide eïcosapentaénoïque (EPA) 20:5n-3 et l'acide docosahexaénoïque (DHA) 22:6n-3.

1.3.1. Acides gras saturés (AGS)

Les acides gras saturés sont présents dans le règne animal y compris chez les poissons sous forme de chaîne carbonée allant de 14 à 24 carbones. Cependant les acides gras les plus abondants sont le 16 :0 et 18 :0, et dans une moindre mesure le 20 :0.

Exemple : Acide palmitique $\text{CH}_3 - (\text{CH}_2)_{14} - \text{COOH}$



Figure 1.6 : Acide palmitique

1.3.2. Acides gras mono-insaturés (AGMI)

Parmi les AGMI le 18:1n-9 et le 16:1n-7 sont les plus répandus dans la plupart des lipides du poisson. Cependant, le 20:1n-9 et le 22:1n-11 sont souvent retrouvés dans les lipides neutres, ces derniers dérivent des acides gras présents dans le zooplancton (Ackman, 1989).

1.3.3. Acides gras poly-insaturés (AGPI)

Les AGPI les plus abondants chez le poisson sont le 20:4n-6 et son précurseur le 18:4n-6, ainsi que le 20:5n-3 et 22:6n-3 et leur précurseur le 18:3n-3. Les poissons sont de loin les animaux pour lesquels la teneur en AGPI de la famille n-3 est la plus élevée, dans le filet elle varie de 15 à plus de 35% selon l'espèce. Dans le milieu naturel, la richesse en AGPI n-3 est liée à la composition du phytoplancton où ces acides gras représentent plus de 40% des lipides totaux. Ces AGPI n-3 sont conservés aux niveaux trophiques supérieurs : 15 à 20% dans le zooplancton et 20% chez le poisson (Sargent et al., 1989). Cependant, dans les écosystèmes d'eau douce, c'est le 18:3n-3 qui est majoritaire (9 à 15% des acides gras totaux) alors que dans les écosystèmes marins ce sont les AGPI à longue chaîne (20 carbones et plus) qui prédominent (25 à 38%) (Sargent et al., 1989). Cette différence a des répercussions sur les besoins et la synthèse des acides gras chez le poisson. En général, les poissons marins ont des teneurs plus élevées en AGPI longs que les poissons d'eau douce.

2. Généralités sur les composés phénoliques

Les métabolites secondaires sont des molécules organiques synthétisées par les végétaux à partir de métabolites primaires (acides aminés, hydrates de carbone) par diverses voies (**Makhloufi, 2013**). Ces composés sont souvent considérés comme n'étant pas essentiels à la vie de la plante (**Levasseur-Garcia et al., 2013**), mais plutôt interviennent dans les relations avec les stress biotiques, abiotiques ou améliorent l'efficacité de reproduction ; Dont ils participent à la protection de l'attaque des pathogènes ou des herbivores, attraction des pollinisateurs (**Guillon, 2010**), comme ils participent à des réponses allélopathiques, ils sont aussi des molécules très utiles pour l'homme, comme colorants, arômes, antibiotiques, herbicides, drogues... etc. (**Merzougui et Tadj, 2015**)

Parmi les polyphénols les plus abondants dans la nature, citons l'(-)-epicatechine (1), le Kaempferol (2), l'acide éllagique (3), l'acide cinnamique(4), la procyanidine B₁(5) (Figure I.7)

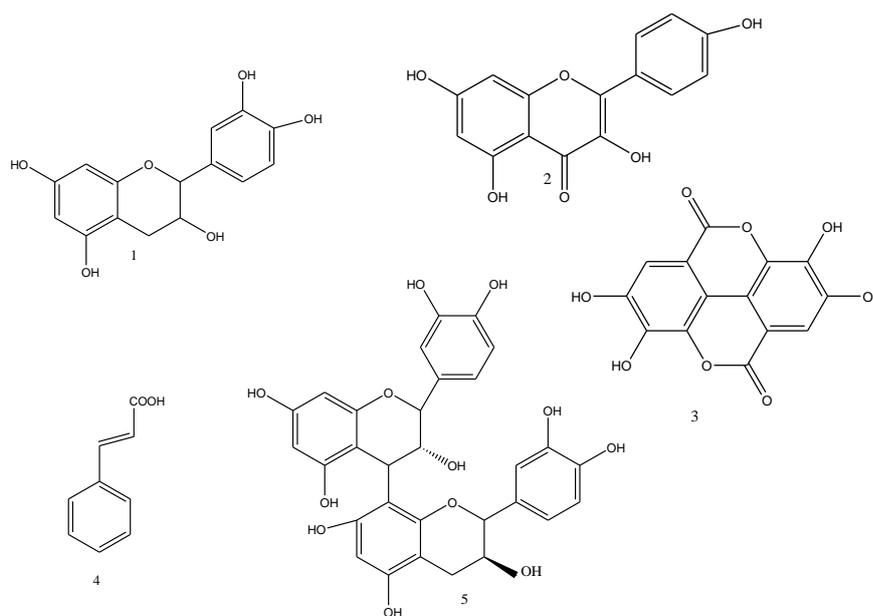


Figure I.7 : Les polyphénols les plus répandus dans la nature
(**Ribéreau, 1968**)

2.1. Classification

Les polyphénols forment un très vaste ensemble de substances chimiques, ils peuvent être classifiés selon le nombre et l'arrangement de leurs atomes de carbones (Tableau I.9) Ces molécules sont généralement trouvés conjuguées aux sucres et les acides organiques

Tableau I.9: Les principales classes de composés phénoliques (**Pengelly A., 2004**)

. Structure	Classe	Exemples
C6	Phénols simples	Phloroglucinol
C6-C1	Acide hydroxybenzoïques	Acide salicylique
C6-C2	Acides phényl-acétiques	2-hydroxyacetophenone
C6-C3	Acides cinnamiques	Acide sinapique
Coumarines		Esculétol
C6-C1-C6	Xanthone	Mangiférine
C6-C2-C6	Stilbenes	Pinosylvine
C6-C3-C6	Flavonoïdes	Naringenine
C6 ; C10 ; C14	Quinones	Naphtoquinone
C18	Betacyanines	-
Polymères	Lignanes ; Neolignane	Podophyllotoxine
Lignines	-	-
Tanins	-	-

2.1.1. Flavonoïdes

C'est le groupe le plus représentatif des composés phénoliques. Ces molécules ont des structures chimiques variées et des caractéristiques propres. Elles sont omniprésentes dans les fruits, les légumes, les graines, les boissons et d'autres parties de la plante (**Tsimogiannins et Oreopoulou, 2006**). Elles sont considérées comme des pigments quasi universels des végétaux qui peuvent participer dans les processus photo synthétiques (**Mukohata et al., 1978**), dans la régulation de gène et dans le métabolisme de croissance (**Havsteen, 2002**). Actuellement, environ de 4000 composés flavoniques sont connu (**Edenharder et Grünhage, 2003**) et ont tous le même squelette de base à quinze atomes de carbones qui sont arrangés à une configuration C6-C3-C6 de type phényl-2-benzopyrane ce qui est synonyme avec la structure 2-phényle chromane (Figure I.8) (**Yao et al., 2004**)

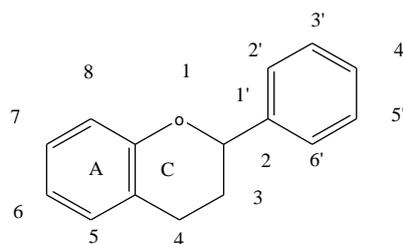


Figure I.8 : Structure chimique commune des flavonoïdes.

La nature chimique des flavonoïdes dépend de leur classe structurale, de degré d'hydroxylation et de méthylation, de degré de polymérisation, des substitutions et des conjugaisons sur le cycle C c'est-à-dire la présence : de double liaison C2-C3, du groupe 3-O et la fonction 4-oxo (Yao et al., 2004 ; Tsimogiannins et Oreopoulou, 2006). En basant sur leur squelette, les flavonoïdes peuvent être divisés en différentes classes : anthocyanidines ; flavonoles ; isoflavonoles ; flavones ; isoflavones ; flavanes ; isoflavanes ; flavanols ; isoflavanols ; flavanones ; isoflavanones ; aurones (Havsteen, 2002 ; Edenharder et Grünhage, 2003).

2.1.2. Anthocyanosides

Ce sont des pigments vacuolaires rouges, roses, mauves, pourpres, bleus ou violets de la plupart des fleurs et des fruits (Bruneton, 1993). Ils sont caractérisés par l'engagement de l'hydroxyle en position 3 dans une liaison hétérosidique (les anthocyanosides). Leurs génines (les anthocyanidols) sont des dérivés du cation 2-phényl-benzopyrylium plus communément appelé cation flavylum. Ces pigments représentent des signaux visuels qui attirent les animaux pollinisateurs (insectes, oiseaux)

2.1.3. Les tanins

Les tanins sont des substances présentes essentiellement dans les écorces. Ce sont des polymères (polyphénols) présent sous forme polymérisés, solubles dans l'eau et insolubles dans les solvants organiques apolaires (Aguilera-Carbo et al., 2008) et ayant des poids moléculaires compris entre 500-3000 (Doat 1978). Ils forment, après coagulation, des composés très stables avec les protéines. Ils ont la propriété de transformer la peau fraîche en un matériau imputrescible, le cuir (Vandi et al., 2016) ; Ils possèdent d'autres propriétés telles que l'aptitude à la précipitation des alcaloïdes, de la gélatine et d'autre protéines (Dibong et al., 2015).

2.2. Propriétés physico-chimiques des composés phénoliques

2.2.1. Propriétés physico-chimiques

Les polyphénols sont généralement des composés aromatiques solubles dans les solvants polaires tels que l'éthanol, le méthanol, le butanol, l'acétone, le diméthylsulfoxyde, l'eau, ... etc. (**Benkrief, 1990**). Les polyphénols moins polaires comme les isoflavones, les flavonones, les flavones et les flavonols sont plus solubles dans d'autres solvants tels que l'éther et le chloroforme (**Verykokidou-Vitsaropoulou et Vajias, 1986**).

2.2.2. Propriétés biologiques

Chez les plantes, les composés phénoliques sont impliqués dans différents processus comme la germination des graines et la croissance des plantes (**Marcheix et al., 2005**). Ces dernières années les recherches sur les composés phénoliques se sont accentuées en raison de leurs activités anti-inflammatoire, antibactérienne et antifongique, antioxydante et même anticancéreuse (**Montoro et al., 2005**).

2.2.3. Activité anti-inflammatoire

Les propriétés anti-inflammatoires des composés polyphénoliques peuvent être dues à leurs capacités d'inhiber des enzymes impliquées dans les processus inflammatoires (**Škerget et al., 2005**) et leurs activités antioxydantes. La matricaire, appelée également la camomille allemande ou camomille commune, est une plante médicinale employée pour ses propriétés antispasmodiques et anti-inflammatoire (**Marcheix et al., 2005**).

2.2.4. Activité antibactérienne

Les polyphénols notamment les flavonoïdes et les tanins sont reconnus par leur toxicité vis-à-vis des microorganismes (**Basli et al., 2012**).

2.2.5. Activité anticancéreuse

Les flavonoïdes et autres phénols peuvent jouer un rôle préventif dans le développement du cancer (**Genoux, 2011**). Ils interviennent dans l'étape d'initiation comme piègeurs des mutagènes électrophiles ou en stimulant la réparation de l'ADN muté. Durant les étapes de promotion et de progression, ils agissent comme des agents supprimeurs de tumeurs par différents mécanismes comme l'induction de l'apoptose et l'inhibition de la prolifération cellulaire (**Gerber et al., 2002**).

2.3. Polyphénols dans les plantes

A l'échelle de la cellule, les composés phénoliques sont principalement répartis dans deux compartiments : les vacuoles et la paroi. Dans les vacuoles, les polyphénols sont conjugués, avec des sucres ou des acides organiques, ce qui permet d'augmenter leur solubilité et de limiter leur toxicité pour la cellule. Au niveau de la paroi, on trouve surtout de la lignine et des flavonoïdes liés aux structures pariétales. Les composés phénoliques sont synthétisés dans le cytosol. Une partie des enzymes impliquées dans la biosynthèse des phénylpropanoïdes est liée aux membranes du réticulum endoplasmique, où elles sont organisées en métabolons (**Bénard, 2009**).

Au niveau tissulaire, la localisation des polyphénols est liée à leur rôle dans la plante et peut être très caractéristique. Au sein même des feuilles la répartition des composés est variable, par exemple les anthocyanes et les flavonoïdes sont majoritairement présents dans l'épiderme. Au niveau de la plante entière, il faut noter que certains composés ne sont accumulés que dans des organes bien définis. Chez la pomme par exemple, les composés phénoliques interviennent au niveau de la coloration de la peau via les anthocyanes, et dans la qualité organoleptique de la chair, notamment pour l'amertume ou l'astringence (**Bénard, 2009**).

Les composés phénoliques jouent un rôle important dans le métabolisme de la plante mais aussi peuvent réagir dans les interactions des plantes avec leur environnement biologique et physique (relations avec les bactéries, les champignons, les insectes, résistance aux UV). Les profils phénoliques des tissus végétaux sont connus pour être affectés par de nombreux facteurs, tels que le génotype, l'environnement, le stade de croissance, le moment de la récolte, les conditions de traitement et de stockage et la méthode d'analyse (**Vagiri et al., 2015**). Toutes les catégories de composés phénoliques sont impliquées dans les mécanismes de résistance (**Dicko et al., 2006**). Ils assurent la communication entre cellules, entre végétaux, entre végétaux et animaux (**Robert et al., 2000**).

3. Généralités sur l'activité antioxydante

Les cellules utilisent de nombreuses stratégies antioxydantes et consomment beaucoup d'énergie pour contrôler leur niveau d'espèces réactives de l'oxygène. Elles disposent de moyens de défense, les uns sont d'origine endogène, comme des enzymes, et d'autres sont apportés par l'alimentation. Les vitamines : E (tocophérol), C (ascorbate), Q (ubiquinone), ou les caroténoïdes qui sont apportés par les aliments, agissent en piégeant les radicaux et en captant l'électron célibataire, les transformant en molécules ou ions stables. La vitamine piègeuse va devenir un radical, puis sera soit détruite, soit régénérée par un autre système. De très nombreux composés alimentaires peuvent aussi avoir ce comportement : polyphénols, alcaloïdes, phytates (**Palazzetti et al., 2003**)

3.1. Stress oxydatif

3.1.1. Radicaux libres

Les radicaux libres sont omniprésents dans notre corps et sont générés par des processus physiologiques normaux y compris le métabolisme aérobie et de réponses inflammatoires, pour éliminer les microorganismes pathogènes envahisseurs. Les radicaux libres sont des espèces très réactives compte tenu de l'existence d'au moins un électron libre sur leur orbitale électronique externe (**Govindarajan et al., 2005**). Parce que les radicaux libres peuvent également causer des dommages cellulaires, plusieurs moyens de défense ont évolué pour protéger nos cellules contre les radicaux et pour réparer les dommages de l'ADN (**Hussain et al., 2003**).

3.1.2. Mécanisme de production et d'élimination des ROS dans l'organisme

Les espèces réactives de l'oxygène ROS à l'origine de la perturbation de l'homéostasie cellulaire peuvent être produites à la fois par des sources endogènes à travers le cytochrome P450 des mitochondries, les peroxysomes et les cellules inflammatoires, et par des sources exogènes tel que le rayonnement, l'ozone, l'hyperoxie et les xénobiotiques. Les mécanismes de défense contre la toxicité des espèces réactives de l'oxygène sont nombreux (**Govindarajan et al., 2005**) et proviennent de diverses sources également. La première source est endogène et est composée de protéines enzymatiques (Figure I. 9). Le complexe enzymatique superoxyde dismutase, la catalase et le glutathion peroxydase jouent un rôle indispensable dans cette défense (**Matés et Sánchez-Jiménez, 1999**). La seconde source, très importante, est l'alimentation et la médecine à travers lesquelles des petites molécules sont consommées. Ce sont les vitamines, les caroténoïdes, les flavonoïdes, les acides phénols, les coumarines,

les quinones, les alcaloïdes. Les parties les plus actives de ces molécules sont les hydroxyles libres, les noyaux aromatiques, les doubles liaisons éthyléniques souvent conjuguées, qui permettent de donner des électrons et de rester stables par mémorisation (**Heim et al., 2002**).

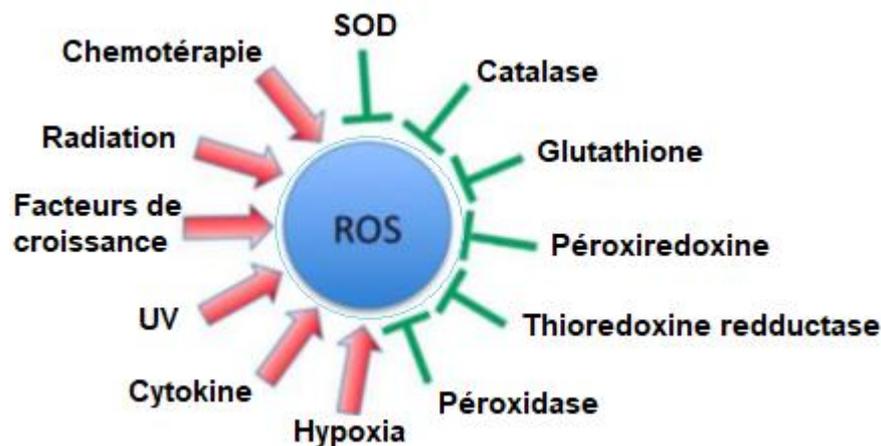


Figure I. 9 : Représentation schématique des divers activateurs et inhibiteurs de production d'espèces réactives de l'oxygène (**Reuter et al., 2010**).

3.2. Antioxydants

La production des RLs est régulée par notre organisme qui a développé des moyens de défense antioxydants de protection contre les effets potentiellement destructeurs des RLs. Un antioxydant peut être défini comme toute substance capable, à concentration relativement faible, d'entrer en compétition avec d'autres substrats oxydables et ainsi retarder ou empêcher l'oxydation de ces substrats (**Rahal et al., 2014**). Un antioxydant idéal devrait être aisément absorbé et éteindre des RLs, et chélate les métaux aux niveaux physiologiques appropriés. Quelques antioxydants peuvent agir l'un sur l'autre avec d'autres antioxydants régénérant leurs propriétés originales ; ce mécanisme désigné souvent sous le nom du « réseau antioxydant » (**Qusti et al., 2010**).

Les antioxydants sont naturellement présents dans presque toutes les plantes, tous les micro-organismes, les champignons et même dans les tissus animaux.

Les antioxydants synthétiques sont généralement préparés au laboratoire, et principalement à partir de composants chimiques. Il existe deux types d'antioxydants : antioxydants synthétiques et antioxydants naturels.

3.2.1. Antioxydants synthétiques

Pour faire face à ces attaques, les organismes ont développé des systèmes d'action antioxydante qui visent :

- ✓ A éliminer les espèces réactives de l'oxygène et les catalyseurs de leur formation.
- ✓ A induire la synthèse des antioxydants.
- ✓ A augmenter l'activité des systèmes de réparation et d'élimination des molécules endommagées.

Trois types d'enzymes antioxydantes sont mis en œuvre pour la destruction des espèces réactives de l'oxygène (**Pelletier et al., 2004**) :

- ✓ Les superoxyde dismutases (SOD) qui catalysent la dismutation de l'anion superoxyde en peroxyde d'hydrogène (**Droillard et al., 1990; Arisi et al., 1998**)
- ✓ La catalase qui catalyse la dismutation du peroxyde d'hydrogène en eau permettant l'élimination de celui-ci (**Yoshimoto et al., 2007; Nicholls, 2012**)
- ✓ La glutathion peroxydase (GPX) qui décompose aussi le peroxyde d'hydrogène en utilisant la glutathion comme donneur d'hydrogène (**Bédane, 2008**)

3.2.2. Antioxydants naturels

La vitamine C (Vit C) empêche l'oxydation des lipoprotéines de basse densité (LDL) produites par divers systèmes générateurs des ROS (neutrophiles activés, cellules endothéliales activées, myéloperoxydase) (**Limbach et Guillard, 2007**). La Vit C est hydrosoluble et localisé dans le cytosol et le fluide extracellulaire, elle capte directement l' $O_2^{\cdot-}$ et l' OH^{\cdot} (**Comhair et Erzurum, 2002 ; Peng et al., 2014**).

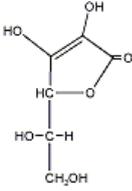
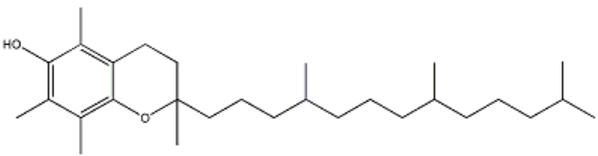
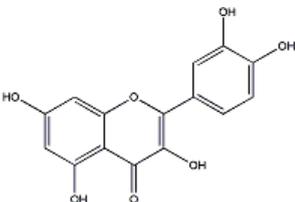
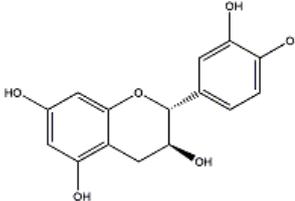
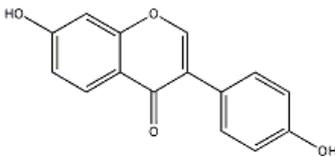
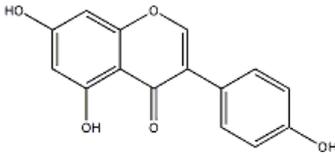
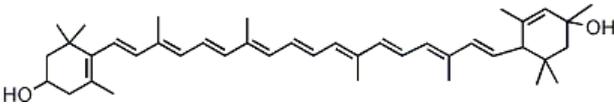
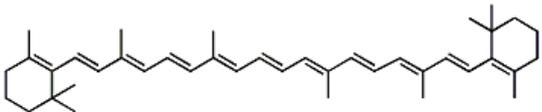
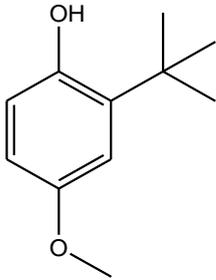
Les quatre isomères de tocophérol, α , β , γ et δ , ont une activité antioxydante variable (**Limbach et Guillard, 2007**). Mais la forme la plus active c'est α , elle est liposoluble et se fixe à la membrane cellulaire et inhibe la chaîne de réactions de peroxydation des lipides en capturant un radical lipidique peroxyde (LOO^{\cdot}). Elle devient à son tour un radical moins actif que le LOO^{\cdot} et pourra alors être pris en charge par une autre molécule antioxydante (**Evans, 2000**).

Les caroténoïdes, ce sont des pigments liposolubles jaunes, orangée à rouge, synthétisés par les plantes et les microorganismes. Les caroténoïdes sont capables d'inactiver

$^1\text{O}_2$ et les RLs en neutralisant l'électron non apparié, les transformant ainsi en molécules ou ions stables (**Tanumihardjo, 2013**).

Les polyphénols sont des métabolites secondaires ont des propriétés antioxydantes, et en particulier la classe des flavonoïdes. Les flavonoïdes peuvent agir de différentes façons dans les processus de régulation du stress oxydant : par capture directe des RLs, par chélation de métaux de transition comme le fer ou par inhibition de l'activité de la XO (**Li et al., 2014**). (Tableau I.10)

Tableau I.10: Des exemples des antioxydants

 <p>Vitamine C</p>	 <p>Vitamine E</p>
 <p>Quercétine</p>  <p>Catéchine</p>  <p>Génistéine</p>  <p>Daidzéine,</p>	 <p>β-carotène</p>  <p>Lutéine</p>  <p>BHA</p>

Références bibliographiques

- Ackman, R. G. (1989). *Marine Biogenic Lipids, Fats and Oils*. Florida, CRC Press
- Aguilera-Carbo, A., Augur, C., Prado-Barragan, L. A., Favela-Torres, E., and Aguilar, C. N. (2008). "Microbial production of ellagic acid and biodegradation of ellagitannins." *Applied microbiology and biotechnology*, 78(2), 189-199.
- Arisi, A.-C. M., Cornic, G., Jouanin, L. & Foyer, C. H. (1998). Overexpression of iron superoxide dismutase in transformed poplar modifies the regulation of photosynthesis at low CO₂ partial pressures or following exposure to the prooxidant herbicide methyl viologen. *Plant Physiology* 117 (2), 565-574.
- Basli, A., Chibane, M., Madani, K., and Oukil, N. (2012). "Activité antibactérienne des polyphénols extraits d'une plante médicinale de la flore d'Algérie : *Origanum glandulosum* Desf." *Phytothérapie*, 10(1), 2-9.
- Bédane, C. (2008). *Photodermatologie : Photobiologie cutanée, photoprotection et photothérapie*. Edition Wolters Kluwer France, p 20.
- Bénard, C. (2009). Etude de l'impact de la nutrition azotée et des conditions de culture sur le contenu en polyphénols chez la tomate. Thèse de Doctorat : Université de NANCY.
- Benkrief, R. (1990). Inventaire ethnobotanique des plantes médicinales de l'Est algérien: étude chimique de " *Hammada articulata*"(Moquin) Iljin ssp. *scoparia* Pomel. Etude chimique de 3 plantes néo-calédonniennes à monoterpénoïdes, Paris 5
- Brigitte C., Florence Hamon-Lorleac'h, Alain H., Lionel R., Serge C., 2008. Biochimie. In *Guide du préparateur en pharmacie*, Ed : Masson, Paris, p153-234
- Bruneton, J. (1993). *Pharmacognosie : Phytochimie, Plantes médicinales*. 2ème édition, Lavoisier Techniques & Documentation, Paris
- Charles A., Guy L., Laurent M., 2003. Lipides. In *biochimie alimentaire*, Ed : Dunod, paris, p51-71.
- Cheeseman, K.H. and Slater, T.F. (1993) An introduction to free-radical biochemistry. *British Medical Bulletin*, 49, 481-493.
- Chos , D. Riche. (2005). Apports de sécurité en lipides chez le sportif a haut niveau d'entraînement. *Science & sports*; 20 74–82.
- Comhair S.A.A., Erzurum S.C. (2002) Antioxidant responses to oxidant-mediated lung diseases. *American Journal Physiology Lung Cell. Molecular Physiology*, 283; 246-255
- Cuvelier c., Dotreppe o., Istasse l(2003). Chimie, sources alimentaires et dosage de la vitamine E. *Ann. Méd. Vét.*, 2003, 147, 315-324

- Dibong, S. D., Ottou, P. B. M., Vandi, D., Ndjib, R. C., Tchamaha, F. M., and Mpondo, E. M. (2015). "Ethnobotanique des plantes médicinales anti hémorroïdaires des marchés et villages du Centre et du Littoral Cameroun." *Journal of Applied Biosciences*, 96, 9072-9093.
- Dicko, M. H., Gruppen, H., Traoré, A. S., Voragen, A. G. J. & Van Berkel, W. J. H. (2006). Phenolic compounds and related enzymes as determinants of sorghum for food use. *Biotechnology and Molecular Biology Review* 1 (1), 21-38.
- Doat, J. (1978). "Les tanins dans les bois tropicaux." *Bois et Forêts des Tropiques*(182), 37-54
- Droillard, M.-J. & Paulin, A. (1990). Isozymes of Superoxide Dismutase in Mitochondria and Peroxisomes Isolated from Petals of Carnation (*Dianthus caryophyllus*) during Senescence. *Plant Physiology* 94 (3), 1187-1192.
- Edenharder, R., Grünhage, D. (2003). Free radical scavenging abilities of flavonoids as mechanism of protection against mutagenicity induced by tert-butyl hydroperoxide or cumene hydroperoxide in *Salmonella typhimurium* TA102. *Mutat. Res.*, 540: 1–18.
- Evans W.J. (2000) Vitamin E, vitamin C and exercise. *American Journal of Clinical Nutrition*, 72; 647-652.
- Frénot M., Vierling E. (1997). *Biochimie des aliments : diététique du sujet bien portant*. Vélizy (France) : Doin. 285 p. (Biosciences et Techniques).
- Genoux, E. (2011). Dérivés de flavonoïdes et de vérapamil comme ligands des transporteurs MRP1 et ABCG2: de la conception à l'activité anticancéreuse, Université de Grenoble.
- Gerber, M., Boutron-Ruault, M.-C., Hercberg, S., Riboli, E., Scalbert, A., and Siess, M.- H. (2002). "Actualités en cancérologie: fruits, légumes et cancers. Une synthèse du réseau Nacre." *Bulletin du cancer*, 89(3), 293-312.
- Govindarajan, R., Vijayakumar, M., Pushpangadan, P., 2005. Antioxidant approach to disease management and the role of "Rasayana" herbs of Ayurveda. *J. Ethnopharmacol.* 99, 165–178. doi:10.1016/j.jep.2005.02.035
- Guitton, Y. (2010). Diversité des composés terpéniques volatils au sein du genre *Lavandula*: aspects évolutifs et physiologiques, Université Jean Monnet-Saint-Etienne.
- Havsteen, B.H. (2002). The biochemistry and medical significance of the flavonoids. *Pharmacol. Therapeut.*, 96: 67– 202
- Heim, K.E., Tagliaferro, A.R., Bobilya, D.J., 2002. Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity relationships. *J. Nutr. Biochem.* 13, 572–584.
- Hussain, S.P., Hofseth, L.J., Harris, C.C., 2003. Radical causes of cancer. *Nat. Rev. Cancer* 3, 276–285. doi:10.1038/nrc1046

- Lagarde. (2003) . Colloque sur les lipides de la peau métabolisme des lipides bio-actifs Pathologie biologie 51 241–243
- Levasseur-Garcia, C., Kleiber, D., and Surel, O. (2013). "Utilisation de la spectroscopie infrarouge comme élément d'aide à la décision pour la gestion du risque fongique et mycotoxique." *Cahiers Agricultures*, 22(3), 216-227 (1).
- Li A.N., Li S., Zhang Y.J., Xu X.R., Chen Y.M. and Li H.B. (2014) Resources and biological activities of natural polyphenols. *Nutrients*, 6; 6020-6047.
- Limbach S. and Guillard J.C. (2007) Vitamines. *Dans: Traité de nutrition artificielle de l'adulte. 2eme éd, France, Springer- Verlag*, pp; 127-143.
- Magalhães, L., Ramos, I., Reis, S., and Segundo, M. (2014). "Antioxidant profile of commercial oenological tannins determined by multiple chemical assays." *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 20(1), 72-79.
- MAKHLOUFI, A. (2013). Etude des activités antimicrobienne et antioxydante de deux plantes médicinales poussant à l'état spontané dans la région de bechar (*Matricaria pubescens* (Desf.) et *Rosmarinus officinalis* L) et leur impact sur la conservation des dattes et du beurre cru.
- Marcheix, J., Fleuriet, A., and Jay-Allemand, C. (2005). "Les composés phénoliques des végétaux."
- Marlène Frénot , Elisabeth Vierling , 2001.les lipides. In biochimie diététique du sujet bien portant, Ed : Doin éditeurs, p 71-102
- Matés, J.M., Sánchez-Jiménez, F., 1999. Antioxidant enzymes and their implications in pathophysiologic processes. *Front. Biosci. J. Virtual Libr.* 4, D339–345.
- Mehansho, H., Butler, L. G., and Carlson, D. M. (1987). "Dietary tannins and salivary proline-rich proteins: interactions, induction, and defense mechanisms." *Annual review of nutrition*, 7(1), 423-440.
- Merzougui, I., and Tadj, H. (2015). Etude de l'effet antibactérien et antioxydant d'Ammodendron verticillata De la région de Tlemcen
- Mole, S., Rogler, J. C., and Butler, L. G. (1993). "Growth reduction by dietary tannins: different effects due to different tannins." *Biochemical systematics and ecology*, 21(6- 7), 667-677.
- Montoro, P., Braca, A., Pizza, C., and De Tommasi, N. (2005). "Structure–antioxidant activity relationships of flavonoids isolated from different plant species." *Food Chemistry*, 92(2), 349-355.
- Mukohata, Y., Nakabayashi, S., & Higashida, M. (1978). Quercetin, an energy transfer inhibitor in photophosphorylation. *FEBS Lett*, 85: 215– 218

- Naudet, M. (1992). Manuel des corps gras, Tome 1. Ed technique et documentation, Lavoisier, Paris : p.1020-1198.
- Nicholls, P. (2012). Classical catalase: Ancient and modern. *Archives of Biochemistry and Biophysics* 525, 95–101.
- Palazzetti, S., Richard, M. J., Favier, A., & Margaritis, I. (2003). Overloaded training increases exercise-induced oxidative stress and damage. *Canadian journal of applied physiology*, 28(4), 588-604.
- Pelletier, E., Campbell, P. G. C. & Denizeau, F. (2004). Écotoxicologie moléculaire : Principes fondamentaux et perspectives de développement. *Edition PUQ*, p 182.
- Peng C., Wang X., Chen J., Jiao R., Wang L., Li Y.M., Zuo Y., Liu Y., Lei L., Ma K.Y., Huang Y. and Chen Z.Y. (2014) Antioxidants biology of ageing and role of dietary. *BioMed Research International*, ID 831841; 1-13.
- Pengelly A., 2004, *The Constituents of Medicinal Plants*, 2ème édition, Allen & Unwin press. PP 172
- Qusti S.Y., Abo-khatwa A.N. and Bin Lahwa M.A. (2010) Screening of antioxidant activity and phenolic content of selected food items cited in the holly quran. *European Journal of Biological Sciences*, 2(1); 40-51.
- Rahal A., Kumar A., Singh V., Yadav B., Tiwari R., Chakraborty S. and Dhama K. (2014) Oxidative stress, prooxidants and antioxidants: the interplay. *BioMed Research International*, V2014 ; 1-14
- Reuter, S., Gupta, S.C., Chaturvedi, M.M., Aggarwal, B.B., 2010. Oxidative stress, inflammation, and cancer: how are they linked? *Free Radic. Biol. Med.* 49, 1603– 1616. doi:10.1016/j.freeradbiomed.2010.09.006.
- Ribéreau-Gayon P., 1968. Les composés phénoliques des végétaux. Ed. Dunod Paris, 254 p.
- Robert, D. & Catesson, A. M. (2000). Biologie végétale : caractéristiques et stratégie évolutives des plantes. Organisation végétative. *Wolters Kluwer France Edition*, Volume2, p 320.
- Sargent, J. R., R. J. Henderson and D. R. Tocher (1989). The lipids. *Fish nutrition*, 2nd ed. J. E. Halver. New York, Academic press: 153-218.

- Škerget, M., Kotnik, P., Hadolin, M., Hraš, A. R., Simonič, M., and Knez, Ž. (2005). "Phenols, proanthocyanidins, flavones and flavonols in some plant materials and their antioxidant activities." *Food Chemistry*, 89(2), 191-198.
- Tanumihardjo S.A. (2013) Carotenoids and Human Health. *Humana Press, Springer. USA*.
- Tsimogiannins, D.I., Oreopoulou, V. (2006). The contribution of flavonoid C-ring on DPPH free radical scavenging efficiency. A kinetic approach for the 3', 4'-hydroxy substituted members. *Innovat Food Sci Emerg Tech*, 7: 140-146.
- Vagiri M, Conner S, Stewart D, Andersson SC, Verrall S, Johansson E, Rumpunen K. 2015. Phenolic compounds in blackcurrant (*Ribes nigrum* L.) leaves relative to leaf position and harvest date. *Food Chem*. 172:135–142
- Vandi, D., Nga, E. N., Betti, J. L., Loe, G. M. E., Ottou, P. B. M., Priso, R. J., Foze, T. N., Boumsong, P. C. N., Dibong, S. D., and Mpondo, E. M. (2016). "Contribution des populations des villes de Yaoundé et Douala à la connaissance des plantes à tanins et à anthocyanes." *Journal of Animal & Plant Sciences*, 30(3), 4797-4814.
- Verykokidou-Vitsaropoulou, E., and Vajias, C. (1986). "Methylated flavones from *Teucrium polium*." *Planta medica*, 52(05), 401-402.
- William G. Horpkins, 2003 .l'organisation des plantes et des cellules végétales. In *Physiologie végétale* .Ed : boeck et larcier , Bruxelles ,p 1-10
- Yao, L.H., Jiang, Y.M., SHI, J., Tomas-Barberan, F.A., Datta, N., Singanusong, R., Chen, S.S. (2004). Flavonoids in Food and their health benefits. *Plant. Food Hum. Nutr*, 59 : 113-122.
- Yoshimoto, M., Sakamoto, H., Yoshimoto, N., Kuboi, R. & Nakao, K. (2007). Stabilization of quaternary structure and activity of bovine liver: Catalase through encapsulation in liposomes. *Enzyme and Microbial Technology* 41, 849–858.
- Yvon A.Carpentier(1996). Actions immunomodulatrices des lipidesImmunoregulatory roles of lipids Volume 10, Issue 2, 1996, Pages 97-105

Partie II

Matériel et méthodes

Notre travail de recherche a été réalisé en grande partie au Laboratoire de Recherche des Sciences Fondamentales de l'université Amar TELIDJI de Laghouat. Une partie a été réalisée au laboratoire de chimie organique et de produits naturels et agroalimentaires **QOPNA** de l'université d'Aveiro au Portugal à savoir l'analyse par chromatographie CL et CG couplées à la masse.

1. Matière végétale

1.1. La récolte des échantillons

La récolte des échantillons des feuilles de *Pistacia atlantica* a été effectuée régulièrement au début de quatre mois de l'année 2014 (à savoir : mai, aout, septembre et novembre), au niveau de six arbres appartenant à trois sites de la Wilaya de Laghouat, les sites sont : Laghouat ville, Kheneg et Daya. A chaque échantillon est attribué un code comprenant une lettre indiquant l'initial du nom du site et un chiffre indiquant l'arbre (L : Laghouat, K : Kheneg, D : Daya).

Les caractéristiques géographiques des trois sites sont données comme suit :

- Laghouat (33 ° 48'7 "N et 2 ° 53'19" E à 760m d'altitude)
- Kheneg (33 ° 45'2 "N et 2 ° 48'06" E à 777m d'altitude)
- Daya (33 ° 39'14 "N et 2 ° 55'10" E à 810m d'altitude)

Toutes les feuilles cueillies étaient vertes, à l'exception de celles obtenues en novembre, elles étaient de couleur jaune (automne). Les échantillons frais ont été séchés à l'ombre, à température ambiante pendant deux semaines, puis broyées en poudre fine à l'aide d'un moulin à café.

2. Méthodes

Notre démarche expérimentale peut être présentée selon l'organigramme suivant (Figure II.1) :

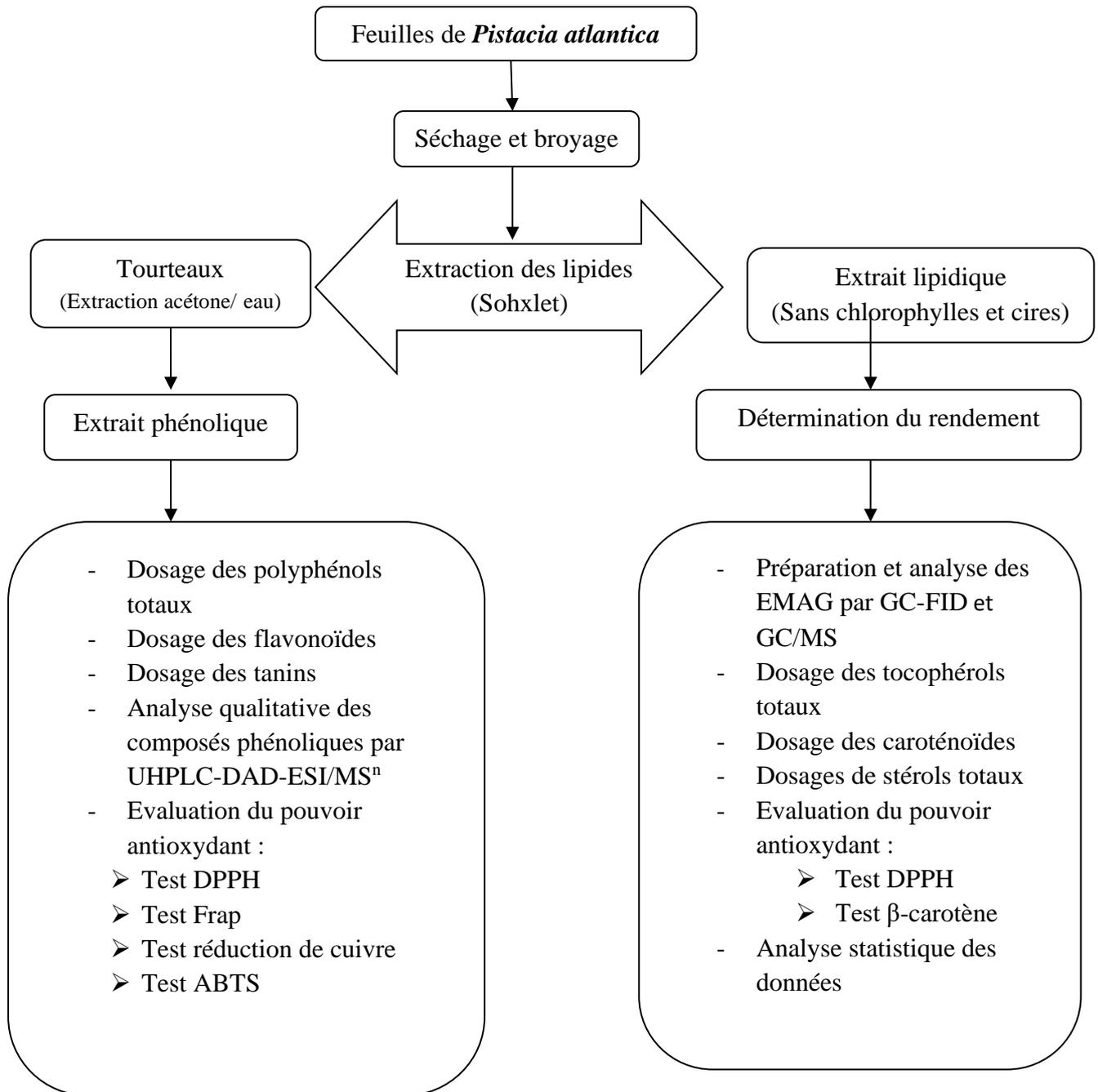


Figure II.1 : Organigramme résumant les étapes de l'étude réalisée

3. Etude des lipides de *Pistacia atlantica*

3.1. Extraction des lipides

Afin de déterminer la teneur en lipide nous avons procédé à une extraction par soxhlet. Cette méthode est basée sur l'extraction solide liquide en utilisant l'hexane comme phase liquide sur les feuilles séchées finement broyées. Après séchage par de sulfate de sodium anhydre, l'hexane est évaporé sous pression réduite à 40 °C. L'extraction a été arrêtée après l'épuisement des lipides. L'extrait obtenu est une huile brute.

La chlorophylle a été éliminée par le charbon actif (Poudre) en utilisant une quantité de ce dernier équivalent à 1/5 de la masse initiale de la poudre de feuilles séchées. Le mélange est mis en suspension avec 200 mL de chloroforme à reflux pendant 1 h. Après filtration et évaporation du chloroforme, les extraits obtenus ont été soumis à une autre opération qui consiste à éliminer les cires. Les extraits lipidiques ont été dissous dans de l'éthanol absolu et conservés au réfrigérateur pendant 24 heures, puis filtrés et évaporés à 40 °C.

