

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université Abou Bekr Belkaïd -Tlemcen
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Sciences de la Terre et de l'Univers



Département de Biologie



Laboratoire de recherche
« Antibiotiques, Antifongiques : Physico-chimie, Synthèse et Activité Biologique »

MÉMOIRE

Présenté par :

AMER-BERRAHOU Meryem

GUERNI Nesrine

En vue de l'obtention d'un diplôme de Master
Domaine : SNV
Filière : Sciences Biologiques
Spécialité : Biochimie appliquée

Thème :

**Screening phytochimique et évaluation de l'activité
antioxydante de quelques extraits de *Bertholletia excelsa***

Soutenu le 12/06/2024 devant le jury :

Mlle BENARIBA N.	Professeur	Présidente	Université de Tlemcen
Mr AZZI R.	Professeur	Examineur	Université de Tlemcen
Mme ADJDIR S.	MAB	Examinatrice	Université de Tlemcen
Mme BELKACEM N.	MCA	Promotrice	Université de Tlemcen

Année universitaire 2023/2024

REMERCIEMENTS

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

Nous adressons nos plus sincères remerciements à notre chère encadreur **M^{me} BELKACEM Nacéra**, Maître de conférences de classe A au Département de Biologie, Faculté SNV-STU, Université de Tlemcen qui nous a dirigé ce travail avec une grande rigueur scientifique, sa patience, ses conseils, sa grande disponibilité tout au long de la réalisation de ce mémoire, ainsi pour le temps qu’elle a bien voulu nous consacrer et sans elle ce mémoire n’aurait jamais vu le jour.

Nous voudrions remercier particulièrement **M^{elle} BENARIBA Nabila**, Professeur au Département de Biologie, Faculté SNV-STU, Université de Tlemcen et responsable de notre formation « Biochimie Appliquée » d’avoir accepté d’honorer le jury par sa présidence.

Nos vifs remerciements vont également à **Mr AZZI Rachid**, Professeur au Département de Biologie, Faculté SNV-STU, Université de Tlemcen pour l’intérêt qu’il a porté à notre recherche en acceptant d’examiner notre travail.

Nos sincères considérations et remerciements sont également exprimés à **M^{me} ADJDIR Sara**, Maître assistante de classe B au Département de Biologie, Faculté SNV-STU, Université de Tlemcen pour avoir accepté d’examiner notre travail.

Nous offrons nos plus sincères remerciements à tous les enseignants de notre formation, en particulier **Mr RAHMOUN Mohamed Nadjib** et **M^{me} BRIKCI NIGASSA Amal**. Merci énormément.

Enfin, nos remerciements s'adressent à toute l'équipe du Laboratoire «Antibiotiques Antifongiques: Physico-chimie, Synthèse et Activité Biologique», particulièrement les techniciennes; **M^{me} Fouzia** et **M^{me} Rachida** pour leur précieuse assistance et leur bonne humeur.

DÉDICACES

Toutes les lettres ne sauraient trouver les mots qu'il faut...

Tous les mots ne sauraient exprimer la gratitude, l'amour, le respect, la reconnaissance...

Aussi, c'est tout simplement que

Je dédie ce mémoire,

À ma chère mère,

À mon cher père,

Dont l'amour, le soutien et les sacrifices ont éclairé chacune de mes journées. Votre foi inébranlable en moi a été la force motrice derrière chaque défi que j'ai relevée.

À mes sœur,

Houda, Malek et yousra, ainsi qu'à ma petite princesse Manissa.

À mon beau frère Amine,

Pour les moments partagés, les conseils échangés, et cette complicité qui a toujours su alléger les moments les plus éprouvants.

À mes amies,

Meryem, Yasmin, Nadia, Imane, romaissa, Sara, Bouchra, Hanane. Je ne peux trouver les mots justes et sincères pour vous exprimer mon affection et mes pensées, vous êtes pour moi des sœurs et des amies sur qui je peux compter. En témoignage de l'amitié qui nous unit et des souvenirs de tous les moments que nous avons passés ensemble, je vous dédie ce travail et je vous souhaite une vie pleine de santé et de bonheur.

À tout ma famille,

Aucun langage ne saurait exprimer mon respect et ma considération pour votre soutien et encouragements. Je vous dédie ce travail en reconnaissance de l'amour que vous m'offrez quotidiennement et votre bonté exceptionnelle. Que Dieu le Tout Puissant vous garde et vous procure santé et bonheur.



DÉDICACES

À l'aide de dieu ''Allah'' tout puissant Qui m'a tracé le chemin de ma vie, J'ai pu réaliser ce travail qui je le dédie à:

L'homme de ma vie, mon soutien moral et source de joie et de bonheur, ce lui qui s'est toujours sacrifié pour ma voir réussir, que quand je pense à lui, tous les mots deviennent insuffisants pour décrire mon amour et ma gratitude, à toi mon cher père **Abdelmadjid**.

La lumière de mes yeux, l'ombre de mes pas, la source de mes efforts, la flamme de mon cœur, ma vie et mon bonheur, ma chère mère **Karima**.

Mes très belles chères sœurs: **Chaimaã** et **Amina**.

Tous les membres de ma famille **AMER-BERRAHOU** et **GUITON**.

Ma très chère binôme **Nesrine** qui a partagé avec moi les moments difficiles pour réaliser ce travail.

Mes chers amis: **Imane, Roumaïssa, Bouchra, Abdelmouhaimen, Oussama** et **Ihab**, je vous souhaite tout le bonheur et le succès.

Je remercie toutes les personnes que je n'ai pas pu citer leurs noms ici, et qui ont participé de près ou de loin, directement ou indirectement à la réalisation de ce travail.

Que dieu vous garde.



LISTE DES ABRÉVIATIONS

ADN: Acide désoxyribonucléique.

CAT : Catalase.

ERO : Espèces réactives de l'oxygène.

ERN : Espèces réactives de l'azote.

EQC/gE: Équivalent catéchine par gramme d'extrait.

EAG/gE: Équivalent acide gallique par gramme d'extrait.

DPPH• : 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl.

IC₅₀ : Concentration inhibitrice à 50 %.

EC₅₀: Concentration efficace médiane.

H₃[P(W₃O₁₀)₄]: Phosphotungstique.

H₃PMO₁₂O₄₀ : Acide phosphomolybdique.

H₂O₂: Peroxyde d'hydrogène.

GPX : Glutathion peroxydases.

HNO₂: Acide nitreux.

SOD: Superoxyde dismutase.

ROOH: Hydroperoxyde organique.

ROO: Peroxyle.

NO₂⁻: Nitrite.

ONOO⁻ : Peroxynitrite.

OH: Hydroxyle.

O₃ : Ozone.

O₂ : Dioxygène.

O^{•-}: Superoxyde.

NO₃: Nitrate.

NO₂: Dioxyde d'azote.

NO: Monoxyde d'azote.

NO⁻: Anion nitroxylique.

NaNO₂: Nitrite de sodium.

LDL: Low density lipoprotein.

HO₂: Hydroperoxyde.

O₂⁻: Anion superoxyde.

OH[•]: Radical hydroxyle.

R[•]: Radicaux alkyles.

HOCl: Acide hypochloreux.

GSH: Glutathion.

OMS: Organisation mondiale de santé.

EOA: Espèces oxygénées.

Se: Sélénium.

Cu²⁺: Cuivre.

NC: Complexe Néocuproïne.

CUPRAC: Cupric Ion Reducing Antioxidant Capacity.

ORAC: Oxygen-Radical Absorbance Capacity.

ABTS: Acide 2,2'-azino-bis(2-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique).

FRAP: Ferric reducing antioxidant power.

TRAP: Total radical-trapping antioxidant parameter.

ABAP: Dihydrochlorure de 2,2'-azobis(2-amidinopropane).

AAPH: Le 2,2'-azobis(2-amidinopropane).

BHA: Hydroxyanisole butylé.

BHT: Hydroxytoluène butylé.

Fe³⁺: Fer ferrique.

Fe²⁺: Fer ferreux.

Na₂CO₃: Carbonate de sodium.

K₃[Fe(CN)₆]: Ferricyanure de potassium.

Na₂S₂O₃: Thiosulfate de sodium.

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 01: Classification taxonomique de <i>Bertholletia excelsa</i>	6
Tableau 02: Composition et valeur énergétique de noix du Brésil.....	10
Tableau 03: Composition en acides gras de l'huile de noix du Brésil.....	11
Tableau 04: Classification des terpénoïdes	22
Tableau 05: Activités biologiques de quelques métabolites secondaires.....	24
Tableau 06: Principales espèces réactives de l'oxygène ERO	29
Tableau 07: Principales espèces réactives de l'azote ERN.....	30
Tableau 08: Rendements et certaines caractéristiques des extraits étudiés.....	53
Tableau 09: Résultat d'analyse phytochimique réalisé sur les noix de <i>Bertholletia excelsa</i> ..	54
Tableau 10: Les caractéristiques physico-chimiques des huiles de <i>Bertholletia excelsa</i>	55
Tableau 11: Résultats du dosage des composés phénoliques des différents extraits de la noix du Brésil <i>Bertholletia excelsa</i>	56
Tableau 12: Valeurs des IC ₅₀ des différents extraits et des molécules de référence.....	62
Tableau 13: Valeurs des EC ₅₀ des différents extraits et des molécules de références pour la réduction du fer.....	67

LISTE DES FIGURES

Figure 01: Les fruits à coque (les noix)	4
Figure 02: Noix du Brésil <i>Bertholletia excelsa</i> entière et décortiquée.....	5
Figure 03: Les principales producteurs de noix du Brésil.....	6
Figure 04: Dessin taxonomique de <i>Bertholletia excelsa</i> : arbre, feuilles, fleur, L'écorce, fruits, amande	8
Figure 05: Squelette de base des composés phénoliques	15
Figure 06: Classification des composés phénoliques.....	15
Figure 07: Structure de l'acide hydroxycinnamique et les principales dérivées	16
Figure 08: Structure de l'acide hydroxybenzoïque et les principales dérivées.....	16
Figure 09: Structure de base de coumarine.....	17
Figure 10: Structure de base des flavonoïdes	18
Figure 11: Les différentes classes des flavonoïdes.....	18
Figure 12: Structure chimique des tanins hydrolysables (a) et condensés (b).....	20
Figure 13: Structure squelettique des vrais alcaloïdes.....	21
Figure 14: Structure chimique de l'isoprène, unité fonctionnelle des terpènes.....	22
Figure 15: Structure des saponines.....	23
Figure 16: Équilibre redox et stress oxydatif dans les organismes vivants.....	26
Figure 17: Conséquences des ERO sur les molécules biologiques.....	27
Figure 18: Le mode d'action des principaux systèmes enzymatiques antioxydants et de leurs cofacteurs métalliques	33
Figure 19: Réduction du radical libre DPPH· en DPPHH	35
Figure 20: Schéma de la réaction de test FRAP.....	35
Figure 21: Teste de β -carotène/acide linoléique en absence et en présence d'antioxydant	36
Figure 22: Réduction du complexe chromogène de Cu^{+2} -Nc.....	36
Figure 23: Formation et piégeage du radical $\text{ABTS}\cdot^+$ par un antioxydant donneur de H.....	37
Figure 24: Noix du Brésil entière et concassé.....	39
Figure 25: Le protocole expérimental réalisé sur les noix de <i>Bertholletia excelsa</i>	41

Figure 26: Courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des polyphénols totaux..	56
Figure 27: Courbe d'étalonnage de la catéchine pour le dosage des flavonoïdes.....	56
Figure 28: Courbe d'étalonnage de la catéchine pour le dosage des tanins condensés.....	56
Figure 29: Pourcentage d'inhibition du radical DPPH• en fonction des différentes concentrations de l'extrait aqueux de noix du <i>Bertholletia excelsa</i>	58
Figure 30: Pourcentage d'inhibition du radical DPPH• en fonction des différentes concentrations de l'extrait Hydro-éthanolique de noix du <i>Bertholletia excelsa</i>	58
Figure 31: Pourcentage d'inhibition du radical DPPH• en fonction des différentes concentrations de Huile d'acétone de noix du <i>Bertholletia excelsa</i>	59
Figure 32: Pourcentage d'inhibition du radical DPPH• en fonction des différentes concentrations de Huile d'hexane de noix du <i>Bertholletia excelsa</i>	60
Figure 33: Pourcentages d'inhibition du radical DPPH• en fonction des différentes concentrations de l'acide ascorbique.....	61
Figure 34: Pourcentages d'inhibition du radical DPPH• en fonction des différentes concentrations de BHA.....	61
Figure 35: Pourcentages d'inhibition du radical DPPH• en fonction des différentes concentrations de BHT.....	61
Figure 36: Pouvoir réducteur du fer par l'extrait Aqueux de noix du <i>Bertholletia excelsa</i>	63
Figure 37: Pouvoir réducteur du fer par l'extrait Hydro-éthanolique de noix du <i>Bertholletia excelsa</i>	64
Figure 38: Pouvoir réducteur du fer par l'huile d'acétone de noix du <i>Bertholletia excelsa</i> ...	64
Figure 39: Pouvoir réducteur du fer par l'huile d'hexane de noix du <i>Bertholletia excelsa</i>	65
Figure 40: Pouvoir réducteur du fer par l'acide ascorbique.	66
Figure 41: Pouvoir réducteur du fer par le BHA.....	66
Figure 42: Pouvoir réducteur du fer par le BHT.....	66

Sommaire

Introduction	1
PREMIERE PARTIE: Étude bibliographique	
CHAPITRE 01: <i>Bertholletia excelsa</i>	
1. L'intérêt des noix	3
2. La noix du Brésil	4
3. Répartition géographique	5
4. Classification	6
5. Nomenclature	7
6. Description morphologique	7
7. Cycle de culture	9
8. La récolte	9
9. La composition chimique	9
10. Huile de <i>Bertholletia excelsa</i>	10
11. Activités biologiques	11
12. La Toxicité	12
CHAPITRE 02 : Les métabolites secondaires et les huiles végétales	
1. Les métabolites secondaires	14
1.1. Définition	14
1.2. Rôles	14
1.3. Classification	14
1.4. Activités biologiques des différentes classes des métabolites secondaires	23
2. Les huiles végétales	25
2.1. Les huiles essentielles	25
2.2. Les huiles fixes	25
CHAPITRE 03: Pouvoir antioxydant	
1. Définition	26
2. Origine du stress oxydatif	26
3. Conséquences du stress oxydant	27

4. Radicaux libres	27
4.1. Définition.....	27
4.2. Formes des radicaux libres.....	28
5. Les antioxydants	30
5.1. Définition.....	30
5.2. Les antioxydants enzymatique.....	30
5.3. Les antioxydants non enzymatiques.....	31
5.3.1. Les antioxydants non enzymatiques endogènes.....	32
5.3.2. Les antioxydants non enzymatiques exogènes.....	32
6. Méthodes d'évaluation de l'activité antioxydante (<i>in vitro</i>)	34

DEUXIEME PARTIE: Étude Expérimentale

Matériel et méthodes

1. Matériel végétal	39
2. Extraction du matériel végétal	40
2.1. Préparation des extraits.....	40
2.2. Calculs des rendements des extraits et des huiles.....	42
3. Screening phytochimique	42
4. Analyses physico-chimiques	43
4.1. La densité relative.....	43
4.2. Indice d'acide.....	44
4.3. Indice de saponification.....	45
4.4. Indice d'ester.....	46
4.5. Indice de peroxyde.....	46
5. Dosages des composés phénoliques	47
5.1. Dosages des polyphénols totaux.....	47
5.2. Dosage des flavonoïdes.....	48
5.3. Dosage des tanins condensés.....	48
6. Évaluation de l'activité antioxydante	49
6.1. Piégeage du radical libre DPPH.....	49
6.2. La méthode FRAP (Ferric reducing Antioxydant Power).....	51

7. Analyse statistique des données	51
Résultats et interprétation	
1. Rendements des extractions	53
2. Étude phytochimique	53
3. Analyses physico-chimiques des huiles	54
4. Teneurs en composés phénoliques	55
5. Résultats de l'activité antioxydante	57
5.1. Piégeage du radical libre DPPH•.....	57
5.2. Pouvoir réducteur du fer (méthode FRAP).....	63
Discussion	68
Conclusion et perspectives	73
Références bibliographiques	75
Annexes	97

ملخص

كجزء من البحث عن مضادات الأكسدة الجديدة الطبيعية من أصل نباتي، الهدف من هذا العمل هو القيام بدراسة كيميوية نباتية وتقييم النشاط المضاد للأكسدة لمستخلصات الجوز البرازيلي (*Bertholletia excelsa*). تم استخلاص الجوز البرازيلي بواسطة مذيبين مختلفين: الماء المقطر وخليط الماء/الإيثانول (80/20؛ حجم/حجم) عن طريق الغلي لمدة ساعة واحدة و استخلاص الزيوت بواسطة مذيبين آخرين (الأسيتون والهكسان) باستعمال جهاز السوكسلي لمدة 3 ساعات و30 دقيقة.

يوضح الفحص الكيميوي نباتي وجود التربينويدات والعفص وغياب مركبات الفلافونويد والأنثراكينونات والمركبات المرجعة في المستخلصات الأربعة. كما كشفت عن وجود كميات عالية من الفلويدات في كلا الزيتين.

تشير نتائج تحديد إجمالي البوليفينول والفلافونويد والعفص المكثف إلى أن زيت الأسيتون غني بشكل خاص بهذه المركبات ($3,83 \pm 69,95$ ملغ مكافئ حمض الغاليك لكل غرام؛ $2,21 \pm 59,13$ ملغ مكافئ كاتشين لكل غرام؛ $211,01 \pm 1,40$ ملغ مكافئ كاتشين لكل غرام، على التوالي). من ناحية أخرى، يحتوي المستخلص الخام المائي على نسبة منخفضة من إجمالي البوليفينول والعفص المكثف مقارنة بالمستخلصات الأربعة ($1,02 \pm 19,36$ ملغ مكافئ حمض الغاليك لكل غرام؛ $1,64 \pm 9,89$ ملغ مكافئ كاتشين لكل غرام، على التوالي).

تم إجراء تقييم نشاط مضادات الأكسدة باستخدام طريقة الكسح الجذري DPPH، وأظهرت النتائج نشاطاً مضاداً للأكسدة في المستخلص المائي الإيثانولي $IC_{50} = 21,052$ ملغ/مل. يتم عرض أعلى قوة لإرجاع الحديد من خلال المستخلص الخام المائي مع $EC_{50} = 12,95$ ملغ/مل.

تظهر النتائج التي تم الحصول عليها في هذا العمل عن ثراء جوز *Bertholletia excelsa* بالمركبات الفينولية و الفلافونويدات و العفص، مما يمنحها نشاطاً قوياً مضاداً للأكسدة.

الكلمات المفتاحية: *Bertholletia excelsa*، زيوت، مستخلص خام، مركبات فينولية، النشاط المضاد للأكسدة.

Résumé

Dans le cadre de la recherche des nouveaux antioxydants naturels d'origine végétale, l'objectif de ce travail est l'étude phytochimique et l'évaluation de l'activité antioxydante des extraits de noix du Brésil *Bertholletia excelsa*.

Les noix du Brésil ont été soumises à une extraction sous reflux par deux solvants différents: l'eau distillée et le mélange Eau/éthanol (20/80; v/v) pendant 1h et une extraction par Soxhlet par deux autres solvants (Acétone et Hexane) pendant 3 h 30 min.

Le criblage phytochimique a montré la présence des terpénoïdes, des tanins et l'absence des flavonoïdes, des anthraquinones et les composés réducteurs dans les quatre extraits. Il a révélé aussi des quantités fortes en alcaloïdes dans les deux huiles.

Les résultats des dosages de polyphénols totaux, de flavonoïdes et de tanins condensés, indiquent que l'huile d'acétone est particulièrement riche en ces composés ($69,95 \pm 3,83$ mg EAG/gE; $59,13 \pm 2,21$ mg EQC/gE; $211,01 \pm 1,40$ mg EQC/gE, respectivement). En revanche, l'extrait brut aqueux présente une faible teneur en polyphénols totaux et en tanins condensés par rapport aux quatre extraits ($19,36 \pm 1,02$ mg EAG/gE; $9,89 \pm 1,64$ mg EQC/gE, respectivement).

L'évaluation de l'activité antioxydante a été réalisée en utilisant la méthode de piégeage du radical DPPH, et les résultats ont montré une activité antioxydante moyenne dans l'extrait hydro-éthanolique avec une $IC_{50} = 21,052$ mg/mL. Le pouvoir réducteur du fer le plus élevé est présenté par l'extrait brut aqueux avec une $EC_{50} = 12,95$ mg/mL.

Les résultats obtenus dans ce travail révèlent la richesse de noix de *Bertholletia excelsa* en composés phénoliques, de flavonoïdes et de tanins, ce qui leur confère une activité antioxydante.

Mots clés: *Bertholletia excelsa*, huiles, extraits bruts, composés phénoliques, activité antioxydante.

Abstract

As part of the search for new antioxidants natural of plant origin, the objective of this work is the phytochemical study and evaluation of the antioxidant activity of *Bertholletia excelsa* Brazil nut extracts.

Brazil nuts have been submitted a extraction under reflux by two different solvents: distilled water and the water/ethanol mixture (20/80; v/v) for 1 hour and extraction by Soxhlet by two other solvents (Acetone and Hexane) for 3 h 30 min.

Screening phytochemicals was demonstrated the presence of terpenoids, tannins and the absence of flavonoids, anthraquinones and reducing compounds in the four extracts. It also revealed high amounts of alkaloids in both oils.

The results of the determinations of total polyphenols, flavonoids and condensed tannins indicate that acetone oil is particularly rich in these compounds ($69,95 \pm 3,83$ mg EAG/gE; $59,13 \pm 2,21$ mg EQC/gE; $211,01 \pm 1,40$ mg EQC/gE, respectively). On the other hand, the aqueous crude extract has a low content of total polyphenols and condensed tannins compared to the four extracts ($19,36 \pm 1,02$ mg EAG/gE; $9,89 \pm 1,64$ mg EQC/gE, respectively).

Evaluation of antioxidant activity was carried out using the DPPH radical scavenging method, and the results showed antioxidant activity in the hydro-ethanolic extract with an $IC_{50} = 21,052$ mg/mL. The highest iron reducing power is exhibited by the aqueous crude extract with $EC_{50} = 12,95$ mg/mL.

The results obtained in this work reveal the richness of *Bertholletia excelsa* nuts in phenolic compounds, flavonoids and tannins, which gives them antioxidant activity.

Keywords: *Bertholletia excelsa*, oils, raw extracts, phenolic compounds, antioxidant activity.

Introduction

INTRODUCTION

Depuis des siècles, et jusqu'à ces jours, l'homme a exploité différentes ressources présentes dans son environnement, principalement les plantes médicinales, pour traiter et soigner toutes sortes de maladies. Ces plantes se caractérisent par leur large réservoir de composés bioactifs potentiels, qui se distinguent par leur grande variété structurelle et leur vaste gamme d'activités biologiques **(Falleh et al., 2021)**.

Une plante médicinale est une drogue végétale qui possède des propriétés thérapeutiques sur l'organisme sans être toxique à une dose précise, comme un antioxydant, un antibactérien, un anti-inflammatoire, grâce à des molécules et des principes actifs tels que les polyphénols, les flavonoïdes et les alcaloïdes **(François, 2010)**.

Parmi les propriétés biologiques reconnues des plantes, l'activité antioxydante attire de plus en plus l'attention en raison des rôles essentiels des composés antioxydants présents dans les plantes dans le traitement et la prévention des maladies liées au stress oxydant **(Sahabi, 2009)**.

Le retour au traitement traditionnel a pour but d'éviter les effets secondaires des antioxydants de synthèse tels que les réactions anaphylactiques (allergie), éruption cutanée, affection du système nerveux (maux de tête) et l'insuffisance rénale **(Ouoba et al., 2021)**.

Dans ce contexte notre choix est basé sur une plante médicinale nommée *Bertholletia excelsa* est le fruit de la noix du Brésil, qui suscite de plus en plus d'intérêt au cours des dix dernières années en raison de ses potentiels effets bénéfiques sur la santé humaine. La prise de noix du Brésil est associée à la diminution des risques de maladies cardiovasculaires, à la prévention du cancer et à l'amélioration des capacités cognitives **(Wilson et al., 2021)**.

Les caractéristiques nutritionnelles de noix du Brésil, comme ses propriétés antioxydantes et anti-inflammatoires, ont été attribuées à ses composés bioactifs, tels qu'un niveau élevé d'acides gras insaturés, de protéines à valeur biologique, de fibres alimentaires, de minéraux, de composés phénoliques, de tocophérols, de phytostérols et de squalène **(Wilson et al., 2021)**.

L'objectif de notre étude consiste à évaluer l'activité antioxydante des différents extraits bruts (aqueux et hydro-éthanolique) et les huiles de *Bertholletia excelsa* par les tests de DPPH et FRAP. En débutant par une étude bibliographique composée de trois chapitres, dont le premier définit les généralités sur l'espèce *Bertholletia excelsa*, sa composition chimique et

INTRODUCTION

ses activités biologiques. Le deuxième chapitre représente les métabolites secondaires et les huiles végétales et le troisième chapitre aborde le concept de stress oxydant, les radicaux libres, les antioxydants, ainsi que les différentes méthodes d'évaluation de l'activité antioxydante.

La seconde partie, représente la partie expérimentale qui comporte le matériel biologique et la méthodologie de travail ainsi que les différents résultats et interprétation suivi d'une discussion. Enfin, une conclusion générale sur l'ensemble de notre travail et les perspectives.

PREMIÈRE PARTIE

Étude bibliographique

CHAPITRE 01: *Bertholletia excelsa*

1. Intérêt des noix

Les fruits à coque appelés communément « noix » sont présents dans l'alimentation humaine depuis la préhistoire. Ils forment un groupe alimentaire autonome. D'après la définition botanique, une noix est un fruit séché avec une graine **(Rojas et al., 2005)**.

Généralement, le terme "noix" est utilisé pour désigner tout gros noyau huileux présent dans une coquille qui peut être consommé comme nourriture, comme les amandes, les noix du Brésil, les noix de cajou, les noisettes, les macadamia, les arachides, les noix de pécan, les pignons, les pistaches et les noix **(Fig. 01) (Rojas et al., 2005)**.

Les noix sont des aliments riches en nutriments qui possèdent chacune une composition spécifique. Ces aliments sont généralement composés d'acides gras monoinsaturés et polyinsaturés, de protéines, de fibres solubles et insolubles, de vitamines E et K, de folate, de thiamine, de magnésium, de cuivre, de potassium et de sélénium, ainsi que de caroténoïdes xanthophylles, d'antioxydants et de composés phytostérol **(Souza et al., 2015)**.

Les recherches épidémiologiques et/ou cliniques ont laissé entendre que la consommation régulière de noix avait des effets positifs sur la santé, tels que l'obésité, l'hypertension, avec une réduction des facteurs de risque de maladies chroniques tels que le stress oxydatif, l'inflammation, l'adiposité viscérale, l'hyperglycémie, la dysfonction endothéliale, les maladies cardiovasculaires et le syndrome métabolique **(Blanco et al., 2014; Bao et al., 2013)**.

Malgré l'apport calorique élevé des noix, de nombreuses études ont prouvé les effets positifs sur la santé liés à la consommation de noix, tels que la diminution du risque de maladies coronariennes et leur régulation **(Sabate et al., 2010)**.

D'après les recherches, il a été démontré que, par rapport aux personnes qui consommaient rarement ou jamais de noix, celles qui consommaient des noix deux fois ou plus par semaine avaient 47% moins de risque de mort cardiaque subite **(Rose, 2010)**.



Figure 01: Les fruits à coque (les noix) (Deborah, 2017).

2. La noix du Brésil

La noix du Brésil, *Bertholletia excelsa* est une vaste forêt de terre ferme dont les graines constituent le principal produit forestier non ligneux en Amazonie (Glenn & Henri, 2011).

Bertholletia est un genre unique de Lécythidacées, une famille d'arbres de petite à grande taille endémique de la région pantropicale. La diversité et l'abondance des Lécythidacées des Amériques sont concentrées sur l'Amazonie, du Mexique au Paraguay et au sud du Brésil. L'espèce est d'environ 200 espèces divisées en dix genres (Mori et al., 2007).

La noix brésilienne c'est l'un des premiers produits exportés du bassin amazonien. Il s'agit aussi du revenu le plus important des habitants de l'Amazonie. Les arbres de la variété *Bertholletia excelsa* ont été cultivés pour produire plusieurs essais visant à augmenter la taille des fruits, la couleur des fleurs et le nombre de noix dans la coque (Chunhieng, 2003).

Comme d'autres fruits à coque, les noix du Brésil contiennent également divers composés bioactifs. Ce sont riches en graisses insaturées, en minéraux, en vitamines, en fibres et en composés phytochimiques, ce qui leur confère un potentiel et des effets bénéfiques reconnus sur la santé humaine (Cardoso et al., 2017).



Figure 02: Noix du Brésil *Bertholletia excelsa* entière et décortiquée (Waldhoff & Eduardo Xavier Franco de Souza, 2023).

3. Répartition géographique

Bertholletia excelsa est une espèce continentale d'une grande partie du bassin amazonien (Sujii, 2013).

C'est une espèce originaire de l'Amazonie tropicale : Guyane française, Surinam, Guyane, Bolivie, Venezuela, Brésil, Pérou et Colombie amazonienne. Il crée de vastes forêts sur les rives de l'Amazone et du Rio Negro et autour d'Esmeraldas, sur l'Orénoque. Dans les États brésiliens de Marahao, Mato Grosso, Acre, Para, Rondonia et Amazonas, elle est plus commune. Presque toutes les noix du Brésil sont cueillies sur des arbres sauvages (Lim, 2012).

Selon les données fournies par International Nut & Dried Fruit (INC), la Bolivie est le principal producteur de noix du Brésil, suivie du Pérou et du Brésil (Fig. 03) (Da Silva et al., 2022).



Figure 03: Les principaux producteurs de noix du Brésil (Zuidema, 2003).

4. Classification

La population locale classe le noyer du Brésil, *Bertholletia excelsa* (Lecythidaceae), selon des critères morphologiques tels que la couleur et la qualité du bois, la forme du tronc et de la couronne, ainsi que la production de fruits (Sujii, 2013).

Tableau 01: Classification taxonomique de *Bertholletia excelsa* (MNHN & OFB, 2003).

Règne	Plantae
Sous-Règne	Viridiaeplantae
Classe	Equisetopsida
Sous-Classe	Magnoliidae
Super-Ordre	Asteranae
Ordre	Ericales
Famille	Lecythidaceae
Sous-Famille	Lecythidoideae
Genre	Bertholletia
Espèce	<i>Bertholletia excelsa</i> Bonpl.,1807

5. Nomenclature

La nomenclature de noix du Brésil selon certaines régions dans le monde est comme suit :

❖ **Nom scientifique préféré:** *Bertholletia excelsa* Bonpl.

❖ **Nom commun préféré:** noix du Brésil.

❖ **Noms communs internationaux:**

Anglais: Brazil nut, cream nut, Pará nut.

Espagnol: castaña; nuez de Brasil; nuez de Pará.

Français : noyer de Para; noyer du Brésil.

Arabe: الجوز البرازيلي

❖ **Nom commercial:** noix du Brésil (« **Bertholletia Excelsa (Brazil Nut)** », 2022).

