

REPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITÉ 20 AOÛT 1955 – SKIKDA



FACULTÉ DES SCIENCES
DÉPARTEMENT DE CHIMIE

Mémoire de Master

Filière : Chimie – Spécialité : Chimie organique

Présenté par :

Alidra Chaima
Bouchemal Nour El Houda

**Extraction, Caractérisation physico-chimiques et analyses biologiques de
l'huile essentielle extraite des Feuilles de *Pistacia lentiscus* L.**

Soutenu le : 06-07-2022

Devant le jury :

Dr	S. AMIRAT	MCB	Université Skikda	Présidente
Dr	W. BENABDERRAHMANE	MCB	Université Skikda	Examinatrice
Dr	F. BELFADEL	MCB	Université Skikda	Rapporteur

Année Universitaire 2021/2022

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

Remerciements

Nos remerciements sont d'abord au Dieu (الله) tout puissant de nous avoir donné la force et la patience pour terminer ce travail.

Nous exprimons notre sincère reconnaissance à tous ceux qui ont, de près ou de loin, contribué à sa réalisation.

Nous tiens à remercier tout particulièrement :

Melle AMIRAT SAMIA MCB à l'université de Skikda, qui nos fait l'honneur d'accepter de présider le jury.

Nous exprimons nos reconnaissances à Melle BELFADEL F.ZOHRÀ MCB à l'université de Skikda, pour avoir accepté de nos 'encadrer.

Nous remercions Madame BENABDERRAHMANE WASSILA MCB à l'université de Skikda, à l'amabilité d'accepter de faire partie du jury de ce travail.

Nous remercions Monsieur SOULAH BILÉL, pour ces efforts et son aide.

Nous remercions Monsieur MESSOUDI MED LAMINE, pour son aide et l'occasion de stagire dans son laboratoire.

*Nous somme particulièrement reconnaissante a tout les personnes du :
laboratoire N° 114 de l'université 20 aout 1955 SKIKDA.*

Nos très chers parents pour leurs encouragements.

Enfin, on remercie tous les membres de nos familles chacun par son nom, pour leur patience et pour nous avoir assuré les conditions favorables pour la préparation et la rédaction de ce mémoire.

Merci à tous

Dédicaces

A la lumière de ma vie, la source de mes efforts, celui qui s'est toujours sacrifié pour me voir réussir, ma chère : Maman.

A l'homme de ma vie, mon soutien moral et source de force et de bonheur, mon cher héros : Papa.

A mes moitiés, mes chères sœurs : Sarah, Selma, Khaoula et Ferdaws.

A mes adorables frères : Hamza, Abdou et Mohammed.

A mes beaux frères : Sofiane, Samir, Hocine, et ma belle sœur : Asma.

A la joie de la famille mes neveux : Sérine, Djoud, Iline, Djad, Fassnim, Abd-errahim, Djouri et Assil.

A mes chers amis qui m'ont soutenu dans cette période : Ines, Anfel, Rim, Ammar et Yasser.

A mes frères et mes sœurs dans les clubs : Jil Media, Jil Tardjih Skikda, Jil Reads et Master Minds.

A ma chère copine « Houda », la fille adorable, courageuse et sympathique.

A tous mes enseignants durant ma vie.

A mes collègues de la promo 2021-2022.

Chaima

Dédicaces

Je dédie ce travail à :

Ma très chère maman, la femme génial qui reste toujours à mon cœur et mon très cher papa qui ma donne l'amour et la force.

Ma sœur Besma, mon frère Seif et mon petit frère Ramzi qui m'ont toujours encouragé, qui m'ont accompagnée dans chaque pas de ma vie après mes parents

Mes chères amies : Aya, Chaima, Meriem, Soumia qui étaient toujours avec moi pour partager ma joie

Mon binôme Chaima Ma Meilleur amie merci pour ces 5 années remplis d'émotions et des événements différents, des aventures, de rire et de souffrance.

Mes collègues de la promotion.

Nour El Houda

Sommaire

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction générale

Références bibliographiques

Partie I : Synthèse bibliographique

Chapitre I : Description et caractéristiques de Pistachier Lentisque

I-Généralité sur la famille Anacardiaceae	4
II-Description et composition de <i>Pistacia lentiscus</i> L.....	5
II-1- Description botanique	5
II-2- Répartition géographique	6
II-3- Systématique de <i>Pistacia lentiscus</i>	7
III-Composition phytochimique	7
III-1- Les composés phénoliques	8
III-2- Les alcaloïdes	8
III-3- Les triterpénoïdes et les stérols	8
III- 4- Les acides gras	8
III- 5 Les huiles essentielles	8
IV-Usages et propriétés thérapeutiques	12
V- Intérêts pharmacologiques	12
Références bibliographiques	14

Chapitre II: Revue bibliographique sur les HEs

I-Généralité sur les HEs	17
I-1-Définition.....	17
I-2- Historique.....	17
I-3- Localisation des huiles essentielles.....	17
II-Composition chimique des huiles essentielles	18
III-Biosynthèse des HEs	19
IV- Caractéristiques physico-chimiques des huiles essentielles	22

V-Toxicité des HEs	22
VI-Propriétés pharmacologiques des HEs	22
VII-Techniques d'extraction des huiles essentielles.....	23
VII-1-Extraction par entraînement à la vapeur d'eau	23
VII-2-Hydrodistillation.....	23
VII-3-Expression à froid.....	24
VII-4-Extraction par micro-ondes	25
VII-5-Extraction au CO ₂ supercritique	26
VIII-Principaux domaines d'application	26
Références bibliographiques.....	27

Partie II : Partie expérimentale

Chapitre III: Matériels et méthodes

I-Matériels et méthodes	31
I-1-Matériels	31
I-1-1-Matériel végétale.....	31
I-1-2-Solvants et réactifs chimiques	32
I-1-3-Appareils	33
II- Etude phytochimique des feuilles de lentisque pistachier	33
II-1- Tests Phytochimique	33
II-1-1- Test des flavonoïdes	33
II-1-2-Glycosides cardiaques	34
II-1-3- Test des tanins	34
II-1-4- Test de Mucilages	34
II-1-5- Test des Quinones libres	34
II-1-6- Test des alcaloïdes	34
II-1-7- Test des huiles essentielles	35
II-1-8- Test des stérols et tri terpènes	35
II-1-9- Test des saponines	35
II-1-10- Test des coumarines	35
II-1-11-Test des Dérivés anthracéniques libres	36
II-1-12- Test des polyphénols.....	36
II-1-13- Test des composés réducteurs	36
II-2- Extraction des composés phénoliques	36

II-2-1 - Extraction au soxhlet	36
II-2-2 - Calcul de rendement	39
II-3- Analyse quantitative des polyphénols	39
II-3-1- Dosage des polyphénols	39
II-3-2- Dosage des flavonoïdes.....	41
II-3-3- Dosage des Tannins	43
III- Étude phytochimique d’huile essentielle de lentisque.....	45
III-1-Extraction d’huile essentielle	45
III-2-Détermination des indices physicochimiques	48
III-2-1 Détermination des indices physiques	48
III-2-1-1-Caractéristique organoleptiques	48
III-2-1-2-Densité relative	49
III-2-1-3-Pouvoir rotatoire	49
III-2-1-4-indice de réfraction	51
III-2-1-5-Miscibilité à l’éthanol	52
III-2-2-Détermination des indices chimiques.....	52
III-2-2-1- Indice d'acide(IA).....	52
III-2-2-2-Indice d'ester(IE)	53
III-2-2-3-Indice de saponification (IS)	55
III-2-2-4-Indice de peroxyde(IP)	55
IV-Évaluation de l’activité antimicrobienne.....	57
IV-1-Principe général de la méthode de diffusion ou aromagrammes	57
IV-2-Souches testées.....	57
IV-3-Mode d’opérateur.....	58
IV-4- Lecture de résultat	61
Références bibliographiques.....	62

Chapitre IV : Résultats et discussions

I- Les tests phytochimiques	66
II- Rendement de l’extraction	67
III-Dosage des composés phénoliques	68
III-1- Dosage des Polyphénols	68
III-2-Dosage des Flavonoïdes	71
III-3-Dosage des Tanins	72

IV- Étude phytochimique d'huile essentielle de lentisque	74
IV-1-Le rendement d'extraction d'HE	74
IV-2-Caractéristiques physico-chimiques.....	75
IV-2-1-Propriétés organoleptiques de l'HE de <i>P. Lentiscus</i>	75
IV-2-2- Caractères physiques de l'H.E	76
VI-2-3-Détermination chimique	78
V- Activité antimicrobienne	80
Références bibliographiques	85
Conclusion générale	
Annexes	