Les extraits obtenus sont conservés à une température de +4°C dans des flacons en verre jusqu'à utilisation.

Chaque extrait est pesé ce qui nous a permis de déterminer le rendement en huile de chaque échantillon à l'aide de la relation (1).

$$\text{Teneur en extrait brut} = \frac{\text{Masse de l'extrait} \times 100}{\text{Masse de la prise d'essai (matière végétale)}} \quad (1)$$

3.2. Préparation et analyse des acides gras

3.2.1. Préparation des esters méthyliques d'acides gras (EMAG)

Dans un ballon de 250mL, 20 ml de solution méthanoïque de sodium sont ajoutés à 0.2-0.5g de lipide, le mélange est porté à ébullition pendant 30min, après refroidissement les esters méthyliques sont récupéré par une double extraction liquide-liquide en utilisant 20 ml de dichlorométhane (DCM) et 20 ml d'eau distillée. La phase organique est lavée plusieurs fois par de l'eau jusqu'à la neutralisation. Après séchage sur sulfate de sodium anhydre Na₂SO₄, le solvant est filtré, puis évaporé à 40°C sous pression réduite. Par la suite, les EMAG obtenus sont purifiés par flash chromatographique selon les étapes suivantes : au fond d'une pipette pasteur, un peu de coton est placé, cette dernière a été remplie jusqu'à 3cm de gel de silice en haut. Le gel est ensuite humidifié avec 1ml de DCM. L'échantillon solubilisé dans 2 ml de

DCM est introduit par le haut de la pipette colonne, puis élué avec 2 ml de DCM. Les EMAG ainsi purifiés sont conservés au réfrigérateur jusqu'à leur analyse.

3.2.2. Analyse des EMAG

Les EMAG ont été analysés par deux méthodes : la première est la chromatographie en phase gazeuse équipée d'un détecteur à ionisation de flamme (GC-FID), tandis que la deuxième méthode est la chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (GC/SM).

3.2.3. Conditions chromatographiques GC-FID

L'analyse des échantillons a été réalisée à l'aide d'un chromatographe en phase gazeuse Chrompack CP 9002 équipé d'un détecteur d'ionisation à flamme (FID) et d'une colonne capillaire DB23 (30 m × 0,32 mm, épaisseur de film 0,32 µm), les températures de l'injecteur et du détecteur ont été maintenues à 250°C. Le Nitrogène est utilisé comme gaz vecteur à un débit de 1 mL/min. le volume de l'échantillon injecté était de 1 µL.

3.2.4. Conditions chromatographiques GC/MS

L'analyse des EMAG a été réalisée à l'aide d'un appareil Shimadzu GC/MS-QP2010 ultra équipé d'une colonne capillaire DB-5 fusionnée (la même que celle utilisée et décrite dans l'analyse GC-FID).

La température du four a été programmée à 70°C pour une durée de 5min, puis à 250°C avec une vitesse de 4°C/min, suivi d'un débit de température de 2°C/min jusqu'à 300°C qui a été maintenu pendant 5 min. Le gaz vecteur été l'hélium (pureté de 99,995%) avec un débit de 1,2 mL/min. Les conditions du spectromètre de masse étaient les suivantes : tension d'ionisation 70 eV ; température de la source d'ions 150°C ; les spectres de masse par ionisation électronique ont été acquis dans la plage de masse 50-550 m/z.

3.3. Dosage des tocophérols totaux

Le dosage des tocophérols totaux a été effectué selon la méthode de dosage colorimétrique d'Emmerie-Engel (**Emmerie et Engel., 1939**). Cette méthode est basée sur la réaction d'oxydoréduction entre les tocophérols et le fer ferrique (Fe^{3+}) qui est réduit en fer ferreux (Fe^{2+}). Ce dernier, en présence de réactifs spécifiques comme l'orthophénantroline, forme un complexe rouge-orangé absorbant à 510 nm.

➤ Protocole

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

Nous avons effectué le dosage des tocophérols totaux sur les extraits bruts dépigmentés. Les échantillons sont traités de la même façon. Le test a été effectué en triple. La concentration des tocophérols totaux dans chaque extrait a été calculée à partir de la courbe d'étalonnage établie avec la vitamine E et exprimée en mg α -tocophérol eq/g de lipide.

3.4. Dosage des caroténoïdes

La teneur totale en caroténoïdes des fractions lipidiques a été déterminée par spectrophotométrie. Une courbe d'étalonnage standard a été obtenue à partir de différentes concentrations de solutions de β -carotène préparées dans du dichlorométhane. L'absorbance de chaque solution a été lue à 460 nm. La quantification des caroténoïdes dans les extraits déparaffinés a été effectuée selon le même processus. Les résultats ont été exprimés en mg de β -carotène /g de lipide.

3.5. Dosage des stérols

Le dosage des stérols a été effectué spectrophotométriquement suivant le test de Liebermann-Burchard (Naudet et al., 1986) basé sur une réaction colorée spécifique des 3-hydroxystéroïdes possédant une double liaison en position 5-6. Les stérols forment un complexe stable avec l'anhydride acétique en milieu acide qui absorbe dans le visible à une longueur d'onde de 550 nm (Le réactif spectrale de Liebermann est constitué par 60 ml d'anhydride acétique et 10 ml d'acide sulfurique concentré et 30 ml d'acide acétique).

➤ Protocole

A partir d'une solution chloroformique de cholestérol, nous avons préparé une série de gamme de solutions afin de tracer une courbe d'étalonnage liant la densité optique en fonction de la concentration. 1ml de chaque solution est ajouté à 2 ml du réactif de Liebermann puis on laisse la coloration se développer et se stabiliser pendant 25 minutes à l'obscurité. On mesure l'absorbance à 550 nm. Les extraits bruts dépigmentés sont traités de la même manière.

Le test a été effectué trois fois et la teneur en stérol a été déterminée à partir de la courbe d'étalonnage établie avec le cholestérol et exprimée en mg cholestérol eq/g de lipide.

3.6. Evaluation du pouvoir antioxydant des extraits lipidiques

3.6.1. Méthode de réduction du radical libre DPPH

La réduction du radical libre DPPH par un antioxydant peut être suivie par spectrophotométrie UV-visible, en mesurant la diminution de l'absorbance à 515 nm provoquée par la présence de nos extraits. Le DPPH est initialement violet, se décolore en jaune pâle lorsque l'électron célibataire s'apparie (**Molyneux, 2004**) (Figure II.2). Cette décoloration est représentative de la capacité de nos extraits à piéger ces radicaux libres. Plus la chute de l'absorbance du DPPH est importante plus le pouvoir antioxydant des extraits est élevé. Ce test permet alors d'obtenir des informations sur le pouvoir antiradicalaire direct de différentes substances naturelles de nos extraits.

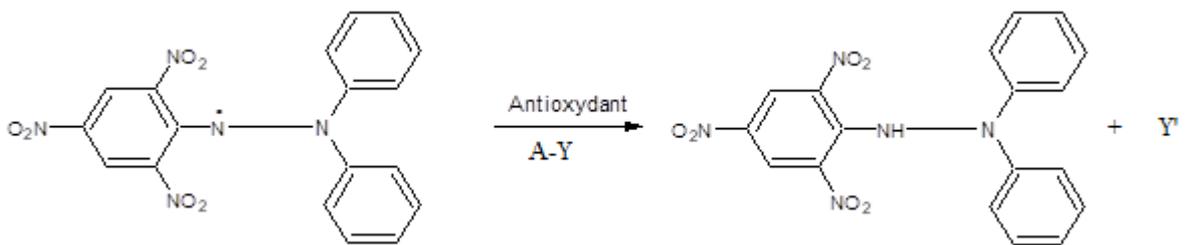


Figure II.2 : schéma d'un antioxydant avec le radical DPPH

➤ Protocole

Une solution de DPPH de 100 μ M a été préparée dans l'éthanol. 1 mL de DPPH est ajouté à différents volumes de solutions de concentrations différentes des extraits lipidiques. Le mélange réactionnel a été secoué immédiatement, puis il est maintenu à l'obscurité pendant 30 minutes à une température ambiante pour que la réaction s'accomplisse. L'absorbance du milieu réactionnel a été mesurée à 517 nm contre un blanc contenant uniquement la solution de DPPH et l'éthanol. La vitamine E et le BHA (Butyl-hydroxyanisole) ont été utilisés comme antioxydants de référence.

Le pouvoir antioxydant des extraits a été calculé selon l'équation ci-dessous :

$$I(\%) = \left(\frac{A_{\text{contrôle}} - A_{\text{échantillon}}}{A_{\text{contrôle}}} \right) \times 100$$

Où :

I (%) : pourcentage d'inhibition

A_{contrôle} : absorbance du contrôle négatif à 517nm.

A_{échantillon} : absorbance de l'échantillon testé à 517nm.

Les courbes de la variation du pourcentage d'inhibition I% en fonction de la concentration de l'antioxydant permet de calculer le paramètre EC₅₀ « Efficient concentration » qui est défini comme étant la concentration du substrat qui cause la perte de 50% de l'activité de DPPH. Les résultats de nos extraits ont été exprimés en EC₅₀. Il faut rappeler que plus la valeur de EC₅₀ est petite plus l'activité antioxydante des extraits est grande.

3.6.2. Inhibition par blanchiment du β-carotène

Dans ce test, l'oxydation de l'acide linoléique génère des radicaux peroxydes suite à l'abstraction des atomes d'hydrogènes à partir de groupements méthylènes diallyliques de l'acide linoléique (**Kaur et al., 2002**). Ces radicaux libres vont par la suite oxyder le β-carotène hautement insaturé qui perd ses doubles liaisons entraînant ainsi la disparition de sa couleur orange qui est suivie par un spectrophotomètre UV-Vis à 470 nm. Cependant la présence d'un antioxydant pourrait neutraliser les radicaux libres dérivés de l'acide linoléique, et donc prévenir l'oxydation et le blanchissement du β-carotène (**VI, N.Y. and E.M., 2008 ; Yang et al., 2008**). La méthode décrite par **Sun et Ho., (2005)** a été employée avec une légère modification.

➤ Protocole

Une émulsion du β-carotène/acide linoléique est préparée par solubilisation de 1 mg de β-carotène dans 10 mL de dichlorométhane (DCM). Un volume de 5 mL de cette solution est placé dans un ballon à fond rond avec 20 mg d'acide linoléique et 200 mg de Tween 80. Après évaporation du DCM (40°C) à pression réduite à l'aide d'un Rotavapeur, 50 mL d'eau distillée aérée sont progressivement ajoutés. L'émulsion résultante est vigoureusement agitée.

Des aliquotes de 40 µL d'extrait à différentes concentrations sont placées dans des tube à essai en présence de 1 mL d'émulsion. Deux témoins (positif où l'échantillon est remplacé par l'antioxydant de synthèse et négatif sans antioxydant) ont été aussi préparés avec la même

procédure. Les tubes à essai sont alors mis en incubation à 50°C pendant 120 min et l'absorbance est mesurée (à t = 0 et à t = 120 min) à 490 nm.

L'activité antioxydante (AA) est déterminée par la relation suivante :

$$AA\% = \left[\left(\frac{A_{s120} - A_{c120}}{A_{c0} - A_{c120}} \right) \right] \times 100$$

Où :

A_{c0} est la valeur d'absorbance du contrôle mesurées à t = 0 min.

A_{s120} et A_{c120} sont les valeurs d'absorbance mesurées pour chaque extrait et le contrôle, respectivement, et ceci après incubation pendant 120 min.

Les résultats ont également été exprimés par EC_{50} , qui est défini comme étant la concentration fournissant 50% d'inhibition du blanchiment du β -carotène. La vitamine E a été utilisée comme contrôle positif.

3.7. Analyse des données statistiques de la variation de la composition chimique des acides gras des feuilles de *Pistacia atlantica*

Une analyse statistique a été réalisée sur les résultats obtenus en utilisant le logiciel XLSTAT-10. L'analyse a été réalisée selon les techniques de classification ascendante hiérarchique (Classification Hiérarchique Ascendante CHA « Aggregomorative Hierarchical Clustering (AHC) »), qui recherche à chaque étape les groupes les plus proches pour les fusionnés en traçons graphiquement les similitudes et les relations des individus entre eux.

Toutes les expériences ont été réalisées avec trois répliques (répétitions). Le résultat de chaque paramètre déterminé a été exprimé statistiquement comme suit : moyenne \pm déviation standard (sur la base de trois expériences « ou répétitions » indépendantes).

4. Etude des composés phénoliques

4.1. Extraction des composés phénoliques

La méthode d'extraction utilisée pour les composés phénoliques est celle de (**Hertog et al., 1992 ; Djeridane et al., 2006**). Une masse de 5g de tourteaux delipidé et séchés est macérée dans 100 ml d'un mélange Acétone/eau (70/30 : V/V) pendant 24 heures à température ambiante. L'extrait est filtré, et le résidu obtenu est repris pour une deuxième fois avec le même mélange

pendant 24h. Après filtration par un papier filtre, l'acétone a été évaporé sous pression réduite à 40°C. La phase aqueuse obtenue est lavée plusieurs fois avec de l'éther de pétrole jusqu'à l'épuisement des pigments. Cette dernière est ensuite extraite trois fois à l'acétate d'éthyle. La phase organique obtenue est séchée en ajoutant une quantité suffisante du sulfate de sodium anhydre puis filtrée. Le solvant est évaporé sous pression réduite à 40°C. Chaque extrait phénolique brut est repris dans 5 ml de méthanol et conservé à une température de +4°C dans des flacons en verre, jusqu'à utilisation.

4.2. Dosage des phénols totaux

Le dosage des phénols totaux a été effectué selon la méthode décrite par **Singleton et al (1965)** en utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu qui est formé d'acide phosphotungestique $H_3PW_{12}O_{40}$ et d'acide phosphomolybdique $H_3PM_{12}O_4$ (**Quettier-Deleu C, 2000**). En milieu alcalin, lors de l'oxydation des phénols, ces deux acides sont réduits en oxydes de tungstène W_8O_{23} et molybdène Mo_8O_3 , cette réduction se traduit par l'apparition d'une coloration bleu foncé. Ainsi, une lecture de la densité optique à 760 nm permet de déterminer la concentration des phénols.

➤ Protocole

La teneur en phénols totaux des extraits a été déterminée par la méthode Folin-Ciocalteu. 100 μ L d'extrait est mélangé à 500 μ L d'une solution du réactif de Folin-Ciocalteu. Après 2 min 2 mL d'une solution de carbonate de sodium à 2% sont ajoutée. Après 30 min d'incubation à la température ambiante, l'absorbance est mesurée à 760 nm. Des solutions étalons d'acide gallique à différentes concentrations ainsi préparées dans les mêmes conditions ont permis de tracer la courbe d'étalonnage de l'acide gallique. Les résultats sont exprimés en milligramme équivalent d'acide gallique par gramme de matière végétale.

4.3. Dosage des flavonoïdes

La quantification des flavonoïdes a été effectuée par une méthode adaptée par **Zhishen et al (1999)** basée sur la complexation des flavonoïdes par l'Aluminium en utilisant le trichlorure d'aluminium comme réactif.

➤ Protocole

Un volume de 500 μ L d'une solution d' $AlCl_3$ à 2% (préparé dans le méthanol) est ajouté à 500 μ L d'extrait. Après 20 minutes d'incubation à température ambiante, l'absorbance est mesurée à 430 nm. Des solutions étalons de quercétine à différentes concentrations ainsi préparées dans les mêmes conditions ont permis de tracer la courbe d'étalonnage de la

quercétine. Les résultats sont exprimés en milligramme équivalent de quercétine par gramme de matière végétale.

4.4. Dosage des tanins

Pour le dosage des tanins condensés, nous avons utilisé la méthode de la vanilline décrite par **Hagerman., (2002)**. La vanilline réagit avec les flavan 3-ols libres et les unités terminales des proanthocyanidines (tanins condensés) donnant un complexe de coloration rouge dont l'intensité est proportionnelle aux taux de flavanols présents dans le milieu et qui présente un maximum d'absorption à 500 nm.

➤ Protocole

À partir d'une solution étalon de la catéchine, des solutions diluées de différentes concentrations ont été préparées dans le méthanol. Une solution de vanilline à 1% est mélangée à une solution d'acide hydrochlorique à 8% avec un rapport de (1/1 : v/v). 0.5 mL de chaque solution diluée de la catéchine, nous avons ajouté 2.5 mL du mélange précédant. Le mélange est ensuite incubé au bain marie à 30°C pendant 20 min. L'absorbance est mesurée à 500 nm contre un blanc, les extraits de plantes ont été traités de la même manière. Les teneurs en tannins ont été calculées à partir de l'équation de la courbe d'étalonnage de la catéchine et exprimées en milligramme équivalent de catéchine par gramme de matière végétale.

4.5. Analyse chromatographique des composés phénoliques

Afin d'identifier les molécules présentes dans les extraits phénolique de *Pistacia atlantica*, nous avons utilisé la chromatographie liquide à haute performance combinée à deux systèmes de détection : UV-Vis et MS, car non seulement ce sont deux modes de détection souvent rencontrés pour l'analyse des composés phénoliques, mais surtout ils fournissent des informations structurales sur les composés étudiés.

4.5.1. Analyse qualitative des composés phénoliques par UHPLC-DAD-ESI/MSⁿ

La séparation des composés phénoliques a été réalisée par UHPLC-DAD-ESI/MSⁿ. L'analyse a été effectuée en utilisant un appareil Ultimate 3000 (Dionex Co.USA) avec un détecteur à barrette de diodes DAD 3000 (Dionex Co., USA) et couplé à un Thermo spectromètre de masse LTQ XL (Thermo Scientific, USA) à piège à ions équipé d'une source d'ionisation de type ESI. L'analyse a été effectuée sur une colonne C18 Hypersil Gold (Thermo Scientific, USA) (longueur de 100 mm, diamètre intérieur de 2,1 mm, diamètre de particule de

1,9 μm , extrémité bouchée) et sa température a été maintenue à 25°C. La phase mobile pour la séparation des constituants est composée de deux solvants A et B à savoir : (A) acétonitrile et (B) d'eau acidifiée (0,1% d'acide formique v/v), dégazés et filtrés avant utilisation.

Le gradient de la phase mobile a commencé avec 5% de (A) et 95% de (B), atteignant 40% de solvant (A) à 14,7 min; 100% (A) à 16,6 min et enfin à 24 min le retour aux conditions initiales. Le débit était de 0,2 mL.min⁻¹ et les données spectrales UV-Vis pour tous les pics étaient accumulées dans la plage de 200 à 500 nm alors que les profils chromatographiques étaient enregistrés à 280 nm.

Le contrôle et l'acquisition des données MS ont été réalisés avec le système de données Thermo Xcalibur Qual Browser (Thermo Scientific, USA). De l'azote au-dessus de 99% de pureté a été utilisé et la pression du gaz était de 520 kPa. L'instrument a fonctionné en mode ions négatifs avec une tension d'aiguille ESI réglée à 5,00 kV et une température capillaire ESI de 275°C. Le balayage complet couvrait la gamme de masse de m/z 100 à 2000. Des expériences CID-MS/MS et MSⁿ ont été acquises simultanément pour des ions précurseurs en utilisant de l'hélium comme gaz de collision avec une énergie de collision de 25-35 unités arbitraires.

4.6. Evaluation du pouvoir antioxydant des extraits phénoliques bruts

4.6.1. Méthode de réduction du radical libre DPPH

L'activité antioxydante des extraits phénoliques a été déterminée de la même manière que pour les extraits lipidiques. Cependant, le méthanol est utilisé comme diluant et la vitamine C et BHA ont été utilisés comme antioxydants de référence.

4.6.2. Pouvoir réducteur de l'ion ferrique (FRAP)

La méthode FRAP développée par **Benzie et Strain (1996)** correspond à la réduction d'un complexe tripyridyltriazine ferrique [(Fe(III)-TPTZ)₂] en un complexe tripyridyltriazine ferreux [(Fe(II)-TPTZ)₂] par un antioxydant (AH), à un pH de 3,6 pour maintenir la solubilité du fer (Figure II.3).

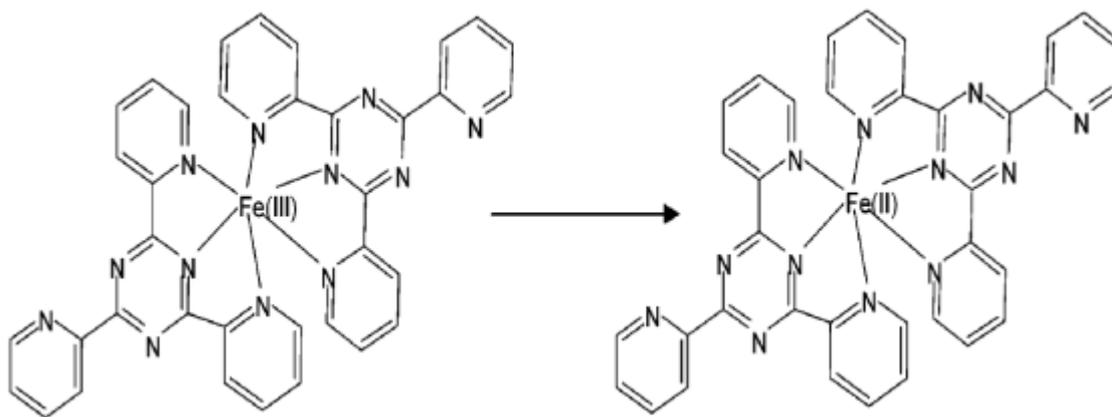


Figure II.3 : Réaction de réduction dans le test FRAP entre le complexe tripyridyltriazine ferrique Fe (III)-TPTZ et un antioxydant (AH).

Lors de la réduction du complexe ferrique en complexe ferreux une coloration bleue intense apparaît très rapidement avec un maximum d'absorption à 593 nm. Cette méthode est basée sur l'aptitude des extraits à réduire le fer ferrique (Fe^{3+}) en fer ferreux (Fe^{2+}). Le mécanisme est connu comme étant un indicateur de l'activité donatrice d'électrons, caractéristique de l'action antioxydante des polyphénols (**Yıldırım et al., 2001**)

➤ Protocole

Le présent protocole est basé sur la méthode mise au point par **Benzie et Strain (1996)** avec quelques modifications (**Pulido et al., 2000**). Dans un premier temps, une solution tampon d'acide acétique/acétate de sodium à 300 mM à pH = 3,6 est préparé. Le réactif TPTZ à 10 mM, dilué dans d'HCl à 40 mM. Le deuxième réactif est le FeCl_3 préparé à 20 mM. Finalement, la solution de travail FRAP est obtenue en mélangeant 2,5 mL de solution TPTZ, 2,5 mL de solution FeCl_3 et 25 mL de solution tampon.

Le test consiste à mélanger, dans des tubes à hémolyse en verre, 50 μL d'extrait dilué avec 1000 μL de réactif FRAP. L'absorbance est mesurée à 593 nm après avoir laissé incubé la réaction dans un bain thermostaté à 37°C à l'obscurité pendant exactement 45min.

Une courbe d'étalonnage a été tracée en utilisant différentes concentrations de la vitamine C; Les résultats ont été exprimés par rapport à l'acide ascorbique à partir de la courbe d'étalonnage, puis exprimées en équivalents d'acide ascorbique AEAC. L'activité antioxydante exprimée en valeur AEAC et définie comme la concentration de vitamine C en mg/ ml qui confère un pouvoir d'activité antioxydante similaire à un échantillon d'extrait donné de 1 mg/ml de concentration. La vitamine E et le BHA ont été utilisé comme antioxydants de référence.

4.6.3. Test du radical cation ABTS^{•+}

Ce test est basé sur la capacité d'un antioxydant à stabiliser le radical cationique ABTS^{•+} de coloration vert-bleu en le transformant en ABTS incolore, en présence de l'antioxydant.

Le radical préformé [2, 2'-azino-bis-(3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonic acid)] ou ABTS^{•+} est généré en présence de la peroxydase ; préparée dans une solution tampon pH= 5-6, la réaction est initiée avec l'ajout de la solution de peroxydase.

En présence d'un antioxydant, le passage du radical ABTS^{•+} à la forme non radicalaire s'accompagne de la disparition de la coloration vert-bleu intense qui peut être suivie par mesure de la densité optique à une longueur d'onde de 415 nm (Chen., 2004).

➤ Protocole

Pour pouvoir générer le radical cationique ABTS^{•+}, nous avons préparé trois solutions différentes constituées d'une solution aqueuse d'ABTS (20mM) ; une solution aqueuse de H₂O₂ (1mM) et une solution de la peroxydase (préparée dans un tampon phosphate pH=5-6) de concentration massique (0,2 mg/mL).

Le mélange des trois solutions présente une coloration bleu-vert correspondant à la formation du radical cationique ABTS^{•+}.

À 100 µL de chaque dilution de l'extrait, 1 mL de la solution verdâtre d'ABTS^{•+} est ajouté. L'absorbance a été mesurée contre un blanc à 415nm après avoir incubé le mélange pendant 5 min. Le pourcentage d'inhibition de l'ABTS^{•+} pour chaque extrait a été calculé selon la formule ci-dessous :

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

Où :

A₀ : l'absorbance initiale en absence de composé à tester.

A_c : l'absorbance mesurée après 5 min de mise en présence avec l'extrait.

4.6.4. Réduction de cuivre (CUPRAC)

L'évaluation de la capacité réductrice de nos fractions a été effectuée à l'aide du test de CUPRAC. La méthode CUPRAC (Cupric ion Reducing Antioxidant Capacity) est basée sur le suivi de la diminution de l'absorbance accrue du complexe Néocuproïne (Nc)-ions cuivrique $[\text{Nc}^2\text{-Cu}^{2+}]$. En effet, en présence d'un agent antioxydant, le complexe cuivre–néocuproïne est réduit et cette réaction est quantifiée spectrophotométriquement à une longueur d'onde de 455 nm (Apak R, 2004).

➤ Protocole

Dans un tube à essai, 1 ml de tampon acétate d'ammonium (1 M, pH 7) est mélangé avec 100 µl de fraction à tester, 200 µl de Néocuproïne (7,5 mM) et 100 µl de CuCl_2 (0,01 M). Le mélange est incubé pendant 30 min à 37°C. Le complexe réduit $[\text{Cu}^{2+}\text{-Nc}]$ est quantifié spectrophotométriquement à une longueur d'onde de 455 nm. L'effet antioxydant des différents composés testés a été exprimé en pouvoir réducteur (PR %) estimé selon l'équation ci-dessous:

$$PR(\%) = \left(\frac{\text{Abst} - \text{Abséch}}{\text{Abst}} \right) \times 100$$

Où :

Abs_t est l'absorbance en absence d'antioxydant (contrôle négatif).

Abs_{éch} représente l'absorbance en présence d'antioxydant (Fraction ou standard).

Références bibliographiques

- Association Française de Normalisation (AFNOR) Recueil de normes françaises des corps gras, graines oléagineuse, produits dérivés, 3^{ème} édition, (1984).
- Apak. R, Güçlü. K, Özyürek. M, and Esin Karademir. S. (2004). Novel Total Antioxidant Capacity Index for Dietary Polyphenols and Vitamins C and E, Using Their Cupric Ion Reducing Capability in the Presence of Neocuproine: CUPRAC Method, *J. Agric. Food Chem.*, 52 (26), pp 7970–7981.
- Benzie, I.F. and J.J. Strain, (1996). The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of “antioxidant power”: the FRAP assay. *Analytical biochemistry*, 239(1): p. 70-76.
- Chen. I, Chang. H., Yang and G. H. Chen., (2004). Evaluation of total activity of several popular vegetables and Chinese herbs: a fast approach with ABTS/H₂O₂/HRP system in micro plates, *Journal of food and drug analysis*, 29-33 pp.
- Djeridane A., M. Yousfi, B. Nadjemi, D. Boutassouna, P. Stocker et N. Vidal (2006). Antioxidant activity of some Algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds. *Food Chemistry*, 97(4): 654-660.
- Emmerie, A., Engel, C. (1939). "Colorimetric détermination of tocopherol (vitamin E). II. Adsorption experiments" *Rec. Trav. Chim*, V.58. 283-289.
- Hagerman. A. E, (2002). *Tannin Handbook*. 2eme Ed; Miami University.Oxford, 116 pp
- Hertog M.G.L., E.J. Feskens, P.C. Hollman, M.B. Katan et D. Kromhout (1993). Dietary antioxidant flavonoids and risk of coronary heart disease: the Zutphen Elderly Study. *Lancet*. 342:1007-1011.
- Kaur, C. and H.C. Kapoor. (2002). Anti-oxidant activity and total phenolic content of some Asian vegetables. *International Journal of Food Science & Technology*, 37(2): p. 153-161.
- Molyneux P (2004) The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *J Sci Technol* 26(2):211–219.
- NAUDET M, Hautfenne A (1986) Méthode normalisée pour la détermination des stérols totaux dans les huiles et graisses (y compris les résultats d'une étude en collaboration) = Standardized method for the determination of total sterols in oils and fats (including the results from a collaborative study). *Revue Française des Corps Gras* 33 (4):167-170
- Prouillac. C, (2006). Synthèse et évaluation de nouveaux composés organiques et phosphorés contre les effets des rayonnements ionisants. Etude de leur mécanisme d'action in vitro, Thèse ; Univ Paul Sabatier de TOULOUSE III, 291 pp.

- Pulido, R., L. Bravo, and F. Saura-Calixto. (2000). Antioxidant activity of dietary polyphenols as determined by a modified ferric reducing/antioxidant power assay. *Journal of agricultural and food chemistry*. 48(8): p. 3396-3402.

- Singleton, V.L. and J.A. Rossi, (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American journal of Enology and Viticulture*,. 16(3): p. 144-158.

- Sun, T., Ho, C.-T., (2005). Antioxidant activities of buckwheat extracts. *Food Chem.* 90, 743-749.

- VI, N.Y. and E.M. Marinova, (1995). Effects of antioxidants on the stability of triacylglycerols and methyl esters of fatty acids of sunflower oil. *Food Chemistry*. 54(4): p. 377-382.

- Yang, J., J. Guo, and J. Yuan, (2008). In vitro antioxidant properties of rutin. *LWT-Food Science and Technology*. 41(6): p. 1060-1066.
- Yıldırım, A., A. Mavi, and A.A. Kara, (2001). Determination of antioxidant and antimicrobial activities of *Rumex crispus* L. extracts. *Journal of agricultural and food chemistry*. 49(8): p. 4083-4089.
- Zhishen ,J., Mengcheng, T. Jianming, W. (1999). The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. *Food Chem.* 64 : 555-559

Partie III

Résultats et discussion

Chapitre 1

Valorisation des lipides des
feuilles
de *Pistacia atlantica*

1. Teneur en lipides

Les extraits lipidiques des feuilles de *Pistacia atlantica* après l'élimination des cires et la chlorophylle présentent des couleurs qui s'étendent du jaune au marron avec une odeur agréable et un aspect liquide à température ambiante. En totalité la teneur en lipide varie de 0,34 à 2,25% tout le long de la saison d'étude (tableau III.1). L'échantillon K2 présente la teneur moyenne maximale de $1,70 \pm 0,54\%$ (m/m), à la fin de développement des feuilles (au mois de novembre), tandis que la teneur moyenne minimale est enregistrée par les feuilles précoces de l'extrait L1 à $1,10 \pm 0,29\%$ (m/m) (récolté au mois de mai).

Tableau III.1 : Teneur en lipides des feuilles de *Pistacia atlantica* cueillies à différents stades de croissance.

Rendement en % (m/m)							
Mois de récolte	L1	L2	D1	D2	K1	K2	Moyenne ± sd
Mai	0,51	0,34	0,38	0,40	0,59	0,61	0,47±0,10
Aout	1,15	1,21	1,20	1,50	1,23	1,75	1,34±0,19
Septembre	1,25	1,32	1,53	1,81	1,95	2,17	1,67±0,31
Novembre	1,48	1,61	1,58	2,02	2,19	2,25	1,86±0,30
Moyenne±sd	1,10±0,29	1,12±0,39	1,17±0,40	1,43±0,52	1,49±0,58	1,70±0,54	-

La variation saisonnière de la teneur en lipides des extraits des feuilles de *Pistacia atlantica* présentée dans la figure III.1 montre que la valeur moyenne du rendement d'extraction varie considérablement tout au long de la période de développement foliaire. Il apparaît que cette teneur continue à augmenter à partir des feuilles précoces ($0,47 \pm 0,1\%$ m/m) jusqu'à atteindre sa valeur maximale vers la fin de développement des feuilles ($1,86 \pm 0,3\%$ m/m). Ainsi, la teneur en lipide croit presque quatre fois de sa valeur initiale tout au long de la période étudiée

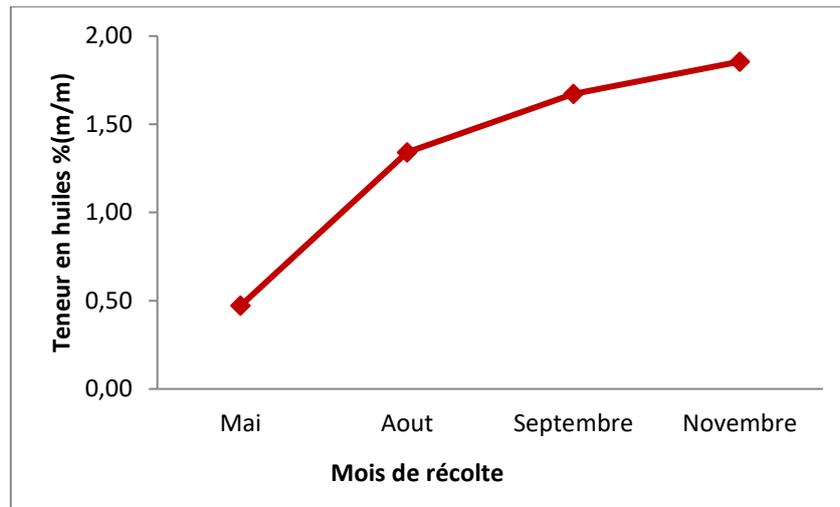


Figure III.1 : Variation saisonnière de la teneur moyenne en lipides des feuilles de *Pistacia atlantica*

Dans ce cas, les rendements en lipides ont augmenté rapidement au début de stade phénologique le mois mai (jeunes feuilles), puis ont augmenté très lentement pour atteindre un état stable (un plateau) du début jusqu'à la fin du stade phénologique de développement (d'août à Novembre). Récemment, des résultats similaires ont été rapportés dans lesquels la teneur en lipides dans les feuilles de *Catharanthus roseus*, augmenté pendant l'expansion jusqu'à la maturité sans noter aucun changement survenu au cours du vieillissement (Mishra et al., 2006). La faible teneur en lipides enregistrée au premier stade de développement peut être attribuée au processus de croissance des jeunes feuilles, alors qu'au dernier stade phénologique l'activité biosynthétique des lipides seront dans son taux le plus élevé. Ce stade final où la couleur des feuilles se colore en jaune est considéré comme un état critique car peu de temps après les feuilles commencent à tomber (vieillesse et sénescence). L'augmentation graduelle de la teneur en lipides peut être expliquée par le fait que la teneur en lipides dans les feuilles de *Pistacia atlantica* pourraient être régulées grâce à l'intervention du système enzymatique de l'acide gras synthétase, qui fonctionne différemment au cours de cette dernière étape. En d'autres termes, le processus AG-Synthétase était induit d'une manière qui a entraîné un taux de production plus élevé de lipides (accumulation). Dans le sens opposé, les enzymes étaient qualifiées par un phénomène appelé rétro-inhibition dans lequel elles étaient plus ou moins inactif et par conséquent, la production des lipides était à sa plus faible teneur. En conséquence, et dans certains travaux récents, il a été également rapporté que la biosynthèse des lipides dans les fruits ne débute pas au stade précoce du développement (Glew et

al., 2005 ; Schulz et al., 2015 ; Tlili et al., 2014) Les conditions météorologiques variables pourraient également expliquer la variation saisonnière de la teneur en lipides. En fait, la biosynthèse des lipides est connue comme sensible à la température. Ce paramètre joue un rôle crucial dans la composition de l'huile en AG en affectant le processus de régulation de l'enzyme AG-désaturase. Par conséquent, dans cette étude, des températures plus basses au début et aux derniers stades de développement peuvent être partiellement responsables au contenu élevé en lipides et surtout en novembre où la température atteint sa valeur inférieure. Cette hypothèse a été validée par Larkindale, et al., (2004) qui ont suggéré que la biosynthèse lipidique augmente considérablement à basse température. L'accumulation de lipides peut également être affectée par d'autres facteurs que la température, tels que l'exposition à l'intensité lumineuse et la durée de la lumière du jour, qui dépendent de la saison. Il semble que la diminution de la lumière du jour et de l'exposition au temps de mai à novembre sont les deux facteurs responsables de l'augmentation de la teneur en lipides pendant cette période de croissance, en quelles les biosynthèses lipidiques étaient les plus favorables.

Si nous comparons nos résultats à ceux obtenus par Harrat (Harrat et al., 2018) relatifs aux lipides des feuilles de *Pistacia lentiscus* et ceux obtenus par Chelghoum (Chelghoum et al., 2020), on remarque que nos rendements sont inférieurs par rapport à eux (1,33-4,12% *Pistacia lentiscus*) et (3,98- 7,93% pour les feuilles de *Pistacia atlantica*). Les différences remarquées pourraient être expliquée par des facteurs inhérents à l'espèce étudiée, la saison de récolte ainsi la méthode d'extraction.

En examinant les résultats des teneurs moyennes obtenus pour les trois sites de récolte (tableau III.2), on peut dire qu'elles sont pratiquement proches les unes aux autres, cela pourrait s'expliquer par les similitudes des conditions écologiques. En effet, les teneurs moyennes sont dans l'ordre Kheneg > Daya > Laghouat avec, respectivement, $1,59 \pm 0,59\%$, $1,3 \pm 0,48\%$ et $1,11 \pm 0,34\%$. Pour les trois sites, la valeur maximale est observée au mois de novembre, par contre la valeur minimale est enregistrée au mois de mai.

Tableau III.2 : Teneurs moyennes en lipides pour les trois sites de récolte au cours de la période étudiée.

Site de récolte	Rendement en % (m/m)				
	Mai	Aout	Septembre	Novembre	Moyenne \pm sd
Laghouat	0,43	1,18	1,29	1,55	$1,11 \pm 0,34$
Daya	0,39	1,35	1,67	1,80	$1,30 \pm 0,45$
Kheneg	0,60	1,49	2,06	2,22	$1,59 \pm 0,54$

2. Variation saisonnière de la composition en acides gras des lipides des feuilles de *Pistacia atlantica*

L'analyse chromatographique de nos échantillons été déterminée à l'aide des deux techniques présentées auparavant à savoir : GC et GC/MS. Les proportions relatives des différents acides gras sont illustrées dans le tableau III.3.

Les principaux acides gras saturés AGS identifiés dans nos huiles étaient l'acide palmitique (C16: 0) suivi de l'acide myristique (C14: 0), puis, l'acide margarique (C17: 0) et en fin l'acide stéarique (C18: 0). En plus, les principaux acides gras insaturés AGI détectés étaient l'acide oléique (C18: 1), suivi de l'acide α -linoléique (C18: 3), de l'acide linoléique (C18: 2), de l'acide palmitoléique (C16: 1) et de l'acide gondoïque (C20: 1). Les pourcentages des autres acides étaient moins abondants et inférieurs à 5% (Tableau III.3).

Pour l'ensemble des échantillons, les acides gras insaturés présentent les pourcentages les plus élevés allant de 37,91 à 73,56%, et qui sont majoritairement constitués d'acides gras polyinsaturés dont les proportions varient de 15,48 à 57,37%. Les teneurs en acides gras monoinsaturés varient de 16,19 à 47,23%. Les acides gras saturés varient de 26,44 à 62,09%.

Tableau.III.3. Composition relative en acides gras des lipides des feuilles de *Pistacia atlantica* cueillies à différents stades de croissance.

Acide Gras	Mai						Aout					
	L1	L2	D1	D2	K1	K2	L1	L2	D1	D2	K1	K2
C12:0	1,79	nd	nd	1,23	2,78	2,82	3,38	3,11	Tr	Tr	2,36	2,84
C14:0	4,79	nd	nd	2,94	3,86	3,68	7,9	5,86	5,84	4,3	8,76	6,49
C16:0	20,25	nd	nd	16,43	18,98	17,06	24,92	26,66	11,88	18,44	21,64	21,31
C16:1ω7	4,45	nd	nd	1,68	20,39	6,11	5,69	3,1	6,58	2,86	13,22	6,75
C17:0	1,75	nd	nd	1,19	2,68	1,03	2,02	1,93	10,43	Tr	2,15	1,56
C18:0	5,61	nd	nd	3,6	2,98	4,11	5,28	4,8	8,49	5,86	3,88	2,45
C18:1ω9	8,75	nd	nd	12,88	9,33	18,49	24,2	33,39	19,28	37,6	28,83	29,7
C18:2ω6	16,32	nd	nd	21,88	13,11	19,39	8,87	7,58	8,23	10,96	10,10	6,38
C18:3ω3	27,62	nd	nd	35,49	22,83	23,07	12,37	9,65	14,25	10,71	9,06	19,13
C20:0	2,34	nd	nd	1,05	1,69	2,64	3,06	3,03	7,42	4,12	Tr	1,81
C20:1ω9	6,33	nd	nd	1,63	1,37	1,6	2,31	0,89	7,60	5,15	Tr	1,58
Total A.G	100	nd	nd	100								
AGS	36,53	nd	nd	26,44	32,97	31,34	46,56	45,39	44,06	32,72	38,79	36,46
AGMI	19,53	nd	nd	16,19	31,09	26,2	32,2	37,38	33,46	45,61	42,05	38,03
AGPI	43,94	nd	nd	57,37	35,94	42,46	21,24	17,23	22,48	21,67	19,16	25,51
AGI	63,47	nd	nd	73,56	67,03	68,66	53,44	54,61	55,94	67,28	61,21	63,54
AGI/AGS (%)	1,74	nd	nd	2,78	2,03	2,19	1,15	1,20	1,27	2,06	1,58	1,74

- **AGS**: acide gras saturé. **AGMI**: acide gras monoinsaturé. **AGPI**: acide gras polyinsaturé.
AGI: acide gras insaturé. **AGI/AGS**: rapport acide gras insaturé/acide gras saturé.

Suite du tableau.III.3.