6. Description morphologique

6.1. L'arbre

Grand arbre, avec une frondaison émergente, qui peut souvent atteindre 50 à 60 mètres. Sa branche est droite et cylindrique jusqu'à la frondaison. Il a un diamètre allant jusqu'à 2,5 m et est recouvert d'une écorce rugueuse marron-gris, avec des fissures longitudinales très apparentes. La frondaison, avec un diamètre pouvant aller de 20 à 30 m, est constituée de branches bien séparées qui sortent de la forêt (**Rousset, 2008**).

6.2. Les feuilles

Elles sont simples et oblongues, alternées, dures, fermes. Elles ont la forme d'un arrondi à la base et d'un pointu au sommet, les bordures sont entièrement ou partiellement creuses. Les pétioles ont une longueur comprise entre 20 et 35 cm (**Rousset, 2008**).

6.3. La fleur

C'est une plante zigomorphe de couleur blanche-jaune, à six pétales, en épi isolé. Inflorescence finale ou sur les axilles des feuilles supérieures, avec des épis disposés en panicules (**Rousset, 2008**).

6.4. L'écorce

Les jeunes arbres sont lisses et les adultes sont profondément sillonnées

longitudinalement. C'est une cime arrondie, de couleur blanche crème, les inflorescences sont au sommet de l'arbre (Chunhieng, 2003).

6.5. Les fruits

Très volumineux et peuvent atteindre 3 kg. La baie décortiquée atteint un diamètre de 10 à 12 cm à sa maturité. Les zones internes sont charnues tandis que les zones externes sont ligneuses. Elle contient entre 15 et 20 graines trigones avec des arêtes éblouissantes. En réalité, les graines sont de grandes coques renfermant entre 12 et 18 noix. La coquille de ces noix est grisâtre et leur longueur est d'environ 5 cm (Chunhieng, 2003).

6.6. L'amande

Elle est très blanche à l'intérieur, avec un tégument brun foncé. Un arbre génère au maximum 150 kg de noix chaque année. L'espèce se propage de manière naturelle. Les graines commenceront à germer si les fruits tombent dans une position favorable. Après la libération des graines, la germination se produira dans un délai de 6 à 12 mois. Les amandes équarries renferment entre 50 et 75% d'huile (Chunhieng, 2003).

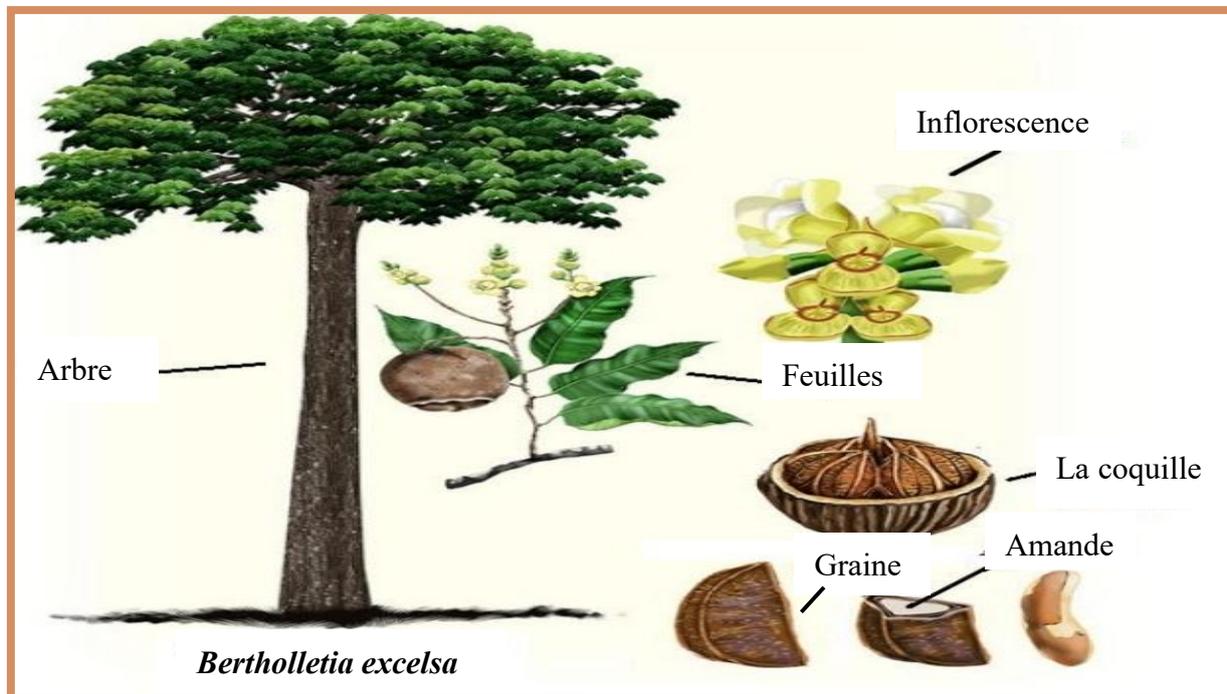


Figure 04: Dessin taxonomique de *Bertholletia excelsa*: arbre, feuilles, fleur, L'écorce, fruits, amande (Cardenas, 2014).

7. Cycle de culture

La floraison se déroule habituellement d'octobre à décembre, et entre septembre et février dans l'État du Pará. Tandis que les fruits sont produits de décembre à février et commencent à tomber entre janvier et avril (**Rousset, 2008**).

8. La récolte

La récolte manuelle est réalisée chaque année après la chute des fruits au sol pendant la période des pluies. Il est essentiel que ce collecte soit rapide afin d'éviter l'invasion de rongeurs, de champignons et d'insectes. Il est important de prendre des précautions lors de la récolte, car les fruits sont lourds et tombent d'une hauteur de 40 à 50 mètres, ce qui peut entraîner de graves blessures. En général, les producteurs assurent aussi la transformation et la commercialisation des noix (**Rousset, 2008**).

9. La composition chimique

La noix brésilienne est considérée comme étant une graine oléagineuse en raison de sa grande quantité d'huiles, notamment l'acide linoléique, un acide gras insaturé. Cette noix contient également une grande quantité de minéraux, comme le magnésium et le phosphore.

Cependant, son taux élevé de sélénium est sa caractéristique la plus précieuse, ce qui suggère qu'il pourrait devenir un « nouveau produit nutraceutique ».

Sur le plan nutritionnel, la noix du Brésil présente des avantages. Environ 66 % de sa composition est composée de lipides, 18,3 % de glucides, dont 8,3 % de fibres, et 13 % de protéines. Il contient une quantité adéquate de calcium environ 178 mg/100 g, ainsi que de magnésium environ 318 mg/kg (**Tabl. 02**) (**Chunhieng et al., 2004**).

La noix du Brésil contiennent également des composés phénoliques tels que les phénols totaux environ 197 mg/100g, 11,35 mg/100g d'acides phénoliques et aldéhydes, 0,85 mg/100g des flavonoïdes, 10 mg/100g de proanthocyanidines, 160,19 mg/100g de stérols et 781 mg/100g des lignanes (**Tabl. 02**) (**Bolling et al., 2011**).

Tableau 02 : Composition et valeur énergétique de noix du Brésil (Chunhieng, 2003).

Constituants	Teneur pour 100g
Eau (g)	5,9
protéine (g)	13
Glucides (monosaccharides) (g)	3,7
Sucres (g)	2,8
Fibres (g)	8,3
Lipides (g)	66
Acides gras saturés (g)	16,1
Acides gras mono insaturés (g)	23,0
Acides gras polyinsaturés (g)	24,1
Sodium (mg)	2
Magnésium (mg)	318
Phosphore (mg)	595
Potassium (mg)	680
Calcium (mg)	178
Fer (mg)	3
Vitamine E (mg)	7
Vitamine B6 (mg)	0,21
Niacine (mg)	0,8
Sélénium (µg)	103
Valeur énergétique (KJoules)	2722
Phénols totaux (mg)	197
Acides phénoliques et aldéhydes (mg)	11,35
Flavonoïdes (mg)	0,85
Proanthocyanidines (mg)	10
Stérols (mg)	160,19
Lignanes (mg)	781

10. Huile de *Bertholletia excelsa*

L'huile de noix du Brésil est une huile alimentaire. La pression mécanique à froid de la noix donne une huile d'une couleur très pâle. Elle devient d'un jaune foncé quand elle est un peu chauffée. La noix peut être légèrement chauffée pour faciliter l'extraction de l'huile. L'huile est ensuite décantée et filtrée pour obtenir une huile dorée très fine. En cas de demande, il est possible de raffiner l'huile (**Sheabutter, 2002**).

Cette huile possède une odeur et un goût délicieux et doux, est utilisée dans la fabrication des shampoings, des savons et des lotions pour les cheveux. Elle est également présente dans des produits cosmétiques où elle joue le rôle d'hydratant ou d'émollient (**Hennessey, 2001**).

Plus de 70 % des acides gras insaturés sont présents dans l'huile de noix du Brésil, avec 33,6 % d'acide oléique et 41,0 % d'acide linoléique (**Tabl. 03**).

Tableau 03 : Composition en acides gras de l'huile de noix du Brésil (**Sheabutter, 2002**).

Acides gras		%
Acide palmitique	C16:0	15,0
Acide palmitoléique	C16:1	0,3
Acide oléique	C18:1	33,6
Acide linoléique	C18:2	41,0
Acide stéarique	C18:0	10,2

11. Activités biologiques

11.1. Activité anti-inflammatoire

Des groupes chimiques ont été identifiés dans la noix du Brésil tels que des tanins (dérivés de l'élagitanine) qui ont un effet vasoconstricteur favorisant la régénération des tissus (cicatrisation) et des flavonoïdes présentant des effets anti-inflammatoires (**Silva et al., 2023**).

Le sélénium présent dans les noix inhibe l'action des prostaglandines qui sont responsables des réactions inflammatoires dans le corps (**Chunhieng, 2003**).

11.2. Activité antioxydante

Il est fréquent de rencontrer le stress oxydatif dans les maladies dégénératives chroniques, et les antioxydants alimentaires présents dans les plantes peuvent avoir des effets positifs.

Les noix brésiliennes renferment de grandes quantités d'antioxydants phénoliques qui peuvent aider à réguler efficacement le stress oxydatif dans le corps (**Jenny & Fereidoon, 2010**).

L'intérêt actuel pour la noix du Brésil est dû à la présence significative de sélénium dans certaines espèces. Le sélénium, un oligoélément essentiel pour le corps humain, est maintenant reconnu comme un antioxydant puissant. Le sélénium stimule l'activité de la glutathion-péroxydase, une enzyme qui ralentit l'oxydation des graisses, souvent responsable des maladies cardiovasculaires, et est susceptible d'agir sur les dommages causés par les radicaux libres (**Chunhieng, 2003**).

11.3. Activité antihyperlipidémique

Bertholletia excelsa est un choix très apprécié dans le régime alimentaire habituel de la communauté et peut améliorer les niveaux de triglycérides, de cholestérol et de LDL chez les individus. En outre, la noix pourrait être utilisée chez les patients souffrant de dyslipidémie afin d'améliorer et de mieux gérer le profil lipidique des patients. Il est essentiel d'utiliser *Bertholletia excelsa* de manière continue et prolongée afin d'obtenir des résultats significatifs (**Hou et al., 2021**).

11.4. Activité anticancéreuse

La combinaison du sélénium et de la vitamine E, tous deux ayant des propriétés antioxydantes, rend la noix du Brésil un aliment unique pour prévenir l'émergence de certains cancers. D'après les recherches, la présence de sélénium pourrait combattre les cancers du sein ou de la prostate. De plus, plusieurs études suggèrent que l'apport en fibres aide à prévenir le cancer du côlon (**IP & Lisk, 1994**).

Pour cela, Les composés provenant de la noix du Brésil peuvent être employés pour combattre le cancer (**Hou et al., 2021**).

12. La Toxicité

Les noix brésiliennes sont les plus riches en sélénium (Se) de toutes les sources alimentaires végétales, ce qui en fait une source précieuse de ce micronutriment indispensable.

Bien que le «Se» soit essentiel pour le métabolisme humain, il peut être toxique en raison de son impact sur le métabolisme du soufre donc la quantité de «Se» tolérable est de 400µg Se par jour, tandis que l'apport de «Se» associé à une toxicité (sélénose) était estimé à environ 1200µg Se par jour.

Puisque le sélénium est toxique à des niveaux élevés, il est nécessaire de renseigner et de prévenir les consommateurs des risques toxiques d'une surconsommation de ces graines riches en «Se» (**Lima, 2019**).

PREMIÈRE PARTIE

Étude bibliographique

CHAPITRE 02: Les métabolites secondaires et les huiles végétales

1. Les métabolites secondaires

1.1. Définition

Les métabolites secondaires aussi appelés métabolismes spécialisés sont des molécules organiques complexes synthétisées et accumulées en petites quantités par les plantes (**Lutge et al., 2002**).

Sont des composés phyto-chimiques qui ne participent pas directement aux processus vitaux de base tels que la croissance, la division cellulaire, la respiration, la photosynthèse et la reproduction. Contrairement aux métabolites primaires (**Labani, 2021**).

1.2. Rôles

Ils ont un impact sur son interaction avec son environnement, comme la résistance aux ravageurs et aux maladies, comme attractif pour les pollinisateurs ou en tant que composé de signalisation (**Verpoorte & Alfermann, 2000**).

Ces substances constituent également une source majeure de médicaments (**Bourgaud et al., 2001**).

1.3. Classification

Les métabolites secondaires sont classés en trois grands groupes: les composés phénoliques, les terpènes et les alcaloïdes. Chacune de ces classes renferme une très grande diversité de composés qui possèdent une très large gamme d'activités en biologie humaine (**Aref & Heded, 2015**).

1.3.1. Les composés phénoliques

Les composés phénoliques, également appelés polyphénols (**Fig. 05**), sont des métabolites secondaires qui se distinguent par la présence d'un cycle aromatique contenant des groupements hydroxyles libres ou liés à un glucide. Ils se trouvent dans toutes les parties des végétaux supérieurs (racines, tiges, feuilles, fleurs, pollens, fruits, graines et bois) et participent à de nombreux processus physiologiques tels que la croissance cellulaire, la rhizogenèse, la germination des graines ou la maturation des fruits. Les anthocyanes, les flavonoïdes et les tanins sont les plus courants (**Nathalie & Jean-Paul, 2006**).

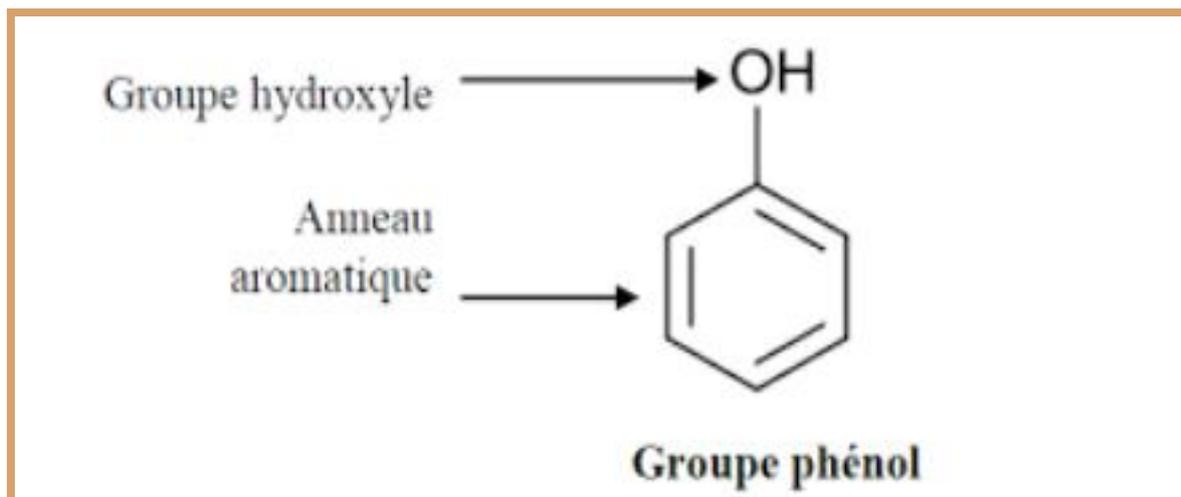


Figure 05: Squelette de base des composés phénoliques (Manallah, 2012).

Les composés phénoliques sont classés: acides phénoliques, coumarines, tanins et flavonoïdes (Fig. 06).

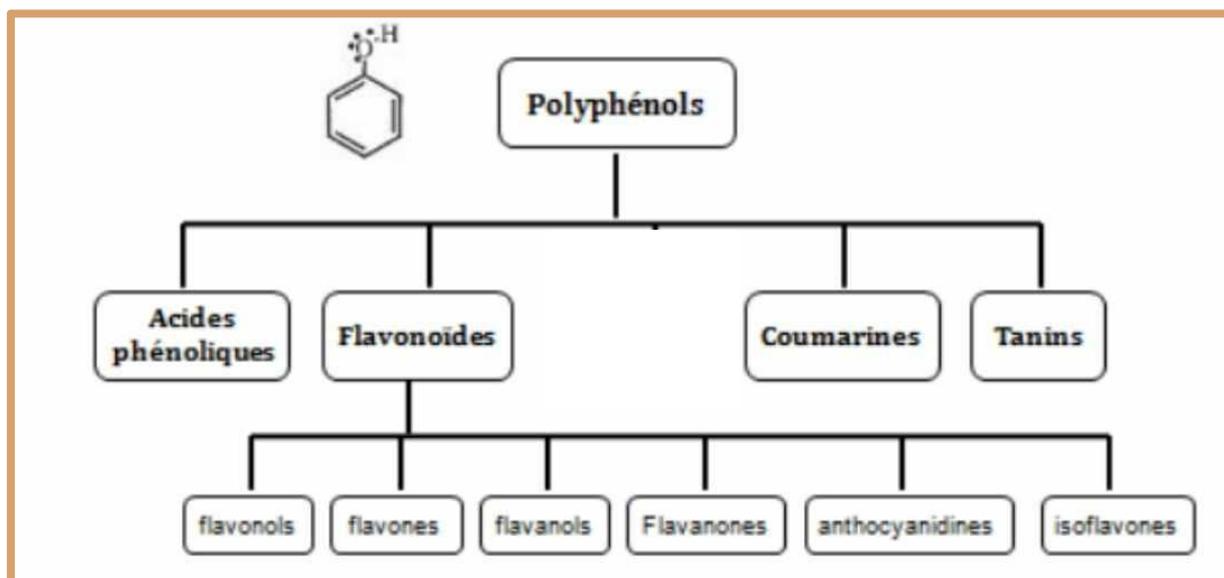


Figure 06: Classification des polyphénols (Macheix et al., 2006)

a. Acides phénoliques

En général, les acides phénoliques sont des composés phénoliques dont le groupe d'acide carboxylique est unique. L'une des principales catégories de composés phénoliques végétaux est les acides phénoliques ou phénol carboxyliques. Ils sont retrouvés sous forme liée comme les amides, les esters ou les glycosides, et rarement sous forme libre (Nidhi & Naresh, 2019).

Ils sont différenciés en fonction du nombre et de la position des groupes hydroxylés sur le cycle aromatique (Khoddami et al., 2013).

Ces substances proviennent de deux sous-classes distinctes: les acides hydroxycinnamiques (Fig. 07), dont les plus nombreux sont l'acide caféique, l'acide férulique et l'acide chlorogénique. Les acides hydroxybenzoïques sont également présents (Fig. 08), les plus courants sont les acides salicylique et gallique. Ils se trouvent dans plusieurs plantes agricoles et médicinales et sont présents dans toutes les céréales (Yeza & Bouchama, 2014).

Ce sont des composés phytochimiques présentant des propriétés prébiotiques, antioxydantes, chélatrices et anti-inflammatoires. Ils ont une toxicité très faible car ils sont perçus comme non toxiques (Yeza & Bouchama, 2014).

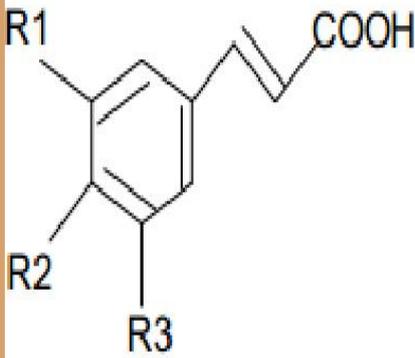
	R1	R2	R3	Acides phénoliques
	H	H	H	Acide cinnamique
	H	OH	H	Acide p coumarique
	OH	OH	H	Acide caféique
	OCH3	OH	H	Acide férulique
	OCH3	OH	OCH3	Acide sinapique

Figure 07: Structure de l'acide hydroxycinnamique et les principales dérivées (Harrar, 2018).

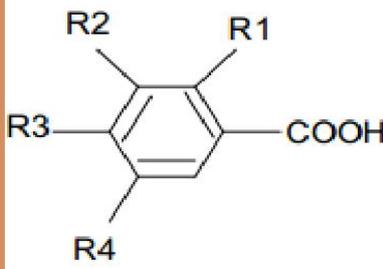
	R1	R2	R3	R4	Acides phénoliques
	H	H	H	H	Acide benzoïque
	H	H	OH	H	Acide p hydroxy benzoïque
	H	OH	OH	H	Acide protocatechique
	H	OCH3	OH	H	Acide vanillique
	H	OH	OH	OH	Acide gallique
	H	OCH3	OH	OCH3	Acide syringique
	OH	H	H	H	Acide salicylique
	OH	H	H	OH	Acide gentisique

Figure 08: Structure de l'acide hydroxybenzoïque et les principales dérivées (Harrar, 2018).

b. Les coumarines

Le squelette de base des coumarines est composé de deux cycles accolés avec neuf atomes de carbone (**Fig. 09**) (**Ford et al., 2001**).

Sur le plan structurel, ils sont répartis en coumarines simples avec des substituants dans le cycle du benzène, en furanocoumarines, en pyranocoumarines et en coumarines substituées en position 3 et/ou 4 (**Sakagami et al., 2005 ; Nsemi, 2010**).

Certaines formes de coumarine et de ses dérivés sont devenues des médicaments, comme la Novobiocine (antibiotique), qui est un inhibiteur puissant de l'ADN-gyrase bactérienne (**Stefanachi et al., 2018**).

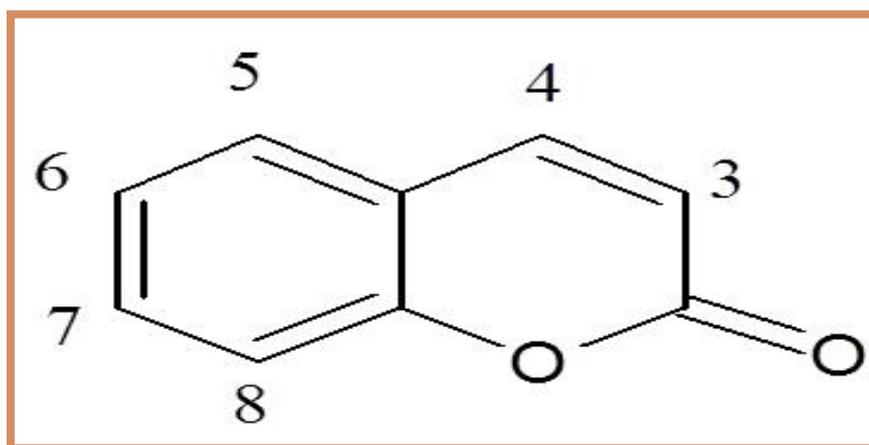


Figure 09: Structure de base de coumarine (**Karamat & Fazeelat., 2013**).

c. Les flavonoïdes

Les flavonoïdes, qui font partie de la grande famille des polyphénols, sont des métabolites secondaires des plantes (**Elkali et al., 2020**). Sont largement présents dans les fruits, les légumes et d'autres cultures vivrières. généralement, ils se regroupent dans les vacuoles des cellules végétales en tant que glycosides (**Gentile et al., 2018 ; Williamson et al., 2018 ; Guven et al., 2019 ; Nan et al., 2022**).

La structure des flavonoïdes est C6-C3-C6, avec deux cycles benzéniques (cycles A et B) associés à un cycle pyrane contenant de l'oxygène (cycle C) (**Fig. 10**). Les plantes en contiennent naturellement, qu'ils soient associés à des sucres (glycosides) ou non (aglycones) (**Sing et al., 2014**).

Le degré d'oxydation du cycle C détermine les différentes classes des flavonoïdes,

tandis que les composés aglycones individuels au sein de chaque classe dépendent de l'hydroxylation ou d'une autre substitution des cycles A et B (Sing *et al.*, 2014).

En général, les flavonoïdes sont divisés en plusieurs classes dont les plus importantes sont: les flavonols, les flavones, les isoflavones, les anthocyanidines, les flavanones et les flavanols (Fig. 11) (Nan *et al.*, 2022).

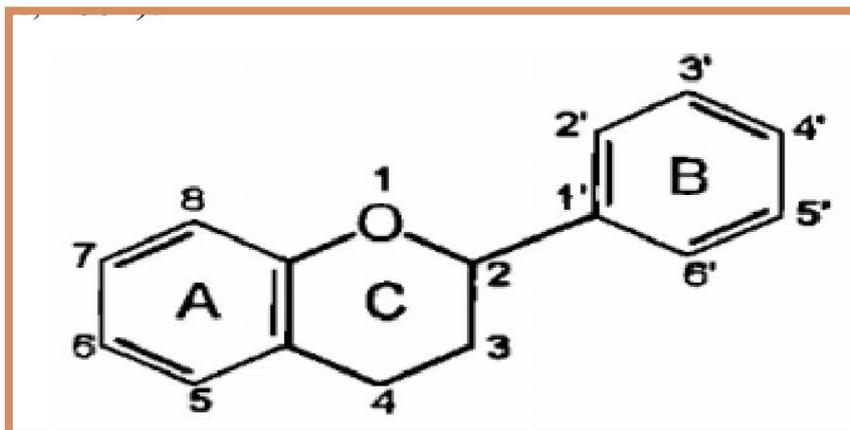


Figure 10: Structure de base des flavonoïdes (Harrar, 2018).

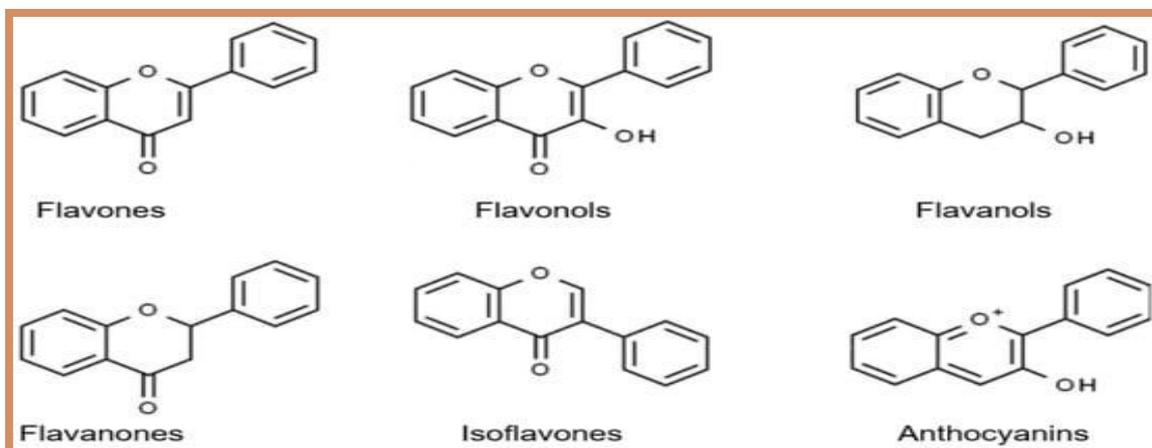


Figure 11: Les différentes classes des flavonoïdes (Rufino *et al.*, 2021).

d. Les tanins

Une substance végétale sans odeur, possède les caractéristiques de tanner la peau, c'est-à-dire de la préserver en se fixant sur des protéines.

Les tanins sont répandus dans l'ensemble des plantes et sont abondants dans les arbres généraux, les Rosaceae, les Rhododendrons, les Sycaaceae et les Légumineuses, ainsi que dans l'écorce, les racines, les feuilles et les fruits (Bouchet, 2022).

Leur origine n'est pas encore connue, mais les recherches démontrent qu'elles se trouvent dans les vacuoles des cellules végétales et qu'elles sont souvent liées à des protéines, des alcaloïdes ou des sucres sous forme de tannoïdes, ce qui laisse penser qu'il s'agit plutôt de déchets (**Bouchet, 2022**).

Ce qui concerne la structure chimique, il existe actuellement plusieurs types de tanins, dont les principales catégories sont les tanins hydrolysables et les tanins condensés. La famille des tanins comprend également les caffétanins, les labiataetanins et les phlorotanins (**Rira, 2019**).

d.1. Les tanins hydrolysables

Ce sont des molécules phénoliques simples qui les composent. Il s'agit d'esters d'acide gallique et de ses dimères (acide digallique, acide ellagique) ainsi que de monosaccharides, principalement le glucose (**Fig. 12 a**) (**Grasel et al., 2016**).

Comme leur nom l'indique, ils peuvent être hydrolysés en pyrogallol par les acides et les enzymes (tannase). Les tanins hydrolysables se trouvent principalement dans les parois et les espaces intracellulaires au niveau des cellules. Ils sont fréquemment classés en trois sous-classes principales: tanins galliques (gallotanins), tanins ellagiques (ellagitanins), tanins complexes (**Grasel et al., 2016**).

d.2. Les tanins condensés

Ce sont des substances qui ne peuvent pas être hydrolysées et qui ont un poids moléculaire plus élevé. Ils sont issus de la polymérisation d'unités de flavan-3-ols en dimères, oligomères (2-10 monomères) et polymères (>10 monomères), avec une hydroxylation en position trois. La condensation donne à ces substances une structure similaire à celle des flavonoïdes (**Fig. 12 b**). Les tanins condensés présentent une variation structurelle en raison des diverses unités, des positions, des orientations et des types de liaisons inter-flavonoïdes. La catéchine, l'epicatéchine, la gallocatéchine et l'épigallocatéchine sont les unités flavan-3-ols les plus fréquemment présentes dans les tanins condensés (**Naumann et al., 2017**).

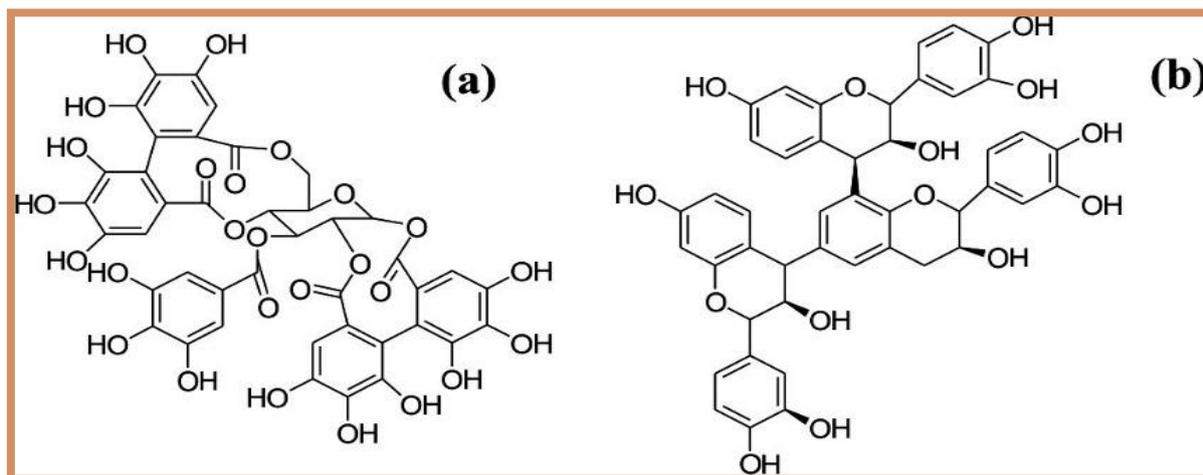


Figure 12: Structure chimique des tanins hydrolysables (a) et condensés (b) (Bayart & Marie, 2019).