Liste des abréviations :

°C : Degré Celsius

AFNOR : Association Française de Normalisation

AlCl₃ : Chlorure d'aluminium

CH₂Cl₂ : Dichloromethane

cm : centimètre

CO₂ : Dioxyde de Carbone

DMPA : Diméthylallyl pyrophosphate

E-AcOEt : Extrait acétate d'éthyle

E-DCM : Extrait Dichlorométhane

E-MeOH : Extrait méthanolique

EtOH : Ethanol

FeCl₃ : Chlorure Ferrique

g : gramme

h : heurs

H₂SO₄ : Acide Sulfurique

HCl : Acide chlorhydrique

HEs : Huiles Essentielles

IFAC : Institut des Fruits et Agrumes Coloniaux

IPP : Isopentylpyphosphate

ISO : Organisation Internationale de Standardisation

Kg : Kilogramme

KI : Iode de Potassium

KOH : Hydroxyde de potassium

MeOH : Methanol

MH : Mueller Hinton

min : minutes

ml : millilitre

mm : millimètre

NaOH : Hydroxyde de Sodium

NH₄OH : Ammoniaque

nm : nanomètre

P. lentiscus : Pistacia Lentiscus

PEP : Phosphoénolpyriviate

UV : Ultra-Violet

λ : Longuer d'onde

μg : microgramme

μl: Microlitre

Liste des figures :

Chapitre I : Description et caractéristiques de <i>Pistacia lentiscus</i> L		
Figure	Titre	Page
01	Répartition géographique de la famille Anacardiacees.	4
02	Arbuste de <i>Pistacia lentiscus</i> L.	5
03	Feuilles, fleurs et fruits de <i>Pistachier Lentisque</i> .	6
04	Aire répartition du <i>pistachier lentisque</i> dans le bassin méditerranéen.	6
05	Aire répartition de <i>pistachier lentisque</i> en Algérie.	7
Chapitre II : Revue bibliographique sur les HEs		
Figure	Titre	Page
01	Biosynthèse des terpènes à partir d'IPP.	20
02	Voies responsables de la synthèse des terpènes et des phénylpropènes.	22
03	Montage d'entraînement à la vapeur d'eau.	24
04	Montage d'Hydrodistillation.	25
05	Extraction par la sfumatrice.	25
06	Montage d'extraction sans solvant assistée par micro-ondes.	26
07	Extraction par CO ₂ supercritique.	27
Chapitre III : Matériels et méthodes		
Figure	Titre	Page
01	Organigramme représente le plan générale de travaille.	30
02	Photo de la plante <i>Pistacia lentiscus</i> L sèche et tamisée.	31
03	Carte géographique de la station de récolte.	31
04	Montage de Soxhlet.	36
05	Dispositif d'évaporation.	38
06	Etapas de dosage des polyphénols pour les extraits E-MeOH et E-AcOEt de feuilles de <i>P.lentiscus</i> .	40
07	Dilution de la solution mère de l'acide gallique.	40
08	Structure d'acide gallique.	41
09	Etapas de dosage des flavonoïdes pour les extraits E-MeOH et E-AcOEt de feuilles de <i>P.lentiscus</i> .	42
10	Dilution de la solution mère de la quercétine.	42
11	Structure de la Quercétine.	43
12	Etapas de dosage des Tannins pour les extraits E-MeOH et E-AcOEt de feuilles de <i>P.lentiscus</i> .	44
13	Dilution de la solution mère de la catéchine.	44
14	Structure de la catéchine.	45
15	Montage de l'entraînement à la vapeur d'eau.	46
16	Etapas d'extraction d'HE par l'entraînement à la vapeur.	47
17	Densité mètre DMA 4500 M.	49
18	Polarimètre de marque Jasco1010.	50

19	Refractomètre.	51
20	Dispositif de mesure d'indice d'acide.	53
21	Dispositif de mesure d'indice d'ester.	54
22	Dispositif de mesure de l'indice de peroxyde.	56
23	Isolement bacterien (technique des quadrants ou par épaissement).	60
Chapitre IV : Résultats et discussions		
Figure	Titre	Page
01	Les extraits des feuilles de <i>P. lentiscus</i> .	68
02	Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.	69
03	Histogramme de la teneur en polyphénols totaux des extraits MeOH et AcOEt des feuilles de <i>P. Lentiscus</i> .	70
04	Courbe d'étalonnage du quercétine pour le dosage des flavonoïdes	71
05	Histogramme de la teneur en flavonoïdes des extraits MeOH et AcOEt des feuilles de <i>P. Lentiscus</i> .	72
06	Courbe d'étalonnage de la catéchine pour le dosage des tannins condensés.	73
07	Histogramme de la teneur en tanin condensé des extraits MeOH et AcOEt des feuilles de <i>P. Lentiscus</i> .	73
08	Huile essentielle des feuilles de <i>P. lentiscus</i> extraite par l'entraînement à la vapeur.	76
09	Activité antimicrobienne en fonction du taux de dilution des extraits de <i>Pistacia lentiscus</i> .	82
10	Histogramme présentant les zones d'inhibition des extraits de <i>Pistacia lentiscus</i> à concentration 1mg/ml pour les deux souches testées.	82
11	Activité antimicrobienne de l'H.E à l'état pur de <i>Pistacia lentiscus</i> par la méthode d'aromatogramme.	84

Liste des tableaux :

Chapitre I : Description et caractéristiques de <i>Pistacia lentiscus</i> L		
Tableau	Titre	Page
01	Position systématique de <i>Pistacia lentiscus</i> .	7
02	Structure des quelques principaux composants chimiques de <i>Pistacia lentiscus</i> L.	9
03	Usages et propriétés thérapeutiques de <i>Pistacia Lentiscus</i> L.	12
04	Principales actions pharmacologiques de <i>Pistacia lentiscus</i> L.	13
Chapitre II : Revue bibliographique sur les HEs		
Tableau	Titre	Page
01	Organes de certaines plantes riches en huiles essentielles.	18
02	Effets pharmacologiques des HEs.	23
Chapitre III : Matériels et méthodes		
Tableau	Titre	Page
01	Solvants et réactifs chimiques utilisées.	32
02	Solvants utilisés et leurs affinités avec les molécules.	38
03	Rendement de différents extraits des feuilles de <i>Pistacia lentiscus</i> .	38
Chapitre IV : Résultats et discussions		
Tableau	Titre	Page
01	Résultats de screening phytochimique de <i>Pistacia lentiscus</i> L.	66
02	Caractéristiques des extraits des feuilles de <i>Lentisque pistachier</i> et leurs rendements.	68
03	Résultats de la quantification spectrophotométrique des phénols totaux.	69
04	Résultats de la quantification spectrophotométrique des flavonoïdes totaux.	71
05	Résultats de la quantification spectrophotométrique des tannins totaux.	73
06	Rendement d'extraction de l'HE de Lentisque Pistachier par l'entraînement à la vapeur.	74
07	Caractères organoleptiques de l'H.E de <i>Pistacia lentiscus</i>	75
08	Indices physico-chimiques des HE de <i>Pistacia lentiscus</i> .	76
09	Valeur des indices chimiques d'huile essentielle.	78
10	Diamètre des zones d'inhibition de la croissance bactériennes des extraits bruts étudié en mm.	80
11	Diamètres de zones d'inhibition de l'huile essentielle extraite.	83

Introduction générale

Depuis des milliers d'années, l'homme a su exploiter les richesses naturelles se trouvant autour de lui pour ses besoins alimentaires et médicaux afin de retraiter et soigner toute sorte de maladie dans un cadre scientifique.

L'aromathérapie utilise les extraits aromatiques des plantes (essences ou huiles essentielles), elle est considérée à travers le monde comme une médecine complémentaire ou alternative de la médecine traditionnelle.

Depuis toujours, les plantes aromatiques sont une autre source de richesse en raison de leurs huiles essentielles, qui représentent un grand avantage économique en raison de leur applicabilité dans divers domaines tels que l'agroalimentaire, l'industrie cosmétique et pharmaceutique. De nombreuses utilisations signifient une augmentation de la demande sur les marchés mondiaux ce qui augmente l'économie du pays. [1]

Par sa position géographique privilégiée, l'Algérie fait partie du bassin Méditerranéen. Le pays jouit de plusieurs facteurs de pédogenèse et de grandes variations climatiques auxquels s'ajoutent les ressources hydriques, ce qui correspond à une grande diversité de plantes aromatiques et médicinales présentant un intérêt économique par une utilisation diversifiée. Parmi elle, se trouve *Pistacia lentiscus* L. (Anacardiaceae) connu en Algérie sous le nom de Drou ou Darw communément appelé arbre de mastic ou lentisque. Sa résine et son huile essentielle sont utiles pour soigner les petites blessures, comme la cicatrisation des plaies, brûlures légères et érythèmes. Il est également utilisé pour l'antagonisme oral, problèmes respiratoires allergiques et ulcères d'estomac. [2] Ses huiles essentielles sont aussi utilisées en pharmacie, en aromathérapie et dans la création des parfums.