Acide Gras	Septembre						Novembre					
	L1	L2	D1	D2	K1	K2	L1	L2	D1	D2	K1	K2
C12:0	0,93	1,13	3,18	2,37	2,78	2,06	2,13	2,53	4,85	Tr	2,37	1,55
C14:0	9,61	6,8	12,89	7,72	15,42	7,17	11,15	10,78	18,55	15,98	11,44	14,96
C16:0	25,73	29,14	21,56	19,35	17,60	18,71	32,27	30,22	22,21	20,06	20,31	23,58
C16:1ω7	3,8	1,26	12,23	2,05	10,45	2,08	4,96	2,68	9,08	6,32	10,16	4,92
C17:0	0,89	1,96	2,62	1,31	1,69	2,03	3,27	2,43	4,23	Tr	1,72	2,54
C18:0	4,8	3,88	4,63	2,73	4,25	2,66	3,68	4,43	7,00	6,09	3,45	3,14
C18:1ω9	19,9	26,68	20,71	30,75	25,26	43,41	12,38	14,2	13,35	16,75	19,73	15,51
C18:2ω6	8,91	10,23	12,42	14,61	10,02	8,68	11,22	14,56	7,48	16,92	12,32	15,23
C18:3ω3	23,18	15,77	5,07	12,62	5,95	8,8	16,54	15,95	8,00	17,88	14,60	15,7
C20:0	0,94	1,5	2,30	3,59	2,29	2,66	2,4	1,7	5,25	Tr	2,41	0,94
C20:1ω9	1,31	1,65	2,39	2,9	4,29	1,74	Tr	0,52	Tr	Tr	1,49	1,93
Total A.G	100											
AGS	42,9	44,41	47,18	37,07	44,03	35,29	54,9	52,09	62,09	42,13	41,70	46,71
AGMI	25,01	29,59	35,33	35,7	40,00	47,23	17,34	17,4	22,43	23,07	31,38	22,36
AGPI	32,09	26	17,49	27,23	15,97	17,48	27,76	30,51	15,48	34,8	26,92	30,93
AGI	57,1	55,59	52,82	62,93	55,97	64,71	45,1	47,91	37,91	57,87	58,30	53,29
AGI/AGS (%)	1,33	1,25	1,12	1,70	1,27	1,83	0,82	0,92	0,61	1,37	1,40	1,14

- **AGS**: acide gras saturé. **AGMI**: acide gras monoinsaturé. **AGPI**: acide gras polyinsaturé.
AGI: acide gras insaturé. **AGI/AGS**: rapport acide gras insaturé/acide gras saturé.

Les proportions moyennes de la composition en acides gras au cours de développement des feuilles de *Pistacia atlantica* montrent que les pourcentages des AGI sont plus élevés que ceux des AGS et cela pour les mois de récolte suivants : mai, aout et septembre. Au mois de novembre (dernier stade de développement foliaire), les pourcentages des AGS étaient presque les mêmes que ceux d'AGI (Figure III.2). L'analyse chromatographique de nos échantillons et l'identification des esters méthyliques d'acides gras montrent clairement une nette variabilité de la composition en acide gras des feuilles au cours du leurs développement. La diminution des proportions des AGI était significative du début de croissances des feuilles de *P. atlantica* vers la fin de la saison d'étude (valeur moyenne de 68,18% à 50,72%). En contrepartie, les proportions des AGS semblent augmenter progressivement au cours des différents stades de développement, l'augmentation est estimée à presque deux fois leur moyenne initiale (valeur moyenne de 31,82% à 51,28%). Ce résultat pourrait être expliqué par les différences de la température entre mai et novembre et l'enzyme désaturase qui inhibe la formation des doubles liaisons C = C en été, par ailleurs les acides insaturés d'une façon générale atteignent leur maximum en hiver et leur minimum en été (Beltran et al., 2004).

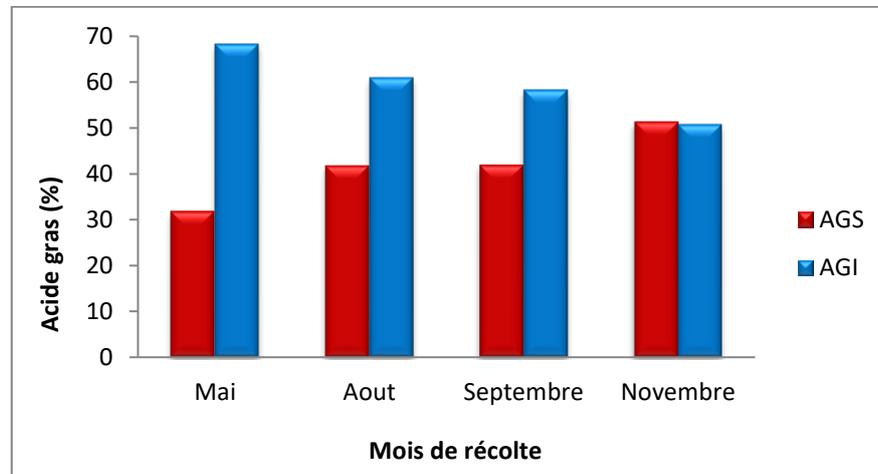


Figure III.2 : Variation des proportions relatives moyennes des acides gras insaturés (AGI) et saturés (AGS) au cours du développement des feuilles de *Pistacia atlantica*.

Les principaux acides gras polyinsaturés, tels que l'acide linoléique et l'acide α -linoléique, ont présenté la même allure d'accumulation au cours de développement des feuilles de *P. atlantica*. Ils diminuent du premier stade de développement des feuilles (mois de mai) au dernier stade de développement (mois novembre) **Figure III.3**. Il faut noter aussi que les acides gras insaturés sont essentiels au développement humain et à la

santé. Ils jouent également un rôle très important dans la réduction du risque de cancer, et ils sont également nécessaires pour améliorer le traitement des maladies cardiovasculaires (**Chen et al., 2013**). En effet, leur rôle dans la prévention de l'inflammation et des maladies cérébro-vasculaires, leurs permettent d'être également étudiés en tant qu'agents thérapeutiques potentiels pour des effets neuroprotecteurs (**Walters et al., 2017**). L'acide α -linoléique est l'AGI le plus dominant au début de la formation des feuilles au mois de mai, où il présentait un maximum de 35,49%, puis, ses proportions baissent et soient proches de celles de l'acide linoléique pour le reste des mois de développement. Il est à noter que l'acide α -linoléique est un acide gras essentiel qui présente de nombreux effets protecteurs (effets cardiovasculaires protecteurs, anticancéreux, neuroprotecteurs, antiostéoporotiques, anti-inflammatoires et antioxydants) contre une multitude de maladies (**Kim et al., 2014**).

L'acide oléique est le principal acide gras mono insaturé dans tous les échantillons. Il présente un rythme d'accumulation contrasté par rapport aux acides α -linoléique et linoléique (figure III.3). Ses proportions augmentent au cours de développement des feuilles allant de 8,75 à 43,41%. Il atteint son maximum au mois de septembre. Rappelons que la stabilité à l'oxydation de l'huile de fruit de *P. atlantica* était associée à une teneur élevée en acide oléique (**Benhassaini et al., 2017**). L'acide palmitoléiques est détecté avec des pourcentages allant de 1,26 à 20,39%. L'acide gondoïque est présent avec des proportions faibles qui varient de 0,52 à 7,6%.

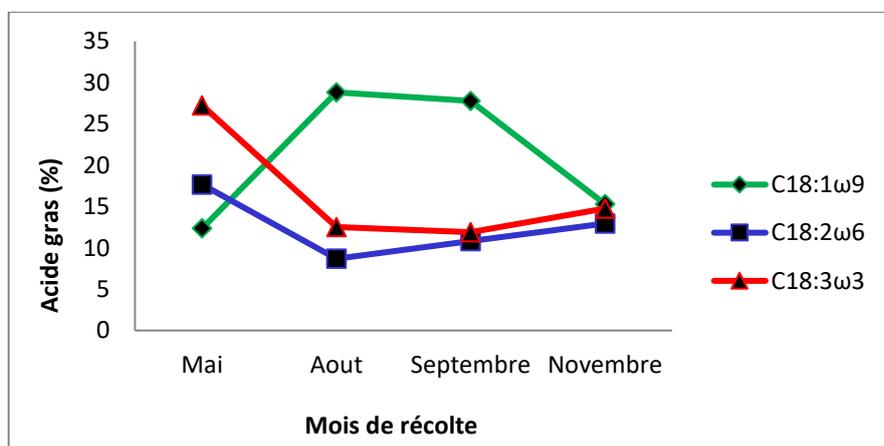


Figure III.3 : Variation des proportions relatives moyennes des AGI : L'acide oléique, l'acide linoléique et l'acide α -linoléique au cours du développement des feuilles de *P. atlantica*.

Nous avons jugé important de noter que la proportion importante d'acide α -linoléique détectée dans les feuilles de *P. Atlantica* au mois de mai c'est-à-dire au premier stade de développement est très supérieure à celles rapportées dans des études antérieures. **Benhassaini et**

al., 2007 ; Yousfi et al., 2003 ont enregistré 0,8% et 0,42% respectivement pour les fruits *P. atlantica* d'Algérie. **Samani et al., 2016** ont rapporté 1,09% pour les graines de Pistachier Atlas d'Iran. **Trabelsi et al., 2012** ont enregistré 13,18% et 0,68%, respectivement, au premier et dernier stade de maturation des fruits de *P. lentiscus* de Tunisie. **Belyagoubi-Benhammou et al., 2018** ont obtenu 0,44% pour le *P. lentiscus* d'Algérie. Une valeur plus élevée que la nôtre a été enregistré par **Harrat et al., 2018** (48,92%) pour les feuilles de *P. lentiscus* d'Algérie.

Concernant les acides gras saturés AGS, l'acide palmitique étant le composé majoritaire parmi les acides gras saturés, il semble augmenter à partir de mai et ceci jusqu'au mois de novembre où il atteint sa valeur maximale, ses proportions varient de 11,88 à 32,27%. L'acide myristique est détecté à un pourcentage allant de 2,94 à 18,55%. La proportion de l'acide margarique varie de 0,89-10,43%, suivi de l'acide stéarique qui représente un pourcentage de 2,45 à 8,49% pour les feuilles de *P. atlantica*,

Les extraits lipidiques des feuilles de *P. atlantica* issus des sites : Laghouat, Kheneg et Daya montrent une richesse en acides gras insaturés qui étaient dans l'ordre AGMI > AGPI pour les sites de Kheneg et Daya et pour le site de Laghouat l'ordre est inversé.

Le rapport acides gras insaturés/acides gras saturés semble être non stable au cours de la période étudiée ; sa valeur moyenne obtenue en mai diminue de 2,19% pour atteindre 1,04% au dernier stade de développement au mois de novembre. Ces valeurs fournissent à l'huile des propriétés bénéfiques au cours du premier stade de développement (résistance à l'oxydation).

3. Teneur en tocophérols totaux

Ces dernières années, il est devenu évident que les différentes formes de tocophérols (isomères de la vitamine E) ont des propriétés antioxydantes et des effets anticancéreux (**Li et al., 2011**), antidiabétique et cardioprotecteur des tocotriénols qui sont maintenant clairement démontrés (**Wang et al., 2012**). Par conséquent, l'étude des tocophérols dans les feuilles de *P. atlantica* présente un intérêt majeur. Les teneurs en tocophérols totaux (TT) dans les échantillons d'huiles ont été déterminée à partir de l'équation de la courbe d'étalonnage de la vitamine E (figure III.4), et exprimés en milligramme équivalents de Vit. E par gramme de lipide.

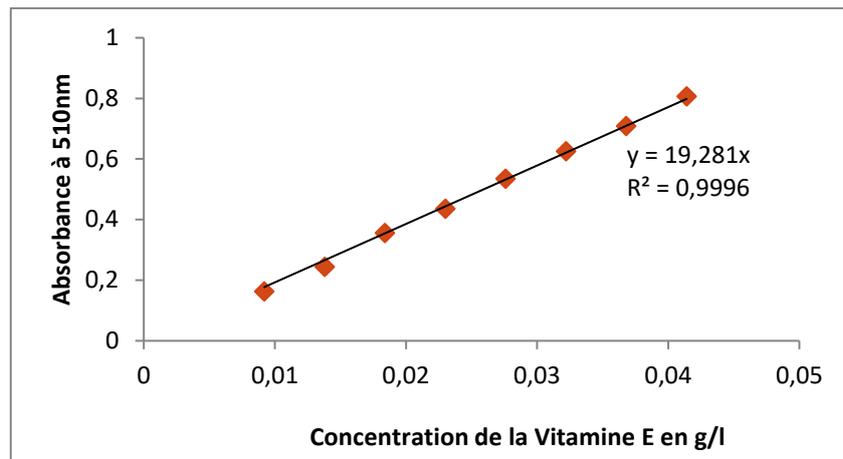


Figure III.4 : Courbe d'étalonnage de la vitamine E

Nous avons effectué le dosage des tocophérols totaux à partir des extraits huileux issus des feuilles de *P. atlantica* au cours des différents stades de croissance. Les résultats sont présentés dans le tableau III.4 et interprétés par la figure III.5.

Tableau III.4 : Teneur en Tocophérols totaux dans les extraits huileux des feuilles de *P. atlantica* cueillies à différents stades de croissance.

Tocophérols totaux (mg EE/g lipide)							
Mois de récolte	L1	L2	D1	D2	K1	K2	Moyenne ± sd
Mai	1,55	2,21	2,34	2,43	1,76	3,41	2,28±0,44
Aout	3,79	2,35	2,40	2,77	2,66	3,28	2,88±0,44
Septembre	3,05	3,54	2,89	2,39	4,26	3,41	3,26±0,48
Novembre	2,94	2,39	3,04	3,67	3,04	2,89	3,00±0,26
Moyenne±sd	2,83±0,64	2,62±0,46	2,67±0,3	2,82±0,43	2,93±0,72	3,25±0,18	-

Les valeurs obtenues montrent que la teneur en tocophérols totaux varie entre 1,55 et 4,26 mg/g de lipide. La teneur la plus importante a été obtenue par l'échantillon K1 récolté au mois de septembre, d'autre part l'échantillon L1 récolté à la première phase de croissance des feuilles (au mois de mai) a présenté la teneur la plus faible. En comparant les valeurs moyennes de chaque extrait selon la saison d'étude, il apparaît que la teneur moyenne la plus importante a été obtenue

par l'échantillon K2, d'autre part l'échantillon L2 a montré la moyenne la plus faible. En effet, Les valeurs moyennes au cours de développement foliaire restent assez proches pour tous les échantillons étudiés.

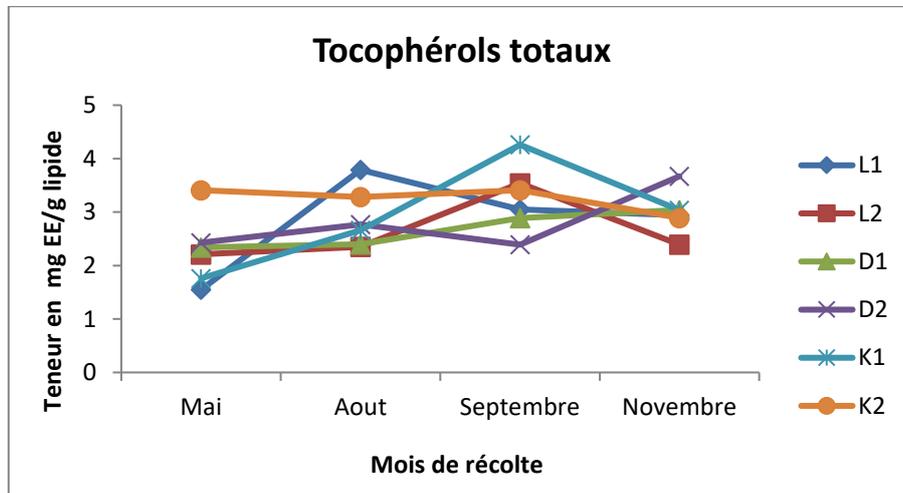


Figure III.5: Variation de la teneur en tocophérols totaux dans les extraits huileux des feuilles de *P. atlantica* au cours de la croissance

L'huile des feuilles de *P. atlantica* semble plus riche en tocophérols que d'autres huiles végétales alimentaires telles que l'huile de tournesol (0,67 mg/ g) et l'huile d'olive (0,20 mg/g) (**Karlenskind., 1992**) ce qui lui apportera des propriétés bénéfiques. En effet, plus des bien effets présentés au-dessus, l' α -tocophérol contribue à la conservation naturelle de l'huile contre la détérioration oxydative (**Kamal-eldin et al., 1996 ; Cardeno et al., 2014**).

Les résultats obtenus sont assez similaires à ceux récemment déterminés par **Harrat et al., 2018** à partir des feuilles de *Pistacia. lentiscus* (3,2-4,6 mg/g de lipides). La comparaison de nos résultats à ceux rapportés par la littérature pour d'autres huiles montre que les huiles des feuilles de *Pistacia atlantica* particulièrement aux stades intermédiaires de développement des feuilles sont extrêmement riches en tocophérols. Les données publiées concernent l'huile de graines de citrouille *Cucurbita pepo* L (0,10-0,22 mg / g de lipides. **Benalia et al., 2015**), l'huile de fruits matures et immatures de *P. atlantica* (0,51 à 1,70 mg / g d'huile. **Guenane et al., 2017**) et l'huile des feuilles de *P. atlantica* (0,21-1,53 mg E α T / g de lipides. **Chelghoum et al., 2020**). La teneur en tocophérols totaux est supérieure à celle déterminer pour autre plante de la même famille des anacardiées, telle que *P. terebinthus* var. *Chia* poussant à l'état sauvage en Turquie qui contient que 0,39 à 0,51 mg / g d'huile (**Matthaus et al., 2006**).

D'autre part, la variation saisonnière de la teneur moyenne en TT montre que la moyenne selon les différents mois de cueillette semble augmenter à partir du premier stade de croissance des feuilles (valeur moyenne de $2,28 \pm 0,44$ mg/g d'huile) et ceci jusqu'au stade intermédiaire de développement où elle achève son maximum au mois de septembre ($3,26 \pm 0,48$ mg/g d'huile), puis elle diminue légèrement vers à la fin de croissance foliaire au mois de novembre ($3 \pm 0,26$ mg/g). Nos résultats sont en accord avec ceux de **Gourine et al., 2010** qui ont rapporté par l'étude de la variation saisonnière de la composition chimique des huiles essentielles des feuilles du Pistachier de l'atlas que la plupart des composants principaux de ces derniers avaient atteint leur maximum au mois de septembre.

En examinant la variation de la teneur en TT selon des trois sites de cueillette, on remarque que pratiquement les deux sites, Laghouat et Daya, présentent des teneurs similaires en tocophérols totaux avec respectivement des valeurs moyennes de $2,73 \pm 0,60$ mg / g et de $2,74 \pm 0,35$ mg / g, tandis que la teneur pour le site de Kheneg est légèrement plus élevée que les deux premières avec une valeur moyenne de $3,09 \pm 0,50$ mg / g (figure III.6).

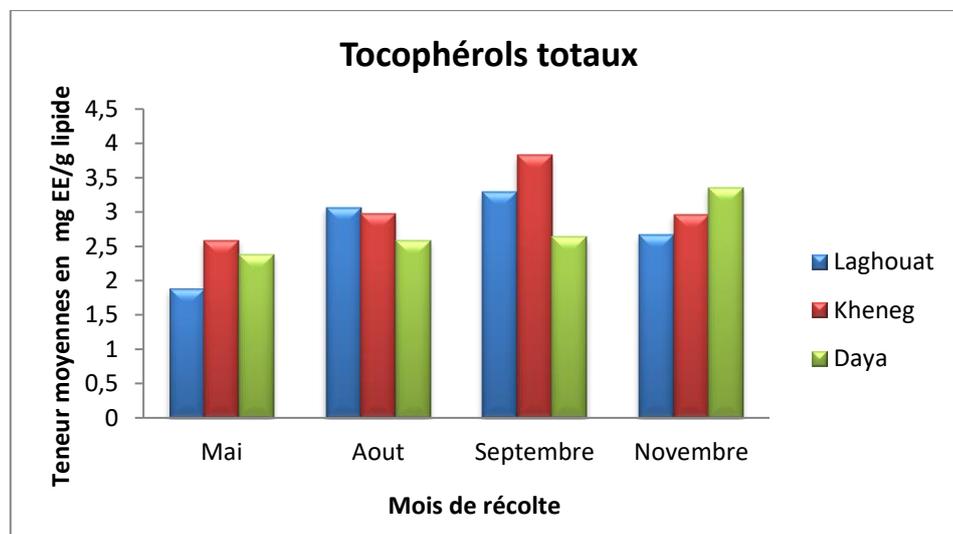


Figure III.6: Variation de la teneur en tocophérols totaux selon les trois sites de récolte au cours de la période étudiée

4. Teneur en caroténoïdes

Il a été reconnu qu'un régime alimentaire riche en caroténoïdes, associé à la consommation régulière de fruits et de légumes, suggère un effet protecteur contre le cancer et les maladies cardiovasculaires (Machlin., 1995 ; Wright et al., 2003). Les caroténoïdes jouent un rôle important dans la vision humaine en raison de leurs propriétés antioxydantes, ils peuvent aussi filtrer la lumière bleue de la macula oculaire (Benstien et al., 2016 ; Demming-Adams et al., 2013). Les tocophérols et les caroténoïdes améliorent la stabilité de l'huile, de sorte que les huiles naturellement riches en ces constituants sont préférées (Frankel., 1992 ; Warner., 1987)

Les teneurs en caroténoïdes dans les fractions lipidiques des feuilles de *P. atlantica* ont été déterminées à partir de la courbe d'étalonnage du β -carotène (figure III. 7) et exprimée en mg équivalents de β -carotène par gramme de lipide. Les résultats de ce dosage sont consignés ci-dessous (tableau III.5).

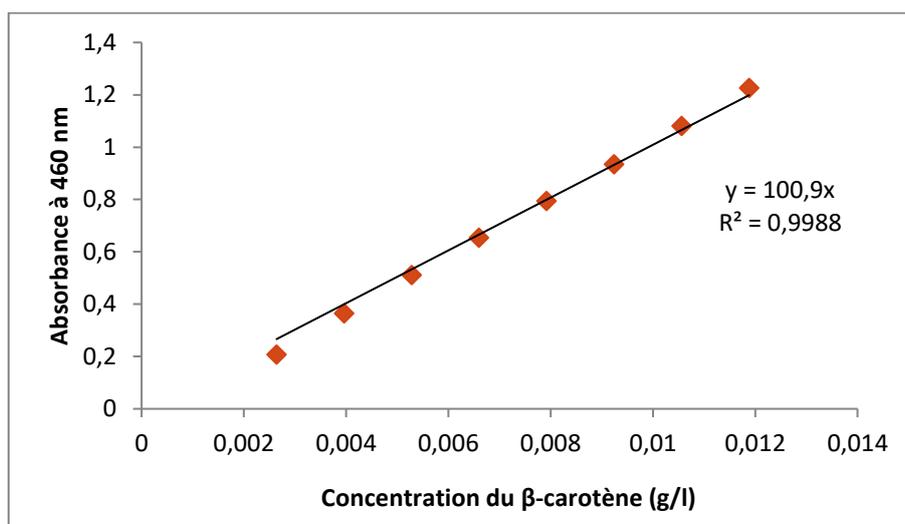


Figure III.7 : Courbe d'étalonnage du β -carotène

La teneur en caroténoïdes varie de 0,1 à 0,6 mg/g de lipide pour toute la série d'étude. La teneur maximale enregistré au début de la croissance des feuilles au mois de mai par les feuilles précoces de l'échantillon L1, tandis que le contenu le plus faible a été obtenu au dernier stade de développement au mois de novembre par l'échantillon L2.

Tableau III.5 : Teneur en caroténoïdes dans les extraits huileux des feuilles de *Pistacia atlantica* cueillies à différents stades de croissance.

Caroténoïdes (mg E β C/g lipide)							
Mois de récolte	L1	L2	D1	D2	K1	K2	Moyenne \pm sd
Mai	0,60	0,26	0,32	0,2	0,23	0,41	0,34\pm0,11
Aout	0,39	0,22	0,19	0,22	0,28	0,23	0,26\pm0,05
Septembre	0,37	0,38	0,18	0,16	0,23	0,25	0,26\pm0,08
Novembre	0,25	0,1	0,12	0,16	0,13	0,19	0,16\pm0,04
Moyenne \pm sd	0,40\pm0,10	0,24\pm0,08	0,20\pm0,06	0,19\pm0,03	0,22\pm0,04	0,27\pm0,07	-

La figure III. 8 représente la variation saisonnière de la teneur en caroténoïdes pour les différents extraits lipidiques, on remarque un écart important entre la valeur inférieure et la valeur supérieure des teneurs en caroténoïdes le long de la saison de développement des feuilles. La comparaison des teneurs moyennes de chaque extrait montre que la teneur moyenne la plus importante a été exhibée par l'échantillon L1, cet extrait est deux fois plus riche en caroténoïdes que les autres échantillons. D'autre part l'échantillon D2 a montré la moyenne la plus faible. D'autre part, nous constatons que le taux d'accumulation pour l'ensemble des échantillons varie le long de la période de croissance des feuilles.

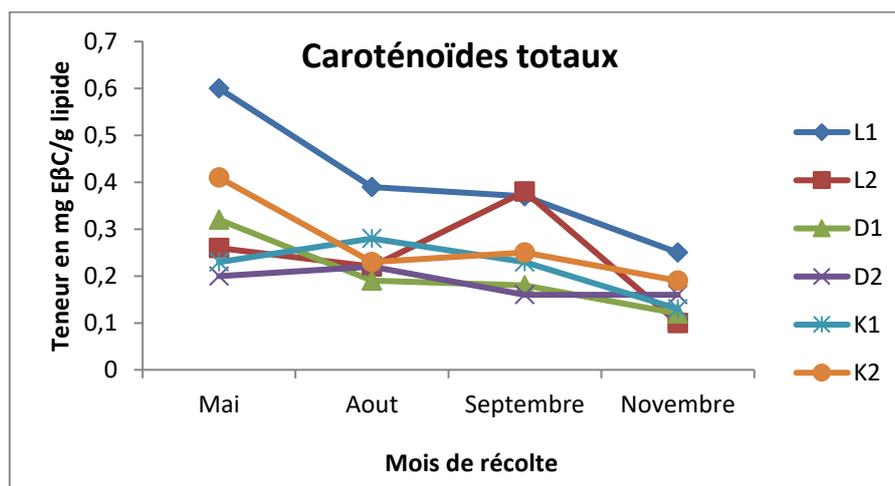


Figure III.8: Variation de la teneur en caroténoïdes dans les extraits huileux des feuilles de *P. atlantica* au cours de la croissance.

Au cours de développement des feuilles, la teneur en caroténoïdes n'est pas constante dans les extraits huileux. La teneur moyenne est maximale pour les extraits des feuilles précoces du mois de mai, ensuite, elle semble diminuer vers le stade intermédiaire avec des valeurs similaires en août et en septembre, puis, elle atteint sa valeur la plus basse à la fin de développement des feuilles. D'après ces constatations, il en ressort une nette variabilité de la teneur en caroténoïdes selon notamment la période de croissance des feuilles du pistachier de l'atlas. Ce résultat est constaté par **Chelghoum et al., 2020** où ils ont rapporté que les stades de développement ont eu un effet prononcé sur la concentration des tocophérols totaux et de caroténoïdes.

En observant La figure III.9 qui montre la variation saisonnière des teneurs en caroténoïdes totaux selon les trois sites de récolte. Nous constatons pour toute la saison que les extraits issus du site de Laghouat sont les plus riches en caroténoïdes, suivi de ceux issus du site Kheneg, enfin les extraits du site Daya contiennent moins de caroténoïdes pour toute la saison d'étude. Les valeurs moyennes sont dans l'ordre : $0.32 \pm 0,11$ mg/g > 0.24 ± 0.05 mg/g > 0.18 ± 0.02 mg/g, pour respectivement Laghouat, Kheneg et Daya.

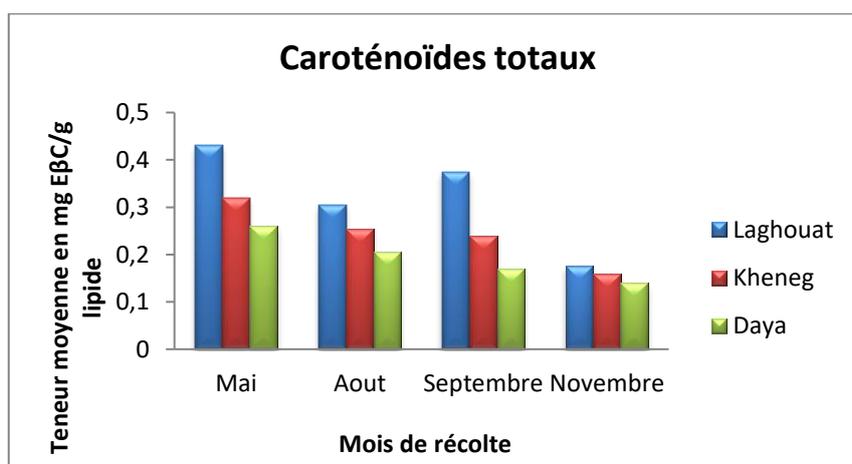


Figure III.9: Variation de la teneur en caroténoïdes selon les trois sites de récolte au cours de la saison d'étude.

5. Teneur en stérols totaux

Les phytostérols sont reconnus pour avoir plusieurs activités biologiques et propriétés physiques (**Abidi., 2001**). Ils ont démontré leur efficacité et leur sécurité pour l'abaissement du cholestérol du sang (**Kritchevsky et al., 2005**).

Les résultats de quantification des stérols totaux (ST) dans les fractions lipidiques des feuilles de *P. atlantica* ont été calculés à partir de la courbe d'étalonnage du cholestérol (Figure III. 10). Les teneurs sont exprimées en mg équivalents de cholestérol par gramme de lipide.

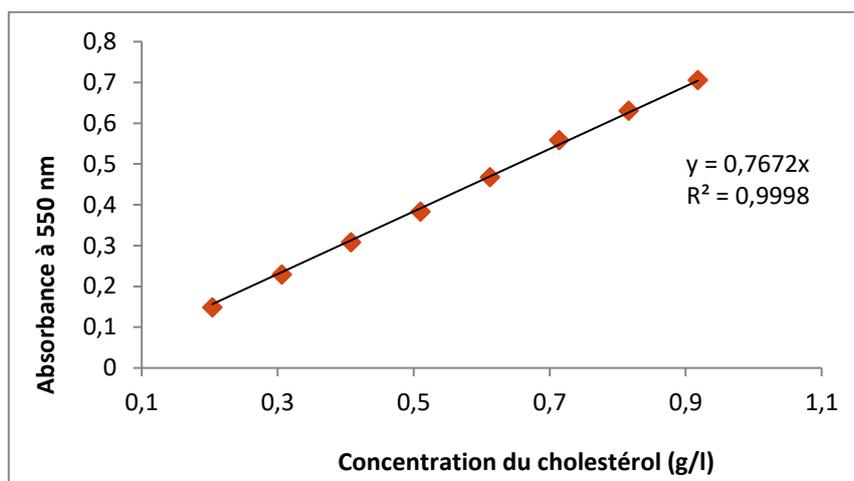


Figure III.10 : Courbe d'étalonnage du cholestérol.

Les résultats illustrés ci-dessous (Tableau III.6) montrent que les teneurs des stérols totaux sont largement plus élevées que celles des tocophérols totaux et des caroténoïdes. Les huiles étudiées contiennent des quantités importantes en stérols, dont la teneur obtenue s'échelonne entre 115,94 à 363,76 mg/g de lipide. La teneur maximale est présentée par les feuilles précoces de l'échantillon D1, cet extrait est trois fois plus riche en stérols totaux que l'extrait D2 à la fin de croissance des feuilles qui a présenté la teneur la plus inférieure. Les résultats de ce dosage indiquent que la teneur en stérols totaux est très variable et a un étendu de 248 mg/g pour l'ensemble des échantillons. La comparaison des teneurs obtenues pour chaque extrait montre que l'extrait L2 a un étendu maximal de 231 mg/g, tandis que l'extrait K1 présente un étendu minimal de 121 mg/g. D'après ces résultats, nous pouvons conclure que la teneur en stérols totaux est spécifique pour chaque extrait et par conséquent pour chaque arbre.

Nos résultats sont comparables à ceux rapportés par **Harrat et al., 2018** qui ont obtenu des teneurs en stérols totaux allant de 143,37 à 176,61 mg/g d'huile pour les huiles des feuilles de *P.lentiscus*, et ceux de **Bentireche et al.,2019** avec une intervalle allant de 130,24-369,18 mg/g pour les fruits de *P.atlantica*. D'autre part, Nos extraits lipidiques des feuilles de *P.atlantica* semblent être très riches en stérols totaux en comparant à ceux relatifs à l'huile des fruits de *Pistacia terebinthus* (1,34-1,80 mg/g d'huile. **Matthäus et al., 2006**) et à l'huile des galles de *P. atlantica* (42,14-112,75 µg βS/g. **Hefied et al., 2020**)

Tableau III.6 : Teneur en stérols totaux dans les extraits huileux des feuilles de *Pistacia atlantica* cueillies à différents stades de croissance.

Stérols totaux (mg EC/g lipide)							
Mois de récolte	L1	L2	D1	D2	K1	K2	Moyenne ± sd
Mai	265,83	358,11	363,76	280,46	264,75	269,35	300,38±40,3
Aout	183,55	159,42	146,47	142,36	202,41	212,40	174,43±25
Septembre	133,09	136,37	178,66	196,53	208,65	332,46	197,63±48,6
Novembre	131,84	127,71	135,36	115,94	143,69	118,05	128,77±8,2
Moyenne±sd	178,58±46,1	195,40±81,3	206,07±78,8	183,82±54,6	204,88±31,8	233,06±67,8	-

La variation saisonnière de la teneur en stérols totaux pour les différents extraits huileux est montrée par la figure III.11. Nous observons que l'extrait K2 contient la quantité la plus élevée, suivi par les extraits K1 et D1 qui contiennent pratiquement les mêmes quantités. La teneur de l'extrait L2 est légèrement inférieure à ces deux derniers, enfin, les échantillons L1 et D2 possèdent les quantités les plus faibles en stérols totaux. En général, la teneur en stérols totaux tend à diminuer et ce pour tous les extraits aux cours de développement des feuilles de *P. atlantica*.

La teneur moyenne en stérols totaux selon les différents mois de cueillette semble diminuer à partir de sa valeur maximale atteinte au premier stade de croissance des feuilles (valeur moyenne de 300,38 ± 40,3 mg/g) jusqu'au stade intermédiaire de développement où elle atteint une moyenne de 174,43 ± 25 mg/g au mois de aout, cette dernière est ensuite légèrement augmentée au mois de septembre pour atteindre 197,63 ± 48,6 mg/g, puis le minimum est observé au mois de novembre au dernier stade de développement des feuilles (valeur moyenne de 128,77 ± 8,2 mg/g). De même que pour les caroténoïdes, nous remarquons avec intérêt que la teneur en stérols est d'autant moins élevée que les feuilles sont en dernier stade de croissance. Cette constatation est en accord avec l'étude présentée par **Trabelsi et al., 2012**, qui ont révélé que l'accumulation maximale est caractéristique des fruits immatures, puis elle diminue vers la dernière période de maturation des fruits lentisques.

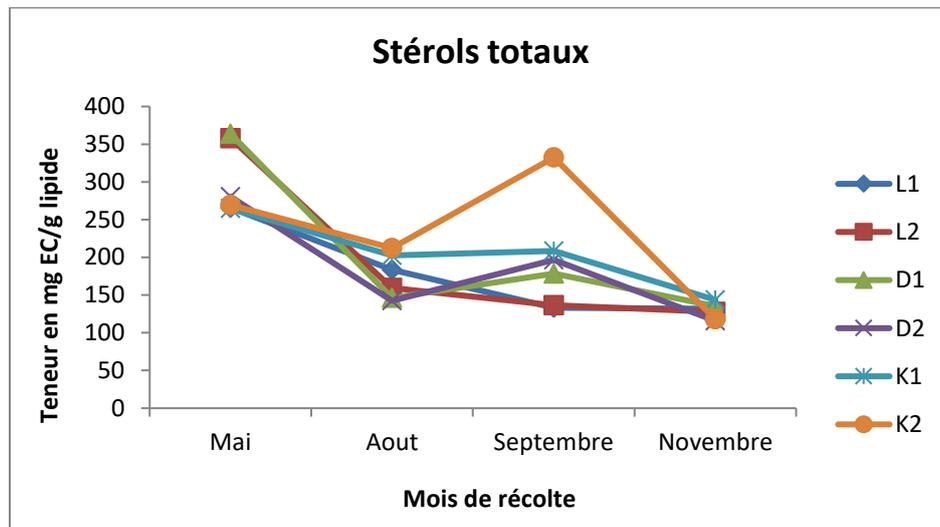


Figure III.11: Variation de la teneur en stérols totaux dans les extraits huileux des feuilles de *P. atlantica* au cours de la croissance.

La figure III. 12 ci-dessous montre la variation en ST au cours de développement des feuilles selon les trois sites de cueillette. Nous remarquons que la teneur moyenne en stérols totaux des extraits huileux du site Kheneg ($218,97 \pm 52,41$ mg/g) est la plus importante, suivi de celle des extraits du site de Daya ($194,94 \pm 63,98$ mg/g), en dernier, les échantillons de Laghouat qui ont présenté la moyenne la plus inférieure ($186,99 \pm 62,49$ mg / g). Pour les sites de Daya et de Laghouat, la charge en ST est maximale au mois de mai, alors que pour le site de Kheneg, la teneur est maximale au mois de septembre. La teneur minimale est observée à la fin de développement des feuilles pour les trois sites de cueillette.

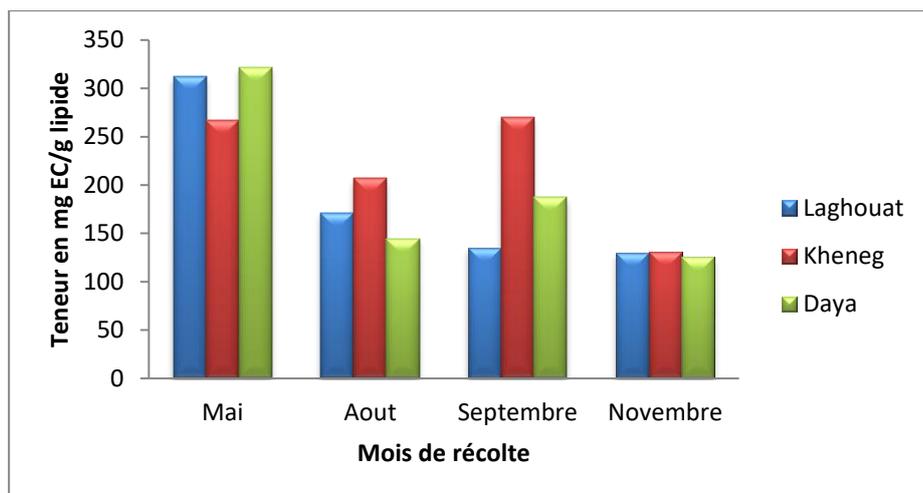


Figure III.12: Variation de la teneur en stérols totaux selon les trois sites de récolte au cours de la saison d'étude.

6. Variation saisonnière de l'activité antioxydante des extraits lipidiques des feuilles de *Pistacia atlantica*

Comme pour l'étude de la composition chimique en acides gras, l'évolution de l'activité antioxydante des extraits lipidiques des feuilles de *P. atlantica* a été suivie le long des quatre mois de récolte afin de déterminer le meilleur moment de cueillette des feuilles. Nous avons utilisé deux méthodes différentes et complémentaires en même temps : le test DPPH et le test d'inhibition par blanchiment du β -carotène. Le test DPPH mesure la capacité réductrice d'un antioxydant (extrait lipidique dans notre cas). Par contre, dans le système d'acide linoléique- β -carotène, le β -carotène subit une décoloration rapide en absence d'un antioxydant. La présence d'un antioxydant tel qu'un extrait lipidique peut gêner l'étendue de la destruction du β -carotène en neutralisant les radicaux libres du linoléate et tous les autres radicaux libres formés dans le système.

a. Pouvoir anti-radicalaire des extraits lipidiques par le test DPPH* (2,2-diphényle-1-picrylhydrazyle)

Afin de déterminer quantitativement l'activité antioxydante des extraits lipidiques des feuilles de *Pistacia atlantica* au cours de croissance, nous avons tracé les graphes illustrant la variation du pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration des différents extraits lipidiques dans la solution de DPPH. Les régressions linéaires ont été obtenues avec des coefficients de détermination R^2 supérieur à 0,98. À partir de l'équation du graphe, nous avons calculé la concentration de l'extrait donnant 50% d'inhibition du radical libre DPPH (EC_{50}) et qui est inversement proportionnelle au pouvoir antioxydant (plus l'extrait est actif plus la valeur de EC_{50} est petite). Les résultats de ce test sont présentés dans le tableau III.7.

Tableau III. 7 Valeurs d' EC_{50} des extraits lipidiques des feuilles de *Pistacia atlantica* au cours de croissance en utilisant le test DPPH.

EC ₅₀ (mg/mL)							
Mois de récolte	L1	L2	D1	D2	K1	K2	Moyenne ± sd
Mai	7,77	nd	nd	11,48	13,17	8,87	10,32±2
Aout	3,91	7,73	7,63	5,16	5,72	5,15	5,88±1,2
Septembre	6,35	7,33	6,87	6,02	5,05	5,89	6,25±0,6
Novembre	3,49	7,66	5,70	5,03	7,25	6,94	6,01±1,27
Moyenne±sd	5,38±1,68	7,57±0,16	6,73±0,69	6,92±2,28	7,80±2,69	6,71±1,19	-
Antioxydant de référence							
	Vitamine E				BHA		
EC ₅₀ (µg/mL) ± sd	4,22 ± 0,02				6,91 ± 0,07		

Les valeurs d' EC_{50} des extraits lipidiques varient entre 3,48 et 13,17 mg/mL tout le long de la saison d'étude. Pour l'ensemble des échantillons, la plus grande valeur enregistrée pour EC_{50} est quatre fois plus grande que celle de la valeur minimale correspondante. L'échantillon L1 a révélé l'activité la plus importante au dernier stade de développement des feuilles au mois de novembre, au premier stade de croissance, l'extrait K1 a recélé la valeur EC_{50} la plus élevée ce qui lui a attribué la plus faible activité antioxydante.

En comparant **les valeurs moyennes** d'EC₅₀ des différents extraits, nous remarquons que l'extrait L1 récolté du site de Laghouat montre la meilleure activité antiradicalaire avec la valeur moyenne d'EC₅₀ la plus inférieure, par la suite les extraits D1 et K2 montrent la même capacité vis-à-vis des radicaux libres, ensuite l'échantillon D2 suivi de l'échantillon L2, enfin l'extrait K1 présente la valeur EC₅₀ la plus élevée et donc c'est le moins actif de tous les extraits. En effet, les différences mineures ressorties de la comparaison des valeurs moyennes d'EC₅₀ nous mènent à dire que le pouvoir antiradicalaire est équivalent pour les différents échantillons. Tous nos extraits lipidiques se montrent moins actifs par rapport aux antioxydants synthétiques choisis, la vitamine E et le BHA dont les valeurs d'EC₅₀ valent 4,22 et 6,91 µg/mL, respectivement.

La variation saisonnière de la valeur EC₅₀ de l'activité antioxydante pour les extraits huileux des feuilles de *P.A* est représentée par la figure III. 13. L'évaluation des valeurs d'EC₅₀ obtenues pour chaque échantillon notamment selon les quatre mois de cueillette, montre que les extraits L2, D1 et K2 présentent un étendu assez étroit (inférieur à 4 mg/mL) entre la valeur minimale et maximale d'EC₅₀ dont les valeurs varient entre 0,5 et 3 mg/mL. Par conséquent, on peut dire que ces extraits présentent une légère augmentation en termes d'activité antioxydante aux cours de croissance des feuilles. Les extraits L1, D2 et K1 exhibent un étendu important (supérieur à 4 mg/ml) dont les valeurs valent : 4,28 et 6,45 et 8,12 mg/mL, respectivement. D'après cette interprétation, nous y distinguons une variation claire du pouvoir antiradicalaire aux cours de la période de croissance des feuilles de ces derniers. D'autre part cette illustration montre qu'au premier stade de croissance des feuilles, l'extrait L1 qui a révélé le meilleur pouvoir antioxydant, tandis que l'extrait K1 a décelé le plus faible pouvoir à ce stade. Au stade intermédiaire c.à.d. aux mois d'aout et septembre les extraits L1 et K1 sont les plus actifs, respectivement. Alors que le moins actif est le L2 pour cette phase de développement des feuilles. A la fin de la croissance des feuilles (au mois de novembre) l'extrait L1 montre le pouvoir le plus élevé, et l'activité inférieure est enregistrée encore une fois par L2.