1.3.2. Les alcaloïdes

Ce sont des composés organiques qui constituent un ensemble captivant de produits naturels, azotés et amers qui possèdent des propriétés physiologiques distinctes, même à des doses faibles (Fettah, 2019). Les structures moléculaires de ces molécules sont complexes, plus ou moins simples, et possèdent des propriétés pharmacodynamiques significatives même à des doses faibles (Debnath *et al.*, 2018).

les alcaloïdes ne sont pas classés de manière homogène, Ils peuvent être résumés dans les grands groupes suivants: pseudoalcaloïdes, protoalcaloïdes et alcaloïdes vrais (Shin *et al.*, 2018).

❖ Les pseudo-alcaloïdes

Ils ne contiennent pas d'azote intracyclique et l'azote est ajouté à la structure en phase finale. Des pseudo-alcaloïdes peuvent également être produits par les précurseurs de non-acides aminés. Ils peuvent provenir de la phénylalanine ou de l'acétate. Les exemples les plus courant sont la capsaïcine, la caféine et l'éphédrine (Dey *et al.*, 2020).

❖ Les proto-alcaloïdes

Ce genre d'alcaloïdes est composé d'un atome d'azote, dérivé d'un acide aminé, mais qui n'appartient pas au système de noyau homocyclique. Les principaux précurseurs de ce type d'alcaloïdes sont le L-Tryptophane et la L-tyrosine. Les alcaloïdes de ce type sont principalement la yohimbine, la mescaline et l'hordénine (Dey *et al.*, 2020).

❖ Les vrais alcaloïdes

Les alcaloïdes de ce genre sont fabriqués à partir d'acides aminés et possèdent un noyau hétérocyclique à azote. Ils sont extrêmement réactifs et possèdent une activité biologique intense. Ils sont présents dans les plantes sous trois formes: libres, sous forme de N-oxyde ou sous forme de sels (Dey et al., 2020).

Les alcaloïdes sont principalement constitués d'acides aminés tels que la L-phénylalanine/L-tyrosine, la L-ornithine, la L-histidine et la L-lysine. Les alcaloïdes réels les plus fréquemment rencontrés dans la nature sont la cocaïne, la morphine et la quinine (fig. 13) (Dey et al., 2020).

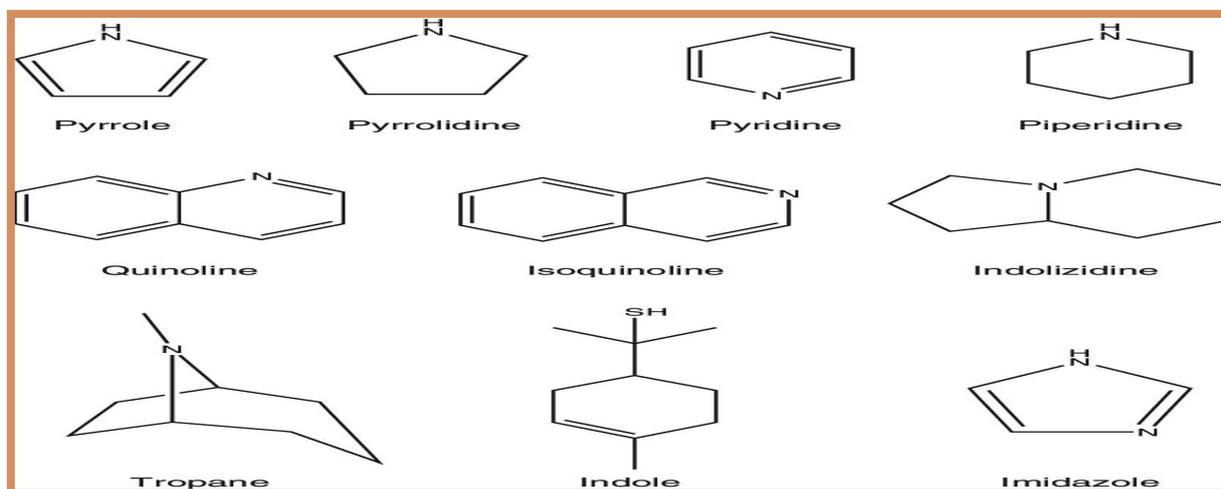


Figure 13: Structure squelettique des vrais alcaloïdes (Gutiérrez-Grijalva et al., 2020).

1.3.3. Les terpénoïdes

Les terpènes sont des hydrocarbures naturels qui présentent une structure cyclique ou une chaîne ouverte. Leur formule moléculaire d'origine est $(C_5H_x)_n$, où x dépend du degré d'établissement de la molécule et n peut varier de 1 à 8. À l'exception des cas de Polyterpène (caoutchouc) supérieurs à 100, la molécule de base est l'isoprène, avec une formule moléculaire de C_5H_8 (Fig. 14) (Bezzaz, 2014).

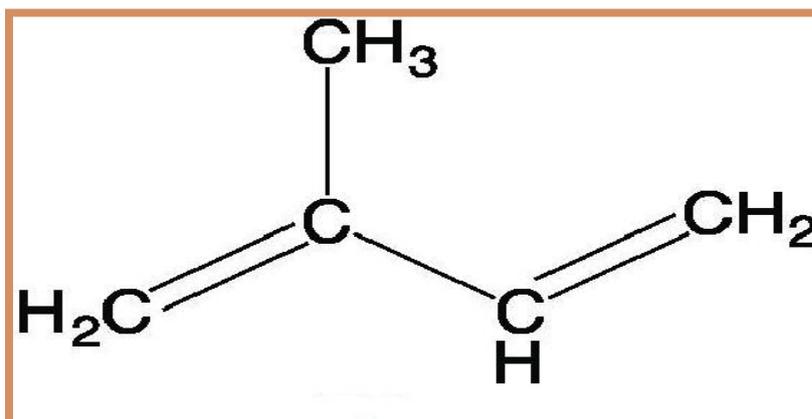


Figure 14: Structure chimique de l'isoprène, unité fonctionnelle des terpènes (Almarie, 2020).

Selon le nombre n , ou x on peut identifier les diverses catégories de terpénoïdes qui peuvent être disposés de manière linéaire ou formant des cycles (tabl. 04) (Ludwiczuka & Asakawa, 2017).

Tableau 04: Classification des terpénoïdes (Mahi, 2022).

Classes des terpénoïdes	Nombre d'unité isoprène	Formule	Exemples
Monoterpénoïdes	2	$C_{10}H_{16}$	Geranél
Sesquiterpénoïdes	3	$C_{15}H_{24}$	Cadinène
Diterpénoïdes	4	$C_{20}H_{32}$	Acide Abiétique
Sesterpénoïdes	5	$C_{25}H_{40}$	Scalarin
Triterpénoïdes	6	$C_{30}H_{48}$	Squalène
Tetraterpénoïdes	8	$C_{40}H_{64}$	β -carotène
Polyterpénoïdes	n	$(C_5H_8)_n$	Caoutchoue

1.3.4. Les saponosides

Les saponines sont des métabolites secondaires hétérosidiques (Fig. 15), fréquemment présents chez les plantes supérieures, notamment chez les Dicotylédones (racines, fruits, écorces, tiges, feuilles ou graines) (Kissoum & Khalfaoui, 2015).

Ces substances possèdent d'importantes capacités de moussage lorsqu'elles sont mélangées avec de l'eau (Biswas & Dwivedi, 2019). Leur structure est constituée d'au moins quatre cycles hydrocarbonés aux quels sont attachés des sucres en groupe d'un ou deux (généralement pas plus de 10 unités) (Kregiel et al., 2017), elles sont divisées en trois catégories :

- Saponisidestéroïdiques: trouve dans les angiospermes monocotylédones
- Saponisidetrirpéniques: surviennent en particulier chez les angiospermes dicotylédones
- Amines stéroïdiques: sont classées par d'autres auteurs comme alcaloïdes stéroïdiques (Soumeya, 2014).

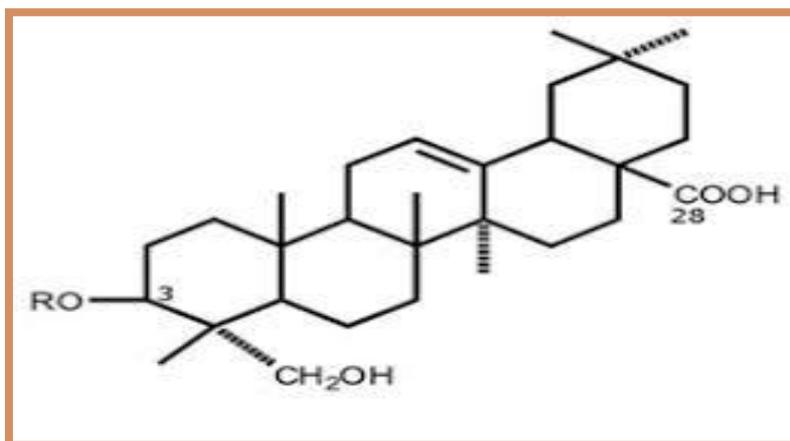


Figure 15: Structure des saponines (El Aziz et al., 2019).

1.4. Activités biologiques des différentes classes des métabolites secondaires

Les métabolites secondaires sont caractérisés par leurs caractéristiques physico-chimiques telles que: leur action antioxydante, antivirale, antifongique, antimicrobienne, cicatrisante, anti-inflammatoire... (Tabl. 05).

Tableau 5: Activités biologiques de quelques métabolites secondaires

Constituants		Propriétés biologiques	Références
Les composés phénoliques	Les phénols simples	L'acide phénolique	(Luo et al., 2018). (Yener, 2020). (Abdelkhalek et al., 2020).
		coumarines	(Liang et al., 2020). (De Alcantara et al., 2015). (Li et al., 2017). (Önder, 2020). (Khaldi-Khellafi et al., 2020). (Kostova, 2005).
	Les polyphénols	Flavonoïdes	(Abdelkhalek et al., 2020). (Wu et al., 2015 ; Guo et al., 2019). (Mwakalukwa et al., 2019). (Ciumarnean et al., 2020). (Liu et al., 2020). (Kaushik et al., 2019). (Kumar & Pandey, 2013). (Jucá et al., 2020)
		tanins	(Peronny, 2005). (Djahra et al., 2013). (Awika & Rooney, 2004).
Les alcaloïdes		Des propriété anti-inflammatoires, anti-arythmiques et antivirales et analgésique, anti-hypertensif et gastro-protectrice. activités antimicrobiennes , antioxydante et antifongique.	(Fu et al., 2020). (Serdoz et al., 2019). (Fukuda et al., 2020). (Guo et al., 2018). (Huang et al., 2016). (Boeing et al., 2020). (Dai et al., 2018). (Djama & Karour, 2020).
Les terpénoïdes		anti-hypertensive, antivirale.	(Jens & Pedersen, 2000). (Çitaglu & Aksit, 2002).
Les Huiles végétales		Des propriétés antitoxiques, antimicrobiennes, antivirales, antioxydantes, et antiparasitaires.	(Bouزيد & Bouhamri, 2018).
Les saponosides		Activité anti-inflammatoires, Immunomodulatrice, antimicrobiennes .	(Tian et al., 2020). (Sarikahya et al., 2018). (Dong et al., 2020)

2. Les huiles végétales

Les différentes huiles végétales offrent une grande diversité de Corps Gras, qu'ils soient d'origine, de composition, de qualité ou de goût. Elles sont exposées en fonction de leurs propriétés physico-chimiques, de leur processus de production, de leur composition en acides gras, en vitamines, en composés minéraux, de leur intérêt nutritionnel et de leurs utilisations. Chaque huile présente un intérêt distinct (**Lecerf, 2011**).

Les huiles végétales occupent une place primordiale dans la nourriture humaine. Elles jouent un rôle essentiel dans la garantie des fonctions nutritionnelles, énergétiques et technologiques (**Cuvier & Maillard, 2012**).

Les huiles végétales sont classées en deux grands groupes comme suit:

2.1. Les huiles essentielles

Les huiles essentielles sont des substances naturelles produites par les diverses parties des plantes aromatiques (feuilles, fruits, racines, pétales...).

D'après l'ANSM (Agence nationale de sécurité du médicament et des produits de santé), une huile essentielle est un produit parfumé, généralement de composition complexe, fabriqué à partir d'une matière première végétale spécifiée, soit par entraînement à la vapeur d'eau, soit par distillation sèche, soit par un procédé mécanique adéquat sans chauffage. La séparation de l'huile essentielle de la phase aqueuse est généralement effectuée par un procédé physique qui ne modifie pas significativement sa composition (**Fourmentin & Kfoury, 2024**).

Les huiles essentielles sont des mélanges naturels extrêmement complexes qui peuvent regrouper de 20 à 60 composés à des concentrations différentes. La composition chimique des essences peut différer selon l'organe, les conditions climatiques, la nature du sol, les méthodes de culture et la méthode d'extraction utilisée (**Muther, 2015**).

2.2. Les huiles fixes

L'huile fixe est une substance grasseuse, onctueuse et épaisse, généralement liquide à température ambiante et insoluble dans l'eau. Les huiles sont constituées de triglycérides, qui sont des molécules d'acides gras estérifiées par le glycérol (une molécule d'alcool). Les matières grasses jouent un rôle essentiel dans l'énergie du corps humain, car elles fournissent une quantité considérable de calories (**Boutayeb, 2013**).

PREMIÈRE PARTIE

Étude bibliographique

CHAPITRE 03: Pouvoir antioxydant

1. Définition

Le stress oxydatif est l'incapacité de l'organisme à se défendre contre les radicaux libres, en raison de la perturbation de l'équilibre endogène entre ces derniers et les agents oxydants (**Fig.16**). Ce déséquilibre peut entraîner des dommages structurels et fonctionnel (**Bensakhria, 2018**).

Il correspond à une agression cellulaire principalement provoquée par les radicaux libres, qui peut être neutralisée par des antioxydants. Comme l'accélération de ce phénomène avec l'âge est constante, il est primordial de maintenir une alimentation équilibrée et un mode de vie sain. Il est parfois conseillé de prendre une supplémentation en antioxydants, notamment en cas de déficit ou de pratique sportive intense (**El-Houcine et al., 2023**).

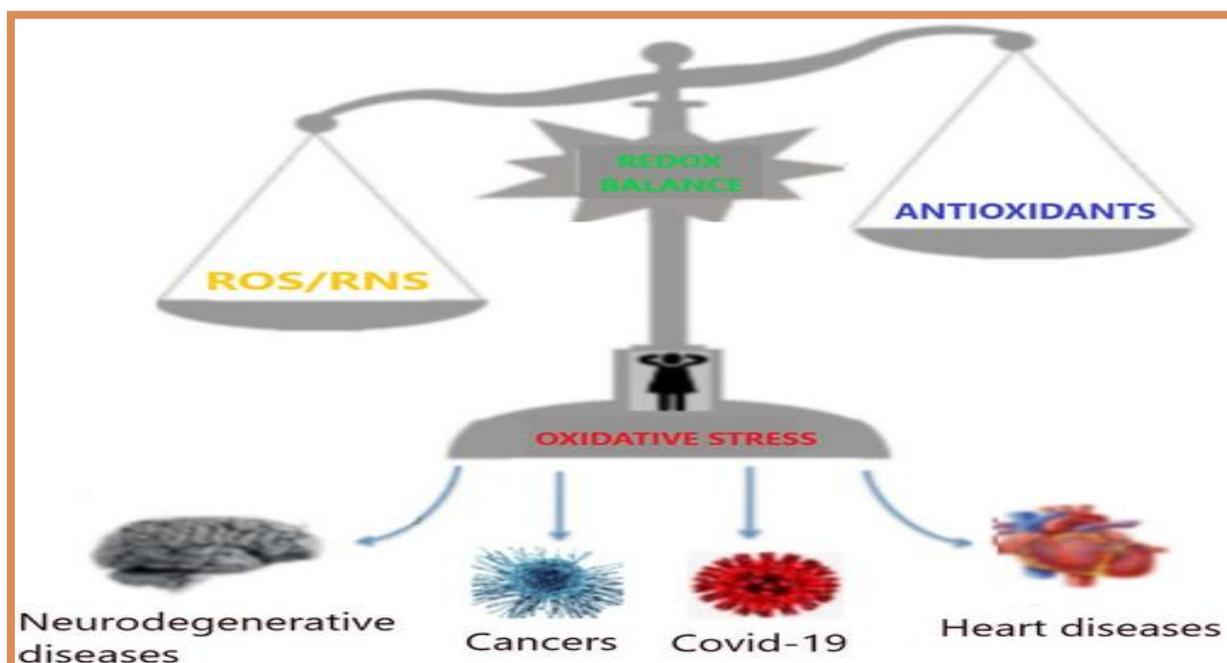


Figure 16: Équilibre redox et stress oxydatif dans les organismes vivants (**Brainina & Shpigun, 2022**).

2. Origine du stress oxydatif

Le stress oxydant est causé par un déséquilibre entre la production d'espèces réactives de l'oxygène (ERO) et les capacités de défense antioxydante de l'organisme. Les ERO ont des conséquences néfastes sur les cellules, mais elles jouent également un rôle crucial dans la régulation de nombreux processus physiologiques, y compris la signalisation cellulaire. Ils

sont générées localement et temporairement, ce qui provoque des modifications des protéines, comme des phosphorylations ou des déphosphorylations, qui impactent les transducteurs du signal dans les voies de signalisation. La production régulière et élevée d'ERO, provoque un stress oxydant réel avec des changements irréversibles des lipides, des protéines et des acides nucléiques (Baudin, 2020).

3. Conséquences du stress oxydant

La surproduction de radicaux libres engendre des dommages directs aux molécules biologiques (oxydation de l'ADN, des protéines, des lipides, des glucides), ainsi que des dommages secondaires causés par les métabolites libérés, en particulier lors de l'oxydation des lipides. L'organisme a également la capacité de réagir à ces composés anormaux en produisant des anticorps, qui peuvent également être des autoanticorps, ce qui entraîne une troisième vague d'attaque chimique (Favier, 2003).

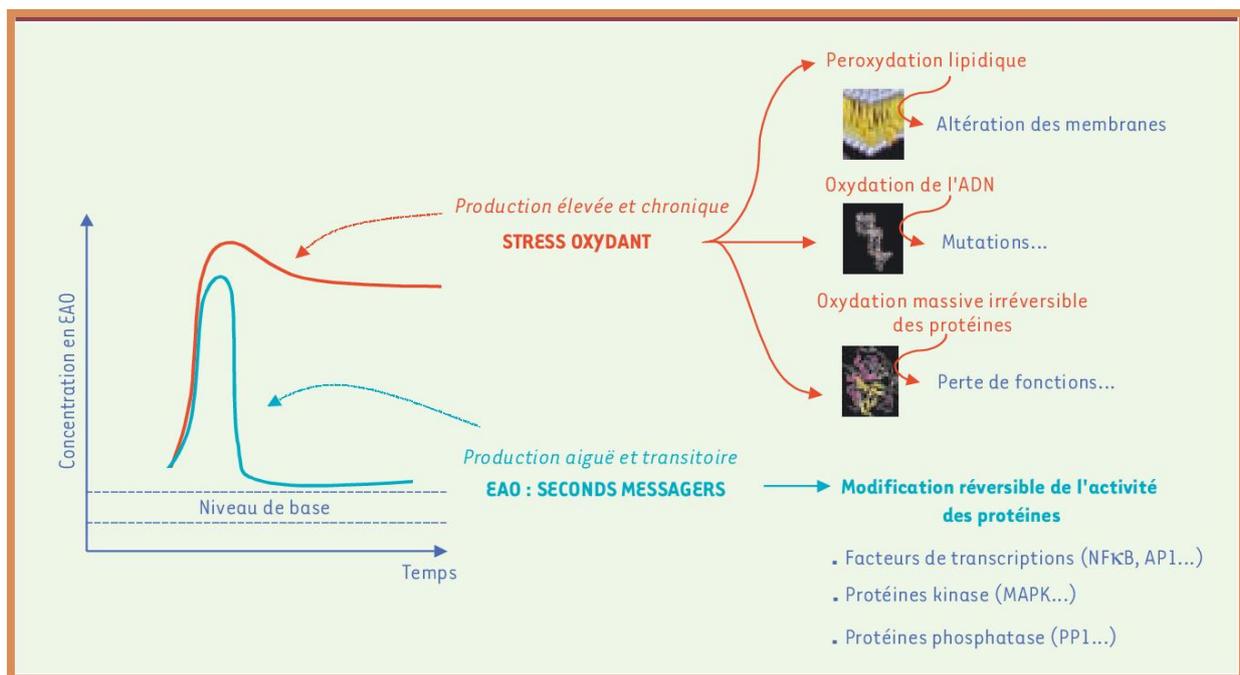


Figure 17: Conséquences des ERO sur les molécules biologiques (Carriere et al., 2006).

4. Radicaux libres

4.1. Définition

Il s'agit d'espèces chimiques qui ont un ou plusieurs électrons célibataires sur leur couche externe, ce qui leur permet d'être des molécules extrêmement réactives, toxiques et

responsables de nombreux dommages aux composants cellulaires de l'organisme (Ndiaye et al., 2018).

La cellule contient des quantités raisonnables de radicaux libres: leur concentration est contrôlée par l'équilibre entre leur production et leur élimination par les systèmes antioxydants. Toutefois, cet équilibre redox peut être perturbé soit par une surproduction des ERO, soit par une réduction des capacités antioxydantes. Le stress oxydant est alors évoqué (Bouden, 2018).

4.2. Formes des radicaux libres

Les espèces radicalaires se forment naturellement dans la cellule et ont un rôle spécifique dans sa physiologie. Les radicaux primaires sont transformés en radicaux secondaires par certaines réactions sur les composés biochimiques de la cellule. Cependant, il existe d'autres catégories basées sur le type de radicaux, qui sont classées en deux groupes principaux : des radicaux dérivés de l'oxygène (ERO) et d'autres atomes tels que l'azote (Espèces réactives de l'azote ERN) (Yan, 2014).

4.2.1. Espèces réactives de l'oxygène (ERO)

En tant qu'intermédiaires de réduction de l'O₂, des ERO sont créées, telles que l'anion superoxyde (O₂⁻), le radical hydroxyle (OH•), le peroxyde d'hydrogène (H₂O₂). ces ERO ont la capacité de causer des dommages aux macromolécules cellulaires (ADN, ARN, protéines et lipides), ce qui peut entraîner des dommages à la membrane, une diminution de la fonction des protéines, un blocage de la réplication de l'ADN et des mutations (Hug & Johnson, 2019).

a. Les ERO radicalaires

a.1. Anion superoxyde (O₂⁻)

Il s'agit du produit de l'incorporation d'un seul électron dans une molécule d'O₂ qui était à l'état essentiel. C'est un modèle pour les autres ERO. Il se trouve généralement dans la mitochondrie et possède une durée de vie de deux fois plus longue, ce qui facilite sa diffusion dans la cellule (Gutowski & Kowalczyk, 2013).

a.2. Radical hydroxyle (OH•)

L'oxydant le plus puissant des ERO est le radical hydroxyle OH•, qui possède une constante de vitesse assez élevée. Le OH• est une espèce qui agit sur des substrats dans son environnement de production, qui n'a pas de cibles privilégiées et qui vit très peu. Il peut

provoquer l'oxydation d'un substrat en utilisant trois méthodes différentes : un électron arraché, un atome d'hydrogène arraché sur un substrat organique ou une addition sur une double liaison. Les deux dernières approches entraînent la création de radicaux axés sur le carbone (Migdal & Serres, 2011).

a.3. Radicaux alkyles (R•) et peroxydes (ROO•)

Les radicaux alkyles occupent une place centrale dans la production des ERO. Les OH• sont responsables de l'oxydation des chaînes d'acides gras polyinsaturés (RH). Les radicaux R• et ROO• sont responsables des phénomènes radicalaires en cascade, notamment de la peroxydation des lipides (St-Louis, 2011).

b. Les ERO non radicalaires

b.1. Peroxyde d'hydrogène (H₂O₂)

Le peroxyde d'hydrogène est trouvé naturellement dans les organismes aérobies. Le H₂O₂ joue le rôle d'une molécule de signalisation ou provoque des dommages oxydatifs aux biomolécules, une situation connue sous le nom de stress oxydatif. Cette condition varie en fonction du contexte cellulaire, de sa concentration locale et de la vitesse à laquelle il est produit et éliminé (Lismont et al., 2019).

Tableau 06: Principales espèces réactives de l'oxygène ERO (Martemucci et al., 2022).

Radicaux libres	Espèces réactives non radicalaires
Superoxyde (O ^{•-})	Peroxyde d'hydrogène (H ₂ O ₂)
Hydroxyle (OH)	Ozone (O ₃)
Hydroperoxyde (HO ₂)	Oxygène singulet (O ₂)
Peroxyde (ROO)	Acide hypochloreux (HOCl)
Hydroperoxyde organique (ROOH)	Peroxynitrite (ONOO ⁻)

4.2.2. Espèces réactives de l'azote (ERN)

Les ERN se composent d'une combinaison de molécules d'azote résistantes et de radicaux libres tels que l'oxyde nitrique (NO) et le dioxyde d'azote (NO₂). Les radicaux libres sont les radicaux d'oxyde nitrique (NO) et les radicaux de dioxyde d'azote (NO₂), tandis que

les éléments non-radicaux sont le nitrite (NO_2^-) et le nitrate (NO_3^-). L'oxyde nitrique (NO) et l'anion superoxyde (O_2^-) sont réunis pour synthétiser les ERN (**Tanaka & Vécsei, 2020**).

Tableau 07 : Principales espèces réactives de l'azote ERN (**Martemucci et al., 2022**).

Radicaux libres	Espèces réactives non radicalaires
Monoxyde d'azote (NO)	Acide nitreux (HNO_2)
Dioxyde d'azote (NO_2)	Anion nitroxylique (NO^-)
Radical nitrate (NO_3^-)	Peroxynitrite (ONOO^-)

5. Les antioxydants

5.1. Définition

Les antioxydants sont des substances capables de neutraliser les radicaux libres indésirables. Il s'agit de molécules qui inhibent ou retardent l'oxydation en empêchant l'apparition ou la diffusion des chaînes de réactions oxydatives (**Bourgou, 2016**).

Ils sont classés selon leur origine en deux groupes: les antioxydants enzymatiques et les antioxydants non enzymatiques (**Beaudeau et al., 2006**).

5.2. Les antioxydants enzymatiques

En utilisant des cofacteurs comme le fer, le zinc et le cuivre, les antioxydants enzymatiques agissent en transformant les produits métaboliques oxydés en peroxyde d'hydrogène (H_2O_2), puis en eau (**Moussa et al., 2020**).

La superoxyde dismutase, la catalase et le glutathion peroxydase sont les principaux systèmes enzymatiques antioxydants les plus performants chez les mammifères et les plantes (**Zibouche & Grimes, 2016**).

5.2.1. Superoxyde dismutase (SOD)

Dans la plupart des organismes aérobies, ainsi que dans certains organismes non aérobies, la SOD est une enzyme capable de transformer le radical superoxyde (O_2^-) en peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) et en oxygène. Étant donné que le radical superoxyde est le premier radical libre qui se forme après la réduction de l'oxygène dans de nombreux systèmes biologiques, la SOD est perçue comme la première protection contre les plantes empoisonnées par le stress oxydatif et leur réduction (**AL-Aloosy et al., 2019**).

5.2.2. La catalase (CAT)

Il s'agit d'une enzyme présente principalement dans les peroxysomes, dans les hépatocytes, les érythrocytes et les macrophages. Son action consiste à transformer le peroxyde d'hydrogène en oxygène et en eau (Sharma *et al.*, 2012).



Quatre chaînes polypeptides composent cette enzyme, chacune contenant un atome de fer sous forme ferrique (Fe^{3+}). Ces derniers sont les endroits où cette enzyme est active (Menvielle-Bourg, 2005).

5.2.3. Glutathion Peroxydase (GPX)

La glutathion peroxydase (GSH-Px) est une enzyme composée de quatre sous-unités qui renferment chacune un atome de sélénium incorporé dans une molécule de sélénocystéine. En présence de glutathion réduit (GSH), la GSH-Px joue un rôle crucial dans la diminution du H_2O_2 , ce qui protège les membranes et les protéines cellulaires contre le stress oxydatif (Zibouche & Grimes, 2016).



Le SOD joue un rôle essentiel en catalysant la transformation des ions superoxydes en peroxyde d'hydrogène et en oxygène. Le peroxyde d'hydrogène est converti en eau et en oxygène par la catalase, qui se trouve principalement dans les peroxysomes et dans les érythrocytes. En présence de glutathion, la glutathion peroxydase (GPx) neutralise le peroxyde d'hydrogène. D'autres enzymes telles que la glutathion réductase, la thioredoxine réductase et la glutathion transférase jouent un rôle important dans la lutte antioxydante (Lubrano & Balzan, 2015).

5.3. Les antioxydants non enzymatiques

Certaines substances chimiques à faible poids moléculaire jouent le rôle d'antioxydantes, mais leur fonction n'est pas la catalyse. Deux types d'antioxydants non enzymatiques existent : les antioxydants non enzymatiques endogènes (si la cellule eucaryote peut les produire) et les antioxydants non enzymatiques exogènes (par nourriture) (Sharifi *et al.*, 2020).

5.3.1. Les antioxydants non enzymatiques endogènes

Divers réducteurs endogènes peuvent être utilisés pour protéger l'organisme contre les radicaux libres, tels que la bilirubine, l'acide urique, la coenzyme Q, la mélatonine et l'acide lipoïque (Sharifi et *al.*, 2020).

5.3.2. Les antioxydants non enzymatiques exogènes**a. Vitamine A**

C'est une vitamine liposoluble présente en grande quantité dans l'organisme, principalement dans le foie, où elle est stockée. Les rétinoïdes (rétinol, trétinoïne...) et les provitamines A (α - et β - carotènes) sont classés en deux groupes (Desmier, 2016).

b. Vitamine C

La vitamine C, également appelée acide ascorbique, est soluble dans l'eau et est considérée comme l'antioxydant naturel le plus efficace. Les agrumes, les kiwis et les légumes (brocolis, chou-fleur) sont les aliments les plus riches en vitamine C. En phase aqueuse, elle capte les radicaux pyroxylés avant qu'ils ne provoquent la réaction de peroxydation lipidique, ce qui protège les membranes et les lipoprotéines (Gülcin, 2012).

c. Vitamine E

La vitamine E joue un rôle essentiel en tant qu'antioxydant dans les membranes cellulaires, notamment celles des mitochondries. Elle intervient directement sur une multitude d'ERO afin de créer un radical peu réactif. Ensuite, la conversion de la vitamine E oxydée par la vitamine c et d'autres molécules telles que la vitamine A sera possible (Kada, 2018).

d. Caroténoïdes

Les caroténoïdes sont constitués de polyènes avec de longues doubles liaisons conjuguées, ce qui leur confère des propriétés antioxydantes. Leur action consiste à neutraliser l'oxygène singulet et à éliminer les radicaux, ce qui permet de mettre fin aux réactions en cascade. Leurs propriétés antioxydantes, qui découlent de leurs interactions physiques et chimiques avec les membranes cellulaires, peuvent expliquer les bénéfices biologiques des caroténoïdes (Torres et *al.*, 2022).

e. Sélénium

Le sélénium (Se) joue un rôle essentiel dans le fonctionnement de l'organisme. Il est essentiel pour préserver les cellules et les éléments qui les constituent d'une attaque radicale.