C'est dans ce contexte que s'inscrit le présent travail dont l'objectif principal est d'extraire les molécules bioactives des feuilles de *Pistacia lentiscus* (L.), de déterminer la concentration des polyphénols totaux et des flavonoïdes et d'évaluer les paramètres physico-chimiques des essences de lentisque extraites par entraînement à la vapeur et leurs activités antimicrobiennes

Notre travail présenté dans ce manuscrit est réparti en deux parties:

La première partie est scindée en deux chapitres :

- Le premier chapitre est consacré aux données bibliographiques, notamment la présentation botanique, la position géologique, les utilisations traditionnelles et la composition phytochimique de *Pistacia lentiscus* L.

- Le deuxième chapitre aborde une étude bibliographique qui donne des approches sur les huiles essentielles, leurs compositions chimiques, leurs méthodes d'extraction, leurs propriétés biologiques, les domaines d'application ainsi que leurs précautions d'emploi et leur toxicité.

La deuxième partie est subdivisée également en deux chapitres :

- Le troisième chapitre illustre le matériel et les méthodes utilisés.
- Le quatrième chapitre est consacré à la présentation et la discussion des résultats obtenus.

Enfin, ce travail a été clôturé par une conclusion générale.

Références bibliographiques :

[1]: Mishara, A.K., Dubey, N.K. (1994). Evaluation of some essential oils for their toxicity against fungi causing deterioration of stored food commodities. *Appl. Environ. Microbiol*, 4, 60.

[2]: De Pooter, H.L., Schamp, N.M., Aboutabl, E.A., El Tohaniy, S.F., Doss, S.L., (1991). Essential oils from the leaves of three Pistacia species grown in Egypt. *Flavour and Fragrance Journal*, 6, 229-232.

Chapitre I :

Description et caractéristiques de *Pistacia lentiscus* L.

I- Généralité sur la famille Anacardiacées :

Les Anacardiacées (Térébinthacées) sont une importante famille des plantes Angiospermes Dicotylédones Sapindales. [1]

Les Anacardiacées sont des arbres ou des arbustes caducs ou persistants, plus rarement des lianes ou des arbustes épiphytes. L'écorce est souvent résineuse. Les feuilles généralement alternes, rarement sub-opposées, simples ou composées, imparipennées ou sub-paripennées, non stipulées. Les fleurs 4-5-mères, généralement actinomorphes (fleurs symétriques), rarement irrégulières, souvent hermaphrodites ou unisexuées par avortement, nombre d'étamines : 4 à 5 ou alors 8 à 10. Il y a plusieurs formes des fruits, généralement sont des drupes, graines avec peu ou pas d'albumen. [2]

Les plantes de la famille Anacardiacées produisent des résines ou vernis précieux (laque de Chine, etc.); plusieurs sont riches en tanin (*Rhus*), d'autres sont comestibles (*Mangifera*, *Anacardium*, *Pistacia*, etc.).

La composition de cette famille en genres et espèces diffère selon les auteurs. D'après **HOFF (1997)**, elle compte 70 à 77 genres et 600 espèces, et pour **Pell (2004)** elle renfermerait 82 genres et plus de 700 espèces. [2, 3]

Les espèces de cette famille existent surtout dans les régions tropicales à subtropicales et dans les régions tempérées de l'hémisphère Nord. [4]

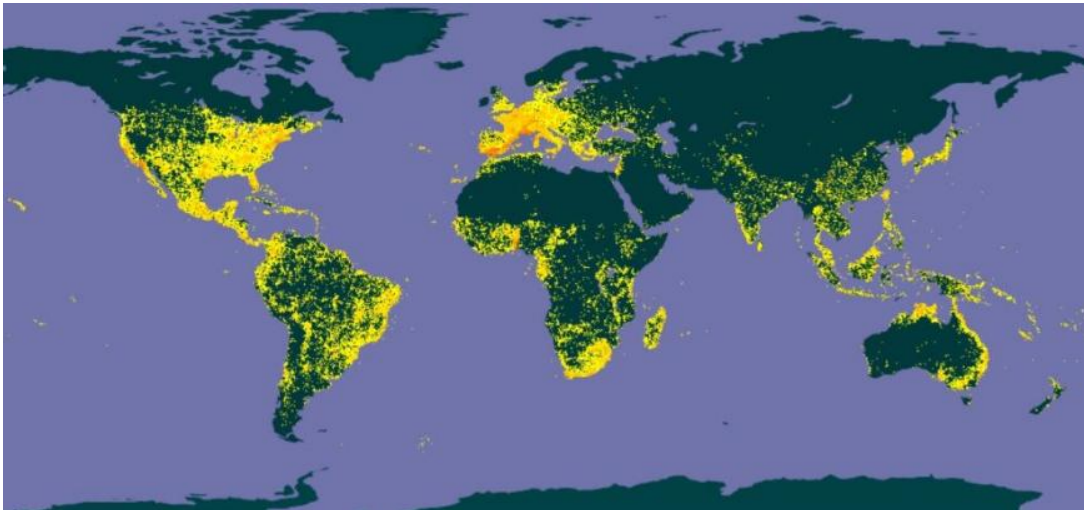


Figure 01 : Répartition géographique de la famille Anacardiacées. [5]

(La couleur jaune représente la répartition géographique)

II- Description et composition de *Pistacia lentiscus* L:

II-1- Description botanique :

Le pistachier lentisque (*Pistacia lentiscus* L.), appelée aussi « Drou » en arabe local est un arbrisseau ramifié de 3 mètres de hauteur, à odeur de résine fortement âcre. C'est une espèce de la famille des anacardiacées dioïque à feuillage persistant. [6]

En Algérie le genre *Pistacia* est représenté par quatre espèces : *Pistacia lentiscus*, *Pistacia terbinthus*, *Pistacia vera* et *Pistacia atlantica*. [7]

Le *Pistacia lentiscus* se caractérise par :

- Les feuilles sont persistantes paripennées, avec 4 à 10 paire de folioles oblongues, elliptiques, obtuses coriaces, luisantes en dessus, mates et pales en dessous. [8]
- Les fleurs dégagent une odeur forte et désagréable, on différencie les fleurs femelles des fleurs mâles grâce à leur couleur, vert jaunâtre pour les femelles et rouge foncée pour les mâles. [4]
- Les Fruits sont des drupes d'abord rouge puis noire à maturité, d'environ 4 mm diamètre. [9]
- Les branches tortueuses et pressées, formant une masse serrée.



Figure 02 : Arbuste de *Pistacia lentiscus* L.



Figure 03 : Feuilles (a), fleurs (b) et fruits (c) de *Pistacia lentiscus* L.

II-2- Répartition géographique :

Pistachier Lentisque (*Pistacia Lentiscus* L) a une large distribution géographique et bioclimatique que l'on trouve couramment en site aride Asie et région méditerranéenne de l'Europe, d'Afrique et d'Asie, jusqu'aux Canaries et au Portugal, on le trouve en Corse et en Charente maritime.



Figure 04 : Aire répartition du pistachier lentisque dans le bassin méditerranéen.