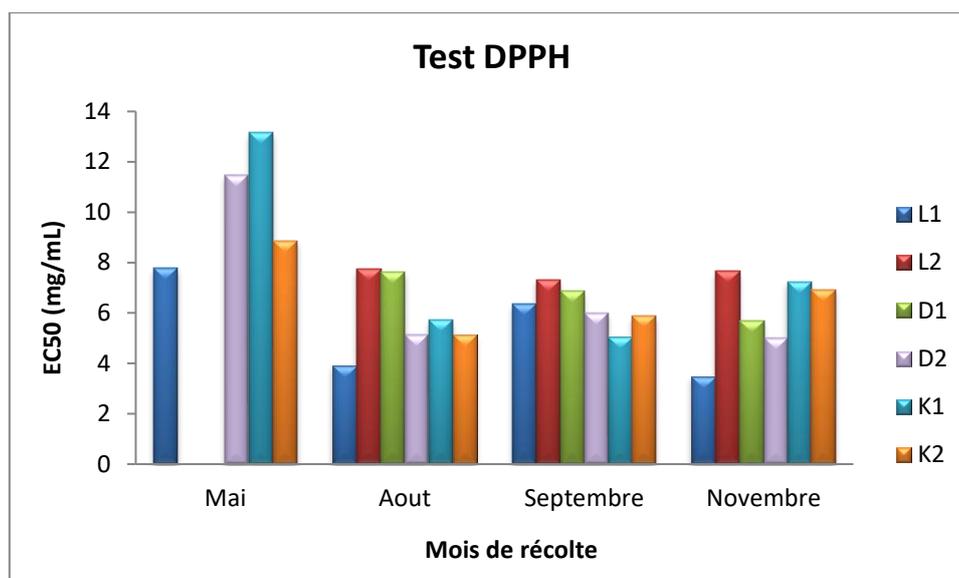


Figure III.13 : Valeurs saisonnières d'EC₅₀ des extraits huileux des feuilles de *P.A* à différents stades de croissance en utilisant le test DPPH.

La variation de l'activité antioxydante selon les sites de cueillette montre que la valeur moyenne la plus inférieure d'EC₅₀ est enregistrée par les échantillons cueillis de Laghouat (6,50 mg/mL), et donc, ce sont les plus actifs. Les feuilles récoltées des sites Kheneg et Daya présentent pratiquement les mêmes valeurs moyennes d'EC₅₀ : 7,25 et 7,42 mg/mL, respectivement. Ces légères différences montrent que le pouvoir antioxydant selon les trois sites de cueillette est assez stable.

On peut aussi interpréter les résultats obtenus par ce test en utilisant l'inverse d'EC₅₀. Le paramètre 1/EC₅₀ est connu sous le nom de l'efficacité antiradicalaire EA, ou de fois sous le nom du pouvoir antiradicalaire PAR. La figure III. 14 ci-dessous montre la variation saisonnière du PAR des extraits lipidiques des feuilles de *Pistacia atlantica*. Il semble que le pouvoir antiradicalaire croît à partir des feuilles précoces du mois de mai en allant vers le mois d'aout, l'augmentation est estimée à presque deux fois sa valeur initiale ; par la suite, les valeurs de PAR sont très proches et stables pour la phase intermédiaire et la fin de croissance.

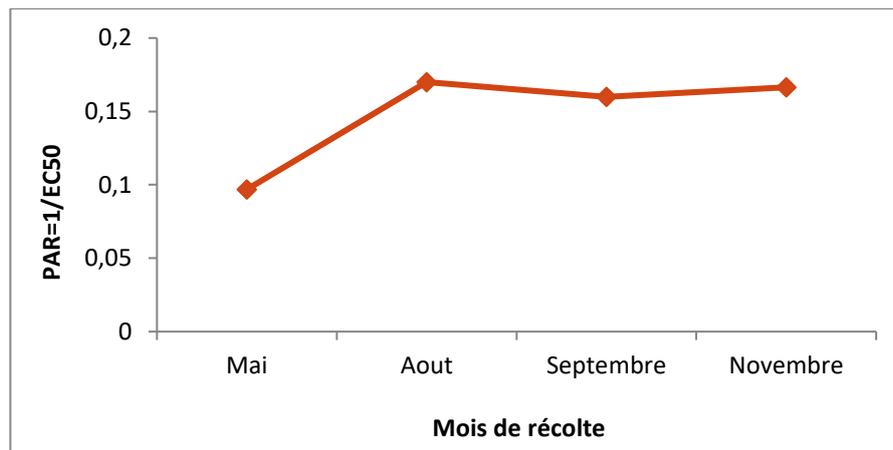


Figure III.14 : Variation saisonnière du pouvoir antiradicalaire (PAR) des fractions lipidiques des feuilles de *Pistacia atlantica* en utilisant le test DPPH.

La comparaison de nos résultats avec les travaux antérieurs montre que l'intervalle obtenu des valeurs EC_{50} est en accord avec les résultats obtenus par **Gourine et al., 2010** qui ont rapporté des valeurs de EC_{50} des huiles essentielles des feuilles de *P. atlantica* comprises entre 8,80 et 27,48 mg / mL et qui ont aussi enregistré la meilleure activité antiradicalaire aux mois de septembre et octobre ce qui s'accorde avec nos résultats. Les résultats obtenus ne sont pas très différents à ceux déterminés par **Harrat et al., 2018** à partir des feuilles de *Pistacia. lentiscus* (3,28-4,51 mg/mL), les différences des valeurs d' EC_{50} est probablement due à l'étude saisonnière réalisée dans notre travail. D'autre part, Le pouvoir antioxydant est plus élevé que celui présenté par **Guenane et al., 2017** ayant obtenu les valeurs de EC_{50} pour l'huile de fruit de *P. atlantica*, allant de 17,1 à 51,3 mg / mL. **Belyagoubi-Benhammou et al., 2018** ont enregistré une valeur $EC_{50}=20,61$ mg/mL pour l'huile de fruit mature de *P. lentiscus* de la région de Tlemcen (Algérie).

b. Inhibition par blanchiment du β -carotène

La méthode de blanchiment du β -carotène est basée sur la perte de la couleur jaune de ce dernier en raison de sa réaction avec les radicaux formés par l'oxydation de l'acide linoléique dans une émulsion. Le taux de blanchiment du β -carotène peut être ralenti en présence d'antioxydants (**Kulisic et al., 2004**). Rappelons que c'est la première fois que ce test a été entrepris pour les extraits lipidiques des feuilles de Pistachier de l'Atlas. Les graphes représentant la variation du pouvoir antioxydant en fonction de la concentration de chaque extrait lipidique dans le système acide linoléique- β -carotène ont été tracés. D'une façon identique à celle du test DPPH, on a calculé à partir de l'équation du graphe les valeurs EC_{50} pour chaque échantillon (concentration fournissant 50% d'inhibition du blanchiment du β -carotène). Les régressions linéaires ont été obtenues avec des coefficients de détermination R^2 supérieur à 0,98. Les résultats de ce test sont indiqués dans le tableau III.8.

Les valeurs trouvées d' EC_{50} pour ce test varient le long de la saison entre 3,99 et 12,92 mg/mL. C'est pratiquement le même intervalle obtenu pour le test DPPH. La plus importante activité antioxydante obtenue est trois fois meilleure que celle la plus faible correspondante. La valeur EC_{50} minimale a été enregistrée par l'extrait L1 du mois d'août ce qui lui attribuera le meilleur pouvoir antioxydant. Les feuilles précoces de ce dernier ont présenté le pouvoir antioxydant le plus inférieur qui correspond ainsi à la valeur maximale d' EC_{50} .

En se référant aux valeurs moyennes d' EC_{50} des différents extraits, nous constatons que l'activité antiradicalaire est très similaire pour les extraits : D2, L1 et D1 dont les valeurs moyennes d' EC_{50} sont assez proches et dans l'ordre précédant (tableau III.8). Le pouvoir antioxydant de l'extrait K2 est légèrement inférieur à ces derniers. Ensuite, comme pour le test DPPH les extraits L2 et K1 sont les moins actifs. De même que pour le test DPPH, la comparaison des valeurs moyennes d' EC_{50} montre que le pouvoir antiradicalaire est équivalent pour les différents échantillons. Tous les extraits huileux testés se montrent moins actifs par rapport à l'antioxydant de référence, vitamine E dont la valeur EC_{50} vaut 7,68 μ g/mL.

Tableau III. 8 Valeurs d'EC₅₀ des extraits lipidiques des feuilles de *Pistacia atlantica* au cours de croissance en utilisant le test β-carotène.

EC ₅₀ (mg/mL)							
Mois de récolte	L1	L2	D1	D2	K1	K2	Moyenne ± sd
Mai	12,92	11,67	8,30	8,20	11,22	10,99	10,55±1,53
Aout	3,99	7,86	6,41	8,56	7,63	7,44	6,98±1,19
Septembre	7,05	6,21	8,34	5,64	8,68	7,78	7,28±0,98
Novembre	5,63	8,55	8,82	6,24	9,71	7,51	7,74±1,28
Moyenne±sd	7,40±2,76	8,57±1,55	7,97±0,78	7,16±1,22	9,31±1,16	8,43±1,28	-
Antioxydant de réf.	EC ₅₀ (μg/mL) ± sd						
Vitamine E	7.68 ±0.61						

Les histogrammes de la figure III. 15 montrent la variation saisonnière de la valeur EC₅₀ de l'activité antioxydante des extraits huileux testés. Les extraits D1, D2, K1 et K2 présentent un écart limité (inférieur à 4 mg/mL) entre la valeur minimale et maximale d'EC₅₀ selon les quatre mois de la saison d'étude, dont les valeurs varient entre 2,41 et 3,59 mg/mL ce qui montre que le pouvoir antiradicalaire de ces extraits a augmenté très doucement le long de la saison d'étude. Par conséquent, on peut dire que les extraits précédents montrent une activité antioxydante stable selon la saison d'étude. Les extraits L1, L2 montrent un étendu considérable dont les valeurs valent : 8,92 et 5,46 mg/mL, respectivement, donc, ils montrent une variation claire du pouvoir antiradicalaire aux cours de la croissance des feuilles. En examinant les valeurs moyennes d'EC₅₀ pour chaque mois de cueillette, nous observons que les feuilles cueillies du site Daya sont les plus actifs au premier stade de développement foliaire, tandis que les moins actifs sont ceux de Laghouat. Au stade intermédiaire l'extrait L1 est le plus actif, alors que les moins actifs sont D2 et K1. A la fin de la croissance des feuilles (au mois de novembre) l'extrait L1 montre le pouvoir le plus élevé, et l'activité inférieure est enregistrée par K1.

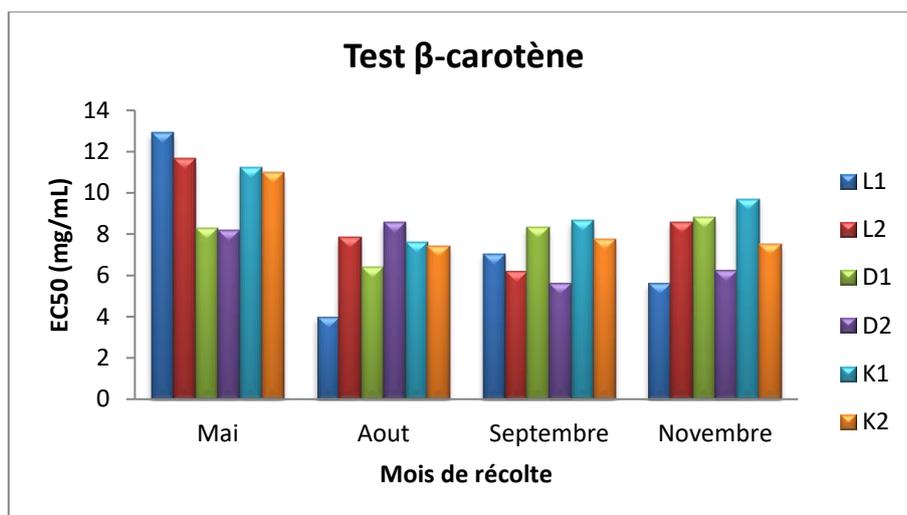


Figure III.15 : Valeurs saisonnières d'EC₅₀ des extraits huileux des feuilles de *P.A* à différents stades de croissance en utilisant le test β-carotène.

La figure III. 16 schématise la variation saisonnière du pouvoir antiradicalaire PAR des extraits lipidiques des feuilles de *Pistacia atlantica*. Il apparait que le PAR croit de manière significative à partir des feuilles précoces du mois de mai vers le mois d'aout, l'efficacité antiradicalaire est presque doublée ; par la suite, les valeurs de PAR sont assez stables pour le reste de la période de croissance des feuilles. L'évaluation de la variation saisonnière de l'activité antioxydante montre clairement que le pouvoir antiradicalaire du test β-carotène varie dans le même sens que pour le test DPPH.

La variation de la capacité antioxydante selon les sites de cueillette montre que les échantillons cueillis du site Daya et Laghouat sont les plus actifs avec les valeurs moyennes d'EC₅₀ qui valent : $7,56 \pm 0,34$ et $7,98 \pm 2,15$ mg/mL. Les feuilles récoltées des sites Kheneg sont légèrement moins actifs ($EC_{50} = 8.87 \pm 1,12$ mg/mL). Dans l'ensemble, les trois sites de cueillette montrent un pouvoir antioxydant très stable.

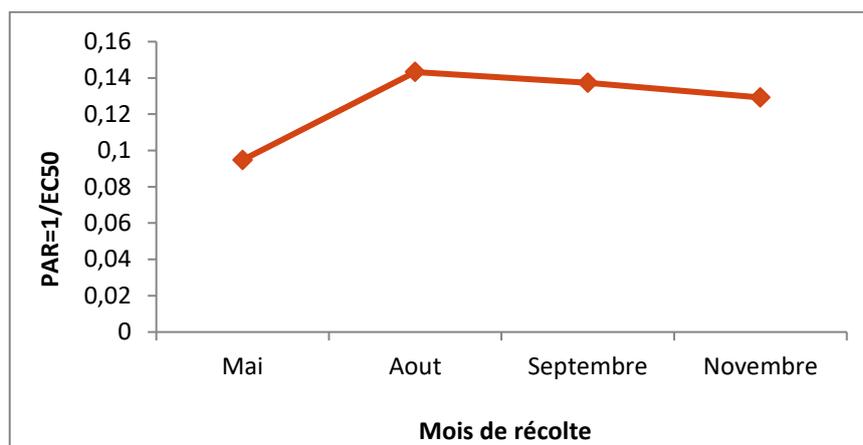


Figure III.16 : Variation saisonnière du pouvoir antiradicalaire (PAR) des fractions lipidiques des feuilles de *Pistacia atlantica* en utilisant le test β -carotène.

Il est plus approprié de comparer les résultats de notre étude avec autres travaux antérieurs. Les valeurs trouvées d'EC₅₀ pour ce test sont très proches à ceux trouvés pour l'huile essentielle des feuilles de *P. lentiscus* (Anacardiaceae) de la Tunisie, rapportée par **Aissi et al., 2016** ayant obtenu un intervalle allant de 5,57 à 11,20 mg / mL, de même la valeur moyenne d'EC₅₀ enregistrée notamment au mois de mai est très cohérente avec la nôtre au même mois (11,11 ± 1,07 mg/mL). **Bachrouch et al., 2015** ont obtenus un intervalle variant de 10 à 11 mg/mL pour les huiles essentielles des feuilles de *P. lentiscus* de la Tunisie cueillies au stade de la floraison (au mois de mai), ce qui est en accord avec nos résultats. Les résultats obtenus sont très différents à ceux déterminés par **Harrat et al., 2018** à partir des feuilles de *Pistacia. lentiscus* (1,43-2,59 mg/mL), ce qui peut être due au nombre élargie des échantillons dans notre étude. Comme il a été évoqué pour le test DPPH, et vu le manque d'études sur l'activité antioxydante des extraits lipidiques des feuilles de *P. atlantica*, ne nous a pas permis de discuter nos résultats avec autres études précédentes. Les travaux antérieurs se sont intéressés à d'autres espèces de *Pistacia* et aux huiles issues des fruits de *Pistacia atlantica*.

7. Recherche des Corrélations

7.1. Corrélation entre les deux tests d'activité antioxydante DPPH et β -carotène

Afin d'établir d'éventuels corrélations entre les résultats des deux tests utilisés pour évaluer l'activité antioxydante : le test DPPH et le test de blanchiment du β -carotène (exprimées en pouvoir antiradicalaire $PAR = 1 / EC_{50}$ pour les deux tests), et en prenant par considération toute la période de développement des feuilles de *P. atlantica*, nous avons déterminé à l'aide de la fonction statistique interne Excel «COEFFICIENT.CORRELATION» une bonne corrélation positive de 97% , ce qui indique que les capacités antioxydantes variaient de la même manière pour les deux, on peut dire alors que les échantillons présentant des activités élevées dans le test DPPH présentent également des activités élevées pour le dosage du β -carotène

7.2. Corrélation entre la teneur en tocophérol totaux et le test DPPH

Il pourrait également être possible de déterminer la relation entre la teneur en tocophérols totaux et l'activité antioxydante des extraits huileux des feuilles de *P. atlantica* étudiés, et ce afin de confirmer l'activité antioxydante des extraits lipidiques. Une corrélation entre les valeurs de EC_{50} obtenues pour le test DPPH et la teneur en tocophérols totaux a également été explorée à l'aide de la même fonction précédente. Relativement, pour l'ensemble des échantillons, nous notons avec intérêt un facteur de corrélation de -57% (Tableau III.9). Ainsi, l' EC_{50} est d'autant moins élevé que la teneur en tocophérols augmente.

Nous avons également évalué individuellement (pour chaque extraits huileux) les corrélations entre l'activité antioxydante par le test DPPH (exprimées en pouvoir antiradicalaire PAR) et la teneur en tocophérols totaux selon la période de croissance des feuilles. Les meilleures corrélations trouvées valent : 62, 68, 86, 88, et 99%, pour les extraits D2, L1, K1, D1 et L2, respectivement, à l'exception de l'échantillon K2 cueilli de la région de Kheneg, qui a exhibé un coefficient de corrélation très faible de 3%. Donc, la majorité des échantillons ont indiqué une relation directe entre le pouvoir antiradicalaire des radicaux libres DPPH et les teneurs en tocophérols totaux.

En se référant des valeurs moyennes d'EC₅₀ et des tocophérols totaux pour chaque mois de récolte, il apparaît que la meilleure corrélation est obtenue pour le mois d'aout (-90%), ce qui nous mène à dire qu'au stade intermédiaire de développement des feuilles l'activité antioxydante de leurs extraits huileux dépend principalement de ces composés antioxydants et de leurs concentrations. D'autre part, la plus faible corrélation est enregistrée pour le mois de mai (-17%) (Tableau III.10). Ces résultats montrent clairement l'implication des tocophérols dans l'activité antioxydante des extraits lipidiques des feuilles de *P. atlantica*. Cependant, d'autres composés seraient également impliqués.

Tableau III.9 Matrice de Corrélations entre : l'activité antioxydante (tests DPPH et β -carotène), C18: AGI, teneur en tocophérols totaux (TTT) et teneur en caroténoïdes (TC).

	EC₅₀ β-carotène	EC₅₀ DPPH	C18:1	C18:2	C18:3	TTT	TCT	Somme C:18 AGI
EC₅₀ β-carotène	1	0.5726	-0.3373	0.3508	0.3149	-0.4845	0.2498	-0.1971
EC₅₀ DPPH		1	-0.3989	0.4910	0.5746	-0.5738	0.0181	0.2801
C18:1			1	-0.4854	-0.5437	0.3386	-0.0797	0.3530
C18:2				1	0.6333	-0.2430	0.0910	0.4663
C18:3					1	-0.3812	0.3814	0.5410
TTT						1	-0.0641	0.1942
TCT							1	0.2683
Somme C:18 AGI								1

Tableau III.10 : Matrice de corrélation entre la teneur en tocophérols totaux et le test DPPH au cours de développement des feuilles de *P. atlantica*.

		Moyenne de la teneur en tocophérols (mg EE /g lipide)			
		Mai	Aout	Septembre	Novembre
Moyenne d'EC ₅₀ (mg/mL)	Mai	-0,1741			
	Aout		-0,9000		
	Septembre			-0,3934	
	Novembre				-0,4832

7.3. Corrélations entre la teneur en tocophérols totaux, C18 : AGI et les activités antioxydantes

Afin de déterminer les relations possibles entre : l'activité antioxydante, les principaux composants chimiques des acides gras (C18 : 1, 2, 3) et les tocophérols totaux, des corrélations entre ces trois groupes de variables ont également été déterminées (tableau III.9). Les résultats montrent une corrélation négative entre les valeurs d'EC₅₀ et l'acide oléique C18 : 1, alors qu'une corrélation positive est déterminée entre les valeurs d'EC₅₀ et les proportions d'acides gras polyinsaturés tel que l'acide linoléique et linoléique C18 : 2,3. Il en ressort que la capacité antioxydante est d'autant plus élevée que le taux de l'acide oléique C18: 1 augmente. En même temps, cette activité est corrélée aux faibles proportions d'acide linoléique et linoléique.

Les corrélations entre la teneur en tocophérols totaux et les pourcentages des trois acides gras C18 : 1, 2, 3 sont également déterminées. La teneur en tocophérols totaux est corrélée positivement avec l'acide oléique C18: 1, et en même temps négativement corrélée avec les acides : linoléique et linoléique C18: 2,3. En effet, cela signifie que les teneurs en tocophérols les plus élevés sont liés aux pourcentages les plus élevés d'acide oléique, et également aux pourcentages les plus faibles d'acide linoléique et linoléique C18: 2,3. Les acide gras insaturés (C18: 1,2, 3) présentent des corrélations significatives les unes aux autres. L'acide linoléique est corrélé positivement à l'acide linoléique (plus de 63%), ce qui indique que les pourcentages élevés de l'acide linoléique sont associés aux pourcentages élevés de l'acide linoléique. De plus, l'acide linoléique représente la meilleure corrélation avec la somme des acides insaturés C18 : AGI (54%). Par ailleurs, l'acide oléique est négativement corrélé avec l'acide linoléique et l'acide linoléique, ce qui signifie que les proportions les plus élevées de C18 : 1 étaient liés aux

proportions les plus faibles des deux acides C18: 2,3, ce qui confirme les résultats présentés auparavant.

8. Analyse statistique des données relatives à la composition en acide gras

Afin de bien approfondir l'interprétation des similitudes et / ou des différences dans la composition en acides gras des différentes fractions lipidiques ainsi que leurs variations au cours des différents mois et sites de récolte (présence possible d'effet de région et / ou de mois de collecte sur la composition des acides gras), nous avons procédé à une analyse de données par le logiciel XLSTAT en utilisant la méthode de classification ascendante hiérarchique (CAH). Les résultats d'CAH schématisés dans le dendrogramme de la figure III.17 montre deux groupes d'échantillons clairement distingués : groupe I: groupe de gauche composé de 11 individus et groupe II: groupe de droite de 11 individus composé de deux sous-groupes (SG I et II). La présence de ces groupes et sous-groupes consolide l'hypothèse initiale de la dissimilarité existante des échantillons étudiés sur la variabilité de la composition chimique en acides gras. Un examen attentif du premier groupe (I) révèle qu'il a inclus tous les échantillons collectés pour les mois consécutifs d'août et de septembre. Le second groupe (II) a aggloméré principalement les échantillons de mai (au début de la formation des feuilles) avec ceux de novembre (dernier stade de développement des feuilles: feuilles jaunes). Le premier sous-groupe SG-1 sépare les échantillons de novembre de ceux de mai qui appartiennent cette fois au SG-2. Pour SG-1, une exception a été faite pour un échantillon appartenant au mois de septembre. En effet, pour cet échantillon, il peut s'agir de la présence d'un processus supplémentaire pour son stade phonologique dans ce cas particulier. Afin de mieux clarifier et quantifier les différences entre les groupes déterminées, nous avons déterminé les intervalles de variation, les valeurs moyennes et leurs écarts types pour tous les groupes et sous-groupes. Les résultats sont résumés dans le tableau III.11.

Commençons par les principales similitudes entre tous les groupes. Tous les groupes présentent pratiquement des valeurs moyennes similaires dans la composition des acides gras saturés suivants: acide laurique C12:0; Acide margarique C17:0; acide stéarique C18:0 et acide arachidique C20:0. Par la suite, les différences ou les dissimilarités entre ces groupes sont discutées comme suit : Le premier groupe est principalement différencié par son pourcentage élevé de l'acide gras insaturé acide oléique C18: 1 ω 9, présentant une variation moyenne et sd de $29,07 \pm 7,14\%$ avec une comparaison de SG-1 ($15,97 \pm 2,98\%$) et de SG-2 ($12,36 \pm 4,47\%$). Le SG-2 est caractérisé par des pourcentages relativement plus élevés de l'acide gras insaturé : acide linoléique C18 : 3 ω 3 ($27,25 \pm 5,92\%$ Vs « $15,98 \pm 4,50\%$ et $11,22 \pm 4,18\%$ ») et l'acide linoléique C18: 2 ω 6 ($17,68 \pm 3,80\%$ Vs « $12,38 \pm 3,44\%$ et $9,83 \pm 2,30\%$ ») par rapport au reste du sous-

groupe 1 et du groupe (I), respectivement. Le SG-2 se caractérise également par un pourcentage moyen inférieur de l'acide gras saturé : acide myristique C14 : 0 (3,82% contre 13,21% et 8,10%). Enfin, le SG-1 est caractérisé par un pourcentage moyen relativement élevé de l'acide myristique (13,21%) et de l'acide palmitique (24,91%). Mais, la valeur moyenne la plus basse est obtenue pour l'acide gondoïque (AGI) C20 : 1 ω 9 (0,75%).

Alternativement, si on considère la différence entre les groupes obtenues sur la composition en acide gras (AGS, AGMI, AGPI et AGI/AGS), on peut noter que le SG-2 est principalement caractérisé par la valeur moyenne la plus élevée d'AGPI (44,93% Vs «28,36% et 21,04% »). Pour ce SG, les acides gras insaturés sont à nouveau légèrement plus élevés que ceux du reste des groupes (68,16% contre «51,07% et 58,91% »). En fait, SG-2 se caractérise également par un pourcentage moyen inférieur d'acides gras saturés (31,82% contre 48,93% et 41,09%). De plus, le rapport moyen AGI/AGS pour ce SG étaient le plus élevé ($2,19 \pm 0,44$). Pour le premier groupe (I), il se distingue principalement par sa teneur la plus élevée en AGMI (37,87%) et par sa teneur la plus basse en AGPI (21,04%) par rapport au reste des groupes. Le SG-1 présente la valeur moyenne la plus élevée d'AGS (48,93%) et la valeur moyenne minimale du rapport AGI/AGS ($1,08 \pm 0,31$). Certaines similitudes ont été détectées pour les deux sous-groupes : SG-1 et SG-2 en se référant à leur teneur moyenne pratiquement similaire en AGMI (22,71% et 23,25%), respectivement.

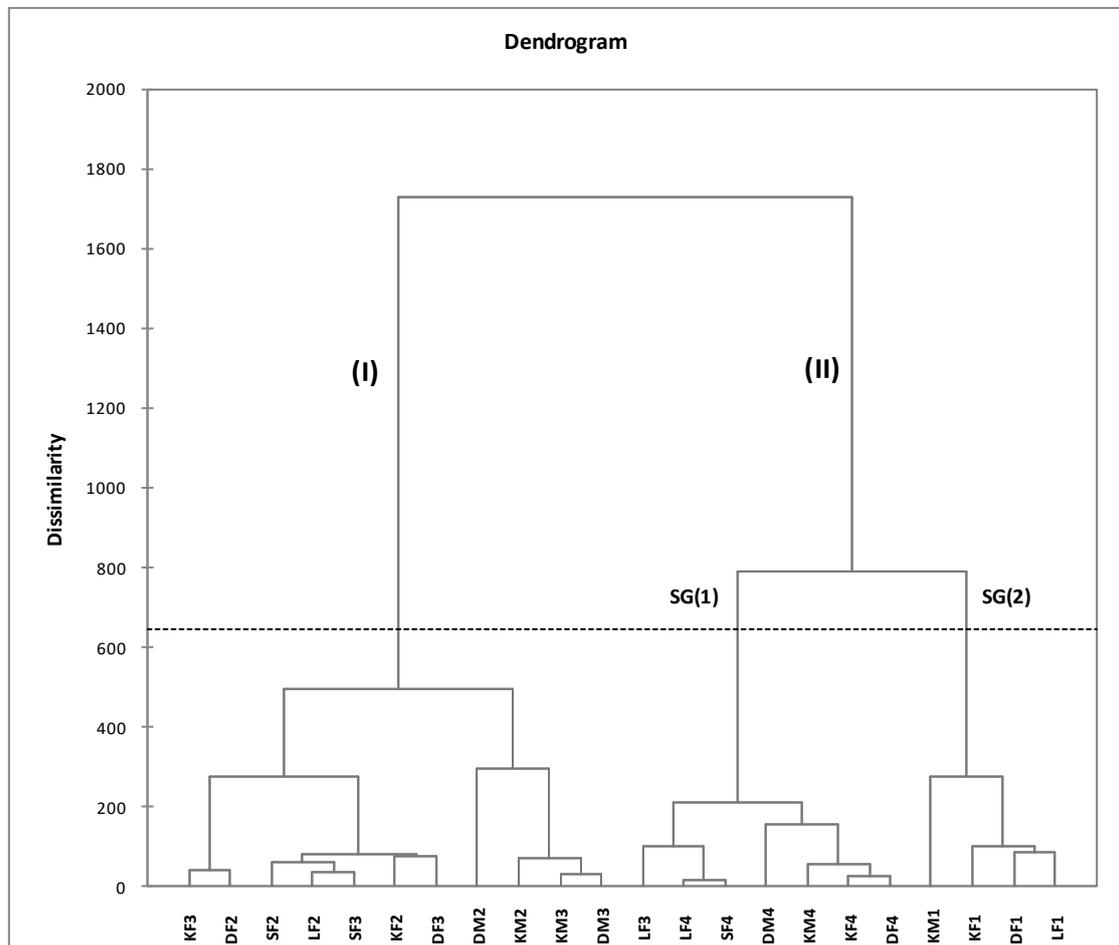


Figure III.17: Dendrogramme de la classification ascendante hiérarchique (CAH) de 22 individus et 11 variables (acides gras obtenus à partir des feuilles de *Pistacia atlantica*). Les échantillons sont regroupés en utilisant la méthode de Ward avec une mesure de distance euclidienne.

Tableau III.11 Variation des différents groupes d'individus étudiés obtenues par la classification CAH pour la composition des principaux acides gras obtenus à partir des feuilles de *P. atlantica*.

Acide gras	Group (I)				Group (II)							
					Sous-groupe SG-1				Sous-groupe SG-2			
	Min.	Max.	Moy	sd	Min.	Max.	Moy	sd	Min.	Max.	Moy	sd
C12:0	0.00	3.38	2.11	1.21	0.00	4.85	2.05	1.52	1.23	2.82	2.16	0.78
C14:0	4.3	15.42	8.10	3.27	9.61	18.55	13.21	3.30	2.94	4.79	3.82	0.76
C16:0	11.88	29.14	21.02	4.73	20.06	32.27	24.91	4.77	16.43	20.25	18.18	1.76
C16:1ω7	1.26	13.22	6.02	4.28	2.68	10.16	5.99	2.74	1.68	20.39	8.16	8.36
C17:0	0.00	10.43	2.52	2.71	0.00	4.23	2.15	1.43	1.03	2.68	1.66	0.75
C18:0	2.45	8.49	4.45	1.73	3.14	7.00	4.66	1.43	2.98	5.61	4.08	1.12
C18:1ω9	19.28	43.41	29.07	7.14	12.38	19.9	15.97	2.98	8.75	18.49	12.36	4.47
C18:2ω6	6.38	14.61	9.83	2.30	7.48	16.92	12.38	3.44	13.11	21.88	17.68	3.80
C18:3ω3	5.07	19.13	11.22	4.18	8.00	23.18	15.98	4.50	22.83	35.49	27.25	5.92
C20:0	0.00	7.42	2.89	1.87	0.00	5.25	1.95	1.69	1.05	2.64	1.93	0.71
C20:1ω9	0.00	7.6	2.77	2.16	0.00	1.93	0.75	0.82	1.37	6.33	2.73	2.40
AGS	32.72	47.18	41.09	5.10	41.70	62.09	48.93	7.73	26.44	36.53	31.82	4.19
AGMI	29.59	47.23	37.87	5.49	17.34	31.38	22.71	4.79	16.19	31.09	23.25	6.68
AGPI	15.97	27.23	21.04	3.93	15.48	34.80	28.36	6.26	35.94	57.37	44.93	8.99
AGI	52.82	67.28	58.91	5.10	37.91	58.30	51.07	7.73	63.47	73.56	68.18	4.19
AGI/AGS	1.12	2.06	1.47	0.32	0.61	1.40	1.08	0.31	1.74	2.78	2.19	0.44

Références bibliographiques

- Abidi S (2001) Chromatographic analysis of plant sterols in foods and vegetable oils. *J Chromatogr A* 935 : 173-201
- Aissi, O., Boussaid, M., Messaoud, C., (2016). Essential oil composition in natural populations of *Pistacia lentiscus* L. from Tunisia: Effect of ecological factors and incidence on antioxidant and antiacetylcholinesterase activities. *Ind. Crops Prod.* 91, 56-65.
- Bachrouch O, Msaada K, Wannas WA, Talou T, Ksouri R, Salem N., (2015). Variations in composition and antioxidant activity of Tunisian *Pistacia lentiscus* L. leaf essential oil. *Plant Biosystems - An International Journal Dealing with all Aspects of Plant Biology.*;149(1):38-47.
- Beltran G, del rio C, Saánchez S, Martiánez I., (2004). Influence of Harvest Date and Crop Yield on the Fatty Acid Composition of Virgin Olive Oils from Cv. Picual. *J. Agric. Food Chem.*, 52, 3434-3440
- Belyagoubi-Benhammou, N., Belyagoubi, L., El Zerey-Belaskri, A., Zitouni, A., Ghembaza, N., Benhassaini, H., Atik-Bekkara, F., Piras, A., Falconieri, D., Rosa, A., (2018). Fatty acid composition and antioxidant activity of *Pistacia lentiscus* L. fruit fatty oil from Algeria. *Journal of Food Measurement and Characterization* 12, 1408–1412.
- Benalia, M., Djeridane, A., Gourine, N., Nia, S., Ajandouz, E., Yousfi, M., (2015). Fatty acid profile, tocopherols content and antioxidant activity of algerian pumpkin seeds oil (*Cucurbita pepo* L). *Med. J. Nutrition Metab.* 8, 9-25.
- Benhassaini H, Bendahmane M, and Benchalgo N (2007) The chemical composition of fruits of *Pistacia atlantica* Desf. subsp. *atlantica* from Algeria. *Chem Nat Compd* 43 : 121-124.
- Bentireche, F., Guenane, H., & Yousfi, M. (2019). Fatty acids, the unsaponifiable matter, and polyphenols as criteria to distinguish *Pistacia atlantica* unripe fruit oil. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 96(8), 903-910.
- Bernstein, P.S., Li, B., Vachali, P.P., Gorusupudi, A., Shyam, R., Henriksen, B.S., Nolan, J.M., (2016). Lutein, zeaxanthin, and meso-zeaxanthin: the basic and clinical science underlying carotenoid-based nutritional interventions against ocular disease. *Prog. Retin. Eye Res.* 50, 34-66.
- Cardeno, A., Sanchez-Hidalgo, M., Aparicio-Soto, M., & Alarcón-de-la-Lastra, C. (2014). Unsaponifiable fraction from extra virgin olive oil inhibits the inflammatory response in LPS-activated murine macrophages. *Food chemistry*, 147, 117-123.
- Chelghoum, M., Guenane, H., Harrat, M., & Yousfi, M. (2020). Total Tocopherols, Carotenoids, and Fatty Acids Content Variation of *Pistacia atlantica* from Different Organs' Crude Oils and Their Antioxidant Activity during Development Stages. *Chemistry & Biodiversity*, 17(9), e2000117.

-
- Chen B, McClements DJ, and Decker EA (2013) Design of foods with bioactive lipids for improved health. *Annual Review of Food Science and Technology* 4 : 35-56
- Demmig-Adams, B., Adams, R.B., (2013). Eye nutrition in context: mechanisms, implementation, and future directions. *Nutrients* 5, 2483-2501.
- Frankel, E.N., (1991). Recent advances in lipid oxidation. *J. Sci. Food Agric.* 54, 495-511.
- Glew RH, Ayaz FA, Millson M, Huang HS, Chuang LT, Sanz C, (2005). Changes in sugars, acids and fatty acids in naturally parthenocarpic date plum persimmon (*Diospyros lotus* L.) fruit during maturation and ripening. *Eur Food Res Technol.*;221(1):113-8.
- Gourine, N., Yousfi, M., Bombarda, I., Nadjemi, B., Gaydou, E., (2010). Seasonal Variation of Chemical Composition and Antioxidant Activity of Essential Oil from *Pistacia atlantica* Desf. Leaves. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 87, 157-166.
- Guenane, H., Bentireche, F., Bellakhdar, A., Ould Elhadj, M.D., Yousfi, M., (2017). Total tocopherol content and antioxidant activity of fruit oil from *Pistacia atlantica* Desf. growing wild in Algeria. *Der Pharma Chemica* 9, 153-157.
- Harrat, M., Benalia, M., Gourine, N., Yousfi, M., (2018). Variability of chemical composition of fatty acids, tocopherols and the antioxidant activity of the lipids from the leaves of *Pistacia lentiscus* L. from Algeria. *Med. J. Nutrition Metab.* 11, 199-215.
- Hefied, F., Ben Ahmed, Z., & Yousfi, M. (2020). In vitro antioxidant and α -amylase inhibitory potential of methanolic and lipid fractions from *Pistacia atlantica* Desf. galls. *Journal of Food Processing and Preservation*, e14956.
- Kamal-Eldin, A., & Appelqvist, L. Å. (1996). The chemistry and antioxidant properties of tocopherols and tocotrienols. *Lipids*, 31(7), 671-701.
- Karlenskind. A, Manuel des corps gras, Technique et documentation, Lavoisier, Paris, 1992, 120-207.
- Kim, K.-B., Nam, Y.A., Kim, H.S., Hayes, A.W., Lee, B.-M., (2014). α -Linolenic acid: Nutraceutical, pharmacological and toxicological evaluation. *Food Chem. Toxicol.* 70, 163-178.
- Kritchevsky D, and Chen SC (2005) Phytosterols-health benefits and potential concerns: a review. *Nutrition Research* 25 : 413-428
- Kulisic, T., Radonic, A., Katalinic, V., Milos, M., (2004). Use of different methods for testing antioxidative activity of oregano essential oil. *Food Chem.* 85, 633–640.
- Larkindale J, Huang B. (2004). Changes of lipid composition and saturation level in leaves and roots for heat-stressed and heat-acclimated creeping bentgrass (*Agrostis stolonifera*). *Environ Exp Bot.*;51(1):57-67.

- Li, G.-X., Lee, M.-J., Liu, A.B., Yang, Z., Lin, Y., Shih, W.J., Yang, C.S., (2011). δ -tocopherol is more active than α - or γ -tocopherol in inhibiting lung tumorigenesis in vivo. *Cancer Prevention Research* 4, 404-413.
- Machlin, L.J., (1995). Critical assessment of the epidemiological data concerning the impact of antioxidant nutrients on cancer and cardiovascular disease. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 35, 41-49.
- Matthäus, B., Özcan, M.M., (2006). Quantitation of Fatty Acids, Sterols, and Tocopherols in Turpentine (*Pistacia terebinthus* Chia) Growing Wild in Turkey. *J. Agric. Food. Chem.* 54, 7667-7671.
- Mishra S, Tyagi A, Singh IV, Sangwan RS. (2006). Changes in lipid profile during growth and senescence of *Catharanthus roseus* leaf. *Brazilian Journal of Plant Physiology*;18:447-54.
- Samani, B.H., Zareiforoush, H., Lorigooini, Z., Ghobadian, B., Rostami, S., Fayyazi, E., (2016). Ultrasonic-assisted production of biodiesel from *Pistacia atlantica* Desf. oil. *Fuel* 168, 22-26.
- Schulz M, Borges GdSC, Gonzaga LV, Seraglio SKT, Olivo IS, Azevedo MS, (2015). Chemical composition, bioactive compounds and antioxidant capacity of juçara fruit (*Euterpe edulis Martius*) during ripening. *Food Res Int.*;77:125-31.
- Tlili N, Mejri H, Yahia Y, Saadaoui E, Rejeb S, Khaldi A, (2014). Phytochemicals and antioxidant activities of *Rhus tripartita* (Ucria) fruits depending on locality and different stages of maturity. *Food Chem.*;160:98-103.
- Trabelsi, H., Cherif, O.A., Sakouhi, F., Villeneuve, P., Renaud, J., Barouh, N., Boukhchina, S., Mayer, P., (2012). Total lipid content, fatty acids and 4-desmethylsterols accumulation in developing fruit of *Pistacia lentiscus* L. growing wild in Tunisia. *Food Chem.* 131, 434-440.
- Walters M, Hackett K, Caesar E, Isaacson R, and Mosconi L (2017) Role of Nutrition to Promote Healthy Brain Aging and Reduce Risk of Alzheimer's Disease. *Current Nutrition Reports* 6 : 63-71
- Warner, K., Frankel, E., (1987). Effects of β -carotene on light stability of soybean oil. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 64, 213-218.
- Wong, R. S., & Radhakrishnan, A. K. (2012). Tocotrienol research: past into present. *Nutrition reviews*, 70(9), 483-490
- Wright, M.E., Mayne, S.T., Swanson, C.A., Sinha, R., Alavanja, M.C., (2003). Dietary carotenoids, vegetables, and lung cancer risk in women: the Missouri Women's Healthy Study (United States). *Cancer Causes Control* 14, 85-96.
- Yousfi, M., Nedjemi, B., Belal, R., Bertal, D.B., (2003). Étude des acides gras de huile de fruit de pistachier de l'Atlas algérien. *Oléagineux, Corps gras, Lipides* 10, 425-427.

Chapitre 2

Étude des composés
phénoliques des feuilles de
Pistacia atlantica

Le suivi de la variation saisonnière sur les extraits lipidiques des feuilles de *Pistacia atlantica* (P.A) récoltées à différents stades de croissance a montré que le contenu en lipides et l'activité antioxydante de ces extraits dépendent de la date de récolte des feuilles. Les résultats obtenus nous ont incités à étudier aussi l'influence de la date de récolte sur le contenu en composés phénoliques et l'activité antioxydante de leurs extraits. L'étude de la variation saisonnière des composés phénoliques et leurs activités biologiques pourraient aider à déterminer le temps optimal de la récolte de feuilles de Pistachier de l'atlas.