Il est aussi utilisé pour détoxifier et neutraliser les métaux lourds (cadmium, mercure, plomb) ou pour stimuler l'oxydation des xénobiotiques organiques. Le (Se) se trouve dans les aliments contenant des protéines animales (viandes, œufs, poissons, lait), dans les céréales et certains fruits secs (Delattre et al., 2005).

La figure ci-dessous représente les différents antioxydants et leur mécanisme d'action.

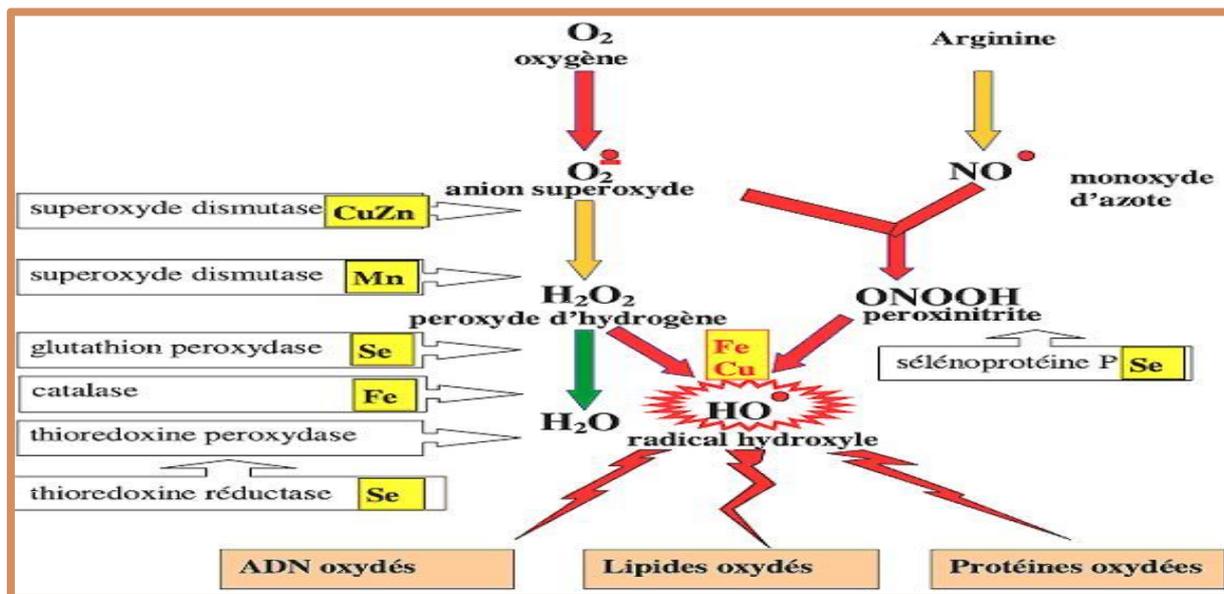


Figure 18: Le mode d'action des principaux systèmes enzymatiques antioxydants et de leurs cofacteurs métalliques (favier, 2003).

f. Composés phénoliques

Les composés phénoliques forment une grande famille d'antioxydants présents dans les plantes. Environ 1g de polyphénols sont apportés quotidiennement par l'alimentation, principalement grâce aux fruits et, dans une moindre mesure, aux légumes et aux céréales. Les flavonoïdes sont présents dans les fruits rouges et le vin rouge, dans les agrumes, l'huile de lin et dans le vin, le thé, le chocolat, les pommes, les oignons et les algues brunes sous forme d'anthocyanine. Dans l'ensemble, ils sont des piègeurs efficaces des EOA (Espèces oxygénées activées) et des chélateurs très efficaces des métaux de transition tels que le fer et le cuivre (Haleng et al., 2007).

Ils ont montré leur capacité à agir comme des antioxydants naturels en neutralisant les radicaux libres. De plus, ils ont la capacité de chélater les ions de métaux de transition, ce qui empêche ces derniers de catalyser la peroxydation lipidique. L'activité antioxydante a été

démontrée par des composés phénoliques tels que l'acide gallique, le trans-résvératrol, la fisétine, la quercétine et son glycoside, la rutine (Ndhala *et al.*, 2010).

6. Méthodes d'évaluation de l'activité antioxydante (*in vitro*)

Afin d'évaluer l'activité antioxydante, différentes méthodes sont utilisées, chacune d'entre elles étant nommée en fonction du matériel utilisé comme source de radicaux libres tels que ORAC (oxygen radical absorbance capacity), FRAP (Ferric reducing antioxidant power), TEAC (Trolox équivalent antioxidant capacity) ou ABTS (2,2-azinobis 3 ethyl benzo thiazoline 6- sulphonate), DPPH+ (2,2- diphényl-1-picrylhydrazyl), Blancissement de la bêta-carotène (β -carotene bleaching method), CUPRAC (la capacité antioxydante par réduction du cuivre), TRAP (Total radical-trapping antioxidant parameter), Activité de peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) (Georgeva *et al.*, 2010).

Ces tests sont classés en deux catégories: ceux qui mesurent le transfert d'électrons ou d'hydrogène à un radical coloré stable et facile à détecter, et ceux qui impliquent une compétition entre l'antioxydant et une cible à protéger (pigments, lipides) (Bensouici, 2015).

6.1. Piégeage des radicaux libres DPPH

Le DPPH (ou 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl) est un radical qui persiste à température ambiante et présente une couleur bleu-violette caractéristique (Fadili *et al.*, 2015).

Sa structure comprend un électron non apparié sur un atome du pont azote-azote. Il se décolore lorsque l'électron isolé s'associe (Fig. 19) (Molyneux, 2004).

Le niveau d'efficacité d'un antioxydant peut être évalué en fonction de sa capacité à réduire le radical, ce qui peut être observé par le changement de couleur passant du bleu-violet (forme oxydée) au jaune (forme réduite) (Kaya *et al.*, 2014; Fadili *et al.*, 2015).

La concentration en antioxydants est inversement liée à la diminution de l'absorbance, en raison de la réduction de l'intensité de la coloration de la solution DPPH, mesurée à 515-518 nm (José *et al.*, 2013).

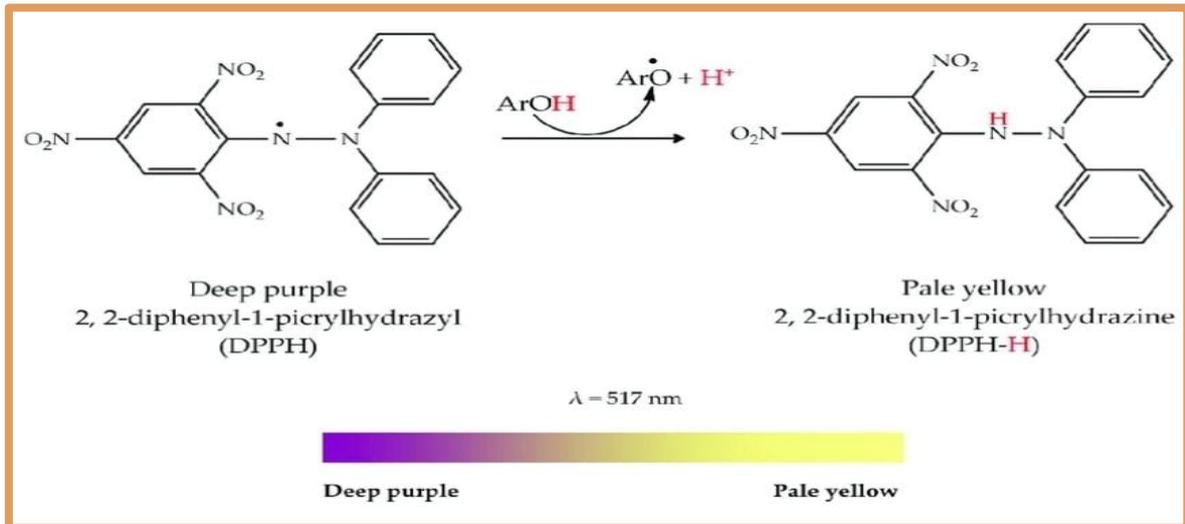


Figure 19: Réduction du radical libre DPPH• en DPPH,H (Sadeer et al., 2020).

6.2. Réduction du fer par la méthode de FRAP

Ce procédé évalue la capacité des extraits à diminuer le taux du fer ferrique (Fe^{3+}) présent dans le complexe de ferricyanure de potassium eu fer ferreux (Fe^{2+}). En présence d'un atome d'électron, la couleur du fer ferreux varie du jaune au bleu ou au vert (Habibou et al., 2019).

L'activité antioxydante est liée à la variation de la coloration du jaune au bleu ou au vert. Une simple mesure de l'absorbance à 700 nm permet de déterminer le pouvoir réducteur (Romanet et al., 2019).

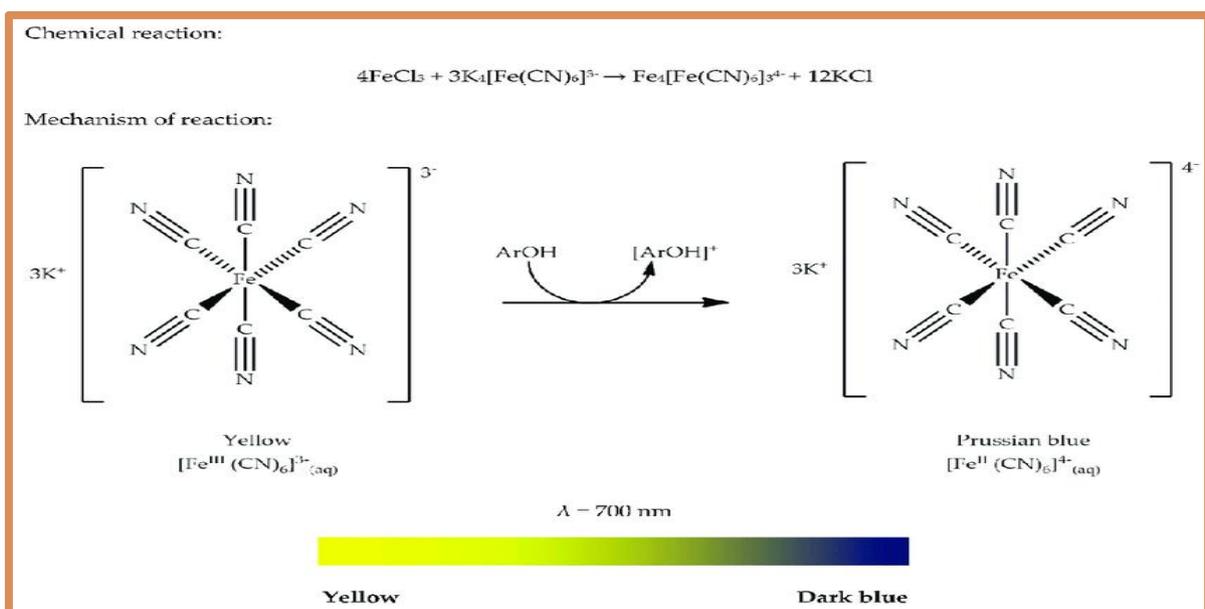


Figure 20: Schéma de la réaction de test FRAP (Sadeer et al., 2020).

6.3. Test de blanchissement par bêta-carotène

La capacité antioxydante de ce test est évaluée en mesurant l'inhibition des composés organiques volatils et des radicaux peroxydes conjugués produits par l'oxydation de l'acide linoléique. Après l'oxydation de ces radicaux, le bêta-carotène perd sa couleur rouge (Fig. 21), ce qui est suivi par une spectrométrie à 470 nm (Tepe et al., 2005).

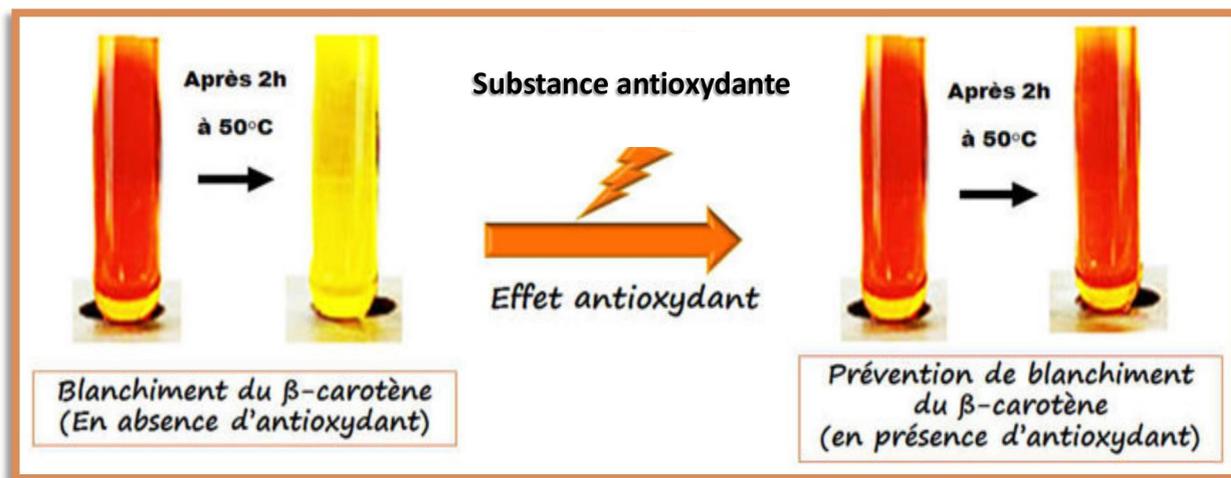


Figure 21: Teste de β -carotène/acide linoléique en absence et en présence d'antioxydant (Dib, 2017).

6.4. Test de la capacité anti-oxydante par réduction du cuivre (CUPRAC)

La technique CUPRAC (Capacité de réduction de l'antioxydant par l'ion Cupric) repose sur le suivi de la réduction de l'absorbance accrue du complexe Néocuproïne (Nc), cuivre (Cu^{2+}) [Nc2-Cu^{2+}]. Effectivement, lorsque le complexe cuivre-néocuproïne est présent en présence d'un agent antioxydant, cette réaction est mesurée par spectrophotométrie à une longueur d'onde de 450 nm (Fig. 22) (Apak et al., 2004).

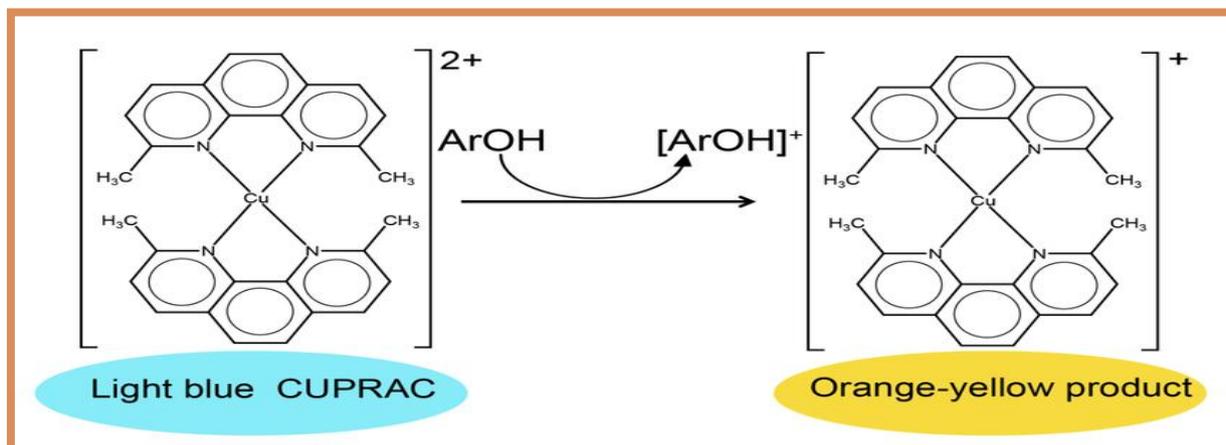


Figure 22: Réduction du complexe chromogène de Cu^{2+} -Nc (Massoud *et al.*, 2022).

6.5. Test de réduction d'ABTS

La méthode proposée par Miller et Rice-Evans (1993) repose sur la capacité des antioxydants à neutraliser le radical ABTS (sel d'ammonium de l'acide 2,2'-azinobis-(3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique). Le cation $\text{ABTS}^{\bullet+}$ est obtenu par mélange de l'ABTS avec un oxydant (généralement le persulfate de potassium) qui donne une solution d'un bleu intense. La capacité antioxydante est évaluée en fonction de la capacité des composés testés à réduire l'intensité de la coloration obtenue à partir de l'ABTS en le comparant à un antioxydant de référence, acide ascorbique.

La réduction de l'ABTS entraîne une décoloration du bleu vert de la solution du cation ABTS^+ , mesurée à 645 - 734 nm. Plus l'absorbance finale est faible, plus la capacité antioxydante est élevée, c'est-à-dire plus l'antioxydant est efficace (Vuolo *et al.*, 2019).

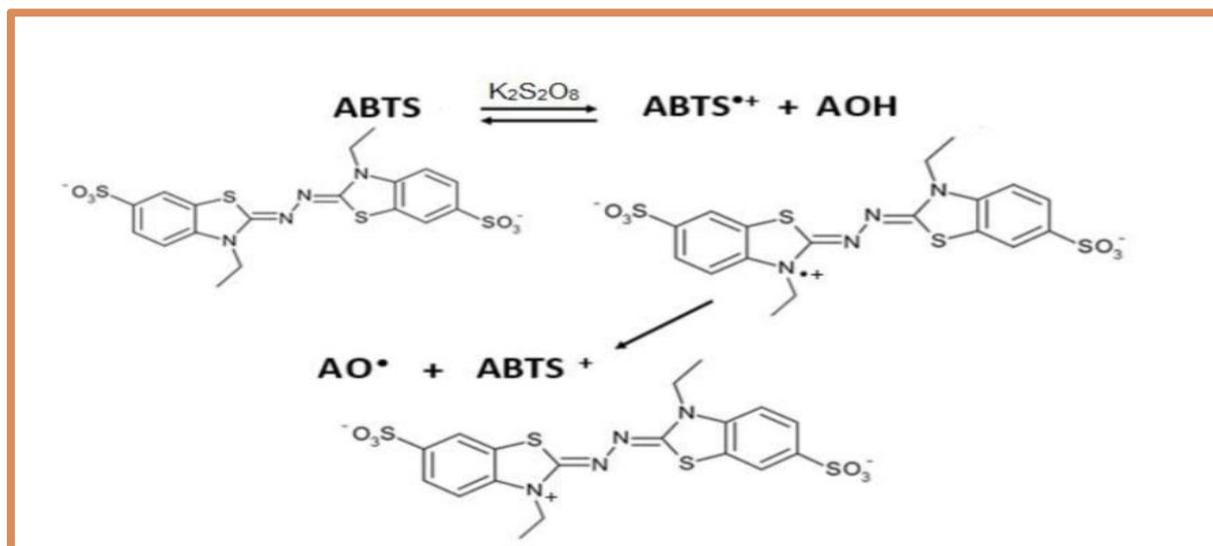


Figure 23: Formation et piégeage du radical $\text{ABTS}^{\bullet+}$ par un antioxydant donneur de H (Besnard, 2017).

6.6. Test ORAC (Oxygen Radical Absorbance Capacity)

Cette méthode repose sur la quantification de la dégradation oxydative d'une molécule fluorescente après l'ajout d'un générateur de radicaux libres, le 2,2'-azobis (2-amidinopropane) (AAPH), donc elle est basée sur l'évaluation de la réduction de la fluorescence (Desmier, 2016).

Les radicaux libres sont responsables de la dégradation optique de la molécule active,

ce qui entraîne une perte de sa propriété émissive et une diminution de la fluorescence du milieu. L'ajout de composés antioxydants efficaces devrait permettre le piégeage des radicaux libres et protéger la molécule fluorescente. Après avoir ajouté le générateur des radicaux libres, le milieu sera analysé par spectrofluorimétrie pendant 35 minutes, ce qui permettra de lier l'intensité de fluorescence à la concentration du milieu (Desmier, 2016).

6.7. Piégeage du peroxyde d'hydrogène (H₂O₂ scavenging activity)

La capacité de piégeage du peroxyde d'hydrogène est évaluée à partir de l'absorption de cette molécule dans le domaine de l'ultraviolet.

La diminution de la concentration du H₂O₂ par les composés piégeurs entraîne également une diminution de l'absorbance de ce dernier à 230 nm. Cependant, il n'est pas surprenant que les échantillons absorbent aussi à cette longueur d'onde, ce qui nécessite une mesure blanche (Malgalhaes et al., 2008).



6.8. Méthode de TRAP (Total radical-trapping antioxidant parameter)

Son principe est basé sur la capacité des antioxydants à entraver la réaction entre les radicaux peroxydes et une molécule ciblée. Cette dernière correspond à l'oxygénation (en tant qu'échantillon) dans le processus de peroxydation provoqué par la décomposition thermique du dihydrochlorure de 2,20-azobis (2-amidinopropane)(ABAP). Le temps de retard de l'absorption d'oxygène, appelé période d'induction, peut être évalué de manière quantitative et utilisé pour représenter la capacité totale d'antioxydation des échantillons en utilisant la valeur TRAP (Munteanu & Apetrei, 2021).

DEUXIÈME PARTIE

Étude expérimentale

Matériel et méthodes

MATÉRIEL ET MÉTHODES

La réalisation de cette étude expérimentale a eu lieu au sein du laboratoire de recherche «Antibiotiques Antifongiques: physico-chimique, synthèse et activité biologique » (LAPSAB), Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Science de la Terre et de l'Univers, Université Abou Bekr Belkaïd en Algérie.

La présente étude a pour but de réaliser une analyse phytochimique de quatre extraits de *Bertholletia excelsa* et d'évaluer leur activité antioxydante.

Comprend trois axes:

- ❖ Le premier axe: préparation et extraction de matériel végétal de noix brésilienne.
- ❖ Le deuxième axe: Analyses physico-chimique des huiles.
- ❖ Le troisième axe: Analyse phytochimique qualitative et quantitative des extraits (bruts, huiles) préparés.
- ❖ En fin, le quatrième axe concerne l'évaluation de l'activité antioxydante par deux méthodes (DPPH et FRAP).

1. Matériel végétal

Des noix du Brésil entières ont été achetées chez un herboriste à Abou Tachefine - Tlemcen en mars 2024. L'échantillon est ensuite coupé en petits morceaux (concassé) (**Fig. 24**), et ils ont été conservés à une température ambiante jusqu'à leur utilisation.



Figure 24: Noix du Brésil entière et concassée (Photo prise au laboratoire).

2. Extraction du matériel végétal

2.1. Préparation des extraits

Deux types d'extraction ont été réalisés :

a. Extraits bruts

Extraction sous reflux: 20 g de matière végétale est mise en contacte avec 200 mL d'un mélange eau/éthanol (20/80: v/v) d'une part et 200 mL d'eau distillée d'autre part. Les deux mélanges sont portés à un reflux pendant 1h. après refroidissement, les deux mélanges résultant ont été filtrés par un papier filtre ensuite l'extrait Hydro-éthanolique a été évaporé à l'aide d'un rota-vapeur jusqu'à l'obtention d'un résidu concentré et l'extrait aqueux été versé dans des boites de pétris et placés dans une étuve à 37°C, ensuite récupération de l'extrait brut et stockage à 4°C jusqu'à utilisation.

b. Extraction des huiles

Extraction par Soxhlet: 20 g de matériel végétal a été mis dans une cartouche ensuite porté à une extraction par le soxhlet en présence de deux solvants différents (Hexane, Acétone), l'extraction dure 3 h 30 min. Les extraits obtenus ont été filtrés à l'aide d'un papier filtre et les différents filtrats ont été concentrés dans un évaporateur rotatif, les huiles obtenues ont été conservées jusqu'à leur utilisation dans notre partie expérimentale.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

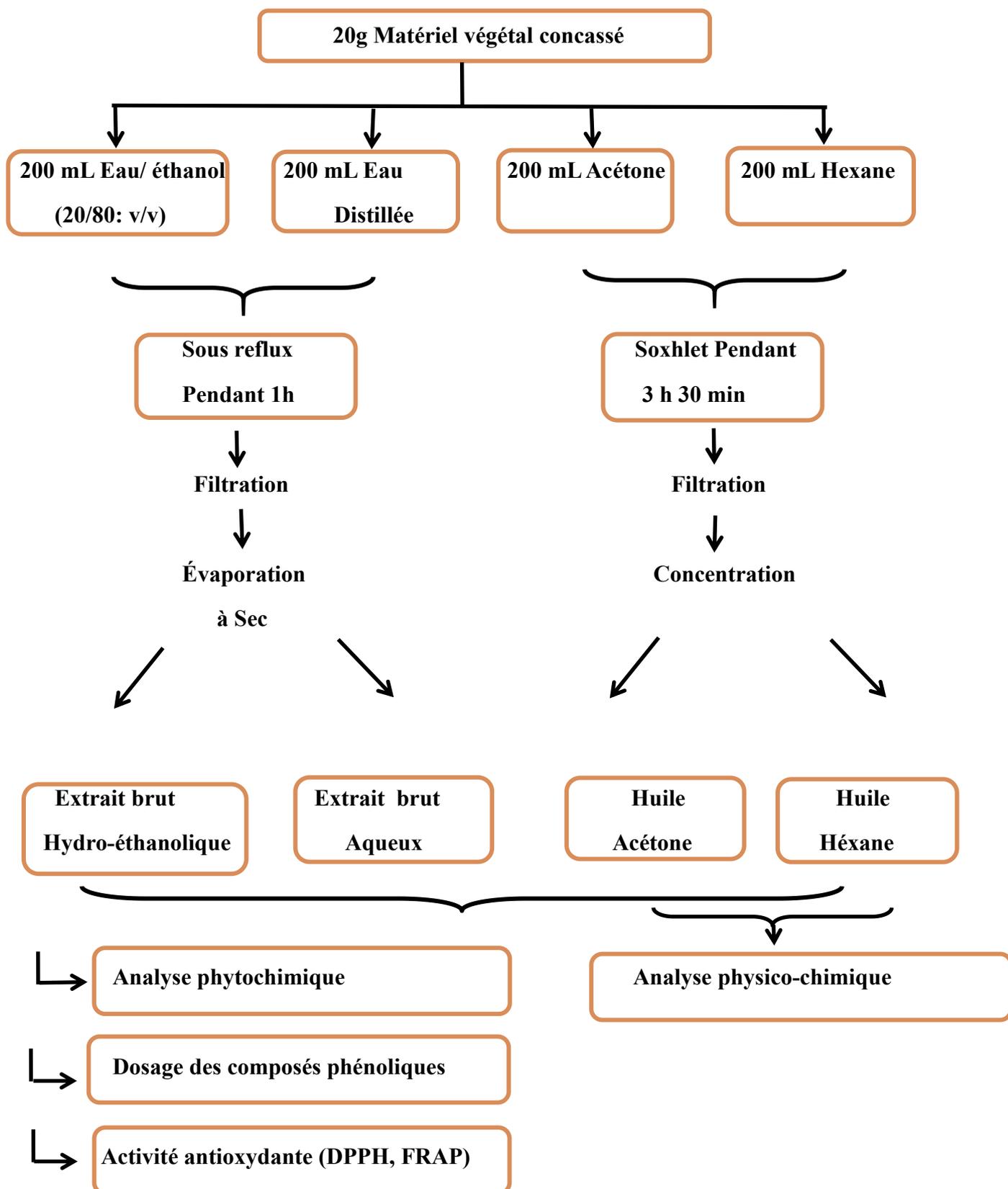


Figure 25: Le protocole expérimental réalisé sur la noix de *Bertholletia excelsa*.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

2.2. Calculs des rendements des extraits et des huiles

Le rendement de différents extraits obtenus à partir de la matière végétale sèche a été calculé selon la formule:

$$R (\%) = (m / M) \times 100$$

R%: Rendement en pourcentage

m : Masse en gramme de l'extrait brut sec ou l'huile

M: Masse en gramme de matière végétale sèche

3. Screening phytochimique

Pour déterminer la présence ou l'absence de certains composés des familles chimiques des métabolites, des tests préliminaires phytochimiques qualitatifs ont été réalisés pour les quatre extraits selon les techniques décrites par (**Harbone, 1998; Bruneton, 1999**).

3.1. Les tanins

Afin de mettre en évidence les tanins, on a mélangé 1 mL de chaque extrait avec 0,25 mL d'une solution aqueuse de $FeCl_3$ (1 %), puis on a incubé le mélange à température ambiante pendant 15 minutes. La présence d'une teinte bleu-noirâtre ou verdâtre signale la présence des tanins.

3.2. Les flavonoïdes

Pour tester la présence des flavonoïdes dans un échantillon, nous avons ajoutés 1ml d'acide chlorhydrique concentré (HCL) à chaque volume d'extrait, suivi de quelques copeaux de magnésium. Les flavonoïdes sont présents lorsque la couleur est rouge, orange ou rose.

3.3. Les quinones libres

Dans un tube à essai, on a ajouté 0,1 mL d'hydroxyde de sodium (NaOH à 1 %) à 1 mL de chaque extrait à analyser. L'apparition d'une couleur jaune, rouge ou violette signale la présence des quinones libres.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

3.4. Les anthraquinones

Dans un tube à essai, nous avons introduit 1 mL de l'extrait à analyser et ajouté 1 mL de NH_4OH (10%). L'apparition d'une coloration violette après agitation indique la présence des anthraquinones.

3.5. Les terpénoïdes

D'après le test de Slakowski, les terpénoïdes ont été identifiés en ajoutant 0,4 mL de chloroforme et 0,6 mL d'acide sulfurique concentré à 1 mL d'extrait. Si la réaction est positive, cela se traduirait par la formation de deux phases et une coloration marron à l'interphase.

3.6. Les saponosides

Pour réaliser une analyse de la présence de saponines dans un échantillon, il faut verser 10 mL de l'extrait à tester dans un tube à essai, puis de bien agiter le mélange avant de le laisser reposer pendant une période de 10 et 20 minutes. Si une couche de mousse d'une hauteur supérieure à 1 cm se forme à la surface du mélange, cela témoignerait de la présence de saponines.

3.7. Les alcaloïdes

Dans un premier temps, verser 0,5 mL de l'extrait à examiner dans deux tubes à hémolyse distincts. Ensuite, acidifiez le contenu de chaque tube avec quelques gouttes d'acide chlorhydrique à 1%. Ensuite, ajouter 0,5 mL de réactif de Mayer dans le premier tube et 0,5 mL de réactif de Wagner dans le second. Si un précipité blanc se forme dans le premier tube ou un précipité brun dans le second tube, cela indiquerait la présence d'alcaloïdes.

3.8. Les composés réducteurs

Pour détecter les sucres réducteurs, On ajoute 1 mL d'extrait dans un tube à essai plus 2 mL de liqueur de Fehling, composé de 1 mL de réactif A et 1 mL de réactif B. Puis, l'ensemble a été placé dans un bain-marie bouillant pendant 10 minutes. Un précipité rouge brique apparaît lorsque les composés réducteurs sont présents.

4. Analyse physico-chimiques

4.1. Densité relative

MATÉRIEL ET MÉTHODES

a. Définition

Le critère physique de l'indice de densité est perçu comme un indicateur de pureté de l'huile extraite (Djeziri, 2012).