En Algérie on le retrouve dans le bassin de la Soummam, le versant Nord du Djurdjura et dans le bassin d'EL Ksour, elle est répandue dans les hauts plateaux et d'Atlas saharien (**Figure 05**). [10]

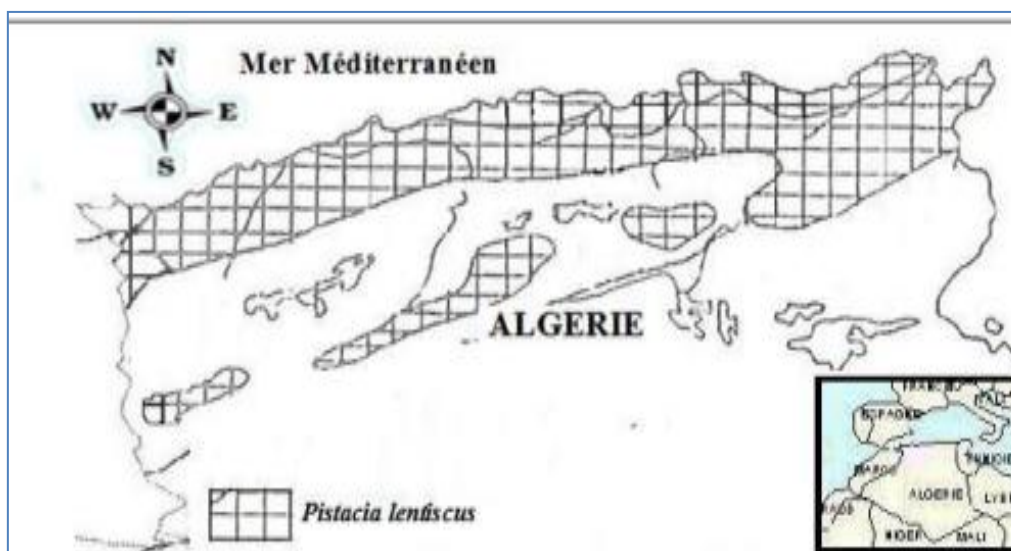


Figure 05 : Aire répartition de pistachier lentisque en Algérie.

II-3- Systématique de *Pistacia lentiscus*:

Chaque plante définit selon sa classification taxonomique, la classification de l'espèce de *Pistacia lentiscus* est présentée dans le **tableau N° 01** :

Tableau 01: Position systématique de *Pistacia lentiscus*. [11]

Règne	Plante
Embranchement	Spermaphytes
Sous- embranchement	Angiosperme
Classe	Magnoliopsida
Sous classe	Rosidea
Ordre	Sapindales
Famille	Anacardiaceae
Genre	<i>Pistacia</i>
Espèce	<i>Pistacia lentiscus</i>

III- Composition phytochimique :

Les différentes études phytochimiques sur *Pistacia Lentiscus* indiquent que cette plante est riche en plusieurs composés chimiques d'où résultent des activités biologiques intéressantes :

III-1- Composés phénoliques :

Les feuilles de *P. lentiscus* contiennent entre 5 à 7% du gallotanins à savoir les dérivés gallolyles tels que : les acides mono, di et tri-*O*-gallolyle quinique et l'acide gallique. Aussi elles sont riches en glycosides de flavonols tels que : la quercétine, myricétine, lutéoline et isoflavone génistéine. [12,13]

La cyanidine 3-*O*-glucoside est la principale anthocyanine isolée des fruits de cette plante. La delphinidine 3-*O*-glucoside et la cyanidine 3-*O*-arabinoside ont également été isolées en petites quantités. [14]

D'autres études chimiques ont permis d'isoler deux polyphénols l'acide gallique et le 1,2,3,4,6-pentagolloylglucose. [15]

III-2- Alcaloïdes :

D'après les études précédentes, les alcaloïdes sont présents dans les fruits mais ils sont absents dans les feuilles et les tiges. [6]

III-3- Triterpénoides et stérols :

Les feuilles de lentisque pistachier riches en triterpènes et en stérols. [16]

La résine de *P. lentiscus* est riche en triterpènes penta et tetracycliques tels que l'acide masticadienonique, l'acide masticadienolique, l'acide morolique, l'acide oleanolique et l'acide ursonique. [12]

L'huile fixe de *P. lentiscus* est caractérisée par la présence de 4 phytostérols majoritaires qui sont le β -sitostérol, le campestérol, le cholestérol et le stigmastérol. [12]

III- 4- Acides gras :

Les fruits matures de *P. lentiscus* produisent une huile végétale caractérisée par sa richesse en acides gras mono insaturés. Ces derniers présentent 53% des acides gras totaux. Le principal acide gras est l'acide oléique (50,72%), suivi de l'acide palmitique (23,2%) et l'acide linoléique (21,75%). D'autres acides gras sont présents en très faible quantité comme l'acide palmitoléique (1,28%), stéarique (1,13%), linoléique (1%), gadoléique (0,18%) et arachidique (0,006%). Les rendements en huile varient entre 1,83% et 42,54% en fonction du stade de maturité. [17]

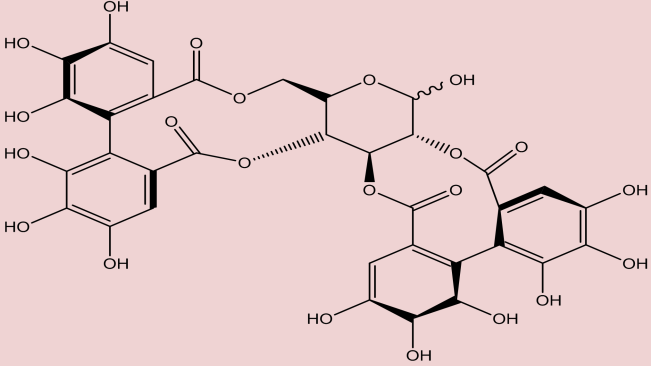
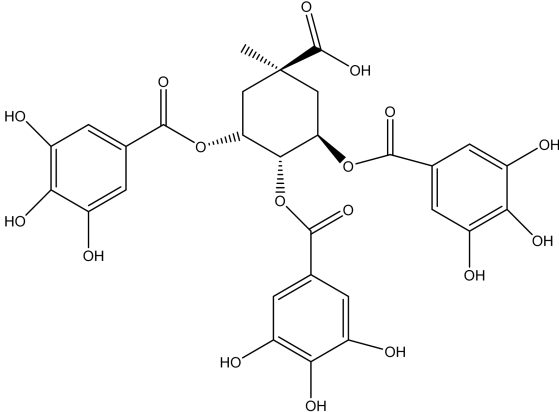
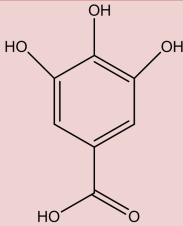
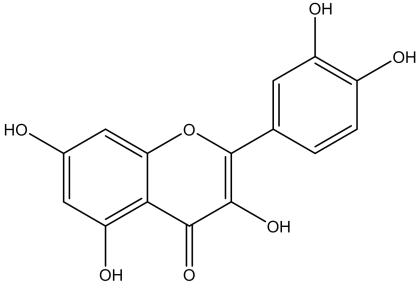
III- 5 -Huiles essentielles :

La composition chimique des essences est complexe et peut varier selon l'organe, les facteurs climatiques, la nature du sol, les pratiques culturales et le mode d'extraction. [18]

Chapitre I: Description et caractéristiques de *Pistacia lentiscus* L

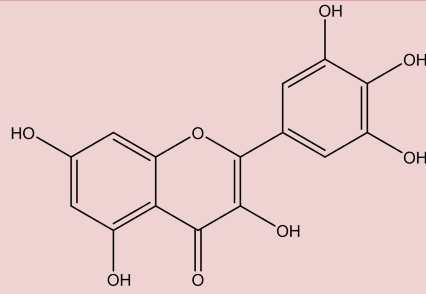
Les principaux composants de l'huile de *Pistacia lentiscus* sont riches en terpinen-4-ol, α -terpineol, germacrène, terpinen-4-ol, α -tripineol, chemotype, γ -cadinene, trans- β terpineol, α -acomeol. [19]

Tableau 02 : Structure des quelques principaux composants chimiques de *P. lentiscus*.

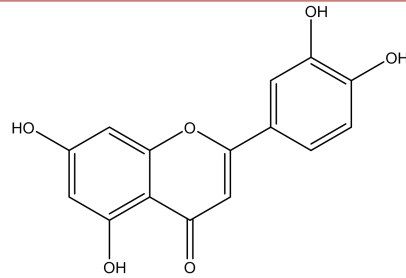
Nom du composant chimique	Structure
Gallotanin	
Tri-O-gallolyle quinique	
Acide Gallique	
Quercétine	