1. Rendements en extraits bruts

Les pourcentages massiques (m/m%) en extraits bruts obtenus par le système de solvant acétone/eau (70/30 : V/V), sont consignés dans le tableau III.12. En totalité, les résultats obtenus pour les différents échantillons des feuilles de *P.atlantica* au cours de leurs développement montrent que les teneurs varient de 7,8 à 26% (m/m). Le pourcentage moyen des extraits bruts atteint sa valeur maximale au stade intermédiaire de croissance (au mois d'aout : $19,46 \pm 3,4\%$), tandis que le pourcentage moyen le plus faible est atteint au mois de novembre c'est -à-dire à la fin de la croissance des feuilles ($13,5 \pm 3,26\%$).

La variation saisonnière du pourcentage massique en extraits bruts pour les trois sites est représentée dans le tableau III.13. D'après ce tableau, on remarque que la meilleure valeur du pourcentage moyen est enregistrée dans les échantillons issus du site Kheneg ($18,2 \pm 5,7\%$), suivi de celui du site de Daya ($16,67 \pm 2,77\%$), puis le site de Laghouat qui a enregistré un pourcentage moyen le plus faible ($12,97 \pm 1,57\%$). La valeur maximale est observée au mois d'aout pour les trois sites, par contre la valeur minimale est enregistrée au mois de novembre pour les deux sites Laghouat et Kheneg et au mois de septembre pour le site de Daya.

Tableau III.12 : Pourcentage massique de l'extrait brut, teneurs en : phénols totaux, flavonoïdes et tanins.

Mois de récolte	Paramètres étudiés	L1	L2	D1	D2	K1	K2
Mai	Masse de l'extrait brut (mg/g de MV)	136	122	114	172	162	260
	Phénols totaux (mg EAG/g MV)	60,42	58,68	55,00	79,42	81,27	101,77
	Flavonoïdes (mg EQ/g MV)	1,77	1,49	1,14	1,97	1,73	1,71
	Tanins (mg EC/g MV)	1,66	0,60	2,19	3,80	3,69	6,71
	Taux de flavonoïdes par rapport aux phénols totaux (%)	2,93	2,54	2,07	2,48	2,13	1,68
	Taux de tanins par rapport aux phénols totaux (%)	2,75	1,02	3,98	4,78	4,54	6,59
Aout	Masse de l'extrait brut (mg/g de MV)	140	158	226	184	232	228
	Phénols totaux (mg EAG/g MV)	83,34	75,73	130,13	53,53	98,56	96,53
	Flavonoïdes (mg EQ/g MV)	1,91	1,92	2,20	1,87	2,70	1,75
	Tanins (mg EC/g MV)	4,17	1,57	10,96	9,18	3,60	4,21
	Taux de flavonoïdes par rapport aux phénols totaux (%)	2,29	2,54	1,69	3,49	2,74	1,81
	Taux de tanins par rapport aux phénols totaux (%)	5,00	2,07	8,42	17,15	3,65	4,36

Suite du **tableau III.12**

		L1	L2	D1	D2	K1	K2
Septembre	Masse de l'extrait brut (mg/g de MV)	130	154	146	124	144	186
	Phénols totaux (mg EAG/g MV)	63,54	74,44	66,44	68,03	86,15	92,06
	Flavonoïdes (mg EQ/g MV)	2,37	1,58	1,51	1,60	1,90	1,46
	Tanins (mg EC/g MV)	3,09	1,11	9,89	5,10	2,79	3,86
	Taux de flavonoïdes par rapport aux phénols totaux (%)	3,73	2,12	2,27	2,35	2,21	1,59
	Taux de tanins par rapport aux phénols totaux (%)	4,86	1,49	14,89	7,50	3,24	4,19
Novembre	Masse de l'extrait brut (mg/g de MV)	78	120	200	168	124	120
	Phénols totaux (mg EAG/g MV)	31,77	57,94	83,35	76,63	57,73	93,26
	Flavonoïdes (mg EQ/g MV)	1,15	1,09	2,11	1,89	1,73	1,79
	Tanins (mg EC/g MV)	1,52	0,86	5,69	4,54	2,29	1,93
	Taux de flavonoïdes par rapport aux phénols totaux (%)	3,62	1,88	2,53	2,47	3,00	1,92
	Taux de tanins par rapport aux phénols totaux (%)	4,78	1,48	6,83	5,92	3,97	2,07

Tableau III.13 : Pourcentages moyens des extraits bruts pour les trois sites de récolte au cours de la période étudiée.

Site de récolte	Pourcentage massique (%)				
	Mai	Aout	Septembre	Novembre	Moyenne \pm sd
Laghouat	12,9	14,9	14,2	9,9	12,97 \pm 1,57
Daya	14,3	20,5	13,5	18,4	16,67 \pm 2,77
Kheneg	21,1	23	16,5	12,2	18,20 \pm 3,85

2. Dosage des phénols totaux

Les teneurs en phénols totaux (PT) des différents extraits ont été calculées à partir de l'équation de la courbe d'étalonnage représentée dans la figure III.18 et exprimées en milligramme équivalent d'acide gallique par gramme de poudre végétale. Les résultats sont indiqués dans le tableau III.12.

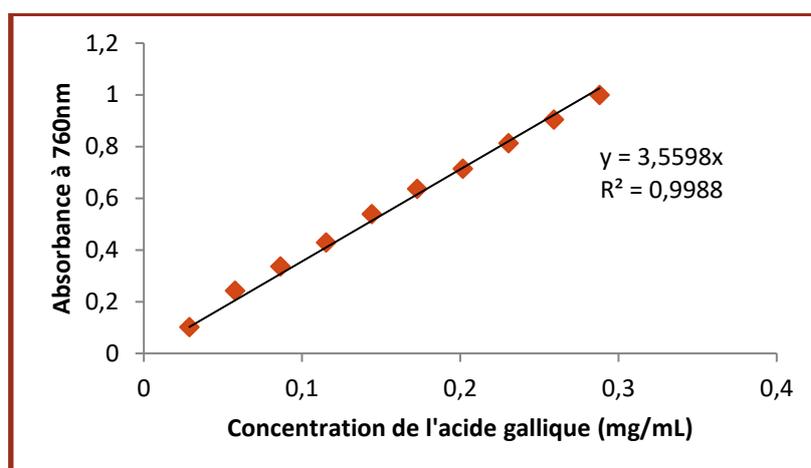


Figure III.18: Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.

La variation de la teneur en composés phénoliques au cours de développement foliaire et pour tous les échantillons est représentée dans la figure III.19, elle est comprise entre 31,77 et 130,12 mg/g. L'échantillon D1 récolté au mois d'aout présente la teneur maximale, cependant la teneur minimale est enregistrée pour l'échantillon L1 récolté à la fin de développement des feuilles. A partir des résultats, il est clair qu'il y a une large variabilité en teneurs des composés phénoliques et que les teneurs varient d'un arbre à un autre ainsi d'une saison à une autre. Ces résultats nous ont permis de conclure que les quantités des différentes classes en composés phénoliques est un caractère spécifique pour chaque arbre et qui dépendent aux différents facteurs physiques,

chimiques et biologiques, externes ou endogènes jouent un rôle important dans la modulation de l'expression du métabolisme phénolique ; lumière, température, potentiel osmotique nutrition de l'arbre, régulation de croissance éliciteurs biotique.

La variation saisonnière de la teneur en phénols totaux pour les différents échantillons n'est pas constante au cours de la période de croissance des feuilles. La teneur moyenne des composés phénoliques augmente pour feuilles précoces (au mois de mai : $72,76 \pm 14,72$ mg/g) jusqu'à sa valeur maximale au mois d'aout ($89,64 \pm 18,77$ mg/g), puis elle semble diminuer vers la fin de la période d'étude au mois de septembre et novembre ($75,11 \pm 9,32$ mg/g et $66,78 \pm 17,63$ mg/g, respectivement). En examinant les résultats obtenus, il en ressort une nette différence entre les échantillons selon notamment la période de croissance des feuilles et les sites de récolte. Ainsi, le contenu phénolique élevé enregistré au début de la croissance peut être attribué au développement de jeunes feuilles, tandis que les résultats pour la fin de la période de développement indiquent des feuilles plus vieilles et plus matures avec une activité biosynthétique plus faible. Cela peut s'expliquer par le fait que les feuilles de *P. atlantica* augmentent leurs besoins en repousse de glucides et donc provoquer un compromis avec la synthèse des métabolites secondaires conduisant à une diminution des composés phénoliques.

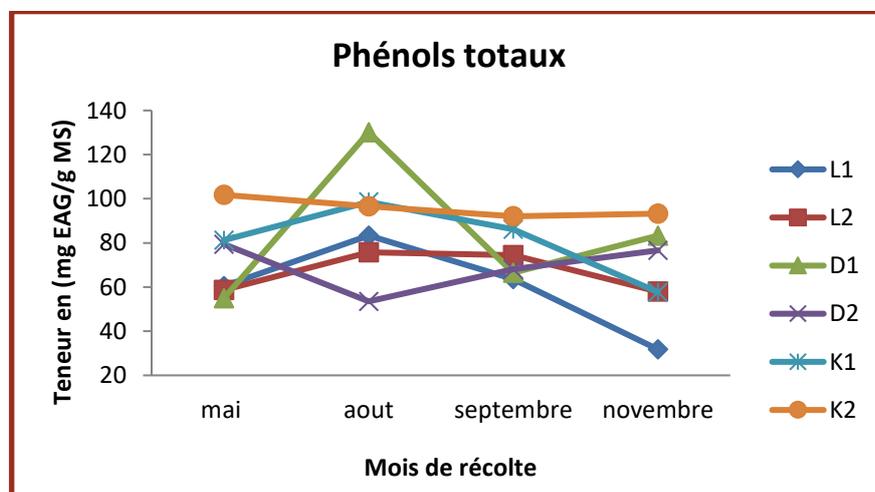


Figure III.19: Variation de la teneur en phénols totaux des différents échantillons au cours de la période étudiée.

La figure III.20 montre la variation de la teneur en PT pour les trois sites de récolte tout au long de la période de croissance des feuilles. La teneur moyenne est dans l'ordre de : Kheneg ($88,41 \pm 6,46$ mg/g) > Daya ($76,56 \pm 9,34$ mg/g) > Laghouat ($63,23 \pm 11,03$ mg/g). La valeur maximale

est observée au mois d'aout à la phase intermédiaire pour les trois sites, par contre la valeur minimale est enregistrée au mois de novembre pour les sites de Laghouat et Kheneg et au mois de mai pour le site de Daya.

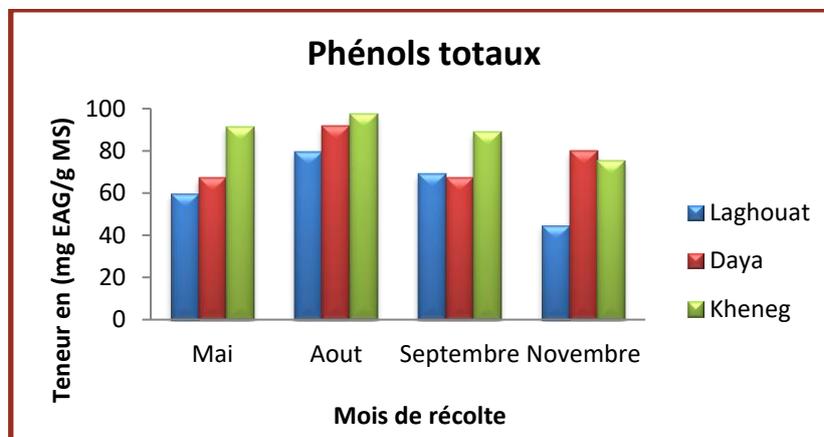


Figure III.20: Variation de la teneur en phénols totaux pour les trois sites de récolte au cours de la période de croissance des feuilles.

3. Dosage des flavonoïdes totaux

Les teneurs en flavonoïdes totaux (FT) dans les tourteaux étudiés ont été calculées à partir de la courbe d'étalonnage de la quercétine (Figure III.21) et exprimées en milligramme équivalents de la quercétine (EQ) par gramme de poudre végétale.

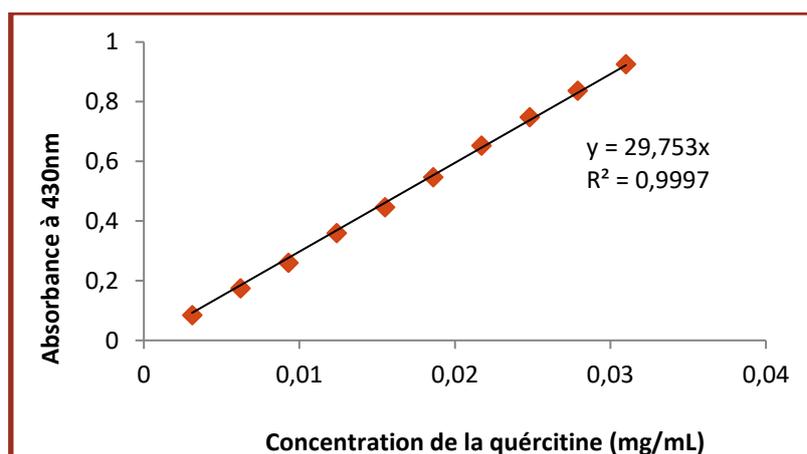


Figure III.21: Courbe d'étalonnage de la quercétine

Les résultats du dosage des flavonoïdes présentés dans le tableau III.12 et interprétés par la figure III.22 montrent que les teneurs en flavonoïdes varient entre 1,09 et 2,7 mg/g. La teneur

la plus importante a été obtenue par l'échantillon K1 récolté au mois d'aout, d'autre part l'échantillon L2 récolté à la phase finale de croissance des feuilles (au mois de novembre) a présenté la teneur la plus faible.

Sur la base de ces résultats, nous ne notons pas de différences significatives selon la variation saisonnière des teneurs en FT où les valeurs moyennes varient pour toute la période de $1,62 \pm 0,34$ à $2,06 \pm 0,26$ mg/g. La teneur moyenne en flavonoïdes totaux semble croître légèrement du stade précoce (mois de mai) jusqu'au stade intermédiaire de croissance foliaire (aout et septembre) où elle atteint sa meilleure valeur en aout, puis elle diminue vers la fin de croissance au mois de novembre. Malgré ces légères différences, les valeurs moyennes au cours de développement foliaire restent assez proches pour tous les mois étudiés.

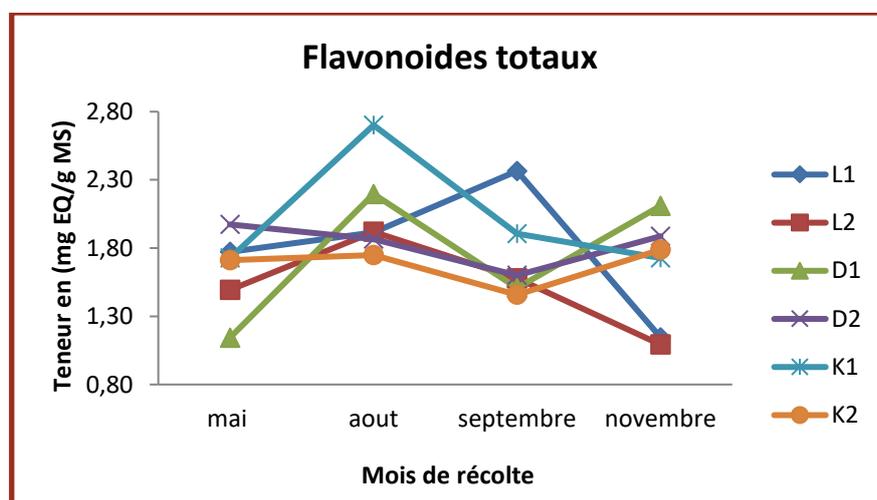


Figure III.22: Variation de la teneur en flavonoïdes totaux des différents échantillons au cours de la période étudiée

En examinant La figure III.23 qui montre la variation saisonnière des teneurs en flavonoïdes totaux selon les trois sites de récolte. Nous pouvons constater que les teneurs sont proches les unes aux autres où les valeurs variant pour toute la série d'étude de $1,12 \pm 0,03$ mg/g à $2,22 \pm 0,48$ mg/g avec des moyennes de : $1,85 \pm 0,19$ mg/g pour les extraits issus du site de Kheneg $1,79 \pm 0,23$ mg/g pour ceux du site de Daya et $1,66 \pm 0,28$ mg/g pour les échantillons du site de Laghouat. Également, Il apparait que la teneur maximale est enregistrée au mois d'aout pour le site de Kheneg et Daya. Pour le site de Laghouat la valeur maximale est pratiquement stable au stade intermédiaire qui est représentée par les mois d'aout et septembre. Par contre la valeur

minimale est enregistrée au début de croissance pour le site de Daya et à la fin de développement des feuilles pour les sites de Laghouat et Kheneg.

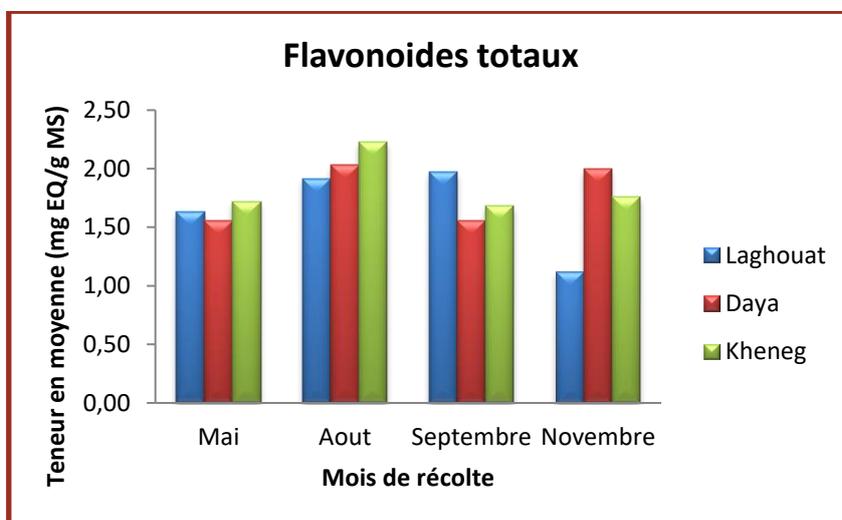


Figure III.23: Variation de la teneur en flavonoïdes totaux pour les trois sites de récolte au cours de la période étudiée

4. Dosage des tanins condensés

Les teneurs en tanins condensés (TC), des différents extraits ont été calculées à partir de l'équation de la courbe d'étalonnage de la catéchine (Figure III.24) et exprimées en milligramme équivalents de la catéchine (EC) par gramme de poudre végétale. Les résultats obtenus sont indiqués dans le tableau III.12.

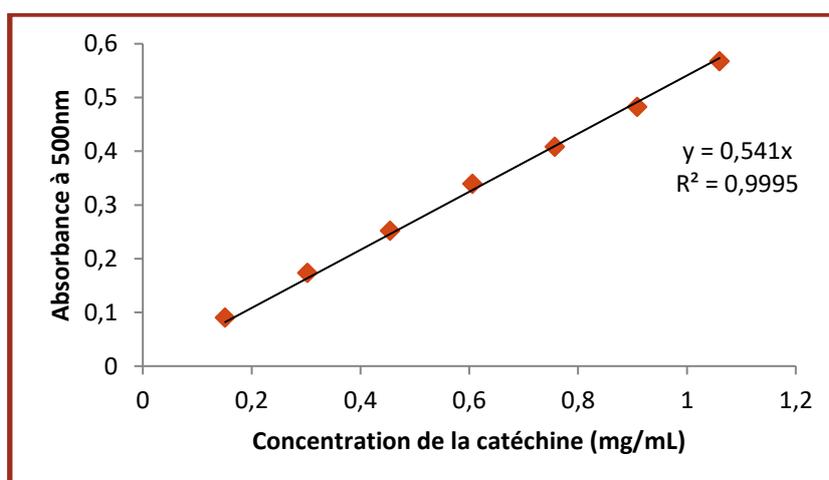


Figure III.24: Courbe d'étalonnage de la catéchine.

La variation de la teneur en tanins condensés est de 0,6 à 10,96 mg/g pour toute la série d'étude. La teneur maximale est présentée par l'échantillon D1 récolté en aout, par contre teneur minimale est dévoilé par les feuilles précoces de l'échantillon L2. En effet, nous constatons que la variation de la teneur en tanins entre les différents extraits est importante, dont les échantillons D1 et D2 qui sont les plus riches en tanins, suivi des extrait K1 et K2, et puis L1 et L2 qui présentent les quantités les plus basses (figure III.25).

D'autre part, la teneur moyenne en TC selon les différents mois de cueillette semble augmenter à partir du premier stade de croissance des feuilles (valeur moyenne de $3,11 \pm 1,63$ mg/g) et ceci jusqu'au stade intermédiaire de développement où elle achève son maximum au mois d'aout ($5,62 \pm 2,97$ mg/g), puis elle diminue légèrement vers septembre ($4,31 \pm 2,12$ mg/g) pour atteindre sa valeur minimale à la fin de croissance foliaire au mois de novembre ($2,80 \pm 1,54$ mg/g).

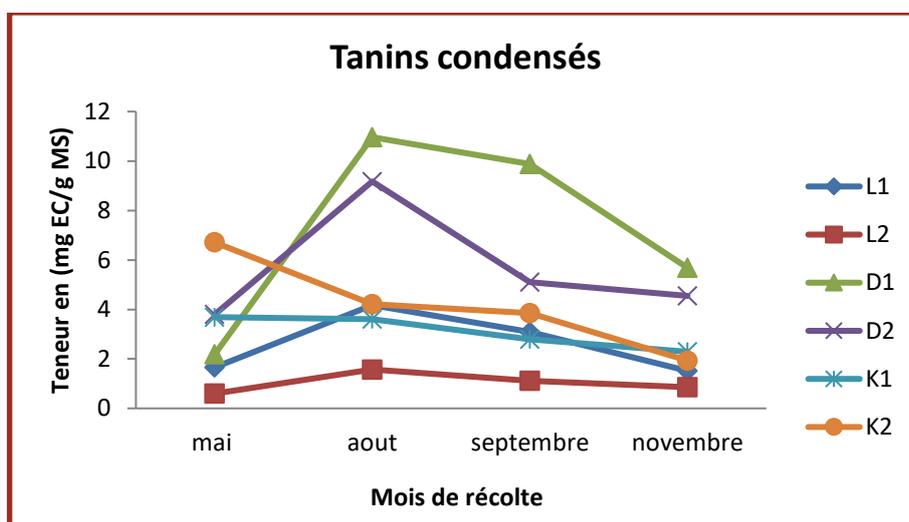


Figure III.25: Variation de la teneur en tanins condensés des différents échantillons au cours de la période étudiée

La figure III. 26 montre la variation en TC au cours de développement des feuilles selon les trois sites de cueillette. Pour le site de Daya et de Laghouat, la charge en tanins condensés atteint son maximum au mois d'aout avec respectivement, les valeurs moyennes de $10,07 \pm 0,89$ mg/g et $2,89 \pm 1,3$ mg/g, alors que la valeur minimale est observée au mois de mai pour ces deux derniers avec respectivement : $2,99 \pm 0,8$ et $1,13 \pm 0,53$ mg/g. Pour le site de Kheneg, la teneur est maximale au début de croissance ($5,20 \pm 1,51$ mg/g), puis elle chute pour le reste des mois jusqu'à atteindre une valeur minimale de $2,11 \pm 0,17$ mg/g à la fin de croissance des feuilles.

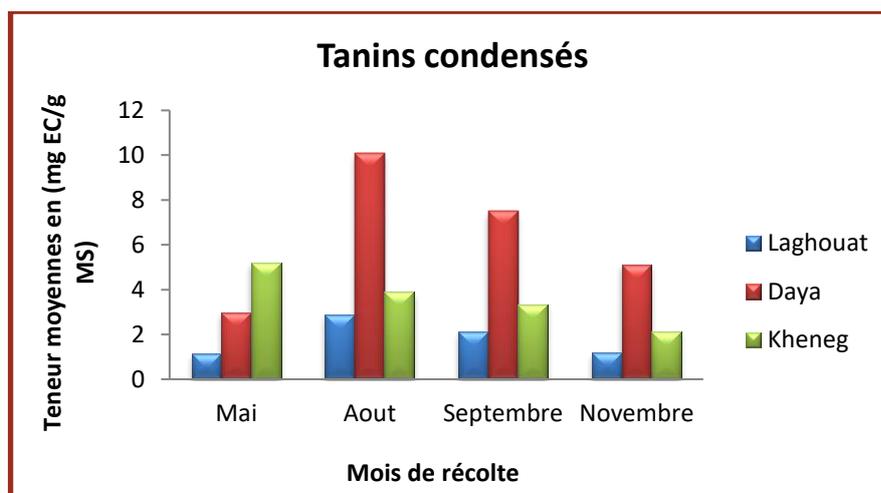


Figure III.26: Variation de la teneur en TC pour les trois sites de récolte au cours de la période étudiée

Par ailleurs, la comparaison du pourcentage des flavonoïdes et des tanins par rapport aux phénols totaux pour chaque extrait montre que pour l'ensemble des échantillons, le pourcentage des flavonoïdes par rapport aux phénols totaux varie 1,59 à 3,73%, le taux moyen est presque constant pour le long de la période de croissance des feuilles de *Pistacia atlantica*. Le taux des tanins par rapport aux phénols totaux varie de 1,02 à 17,15% pour toute la série d'étude. Sa moyenne croit environ deux fois à la phase intermédiaire de développement foliaire (mois d'aout et septembre). D'après ces résultats, nous pouvons conclure que nos extraits sont peu riches en flavonoïdes et en tannins condensés ; et que d'autres composés phénoliques pourraient être majoritaires dans les extraits de *Pistacia atlantica* tel que les acides phénoliques. Ces résultats seront à confirmer par la suite par une analyse qualitative des différents extraits phénoliques par CLHP.

En examinant de plus près les masses des fractions phénoliques extraites par l'acétate d'éthyle pour tous les échantillons, on remarque qu'elles sont toujours supérieures à la somme des PT, FT et TC. Par exemple pour l'échantillon D2 du mois de mai, la masse de la fraction phénolique est de 172 mg/g de MS, la somme des quantités des PT, FT et TC est de 85,19 mg/g de MS qui est inférieure à la masse de la fraction phénolique, ce qui montre que cette dernière contient d'autres composés que les composés de structures phénoliques. Ce résultat est vérifié pour toutes les fractions de tous les échantillons.

D'avantage, Il est extrêmement important de comparer nos résultats avec ceux de la littérature. Une étude réalisée sur les feuilles de *Pistacia atlantica* (*P.A*) et *lentiscus* (*P.L*), de la région de Tlemcen, récoltés au mois de novembre (**Benhammou et al. 2007**), avait indiqué des teneurs en phénols totaux ne dépassant pas $1,96 \pm 0,7$ mg EAG/g MS pour les feuilles de *P.A* et $0,90 \pm 0,05$ mg EAG/g MS pour celles de *P.L*. sans tenir compte de l'influence potentielle des principaux facteurs de site, et le mois de récolte. Cette comparaison montre que nos fractions contiennent plus de phénols totaux que de ce qu'il en a été rapporté par cette précédente.

Nos données semblent être en accord avec celles rapportées par **Mamri (2008)** pour les feuilles de *Pistacia atlantica* des deux régions de Laghouat et Ain oussara qui ont présentés un intervalle de teneur en phénols totaux allant de 44,12 à 104,46 mg/g

En effet, si on compare nos résultats avec autres travaux antérieurs plus récents procédés particulièrement par **Benahmed et al. (2017)**, on remarque que les teneurs en phénols totaux qui varient entre 79 et 228 mg EAG/g MS), et en flavonoïdes qui s'échelonnent entre 0,65 et 2,81 mg EQ/g MS), notamment dans le cas des extraits bruts des feuilles de *Pistacia atlantica* de la région de Laghouat récolté à plusieurs mois, sont dans le même intervalle que les nôtres. La différence est notée pour le taux des tanins qui varient entre 0,39 et 3,51 mg EC/g MS), et plus précisément nos extraits sont plus riches en tanins condensés. **Zitouni et al. (2016)** ont rapporté une valeur considérable en phénols totaux ($216,28 \pm 20,62$ mg EAG/g MS) au niveau des feuilles de *Pistacia lentiscus*, de la région de Tlemcen, récoltés au mois de décembre, ce résultat est nettement élevé par rapport à nos valeurs. Celles des tanins et des flavonoïdes étaient largement supérieures ($121,515$ et $19,16 \pm 0,43$ mg EC/g MS, respectivement). Cependant, aucune information n'a été rapportée sur la variation du contenu en fonction du développement des feuilles et des sites de récolte.

La comparaison de nos résultats avec une autre étude réalisée sur les fruits matures et immatures de *Pistacia atlantica* (**Guenane et al 2017**) a rapporté des teneurs moyennes en phénols totaux entre 17,89 et 61,96 mg EAG/g MS, montre que nos extraits soient en faveur d'une charge plus importante en phénols totaux. Par contre, la même étude a montré des teneurs en flavonoïdes largement plus importante que celles obtenu pour nos extraits avec des valeurs moyennes entre

4,82 et 12,32 mg ER/g de MS ce montre que les feuilles de *Pistacia atlantica* sont pauvres en flavonoïdes comparativement aux fruits. D'autre part, **Asghar-Hatamnia et al. (2014)** ont rapporté des teneurs ne dépassant pas 45mg EAG/g MS pour les phénols totaux et 15 mg EQ/g MS pour les fruits de *Pistacia atlantica subsp kurdica* de l'Iran, ce qui confirme encore une fois la richesse de nos extraits des feuilles de *P.A* en phénols totaux.

5. Analyse qualitative des composés phénoliques par UHPLC-DAD-ESI/MSⁿ

L'identification des composés phénoliques a été faite en utilisant les différents chromatogrammes obtenus à 280 nm et l'aide des spectres d'absorption UV, et les spectres de masse des différentes fragmentations et les temps de rétention de certains composés standards. Au moyen de l'analyse LC-ESI-MS/MS, nous avons dénombré au total 29 pics marqués des extraits phénoliques de *Pistacia atlantica* (Figure III.27).

Toutes les fractions (24 échantillons) ont été analysées par UHPLC-UV-MS/MS dans le but d'identifier la majorité des molécules phénoliques. Toutes les molécules détectées ont été caractérisées par étude de leur fragmentation obtenue par ESI-MS/MS en mode négatif, en comparant les données obtenues avec la littérature et le cas échéant par l'injection des standards disponibles à notre niveau dans les mêmes conditions chromatographiques. La Figure III.27 montre le profile chromatographique obtenus à 280 nm des extraits de différents mois (a : mois de novembre, b : mois de septembre, c : mois de mai et d : mois d'aout) analysés par HPLC-DAD avec assignation des pics majoritaires. L'analyse détaillée des extraits en HPLC-MS/MS avec une ionisation en mode négatif, mode le plus sensible et le plus informatif, a permis de caractériser des acides galloylquiniques, gallate de méthyle et d'autres composés organiques chimiques.

Le tableau III.14 résume les données spectrales obtenues par UV et par MS/MS à partir des quels nous avons pu identifier plusieurs composés phénoliques.

Après l'analyse des spectres de masse correspondants aux pics majoritaires, il a pu être déterminé que les différents extraits sont principalement constitués de l'acide quinique, l'acide galloylquinique et dérivés de l'acide gallique. Par ailleurs, parmi les molécules identifiées on retrouve des acides galloylquiniques, acides digalloylquiniques, acides trigalloylquiniques, un acide tétragalloylquinique et le gallate de méthyle majoritaires de *Pistacia atlantica*, ainsi que des dérivés minoritaires qui sont peu décrits dans la littérature

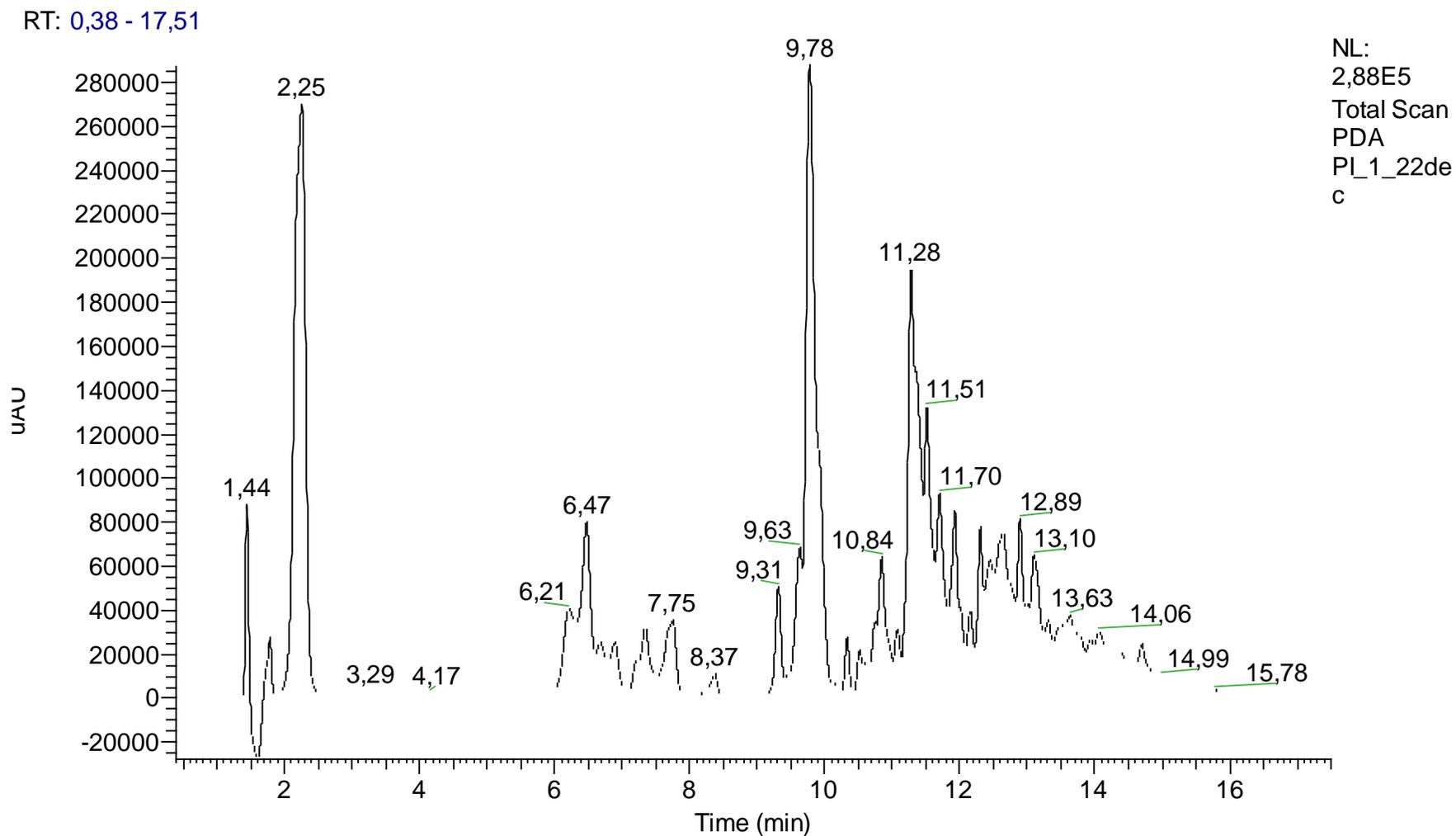


Figure III.27-a : Profil typique du chromatogramme de l'extrait phénolique des feuilles de *Pistacia atlantica* à 280 nm : échantillon D2 (11).

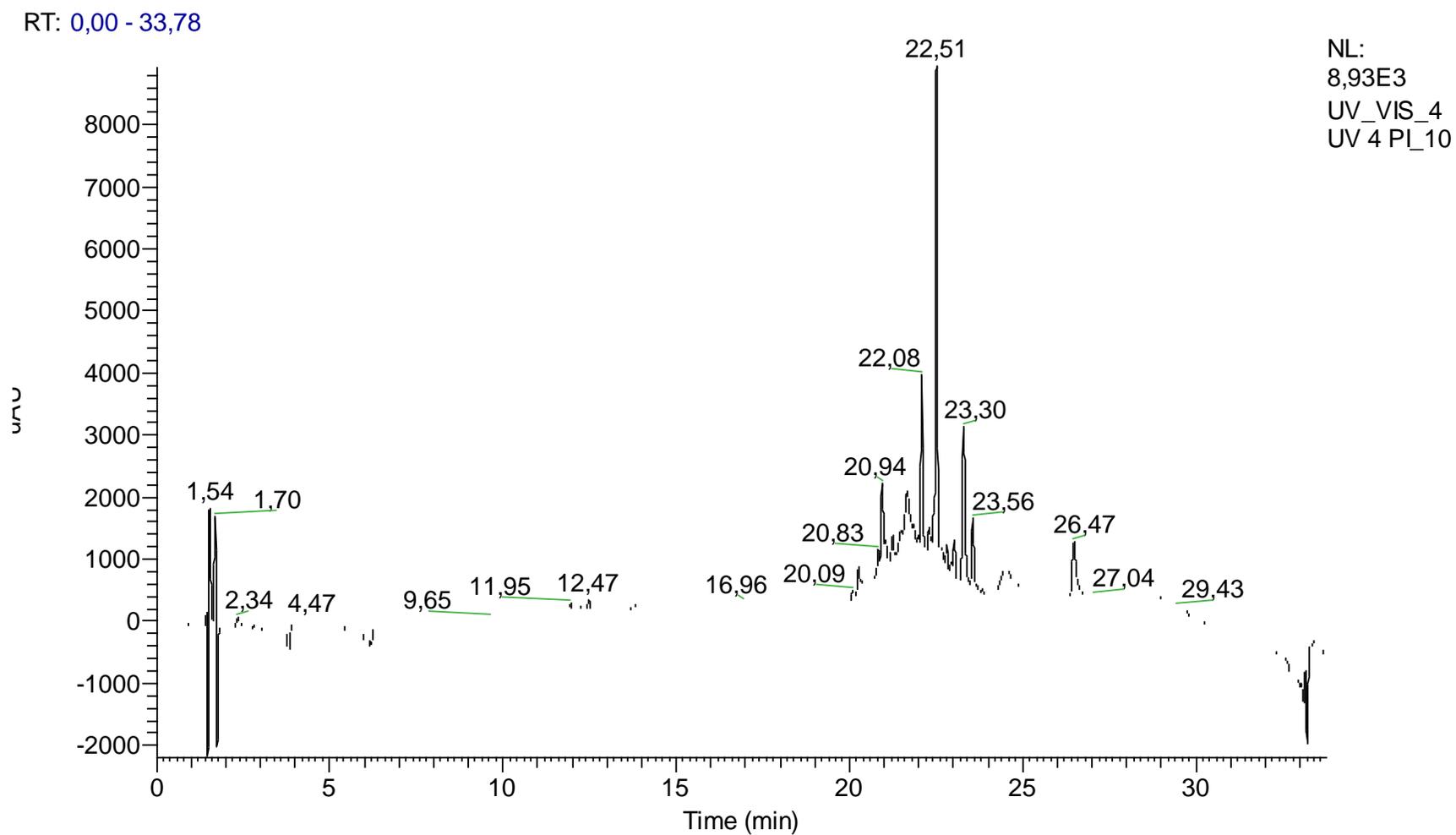


Figure III.27-b : Profil typique du chromatogramme de l'extrait phénolique des feuilles de *Pistacia atlantica* à 280 nm : échantillon L2 (09).

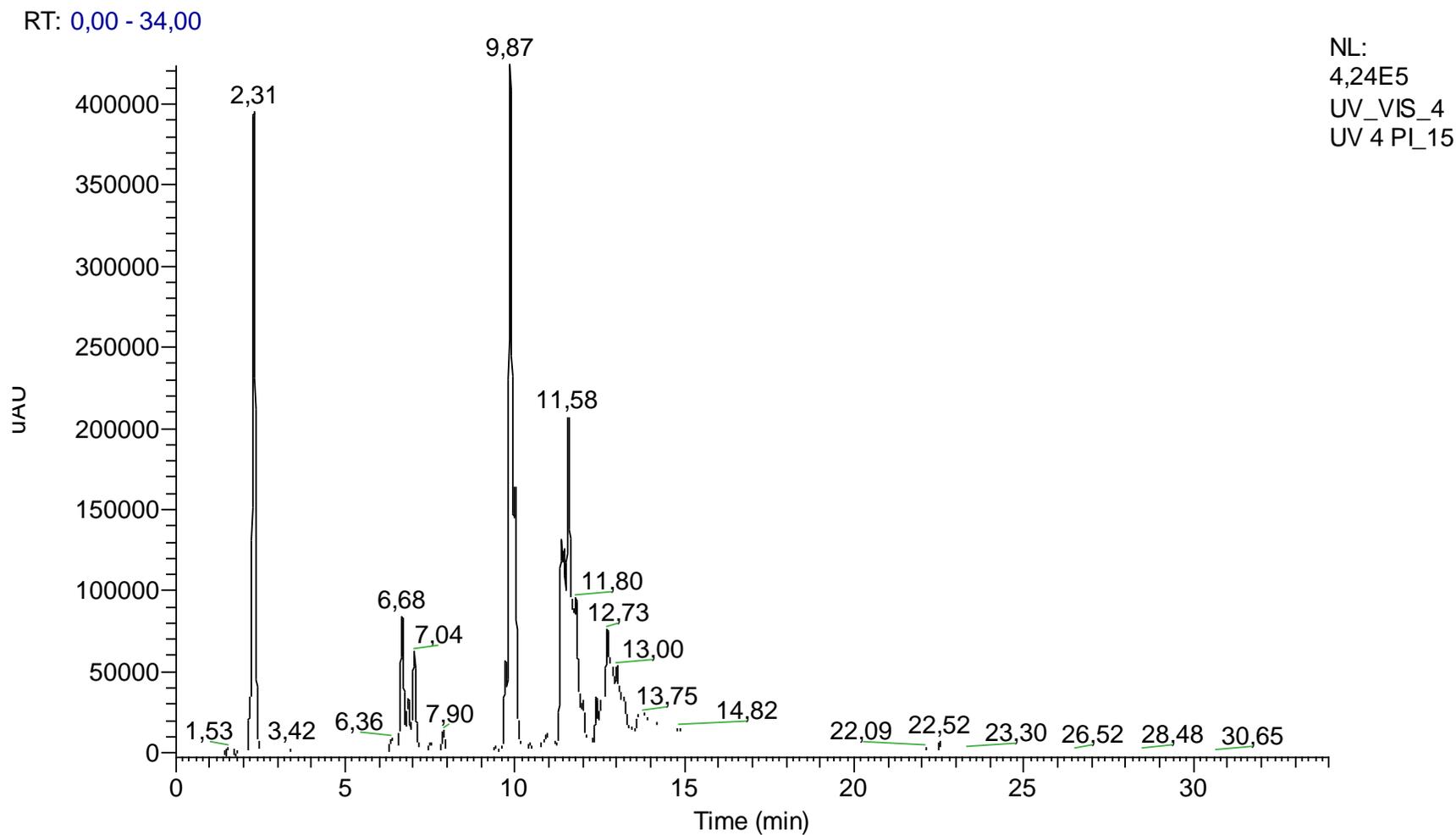


Figure III.27-c : Profil typique du chromatogramme de l'extrait phénolique des feuilles de *Pistacia atlantica* à 280 nm : échantillon D1(05).