La densité des matières grasses dépend non seulement de l'insaturation, mais aussi de l'oxydation ou de la polymérisation (la densité augmente avec l'augmentation de ces dernières) (Bahrami et al., 2001).

b. Principe

Volume d'huile bien déterminé (1 mL) est pesé dans un bécher, puis le même volume d'eau distillée (1 mL) est pesé. La densité est déterminée en utilisant la formule ci-dessous (CACQE, 2002).

$$\text{Densité} = m / m'$$

m: Masse de 1 mL d'huile

m': Masse de 1 mL d'eau

4.2. Indice d'acide

a. Définition

L'acidité d'un corps gras est la quantité d'acides gras libres présents dans celui-ci. Il est l'exprime par le taux de l'acide gras libre le plus élevé présent dans le corps gras. C'est un bon indicateur pour déterminer son altération (Chunhieng, 2003; Novidzro et al., 2019).

b. Principe

La méthode implique de neutraliser les acides libres en utilisant une solution alcoolique d'hydroxyde de potassium ou de sodium titrée (Onyeike & Acheru, 2002).

c. Mode opératoire

D'après la méthode énoncée dans la réglementation CEE/2568/91. Un gramme d'huile à analyser et 5 mL d'éthanol sont mélangés dans un bécher. Puis quelque gouttes d'un indicateur coloré phénolphaléine est ajoutés. La solution est titrée avec le KOH à 0,1N jusqu'à l'apparition d'une coloration rose persistante (10 secondes). Un témoin a été réalisé dans les mêmes condition.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

d. Calcul

Chaque essai est répété 3 fois et l'acidité exprimé en pourcentage d'acide oléique, qui se définit comme suit:

$$\text{Acidité (AC)\% (d'acide oléique)} = (V-V_0) * (N * M / 10 * m)$$

V : Volume en millilitre de KOH nécessaire pour neutraliser l'échantillon.

V₀: Volume en millilitre de KOH nécessaire pour neutraliser le blanc.

N : Normalité de l'hydroxyde de potassium.

M : Masse molaire (g/mL) d'acide oléique qui est égale à 282 g/mL.

m : Masse en gramme de la prise d'essai.

4.3. Indice de saponification

a. Définition

L'indice de saponification permet de déterminer la longueur de la chaîne carbonée des acides dans l'huile (Sbai & Tayebi, 2021).

b. Principe

Lorsqu'un ester est traité avec la potasse assez concentrée et chaude, il est soumis à une réaction complète d'alcool et de sel de potassium, ce qui donne naissance à des ester (Bourachouche & Boudei, 2017).

c. Mode opératoire

- ❖ Un gramme d'huile à analyser est introduit dans un ballon à fond rond puis 25 mL de solution de KOH (0,5M). Le mélange est met en ébullition dans un chauffe ballon surmonté d'un réfrigérant à reflux pendant une heure.
- ❖ Àpre refroidissement, quelques gouttes de l'indicateur coloré (phénolphtaléine) sont ajouté au mélange a fin de titrer la solution avec de l'acide chlorhydrique HCl à 0,5 N jusqu'à la disparition de la couleur rose et réapparition de la couleur initiale du mélange (transparente).
- ❖ Un témoin (sans matière grasse) est réaliser dans les même condition de l'échantillon.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

d. Calcul

Chaque essai est répété trois fois et l'indice de saponification est calculer selon la formule suivante.

$$IS = [M_{KOH} \times (V_0 - V_1) \times C_{HCL}] / m$$

V_0 : Volume d'HCl neutralisation de témoin en mL.

V_1 : Volume d'HCl neutralisation de l'échantillon en mL.

C_{HCL} : Concentration de la solution d'acide chlorhydrique en mol/l (0,5mol/ l).

M_{KOH} : Masse molaire du KOH en g/mol (56 g/mol).

m : Masse d'huile pesée en g.

4.4. Indice d'ester

L'indice d'ester (IE) correspond à la quantité de KOH requise pour saponifier les glycérides présents dans un gramme de matière grasse. IE n'est pas quantifiable. On le détermine en utilisant les deux indices IS (indice de saponification) et IA (indice d'acidité). C'est la différence entre l'indice de saponification et l'indice d'acidité (**Benaissa, 2017**).

$$IE = IS - IA$$

4.5. Indice de peroxyde

a. Définition

Le nombre d'oxygènes actifs dans les chaînes organiques d'un corps gras est étudié par l'indice de peroxyde. Le degré d'oxydation des acides gras insaturés de la matière grasse est mesuré par cet indice. Au fur et à mesure que celui-ci augmente, la matière grasse est oxydée (**M'baye et al., 2011**).

b. Principe

L'indice de peroxyde correspond à la quantité de substances présentes dans l'échantillon (exprimée en milliéquivalent d'oxygène actif par kilogramme) qui oxydent

MATÉRIEL ET MÉTHODES

l'iodure de potassium. Ce critère nous donne des informations sur le niveau d'oxydation des huiles (Bourachouche & Boudei, 2017).

c. Mode opératoire

La détermination de cet indice a été réalisée en suivant le protocole défini par le règlement CEE2568/91:

- ❖ Un volume de 1 g d'huile est ajouté à 10 mL de chloroforme et 15 mL d'acide acétique glacial ensuite un volume de 1 mL d'iodure de potassium KI est incorporé.
- ❖ Le mélange obtenu est bien agité pendant 1 minute et placé à l'abri de la lumière pendant 5 minutes.
- ❖ En fin, 75 mL d'eau distillée est rajouté en mélangeant vigoureusement le mélange en présence d'empois d'amidon.

Titrer avec le thiosulfate de sodium ($\text{Na}_2 \text{S}_2 \text{O}_3$) à 0,01N jusqu'à l'apparition de la couleur transparente et parallèlement effectuer un essai à blanc (sans huile).

d. Calcul

Chaque essai est répété 3 fois et l'indice de peroxyde IP est déterminé selon la formule :

$$\text{IP} = \frac{V - V_0}{m} \times 1000 \times N$$

N : Normalité $\text{Na}_2 \text{S}_2 \text{O}_3$

V : Volume en ml de $\text{Na}_2 \text{S}_2 \text{O}_3$ nécessaire pour le titrage de l'échantillon

V_0 : Le volume de thiosulfate de sodium requis pour titrer le blanc

m : Masse en gramme de la prise d'essai

5. Dosages des composés phénoliques

5.1. Dosages des polyphénols totaux

a. Principe

À fin de doser les polyphénols totaux en utilisant la méthode de Folin- Ciocalteu composé d'un mélange d'acide phosphotungstique $\text{H}_3[\text{P}(\text{W}_3\text{O}_{10})_4]$ et d'acide phosphomolybdique (H_3

MATÉRIEL ET MÉTHODES

PMo₁₂O₄₀) de couleur jaune. Ce réactif induit l'oxydation des composés phénoliques et la formation d'un complexe bleu tungstène (W₈O₂₃) - molybdènes (Mo₈O₂₃). L'absorbance a été mesurée à 700nm (Vermerris & Nicholson, 2007).

b. Mode opératoire

- ❖ 0,1 mL de chaque extrait a été mélangé avec 2 mL de la solution de carbonate de sodium (Na₂CO₃) à 2%.
- ❖ Les tubes ont été agités puis incubés pendant 5 min.
- ❖ 100 µL de réactif de Folin-Ciocalteu (1N) ont été ajoutés au mélange.
- ❖ Les tubes ont été incubés pendant 5 min à température ambiante.
- ❖ L'absorbance des solutions est mesurée à 700 nm à l'aide d'un spectrophotomètre contre un blanc.

En parallèle, une gamme d'étalonnage est réalisée en utilisant l'acide gallique à différentes concentrations (0,05 à 1 mg/mL) et dans les mêmes conditions expérimentales.

Ce test est réalisé en triplicate et les résultats sont exprimés en mg équivalent acide gallique par gramme d'extrait (mg EAG/g E).

5.2. Dosage des flavonoïdes

a. Principe

Le dosage des flavonoïdes implique la formation d'un complexe entre les flavonoïdes et deux réactifs, le chlorure d'aluminium (AlCl₃) et le nitrite de sodium (NaNO₂).

Ce complexe présente une couleur jaune avec le AlCl₃ et se transforme en une couleur rose en présence d'hydroxyde de sodium (NaOH), absorbant la lumière visible à une longueur d'onde de 510 nm (Ardestani & Yazdanparast, 2007).

b. Mode opératoire

- ❖ Dans des tubes à hémolyse, 500 µl de l'extrait ont été mis en contact avec 1 mL d'eau distillée et 150 µl du réactif NaNO₂ à 15 %,
- ❖ Les tubes ont été incubés pendant 6 min à température ambiante ,
- ❖ 150 µL de chlorure d'aluminium AlCl₃ à 10% ont été ajoutés au mélange,
- ❖ Après 6 min, 2 mL d'hydroxyde de sodium NaOH (4%) a été ajouté immédiatement et le volume total a été complété à 5 mL avec d'eau distillée ,

MATÉRIEL ET MÉTHODES

- ❖ La lecture des absorbances a été réalisée contre un blanc à l'aide d'un spectrophotomètre à 510 nm.

La gamme d'étalonnage est réalisée en parallèle dans les mêmes conditions opératoires en utilisant la catéchine comme contrôle positif à différentes concentrations (0,05 à 0,8 mg/mL).

Ce test est réalisé en triplicate et les résultats sont exprimés en mg équivalent catéchine par gramme d'extrait (mg EQC/g E).

5.3. Dosage des tanins condensés

a. Principe

Les tanins condensés ont été mesurés à l'aide de la méthode de la vanilline. En présence d'un milieu acide, ils se dépolymérisent et, en réagissant avec la vanilline et se transforment en anthocyanidols de couleur rouge mesurable par spectrophotomètre à 500 nm (Sun et al., 1998).

b. Mode opératoire

- ❖ 50 µl de chaque extrait a été mélangé avec 1500 µl d'une solution méthanolique de la vanilline (4%),
- ❖ Après agitation, un volume de 750 µl d'HCl concentré a été ajouté dans chaque tube,
- ❖ Le mélange a été laissé à température ambiante pendant 20 min,
- ❖ La lecture de l'absorbance a été réalisée contre un blanc à l'aide d'un spectrophotomètre à 550 nm.

La gamme d'étalonnage a été réalisée dans les mêmes conditions en utilisant la catéchine comme contrôle positif à différentes concentrations (0,5 à 5,5 mg/mL).

Ce test est réalisé en triplicate et les résultats sont exprimés en mg équivalent catéchine par gramme d'extrait (mg EQC/g E).

5.4. Expression des résultats

Les teneurs en polyphénols, en flavonoïdes et en tanins condensés ont été calculées selon la formule suivante :

$$T = a * f / b$$

MATÉRIEL ET MÉTHODES

T: Teneur

a: Concentration à partir de la courbe d'étalonnage respective

f: Facteur de dilution

b: Concentration initiale de l'extrait

6. Évaluation de l'activité antioxydante

6.1. Piégeage du radical libre DPPH•

a. Principe

Dans ce test les molécules ayant un potentiel antioxydant réduisent le radical libre relativement stable, Ce radical confère à la solution une couleur violacée qui absorbe aux environs de 515 nm. L'utilisation d'un agent antioxydant pour réduire les radicaux DPPH• provoque une décoloration de la solution en la transformant en jaune, ce qui entraîne une diminution de l'absorbance (**Atoui et al., 2005**).

b. Mode opératoire

- ❖ Un volume de 50 µl de différentes concentrations de chaque extrait est ajouté à 1950 µl de la solution méthanolique du DPPH (0,025 mg/mL) fraîchement préparée.
- ❖ Pour chaque concentration un blanc est préparé contenant 50 µl de chaque concentration d'extrait solubilisé dans 1975 µl du méthanol.
- ❖ le contrôle négatif est préparé en parallèle en mélangeant 50 µl du méthanol avec 1950 µl d'une solution méthanolique de DPPH à la même concentration utilisée.
- ❖ Après incubation à l'obscurité pendant 30 min et à température ambiante la lecture des absorbances est effectuée à 515 nm à l'aide d'un spectrophotomètre.
- ❖ Les contrôles positifs ont été testés dans les mêmes conditions expérimentales à différentes concentrations d'acide ascorbique (0,02 à 0,2 mg/mL), le BHA et le BHT (0,2 à 0,7mg/mL).

c. Calcul des pourcentages d'inhibition

Pour chaque concentration, le test a été répété 3 fois (triplicata) et les pourcentages d'inhibition sont calculés par la formule suivante :

MATÉRIEL ET MÉTHODES

$$\text{Inhibition (\%)} = [(A_{\text{cont}} - A_{\text{éch}}) / A_{\text{cont}}] \times 100$$

Inhibition (%) : Pourcentage d'inhibition.

A_{cont} : Absorbance du contrôle négatif.

A_{éch} : Absorbance de l'échantillon testé.

d. Calcul des IC₅₀

La concentration de l'échantillon nécessaire pour réduire 50 % du radical DPPH est appelée IC₅₀. Cette valeur est calculée à partir des régressions logarithmiques des graphes représentant les pourcentages des différentes concentrations des extraits ou contrôle positif (Gulcin, 2020).

6.2. La méthode FRAP (Ferric reducing Antioxydant Power)

a. Principe

Cette méthode repose sur l'analyse de la capacité des extraits à convertir l'ion ferrique (Fe³⁺) en ion ferreux (Fe²⁺). Le résultat de cette réduction est la formation d'une couleur verte qui absorbe à 700nm, dont l'intensité est proportionnelle au pouvoir réducteur (Topçu et al., 2007).

b. Mode opératoire

- ❖ 2.5 mL des différentes concentrations des extraits sont ajoutée à 2,5 mL d'une solution tampon phosphate (0,2 M: pH 6,6) et 2,5 mL d'une solution de ferricyanure de potassium (K₃[Fe(CN)₆]) à 10%.
- ❖ Les tubes sont incubés à 50°C pendant 20 min.
- ❖ Pour stopper la réaction, 2,5 mL d'acide trichloroacétique (TCA) à 10% est ajouté au mélange.
- ❖ Après avoir centrifugés les tubes à 3000 rpm pendant 10 minutes, 2,5 mL du surnageant sont mélangés à 2,5 mL d'eau distillée et 0,5 mL d'une solution de chlorure ferrique (FeCl₃) à 0,1%.
- ❖ La lecture de l'absorbance du milieu réactionnel a été faite à 700 nm contre un blanc semblablement préparé.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

- ❖ Les contrôles positifs ont été testés dans les mêmes conditions expérimentales à différentes concentrations d'acide ascorbique, le BHA et le BHT (0,1 à 1 mg/mL).

c. Calcul des EC₅₀

L'augmentation de l'absorbance correspond à une augmentation de la capacité de réduction de l'extrait.

Les résultats sont exprimés en EC₅₀ (concentration de l'extrait correspondant à une absorbance de 0,5), sont calculées à partir des régressions linéaires des graphes représentant les absorbances en fonction des concentrations des extraits ou des contrôles positifs (**Ferreira et al., 2007 ; Tamuly et al., 2014**).

7. Analyse statistique des données

Toutes les expériences ont été répétées trois fois. Les résultats ont été exprimés par le calcul de la moyenne ± ESM (erreur standard de la moyenne) à l'aide du logiciel Excel, tandis que les courbes ont été tracées à l'aide du logiciel Sigma Plot (12.0).

- ❖ **Moyenne:** $\bar{X} = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n X_i$
- ❖ **Ecart type :** $\sigma(x) = \sqrt{\frac{1}{n} \sum (X_i - \bar{X})^2}$
- ❖ **Erreur standard :** $ES = \frac{\sigma}{\sqrt{n-1}}$

DEUXIÈME PARTIE

Étude expérimentale

Résultats et interprétations

RESULTATS ET INTRPRETATION

1. Rendements des extractions

Les résultats du tableau 08 représentent le rendement, l'aspect, la couleur et le solvant de solubilisation des extraits bruts aqueux, Hydro-éthanolique et l'huile d'acétone et d'hexane des noix du Brésil *B. excelsa*.

Tableau 08: Rendements et certaines caractéristiques des extraits étudiés

Extraits	Rendement %	Aspect	Couleur	Solubilité
Aqueux	5,26	Pâte	Marron Claire	Eau/éthanol
Hydro-éthanolique	2,70	Visqueux (huileux)	Blanc cassé	Eau/Méthanol
Huile d'acétone	37,45	Huile	Jaune Pâle	Acétone
Huile d'hexane	35,17	Huile	Jaune Pâle	Méthanol

Les résultats obtenus montrent que le rendement varie considérablement entre les différents extraits bruts de noix du Brésil. Le rendement le plus élevé a été obtenu par l'extrait aqueux (5,26 %), tandis que le rendement le plus faible a été obtenu par l'extrait brut Hydro-éthanolique (2,70 %).

En ce qui concerne l'aspect et la couleur, l'extrait aqueux présente un aspect de pâte et une couleur marron claire alors que l'extrait Hydro-éthanolique présente un aspect visqueux et une couleur blanc cassé. Il est également intéressant de noter que l'extrait aqueux est soluble dans le mélange eau/éthanol et l'extrait Hydro-éthanolique est soluble dans le mélange eau/Méthanol.

Nous remarquons aussi que l'huile d'acétone se distingue par son rendement élevé de 37,45 % et soluble dans l'acétone. Ainsi l'huile d'hexane présente un rendement élevé de 35,17 % et soluble dans le méthanol. Les deux huiles présentent une couleur Jaune Pâle.

2. Étude phytochimique

Lorsque les réactifs spécifiques sont introduits, la présence des différentes classes de composés chimiques peut être détectée par des phénomènes tels qu'une turbidité, une floculation, une précipitation ou un changement de couleur.

RESULTATS ET INTRPRETATION

Le tableau ci-dessous résume les résultats de l'analyse phytochimique des différents extraits bruts et huiles de *B. excelsa*.

Tableau 09 : Résultat d'analyse phytochimique réalisée sur les noix de *Bertholletia excelsa*.

	tanins	flavonoïdes	quinones libres	Anthraquinones	terpénoïdes	saponosides	alcaloïdes	Composés réducteurs
Extrait aqueux	+	-	-	-	+++	+	+	-
Extrait Hydro-éthanolique	++	-	+	-	+++	-	-	-
Huile d'acétone	+	-	-	-	+++	-	+++	-
Huile d'hexane	+	-	-	-	+++	-	+++	-

(+++) Forte présence ; (++) Moyenne présence ; (+) Faible présence ; (-) Absence

D'après les résultats obtenus, les quatre extraits ont montrés une forte présence des terpénoïdes, mais pour les flavonoïdes et les anthraquinones, ainsi que les composés réducteurs étaient absents dans tous les extraits de *Bertholletia*.

Les tanins sont faiblement présents dans l'extrait aqueux, l'huile d'hexane, l'huile d'acétone et moyennement présent au niveau de l'extrait Hydro-éthanolique.

Pour les quinones libres sont faiblement présents dans l'extrait Hydro-éthanolique et absents dans les autres extraits. Par ailleurs, les saponosides ont été révélés uniquement dans l'extrait aqueux et absents dans les autres extraits.

Nous observons aussi que les alcaloïdes sont fortement présents dans l'huile d'acétone et l'huile d'hexane, faiblement détectés dans l'extrait aqueux et absents dans l'extrait Hydro-éthanolique.

3. Analyses physico-chimiques des huiles

Les résultats obtenus pour les caractères physico-chimiques de l'huile d'acétone et l'huile l'hexane de noix du *B. excelsa* sont regroupés dans le tableau 10.

RESULTATS ET INTRPRETATION

Tableau 10: Caractéristiques physico-chimiques des huiles de *Bertholletia excelsa*.

	Densité relative	Indice d'acidité (%)	Indice de saponification (mg KOH/g d'huile)	Indice d'ester (mg KOH/g d'huile)	Indice de peroxyde (meq O ₂ / kg)
Huile d'acétone	0,8743	0	185,13	185,13	0
Huile d'hexane	0,9242	0	199,15	199,15	0

Selon les résultats de tableau 10, la densité de l'huile d'hexane (0,924) est supérieure à celle de l'huile d'acétone (0,874).

Nous avons remarqué que l'huile d'acétone et l'huile d'hexane de *B. excelsa* étudiées présentent un indice d'acide et de peroxyde nulle. Cela indique que ces huiles sont fraîches donc on peut dire que ce sont des huiles de bonne qualité.

Les valeurs d'indice de saponification de l'huile d'acétone et l'huiles d'hexane sont (185,13 mg de KOH /g d'huile, 199,15 mg de KOH /g d'huile), respectivement.

La détermination de l'indice d'ester repose sur les deux indices de saponification et d'acidité (IA= 0) des huiles. On note une égalité entre l'indice de saponification et l'indice d'ester.

4. Teneurs en composés phénoliques

Les différents extraits bruts et huiles étudiés ont été soumis à une analyse quantitative afin d'évaluer leurs teneurs en polyphénols totaux, en flavonoïdes et en tanins condensés.

Les teneurs des composés phénoliques des différents extraits sont calculées à partir des équations des courbes d'étalonnage représentées sur les figures 26, 27 et 28.

Les teneurs en composés phénoliques sont exprimées en milligramme équivalent acide gallique par gramme d'extrait (mg EAG/gE) pour les polyphénols totaux et en milligramme équivalent catéchine par gramme d'extrait (mg EQC/gE) pour les flavonoïdes et les tanins condensés. Les résultats sont représentés dans le tableau 11.

RESULTATS ET INTRPRETATION

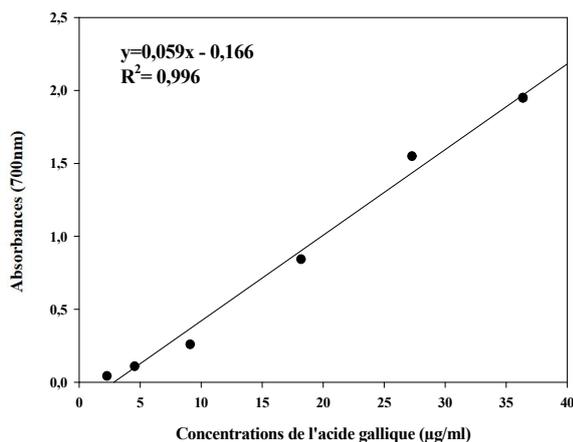


Figure 26: Courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des polyphénols totaux

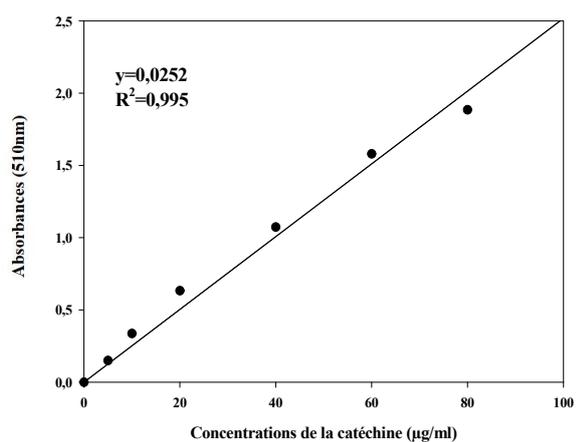


Figure 27: Courbe d'étalonnage de la catéchine pour le dosage des flavonoïdes

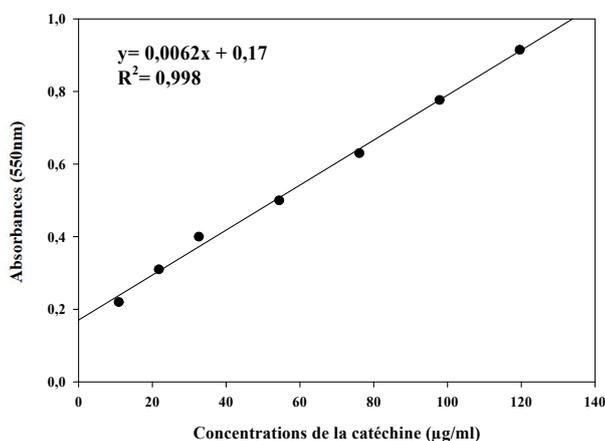


Figure 28: Courbe d'étalonnage de la catéchine pour le dosage des tanins condensés.

Tableau 11: Résultats du dosage des composés phénoliques des différents extraits de la noix du Brésil *Bertholletia excelsa*.

	Extrait aqueux	Extrait Hydro-éthanolique	Huile d'acétone	Huile d'hexane
Polyphénols totaux (mg EAG/gE)	19,36 ± 1,02	21,53 ± 0,24	69,95 ± 3,83	40,99 ± 0,87
Flavonoïdes (mg EQC/gE)	8,20 ± 0,13	4,64 ± 0,14	59,13 ± 2,21	40,21 ± 1,32
Tanins condensés (mg EQC/gE)	9,89 ± 1,64	18,32 ± 4,70	211,01 ± 1,40	106,99 ± 2,75

RESULTATS ET INTRPRETATION

Selon les résultats du tableau 11, Les teneur en composés phénoliques des extraits de noix brésilienne sont différents.

On constate que la plus grande quantité de polyphénol totaux est présente dans l'huile d'acétone ($69,95 \pm 3,83$ mg EAG/gE), suivi d'huile d'hexane ($40,99 \pm 0,87$ mg EAG/gE). En effet, les résultats montrent qu'il y a une légère différence entre la teneur en polyphénols de l'extrait Hydro-éthanolique et l'extrait aqueux ($21,53 \pm 0,24$ mg EAG/gE et $19,36 \pm 1,02$ mg EAG/gE, respectivement).

Ce qui concerne le dosage quantitatif des flavonoïdes, nous observons que l'huile d'acétone et l'huile d'hexane présentent les concentrations les plus importantes ($59,13 \pm 2,21$ mg EQC/gE et $40,21 \pm 1,32$ mg EQC/gE, respectivement). Tandis que, l'extrait Hydro-éthanolique présent la plus faible teneur en flavonoïdes ($4,64 \pm 0,14$ mg EQC/gE).

Parmi tous les extraits préparés, l'huile d'acétone, présente la plus forte teneur en tanins condensés, avec une valeur de $211,01 \pm 1,40$ mg EQC/gE. Pour l'huile d'hexane, elle contient également une quantité considérable des tanins condensés, avec un taux de $106,99 \pm 2,75$ mg EQC/gE. Cependant, l'extrait aqueux présente un teneur de $9,89 \pm 1,64$ mg EQC/gE, le taux est presque la moitié de celui de l'extrait Hydro-éthanolique ($18,32 \pm 4,70$ mg EQC/gE).

5. Activité antioxydante

Deux méthodes différentes ont été utilisées pour évaluer l'activité antioxydante des extraits de *B. excelsa*: test du piégeage du radical libre de DPPH• et test de Pouvoir réducteur du fer FRAP. Les extraits ont été comparés à des molécules de référence telles que l'acide ascorbique, le BHA et le BHT.

5.1. Piégeage du radicale libre DPPH•

a. Piégeage du radical DPPH• par l'extrait aqueux

Le graphe de la figure 29, illustre le taux d'inhibition exprimé en pourcentage de l'extrait aqueux de noix du *Bertholletia excelsa*.

RESULTATS ET INTRPRETATION

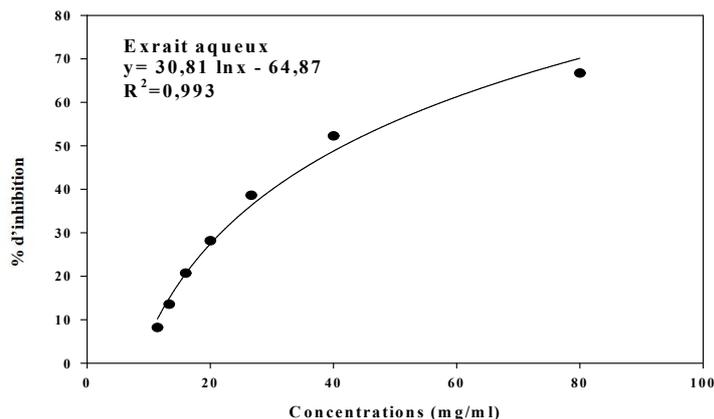


Figure 29: Pourcentage d'inhibition du radical DPPH• en fonction des différentes concentrations de l'extrait aqueux de noix du *Bertholletia excelsa*.

Selon la figure 29, on observe une augmentation proportionnelle du pourcentage d'inhibition du radical DPPH• en fonction de la concentration de l'extrait testé, suivant une régression logarithmique bien corrélée ($R^2=0,993$).

Pour une concentration de 20 mg/ml, le taux d'inhibition est d'environ 28,17 %. Cependant, lorsque la concentration atteint 40 mg/ml, le pourcentage d'inhibition augmente considérablement pour atteindre 52,28 %. À la concentration la plus élevée (80 mg/ml), le pourcentage d'inhibition atteint 66,74 %.

b. Piégeage du radical DPPH• par l'extrait Hydro-éthanolique

Les variations des pourcentages d'inhibition de l'extrait Hydro-éthanolique de noix du Brésil sont représentées par la régression logarithmique sur la figure 30.

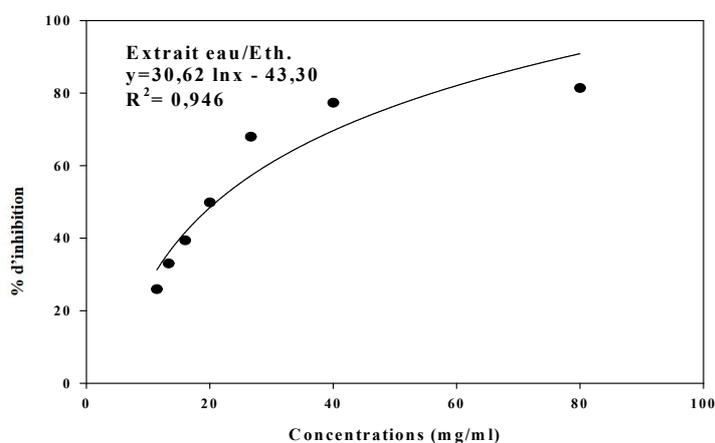


Figure 30: Pourcentage d'inhibition du radical DPPH• en fonction des différentes concentrations de l'extrait Hydro-éthanolique de noix du *Bertholletia excelsa*.

D'après les données fournies par la figure 30, une augmentation proportionnelle du pourcentage d'inhibition du radical DPPH• en fonction de la concentration de l'extrait Hydro-

RESULTATS ET INTRPRETATION

éthanolique de noix est observée. Avec une régression logarithmique bien corrélée ($R^2=0,946$).

À une concentration de 11,42 mg/ml, l'inhibition est d'environ 26 %, qui augmente à 68 % à une concentration proche de 27 mg/ml. À la concentration la plus élevée de 80 mg/ml de l'extrait brut testé, le taux d'inhibition est d'environ 81 %.

c. Piégeage du radical DPPH• par Huile d'acétone

La figure 31, représente graphiquement les pourcentages d'inhibition de l'huile d'acétone du *B. excelsa*.

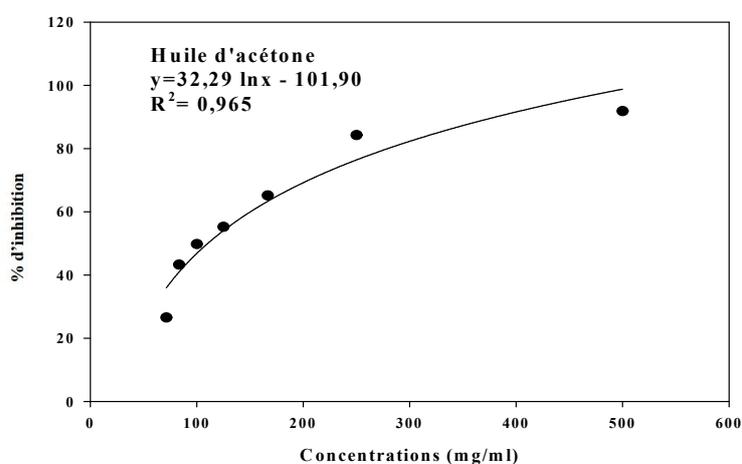


Figure 31: Pourcentage d'inhibition du radical DPPH• en fonction des différentes concentrations de l'huile d'acétone de noix du *Bertholletia excelsa*.