Chapitre I: Description et caractéristiques de *Pistacia lentiscus L*

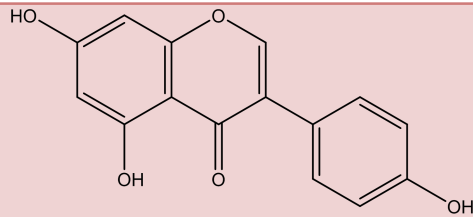
Myricétine



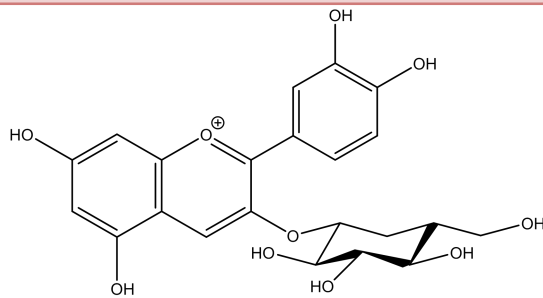
Lutéoline



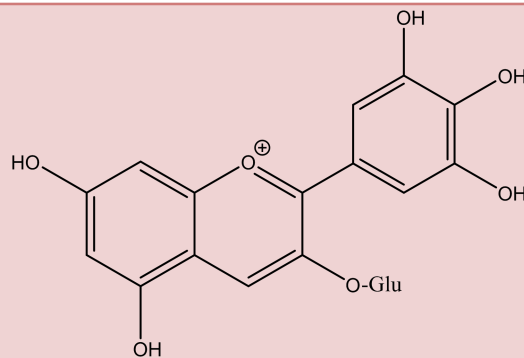
Isoflavone génistéine



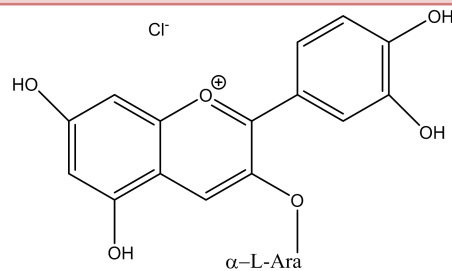
Cyanidine 3-O-glucoside



Delphinidine 3-O-glucoside

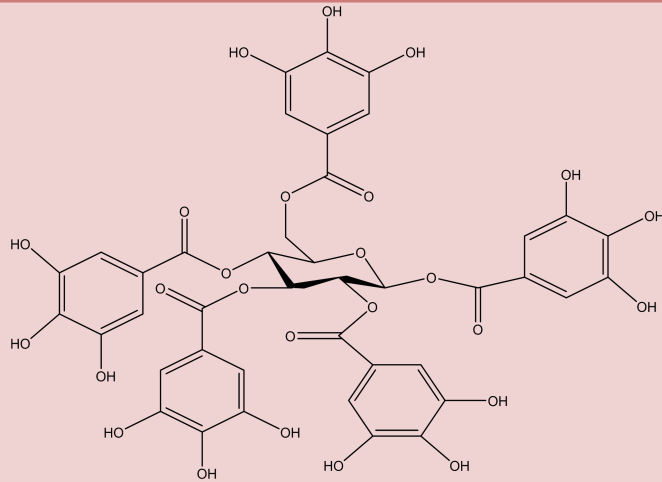


Cyanidine 3-O-arabinside

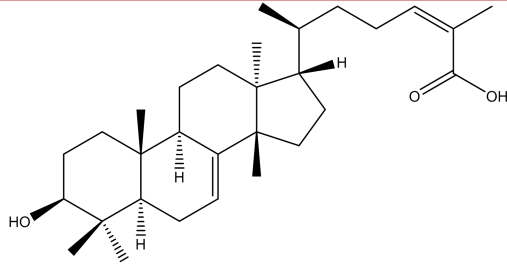


Chapitre I: Description et caractéristiques de *Pistacia lentiscus* L

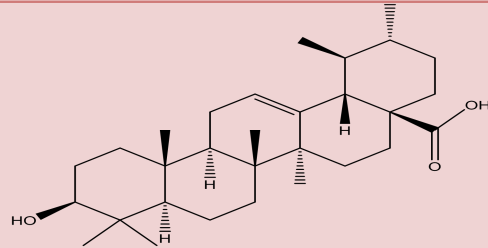
1,2,3,4,6-pentagolloylyglucose



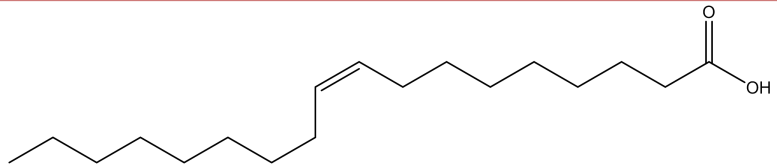
Acide masticadiénolique



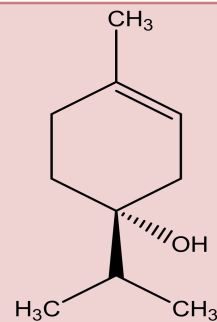
Acide ursonique



Acide oléique



Terpinen-4-ol



Suite tableau 02 : Structure des quelques principaux composants chimiques de *P. lentiscus*.

IV- Usages et propriétés thérapeutiques :

Pistacia lentiscus L. constitue une source importante de substances actives, en effet plusieurs parties de cette plante (les fruits, les feuilles, la racine et la résine) sont utilisées en médecine traditionnelle depuis la civilisation Grecque.

Tableau 03 : Usages et propriétés thérapeutiques de *Pistacia Lentiscus* L.

Partie de la plante	Utilisation thérapeutiques traditionnelles	Référence
Feuilles	Elles sont utilisées dans les traitements des maladies telles que : l'eczéma, infection buccales, diarrhées, lithiases, rénales, jaunisse, maux tête, ulcères, maux d'estomac, asthme et problèmes respiratoires.	[20]
Fruit	Utilisé dans le traitement de la diarrhée et l'infection de la gorge.	[4]
Résine	Il est utilisé dans le traitement d'hypertension, d'eczéma, des douleurs gastriques et les calculs rénaux, la jaunisse, l'asthme, les troubles digestifs	[21]
Racine	Efficace contre l'inflammation intestinale et d'estomac et dans le traitement de l'ulcère.	[22]
Ecorce	Douleur intestinale, diabète et diarrhée	[20]

V- Intérêts pharmacologiques :

Pistacia lentiscus occupe une place appréciable dans la pharmacologie, les activités biologiques et pharmacologiques des produits ont été décrites à travers plusieurs études scientifiques.

Chapitre I: Description et caractéristiques de Pistacia lentiscus L

Tableau 04 : Principales actions pharmacologiques de *Pistacia lentiscus* L.

Partie de la plante	Les effets	référence
Résine	Anticancéreuse Antimicrobienne, Antioxydant Anti-Helicobacterpylori Antifongique, Anti-inflammatoire, Antiviral	[23-25]
Feuilles	Antibactérien, Antipyrétique, Anti-inflammatoire Anti radicalaire Antihypertenseur, Antispasmodique	[26-28]
Fruits	Antioxydants, Antimutagènes	[29]

Références bibliographiques:

- [1]: Benmansour, n. (2020). Etude physico-chimiques et applications de quelques extraits de plantes. Université abou-bekr belkaid – tlemcen. Thèse de Doctorat, P 44.
- [2]: Hoff, M., Jérémie, J. and Jonsell, B. (1997). Flore de la nouvelle-caledonie. Museum national d'Histoire naturelle, Vol.21, No. 1.
- [3]: Pell, S.K. (2004). Molecular systematics of the cashew family (Anacardiaceae). Thèse de DOCTORAT. St Andrews Presbyterian College, p.7.
- [4]: Bouhbel, I. (2019). Activités biologiques des extraits phénoliques des deux genres de *Pistacia* (*Lentiscus L.* et *Atlantica Desf.*). Centre Universitaire Abdelhafid Boussouf-Mila. Mémoire de Master, p 30.
- [5]: Site d'internet. Disponible sur : <https://monde-vegetal.fr> . Consulter le 09-06-2021.
- [6]: Bammou, M., Daoudi, A., Slimani, I., Najem, M., Bouiamrine, E., Ibjibijen, J., Nassiri, L. (2015). Valorisation du lentisque « *Pistacia lentiscus L.* » : Étude ethnobotanique, Screening phytochimique et pouvoir antibactérien. *Journal of Applied Biosciences*, 86, 7966–7975.
- [7]: Evreinoff, V. A. (1955). Evreinoff V. A. Le Pistachier. Etude pomologique. In: *Journal d'agriculture tropicale et de botanique appliquée*, vol. 2, No. 7-9.
- [8]: Bendjemil, A., Ghazi, A., Haridi, K. (2018). Contribution à l'étude de l'effet de l'huile de lentisque sur le système immunitaire. Université 8 Mai 1945 - Guelma, Mémoire de Master, P 50.
- [9]: Kettoufi, I. (2020). Caractérisation phytochimique des feuilles de *Pistacia lentiscus*. Université Arbi Ben M'hidi - Oum el Bouaghi, Mémoire de Master, P 39.
- [10]: Abdeliche, S., Benabdelehh, A. (2016). Effet préventif de l'huile de *Pistacia lentiscus* sur l'inflammation induite par l'acide acétique chez les rats de la souche wistar. Université des frères Mentouri – Constantine. Mémoire de Master, P 83.
- [11]: Guignard, J.L., Dupont, F. (2004). Botanique : systématique moléculaire 14^{ème} édition . Paris : Masson, P 336.
- [12]: Chaabani, e. (2019). Eco-extraction et valorisation des métabolites primaires et secondaires des différentes parties de *Pistacia lentiscus*. Université de Carthage - Bizerte. Thèse de DOCTORAT, P 26.