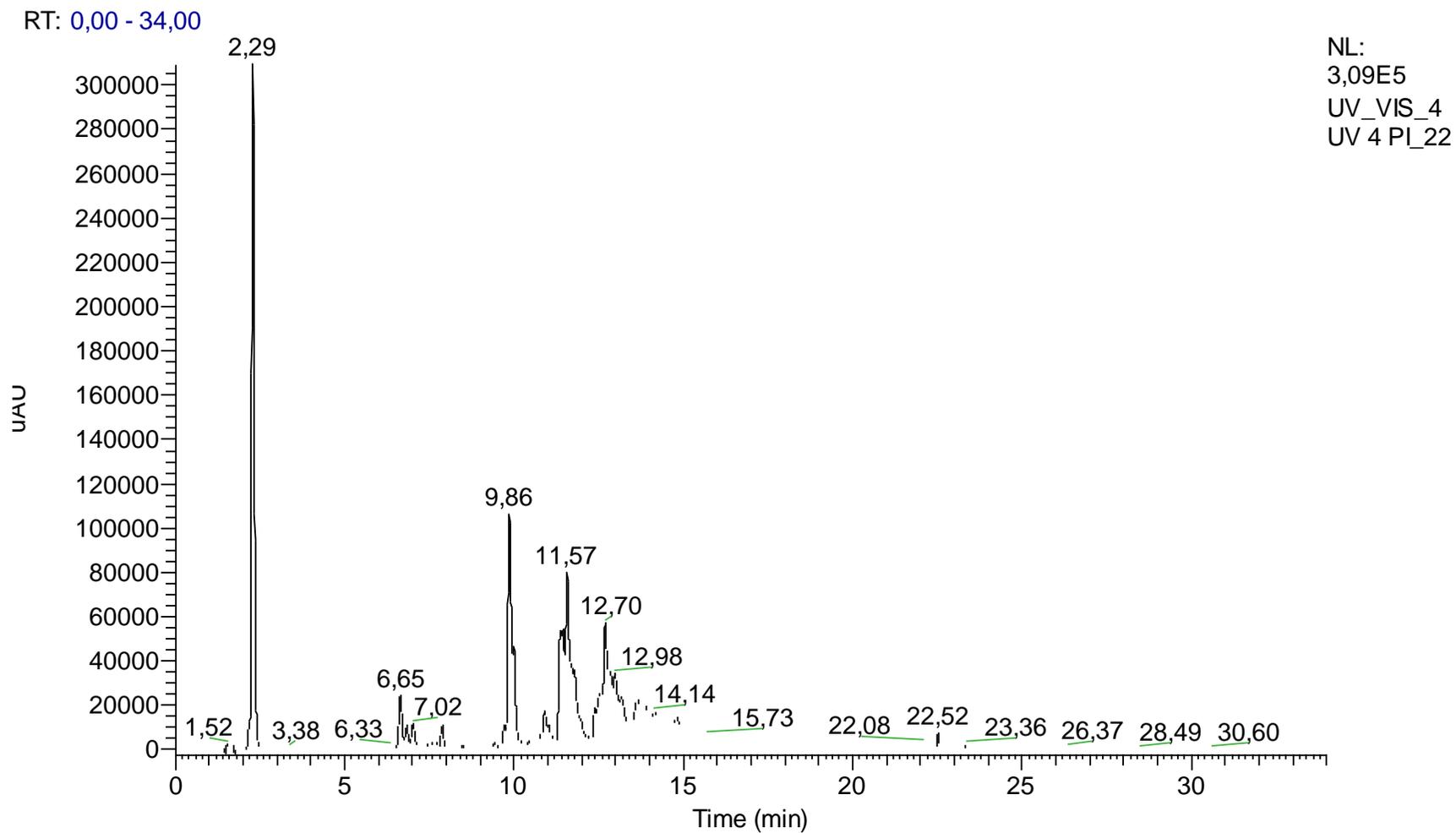


Figure III.27-d : Profil typique du chromatogramme de l'extrait phénolique de la *Pistacia atlantica* à 280 nm : échantillon K1(08)

Tableau III.14 : Caractérisation de composés phénoliques par UHPLC-ESI-MS/MS dans les extraits de la *Pistacia atlantica*.

N° de pic	RT(min)	Tentative identification	λ_{max} (nm)	[M-H] ⁻ (m/z)	HPLC-ESI-MS ⁿ m/z (% d'aire de surface des pics)	Références
1	1.42	Acide quinique	272	191	MS ² [191]: 173(100),MS ³ [173]:111(100)	Benamar et al., 2018
2	1.45	Acide galloylquinique	273	343	MS ² [343]: 191(100),MS ³ [191]:85(100)	Benamar et al., 2018, Ariana et al., 2014
3	1.70	Acide gentisique	283	153	MS ² [153]: 125(100)	Ben Ahmed et al., 2016
4	2.25	Acide gallique	232,273	169	MS ² [169]: 125(100),MS ³ [125]:81(100)	Khallouki et al., 2017
5	6.21	3,4-digalloylquinique	215,275	495	MS ² [495]: 343(100),MS ³ [343]:169(100),191(75)	Santos et al., 2013,
6	6.47	3,5-digalloylquinique	215,275	495	MS ² [495]: 343(100),MS ³ [343]:191(100)	Wyrepkowski et al., 2014.
7	7.34	4,5-digalloylquinique	215,275	495	MS ² [495]:343(100),MS ³ [343]:169(100),173(15),191(10)	Clifford et al., 2007
8	7.70	Acide di-gallique	215,275	321	MS ² [321]:169(100),MS ³ [169]:125(100)	Clifford et al., 2007
9	9.33	Acide 3,4,5-trigalloylquinique	216,276	647	MS ² [647]:495(100),MS ³ [495]:343(100)	Clifford et al., 2007
10	9.63	Tri-galloyl glucose	216,276	635	MS ² [635]: 465(100),MS ³ [465]:313(100)	Abu-Reidah et al., 2015
11	9.63	Acide 3- <i>O</i> -galloyl,4- <i>O</i> -(digalloyl) quinique	216,276	647	MS ² [647]:495 (100),MS ³ [495]:343(100)	Erşan et al., 2016
12	9.78	Acide 4- <i>O</i> -galloyl,3- <i>O</i> -(digalloyl) quinique	216,276	647	MS ² [647]:495 (100),MS ³ [495]:343(100)	Grace et al., 2016
13	10.85	Acide Tri-gallique	217,273	473	MS ² [473]:321(100),MS ³ [321]:169(100)	Clifford et al., 2007
14	11.28	Quercetin-3- <i>O</i> -(2''- <i>O</i> -galloyl)-hexoside	219	615	MS ² [615]: 463(100),MS ³ [463]:301(100)	Grace et al., 2016

15	11.28	Acide 3,4-digalloyl-5- (digalloyl) quinique	268	799	MS ² [799]:647(100),MS ³ [647]:495(100)	Santos et al., 2013	
16	11.51	Acide 3,5-digalloyl-4- (digalloyl) quinique	272	799	MS ² [799]:647(100),MS ³ [647]:495(100)		Clifford et al., 2007
17	12.89	di-gallate de Methyl	217	335	MS ² [335]:183(100)		
18	14.04	Secoisolariciresinolhexoside quinicacidderivative	218,274	523	MS ² [523]:313(100),MS ³ [313]:169(100)	Grace et al., 2016	
19	14.86	Tri-gallate de methyl	219,273	487	MS ² [487]:335(100),MS ³ [335]:183(100)	Barros et al., 2011	
Autres composés							
20	9.63	Inconnue	216	323	MS ² [323]:247(100), MS ³ [247]:160(100)		
21	10.32	Inconnue	217	509	MS ² [509]:357(100), MS ³ [357]:169(100)		
22	10.32	Inconnue	277	554	MS ² [554]:536(100),		
23	11.51	Inconnue	218	661	MS ² [661]:509(100),		
24	11.7	Inconnue	217	661	MS ² [661]:509(100),		
25	11.91	Inconnue	217	661	MS ² [661]:509(100),		
26	12.3	Inconnue	217,279	469	MS ² [469]:393(100),		
27	12.6	Inconnue	216,273	421	MS ² [421]:313(100),		
28	12.89	Inconnue	217,274	813	MS ² [813]:661(100),		
29	13.07	Inconnue	217,274	813	MS ² [813]:661(100),		
30	13.63	Inconnue	217,273	573	MS ² [573]:421(100),		

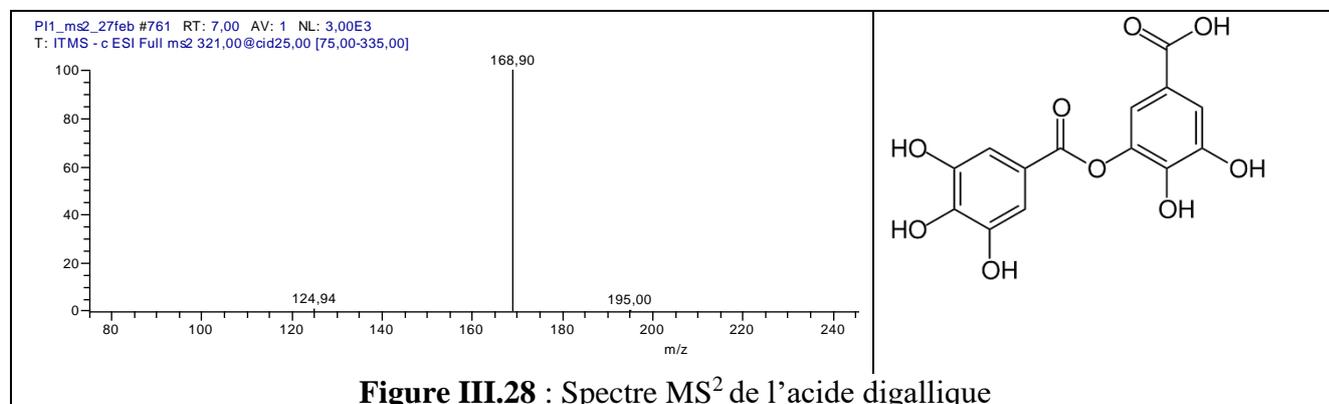
Les extraits de *Pistacia atlantica* sont constituées principalement des dérivés de l'acide gallique, des acides galloylquiniques, acide gentisique et de gallate de méthyle qui ont été identifiés par leurs ions parents. Les identifications de ces pics sont détaillées par famille de molécule dans les points suivants :

➤ **Les dérivés de l'acides galliques**

Trois composés ont été provisoirement identifiés comme des dérivés de l'acide gallique. Il s'agissait d'esters d'acide gallique et de polyol, généralement du glucose, et des acide di- et tri-gallique. Ils ont produit des ions fragments correspondant à la perte d'un groupement acide gallique.

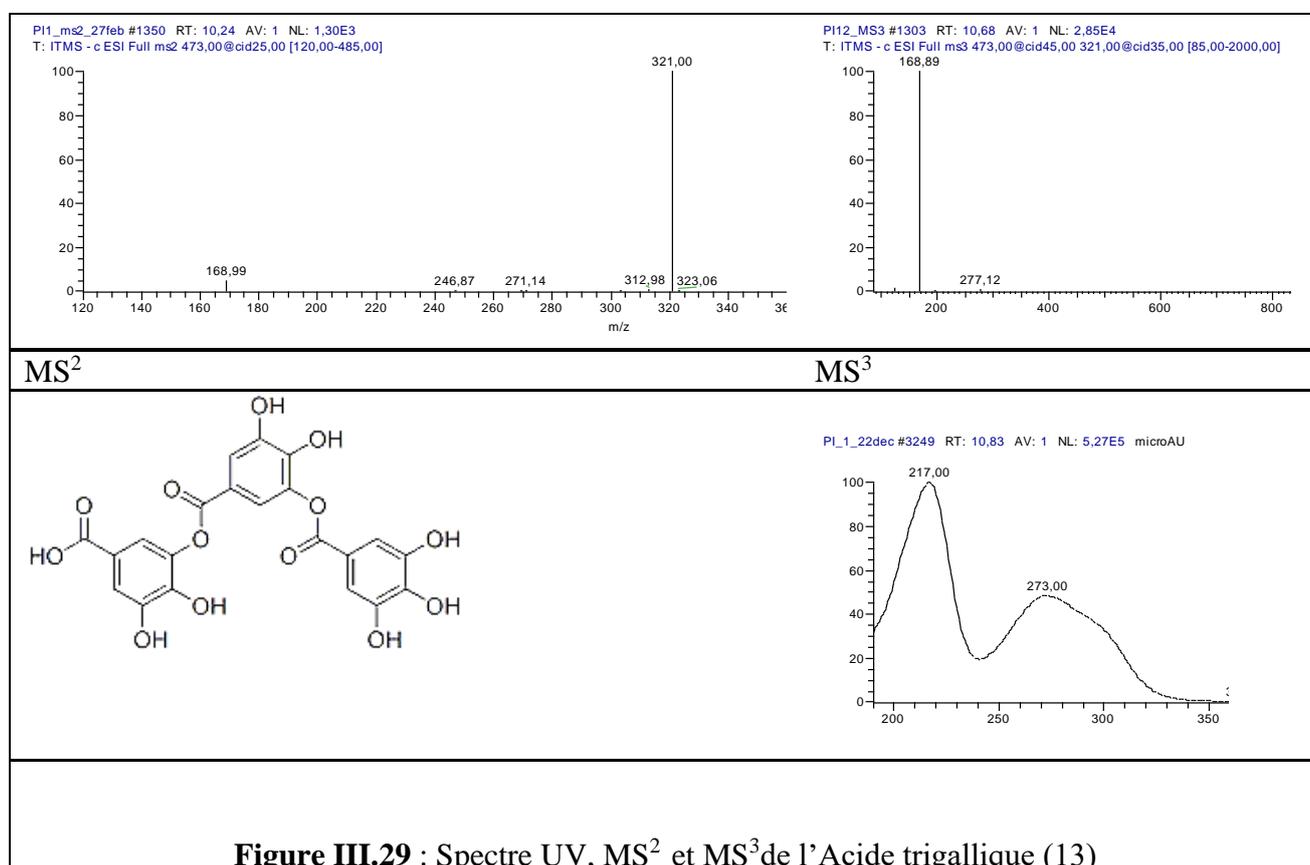
Le composé **4** a été élué dans les premières minutes du programme HPLC (Rt= 2,25min), Il est caractérisé par un spectre UV avec un maximum d'absorbance à 232 et 273 nm. Le composé **4a** présenté un ion moléculaire $[M-H]^-$ à m/z 169, et a donné un pic de base à m/z 125 dans la fragmentation MS^2 et un autre pic de base à m/z 81 dans la fragmentation MS^3 due à la perte successive de deux groupements CO_2 (figure III.28). Selon les fragmentations MS/MS et la forme spectrale UV, ce composé correspondent exactement à **l'acide gallique**. Ce composé a été précédemment identifié dans le *Pistacia atlantica* (Khallouki et al., 2017, Benahmed et al., 2016, Benahmed et al., 2018).

Le composé (**8**) présente un ion parent $[M-H]^-$ à m/z 321. Leurs fragmentations MS/MS ont entraîné des ions produits à m/z 169 et 125 caractéristiques de l'acide gallique (figure III.28). Ainsi, ce composé a été provisoirement identifié comme de **l'acide digallique**.



Le composé (**13**) présente des ions $[M-H]^-$ à m/z 473, (Figure III.29) et a donné des pics de base à m/z 321 et m/z 169 respectivement dans la fragmentation MS^2 et MS^3 par la perte de deux groupes gallate. Cependant, ce composé a présenté des profils de fragmentation MS^3 avec un pic à m/z 169 qui correspond au fragment typique de l'acide gallique, qui suggère que ce composé dérivé de l'acide gallique (Figure III.29). Le composé (**13**) a montré respectivement des spectres UV-vis avec λ_{max} de 217 nm et 273 nm, similaires à l'absorption caractéristique de l'acide gallique. Selon les fragmentations MS/MS et les formes spectrales UV, ce composé correspondent exactement à **l'acide trigallique**.

L'acide trigallique a été auparavant identifié dans *Pistacia atlantica* (Khallouki et al., 2017, Ben Ahmed et al., 2016, Ben Ahmed et al., 2018).



L'analyse MS en mode négatif révèle la présence d'un ester d'acide gallique glucosé caractéristiques de l'extrait de la *Pistacia atlantica*. En effet, l'ion m/z 635 est associé aux composés (**10**). Le spectre MS/MS (Figure III.30) des ions fragments produits par le composé (**10**) enregistre des pics de base à m/z 465 et à m/z 313 dû à la perte du groupement gallate et galloyl respectivement. De plus, le spectre MS^3 de composé (**10**) a donné un pic distinct à m/z 169,

correspond à la présence de l'acide gallique (m/z 170). Le composé **10** est identifié en tant que le **Trigalloyl glucose**.

Le trigalloyl glucose a déjà été rapporté dans l'espèce de *Pistacia* (Khallouki et al., 2017, Ben Ahmed et al., 2016, Ben Ahmed et al., 2018).

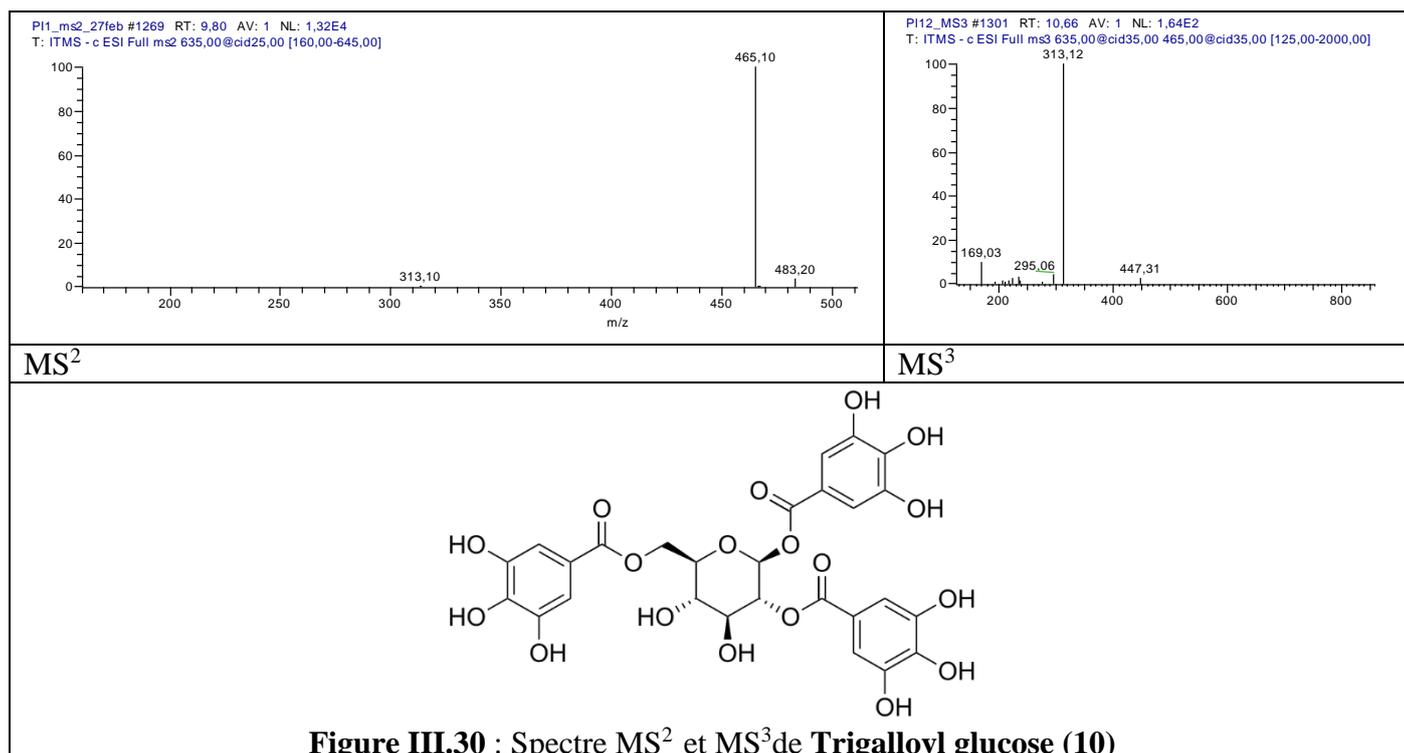


Figure III.30 : Spectre MS² et MS³ de Trigalloyl glucose (**10**)

➤ L'acide gentisique

Le composé **3** a produit $[M-H]^-$ à m/z 153 qui donne un ion fragment à m/z 125 $[M-CO]^-$. Selon la caractérisation de la masse moléculaire et de la fragmentation de masse, l'ion m/z 153 a été identifié comme étant l'acide gentisique. Ce composé a déjà été rapporté dans les extraits de *Pistacia atlantica* (Ben Ahmed et al., 2016).

➤ Les acides galloylquiniques

Le composé **1** a produit $[M-H]^-$ à m/z 191 qui donne des ions fragments à m/z 173 $[M-H_2O]^-$, m/z 155 $[M-2H_2O]^-$, m/z 127 $[M-CH_4O_3]^-$ et m/z 111 $[M-CO_2-2H_2O]^-$. Selon la caractérisation de la masse moléculaire et de la fragmentation de masse, l'ion m/z 191 a été identifié comme étant l'acide quinique. Ce composé a déjà été rapporté dans les extraits de *Pistacia atlantica* (Benamar et al., 2018).

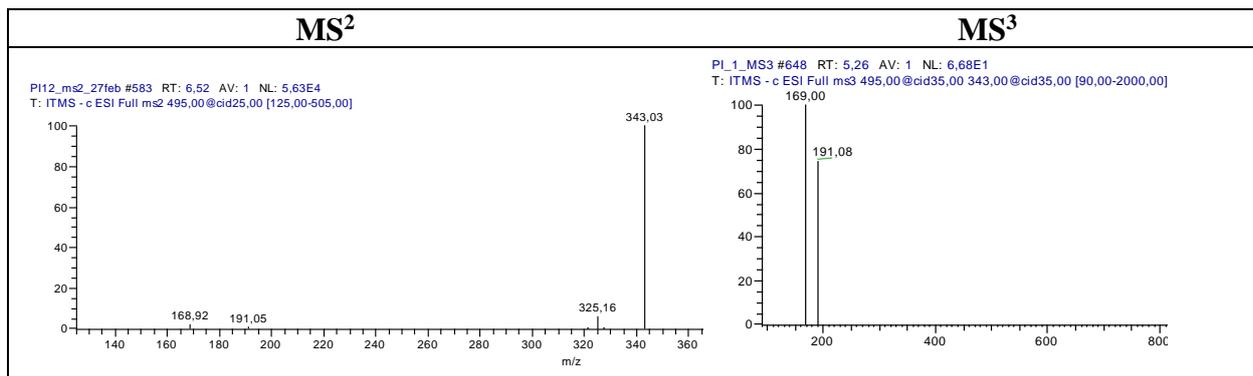
L'extrait de *Pistacia atlantica* contient un pic qui a donné un ion parent à m/z 343 (tableau III.14). Le composé **2** a produit un pic de base MS² à m/z 191 et un pic de base MS³ à m/z 85, cohérent avec le comportement de fragmentation de l'acide galloylquinique. L'acide galloylquinique a déjà été signalé dans le *Pistacia atlantica*.

Les composés **5-7** ont été confirmés en tant que des acides digalloylquiniques par comparaison avec ses ions de fragmentation qui sont décrites dans le tableau III.14 et ont démontré que la position de liaison des groupes galloyl sur l'acide monoacylé quinique pouvaient être déterminées en fonction du comportement de fragmentation MS/MS des ions [M-H]⁻ (**Han et al., 2008, March et al., 2004, Schütz et al., 2005**). Brièvement, lorsque le groupe galloyl est lié à 5-OH, l'ion [acide quinique-H]⁻ à m/z 191 sera le pic de base, et quand il donne un pic de base à m/z 169 et un ion secondaire fort (plus de 50% du pic de base) à m/z 191, il est plus significatif pour l'acide 3-galloylquinique. Alors qu'un pic de base à m/z 169 accompagné d'ions fragments à m/z 173 (10%) et 191 (10%), suggérant que le groupe acyle est connecté à 4-OH.

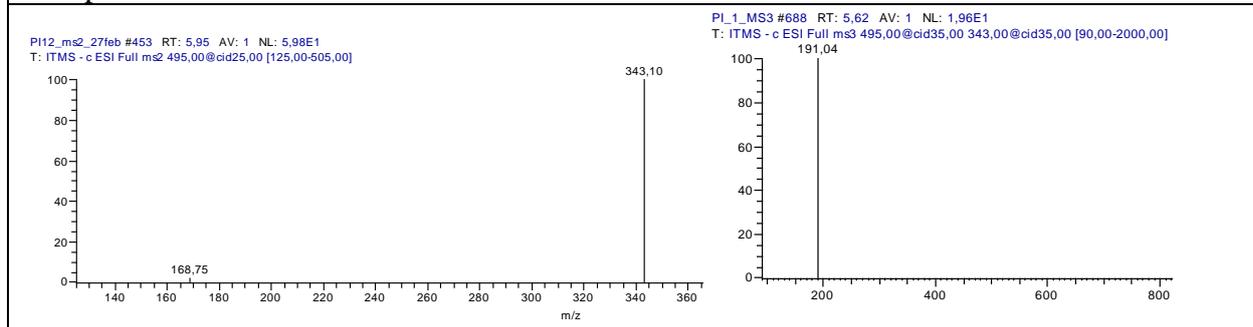
Les composés **5, 6 et 7** ont tous donné les ions [M-H]⁻ à m/z 495 et les ions [M-H-152]⁻ à m/z 343. Cependant, leurs spectres MS³ sont significativement différents (figure III.31).

Le composé **6** comme indiqué plus haut est identifié comme étant l'acide 3,5-digalloylquinique, ce qui est cohérent avec ce qui montré précédemment. Les deux autres composés ont produit un pic de base à m/z 169, d'où ils ont été identifiés comme des acides quiniques substitués en position 4. Selon la littérature (**Löffler et al., 1995**), l'acide 3,5-digalloylquinique est plus facilement élué de la colonne en phase inverse que de l'acide 4,5-digalloylquinique. Ainsi, le composé **7** a été identifié comme étant l'acide 4,5-digalloylquinique, et le composé **5** a été identifié comme étant l'acide 3,4-digalloylquinique (figure III.31).

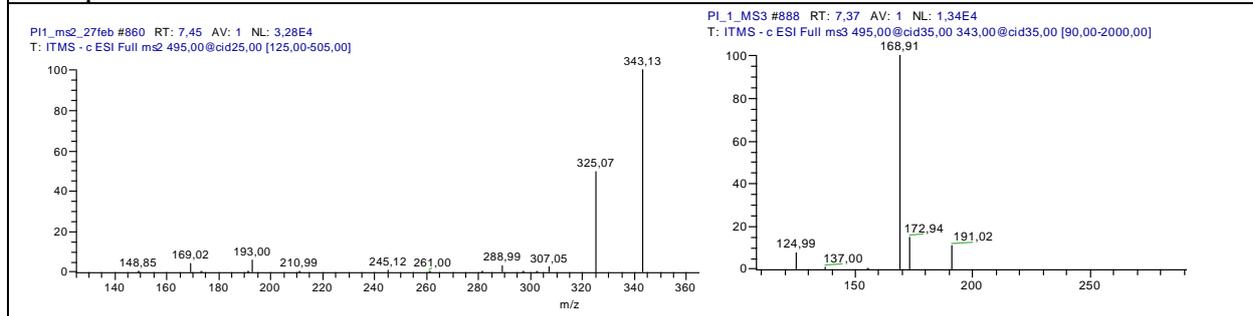
Ces trois isomères ont déjà été identifiés chez plusieurs espèces de *Pistacia*, dans *P. lentiscus*, *P. chinensis* et *P. khinjuk* par **El Bishbishy et al., 2020**, mais il a été aussi identifié dans le *P. atlantica* par (**Khallouki et al., 2017 ; Ben Ahmed et al., 2016 ; Ben Ahmed et al., 2018**).



Composé 5



Composé 6



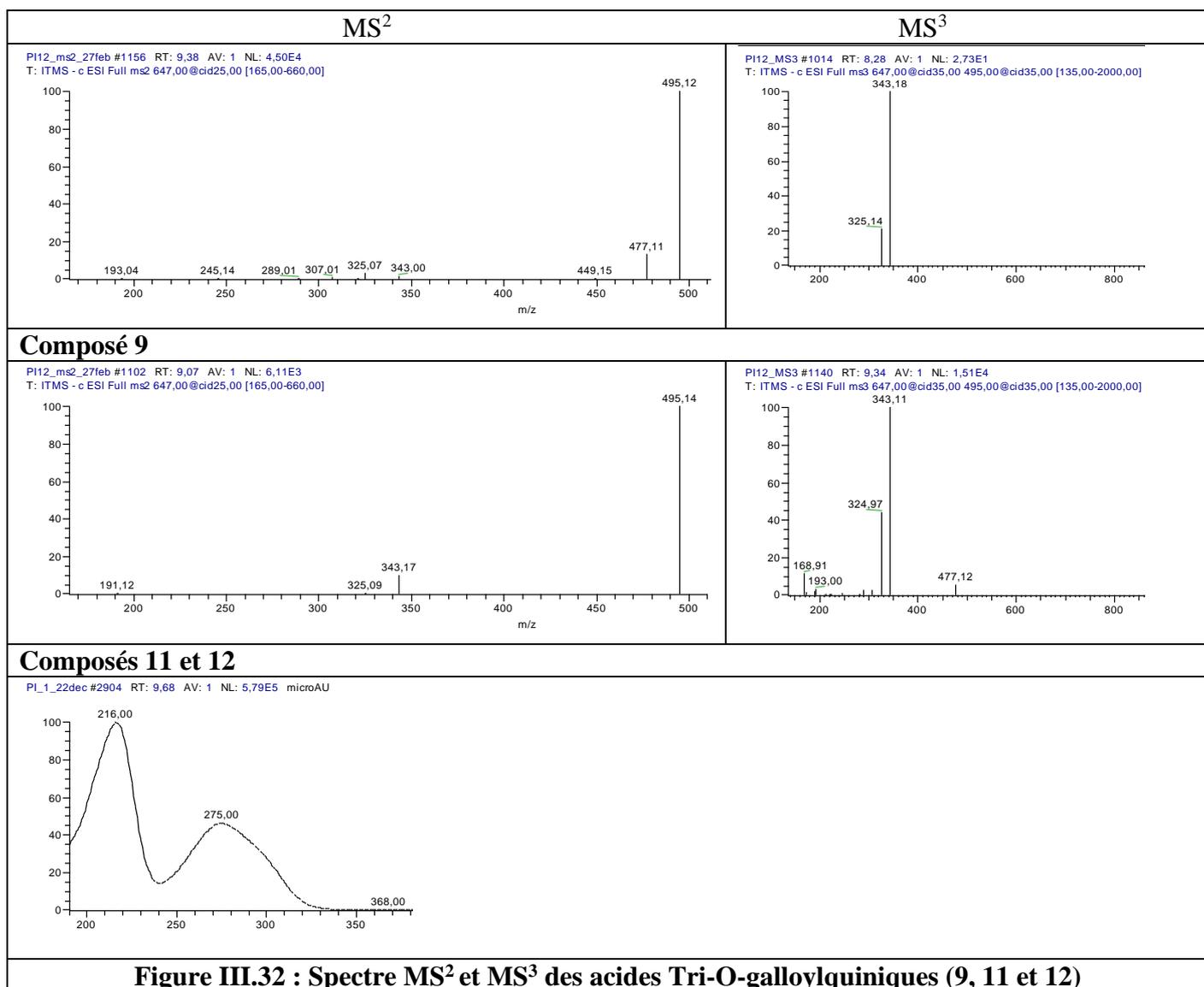
Composé 7



Spectre UV

Figure III.31 : Spectre MS² et MS³ des acides Di-O-galloylquiniques(5-7)

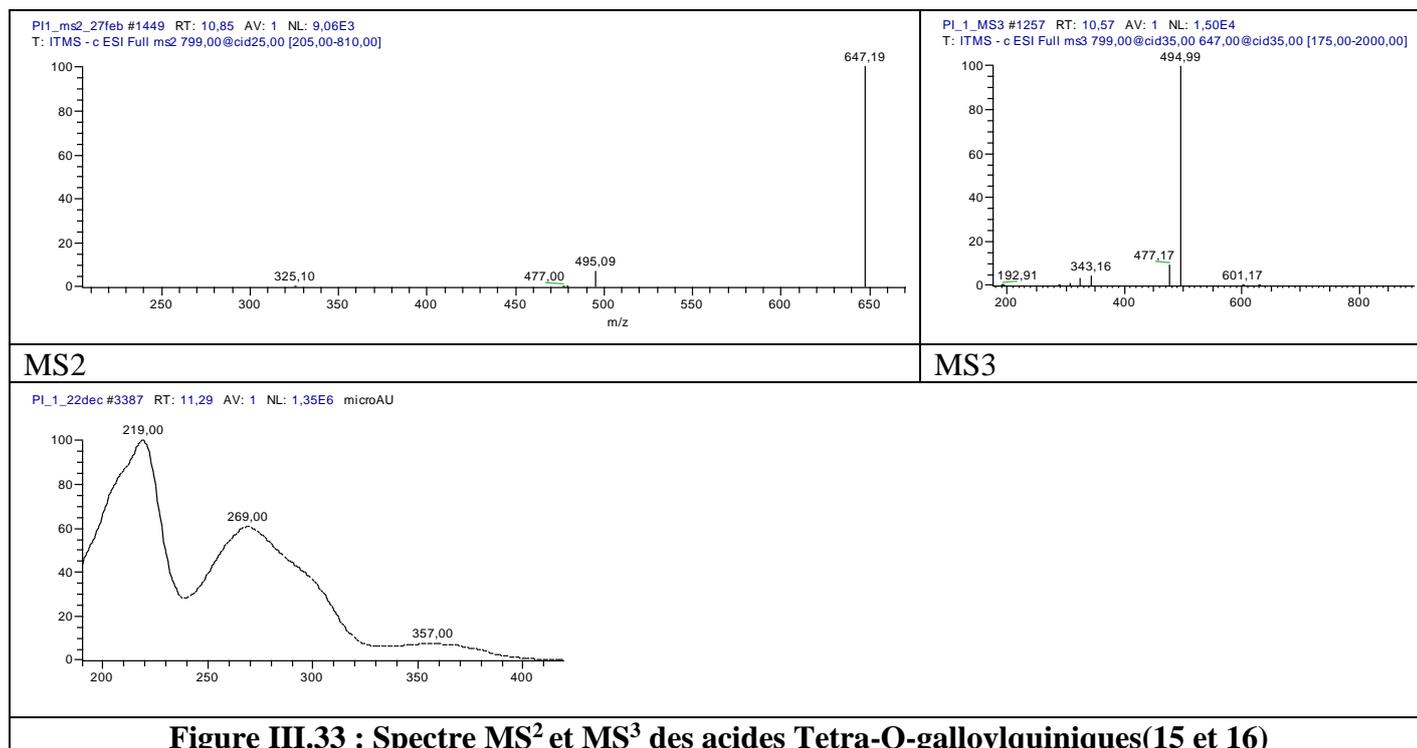
L'acide trigalloylquinique dominant a donné un ion parent à m/z 647 et un pic de base MS^2 à m/z 495 accompagné d'un ion déshydraté secondaire à m/z 477 (10% du pic de base) (figure III.32). La fragmentation ultérieure a produit un pic de base MS^3 à m/z 343 avec un ion déshydraté secondaire à m/z 325 (35% du pic de base). Ces fragmentations indiquent une perte successive de trois résidus galloyle. Il reste deux possibilités, soit l'acide 1,4,5-trigalloylquinique ou l'acide 3,4,5-trigalloylquinique, tous les deux possèdent un seul hydroxyle axial libre, mais l'absence de signaux forts à m/z 477 et 449 justifier que la substitution en 1,4 n'est pas le cas, Par conséquent, ce composé est attribué à l'**acide 3,4,5-trigalloylquinique (9)**



Les deux isomères de l'acide trigalloylquinique de la deuxième élution ont produit un pic de base MS^2 à m/z 495 sans aucun ion de fragment secondaire et un pic de base MS^3 à m/z 343 accompagné d'un ion fragment déshydraté fort (40% du pic de base) à m/z 325, aussi un autre ion

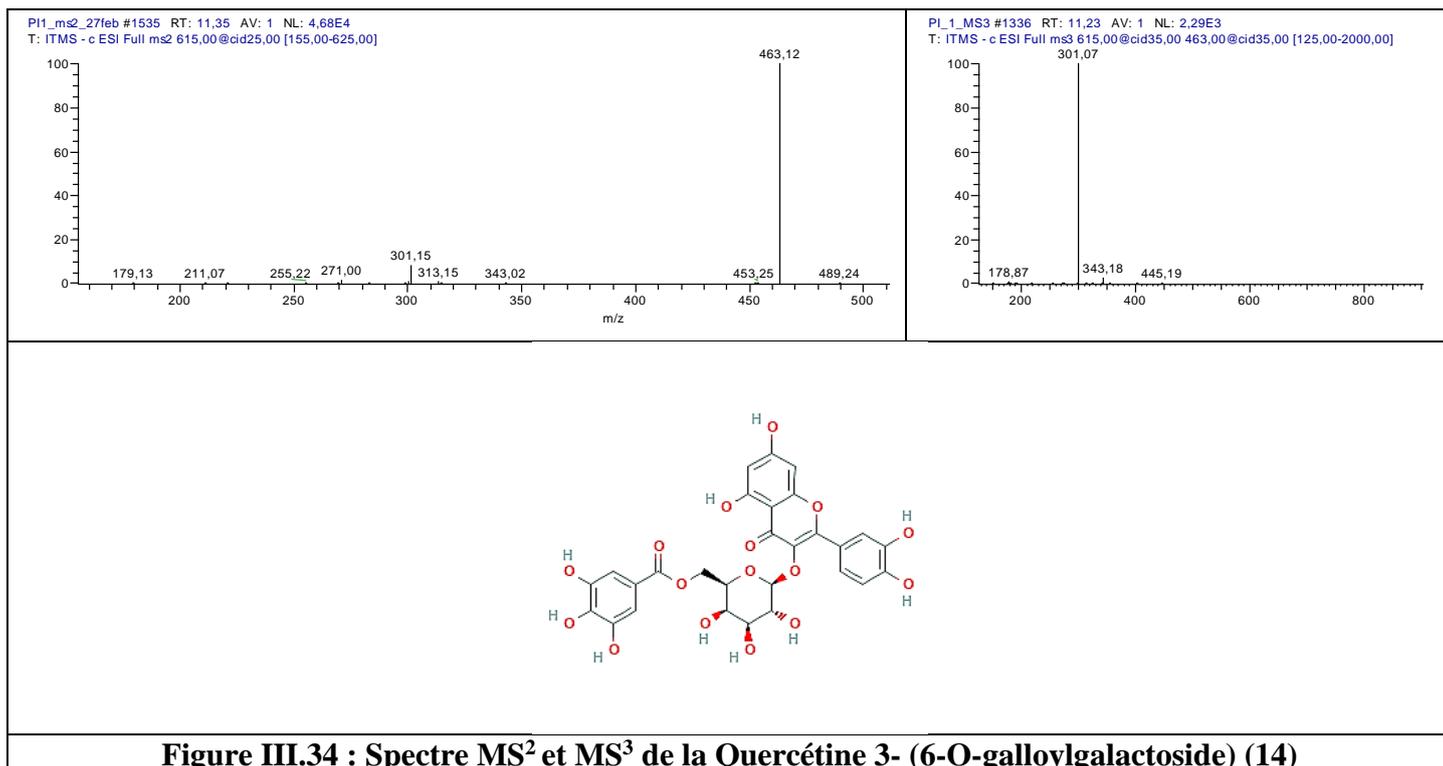
m/z 169 dans la zone des faibles masses qui est identique à celui observée pour l'acide 4-galloylquinique. Ce comportement est cohérent avec les deux acides diacyltrigalloylquiniques possibles avec des substituants en C3 et C4. Par conséquent, ces composés sont attribués à l'**acide 3-O-galloyl,4-O-(digalloyl) quinique (11)** et à l'**acide 4-O-galloyl,3-O-(digalloyl) quinique (12)**.

Deux acides tétragalloylquinique ont été détectés. Ils ont chacun perdu des résidus galloyle, produisant séquentiellement un pic de base m/z 647 en MS² (sans aucun ion de fragment déshydraté), un m/z 495 en MS³ pic de base accompagnée de m/z 477 (10%) et 343 (5%), suivi des pics m/z 343 et m/z 193 dans la zone des faibles masses. Ce comportement après élimination du premier résidu galloyle est identique à celui de l'acide **3,4,5-trigalloylquinique (9)**, impliquant ainsi que ces isomères ne sont pas 1-substitués. Comme la déshydratation ne se produit pas à MS², on peut déduire, comme pour les acides digalloylquiniques, que c'est le résidu galloyl qui est éliminé en premier car l'élimination d'un galloyl ou d'un résidu digalloyl directement du C5 (ou même C3), par analogie avec la fragmentation de l'acide 3,4-digalloylquinique (**5**), 4,5-digalloylquinique (**7**) et de l'acide 3,4,5-trigalloylquinique (**9**), aurait conduit à un m/z 629 ou 477 sur MS². Par le même argument, nous pouvons exclure l'acide 3,4-di (digalloyl) quinique et l'acide 4,5-di (digalloyl) quinique. L'acide 3,5-di (digalloyl) quinique peut être exclu car cela produirait finalement [acide 3-galloylquinique - H⁺]⁻ et non [acide 4-galloylquinique - H⁺]⁻ à MS⁵. Acide 3,4-digalloyl-5- (digalloyl) quinique, acide 3,5-digalloyl-4- (digalloyl) quinique. Parce que les fragmentations observées sont compatibles avec ces structures et parce que d'autres possibilités ont été exclues, il est suggéré que les deux acides tétragalloylquiniques contenant du soient l'acide **3,4-digalloyl-5- (digalloyl) quinique (15)** et l'acide **3,5-digalloyl-4- (digalloyl) quinique (16)**, mais la confirmation doit attendre l'isolement et la caractérisation RMN.



Les acides trigalloylquiniques et tétragalloylquiniques ont été signalés précédemment dans *Pistacia atlantica* par **Ben Ahmed et al., 2016 et 2018**

Le composé **14** a présenté un ion $[M-H]^-$ à m/z 615, le spectre MS² (figure III.34) a donné un ion fragment $[M-H-152]^-$ à m/z 463 indiquant la perte de groupement galloyl. La dissociation induite par collision du m/z 463 a donné un fragment $[M-H-152-162]^-$ m/z 301, suggérant l'existence d'un résidu de glucose et le spectre MS³ de m/z 301 est très similaire à celui de la quercétine. Ce composé est identifié comme étant la **Quercetin-3-O-(2''-O-galloyl)-hexoside**. Ce composé a été déjà rapportée dans le *Pistacia atlantica* par **Khallouki et al., 2017**.