Selon la figure 31, nous remarquons que le pourcentage d'inhibition du radical libre augmente avec l'augmentation de la concentration de l'huile d'acétone. Les résultats sont représentés sous forme d'une courbe qui présente une régression logarithmique avec un facteur de corrélation de 0,965.

L'huile d'acétone de noix du *B. excelsa* a montré un faible pourcentage d'inhibition (26,56 %) à une concentration de 78 mg/ml et à une concentration de 100 mg/ml, le pourcentage d'inhibition est d'environ 49,8 %, puis il augmente à 92 % à la concentration la plus élevée de 500 mg/ml.

RESULTATS ET INTRPRETATION

d. Piégeage du radical DPPH• par Huile d'hexane

La régression logarithmique représentée sur la figure 32 les variations des pourcentages d'inhibition en fonction des concentrations de l'huile d'hexane de noix du *Bertholletia excelsa*.

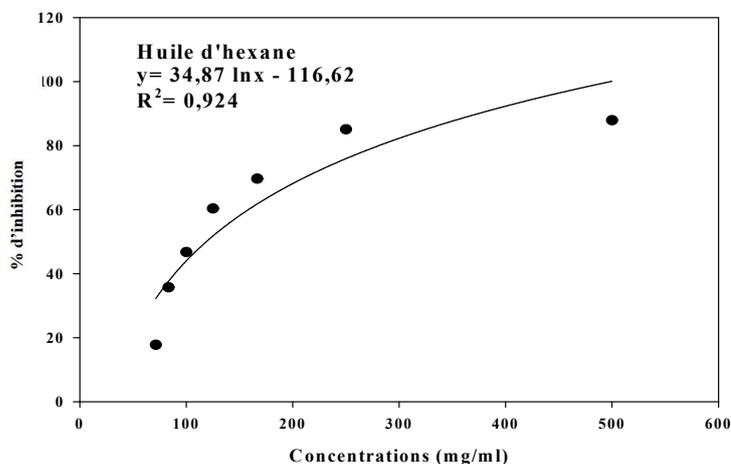


Figure 32: Pourcentage d'inhibition du radical DPPH• en fonction des différentes concentrations de l'huile d'hexane de noix du *Bertholletia excelsa*.

Selon la courbe de la figure 32, on constate une nette augmentation du taux d'inhibition lorsque la concentration de l'huile d'hexane augmente. avec une régression logarithmique fortement corrélée ($R^2 = 0,924$).

La concentration la plus basse (71,42 mg/ml) a un taux d'inhibition de 17,80 %. Ce pourcentage augmente à 46,75 % et 85 % respectivement à 100 mg/ml et 250 mg/ml, pour atteindre son maximum à 500 mg/ml, avec une valeur de 87,95 %.

e. Piégeage du radical libre DPPH• par les molécules de référence

Les pourcentages d'inhibition des trois molécules de référence (acide ascorbique, BHA et BHT) du radical libre DPPH• sont représentés dans les figures 33, 34 et 35. Les résultats sont représentés par des courbes linéaires et logarithmiques avec un R^2 presque égale 0,99.

RESULTATS ET INTRPRETATION

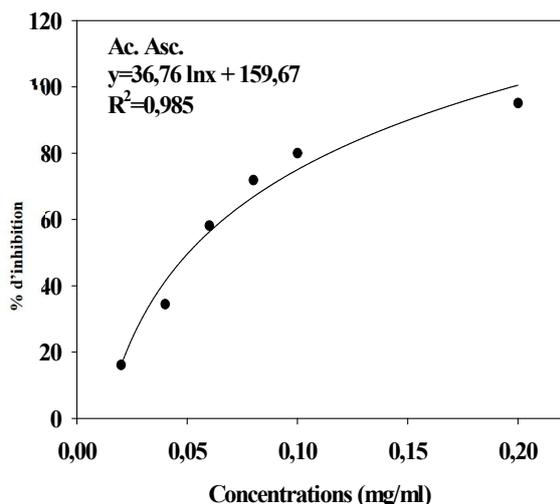


Figure 33: Pourcentages d'inhibition du radical DPPH• en fonction des différentes concentrations de l'acide ascorbique

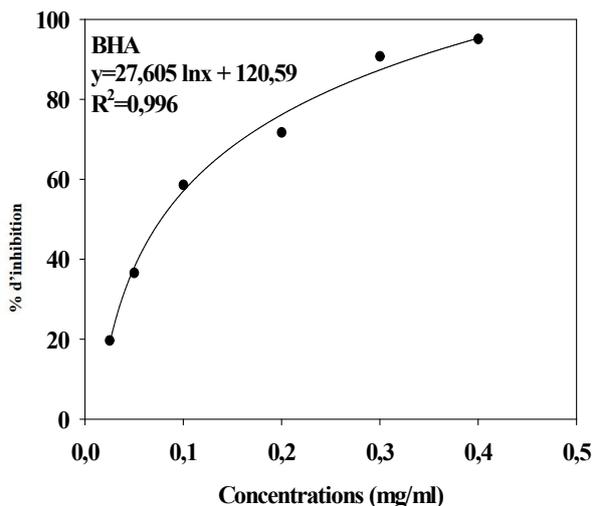


Figure 34: Pourcentages d'inhibition du radical DPPH• en fonction des différentes concentrations de BHA

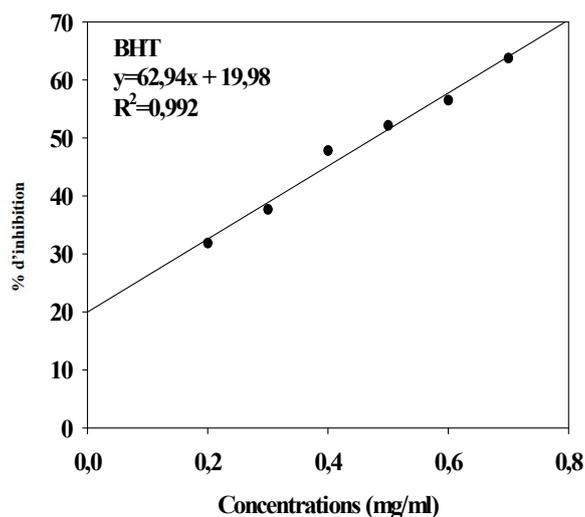


Figure 35: Pourcentages d'inhibition du radical DPPH• en fonction des différentes concentrations de BHT

D'après les résultats des trois figures, on observe que à la concentration la plus faible de l'acide ascorbique (0,02 mg/ml) suivi par le BHA (0,025 mg/ml) et le BHT (0,2 mg/ml) présentent des pourcentages d'inhibition différents, à savoir 16,14 %, 19,69 % et 31,88 %, respectivement. En revanche, pour l'acide ascorbique parvient à atteindre une activité inhibitrice la plus élevée de 95,13 % à la concentration de 0,2 mg/ml. le BHA présente un pourcentage d'inhibition de 95,09 %, tandis que le BHT affiche un pourcentage d'inhibition de 63,76 %. à des concentrations de 0,4 mg/ml et 0,7 mg/ml, respectivement.

RESULTATS ET INTRPRETATION

À la fin en comparant, parmi ces trois molécules de référence testées, l'acide ascorbique présente l'activité antioxydante la plus élevée, suivie de BHA, et de BHT.

f. Calcul des IC₅₀

Afin de mesurer et de comparer l'activité antioxydante des extraits étudiés avec les molécules de référence, le paramètre IC₅₀ est calculé. Ce paramètre représente la concentration nécessaire pour diminuer de 50 % le radical DPPH• en 30 minutes.

Pour calculer les valeurs d'IC₅₀ en utilisons Les équations des régressions logarithmiques et linéaires des graphes précédents, et les résultats sont présentés dans le tableau 12.

Tableau 12: Valeurs des IC₅₀ des différents extraits et des molécules de référence.

		IC ₅₀ (mg/ml)
Extraits	Aqueux	41,61
	Hydro-éthanolique	21,052
	Huile d'acétone	110,41
	Huile d'hexane	118,90
Les molécules de références	Acide ascorbique	0,050
	BHA	0,077
	BHT	0,477

Selon les résultats affichés dans le tableau précédent, on observe que l'acide ascorbique présente une activité antioxydante très puissante avec une IC₅₀ de 0,050 mg/ml, tandis que le BHA présente une IC₅₀ de 0,077 mg/ml et le BHT présente une IC₅₀ de 0,477 mg/ml.

Pour l'analyse des quatre extraits étudiés de *Bertholletia excelsa*, l'extrait Hydro-éthanolique montre la valeur la plus faible d'IC₅₀ (21,052 mg/ml). Ce qui indique une forte activité antioxydante en comparant avec les autres extraits, bien que toujours inférieure aux molécules de référence. suivi par l'extrait aqueux (IC₅₀ = 41,61 mg/ml). Il convient de noter que les activités antioxydantes les plus faibles ont été obtenus par l'huile d'acétone et l'huile d'hexane avec des IC₅₀ de 110,41 mg/ml et 118,90 mg/ml, respectivement.

RESULTATS ET INTRPRETATION

5.2. Pouvoir réducteur du fer (méthode FRAP)

a. Réduction du fer par l'extrait aqueux

La figure 36 présente l'évolution de l'absorbance du milieu réactionnel en présence des concentrations croissantes de l'extrait aqueux de noix du *Bertholletia excelsa*.

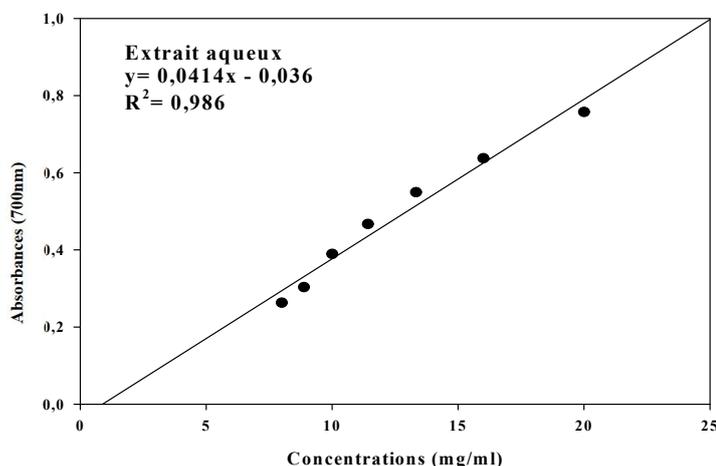


Figure 36: Pouvoir réducteur du fer par l'extrait Aqueux de noix du *Bertholletia excelsa*.

Les résultats des absorbances obtenus dans la figure 36 démontrent une nette augmentation proportionnelle du pouvoir réducteur en fonction des concentrations d'extrait aqueux, comme le montre la régression linéaire ($R^2=0,98$).

Lorsque la concentration est de 8 mg/ml, l'absorbance est de 0,263. Elle monte ensuite à 0,390 puis à 0,758 pour une concentration de 10 et 20 mg/ml, respectivement.

b. Réduction du fer par l'extrait Hydro-éthanolique

Les données de la figure 37, illustrent l'évolution de l'absorbance du milieu réactionnel en fonction des concentrations croissantes de l'extrait Hydro-éthanolique de noix du *Bertholletia excelsa*.

RESULTATS ET INTRPRETATION

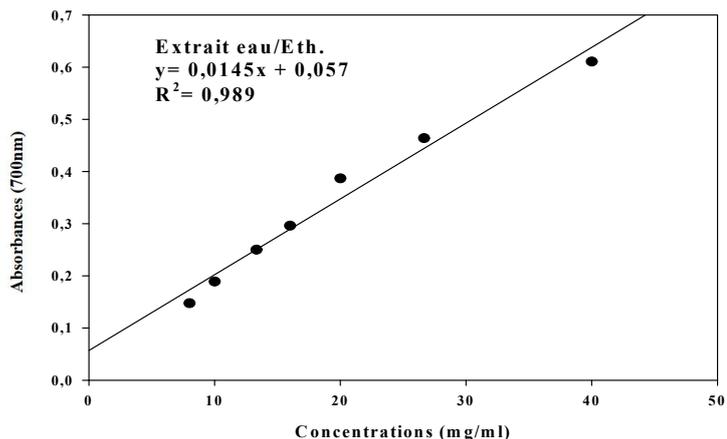


Figure 37: Pouvoir réducteur du fer par l'extrait Hydro-éthanolique de noix du *Bertholletia excelsa*.

Les résultats de la figure ci-dessus, démontent une augmentation significative de l'absorbance avec l'augmentation de la concentration de l'extrait Hydro-éthanolique. Avec une régression linéaire fortement corrélée ($R^2 = 0,99$).

On remarque que à une concentration de 10 mg/ml, l'absorbance est d'environ 0,186. Ce chiffre augmente de manière proportionnelle, atteignant 0,387 à une concentration de 20 mg/ml, puis 0,610 à 40 mg/ml.

c. Réduction du fer par l'huile d'acétone

Les résultats de réduction du fer par l'huile d'acétone de noix du *Bertholletia excelsa* sont représentés dans la figure 38.

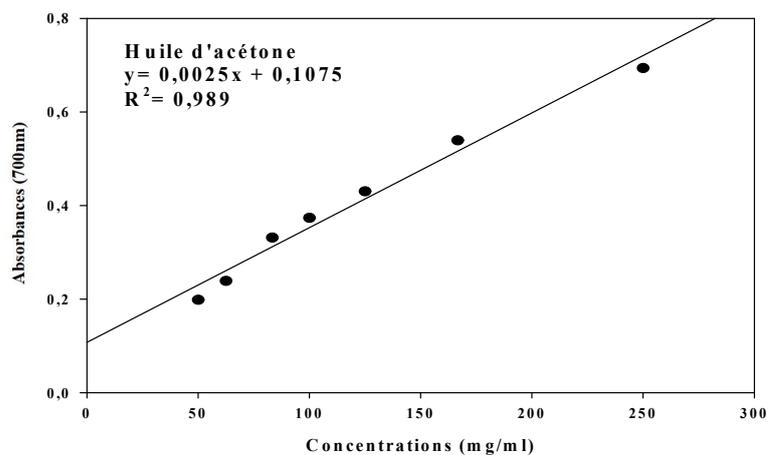


Figure 38: Pouvoir réducteur du fer par l'huile d'acétone de noix du *Bertholletia excelsa*.

RESULTATS ET INTRPRETATION

La courbe de la figure 38, présente l'évolution des absorbances du milieu réactionnel en présence des concentrations croissantes de l'huile d'acétone avec une régression linéaire bien corrélée ($R^2 = 0,98$).

On constate que l'absorbance est environ 0,2 à une concentration de 50 mg/ml. Cette valeur passe à 0,374 lorsque la concentration atteinte 100 mg/ml. Finalement, lorsque la concentration est proche de 250 mg/ml, l'absorbance obtenue est de 0,694.

d. Réduction du fer par l'huile d'hexane

L'évolution de l'absorbance du milieu réactionnel en présence des différentes concentrations croissantes de l'huile d'hexane de *B. excelsa* est représentée sur la figure 39.

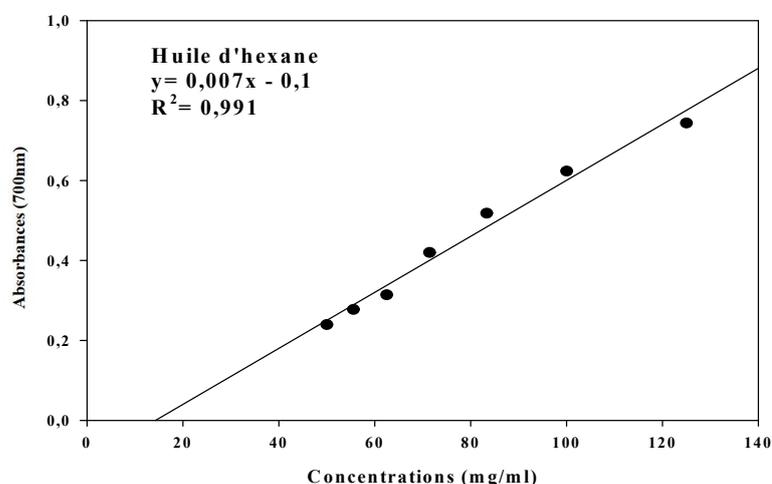


Figure 39: Pouvoir réducteur du fer par l'huile d'hexane de noix du *Bertholletia excelsa*.

Dans la figure 39, on observe une forte corrélation entre les absorbances et la concentration de l'huile d'hexane, la courbe suit une régression linéaire avec un facteur de corrélation proche de 1.

À une concentration de 50 mg/ml, l'absorbance obtenue est de 0,240. Ensuite, la densité augmente à 0,624 à une concentration de 100 mg/ml, puis à 0,744 à une concentration de 125 mg/ml.

e. Réduction du fer par les molécules de référence

Les résultats obtenus avec trois molécules de référence (acide ascorbique, BHA et BHT) sont illustrés sur les figures 40, 41, 42.

RESULTATS ET INTRPRETATION

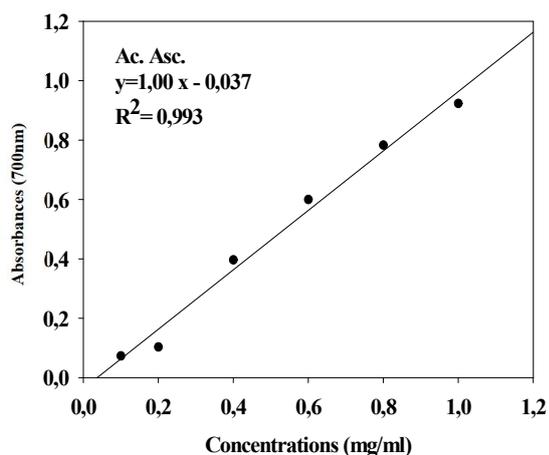


Figure 40: Pouvoir réducteur du fer par l'acide ascorbique.

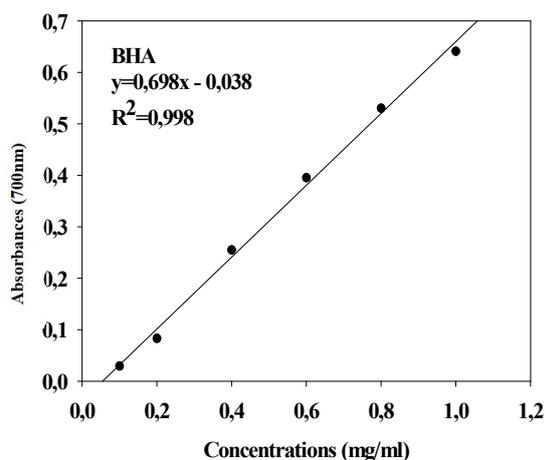


Figure 41: Pouvoir réducteur du fer par le BHA.

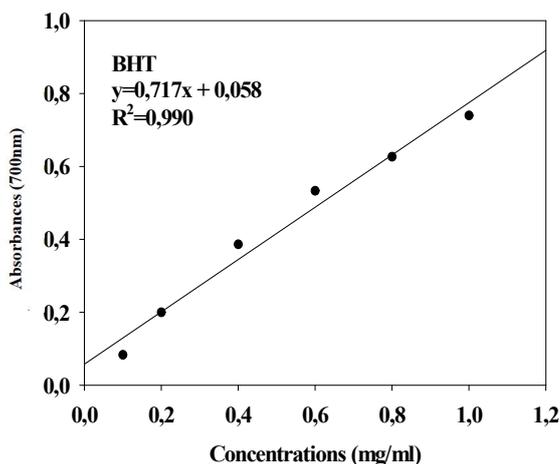


Figure 42: Pouvoir réducteur du fer par le BHT.

Les figures précédentes montrent que l'acide ascorbique a le pouvoir réducteur le plus élevé parmi les trois molécules analysées. On peut expliquer cette observation par les niveaux d'absorption relativement élevés obtenus par l'acide ascorbique par rapport au BHA et BHT.

Les absorbances mesurées pour le BHA, le BHT et l'acide ascorbique sont respectivement 0,029; 0,083 et 0,073 à la concentration la plus basse (0,1 mg/ml). Au alentour de 0,6 mg/ml, le BHA et le BHT ont respectivement les plus faibles absorbances de 0,395 et 0,533, tandis que l'acide ascorbique a une absorbance relativement élevée (0,600). Finalement,

RESULTATS ET INTRPRETATION

lorsque la concentration atteint 1 mg/ml, les absorbances augmentent de manière proportionnelle, atteignant 0,640 pour le BHA, 0,740 pour le BHT et 0,923 pour l'acide ascorbique.

f. Calcul des EC₅₀

Les valeurs d'EC₅₀, sont déterminées en utilisant les équations des régressions linéaires indiquées sur les graphes précédents. Les résultats sont illustrés dans le tableau 13.

Tableau 13: Valeurs des EC₅₀ des différents extraits et des molécules de références pour la réduction du fer.

		EC ₅₀ (mg/ml)
Extraits	Aqueux	12,95
	Hydro-éthanolique	30,55
	Huile d'acétone	157,00
	Huile d'hexane	85,71
Les molécules de références	Acide ascorbique	0,536
	BHA	0,771
	BHT	0,616

Une valeur d'EC₅₀ plus basse est liée à un pouvoir réducteur plus élevé. selon le tableau 13, l'extrait aqueux présente le pouvoir réducteur le plus fort (EC₅₀ = 12,95 mg/ml), suivie de l'extrait Hydro-éthanolique avec une valeur d'EC₅₀ d'environ 30,55 mg/ml. bien qu'ils restent inférieurs à l'acide ascorbique.

L'huile d'acétone et l'huile d'hexane représentent le pouvoir réducteur le plus faible par rapport aux extraits bruts avec des EC₅₀ de 157 mg/ml et 85,71 mg/ml, respectivement. En comparant les deux huiles étudiées, l'huile d'hexane présente le meilleur pouvoir réducteur.

On peut remarquer que l'acide ascorbique présente une forte capacité de réduction du fer (EC₅₀= 0,536 mg/ml), suivi de BHT et de BHA (0,616 mg/ml et 0,771 mg/ml, respectivement).

DEUXIÈME PARTIE

Étude expérimentale

DISCUSSION

DISCUSSION

Depuis quelques décennies, l'attention particulière a été portée à la valorisation des plantes à intérêt médicinal en tant que source de substances bioactives naturelles. Par conséquent, de plus en plus d'études se penchent sur les effets thérapeutiques des antioxydants naturels (EL-Haci & Atic Bekkara, 2016).

Les populations du monde entier ont employé les plantes pour se soigner. De nos jours, elles demeurent la principale source de médicaments dans les pays en développement (OMS, 2013).

La noix du Brésil, *Bertholletia excelsa*, contient une quantité significative de biomolécules telles que des acides gras, des stérols, des tocophérols et du sel, qui est réputé pour ses propriétés antioxydantes et antiradicalaires (Chunhieng, 2004).

L'objectif de notre étude était de réaliser une analyse qualitative et quantitative, ainsi que l'analyse physico-chimique des différents extraits de noix du *Bertholletia excelsa*. Nous avons également évalué l'activité antioxydante en utilisant la méthode de piégeage du radical libre DPPH• et la méthode FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power).

Les extraits des noix du *Bertholletia excelsa* analysés dans cette études sont deux extraits bruts (aqueux et hydro-éthanolique) et deux huiles obtenus par deux solvants différents (hexane et acétone).

Les rendements des deux extraits bruts sont très faibles (5,26 % pour l'extrait aqueux et 2,70% pour l'extrait hydro-étanolique) par rapport aux deux huiles (35,17 % pour l'huile d'hexane et 37,45 % pour l'huile d'acétone). Selon Jenny & Fereidoon (2010), qui ont fait des études sur la même espèce de la région Terre-Neuve (Canada) de l'extrait acétonique qui present un rendement de 16,36 %. Ce pourcentage est inférieur que l'huile d'acétone.

D'après ces résultats, les rendements des extractions réalisées avec des solvants moins polaires (l'acétone et l'hexane) sont supérieurs à ceux des solvants les plus polaires (eau et éthanol).

Toutefois, il est difficile de comparer les résultats de performance avec ceux de la littérature. Chaque situation est singulière, le rendement étant variable et dépendent de la composition chimique, de la méthode et des conditions d'extraction, de la polarité des solvants utilisés, ainsi que de l'origine géographique de la plante (Lachguer et al., 2021).

DISCUSSION

L'analyse phytochimique nous a donnée la possibilité de repérer la présence ou l'absence des principaux composés chimiques présents dans les noix de *Bertholletia excelsa*. Ces tests révèlent la forte présence des terpénoïdes et une absence totale des flavonoïdes, des anthraquinones et les composés réducteurs, ainsi que la présence moyenne des tanins dans les quatre extraits bruts et huiles. Les deux huiles sont riches en alcaloïdes et dépourvus de quinones libres et saponosides.

Les résultats de **Hamadi & Chaibi (2022)**, sur les écorces de noix de pécan (*Carya illinoensis*) et les résultats de **Iboukhoulé & Attouche (2021)**, sur les écorces de *Juglans regia* confirment la présence des tanins, des terpénoïdes et des alcaloïdes.

La densité est une caractéristique physique qui nous permet de vérifier la qualité (la pureté) d'une huile (**Andjouh, 2019**).

Les résultats de mesure de la densité pour les deux huiles, en comparant ces valeurs à ceux de la norme commerciale de «**codex STAN 210- 1999**» de l'huile de noix (0,923- 0,925), on remarque que l'huile d'hexane présente la valeur de la densité la plus élevée estimée à 0,924, qui est conforme à la norme, alors que l'huile d'acétone présente une densité de 0,874, cette dernière est inférieure à celle de l'huile d'hexane ainsi que les valeurs de références. Puisque la valeur de la densité de l'huile d'acétone n'est pas inclus dans l'intervalle des normes, on peut la considérer comme étant une huile à faible impureté.

L'indice d'acide, qui évalue la quantité d'acides gras libres naturellement présents ou produits par les réactions hydrolytiques des triglycérides, est un indicateur de qualité qui permet de déterminer l'état de conservation d'une huile. Une huile de qualité doit avoir une acidité relativement faible selon les valeurs données par la norme codex alimentaire (0,08- 6 %) ou nulle (**Bourachouche & Boudei, 2017**).

Selon **Chunhieng (2004)**, L'acidité de l'huile de la noix du Brésil est 0,64 %, également l'étude de **Ait Samadi & Affroune (2020)**, montre que l'acidité de l'huile d'amande présente un pourcentage de 2,02 %. Dans notre cas, les deux huiles analysées présentent une acidité nulle. Cela s'explique par le fait que ces huiles sont de bonne qualité.

L'indice de saponification est un indicateur indirect de la masse molaire des acides gras. Il permet de trier les huiles en fonction de la longueur des chaînes d'acides gras qui les constituent. Plus le poids moléculaire est élevé, plus l'indice de saponification est bas.

DISCUSSION

Effectivement, lorsque le poids moléculaire augmente, les chaînes carbonées des acides gras deviennent plus longues et moins hydrolysables (**Tekaya & Hassouna, 2005**).

Nos résultats montrent que l'huile d'hexane présente un indice de saponification de 199,15 mg KOH/g d'huile, ce dernier est plus élevé que l'indice de l'huile d'acétone qui égale à 185,13 mg KOH/g d'huile. ceci montre que l'huile d'hexane est moins riche en acide gras à longue chaîne par rapport l'huile d'acétone.

De plus, les résultats de cette étude révèlent que nos huiles respectent les normes de codex alimentaires de l'huile d'amande (183 - 207 mg KOH/g d'huile).

À partir de l'indice d'acide (IA) et l'indice de saponification (IS) des deux huiles de noix du Brésil, nous avons calculé l'indice d'ester (IE). Les résultats obtenus montrent que la valeur de l'indice d'ester de l'huile d'hexane égale 199,15 mg KOH/g d'huile et l'huile d'acétone égale 185,13 mg KOH/g d'huile. Selon **Novidzro et al. (2019)**, l'égalité entre l'indice d'ester et l'indice de saponification signifie que l'huile contient des glycérides purs, c'est le cas de nos huiles qui présentent un indice d'ester égale l'indice de saponification ce qui nous permet de conclure que ces huiles sont dépourvus des acides gras libres (IA= 0) et comportent que des triglycérides.

L'indice de peroxyde est utilisé pour évaluer le niveau d'oxydation d'une huile. Les normes de Codex Alimentaires fixent l'indice de peroxyde pour les huiles raffinées inférieur ou égal à 10 meq/kg et pour les huiles brutes inférieur à 15 meq/kg (**Blondeau & Schneider, 2006; Rakotorimanana, 2010**). L' indice de peroxyde des deux huiles analysées est nulle, ce qui indique la bonne qualité de ces huiles.

Pendant la conservation, les triglycérides peuvent subir une hydrolyse ou un rancissement en présence d'oxygène atmosphérique et libèrent des peroxydes (à partir des acides gras insaturés) et des acides gras libres, ce qui augmente l'indice de peroxyde et l'indice d'acide (**Tekaya & Hassouna, 2005**).

Dans ce travail les deux huiles analysées présentent un IA et un IP nulle, ce qui confirme une bonne conservation des huiles pendant la période d'étude.

Les résultats de dosage quantitatif montrent que les concentrations en composés phénoliques (polyphénols totaux, flavonoïdes et tanins condensés) diffèrent considérablement en fonction du solvant employé. Le taux maximal de polyphénols, flavonoïdes et des tanins

DISCUSSION

condensés sont obtenus au niveau de l'huile d'acétone de noix du *Bertholletia excelsa* préparée par soxhlet ($69,95 \pm 3,83$ mg EAG/gE; $59,13 \pm 2,21$ mg EQC/gE et $211,01 \pm 1,40$ mg EQC/gE, respectivement). Suivi par l'huile d'hexane ($40,99 \pm 0,87$ mg EAG/gE; $40,21 \pm 1,32$ mg EQC/gE et $106,99 \pm 2,75$ mg EQC/gE, respectivement). Par contre l'extrait aqueux et l'extrait Hydro-éthanolique présentent les teneurs les plus faibles respectivement en polyphénols ($19,36 \pm 1,02$ mg EAG/gE; $21,53 \pm 0,24$ mg EAG/gE), en flavonoïdes ($8,20 \pm 0,13$ mg EQC/gE et $4,64 \pm 0,14$ mg EQC/gE) et en tanins condensés ($9,89 \pm 1,64$ mg EQC/gE et $18,32 \pm 4,70$ mg EQC/gE).

Selon le programme national d'analyse des aliments et des nutriments de l'USDA, le rapport présente la teneur totale en phénols de 100 types d'aliments différents. Ils ont montré que la quantité totale de composés phénoliques présente dans les noix du Brésil était de $3,10 \pm 0,96$ mg EAG/g de noix, ce qui est très faible par rapport aux résultats de teneur en polyphénols obtenus pour les noix du Brésil des quatre extraits étudiés. En plus, ils ont montré que les pistaches étaient les plus riches en composés phénoliques totaux, suivies par les noix, les noix de pécan, les noisettes, les amandes, les arachides et les noix du Brésil (Wu *et al.*, 2004). D'après les résultats de Jenny & Fereidoon (2010), l'extrait acétonique présente la teneur la plus élevée en composés phénoliques que les autres extraits étudiés. Ce qui est similaire aux résultats de notre étude.

Les résultats de teneur en flavonoïdes obtenus pour l'huile d'amande amère sont dans l'intervalle rapporté par Milbury *et al.* (2006) variant entre 16 à 27 mg EQC/g.