Chapitre I: Description et caractéristiques de Pistacia lentiscus L

- [13]: Vaya, J. Mahmood, S. (2006). Flavonoid content in leaf extracts of the fig (*Ficus carica* L.), carob (*Ceratonia siliqua* L.) and pistachio (*Pistacia lentiscus* L.). *BioFactors*, 169–175.
- [14]: Longo, L. Scardino, A. (2007). Identification and quantification of anthocyanins in the berries of *Pistacia lentiscus* L., *Phillyrea latifolia* L. and *Rubia peregrina* L. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 8, 360-364.
- [15]: Abdelwahed, A., Bouhlel, I., Skandrani, I., Valenti, K. (2007). Study of antimutagenic and antioxidant activities of Gallic acid and 1,2,3,4,6-pentagalloylglucose from *Pistacia lentiscus*: Confirmation by microarray expression profiling. *Chemico-Biological Interactions*, 165, 1-13.
- [16]: Barbouchi, M., Elamrani, K., El Idrissi, M., Choukrad, M. (2020). A comparative study on phytochemical screening, quantification of phenolic contents and antioxidant properties of different solvent extracts from various parts of *Pistacia lentiscus* L. *Journal of King Saud University – Science*, 32, 302-306.
- [17]: Trabelsi, H., Cherif, O.A., Sakouhi, F., Villeneuve, P., Renaud, J., Barouh, N., Boukhchina, S., Mayer, P. (2012). Total lipid content, fatty acids and 4-desmethylsterols accumulation in developing fruit of *Pistacia lentiscus* L. growing wild in Tunisia. *Food Chemistry*, 131, 434–440.
- [18]: Guignard, J. L. (2000). « *Biochimie végétale* », Masson, Paris, 166.
- [19]: Abbas, z., Bessaoudi, t. (2018). Etude de l'effet acaricide de l'huile essentielle de feuilles de *lentisque pistachier* (*Pistacia lentiscus*). Université Akli Mohammed Oulhadj- Bouira. Mémoire de Master, P 6.
- [20]: Ali-Idir, N., Bouyoucef, H. (2017). Etude de l'activité Anti –inflammatoire, invitro, des extraits des feuilles et des écorce des racine du *Pistacia Lentiscus* L sur la stabilité membranaire du globule rouge. Universités A Mira - Bjaia. Memoire de Master, P33.
- [21]: Vasilikik, P et al. (2020). Traditional uses, phytochemistry and pharmacology of chios mastic gum (*Pistacia Lentiscus*, var, chia Anacardiacea): a review *Ethnopharmacol*, 254, 112-4785.
- [22]: Palevitch, D., Yaniv, Z. (2000). Medicinal plants of the Holy Land. *Modan Publishing House*, No. 988.

Chapitre I: Description et caractéristiques de Pistacia lentiscus L

[23]: Balan, k. v., Prince, J., Han, Z., Dimas, K., Cladaras, M., Wyche, J. H., & Pantazis, P. ,(2007) . Antiproliferative activity and induction of apoptosis in human colon cancer cells treated in vitro with constituents of a product derived from *Pistacia lentiscus L.var. chia*. Phytomedicine, vol.4, No. 14.

[24]: Kordali, S. , Cakir, A. ,Zengin, IL., Duru, M.E. (2003) . Antiflmgal activities of the leaves of three *Pistacia* species grown in Turkey. Fitoterapia, No.74 .

[25]: Ferradji, A. (2011). Activité antioxydante et anti-inflammatoire des extrait alcoolique et aqueux des feuilles et des baies *Pistacia lentiscus*. Universités Farhat Abbas –setif. Mémoire de Magister, P56.

[26]: Benyoucef ,H.,Kerouaz,F. (2018) . Etude phytochimique et evaluation des activités Antioxydante, Antibactérienne et Anti-inflammatoire des deux espèces :*Pistacia Lentiscus L et Matricaria recutita L*. Université de Frère Mentouri- Constantine. Memoire de Master, P70.

[27]: Arabi, M. (2017). Influence des facteurs environnementaux sur la qualité de l’huile de *Pistacia Lentiscus L*. en moyenne montagne méditerranéenne algérienne. Ecole Nationale Supérieure Agronomique El-harrach-Alger. Mémoire de Master, P103.

[28]: Boudieb, K., Ait Slimane, S., Amellal, Ch.H . (2019). Effect of Maturation Degree on the Fixed Oil Chemical Composition, Phenolic Compounds, Mineral Nutrients and Antioxidant Properties of *Pistacia lentiscus* Fruits. Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca , No 47 .

[29]: Bozorgi, M., Memariani, M., Mobli, M., Hossein, M., Salehi S., Reza, M., Ardekani, S., Rahimi,R. (2013). Five *Pistacia* species (*P. vera*, *P. atlantica*, *P. terebinthus*, *P. khinjuk*, and *P. lentiscus*): A Review of Their Traditional Uses, Phytochemistry, and Pharmacology . *The Scientific World Journal BOUGHERA*, No .10.

Chapitre II:

Revue bibliographique sur les huiles essentielles.

I- Généralité sur les huiles essentielles :

I-1-Définition:

Les huiles essentielles sont les parfums des plantes aromatiques, elles s'appellent aussi l'essence ou l'huile volatile, sont des substances huileuses, volatiles, d'odeur et de saveur généralement fortes, extraites à partir des différentes parties de certaines plantes aromatiques, par les méthodes de distillation, par enfleurage, par expression, par solvant ou par d'autres moyens. [1]

I-2- Historique:

Les huiles essentielles (HEs) sont connues et reconnues pour leurs puissantes propriétés thérapeutiques qui sont utilisées depuis des millénaires en Chine (cannelle, anis, gingembre), en Inde, au Moyen Orient (khella, pin, fenouil...), en Egypte, en Grèce, en Amérique (Aztèques, Mayas, Incas : bois de Hô, sassafras) et en Afrique (encens, myrrhe, ravensare). [2] Les huiles essentielles semblent donc avoir accompagné la civilisation humaine depuis ses premières genèses.

L'étape byzantine de la civilisation a permis l'instauration des bases de la distillation avec l'ère arabe de la civilisation, les premières bases de préparation des huiles essentielles ont été développées en Inde, en Perse et en Egypte.

Les égyptiens pratiquaient une forme sommaire de distillation, en utilisant la macération et l'essorage, les plantes étaient mélangées à de l'eau bouillante et laissaient macérer plusieurs jours pour recueillir les propriétés des plantes, c'est Geber (721-815), qui mentionna le premier de façon écrite, la description de la distillation « sèche » et celle par intermédiaire de l'eau, L'Alambic est incontestablement associé à Avicenne (930-1037), tout comme le vase florentin est associé à Giovanni Baptista della Porta (1540-1615), puis le concept de HE est apparu ce qui conduit à l'établissements et au développement de la distillation, c'est au 19^{ème} siècle que sont nés les appareils modernes, alambics à colonnes à distillation continue et de nouveaux solvants. [3,4]

I-3- Localisation des huiles essentielles:

Les HEs sont connues sous le nom de la plante aromatique, répartie dans un nombre limite de famille : les Lamiaceae, les Asteraceae, les Rutaceae et les Lauraceae. [1]

Ces espèces sont caractérisées par la présence des poches (Myrtacées, Rutacées) ou des canaux sécréteurs, des poils sécréteurs. D'organes spécifiques responsables de la synthèse et

Chapitre II : Revue bibliographique sur les huiles essentielles

de stockage des huiles essentielles : les poches (Myrtacées, Rutacées) ou les canaux sécréteurs, les poils sécréteurs (Lamiaceae) et les cellules sécrétrices (Zingiberaceae, Lauraceae). [5]

Les huiles essentielles peuvent être stockées et accumulées dans différents organes végétaux, variant en fonction de la zone productrice du végétal. [6]

Tableau 01 : Organes de certaines plantes riches en huiles essentielles. [7]

Organe	Exemple
Feuilles d'Angiospermes	Romarin, sauge, menthe
Feuille de Gymnospermes	Sapin, cèdre
Tiges	Citronnelle, lemongass
Ecorces	Cannelier
Racines	Angelica, vétiver
Rhizomes	Acorus, gingembre
Bulbes	Oignon, ail
Bois	Santal
Fruit	Bleuet, Citron
Fleurs	Jasmin, rose
Graines	Aneth, carvi