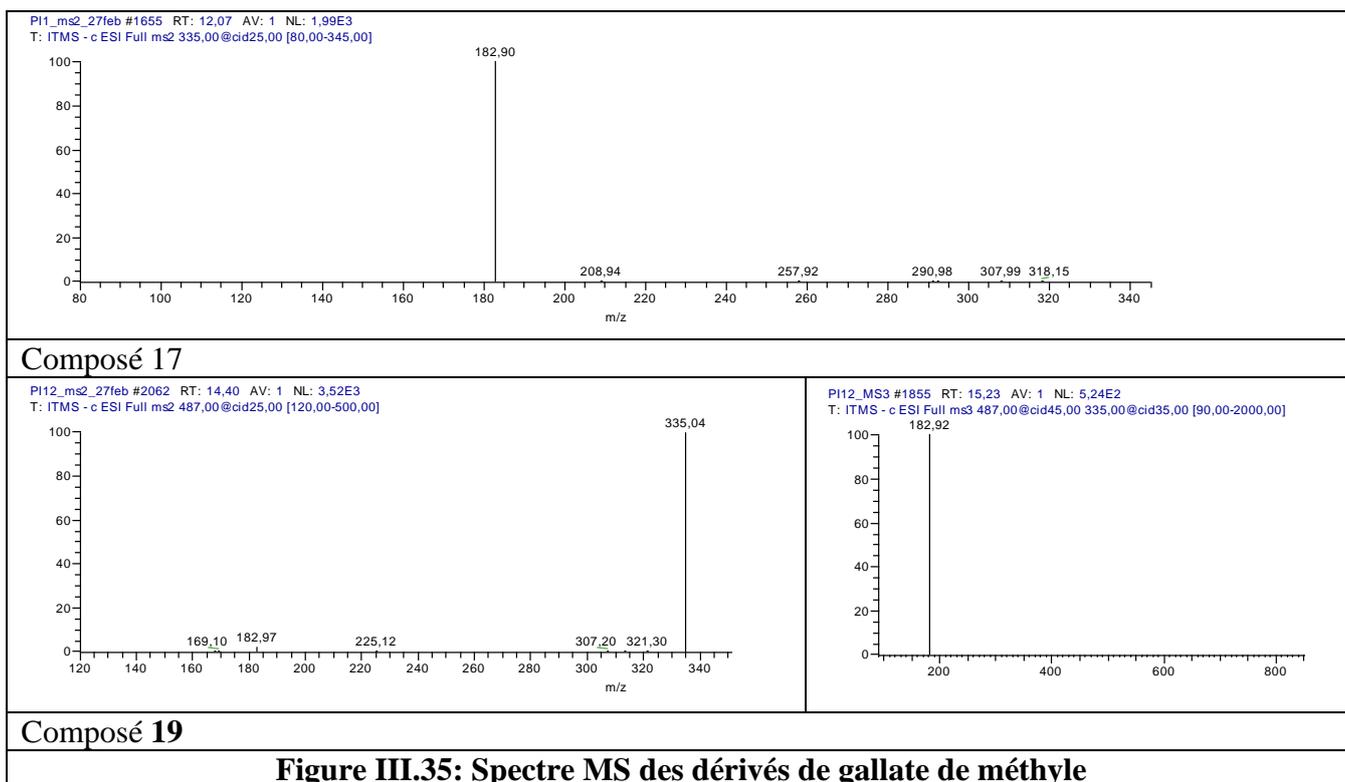


➤ Les dérivés de gallate de méthyle

Les composés **17** et **19** ont présentés des ions $[M-H]^-$ à m/z 335 et 487 respectivement qui sont attribués à des dérivés de gallate de méthyle déprotonés. Ces hypothèses sont confirmées par MS² et MS³ (figure III.35).

Le composé **19** présente un ion $[M-H]^-$ à m/z 487 et le spectre MS/MS de celui-ci donne un ion $[M-H-152]^-$ à m/z 335 et un ion $[M-H-304]^-$ à m/z 183, indiquant les pertes successives de deux groupes gallates. Le composé **17** a montré un pic de base MS² à m/z 183 résultant de la perte du groupement gallate. Sur la base de ces fragmentations MSⁿ, les composés **17** et **19** ont été identifiés respectivement comme le **digallate de méthyle** et le **trigallate de méthyle**.

Le gallate de méthyle a été identifiés chez *Pistacia atlantica*, mais le **digallate de méthyle** et le **trigallate de méthyle** ont été identifié pour la première fois dans la présente étude.



6. Variation saisonnière de l'activité antioxydante des extraits phénoliques des feuilles de *Pistaciaatlantica*

Afin d'évaluer le potentiel antioxydant des extraits phénoliques des feuille de *P.A*, nous avons utilisé quatre méthodes différentes en même temps à savoir : le test **DPPH**, le test **Frap**, le test du radical cation **ABTS^{•+}** et le test **CUPRAC**. Comme pour l'étude du contenu phytochimique des extraits phénoliques des feuilles de *Pistacia Atlantica*, la variation saisonnière de l'activité antioxydante a été suivie afin de déterminer la meilleure période de cueillette des feuilles correspondant à la meilleure capacité des extraits phénoliques.

6.1. Mesure du pouvoir anti-radicalaire par le test au DPPH

Les résultats du test DPPH ont été exprimés par le facteur EC_{50} ($\mu\text{g/mL}$) (tableau III. 15). Ces valeurs, nous permettent de déterminer quantitativement l'activité antioxydante des extraits phénoliques des feuilles de *Pistacia atlantica* au cours de développement et de comparer l'efficacité de nos extraits. Nous rappelons que plus la valeur de la EC_{50} est faible plus l'extrait est puissant vis-à-vis des radicaux libres. Les résultats de ce test indiquent que les valeurs d' EC_{50} ($\mu\text{g/mL}$) varient entre 27,34 $\mu\text{g/mL}$ et 44,42 $\mu\text{g/mL}$ tout le long de la saison d'étude. L'échantillon K2 recèle l'activité la plus importante à la fin de croissance des feuilles au mois de Novembre (exprimé par la valeur minimale de EC_{50} : 27.34 $\mu\text{g/mL}$), cet extrait présente une capacité antioxydante très intéressante, dans l'ordre de 3 à 4 fois (environ) moins importantes que les antioxydants de références tel que : BHA, BHT et la vitamine C, respectivement. Par contre la capacité antioxydante la plus faible a été enregistrée au mois d'Aout pour l'échantillon K1 pour le même site de récolte (exprimé par la valeur maximale de EC_{50} : 44,42 $\mu\text{g/mL}$). Cet extrait est 6 à 8 fois moins actif que les antioxydants de références dans l'ordre précédent. Les autres fractions phénoliques peuvent êtres donc considérés comme des antioxydants intermédiaires. En comparant la valeur moyenne d' EC_{50} pour chaque extrait, nous observons que l'extrait L1 montre la meilleure activité antiradicalaire (même constatation pour l'extrait lipidique L1), suivi par l'extrait L2 du même site. Les extraits K1, K2 et D1 montrent la même capacité vis-à-vis des radicaux libres. L'extrait D2 présente une activité légèrement inférieure à celle des extraits précédents. Ainsi, les valeurs moyennes d' EC_{50} pour chaque extrait sont assez proches, et donc, le pouvoir antiradicalaire est stable pour les différents échantillons

Tableau III. 15 Valeurs d'EC₅₀ des extraits phénoliques des feuilles de *Pistacia atlantica* au cours de croissance en utilisant le test DPPH

EC ₅₀ (µg/mL)							
Mois de récolte	L1	L2	D1	D2	K1	K2	Moyenne ± sd
Mai	33,16	29,38	31,35	31,23	32,98	42,10	33,37±2,91
Aout	35,92	39,48	37,82	38,50	44,42	35,29	38,57±2,25
Septembre	31,54	35,55	34,26	36,00	31,82	35,98	34,19±1,67
Novembre	27,91	30,51	37,53	39,62	31,24	27,34	32,36±4,14
Moyenne±sd	32,13±2,41	33,73±3,78	35,24±2,43	36,34±2,72	35,12±4,65	35,18±3,92	-
Antioxydant de référence							
	BHA		BHT			Vit. C	
EC₅₀ (µg/mL) ± sd	6,91±0,07		6.1±0.04			5.8±0.08	

Dans la figure III. 36, l'histogramme construit, montre la variation saisonnière de la valeur EC₅₀ de l'activité antioxydante pour les fractions phénoliques des feuilles de *P.A.* Il est à noter qu'on n'a pas pu enregistrer une règle claire pour l'interprétation de la variation saisonnière des valeurs d'EC₅₀, et que ces différences dans les résultats du dosage des antioxydants pourraient être dues à la présence de composés ayant des affinités différentes pour réagir avec le DPPH. Chaque échantillon révèle un écart peu limité entre les bornes inférieures et supérieures des valeurs d'EC₅₀ le long de la saison de développement des feuilles. A titre d'exemple l'échantillon D1 présente un écart d'environ 6 µg/mL entre la valeur maximale et minimale d'EC₅₀ durant toute la période de croissance des feuilles. L'échantillon K2 révèle un écart de 14 µg/mL qui représente l'écart maximal pour tous les extraits. Donc, les valeurs d'EC₅₀ sont assez stables. Cette illustration montre aussi qu'au premier stade de croissance des feuilles l'extrait L2 qui a dévoilé le meilleur pouvoir antioxydant, tandis que l'extrait K2 a révélé la plus faible capacité à ce stade. Au mois d'aout, les extraits L1 et K2 sont les plus actifs, Alors que le moins actif est le K1. La meilleure activité au mois de septembre a été présenté par les extraits L1 et K1. Les autres extraits présentent pratiquement la même activité antioxydante. A la fin de la croissance des feuilles (au mois de novembre) les extraits L1 et K2 montrent le pouvoir le plus élevé, et la faible activité est enregistrée par l'extrait D2.

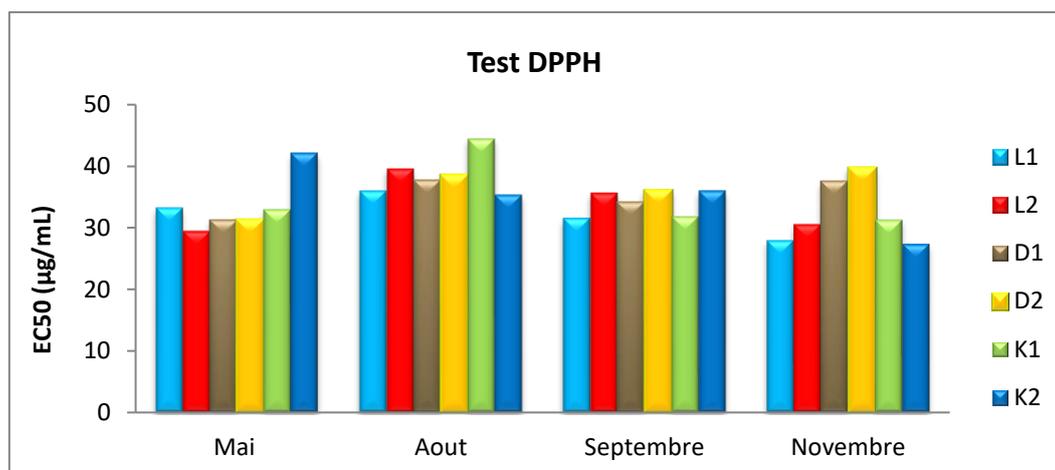


Figure III.36 : Valeurs saisonnières d'EC₅₀ des extraits phénoliques des feuilles de *P.A* à différents stades de croissance en utilisant le test DPPH.

Il est plus convenable de présenter les résultats de l'activité antioxydante de ce test en employant le paramètre $1/EC_{50}$ qui est défini dans le chapitre précédent comme étant le pouvoir antiradicalaire PAR ou parfois l'efficacité antiradicalaire EA. En se référant à la valeur moyenne PAR pour chaque mois de cueillette c.à.d à différents stades de développement foliaire (figure III.37), il apparaît que le pouvoir antiradicalaire PAR décroît de manière significative du début de croissance des feuilles du mois de mai vers le stade intermédiaire (mois d'aout), puis il croît vers septembre pour atteindre son maximum vers la fin de croissance (au mois de novembre).

La variation du pouvoir antioxydant selon les sites de cueillette montre que les échantillons cueillis de Laghouat sont légèrement plus actifs (valeur moyenne EC₅₀ la plus faible: $32,93 \pm 2,69 \mu\text{g/ml}$) que ceux de Kheneg et Daya qui présentent pratiquement les mêmes valeurs moyennes d'EC₅₀: $35,15 \pm 3,55$ et $35,79 \pm 2,58 \mu\text{g/ml}$, respectivement. Malgré ces légères différences, ces valeurs restent assez proches pour tous les sites de cueillette.

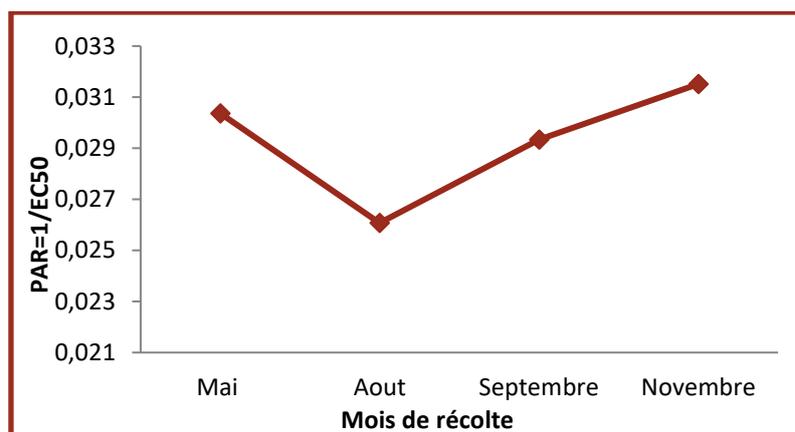


Figure III.37 : Variation saisonnière du pouvoir antiradicalaire (PAR) des fractions phénoliques des feuilles de *Pistacia atlantica* en utilisant le test DPPH.

De ce qui précède, nous avons tenté de chercher une corrélation linéaire entre les valeurs d'EC₅₀ et les teneurs en PT, FT et TC ; il en ressort qu'aucune corrélation est trouvée. L'absence de corrélation dans cette étude peut être supposée avec des valeurs de R² comprises entre 0,23 et 0,28. D'après ces valeurs, on peut constater qu'une activité antioxydante élevée ne corresponde pas obligatoirement à une teneur élevée en PT. A titre d'exemple l'échantillon D1 récolté au mois d'aout possède la quantité la plus élevée en PT (130,13 mg/g Mv) et qui n'est pas le plus actif, on peut dire que son activité est 1,6 fois moins que le plus actif des échantillons (K2) (figure III. 38), il est aussi 5 à 6 fois moins actif que les antioxydants standards. L'indépendance de l'activité antioxydante des extraits de feuilles peut être interprétée par l'existence de certaines molécules individuelles responsables de cette activité. Donc, un extrait qui contient une teneur importante en PT peut posséder des composés phénoliques peu actifs ou parfois pratiquement inactifs, au contraire d'un extrait de faible teneur en PT qui renferme un composé phénolique minoritaire possédant une structure chimique active, et par conséquent un pouvoir antioxydant meilleur.

Le manque de corrélation entre les teneurs en FT et les valeurs d'EC₅₀, peut être lié à l'hypothèse selon laquelle la plupart des flavonoïdes contenus dans les feuilles de *P. atlantica* étaient sous leur forme glycosidique (Mosharrafa et al., 1999), et donc moins efficace que leurs formes aglycones (Anwar et al., 2013). D'autre part, le manque de corrélation entre les teneurs en TC et les valeurs d'EC₅₀ est en accord avec Xu et al., (2012) et Chew et al., (2011), qui ont indiqué que les antioxydants de faible poids moléculaire étaient plus efficaces en tant que piègeurs de DPPH. Les

tanins condensés sont des polymères de haut poids moléculaire et, par conséquent, peuvent être inefficaces en tant que piègeurs de DPPH.

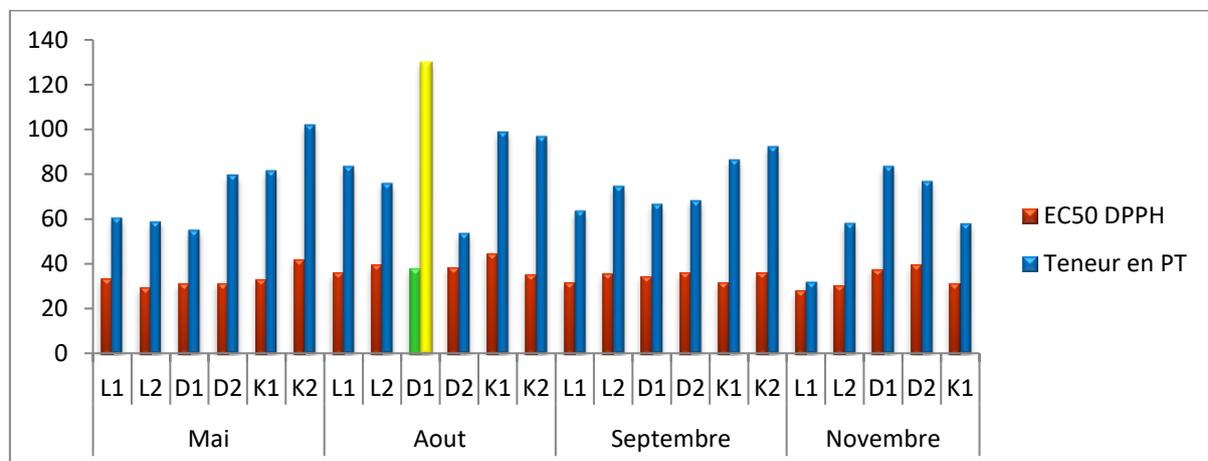


Figure III.38 : Classement des échantillons en fonction des valeurs d'EC₅₀ et teneurs en PT des extraits des feuilles de *Pistaciaatlantica*

En parallèle, dans les travaux antérieurs de **Benhammou et al. (2007)** sur l'activité antioxydante des extraits phénoliques des feuilles de *Pistacia atlantica* (*P.A*) et *lentiscus* (*P.L*) (récoltés au mois de novembre) par le test DPPH, on remarque que les valeurs d'EC₅₀ des deux extraits phénoliques obtenu par macération dans l'éthanol (EC₅₀= 27,76 mg/mL pour *P.A* et EC₅₀= 90,87 mg/mL pour *P.L*) sont largement très différentes de nos résultats (EC₅₀moyenne= 34,62 µg/ml), ce qui montre que nos extraits présentent la capacité de piégeage des radicaux libres la plus importante. De même, une différence est notée pour les valeurs d'EC₅₀ des extraits des feuilles de *P.A* dans l'étude de **Maamri (2008)** (EC₅₀= 2,48~10,8 mg/mL). Il a été aussi rapporté par **Zitouni et al. (2016)** un pouvoir antioxydant inférieur à nos résultats pour les extraits méthanoliques des feuilles de *Pistacialentiscus* récoltés au mois de décembre (EC₅₀=0,166 mg/mL). La même observation pour les travaux de **Asghar-Hatamnia et al. (2014)** qui recèlent ainsi, une activité antioxydante moins importante (EC₅₀= 0,068~2,39 mg/mL), pour les extraits méthanoliques de différentes parties des fruits de *Pistacia atlantica*. En effet, cette incompatibilité des résultats sur la même partie de la plante peut être liée aux conditions opératoires non similaires lors de l'extraction des composés phénoliques, et la réalisation du test DPPH. La variation de la composition phénolique des extraits peut à son tour influencer le pouvoir antioxydant. Par ailleurs, notre étude sur l'activité antioxydante des extraits phénoliques des feuilles de *P.A*, montre des

valeurs en EC₅₀ comparables à ceux des fruits immatures de *P.A* (EC₅₀= 21,45~ 40.51 µg/mL) présenté par **Guenane et al. 2017**.

6.2. Pouvoir réducteur FRAP (FerricReducing Antioxydant Power)

Le test FRAP est entrepris pour révéler le pouvoir réducteur des antioxydants présents dans les extraits phénoliques. L'activité antioxydante est exprimée par rapport à l'acide ascorbique en valeur AEAC (µg/mL) (Ascorbic acid Equivalent Antioxidant Capacity). Les résultats sont mentionnés dans le tableau III. 16. Les valeurs trouvées de l'AEAC varient entre 54,77 et 140,22 µg/mL. Il en ressort que toutes les fractions testées possèdent d'importantes capacités à réduire les ions Fe³⁺. La valeur maximale de l'activité des extraits est atteinte par l'extrait K1 cueilli au stade intermédiaire de croissance des feuilles, cet extrait présente aussi la valeur moyenne d'AEAC la plus considérable (95,01±22,61 µg/mL). Tandis que, les feuilles précoces de l'extrait K2 récolté au mois de mai présentent la capacité la plus faible, de même, pour tous les échantillons la valeur moyenne d'AEAC la plus faible a été enregistrée pour ce dernier (71,96±9,18 µg/mL). Nous remarquons globalement que les valeurs moyennes d'AEAC (par échantillon) sont pratiquement constantes pour les échantillons L1, L2 et D2. D1 présente une valeur légèrement plus élevée, dont elle est toujours inférieure à la valeur maximale atteinte par l'échantillon K1.

La comparaison du pouvoir antioxydant de l'échantillon le plus puissant (K1) avec les deux antioxydants de références BHA et la vitamine E, montre que ce dernier semble être environ 2 fois plus puissant que la vitamine E qui est connu par son importante activité antioxydante, et presque 3 fois moins puissant que la BHA. Cet effet est probablement attribué à leur richesse en composés phénoliques. Comme les valeurs d'AEAC de tous les extraits sont inférieures à 1mg/mL, on peut conclure que nos extraits phénoliques sont moins actifs que l'acide ascorbique.

Tableau III. 16 : Valeurs de l'AEAC (Ascorbic acid Equivalent Antioxidant Capacity) des extraits phénoliques des feuilles de *P.A* le long de la saison de croissances des feuilles en utilisant le test FRAP.

AEAC($\mu\text{g/mL}$)							
Mois de récolte	L1	L2	D1	D2	K1	K2	Moyenne \pm sd
Mai	81,49	91,60	95,79	72,16	79,77	54,78	79,26\pm10,53
Aout	100,18	99,40	82,96	79,18	140,22	71,59	95,59\pm17,68
Septembre	83,26	74,83	78,40	78,83	65,35	90,32	78,50\pm5,64
Novembre	73,87	73,01	89,09	103,21	94,70	71,17	84,18\pm11,49
Moyenne \pm sd	84,70\pm7,74	84,71\pm10,79	86,56\pm5,88	83,34\pm9,93	95,01\pm22,61	71,96\pm9,18	-
Antioxydant de référence							
	BHA				Vit. E		
AEAC($\mu\text{g/mL}$) \pm sd	401 \pm 2,01				91,03 \pm 4		

La variation saisonnière du pouvoir réducteur (AEAC) des fractions phénoliques des feuilles de *Pistacia atlantica* présentée dans la figure III.39 montre qu'au début de développement des feuilles (mois de mai), l'échantillon D1 présente le pouvoir le plus élevé. L'extrait phénolique de l'échantillon K1 est le plus actif à la phase intermédiaire (au mois d'aout). Au mois de septembre les différents extraits présentent des valeurs d'AEAC proches les unes aux autres, dont K2 qui a enregistré la plus grande valeur. Enfin, l'extrait D2 révèle la plus importante capacité antioxydante à la fin de développement foliaire (mois de novembre). L'échantillon K2 présente pour les mois de : mai, aout et novembre, la valeur d'AEAC la plus faible. Pour le mois de septembre la capacité la plus faible est enregistrée par l'extrait K1.

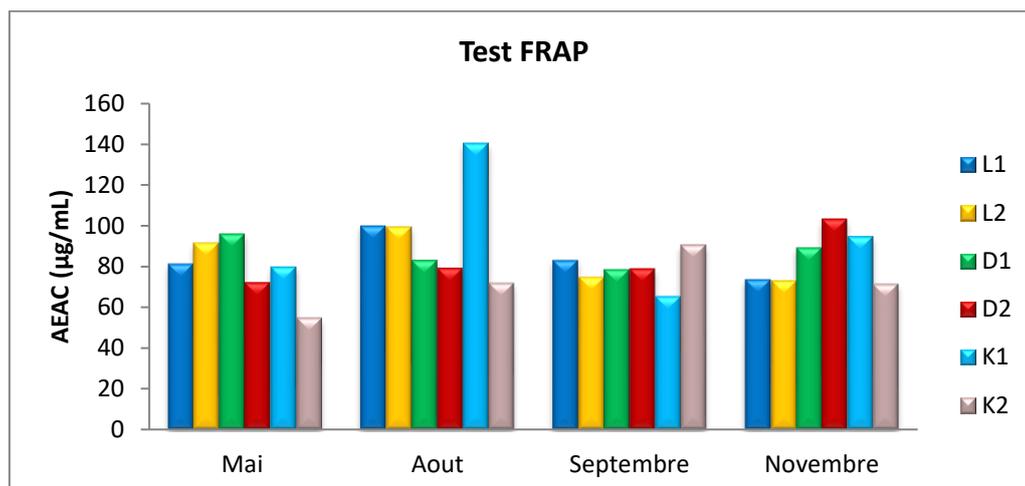


Figure III.39 : Valeurs saisonnières de l'AEAC des extraits phénoliques des feuilles de *Pistacia atlantica* à différents stade de développement foliaire en utilisant le test FRAP.

La valeur moyenne maximale de l'activité est atteinte à la phase intermédiaire de la croissance des feuilles (au mois d'aout). On peut observer que les valeurs moyennes sont pratiquement constantes aux mois de mai et septembre, au mois de novembre la moyenne d'AEAC est légèrement plus élevée que ces deux derniers, mais toujours inférieurs à la valeur maximale atteinte au mois d'aout (Tableau III. 16). La variation saisonnière des valeurs moyennes de d'AEAC indique que le pouvoir antioxydant augmente des feuilles précoces à la phase intermédiaire de croissance des feuilles où on aperçoit sa valeur meilleure, puis il décroît vers la fin de la saison.

Selon les trois sites de cueillettes, les résultats du test Frap indiquent que les trois sites : Laghouat, Kheneg et Daya, possèdent pratiquement les mêmes valeurs moyennes d'AEAC, respectivement : $84,7 \pm 0,043$, $84,95 \pm 1.6$ et $83,49 \pm 11.52$ $\mu\text{g/ml}$.

L'examen des résultats obtenus selon les différents mois de la saison, indique de fortes corrélations entre les valeurs moyennes d'AEAC et les teneurs moyennes en phénols totaux (PT), flavonoïdes totaux (FT) et tanins condensés (TC). Ainsi, toutes ces grandeurs varient dans le même sens. Nous remarquons pour la saison d'étude une forte association entre l'activité antioxydante et la teneur moyenne en FT avec un coefficient de corrélation positive 0,87. Les teneurs moyennes en PT et TC sont toutes les deux bien corrélés à l'activité antioxydante à la même valeur de coefficient de corrélation 0,77. Ainsi, l'activité antioxydante des extraits phénoliques dépend principalement de ces composés antioxydants et de leurs concentrations.

Malgré que les deux tests employés *in vitro* DPPH et Frap sont des tests complémentaires d'activité antioxydante, les résultats obtenus pour ces deux tests montrent clairement que l'activité antioxydante ne varie pas dans le même sens pour ces deux tests, certains extraits sont plus actifs avec le test DPPH et moins avec le test FRAP et le contraire avec autres extraits. Ce qui peut être justifié pour le test DPPH à un transfert de protons renforcé par rapport au transfert d'électrons contrairement au test FRAP qui est due principalement au transfert d'électrons seulement. Donc, il nous a paru compliquer de comparer entre les activités obtenues par les deux méthodes et par conséquent aucune corrélation claire n'a été obtenue, ce qui peut être due principalement aux antioxydants qui réagissent différemment avec les substrats ainsi que sur le plan de leurs principes d'analyse et les conditions expérimentales adoptées (solvants, substrat, milieu réactionnel, pH).

6.3. Pouvoir antioxydant par le test ABTS

Les résultats de l'activité antiradicalaire déterminée à l'aide du test de l'ABTS sont résumés dans le tableau III.17. Le paramètre « EC₅₀ » en µg/mL (concentration en antioxydant nécessaire pour réduire 50 % la concentration initiale en ABTS·+) a été calculé pour chaque extrait. Pour l'ensemble des extraits, les valeurs d'EC₅₀ déterminées varient entre 4,9 et 11,82 µg/mL tout le long de développement des feuilles. Les valeurs d'EC₅₀ déterminées pour les différents extraits sont beaucoup plus faibles en comparaison avec celles obtenues lors du test au DPPH. L'extrait qui possède le meilleur pouvoir piégeur vis-à-vis du radicale libre ABTS est K1, cueilli au mois de septembre, d'autre part, l'extrait D1 récolté à la fin de la croissance des feuilles, présente la capacité la plus faible. De manière globale, nous remarquons que les valeurs moyennes d'EC₅₀ pour les extraits L1, L2, K1, K2, D2 sont pratiquement constantes. D1 présente une valeur légèrement plus élevée. Les valeurs d'EC₅₀ des extraits phénoliques ont été comparés avec l'antioxydant de référence à savoir, la vitamine C, il en ressort que tous les extraits testés sont 49 à 110 fois moins actifs que ce dernier.

La variation saisonnière de la valeur EC₅₀ de l'activité antioxydante des extraits phénoliques des feuilles de *Pistacia atlantica* en relative au test de l'ABTS est présenté dans la figure III. 40. En effet, nous remarquons que les différents extraits présentent des écarts très restreint entre la valeur inférieur et supérieur pour les mois de mai, aout et septembre, il n'existe pas un saut brusque de la valeur de EC₅₀. A titre d'exemple au mois de mai l'écart entre la valeur

maximale et minimale d'EC₅₀ est d'environ 2 µg/mL. Donc, les valeurs d'EC₅₀ pour tous les extraits restent assez proches pour ces mois. D'autre part, il semble qu'au mois de novembre l'écart entre les bornes inférieurs et supérieurs d'EC₅₀ et plus important et il vaut 6 µg/mL.

Tableau III. 17 Valeurs d'EC₅₀ des extraits phénoliques des feuilles de *Pistacia atlantica* le long de la saison d'étude en utilisant le test ABTS.

EC ₅₀ (µg/mL)							
Mois de récolte	L1	L2	D1	D2	K1	K2	Moyenne ± sd
Mai	6,10	6,14	6,45	6,01	6,40	8,02	6,52±0,50
Aout	6,83	5,67	6,54	6,28	6,27	5,86	6,24±0,32
Septembre	6,37	5,77	5,60	6,22	4,90	6,23	5,85±0,43
Novembre	5,43	5,56	11,82	8,12	6,52	5,02	7,08±1,93
Moyenne±sd	6,18±0,42	5,79±0,18	7,60±2,1	6,66±0,73	6,02±0,56	6,28±0,87	-
Antioxydant de réf.	EC ₅₀ (µg/mL) ± sd						
Vit. C	0,10± 0,04						

En examinant la valeur moyenne d'EC₅₀ pour chaque mois de cueillette (tableau III.17), il apparait une homogénéité claire qui a été observée entre les valeurs moyennes d'EC₅₀, le pouvoir antiradicalaire croit très doucement du début de développement des feuilles vers la phase moyenne de croissance, il atteint sa valeur la plus importante au mois de septembre, après, il décroît vers la fin de la saison. Malgré cette interprétation, on peut dire que les valeurs moyennes d'EC₅₀ n'ont pas changé de manière significative le long de la saison d'étude. Donc, la capacité antiradicalaire est stable pour toute la saison de développement foliaire.

La variation des valeurs moyennes d'EC₅₀ selon les sites de cueillette montre que l'écart entre ces trois sites est très limité. Le site de Laghouat présente une valeur d'EC₅₀ légèrement inférieure que les deux autres est vaut 5,98±0,24 µg/ml, suivi par le site de Kheneg avec EC₅₀ égale à 6,15±0,52 µg/ml et en fin une valeur de 7,13 ±1,41 µg/ml qui a été enregistrée pour le site de Daya. Il est à noter qu'il n'y a pas une grosse différence en générale, et Donc, les valeurs moyennes d'EC₅₀ sont assez proches pour tous les sites de cueillette.

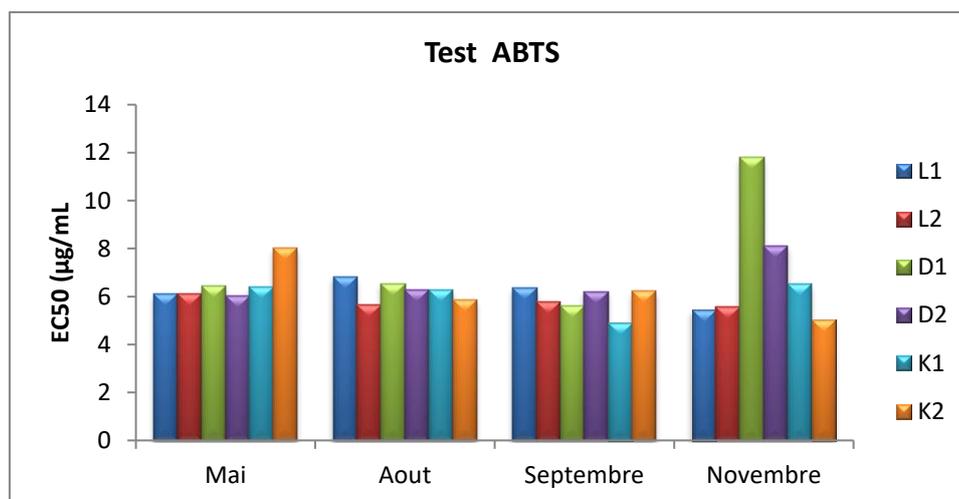


Figure III.40 : Valeurs saisonnières d'EC₅₀ des extraits phénoliques des feuilles de *Pistacia atlantica* au cours de croissance en utilisant le test ABTS.

Nous avons essayé d'étudier les différentes corrélations possibles entre les valeurs moyennes d'EC₅₀ et les teneurs moyennes en PT, FT et TC au cours des différents mois de la saison. Notant ainsi, un coefficient de corrélation négative -0,55 dans le cas des PT et TC, et -0,45 dans le cas des FT. De ce fait, l'EC₅₀ est d'autant moins élevé que les teneurs en PT et TC augmentent. D'autre part, nous constatons une corrélation positive modérée (R=0.5) entre les deux tests DPPH et ABTS. Cela indique vraisemblablement que dans un extrait phénolique les molécules bioactives assurent le pouvoir piègeur des radicaux libres (DPPH et ABTS),

6.4. Capacité antioxydante par réduction de cuivre (CUPRAC)

Le test de la Capacité de Réduction du Cuivre Antioxydant (CUPRAC) est une méthode de mesure du potentiel antioxydant utilisé pour une grande variété de polyphénols, incluant les acides phénoliques, hydroxyl cinnamiques, flavonoïdes, caroténoïdes, anthocyanes, ainsi que les thiols et antioxydants synthétiques, les vitamines C et E (Özyürek et al., 2011).

Les résultats de ce test sont résumés dans le tableau III.18. La capacité CUPRAC de nos extraits a été déterminée par la réduction directe de Cu²⁺ en Cu⁺ (Badarinath et al., 2010). Les valeurs obtenues au cours des différents stades de développement des feuilles de *P. atlantica* varient entre 150,75 et 215,89 µg/mL. La meilleure capacité a été enregistrée en août pour l'extrait

K2 qui se reflète par la valeur EC₅₀ la plus inférieure. L'extrait D2 récolté au à la fin de développement des feuilles présente la capacité la plus faible. En comparant la valeur moyenne d'EC₅₀ pour chaque extrait, nous constatons que l'extrait L2 montre la meilleure activité, suivi par les extraits suivants : D2, K1, D1, K2, L1, en ordre décroissant de capacité CUPRAC. En comparant les valeurs d'EC₅₀ des différents extraits avec l'antioxydant de référence, on remarque que l'ensemble des extraits phénoliques ont un pouvoir antioxydant supérieur à la vitamine C, estimé à 3 à 5 fois meilleur que ce dernier. Ainsi nous pouvons dire que nos extraits sont dotés de capacité antioxydante par réduction de cuivre très intéressante.

Tableau III. 18 Valeurs d'EC₅₀ des extraits phénoliques des feuilles de *Pistacia atlantica* le long de la saison d'étude en utilisant le test CUPRAC.

EC ₅₀ (µg/mL)							
Mois de récolte	L1	L2	D1	D2	K1	K2	Moyenne ± sd
Mai	197,24	164,11	193,68	157,95	184,73	213,07	185,60±16,67
Aout	188,79	180,53	171,02	159,87	188,94	150,75	173,32±12,77
Septembre	206,06	168,55	166,41	168,32	159,47	199,09	177,98±16,39
Novembre	188,05	176,47	204,17	215,89	188,55	172,55	190,48±12,10
Moyenne±sd	195,04 ±6,6	172,41 ±6	183,82 ±15,1	174,81 ±19,1	180,42 ±10,4	184,57± 22,9	-
Antioxydant de réf.	EC₅₀ (µg/mL) ± sd						
Vit. C	770± 0,03						

Nous présentons dans la figure III. 41 la variation saisonnière de la valeur EC₅₀ de la capacité antioxydante par réduction de cuivre CUPRAC des extraits phénoliques des feuilles de *Pistacia atlantica* au cours de croissance. D'après cette représentation, on remarque qu'au premier stade de croissance des feuilles l'extrait D2 qui a révélé le pouvoir le plus élevé, tandis que l'extrait K2 qui a exhibé la plus faible capacité. Au stade intermédiaire du développement foliaire (août et septembre), les extraits K2 et K1 sont les plus actifs, respectivement. Alors que les moins actifs sont K1 et L1, respectivement. A la fin de la croissance des feuilles (au mois de novembre) l'extrait K2 révèle le pouvoir antioxydant le plus élevé, et l'activité minimale est enregistrée par l'extrait D2.

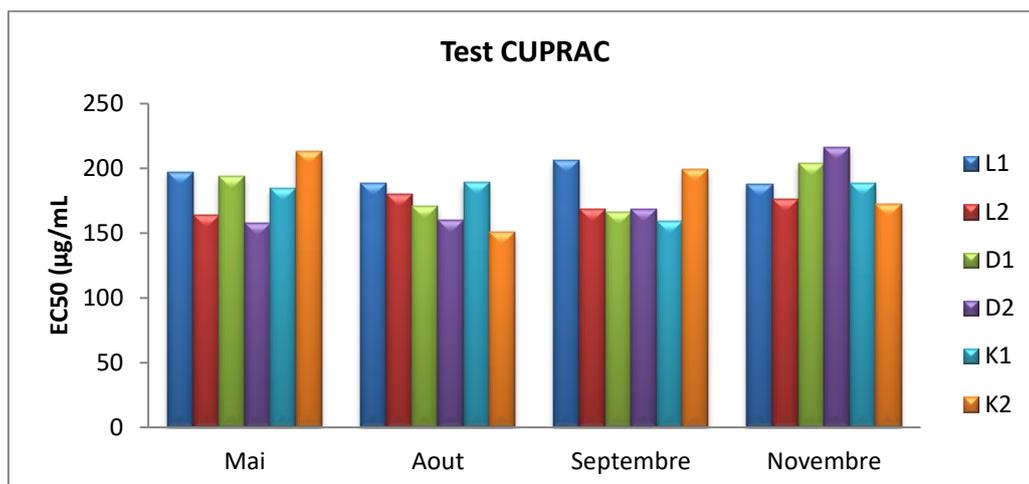


Figure III.41 : Valeurs saisonnières d'EC₅₀ des extraits phénoliques des feuilles de *Pistacia atlantica* en utilisant le test CUPRAC.

En examinant les valeurs moyennes d'EC₅₀ au fur et à mesure que la croissance des feuilles progresse, il semble que la capacité antioxydante par réduction de cuivre croît du stade précoce (mois de mai) jusqu'au stade intermédiaire du développement foliaire (aout et septembre) où elle est meilleure, puis elle diminue vers la fin de croissance au mois de novembre.

L'activité globale moyenne de tous les sites de cueillette est pratiquement assez stable, et c'est ce qui a été dérivé des valeurs moyennes d'EC₅₀ pour chaque site. Le site de Daya présente une valeur d'EC₅₀ légèrement inférieure que les deux autres est vaut 179,31±14,6 µg/ml, suivi par le site de Kheneg avec EC₅₀ égale à 182,5±0,58,92 µg/ml en fin une valeur de 183,72 ±2,2 µg/ml qui a été enregistrée pour le site de Laghouat.

Afin de déceler une éventuelle relation entre les valeurs moyennes d'EC₅₀ obtenues par le test CUPRAC et les teneurs moyennes en PT, FV et TC selon les mois de la saison d'étude, nous avons essayé d'établir les différentes corrélations possibles. Les teneurs moyennes en PT et TC sont bien corrélées avec les moyennes d'EC₅₀ à un coefficient de corrélation négative -0,92. De même, une bonne association établie avec les teneurs en FT (coefficient de corrélation négative -0,86). Par conséquent, les activités antioxydantes sont cohérentes avec l'évolution des teneurs en composés phénoliques étudiés. Ces résultats nous mènent à dire que plus l'extrait phénolique est riche en ces composés plus EC₅₀ diminue et donc, l'extrait est antioxydant. D'autre part, nous avons essayé d'établir une relation reliant les valeurs EC₅₀ des deux tests DPPH et CUPRAC. Nous notons une corrélation significative (R=0.53) entre ces deux tests. Ce résultat suggère que 53% des agents antiradicaux de ces extraits phénoliques sont également de bons agents réducteurs.

Références bibliographiques

- Abu-Reidah, I.M., (2015), HPLC–DAD–ESI-MS/MS screening of bioactive components from *Rhus coriaria* L.(Sumac) fruits. Food chemistry, **166**: p. 179-191.
- Anwar F, Shaheen N, Shabir G, Ashraf M, Alkharfy KM, Gilani AH. (2013). Variation in antioxidant activity and phenolic and flavonoid contents in the flowers and leaves of Ghaneri (*Lantana camara* L.) as affected by different extraction solvents. Int J Pharmacol. 9:442–453.
- Asghar-Hatamnia, A. Abbaspour, N., Darvichzadeh, R. (2014). Antioxidant activity and phenolic profile of different parts of bene (*Pistacia atlantica* subsp. *kurdica*) fruits. Food chem. 145 : 306-311.
- Badarinath, A.V.; Mallikarjuna, K.; MadhuSudhana, C.C.; Ramkanth, S.; Rajan, T.V.S.; Gnanaprakash, K.A. (2010). Review on in vitro antioxidant methods: comparisons, correlations and considerations. Int. J. Pharm. Tech. Res. 2, 1276-1285.
- Barros, L., et al., (2011). Phenolic compounds profile in wild edible greens from Portugal obtained by HPLC-DAESI/MS. Food Chem., **127**: p. 169-173.
- Benahmed Z, Yousfi M, Viaene J, Dejaegher B, Demeyer K, Mangelings D, Vander Heyden Y. (2017). Seasonal, gender and regional variations in total phenolic, flavonoid, and condensed tannins contents and in antioxidant properties from *Pistacia atlantica* ssp. leaves. Pharmaceutical Biology 55:1185-1194.
- Benahmed Z., et al., (2016). Antioxidant activities of *Pistacia atlantica* extracts modeled as a function of chromatographic fingerprints in order to identify antioxidant markers. Microchemical journal, **128**: p. 208-217.
- Benahmed Z., et al., (2018). Potentially antidiabetic and antihypertensive compounds identified from *Pistacia atlantica* leaf extracts by LC fingerprinting. Journal of pharmaceutical and biomedical analysis, **149**: p. 547-556.
- Benamar H, Marouf A & Bennaceur M (2018) Phytochemical composition, antioxidant and acetylcholinesterase inhibitory activities of aqueous extract and fractions of *Pistacia atlantica* subsp. *atlantica* from Algeria, Journal of Herbs, Spices & Medicinal Plants, 24:3, 229-244
- Benhammou N, Atik Bekkara F, Kadifkova P. (2007). Antiradical capacity of the phenolic compounds of *Pistacia lentiscus* L. and *Pistacia atlantica* Desf. Advances in Food Sciences,; 29(3): 155-161.