Cependant, il est compliqué de comparer nos résultats obtenus avec les autres études en raison de divers éléments tels que les facteurs externes (changements climatiques, période de récolte, parties de la plante cultivée et conditions de stockage), les facteurs génétiques, ainsi que la méthode, la température et le temps d'extraction (Bourgou *et al.*, 2016 ; Falleh *et al.*, 2008 ; Kumar *et al.*, 2017; Trabelsi *et al.*, 2010).

Dans cette étude, nous avons réalisé une analyse du potentiel antioxydant en employant deux techniques particulières: le piégeage du radical DPPH• et la réduction du fer par le teste FRAP.

Dans la technique de DPPH•, les résultats démontrent que le profil de piégeage des radicaux libres diffère d'un extrait à l'autre. L'extrait Hydro-éthanolique présente une activité

DISCUSSION

antioxydante plus élevée ($IC_{50} = 21,05$ mg/ml) suivie par l'extrait aqueux ($IC_{50} = 41,61$ mg/ml), Cela veut dire que les extraits bruts présentent une forte activité antioxydante par rapport aux huiles. L'étude de **Jenny & Fereidoon (2010)**, montre que les extraits phénoliques de *Bertholletia excelsa* présentent une activité de piégeage des radicaux libre avec un IC_{50} de $20,33 \pm 1,56$ mg/ml cette valeur est presque égale la valeur de l'extrait Hydro-éthanolique.

La méthode de FRAP, indique que l'extrait aqueux a une excellente capacité à réduire le fer avec une EC_{50} de 12,95 mg/ml. D'autre part, l'extrait Hydro-éthanolique, l'huile d'hexane et l'huile d'acétone de *Bertholletia excelsa*, montrent une faible capacité de réduction du fer que l'extrait précédent avec des EC_{50} qui égale à 30,55 mg/ml; 85,71 mg/ml et 157,00 mg/ml, respectivement.

En comparant les résultats obtenus avec les résultats d'une autre recherche réalisée sur une autre noix, l'étude de **Messaya & Benamira (2020)**, montre que le pouvoir réducteur des écorces de *Juglans regia* présente une activité antiradicalaire avec une $EC_{50} = 0,092$ mg/ml. Cette valeur est inférieure par rapport à la valeur de l'extrait aqueux ($EC_{50} = 12,95$ mg/ml).

Malgré les divergences observées dans les résultats, il est indéniable que *Bertholletia excelsa* représente une source potentielle de composés phénoliques bénéfiques pour la santé, conférant ainsi à cette plante une activité antioxydante.

Conclusion

Conclusion et perspectives

D'après les résultats obtenus dans ce travail, nous pouvons conclure que la noix du Brésil *Bertholletia excelsa* particulièrement riche en composés phénoliques (polyphénols totaux, flavonoïdes et tanins condensés), ce qui leur confère une activité antioxydante.

Les testes phytochimiques qualitatifs ont révélés la richesse des extraits en terpénoïdes. Tandis que, les flavonoïdes, les anthraquinones et les composés réducteurs étaient absents.

Concernant l'analyse physico-chimique, l'acidité et la peroxydation des huiles étudiées sont nulles, ce qui explique la fraîcheur et la bonne qualité de ces dernières. Ainsi, l'indice de saponification et la densité sont compris dans l'intervalle donné par les normes de codex alimentaire.

Les résultats de dosage quantitatif montrent que la teneur la plus élevée en polyphénols, flavonoïdes et tanins condensés est obtenue dans l'huile d'acétone ($69,95 \pm 3,83$ mg EAG/gE; $59,13 \pm 2,21$ mg EQC/gE; $211,01 \pm 1,40$ mg EQC/gE, respectivement). Cette huile est considérée comme étant la plus riche en composés phénoliques par rapport aux extraits bruts.

Relativement à l'activité antioxydante, les résultats révèlent que les extraits bruts de *Bertholletia excelsa* ont une activité antioxydante moyenne, indépendamment des tests utilisés (DPPH· et FRAP). L'extrait hydro-éthanolique montre la meilleure capacité à réduire le radical libre DPPH avec une IC_{50} de 21,052 mg/ml, tandis que l'extrait aqueux présente une forte capacité de réduction du fer avec une $EC_{50} = 12,95$ mg/ml. Alors que les deux huiles présentent une activité antioxydante faible par rapport aux extraits bruts, l'huile d'acétone montre la meilleure capacité à réduire le radical libre DPPH avec une IC_{50} de 110,41 mg/ml, tandis que l'huile d'hexane présente une forte capacité de réduction du fer avec une $EC_{50} = 85,71$ mg/ml.

Il ressort de cette étude que la noix du Brésil *Bertholletia excelsa* pourraient être considérée comme une source naturelle d'antioxydants qui possède un potentiel d'application dans différents domaines, notamment dans la phytothérapie, cosmétique, pharmacologie et l'alimentation.

Nous espérons que notre travail fera l'objet d'une étude approfondie, notamment:

- ❖ L'utilisation d'autres solvants et techniques d'extraction telles que l'hydrodistillation et l'extraction à froid.

Conclusion et perspectives

- ❖ La réalisation d'autres tests pour l'évaluation de l'activité antioxydante par exemple: Blanchissement de la bêta-carotène, ABTS, ORAC...
- ❖ L'isolement et l'identification des substances naturelles (principe actif) responsables des activités antioxydantes par des techniques spectrales et chromatographiques comme l'HPLC.
- ❖ Ainsi, que d'autres activités biologiques (l'activité anti-inflammatoire, anticancéreuses...).
- ❖ L'étude de la toxicité de l'espèce *Bertholletia excelsa*.

Références bibliographiques

(A)

- **Abdelkhalek, A., Salem, M. Z. M., Kordy, A. M., Salem, A. Z. M., & Behiry, S. I.** (2020). Antiviral, antifungal, and insecticidal activities of Eucalyptus bark extract: HPLC analysis of polyphenolic compounds. *Microbial Pathogenesis*, 147 (July), 104383.
- **Ait Samadi, N., Affroune, H.** (2020). Caractérisation physicochimique des amandes amères, essai de valorisation (*Prunus amygdalus amara*).mémoire master.Université A. MIRA - Bejaia.
- **AL-Aloosy, Y.A.M., AL-Tameemi, A.J.H., Jumaa, S.S.** (2019). The role of enzymatic and non-enzymatic antioxidants in facing the environmental stresses on plant: A REVIEW (B).
- **Almarie, A.** (2020). Roles of Terpenoids in Essential Oils and Its Potential as Natural Weed Killers: Recent Developments. 10.5772/intechopen.91322.
- **Andjouh, M.** (2019). Etude des caractéristiques physico-chimiques d'une huile modifiée. Memoire master.Université A. MIRA - Béjaïa.
- **Apak, R., Güçlü, K., Özurek, M., 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. *Journal of agricultural and food chemistry.*, Vol. 52(26), p. 7971- 7981.
- **Ardestani, A., Yazdanparast, R.** (2007). Antioxidant and free radical scavenging potential of *Achillea santolina* extracts. *Food Chemistry*, 104(1), 21-29.
- **Aref, M., Heded, M.** (2015). Contribution à l'étude phytochimique, les activités biologique (Antioxydante et Antibactérienne) d'une plante médicinale *Cleome arabica* L (Région d'Oued Souf).Université echahid hamma lakhdar d'el-oued faculté des sciences de la nature et de la vie département de biologie cellulaire et moléculaire. 59 pages.
- **Atoui, A. Mansouri, A., Boskou, G., Kefalas, P.** (2005). Tea and herbal infusions: Their antioxidant activity and phenolic profile. *Food Chemistry*, 89(1), 27–36.
- **Awika, J. M., & Rooney, L. W.** (2004). Sorghum phytochemicals and their potential impact on human health. *Phytochemistry*, 65 (9), 1199–1221.

(B)

- **Bahrami,H., Bernaldez,A., Lugay,C.** (2001). Basic biochemistry for health and food science courses. Manila,Philippines:UST Publishing House, 17-29.
- **Bao, Y., Han, J., Hu, F. B., Giovannucci, E. L., Stampfer, M. J., Willett, W. C., et Fuchs, C. S.** (2013). Association of nut consumption with total and cause-specific mortality. The New England Journal of Medicine. 369 (21), 2001-2011. <https://www.uaex.edu/publications/pdf/FSFCS95.pdf>.
- **Baudin, B.** (2020). Stress oxydant et protections antioxydantes. Elsevier BV.
- **Bayart, M.** (2019). Élaboration et caractérisation de biocomposites à base d'acide polylactique et de fibres de lin: comptabilisation interfaciale par dépôt de revêtements à base époxyde, de dioxyde de titane, de lignine ou de tanin.
- **Beaudeau, J. L., Delattre, J., Therond, P., Bonnefont-Rousselot, D., Legrand, A., Peynet, J.** (2006). Le stress oxydant, composante physiopathologique de l'athérosclérose. Immuno analyse and Biologie spécialisée, 21(3), pp 144-150.
- **Benaissa, Z.** (2017). 'Contribution à l'étude physico-chimique et de pouvoir antimicrobienne des huiles alimentaires après fritures .Impact sur leurs qualités', Tlemcen, Algérie, pages 32-37.
- **Bensakhria, A.** (2018). Toxicologie Générale, Le Stress Oxydatif , RechercheGate ,70-86.
- **Bensouici, C.** (2015) Etude phytochimique et évaluation des activités biologiques de deux plantes du genre Sedum (Crassulaceae). Thèse de doctorat en Chimie organique. Université Frères Mentouri, Constantine.
- **Bertholletia excelsa (Brazil nut).** (2022). Plantwise Knowledge Bank, Species pages. <https://doi.org/10.1079/pwkb.species.10243>.
- **Besnard, J.** (2017). Activités anti-inflammatoire et antioxydante d'extraits d'épices et de légumes. Sciences du Vivant [q-bio]. ffdumas-01650995f.
- **Bezzaz, N.** (2014). Détermination structurale des métabolites secondaires, et extraction des huiles essentielles de Mentha rotundifolia. Mémoire de magistère : chimie organique.M' sila :Université de M SILA.Algérie.p :14.
- **Bhabak, K. P., & Muges, G.** (2010). Functional Mimics of Glutathione Peroxidase :

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Bioinspired Synthetic Antioxidants. *Accounts of Chemical Research*, 43(11), 1408-1419.
<https://doi.org/10.1021/ar100059g>.
- **Biswas, T., Dwivedi, U. N.** (2019). Plant triterpenoid saponins: biosynthesis, in vitro production, and pharmacological relevance. *Protoplasma*, 256 (6), 1463–1486.
 - **Blanco Mejia, S., Kendall, C.W., Viguiliouk, E., Augustin, L.S., Ha, V., Cozma, A.I., Mirrahimi, A., Maroleanu, A., Chiavaroli, L., Leiter, L.A.** (2014). Effect of Tree Nuts on Metabolic Syndrome Criteria: A Systematic Review and Meta-analysis of Randomised Controlled Trials. *BMJ Open Ros E. Health Benefits of Nut Consumption. Nutrients*, 2, 652-682 P.
 - **Blondeau, N., Schneider, S.M.** (2006). Les acides gras essentiels de la famille des omégas3 et la santé de la mère et de l'enfant. *Nutrition Clinique et Métabolisme*. 20 : 68-72.
 - **Boeing, T., Mariano, L. N. B., dos Santos, A. C., Tolentino, B., Vargas, A. C., de Souza, P., Nesello, L. A. N., & da Silva, L. M.** (2020). Gastroprotective effect of the alkaloid boldine: Involvement of non-protein sulfhydryl groups, prostanoids and reduction on oxidative stress. *Chemico-Biological Interactions*, 327, 109166.
 - **Bolling, B.W., Chen, C.Y., McKay, D.L., Blumberg, J.B.** (2011). Tree nut phytochemicals: composition, antioxidant capacity, bioactivity, impact factors. A systematic review of almonds, Brazils, cashews, hazelnuts, macadamias, pecans, pine nuts, pistachios and walnuts. *Nutr Res Rev*. 24(2):244-75. doi:10.1017/S095442241100014 X. PMID: 22153059.
 - **Bouchet, P.H.** (2022). Professeur à la faculté de pharmacie de Reims, TANINS ou TANNINS [article].
 - **Bouden, I.** (2018). Étude de l'activité antiarthritique, antioxydante et antimicrobienne des extraits de *Matricaria pubescens*: Biochimie. These de Doctorat, Université Ferhat Abbas Sétif. 127p.
 - **Bourachouche, K., Boudei, A.** (2017). Caractérisation physico-chimique des huiles végétales alimentaires', pages 9-15.
 - **Bourgaud, F., Gravot, A., Milesi, S., Gontier, E.** (2001). Production of plant secondary metabolites: a historical perspective. *Review Plant Science* 161 : 839–851.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- **Bourgou, S., Serairibeji, R., Medini, F., Ksouri, R.** (2016). Effet du solvant et de la méthode d'extraction sur la teneur en composés phénoliques et les potentialités antioxydantes d'*Euphorbia helioscopia*. *Journal of New Sciences*, 28(12), pp 1649-1655.
- **Boutayeb, A.** (2013). Huile essentielle et végétale. pour obtenue de diplôme de licence.
- **Bouزيد, A., Bouhamri, O.** (2018). Extraction des huiles des gaines *Prunus Amygdalus* et *Carthamus Thinctorius* et mise en évidence du pouvoir antibactériens. mémoire master. Université Abdelhamid Ibn Badis-Mostaganem.
- **Brainina, K. Z., Shpigun, L. K.** (2022). State of the art electrochemistry for the assessment of oxidative stress and integral antioxidant activity of biological environments. *Electrochemical science advances*.
- **Bruneton, J.** (1999). Pharmacognosie; phytochimie; plante médicinale. 3ème édition. Tec et Doc (ED). Paris, 658p.
- **Bruneton, J.** (2009). Pharmacognosie; phytochimie; plante médicinale 4ème édition. Paris Édition Tec & doc.

(C)

- **CACQE.** (2002). Rencontres technique. Ed laboratoire régional de Constantine:11-17.cake byproduct from Brazil nut (*Bertholletia excelsa*) beverage production. *The Journal of Supercritical Fluids* 171 (2021) 105188.
- **Cano Carmona, E., Maria Musarella, C., Cano Ortiz, A. (Eds).** (2023). Tropical Forests - Ecology, Diversity and Conservation Status. IntechOpen. doi: 10.5772/intechopen.109775.
- **Cárdenas, B.** (2014). Arbres des tropiques. Graphiste spécialisé dans le dessin taxonomique.
- **Cardoso, B.R., Duarte, G.B.S., Reis, B.Z., Cozzolino, S.M.F.** (2017). Brazil nuts: Nutritional composition, health benefits and safety aspects. *Food Res.* doi: 10.1016/j.
- **Carrière, A., Galinier, A., Fernandez, Y., Carmona, M. D.C., Pénicaud, L., Casteilla, L.** (2006). Physiological and physiopathological consequences of mitochondrial reactive oxygen species. *Médecine sciences : M/S.* 22. 47-53. 10.1051/medsci/200622147.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- **Charef, M., Yousfi, M., Saidi, M., Stocker, P.** (2008). Determination of the Fatty Acid Composition of Acorn (*Quercus*), *Pistacia lentiscus* Seeds Growing in Algeria, Springerlink.
- **Chunhieng, T.** (2003). Développement de nouveaux aliments santé à partir de graines et fruits d'origine tropicale : application à la noix du Brésil *Bertholletia excelsa* et au fruit du Cambodge *Morinda citrifolia*. Génie chimique. INPL - Institut National Polytechnique de Lorraine. Français.
- **Chunhieng, T., Goli, T., Piombo, G., Pioch, D., Brochier, J., Montet, D.** (2004). Recent analysis of the composition of Brazil nut *Bertholletia excelsa*. BOIS ET FORÊTS DES TROPIQUES, 91-97.
- **Çitaglu, G. S., Aksit, F.** (2002). Occurrence of Marrubilin and ladanein in *marrubium trachyticum* boiss, from turkey, *Biochemical systematics and ecology* 30, 885-886.
- **Ciumarnean, L. M. V. M., Runcan, O., Vesa, S. C., Rachis, A. L., Negrean, V., Perné, M.-G., Donca, V. I., Alexescu, T.-G., Para, I., & Dogaru, G.** (2020). The Effects of Flavonoids in Cardiovascular Diseases. *Molecules*, (18) (4320), 1–18.
- **Cuvelier, M. E., Maillard, M.N.** (2012). Stabilité des huiles alimentaires au cours de leur stockage. *Oléagineux Corps Gras Lip.* (19) 2, p 125-132.

(D)

- **Da Silva, A., Silveira, B.K.S., de Freitas, B.V.M., Hermsdorff, H.H.M., Bressan, J.** (2022). Effets de la noix du Brésil ordinaire (*Bertholletia excelsa* HBK) Consommation pour la santé : A Revue systématique des essais cliniques. *nourriture*, 11, 2925.
- **Dai, J., Dan, W., Schneider, U., & Wang, J.** (2018). β -Carboline alkaloid monomers and dimers: Occurrence, structural diversity, and biological activities. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 157, 622–656.
- **De Alcantara, F. C., Lozano, V. F., Vale Velosa, A. S., Dos Santos, M. R. M., & Pereira, R. M. S.** (2015). New coumarin complexes of Zn, Cu, Ni and Fe with antiparasitic activity. *Polyhedron*, 101, 165–170

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- **Debnath, B., Singh, W. S., Das, M., Goswami, S., Singh, M. K., Maiti, D., et Manna, K.** (2018). Role of plant alkaloids on human health: A review of biological activities. *Materials Today Chemistry*, 9, 56–72.
- **Deborah, L.** (2017). Des fonctions cérébrales renforcées grâce aux fruits à coque!. *cherry for life Science*. <https://www.sante-sur-le-net.com/fonctions-cerebrales-renforcees-fruits-coque>.
- **Desmier, T.** (2016). Les antioxydants de nos jours, définition et application. Thèse d'exercice. Université de Limoges. 87p.
- **Dey, P., Kundu, A., Kumar, A., Gupta, M., Lee, B. M., Bhakta, T., ... Kim, H. S.** (2020). Analysis of alkaloids (indole alkaloids, isoquinoline alkaloids, tropane alkaloids). In *Recent Advances in Natural Products Analysis* (pp. 505-567). Elsevier.
- **Dib, I.** (2017). Effets vasorelaxants et antihypertenseurs et analyse phytochimique de *Artemisia campestris L.* du Maroc Oriental.
- **Djahra, A. B., Bordjiba, O., Benkherara, S.** (2013). Extraction, séparation et activité antibactérienne des tanins de marrube blanc (*Marrubium vulgare L.*). *Phytotherapie*, 11 (6), 348–352.
- **Djama, S., & Karour, T.** (2020). Les alcaloïdes: classification, extraction, criblage et activités biologiques. Mémoire de master. Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou. 84 p.
- **Djeziri, F.Z.** (2012). Etude de l'activité hypolipidémisante de l'huile d'*Olea Europaea* Var *Oleaster* chez les rats « Wistar » Mémoire de Magister. Université Abou-Bekr Belkaid de Tlemcen. pp69.
- **Dong, S., Yang, X., Zhao, L., Zhang, F., Hou, Z., & Xue, P.** (2020). Antibacterial activity and mechanism of action saponins from *Chenopodium quinoa* Willd. husks against foodborne pathogenic bacteria. *Industrial Crops and Products*, 149 (March), 112350.

(E)

- **El Aziz, M.M.A., Ashour, A.S., Melad, A.S.G.** (2019). A review on saponins from medicinal plants: chemistry, isolation, and determination. *J Nanomed Res.* 8(1):282-288. DOI: 10.15406/jnmr.2019.07.00199.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- **El- haci, I., Atik bekkara, F.** (2016). Estimation du pouvoir antioxydant des différents extraits organiques d'*ecballium elaterium*(L). Laboratoire de Produits naturels, Département de Biologie moléculaire et cellulaire, BP 119, Université Abou Bekr Belkaïd (Tlemcen - Algérie).
- **El-Houcine, S., Naji,N., El Mezgueldi,I., Choukri, M.** (2023). Le stress oxydatif. une agression cellulaire. *Actualités Pharmaceutiques*.Volume 62, Issue 626. Pages 36-37,ISSN 0515-3700. <https://doi.org/10.1016/j.actpha.2023.03.016>. (<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0515370023001702>).
- **Elkali, M., Benathmane, F., Salmani, K.H.** (2020). Screening phytochimique et biologique,[mémoire de fin d'étude], Université Mouhamed Boudiad M'sila, Algérie, p:3.

(F)

- **Fadili, K., Amalich, S.** (2015).Teneurs en polyphénols et évaluation de l'activité antioxydante des extraits de deux espèces du Haut Atlas du Maroc: *Rosmarinus Officinalis* et *Thymus Satureioides*. *Int J Innov Sci Res* ISSN. 17: p. 2351-8014.
- **Falleh, H., Hafsi, C., Mohsni, I., & Ksouri, R.** (2021). Évaluation de différents procédés d'extraction des composés phénoliques d'une plante médicinale: *Verbena officinalis*. *Biologie Aujourd'hui*, 215(3-4), 133-142.
- **Falleh, H., Ksouri, R., Chaieb, K., Karray-Bouraoui, N., Trabelsi, N., Boulaaba, M., & Abdely, C.** (2008). Phenolic composition of *Cynara cardunculus* L. organs, and their biological activities. *Comptes Rendus Biologies*, 331(5), 372–379
- **Favier, A.** (2003) le stress oxydant, *Actual. Chim.*,108–115.
- **Ferreira, I. C., Baptista, P., Vilas-Boas, M., Barros, L., & Barreira, J. C.** (2007). Free radical scavenging capacity and reducing power of wild edible mushrooms from northeast Portugal: individual cap and stipe activity. *Food chemistry*, 100(4), 1511-1516.
- **Fettah, A.** (2019). "Étude phytochimique et évaluation de l'activité biologique (antioxydante antibactérienne) des extraits de la plante *Teucrium polium* L. sous espèce *Thymoïdes* de la région Beni Souik, Biskra," Université mohamed khider biskra.
- **Ford, R.A., Hawkins, D.R., Mayo, B.C., Api, A.M.** (2001). The in vitro dermal absorption and metabolism of coumarin by rats and by human volunteers under simulated

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- conditions of use in fragrances. *Food and Chemical Toxicology*, p39, 153-162.
- **Fourmentin, S., Kfoury, M.** (2024). Les huiles essentielles: renaissance d'ingrédients naturels et durables Essential oils: the renaissance of natural and sustainable ingredients. *Technologie et innovation, Les filières de production dans la bioéconomie*, 24 (9), pp.1-21. [ff10.21494/ISTE.OP.2024.1059ff](https://doi.org/10.21494/ISTE.OP.2024.1059ff).
 - **François, N.M.** (2010). Identification de polyphénols, évaluation de leur activité antioxydante et étude de leurs propriétés biologiques, Thèse doctorat, Université Paul Verlainemetz.
 - **Fu, Y. H., Guo, J. M., Xie, Y. T., Hua, J., Dai, Y. Y., Zhang, W., Lin, T. C., Liu, Y. P.** (2020). Structural characterization, antiproliferative and anti-inflammatory activities of alkaloids from the roots of *Zanthoxylum austrosinense*. *Bioorganic Chemistry*, 102 (February), 104101.
 - **Fukuda, T., Ishibashi, F., Iwao, M.** (2020). Lamellarin alkaloids: Isolation, synthesis, and biological activity. In *Alkaloids: Chemistry and Biology* (1st ed., Vol. 83) . Elsevier Inc.

(G)

- **Gentile, D., Fornai, M., Pellegrini, C., Colucci, R., Blandizzi, C., Antonioli, L.** (2018). Dietary flavonoids as a potential intervention to improve redox balance in obesity and related co-morbidities: A review. *Nutrition Research Reviews*, 31, 239–247. <https://doi.org/10.1017/S0954422418000082>.
- **Georgieva, S., Boyadzhiev., Angelov, G.** (2010). Caractérisation des vins bulgares par leur capacité antioxydant. *Revue de génie industriel*. 5: 124-132.
- **Glenn, H., Henri, R.**(2011). "Made in Brazil": Human Dispersal of the Brazil Nut (*Bertholletia excelsa*, Lecythidaceae) in Ancient Amazonia. *Economic Botany*, 65(1), 2011, 44–65.
- **Grasel, F., Dos, S., Ferrão, M. F., Wolf, C. R.** (2016). Development of methodology for identification the nature of the polyphenolic extracts by FTIR associated with multivariate analysis. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 153, 94-101. DOI: 10.1016/j. saa.2015.08.020.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- **Gülcin, I.** (2012). Antioxidant activity of food constituents: an overview. Archives of toxicology, 86(3), pp 345-391.
- **Gulcin, İ.** (2020). Antioxidants and antioxidant methods: An updated overview. Archives of Toxicology, 94(3), 651-715. <https://doi.org/10.1007/s00204-020-02689-3>
- **Guo, H., Wan, X., Niu, F., Sun, J., Shi, C., Ye, J. M., & Zhou, C.** (2019) . Evaluation of antiviral effect and toxicity of total flavonoids extracted from Robinia pseudoacacia cv. idaho. Biomedicine and Pharmacotherapy, 118 (August), 109335.
- **Guo, Q., Xia, H., Meng, X., Shi, G., Xu, C., Zhu, C., Zhang, T., & Shi, J.** (2018) . C19- Diterpenoid alkaloid arabinosides from an aqueous extract of the lateral root of Aconitum carmichaelii and their analgesic activities. Acta Pharmaceutica Sinica B, 8 (3), 409–419.
- **Gutiérrez-Grijalva, E., Lopez-Martinez, L., Contreras, L., Romero, C.A., Heredia, J. B.** (2020). Plant Alkaloids: Structures and Bioactive Properties. 10.1007/978-981-15-2361-8_5.
- **Gutowski, M., Kowalczyk, S.** (2013). A study of free radical chemistry: their role and pathophysiological significance. Epub. 60(1):1-16.
- **Güven, H., Arici, A., & Simsek, O.** (2019). Flavonoids in our foods: A short review. Journal of Basic and Clinical Health Sciences, 3, 96–106. <https://doi.org/10.30621/jbachs.2019.555>.

(H)

- **Habibou, H. H., Idrissa, M., Ikhiri Khalid, P. et Benjamin, O.** (2019). Activité Antioxydante des Extraits Méthanoliques de Différents Organes de Detarium microcarpum Guill. Et Perr. European Scientific Journal, 15(12),159-171
- **Haleng, J., Pincemail, J., Defraigne, J .O., Charlier, C., Chapelle, J. P.** (2007). Le stress oxydant. Revue Médicale de Liège, 62 (10), p 628-638.
- **Hamadi, C., Chaib, R.** (2022). Elaboration de formulations pharmaceutiques semi-solides à partir des parties non comestibles de Carya illionoinensis (noix de pécan).memore de mester.Université de blida 1.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- **Harbone, B.** (1998). phytochemical methodes: Aguide to moderntechnique of plant analysis. Champman and Hall, London.
- **Harrar, A.** (2018). Activités antioxydante et antimicrobienne d'extraits de Rhamnus alaternus L.
- **Hennessey, T.** (2001). La noix du Brésil (*Bertholletia excelsa*).
- **Hou, L., Rashid, M., Chhabra, M., Chandrasekhar, B., Amirthalingam, P., Ray, S., Li, Z.** (2021). The effect of Bertholletia excelsa on body weight, cholestrol, and c-reactive protein: A systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. Complement Ther Med. 57:102636. doi: 10.1016/j.ctim.2020.102636.
- **Huang, Y. L., Cui, S. Y., Cui, X. Y., Cao, Q., Ding, H., Song, J. Z., Hu, X., Ye, H., Yu, B., Sheng, Z. F., Wang, Z. J., & Zhang, Y. H.** (2016). Tetrandrine, an alkaloid from S. tetrandra exhibits anti-hypertensive and sleep-enhancing effects in SHR via different mechanisms. Phytomedicine, 23 (14), 1821–1829
- **Hug, L., Johnson, L.** (2019). Distribution of reactive oxygen species defense mechanisms across domain bacteria. Science Direct. (18) : 5-44.

(I)

- **Iboukhoulef, S., Attoiche, N.** (2021). Screening phyto-chimique et étude de l'activité anti- oxydante de l'extrait aqueux des écorces de Juglans regia L.memoire de mester. Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou.
- **Ip, C., Lisk, D.J.** (1994). Bioactivity of selenium from Brazil nut for cancer prevention and selenoenzyme maintenance.Nutr Cancer. 21(3):203-12. doi: 10.1080/0163558 94095 14319. PMID: 8072875.

(J)

- **Jenny, A. J., Fereidoon,S.** (2010). Composés phénoliques et activité antioxydante de la noix du Brésil (*Bertholletia excelsa*).Journal of fonctional foods 2, 196 – 209.
- **Jens. A., Pedersen.** (2000). Distribution and taxonomie implication of phynolics in the family Lamiaceae determined byesr spectroscopy, Biochemical systematics and ecology, 28, 229-253.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- **José, T., Gaspar, A., Garrido, E. M., Garrido, J. et Borges, F.** (2013). Hydroxycinnamic Acid Antioxidants: An Electrochemical Overview. *Bio Med Research International*.
- **Jucá, M. M., Cysne Filho, F. M. S., de Almeida, J. C., Mesquita, D. da S., Barriga, J. R. de M., Dias, K. C. F., Barbosa, T. M., Vasconcelos, L. C., Leal, L. K. A. M., Ribeiro, J. E., & Vasconcelos, S. M. M.** (2020). Flavonoids: biological activities and therapeutic potential. *Natural Product Research*, 34 (5), 692–705.

(K)

- **Kada, S.** (2018). Recherche d'extrait de plantes médicinales doués d'activités biologiques :biologie. Thèse de Doctorat, Sétif,130 p.
- **Karamat, F.** (2013). Identification and functional characterization of the first two aromatic prenyltransferases implicated in the biosynthesis of furanocoumarins and prenylated coumarins in two plant families: Rutaceae and Apiaceae.
- **Kaushik, S., Shyam, H., Agarwal, S., Sharma, R., Nag, T. C., Dwivedi, A. K., & Balapure, A. K.** (2019). Genistein potentiates Centchroman induced antineoplasticity in breast cancer via PI3K/Akt deactivation and ROS dependent induction of apoptosis. *Life Sciences*, 239, 117073.
- **Kaya, G., La.** (2014).Dermatoporose. Vieillessement cutané Skin ageing: p. 24
- **Khaldi-Khellafi, N., Oukacha-Hikem, D., Bouaziz, S. T., Abdoun, A., Makhloufi-Chebli, M., Dumas, F., Silva, A. M. S., & Hamdi, M.** (2020). Green synthesis, characterization, structure, biological activity, theoretical calculations and drug-likeness analysis of coumarins. *Chemical Data Collections*, 25.
- **Khoddami, A., Meredith, A. W., Thomas, H. R.** (2013). Techniques for Analysis of Plant Phenolic Compounds. *Molecules*, 18 : 2328-2375. DOI: 10.3390/ molecules 18022328.
- **Kissoum, A., Khalfaoui, K.** (2015).Evaluation phytochimique et étude des activités biologiquesd'une plante médicinale Algérienne (Foeniculum vulgare). Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Maste.34-35p.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- **Kostova, I.** (2005). Synthetic and natural coumarins as cytotoxic agents. *Current Medicinal Chemistry - Anti-Cancer Agents*, 5 (1), 29–46.
- **Kregiel, D., Berlowska, J., Witonska, I., Antolak, H., Proestos, C., Babic, M., Babic, L., & Zhang, B.** (2017). Saponin-Based, Biological-Active Surfactants from Plants. *Application and Characterization of Surfactants*.
- **Kuala, L.** (2017). Document de discussion sur l'inclusion de dispositions pour l'huile de noix, l'huile d'amande, l'huile de noisette, l'huile de pistache, l'huile de lin et l'huile d'avocat dans la Norme pour les huiles végétales portant un nom spécifique (CODEX STAN 210-1999).
- **Kumar, S., & Pandey, A. K.** (2013). Chemistry and biological activities of flavonoids: an overview. *TheScientificWorldJournal*, 2013, 162750.
- **Kumar, S., Yadav, A., Yadav, M., Yadav, J. P.** (2017). Effect of climate change on phytochemical diversity, total phenolic content and in vitro antioxidant activity of Aloe vera (L.) Burm.f. *BMC Research Notes*, 10(1), 60.