II- Composition chimique des huiles essentielles :

Les huiles essentielles sont constituées principalement en deux grands groupes, les terpénoides d'une part et les composés aromatiques dérivés du phénylpropane beaucoup moins fréquents d'autre part, ainsi que les constituants aliphatiques issus de la synthèse des acides gras et les composants d'origines diverses (dérivés soufrés , nitriles ,thiocyanates). [8]

- **Terpènes :**

Chapitre II : Revue bibliographique sur les huiles essentielles

Les terpènes sont les molécules les plus répandues dans les huiles essentielles, dont ils sont souvent les constituants odoriférants, que l'on trouve dans les plantes, les arbres, les fruits et même chez les insectes. [9]

Les hydrocarbures terpéniques ont pour formules brutes $C_{10}H_{16}$ (monoterpènes), $C_{20}H_{32}$ (diterpènes), $C_{30}H_{48}$ (triterpènes) et $C_{15}H_{24}$ (Sesquiterpènes). Les terpènes les plus importants qui se rencontrent particulièrement comme constituants odorants des essences végétales: myrcène, imonène, camphène, Citronellol, menthol, fenchol, aldehyde (citronellal), ester (acétate de citronellyle, acétate de menthyle). [9]

- **Composés aromatiques :**

Les composés aromatiques dérivent du phénylpropane (C6-C3). Ils sont moins fréquents que les terpènes. Cette classe comprend des composés odorants comme la vanilline, l'eugénol, l'anéthole, l'estragole. Ils sont fréquemment rencontrés dans les huiles essentielles des *Pistacia lentiscus*. [10]

- **Composés d'origines diverses :**

Ce sont des produits résultant de la transformation de molécules non volatiles entraînaibles par la vapeur d'eau. Il s'agit de composés issus de la dégradation des acides gras et des terpènes.

les huiles essentielles peuvent renfermer divers composés aliphatiques, généralement de faible masse moléculaire, entraînaibles lors de l'hydro distillation tels que, acide (C3 à C10), alcools, aldéhydes (octanal, décanal ...), esters, lactones et produits azotés ou soufrés. [11]

III- Biosynthèse des HEs :

La biosynthèse des huiles essentielles se fait suivant deux principales voies : [12]

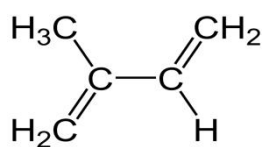
Chapitre II : Revue bibliographique sur les huiles essentielles

• Voie des Terpénoïdes :

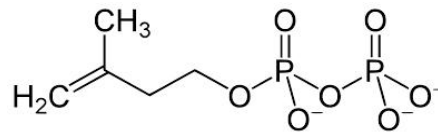
Les terpénoïdes forment une classe large et diverse de composés organiques rencontrés dans la nature, dérivant d'unités isopréniques .

L'isoprène n'existe pas dans la nature mais l'unité de base "l'isopentenol" sous forme "d'isopentylpyrophosphate" (IPP) un squelette de cinq atomes de carbones est biosynthétisé à partir de l'acétyl coenzyme A.

L'IPP va s'isomériser en diméthylallyl pyrophosphate " DMPPA" et les deux molécules s'unir tête à queue. Ainsi on trouve des squelettes hydrocarbonés à dix carbones (monoterpènes), puis à quinze carbones (sesquiterpènes) et plus rarement, à vingt carbones (diterpènes). Le processus peut se poursuivre mais dans d'autres buts que la synthèse des essences. [13]



Isoprène



Isopentenol

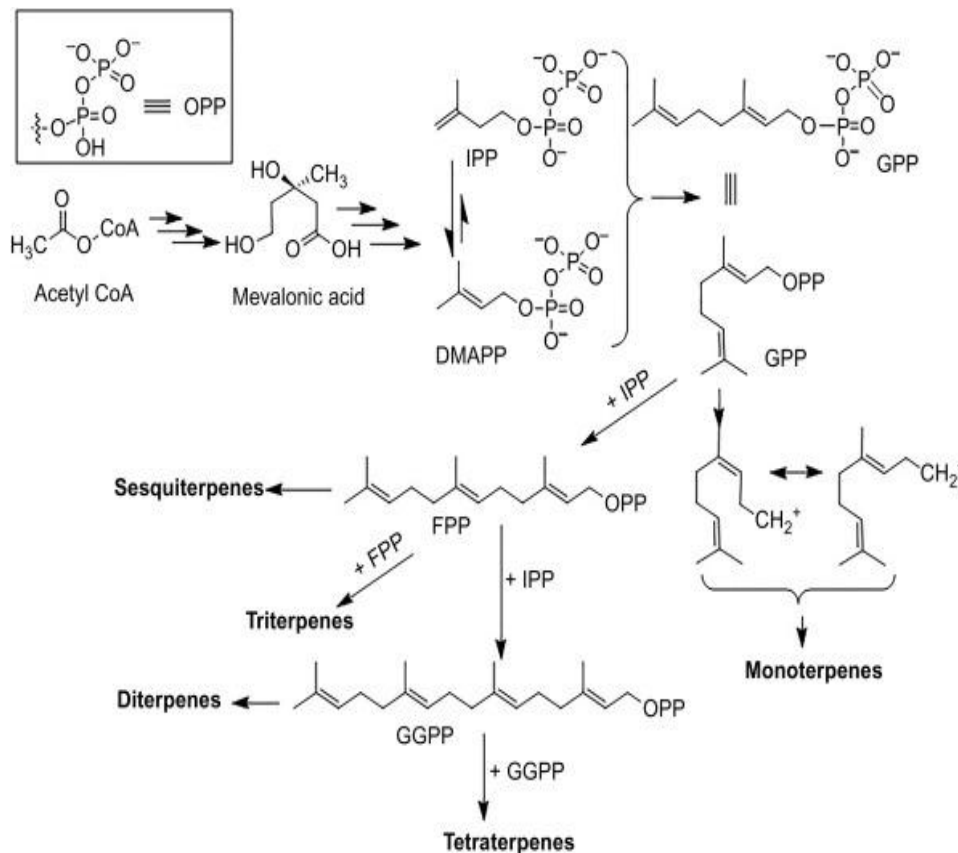
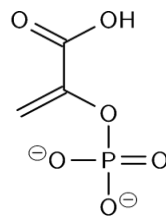


Figure 01 : Biosynthèse des terpènes à partir d'IPP [14]

- **Voie des Phénylpropanoïdes :**

La synthèse des huiles essentielles par la voie des phénylpropanoïdes commence par un métabolite du fructose, le PEP (phosphoénolpyrivate). Elle aboutit à un très grand nombre de substances aromatiques, via une série d'acides, dont l'acide shikimique (d'où son nom, voie shikimique) et l'acide cinnamique. Les métabolites délicats, importants en thérapeutique, sont les acides aromatiques suivants : acides salicylique, cinnamique et benzoïque et leurs esters dont le salicylate de méthyle, les cinnamates, les benzoates, certains phénols (eugénol) ainsi que les coumarines. Quelques grandes familles chimiques de molécules non volatiles, comme les tannoïdes et les flavonoïdes, se trouvent incluses dans cette voie. [12]