- Chew KK, Khoo MZ, Ng SY, Thoo YY, Wan Aida WM, Ho CW. (2011). Effect of ethanol concentration, extraction time and extraction temperature on the recovery of phenolic compounds and antioxidant capacity of *Orthosiphon stamineus* extracts. *Int Food Res J.* 18:571–578.
- Clifford, M.N., S. Stoupi, and N. Kuhnert, (2007). Profiling and characterization by LC-MS n of the galloylquinic acids of green tea, tara tannin, and tannic acid. *Journal of agricultural and food chemistry*, **55**(8): p. 2797-2807.
- El Bishbishy, M.H., H.A. Gad, and N.M. Aborehab. (2020). Chemometric discrimination of three *Pistacia* species via their metabolic profiling and their possible in vitro effects on memory functions. *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis*, **177**: p. 112840.
- Erşan, S., et al., (2016). Identification of phenolic compounds in red and green pistachio (*Pistacia vera* L.) hulls (exo- and mesocarp) by HPLC-DAD-ESI-(HR)-MS n. *Journal of agricultural and food chemistry*, **64**(26): p. 5334-5344.
- Grace, M.H., et al., (2016). Chemical composition, antioxidant and anti-inflammatory properties of pistachio hull extracts. *Food chemistry*, **210**: p. 85-95.
- Guenane H, Bentireche F, Bellakhdar A, Ould Elhadj MD, Yousfi M. (2017). Total tocopherol content and antioxidant activity of fruit oil from *Pistacia atlantica* Desf. growing wild in Algeria. *Der Pharma Chemica* 9:153-157.
- Han, J., et al., (2008). Characterization of phenolic compounds in the Chinese herbal drug *Artemisia annua* by liquid chromatography coupled to electrospray ionization mass spectrometry. *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis*, **47**(3): p. 516-525.
- Khallouki, F., et al., (2017). Characterization and quantitation of the polyphenolic compounds detected in methanol extracts of *Pistacia atlantica* Desf. fruits from the Guelmim region of Morocco. *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis*, **134**: p. 310-318.
- Löffler, C., et al., (1995). Soluble phenolic constituents from *Cuscuta reflexa* and *Cuscuta platyloba*. *Biochemical systematics and ecology*, **23**(2): p. 121-128.
- Maamri, S. (2008). Etude de *Pistacia atlantica* de deux régions de sud algérien : dosage des lipides, dosage des polyphénols, essais antileishmaniens. Mémoire de magister. Université M'HAMED BOUGARA Boumerdes. 108p
- March, R.E., X.S. Miao, and C.D. Metcalfe, A. (2004). Fragmentation study of a flavone triglycoside, kaempferol-3-O-robinoside-7-O-rhamnoside. *Rapid communications in mass spectrometry*, **18**(9): p. 931-934.

- Mosharrafa SAM, Kawashti SA, Saleh NAM. (1999). Flavonoids of *Pistaciaatlantica* (Desf.). Bull Na Res Centre Egypt. 24:109–114.
- Özyürek, M., Güçlü, K., Tütem, E., Başkan, K. S., Erçağ, E., Celik, S. E., Baki, S., Yıldız, L., Karaman, Ş., and Apak, R. (2011). A comprehensive review of CUPRAC methodology. Analytical methods 3, 2439-2453.
- Santos, S.A., et al., (2013). Ultra-high performance liquid chromatography coupled to mass spectrometry applied to the identification of valuable phenolic compounds from Eucalyptus wood. Journal of Chromatography B., **938**: p. 65-74.
- Schütz, K., et al., (2005). Characterization of phenolic acids and flavonoids in dandelion (*Taraxacum officinale* WEB. ex WIGG.) root and herb by high-performance liquid chromatography/electrospray ionization mass spectrometry. Rapid Communications in Mass Spectrometry: An International Journal Devoted to the Rapid Dissemination of Up-to-the-Minute Research in Mass Spectrometry., **19**(2): p. 179-186.
- Wyrepkowski, C.C., et al., (2014). Characterization and quantification of the compounds of the ethanolic extract from *Caesalpinia ferrea* stem bark and evaluation of their mutagenic activity. Molecules., **19**(10): p. 16039-16057.
- Xu Y, Sismour EN, Parry J, Hanna MA, Li H. (2012). Nutritional composition and antioxidant activity in hazelnut shells from US-grown cultivars. Int J Food Sci Technol. 47:940–946.
- Zitouni A. Belyagoubi-Benhammou N, Ghembaza N, Toul F, Atik-Bekkara F. (2016). Assessment of Phytochemical Composition and Antioxidant Properties of Extracts from the Leaf, Stem, Fruit and Root of *Pistacia lentiscus* L. International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research. 8(4); 627-633

Conclusion générale

En raison de ses propriétés bénéfiques pour la santé humaine, *Pistacia.atlantica* est considéré comme un aliment, car il est riche en nutriments et molécules bioactives. Le travail présenté dans cette thèse nous a permis d'approfondir la connaissance de l'effet de la période de récolte des feuilles sur les teneurs en lipides, en composés phénoliques ainsi que le pouvoir antioxydant des extraits lipidiques et phénoliques.

Dans la partie consacrée à l'étude des lipides des feuilles de *P. atlantica*, l'évolution de la composition des métabolites lipidiques a été étudiée pendant plusieurs mois de stades phénologiques du développement des feuilles. Par la suite, il était plus judicieux de s'intéresser à la variation de la composition (notamment en acide gras, en tocophérols totaux, en caroténoïdes, en stérols totaux) et de l'activité antioxydante. Il ressort des résultats obtenus dans cette partie, les conclusions suivantes :

- Les teneurs en lipides, en tocophérols, en caroténoïdes, en stérols et en acides gras saturés et insaturés et l'activité antioxydante semblent être directement influencées par le mois de la récolte des feuilles de *P.atlantica* et l'accumulation maximales des lipides a été enregistrée à la fin du stade phénologiques des feuilles.
- Les faibles teneurs en lipides ne leur permettent pas de les utiliser en nutrition, une utilisation cosmétique et pharmaceutique sera plus adéquate.
- Les extraits lipidiques issus des feuilles de *P. atlantica* étaient riches en différents et importants acides gras insaturés tels que : l'acide oléique (C18:1 = 8.75-43.41%), l'acide linoléique (C18:2 = 6.38-21.48%), l'acide α -linoléique (C18:3 = 5.07-35.49%) et l'acide palmitoléique (C16:1= 1.26-20.39%).
- La teneur en acides gras saturés (myristique et palmitique) augmentait pendant le développement des feuilles tandis que les acides gras polyinsaturés (acides linoléique et linoléique) diminuaient rapidement dès le premier mois pour atteindre un état d'équilibre (plateau).
- Les pourcentages les plus élevés de C18: 3 et C18: 2 ont été obtenus pour le mois de mai au premier stade du développement des feuilles (jeunes feuilles).
- Les pourcentages les plus élevés de C18: 1 ont été enregistrés pour les deux mois consécutifs d'août et de septembre au stade de développement intermédiaire.
- L'activité antioxydante la plus élevée en utilisant les deux tests DPPH et β -carotène a été enregistrée au stade de développement intermédiaire (aout).

- L'analyse des données à l'aide de la méthode CAH a montré la variation de la composition en acide gras (deux groupes différents) en fonction clairement de la période de récolte.

En ce qui concerne la partie consacrée à l'étude des composés phénoliques des feuilles de *P. atlantica*. Les teneurs en phénols totaux, en flavonoïdes et en tanins condensés et l'activité antioxydante des extraits phénoliques ont été déterminés durant des stades phénologiques de développement des feuilles. Par la suite, différentes familles de métabolites ont été identifiées par l'UHPLC-DAD-ESI-MSⁿ en mode négatif. Les conclusions tirées des résultats de ces expériences sont les suivantes :

- Le contenu en phénols totaux, en flavonoïdes, en tanins condensés et le pouvoir antioxydant dépendent de la date de récolte des feuilles.
- Les feuilles de *P. atlantica* sont une source importante en composés phénoliques, les teneurs maximales des trois classes phénoliques pendant la période d'étude ont été enregistrées en août.
- Les résultats des différents tests d'activité antioxydante (FRAP, ABTS et CUPRAC) ont montré que l'activité antioxydante la plus élevée a été observée en août, puis elle a diminué vers la fin de la période d'étude.
- Les résultats du test DPPH montrent que le pouvoir antiradicalaire décroît de manière significative du début de croissance des feuilles vers le stade intermédiaire, puis il croît vers septembre pour atteindre son maximum vers la fin de croissance.
- La composition chimique a permis la détection des composés phénoliques suivants : acide quinique, acide galloylquinique, acide gallique, acide digallique, acide trigallique, acides digalloylquiniques, acides trigalloylquiniques, gallate de méthyle.

La présente étude a mis en évidence l'effet clair du temps de récolte sur le contenu phytochimique ainsi que les activités antioxydantes des extraits lipidiques et phénoliques des feuilles de *P. atlantica*, dont la date de collecte des feuilles est un indicateur du stade de développement à prendre en considération.

Les résultats de cette étude illustrent le potentiel bénéfique des lipides et des phénols des feuilles qui peut offrir des opportunités d'exploitation rationnelle dans les industries alimentaires ou à des fins médicinales. Nos résultats peuvent également fournir une base pour déterminer le temps optimal de récolte des feuilles de *P. atlantica* pour d'éventuelles exploitations.

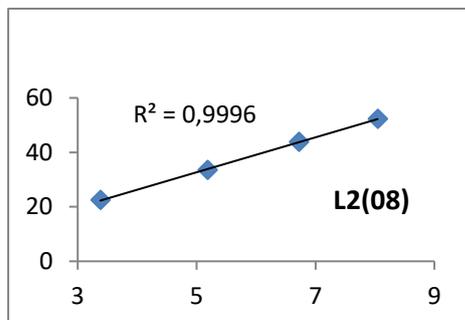
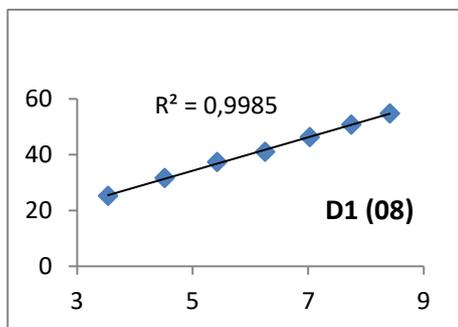
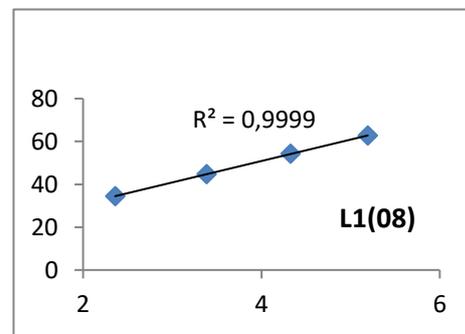
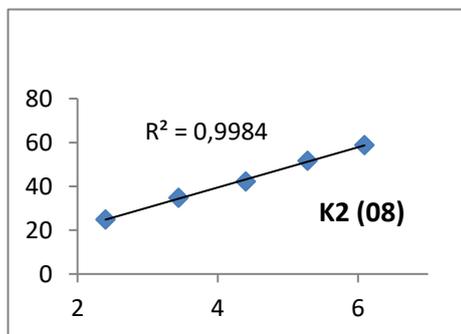
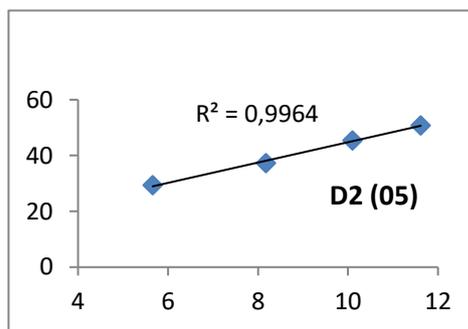
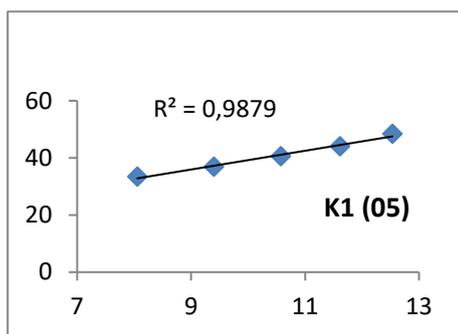
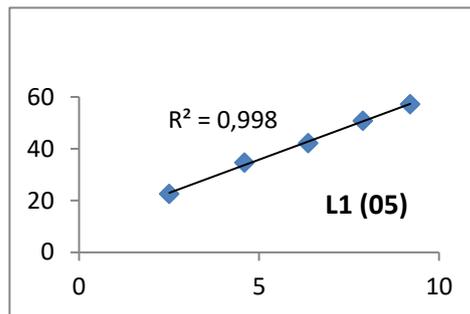
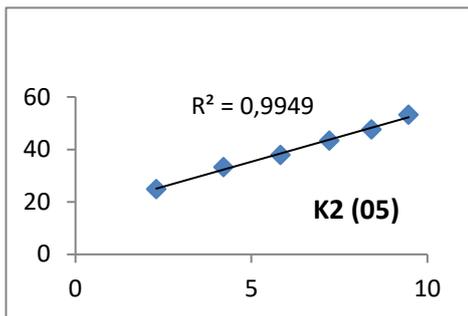
L'ensemble des résultats obtenus est très intéressant et a mis en valeur les propriétés bénéfiques des feuilles de *P. atlantica* durant la majorité des mois de développement des feuilles. Par conséquent, nous insisterons sur certains points qui nous paraissent importants à poursuivre :

- Une étude saisonnière plus approfondie sur un nombre d'échantillons plus large et une période plus longue s'avère nécessaire.
- Isolement et caractérisation des différents constituants des lipides et des extraits phénoliques afin de connaître la ou les molécules qui sont à l'origine d'activités biologiques.
- Évaluation et approfondissement des activités biologiques (antioxydante, antimicrobienne, anti-inflammatoire et antidiabétique, ...) des différents constituants des feuilles de *P. atlantica* par des tests *in vitro* et *in vivo*.

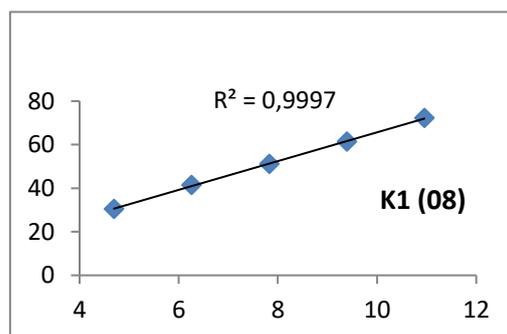
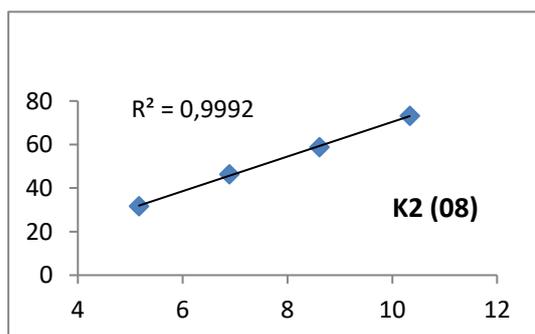
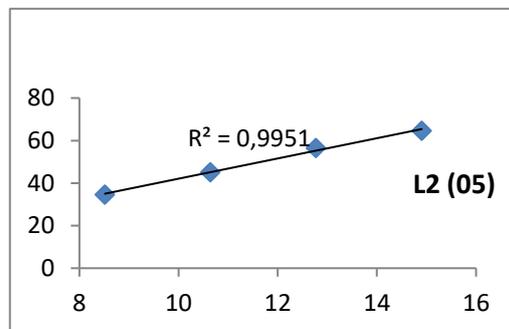
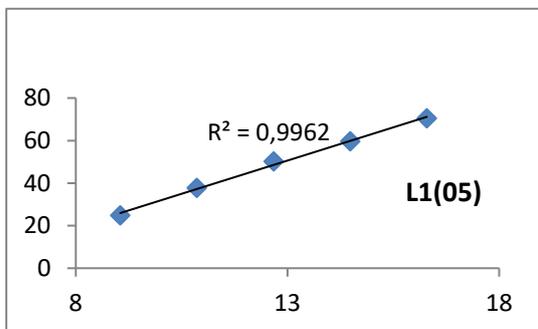
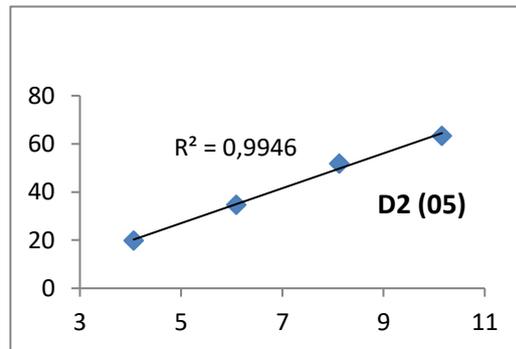
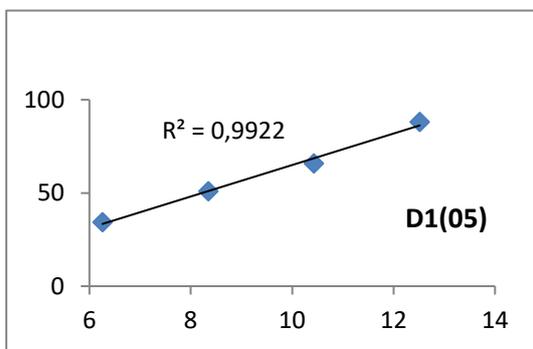
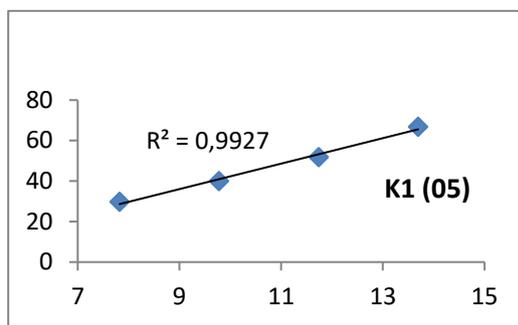
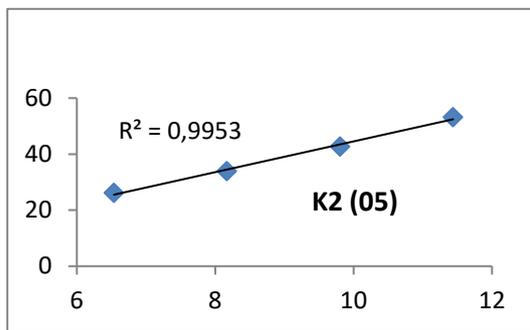
Cette thèse est une contribution à une meilleure connaissance de la composition des feuilles de *P. atlantica* en substances d'intérêt biologique (lipides et phénols), dans ce sens l'esprit reste fondamental on ne peut cependant nier les retombés économiques de nos résultats dans la mesure où les composés renfermés dans les feuilles se rencontrent rarement en telles quantités dans un arbre qui a peu d'intérêt et qui peut fournir des quantités énormes de feuilles. À notre considération au lieu de voir cette biomasse partir en fumée, il sera intéressant d'envisager une valorisation industrielle des produits nobles comme : l'acide linoléique, les tocophérols, les caroténoïdes et les composés phénoliques notamment les tanins que renferme ses feuilles.

Annexes

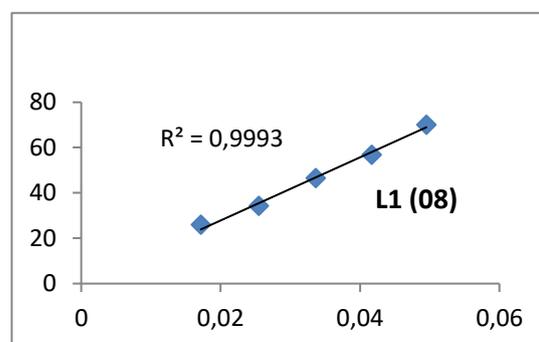
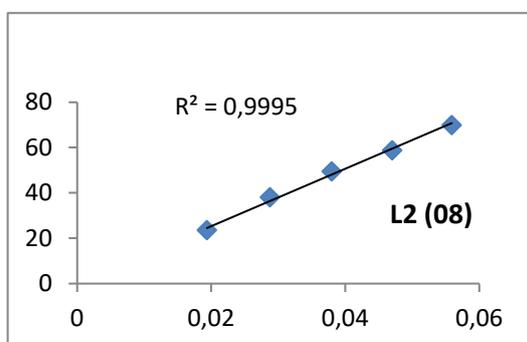
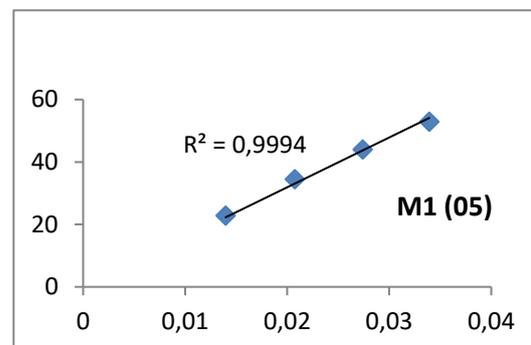
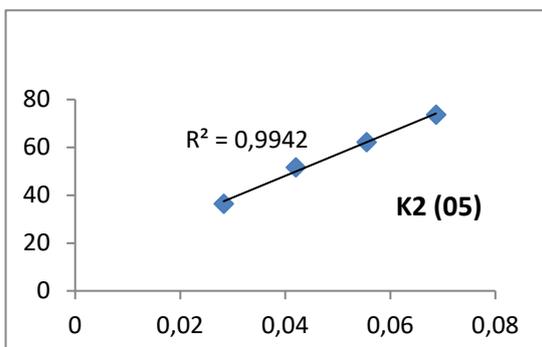
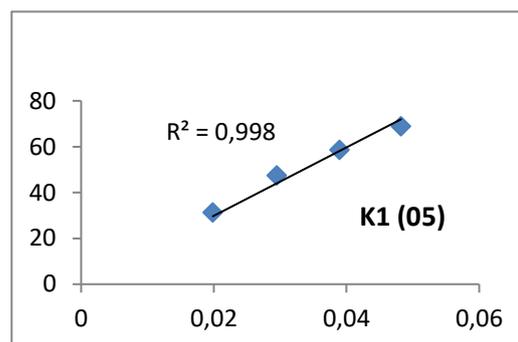
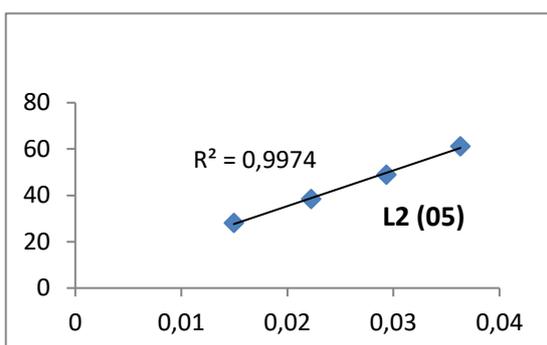
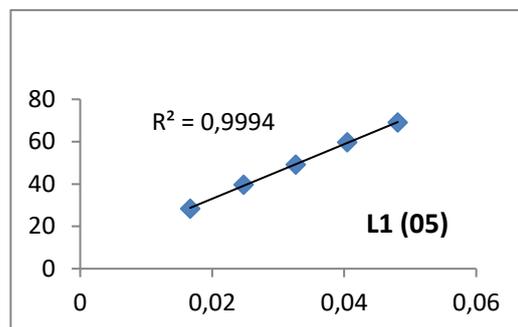
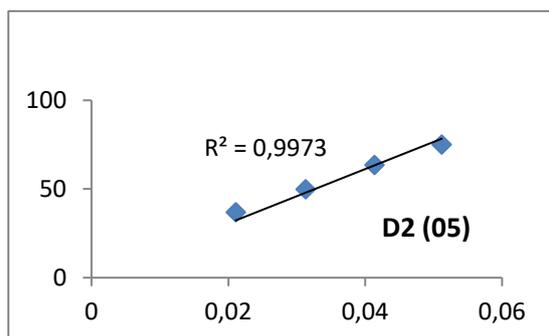
Les figures ci-dessous présentent le pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration des extraits lipidiques dans le test du DPPH



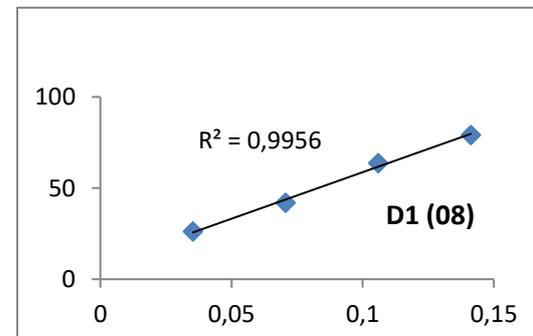
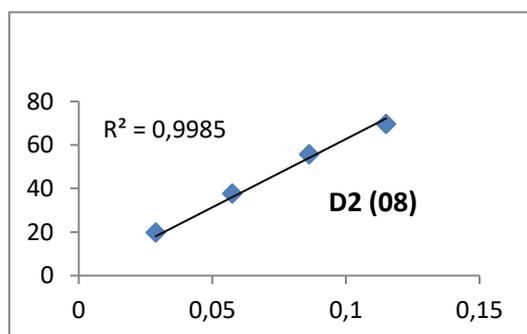
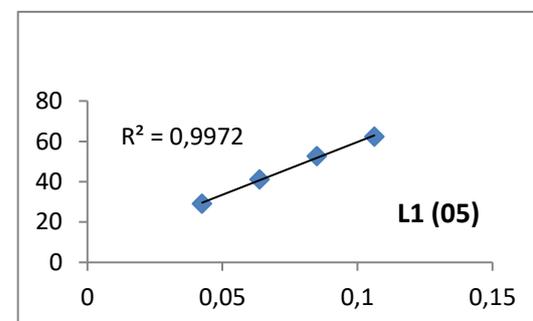
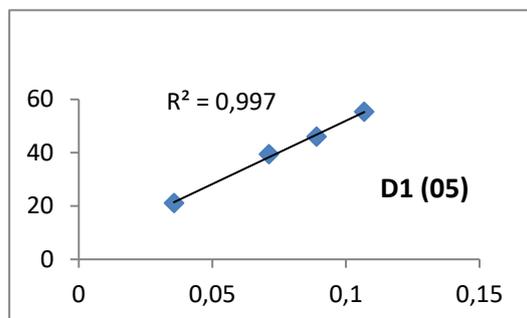
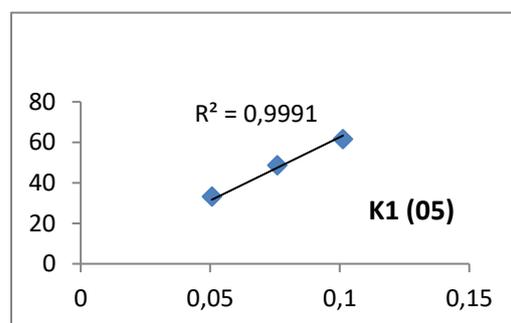
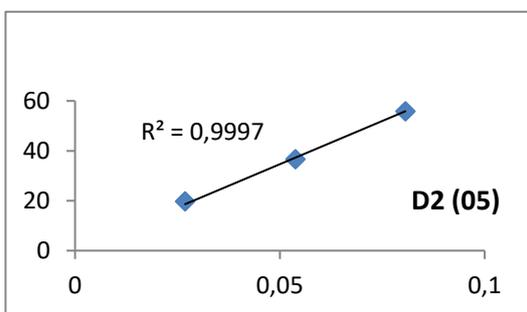
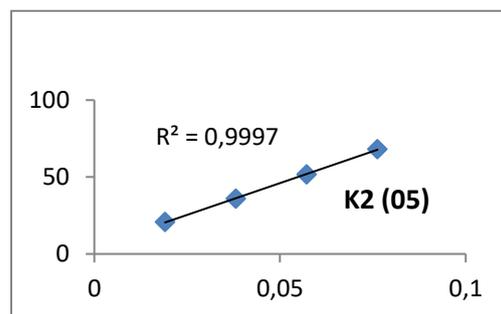
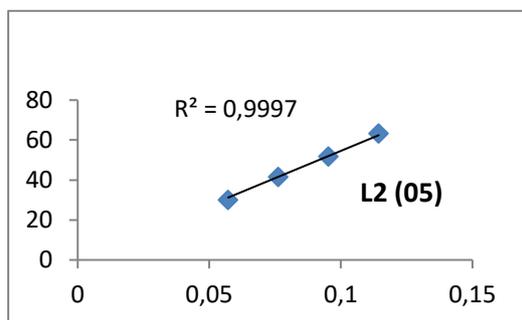
Les figures ci-dessous présentent le pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration des extraits lipidiques dans le test du β -carotène



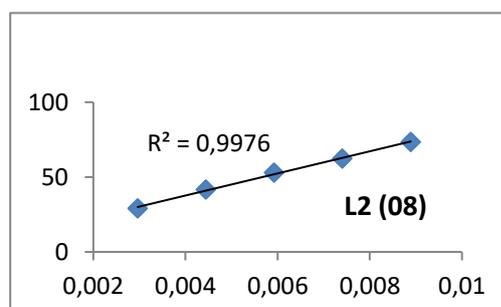
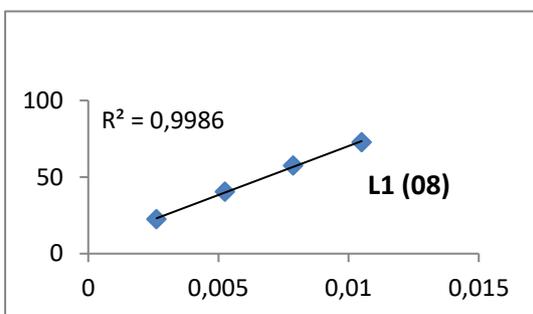
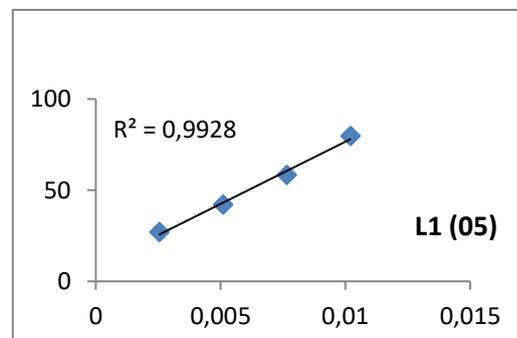
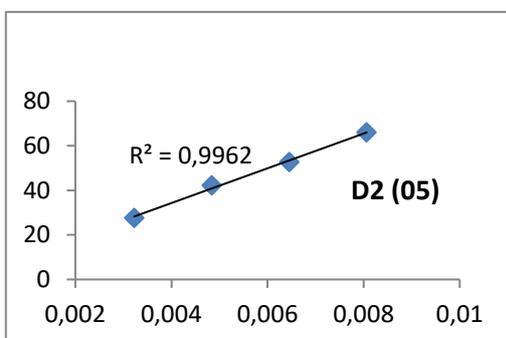
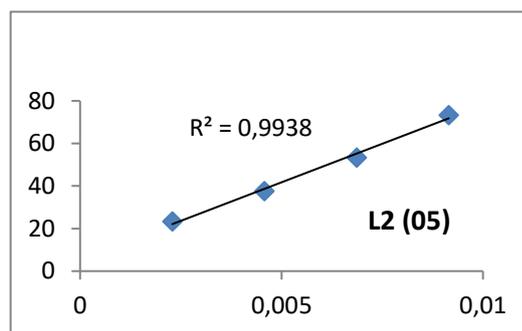
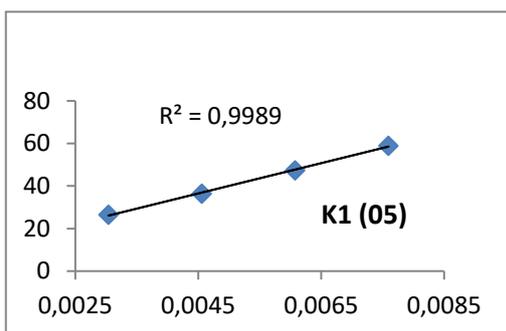
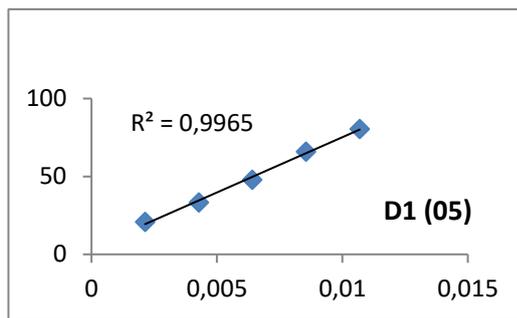
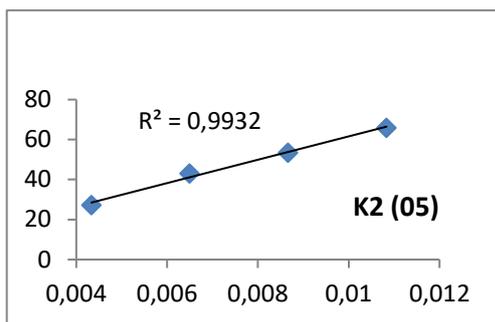
Les figures ci-dessous présentent le pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration des extraits phénoliques dans le test DPPH



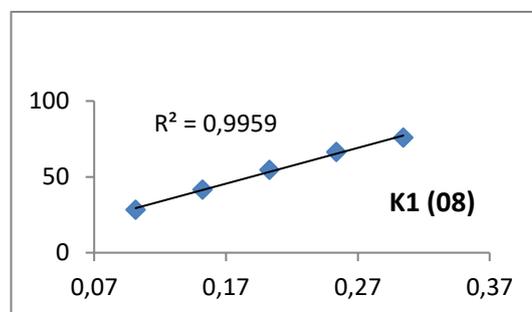
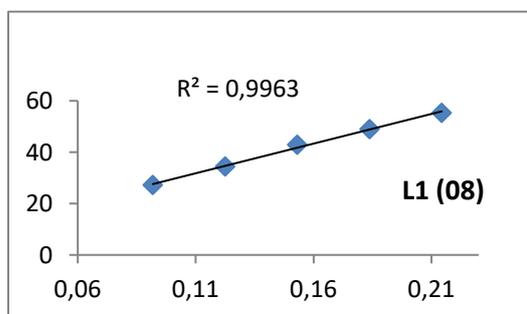
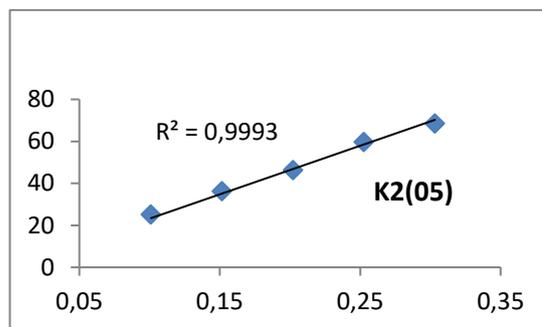
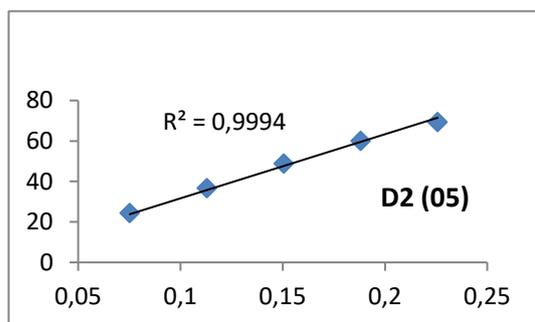
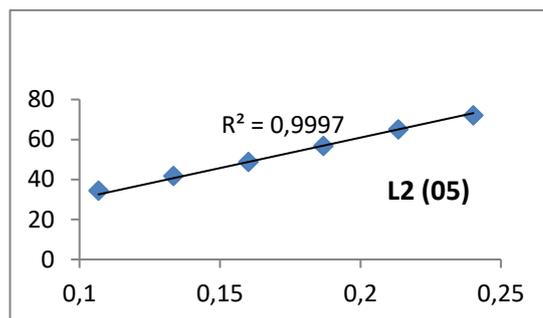
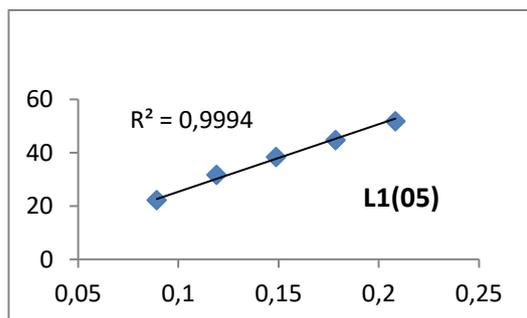
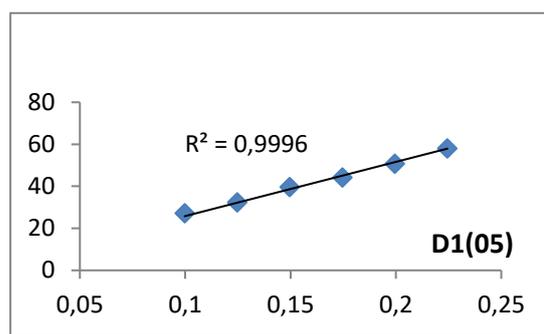
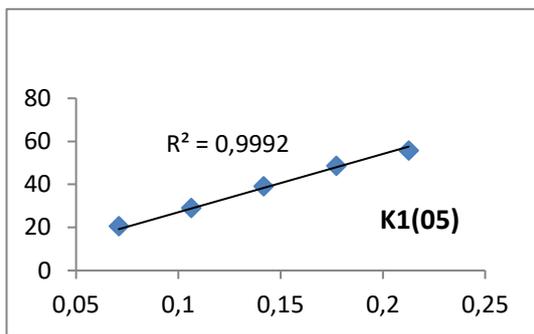
Les figures ci-dessous présentent le pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration des extraits phénoliques dans le test FRAP



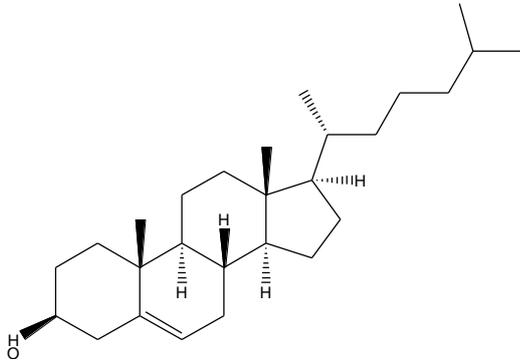
Les figures ci-dessous présentent le pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration des extraits phénoliques dans le test ABTS



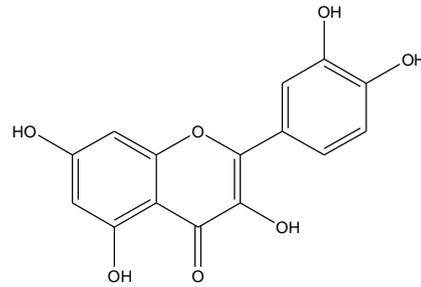
Les figures ci-dessous présentent le pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration des extraits phénoliques dans le test CUPRAC



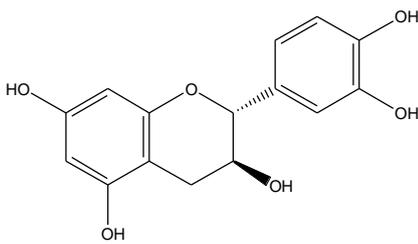
Structures des composés utilisés comme étalons :



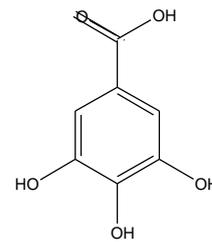
Cholestérol



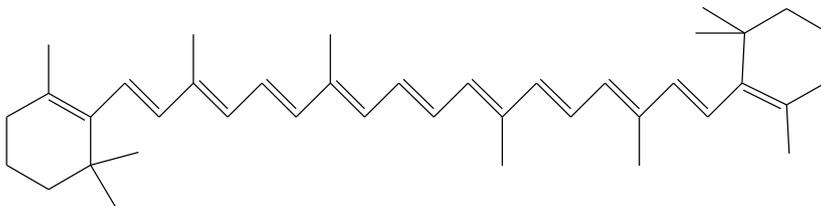
Quercetine



Catéchine

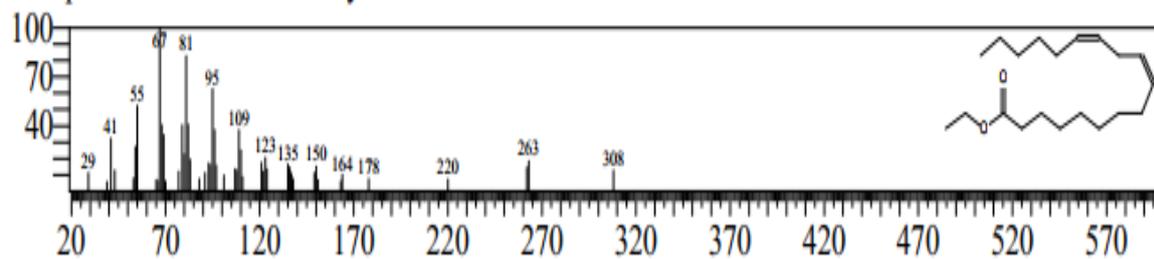


Acide gallique

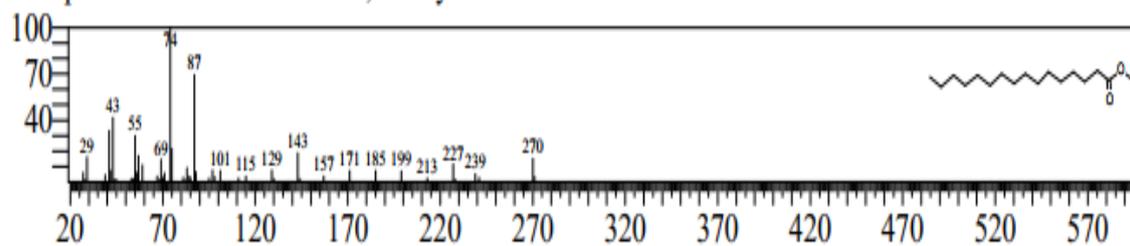


β-Carotène

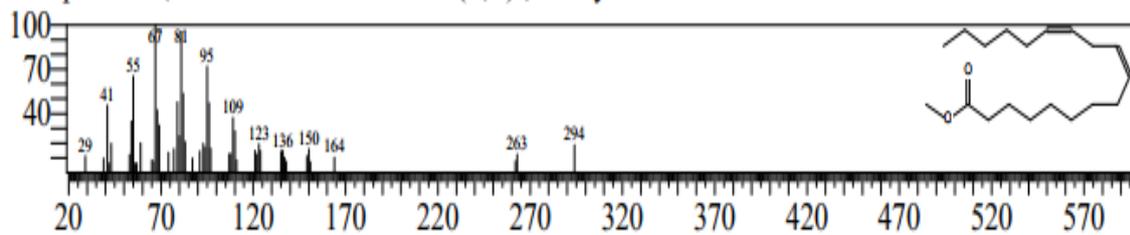
CompName:Linoleic acid ethyl ester



CompName:Hexadecanoic acid, methyl ester



CompName:9,12-Octadecadienoic acid (Z,Z)-, methyl ester



Chromatogram Lipide C:\Users\Hp\Desktop\Les prestation\LSF EMAG\Data\Lipide.qgd