(L)

- **Labrani.** (2021). Métabolisme secondaire, Biochimie végétale. Cours L3-BPV-FSNV/UFMC (p. 7). Constantine: Université de Constantine 1.
- **Lachguer, K., Zakriti, A., & Zouhir, C.** (2021). Insecticidal effect of some Moroccan plants extracts on *Macrosiphum rosae* and *Gynaikothrips ficorum*. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 10, 118-124.
- **Laurent, J.** (2017). "Conseils et utilisations des huiles essentielles les plus courantes en officine". Diss.
- **Lecerf, J.M.** (2011). Vegetable oils : Particularities and usefulness. *Medecine des maladies metaboliques*, 5(3) :257-262.
- **Li, R., Zhao, C., Yao, M., Song, Y., Wu, Y., & Wen, A.** (2017). Analgesic effect of coumarins from *Radix angelicae pubescentis* is mediated by inflammatory factors and TRPV1 in a spared nerve injury model of neuropathic pain. *Journal of Ethnopharmacology*

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- **Liang, H., Shi, Y., Zeng, K., Zhao, M., Tu, P., & Jiang, Y.** (2020). Coumarin derivatives from the leaves and twigs of *Murraya exotica* L. and their anti-inflammatory activities. *Phytochemistry*, 177 (April), 112416.
- **Lim, T.K.** (2012). *Bertholletia excelsa*. In: *Edible Medicinal And Non Medicinal Plants*. Springer, Dordrecht. https://doi.org/10.1007/978-94-007-2534-8_13.
- **Lima, L.W., Stonehouse, G.C., Walters, C., Mehdawi, A.F.E., Fakra, S.C., Pilon-Smits, E.A.H.** (2019). Selenium Accumulation, Speciation and Localization in Brazil Nuts (*Bertholletia excelsa* H.B.K.). *Plants* (Basel). 16;8(8):289. doi: 10.3390/plants8080289. PMID: 31426292; PMCID: PMC6724122.
- **Lismont, Revenco, Fransen.** (2019). Peroxisomal Hydrogen Peroxide Metabolism and Signaling in Health and Disease. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(15), 3673.
- **Liu, Y. P., Yu, X. M., Zhang, W., Wang, T., Jiang, B., Tang, H. X., Su, Q. T., Fu, Y. H.** (2020). Prenylated chromones and flavonoids from *Artocarpus heterophyllus* with their potential antiproliferative and anti-inflammatory activities. *Bioorganic Chemistry*, 101, 104030.
- **Lubrano, V., Balzan, S.** (2015). Enzymatic antioxidant system in vascular inflammation and coronary artery disease. *World Journal of Experimental Medicine*. 5 (4) :218.
- **Ludwiczuka, A., Asakawa, Y.** (2017). GC/MS Fingerprinting of Solvent Extracts and Essential Oils Obtained from Liverwort Species. *Natural Product Communications*. 12 (8): 1301-1305. DOI: 10.1177/1934578X1701200838.
- **Luo, X., Cui, J., Zhang, H., Duan, Y., Zhang, D., Cai, M., & Chen, G.** (2018). Ultrasound assisted extraction of polyphenolic compounds from red sorghum (*Sorghum bicolor* L.) bran and their biological activities and polyphenolic compositions. *Industrial Crops and Products*, 112 (301), 296–304.
- **Lutge, U., Klinge, M., Bauer, G.** (2002). *Botanique 3eme Ed : Technique et documentation*. Lavoisier, Paris. p.211.

(M)

- **Macheix J.J., Fleuriet A., Sarni-Manchado P.** (2006). *Les Polyphénols en*

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- agroalimentaire, Lavoisier, 1-28.
- **Mahi, F.I.** (2022). Synthèse, Caractérisation et Activités Pharmacologiques des 1,3,4-oxadiazoles-5 -thionyl Dérivés de Quelques Acides Hydroxylés et d'un cis-Clérodane Diterpénoïde Extrait de *Cistus monspeliensis* [These de Chimie Organique Bioactive].université Orane
 - **Malgalhaes. L. M., Segundo. M. A., Reis. S., Lima. J.** (2008). Methodological Aspects About Vitro Evaluation of Antioxidant Properties. *Analytica Chemical Acta*. Vol 613, p 1-19.
 - **Manallah, A.** (2012). Activités antioxydante et anticoagulante des polyphénols de la pulpe d'olive *Olea Europaea*L. Mémoire de Magister. Université de Setif ,122.
 - **Martemucci, G., Costagliola, C., Mariano, M., D'andrea, L., Napolitano, P., & D'Alessandro, A. G.** (2022). Free Radical Properties, Source and Targets, Antioxidant Consumption and Health. *Oxygen*, 2(2), 48-78.
 - **Massoud, R., Jafari-Dastjerdeh, R., Naghavi, N., Khosravi, K.** (2022). All aspects of antioxidant properties of kombucha drink. *Biointerface Research in Applied Chemistry*. 12. 4018-4027. 10.33263/BRIAC123.40184027.
 - **Messaya, M., Benamira, M.** (2020). Etude phytochimique et évaluation biologique des extraits aqueux de *Lawsonia inermis* et de *Juglans regia*.mémoire master.Université Frères Mentouri Constantine 1.
 - **Migdal, C., Serres, M.** (2011). Espèces réactives de l'oxygène et stress oxydant , *médecine/sciences ; 27* : 405-12.
 - **Milbury, P.E., Chrns, C.Y., Dolnikowski, G.G., Blumberg, J.B.** (2006). Determination of flavonoids and phenolics and their distribution in almonds. *J agric food chem.* P 27–33.
 - **MNHN., OFB [Ed].** (2003). National inventory of natural heritage (INPN), Website: <https://inpn.mnhn.fr>.
 - **Molyneux, P.** (2004). The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity *Songklanakarin J. Sci. Technol.*, 26(2) : 211-219.
 - **Mori, S. A. (lead author) et al.; D. Swarthout (topic editor).** (2007). Brazil nut family (Lecythidaceae) in the New World. In *Encyclopedia of Earth*, ed. C. J. Cleveland and D.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Swarthout. Environmental Information Coalition, National Council for Science and the Environment, Washington, D.C.
- **Moussa, Z., Judeh, M.A. Z., Ahmed, A.S.** (2020). Nonenzymatic Exogenous and Endogenous Antioxidants. IntechOpen.
 - **Munteanu, I. G., & Apetrei, C.** (2021). Analytical Methods Used in Determining Antioxidant Activity : A Review. International Journal of Molecular Sciences, 22(7), 3380. <https://doi.org/10.3390/ijms22073380>.
 - **Muther, L.J.U.d.A.** (2015). Utilisation des huiles essentielles chez l'enfant.
 - **Mwakalukwa, R., Ashour, A., Amen, Y., Niwa, Y., Tamrakar, S., Miyamoto, T., Shimizu, K.** (2019). Anti-allergic activity of polyphenolic compounds isolated from olive mill wastes. Journal of Functional Foods, 58, 207-217.

(N)

- **Nan, S., Tongfei, W., Quan, G., Sian, L., Li, W., Biao, J.** (2022). Plant flavonoids: Classification, distribution, biosynthesis, and antioxidant activity, Food Chemistry, Volume 383, 132531, ISSN 0308-8146, <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.132531>.
- **Nathalie, B., Jean-Paul, J.P.** (2006). Charpentier. Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier. Cahier des Techniques de l'INRA, pp.79-82. fhal02669118f.
- **Naumann, H. D., Tedeschi, L. O., Zeller, W. E., Huntley, N. F.** (2017). The role of condensed tannins in ruminant animal production: advances, limitations and future directions. Revista Brasileira de Zootecnia, 46, 929-949. DOI: 10.1590/S1806-92902017001200009.
- **Ndhlala, A., Moyo, M., Van Staden, J.** (2010). Natural Antioxidants: Fascinating or Mythical Biomolecules?.
- **Ndiaye, A., Dior FALL ,A., Ndiaye, M., Ndiaye, K., Gueye, S., Bassene, E., Dieye, M.** (2018) . Evaluation de l'activité antioxydante des feuilles de Moringa oleifera Lam. (Moringaceae) du Sénégal. International Journal of Biological and Chemical Sciences. 12(4): 1816-1823

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- **Nidhi, G., Naresh, K.**(2019).Phenolic acids: Natural versatile molecules with promising therapeutic applications.Biotechnology Reports, vol :24.
- **Niki L., Reynaert S.W., Aesif T., Mc Goven., Amy B., Emiel F.M.,Wouters C., Irvin Y, vonne M.W., Janssen H.**(2007). Catalase over expression fails to attenuate allergic airways disease in the mouse. The Journal of Immunology. 178:3821
- **Novidzro, K. M.,Wokpor, K., Amoussou Fagla, B., Koudouvo, K., Dotse, K., Osseyi, E., Koumaglo, K. H.** (2019). Etude de quelques paramètres physicochimiques et analyse des éléments minéraux, des pigments chlorophylliens et caroténoïdes de l'huile de graines de *Griffonia simplicifolia*. Int. J. Biol. Chem. Sci. 13(4): 2360-2373.DOI: <https://dx.doi.org/10.4314/ijbcs.v13i4.38>.
- **Nsemi, F.M.** (2010). Identification de polyphénols, évaluation de leur activité antioxydante et étude de leurs propriétés biologiques. Biologie végétale. Université Paul Verlaine - Metz. Français. NNT : 2010METZ011S. tel-01752680.

(O)

- **Önder, A.** (2020). Anticancer activity of natural coumarins for biological targets. Studies in Natural Products Chemistry, 64, 85–109.
- **Onyeike.N., Acheru. N.** (2002).Chemical composition of selected Nigerian oil seeds and physicochemical properties of the oil extracts. Food Chemistry. 83.330-338.
- **Organisation Mondiale de la Santé.** (2013). Stratégie de l'OMS pour la médecine traditionnelle pour 2014-2023. Genève: Organisation mondiale de la santé.
- **Ouoba K, Lehmann H, Semde R, Pabst JY.** (2021).Revue de la littérature sur la pharmacovigilance des médicaments issus des pharmacopées traditionnelles. Partie I : identification des risques. Ann Pharm Fr.

(P)

- **Peronny, S.** (2005). La perception gustative et la consommation des tannins chez le maki (*Lemur catta*), Thèse de doctorat en Éco-Ethologie, 151 p.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

(R)

- **Rakotorimanana, S.R.** (2010). Contribution à l'amélioration de la comestibilité de l'huile d'arachide artisanale par raffinage. Mémoire d'Ingénieur en Génie chimique. Université d'Antananarivo. P 110.
- **Rira, M.** (2019). Les tanins hydrolysables et condensés : une piste pour la réduction de la production du méthane entérique par les ruminants en milieu tropical, Thèse de Doctorat, École Doctorale des Sciences de la vie et la Santé -Agronomi-Environnement. 216p.
- **Rojas, T.R., Sampayo, C.A.F., Vázquez, B.I., Franco, C.M., Cepeda, A.** (2005). Study of interferences by several metabolites from *Aspergillus* spp. In the detection of aflatoxigenic strains in media added with cyclodextrin. *Food Control*, 16,445–450 P.
- **Romanet, R.M.** (2019). Contribution à l'étude moléculaire de la stabilité oxydative des vins blancs de Bourgogne. Université Bourgogne Franche-Comté.
- **Ros, E.** (2010). health benefits of nut consumption. *Nutrients Family and Consumer Sciences*. 2(7), 652-82.
- **Rousset, P.** (2008). Guide technique pour une utilisation énergétique des huiles végétales. Montpellier : CIRAD, 292 p.Ouvrage.
- **Rufino, A., Costa, V., Carvalho, F., Fernandes, E.** (2021) Flavonoids as antiobesity agents: A review. *Med. Res. Rev*, 41, 556–585. [Google Scholar] [CrossRef].

(S)

- **Sabate, J., Oda, K., Ros, E.** (2010). Nut consumption and blood lipid levels: a pooled analysis of 25 intervention trials. *Archives of Internal Medicine*. 170(9), 821-7. <https://www.uaex.edu/publications/pdf/FSFCS95.pdf> .
- **Sadeer, N., Montesano, D., Albrizio, S., Zengin, G., Mahomoodally, F.** (2020). The Versatility of Antioxidant Assays in Food Science and Safety-Chemistry, Applications, Strengths, and Limitations. *Antioxidants*. 9. 709. 10.3390 / antiox 9080709.
- **Sahabi, B.** (2009). Etude phytochimique et potentialités biologique de cinq espèces d'indigofera (fabaceae) utilisées en médecine traditionnelle au Burkina Faso, Thèse unique, université Ouagadougou, p1.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- **Sakagami, H., Hashimoto, K., Suzuki, F., Ogiwara, T., Satoh, K., Ito, H., Hatano, T., Takashi, Y., Fujisawa, S.** (2005). Molecular requirements of lignin–carbohydrate complexes for expression of unique biological activities. *Phytochemistry* 66: 2108 - 2120.
- **Sarikahya, N. B., Nalbantsoy, A., Top, H., Gokturk, R. S., Sumbul, H., Kirmizigul, S.** (2018). Immunomodulatory, hemolytic and cytotoxic activity potentials of triterpenoid saponins from eight *Cephalaria* species. *Phytomedicine*, 38, 135–144.
- **Sbai, R., Tayebi, A.** (2021). Etude d'extraction et caractérisation physico-chimique d'une huile des grains d'arachides (Etude comparative entre deux variétés d'El-oued et de Timimoune). mémoire master. Université Ahmed Draïa Adrar. *sécurité.Nourriture Rés. Int.100*, 9-18.
- **Serdoz, L. V., Rittger, H., Furlanello, F., Bastian, D.** (2019). Quinidine—A legacy within the modern era of antiarrhythmic therapy. *Pharmacological Research*, 144, 257-263.
- **Sharifi-Rad, M., Anil Kumar, N.V., Zucca, P., Varoni, E.M., & Sharifi-Rad, J.** (2020). Lifestyle, Oxidative Stress, and Antioxidants: Back and Forth in the Pathophysiology of Chronic Diseases. *Front Physiol.* 2;11:694.
- **Sharma, P., Bhuchan jha, A., Dubey shanker, R., Pessarakli, M.** (2012). Reactive Oxygen Species, Oxidative Damage, and Antioxidative Defense Mechanism in Plants under Stressful Conditions. *Journal of Botany.* 1-26.
- **Sheabutter.** (2002). Caractéristiques physico-chimiques. <http://www.sheabutter.com/FrAmazonia/Composition.htm>, 1-2.
- **Sheabutter.** (2002). Fabrication.<http://www.sheabutter.com/FrAmazonia/Obtentio.htm>, 2.
- **Shepard, G.H.** (2001). Rapport préliminaire sur le site archéologique et le cimetière indigène de la réserve Amanã. Rapport soumis à la 1^a Superintendência Regional do IPHAN (Mémo n° 0308/2001). Instituto de Patrimônio Histórico e Artístico Nacional (IPHAN), Brasília, DF, Brésil.
- **Shin, S.-A., Moon, S. Y., Kim, W.-Y., Paek, S.-M., Park, H. H., Lee, C. S.** (2018). Structure-Based Classification and Anti-Cancer Effects of Plant Metabolites. *International Journal of Molecular Sciences*, 19(9), 2651.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- **Silva, M.J.A., Boleti, A.P.A., Acho, L.D.R., Campos, J.F., & Lima, E.S.** (2023). Propriétés anti-inflammatoires et antioxydantes de *Bertholletia excelsa*(HBK) extrait d'écorce .*Bol Latinoam Caribe Plant Med Aromat* 22 (4) : 472-487.
- **Sing, P. T., Sophie, E. P., Costas, E. S., Paul, D. R.** (2014). Extraction of Flavonoids from Bitter Melon.*Food and Nutrition Sciences*, 5 : 458-465. <http://dx.doi.org/10.4236/fns.2014.55054>.
- **Soumeya, B.B.** (2014). Isolement et caractérisation de saponosides extraits de deux plantes médicinales *Cyclamen africanum*, *Zygophyllum cornutum* et évaluation de leur activité antiinflammatoire. Thèse en cotutelle, Université Constantine 1, 217p.
- **Souza, R.G.M., Gomes, A.C., Naves, M.M.V., Mota, J.F.** (2015). Nuts and Legume Seeds for Cardiovascular Risk Reduction: Scientific Evidence and Mechanisms of Action. *Nutr. Rev.* 2015, 73, 335–347.
- **Stefanachi, A., Leonetti, F., Pisani, L., Catto, M., Carotti, A.** (2018). Coumarin: A Natural, Privileged and Versatile Scaffold for Bioactive Compounds. *Molecules* (Basel, Switzerland). 23. 10.3390/molecules23020250.
- **St-Louis, R.** (2011). Implication des espèces réactives de l'oxygène dans le contrôle central de l'osmorégulation. *Neurosciences [q-bio.NC]*. Université Pierre et Marie Curie - Paris VI.
- **Sujii,P., Fernandes, E., Azevedo, V., Ciampi, A., Martins, K., Wadt, O.** (2013). Morphological and molecular characteristics do not confirm popular classification of the Brazil nut tree in Acre, Brazil.*Genet. Mol. Res.* 12 (3): 4018-4027.
- **Sun, B. S., Ricardo-Da-Silva, J. M., & Spranger, M. I.** (1998). Critical factors of vanillin assay for catechins and proanthocyanidins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46, 4267-4274.

(T)

- **Tamuly, C., Hazarika, M., & Boruah, P.** (2014). Antioxidant potential and phytochemical screening of different parts of *Centella asiatica* (Linn.) Urban collected from Dibrugarh district, Assam, Northeast India. *International Journal of Herbal Medicine*, 2(3), 01-05.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- **Tanaka, M., Vécsei, L.** (2020). Monitoring the Redox Status in Multiple Sclerosis. *Biomedicines*, 8(10), 406.
- **Tekaya, I.B., Hassouna, M.** (2005). Étude de la stabilité oxydative de l'huile d'olive vierge extra tunisienne au cours de son stockage. *Oléagineux, Corps gras, Lipides*, 12, 447-454.
- **Tepe, B., Daferera, D., Sokmen, A., Sokmen, M. et Polissiou, M.** (2005). Antimicrobial and antioxidant activities of the essential oil and various extracts of *Salvia tomentosa* Miller (Lamiaceae). *Food chemistry*, 90(3), 333-340.
- **Tian, C., Chang, Y., Liu, X., Zhang, Z., Guo, Y., Lan, Z., Zhang, P., Liu, M.** (2020). Antiinflammatory activity in vitro, extractive process and HPLC-MS characterization of total saponins extract from *Tribulus terrestris* L. fruits. *Industrial Crops and Products*, 150 (March), 112343.
- **Topçu, G., Ay, M., Bilici, A., & Sarikurkcü, C.** (2007). Antioxidant activities of some Lamiaceae plant extracts. *Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives*, 21(7), 622- 625.
- **Torres, R.J.A., Ferreira, A.L.A., Luchini, A. & Torres, R.J.A.** (2022). The role of nonenzymatic antioxidants on age-related macular degeneration. *Frontiers Drug Chemistry Clinical Res.* 5.

(V)

- **Valko, M., Izakovic, M., Mazur, M., Rhodes, C. J., & Telser, J.** (2004). Role of oxygen radicals in DNA damage and cancer incidence. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 266, 37- 56.
- **Vermerris, W., & Nicholson, R.** (2007). *Phenolic compound biochemistry*. Springer Science & Business Media
- **Verpoorte, R., Alfermann, A.W.** (2000). *Metabolic engineering of plant secondary metabolism*. Edition El Khtwer Academic Publishers, London, pp : 1-29 ; 128- 129.
- **Vuolo, M.M., Lima, V.S., Junior, M.R.M.** (2019). Phenolic compounds: Structure, classification, and antioxidant power. In *Bioactive compounds*, p.33-50.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

(W)

- **Waldhoff, P., Eduardo Xavier Franco de Souza, S.** (2023). *Bertholletia excelsa*: Key Species for Sustainable Livelihoods and Forest Conservation.
- **Wang, J., Yuan. X., Jin Z., Tian. Y., Song. H.** (2007). Free radical and reactive oxygen species scavenging activities of peanut skins extract. *Food Chemistry*. Vol 104, p 242-250.
- **Williamson, G., Kay, C. D., Crozier, A.** (2018). The bioavailability, transport, and bioactivity of dietary flavonoids: A review from a historical perspective. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 17, 1054–1112. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12351>.
- **Wilson, V., Diego Martín, H., Joaquín, N., Diane, M., Pilar C., Tiziana, F.**(2021) . Supercritical carbon dioxide extraction of oil and minor lipid compounds of
- **Wu, W., Li, R., Li, X., He, J., Jiang, S., Liu, S., & Yang, J.** (2015). Quercetin as an antiviral agent inhibits influenza a virus (IAV) Entry. *Viruses*, 8 (1).

(Y)

- **Yan, J.** (2014). Positive oxidative stress in aging and aging-related disease tolerance. *Redox Biology*. (2) : 165–169.
- **Yener, I.** (2020). Determination of antioxidant, cytotoxic, anticholinesterase, antiurease, antityrosinase, and antielastase activities and aroma, essential oil, fatty acid, phenolic, and terpenoid-phytosterol contents of *Salvia pocolata*. *Industrial Crops and Products*, 155 (June), 112712.
- **Yeza, S., Bouchama, S.** (2014). index des métabolites secondaires végétaux, université kasdi merbah, Ouargla faculté des sciences de la nature et de la vie département des sciences biologiques.47 pages.

(Z)

- **Zibouche, M., Grimes, C.** (2016). Contribution à l'étude des flavonoïdes et de l'activité antioxydant de l'orge : *Hordeum vulgare*. Constantine. University des Frères Mentouri Constantine. P. 25.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- **Zuidema, P.A.** (2003). Ecology and management of the brazil nut tree (*Bertholletia excelsa*). PROMAB scientific series N°6.

Annexes

ANNEXES

Évaluation de l'activité antioxydante

1. Le piégeage de radical libre DPPH

❖ Acide ascorbique

Concentration (mg/ml)	0,02	0,04	0,06	0,08	0,1	0,2
DPPH%	16,144	34,477	58,186	71,879	80,008	95,131

❖ BHA

Concentration (mg/ml)	0,025	0,05	0,1	0,2	0,3	0,4
DPPH%	19,699	36,581	58,603	71,742	90,753	95,097

❖ BHT

Concentration (mg/ml)	0,2	0,3	0,4	0,5	0,6	0,7
DPPH%	31,884	37,681	47,826	52,174	56,522	63,768

❖ Extrait aqueux

Concentration(mg/ml)	11,42	13,33	16	20	26,66	40	80
DPPH%	8,217	13,554	20,712	28,168	38,626	52,285	66,744

❖ Extrait hydro-éthanolique

Concentration (mg/ml)	11,42	13,33	16	20	26,66	40	80
DPPH%	25,941	33,048	39,414	49,846	67,985	77,341	81,421

❖ Huile acétone

Concentration (mg/ml)	71,428	83,33	100	125	166,66	250	500
DPPH%	26,565	43,300	49,797	55,274	65,190	84,278	91,857

❖ Huile hexane

Concentration(mg/ml)	71,428	83,33	100	125	166,66	250	500
DPPH%	17,806	35,735	46,751	60,377	69,692	85,089	87,952

2. Pouvoir réducteur du fer FRAP

ANNEXES

❖ Acide ascorbique

Concentration (mg/ml)	0,1	0,2	0,3	0,4	0,6	0,8	1
Absorbance	0,073	0,103	0,266	0,396	0,6	0,783	0,923

❖ BHA

Concentration (mg/ml)	0,1	0,2	0,4	0,6	0,8	1
Absorbance	0,029	0,089	0,255	0,395	0,530	0,640

❖ BHT

Concentration (mg/ml)	0,1	0,2	0,4	0,6	0,8	1
Absorbance	0,083	0,2	0,386	0,533	0,626	0,74

❖ Extrait aqueux

Concentration (mg/ml)	8	8,88	10	11,42	13,33	16	20
Absorbance	0,263	0,303	0,390	0,467	0,550	0,638	0,758

❖ Extrait hydro-éthanolique

Concentration (mg/ml)	8	10	13,33	16	20	26,66	40
Absorbance	0,147	0,189	0,250	0,296	0,387	0,464	0,610

❖ Huile acétone

Concentration (mg/ml)	50	62,5	83,33	100	125	166,66	250
Absorbance	0,199	0,239	0,332	0,374	0,430	0,540	0,694

❖ Huile hexane

Concentration (mg/ml)	50	55,55	62,5	71,42	83,33	100	125
Absorbance	0,240	0,278	0,314	0,420	0,518	0,624	0,744

كجزء من البحث عن مضادات الأكسدة الجديدة الطبيعية من أصل نباتي، الهدف من هذا العمل هو القيام بدراسة كيميائية وتقييم النشاط المضاد للأكسدة لمستخلصات الجوز البرازيلي (*Bertholletia excelsa*).

تم استخلاص الجوز البرازيلي بواسطة مذيبين مختلفين: الماء المقطر وخليط الماء/الإيثانول (80/20؛ حجم/حجم) عن طريق الغلي لمدة ساعة واحدة و استخلاص الزيوت بواسطة مذيبين آخرين (الأسيتون والهكسان) باستعمال جهاز السوكسلي لمدة 3 ساعات و30 دقيقة.

يوضح الفحص الكيميائي وجود التربينويدات والعفص وغياب مركبات الفلافونويد والأنثراكينونات والمركبات المرجعة في المستخلصات الأربعة. كما كشفت عن وجود كميات عالية من الفلويديات في كلا الزيتين.

تشير نتائج تحديد إجمالي البوليفينول والفلافونويد والعفص المكثف إلى أن زيت الأسيتون غني بشكل خاص بهذه المركبات (3,83 ± 69,95 ملغ مكافئ حمض الغاليك لكل غرام؛ 2,21 ± 59,13 ملغ مكافئ كاتشين لكل غرام؛ 1,40 ± 211,01 ملغ مكافئ كاتشين لكل غرام، على التوالي). من ناحية أخرى، يحتوي المستخلص الخام المائي على نسبة منخفضة من إجمالي البوليفينول والعفص المكثف مقارنة بالمستخلصات الأربعة (1,02 ± 19,36 ملغ مكافئ حمض الغاليك لكل غرام؛ 1,64 ± 9,89 ملغ مكافئ كاتشين لكل غرام، على التوالي).

تم إجراء تقييم نشاط مضادات الأكسدة باستخدام طريقة الكسح الجذري DPPH، وأظهرت النتائج نشاطاً مضاداً للأكسدة في المستخلص المائي الإيثانولي $IC_{50} = 21,052$ ملغ/مل. يتم عرض أعلى قوة لإرجاع الحديد من خلال المستخلص الخام المائي مع $EC_{50} = 12,95$ ملغ/مل.

تظهر النتائج التي تم الحصول عليها في هذا العمل عن ثراء جوز *Bertholletia excelsa* بالمركبات الفينولية و الفلافونويدات و العفص. مما يمنحها نشاطاً قوياً مضاداً للأكسدة.

الكلمات المفتاحية: *Bertholletia excelsa*، زيوت، مستخلص خام، مركبات فينولية، النشاط المضاد للأكسدة.

Résumé

Dans le cadre de la recherche des nouveaux antioxydants naturels d'origine végétale, l'objectif de ce travail est l'étude phytochimique et l'évaluation de l'activité antioxydante des extraits de noix du Brésil *Bertholletia excelsa*.

Les noix du Brésil ont été soumises une extraction sous reflux par deux solvants différents: l'eau distillée et le mélange Eau/éthanol (20/80; v/v) pendant 1h et une extraction par soxhlet par deux autres solvants (Acétone et Hexane) pendant 3 h 30 min.

Le criblage phytochimique a montré la présence des terpénoïdes, des tanins et l'absence des flavonoïdes, des anthraquinones et les composés réducteurs dans les quatre extraits. Il a révélé aussi des quantités forte en alcaloïdes dans les deux huiles.

Les résultats des dosages de polyphénols totaux, de flavonoïdes et de tanins condensés, indiquent que l'huile d'acétone est particulièrement riche en ces composés (69,95 ± 3,83 mg EAG/gE; 59,13 ± 2,21 mg EQC/gE; 211,01 ± 1,40 mg EQC/gE, respectivement). En revanche, l'extrait brut aqueux présente une faible teneur en polyphénols totaux et en tanins condensés par rapport aux quatre extraits (19,36 ± 1,02 mg EAG/gE; 9,89 ± 1,64 mg EQC/gE, respectivement).

L'évaluation de l'activité antioxydante a été réalisée en utilisant la méthode de piégeage du radical DPPH, et les résultats ont montré une activité antioxydante moyenne dans l'extrait hydro-éthanolique avec une $IC_{50} = 21,052$ mg/mL. Le pouvoir réducteur du fer le plus élevé est présenté par l'extrait brut aqueux avec une $EC_{50} = 12,95$ mg/mL.

Les résultats obtenus dans ce travail révèlent la richesse de noix de *Bertholletia excelsa* en composés Phénoliques, de flavonoïdes et de tanins, ce qui leur confère une activité antioxydante.

Mots clés: *Bertholletia excelsa*, huiles, extraits bruts, composés phénoliques, activité antioxydante.

Abstract

As part of the search for new antioxidants natural of plant origin, the objective of this work is the phytochemical study and evaluation of the antioxidant activity of *Bertholletia excelsa* Brazil nut extracts.

Brazil nuts have been submitted a extraction under reflux by two different solvents: distilled water and the water/ethanol mixture (20/80; v/v) for 1 hour and extraction by Soxhlet by two other solvents (Acetone and Hexane) for 3 h 30 min.

Screening phytochemical was demonstrated the presence of terpenoids, tannins and the absence of flavonoids, anthraquinones and reducing compounds in the four extracts. It also revealed high amounts of alkaloids in both oils.

The results of the determinations of total polyphenols, flavonoids and condensed tannins indicate that acetone oil is particularly rich in these compounds (69,95 ± 3,83 mg EAG/gE; 59,13 ± 2,21 mg EQC/gE; 211,01 ± 1,40 mg EQC/gE, respectively). On the other hand, the aqueous crude extract has a low content of total polyphenols and condensed tannins compared to the four extracts (19,36 ± 1,02 mg EAG/gE; 9,89 ± 1,64 mg EQC/gE, respectively).

Evaluation of antioxidant activity was carried out using the DPPH radical scavenging method, and the results showed antioxidant activity in the hydro-ethanolic extract with an $IC_{50} = 21,052$ mg/mL. The highest iron reducing power is exhibited by the aqueous crude extract with $EC_{50} = 12,95$ mg/mL.

The results obtained in this work reveal the richness of *Bertholletia excelsa* nuts in phenolic compounds, flavonoides and tannins, which gives them antioxidant activity.

Keywords: *Bertholletia excelsa*, oils, raw extracts, phenolic compounds, antioxidant activity.