Phosphoénolpyrivate

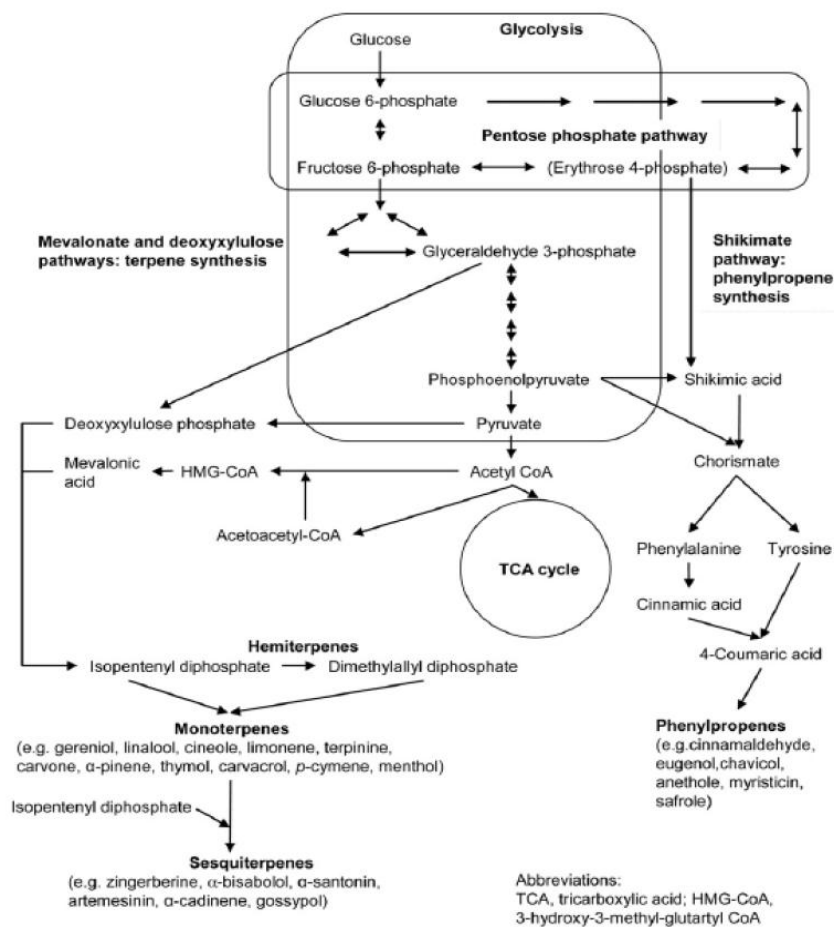


Figure 02 : Voies responsables de la synthèse des terpènes et des phénylpropènes. [15]

IV- Caractéristiques physico-chimiques des huiles essentielles :

Les huiles essentielles sont volatiles ce qui les différencie des huiles fixes, liquides à température ambiante ayant une odeur souvent forte et très caractéristique en générale. Elles ne sont que très rarement colorées. Les huiles essentielles sont solubles dans les solvants organiques mais insolubles dans l'eau, leur densité est en général inférieure à celle de l'eau. Elles ont un indice de réfraction élevé et la plupart dévie la lumière polarisée. Elles sont altérables et très sensibles à l'oxydation. [16]

V- Toxicité des HEs :

Actuellement, l'utilisation des huiles essentielles devient de plus en plus répandue, en particulier du côté thérapeutique ou bien cosmétique. En dépit de ce déploiement rapide, les gens utilisent ces huiles sans connaître leurs risques ni les complications qu'elles peuvent provoquer.

Les risques toxiques avec les huiles essentielles se portent principalement sur les problèmes d'irritation ou de brûlure de la peau et des muqueuses, ainsi que les risques d'hépatotoxicité, de neurotoxicose et de fausses couches. [17]

VI- Propriétés pharmacologiques des HEs :

Les plantes médicinales contiennent une grande diversité de composés différents. Parmi lesquels certains peuvent exercer une activité biologique. De nombreux travaux ont démontré que l'huile essentielle "HE" et les métabolites secondaires, présentent un potentiel important en tant qu'agents antibactériens, antifongiques, antioxydants, antidiabétiques, etc.

Tableau 02 : Effets pharmacologiques des HEs

Huiles essentielles	Effets pharmacologiques	référence
<i>Nigella sativa</i>	Antimicrobienne,	[5]
<i>Citron et Eucalyptus</i>	Antiviral	
<i>Ageratum conyzoides</i>	Antioxydant	[18]
<i>Tymus capitatus</i>	Antifongique,	
<i>Chromoleana Odorata</i>	Anti-inflammatoire,	[19]
<i>Vaccinium myrtillus</i>	Anti-athérogénique.	
<i>Pistacia lentiscus</i>	Cicatrisant.	

VII- Techniques d'extraction des huiles essentielles:

L'extraction des huiles essentielles se fait de plusieurs méthodes, chaque méthode a des propriétés spécifiques qui influent sur : le rendement, la composition chimique d'HE et la qualité d'huile.

VII-1-Extraction par entraînement à la vapeur d'eau :

Dans cette méthode d'extraction, le matériel végétal est soumis à l'action d'un courant de vapeur sans macération préalable. Les vapeurs saturées en composés volatils sont condensées puis décantées dans l'essencier, avant d'être séparées en une phase aqueuse et une phase organique (HE). Dans ce système, à cause de l'absence de contact direct entre l'eau et la matière végétale, puis entre l'eau et les molécules aromatiques on peut éviter certains phénomènes d'hydrolyse ou de dégradation pouvant nuire à la qualité de l'huile. De plus, le parfum de l'HE obtenu est plus délicat et la distillation, régulière et plus rapide, fait que les notes de tête sont riches en esters. [20]

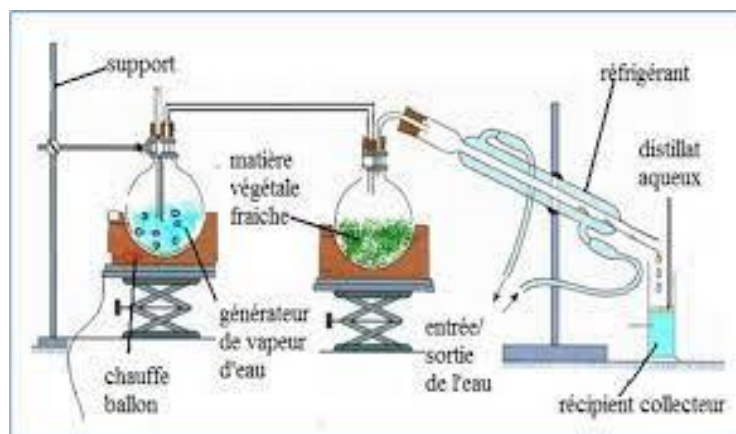


Figure 03 : Montage d'entraînement à la vapeur d'eau.

VII-2-Hydrodistillation:

L'Hydrodistillation est une méthode d'extraction des HEs. Elle est considérée comme la méthode la plus simple et de ce fait la plus anciennement utilisée. Dans ce système il y a un contact direct entre l'eau et le matériel végétal. Ce dernier est immergé directement dans un alambic rempli d'eau placé sur une source de chaleur. Le tout est ensuite porté à ébullition. Les vapeurs hétérogènes sont condensées dans un réfrigérant et l'huile essentielle se sépare de l'hydrolat par simple différence de densité. L'huile essentielle étant plus légère que l'eau (sauf quelques rares exceptions), elle surnage au-dessus de l'hydrolat. [21]

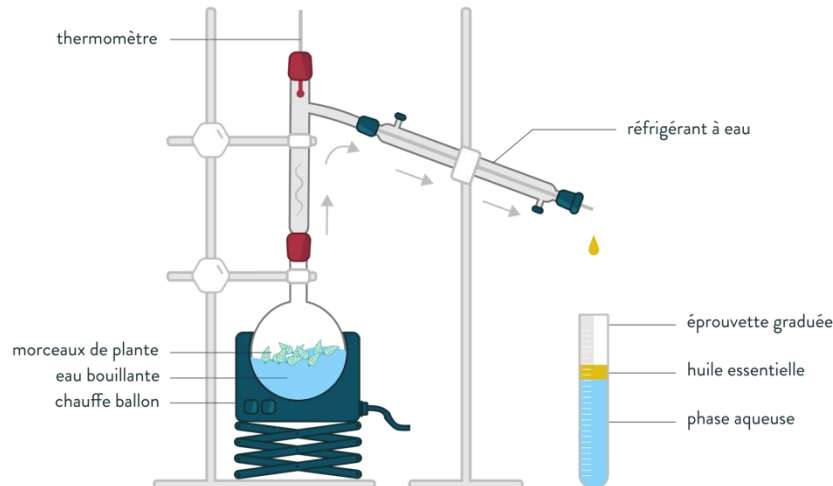


Figure 04 : Montage d'Hydrodistillation.

VII-3-Expression à froid:

Le principe de cette technique est basé sur la rupture ou la dilacération des parois des sacs oléifères contenus dans l'écorce des fruits et sur la pression du contenu de ces sacs sur les parois. Il y a plusieurs procédés utilisés, parmi eux on a : l'extracteur de l'Institut des Fruits et Agrumes Coloniaux (IFAC), la sfumatrice, la pélatrice, l'extracteur « in line » ou la machine polycitrus. Les constructeurs cherchent en permanence à s'affranchir de l'utilisation de l'eau lors de telle extraction.

Parmi les avantages des procédés précédents on a : l'expression à froid de l'huile essentielle des hespéridés sans emploi d'eau (IFAC), restituer de façon intacte l'écorce de fruit (la sfumatrice), l'extraction du jus et de l'huile essentielle du fruit sans que ces deux produits soient en contact (Extracteur in line). [22]

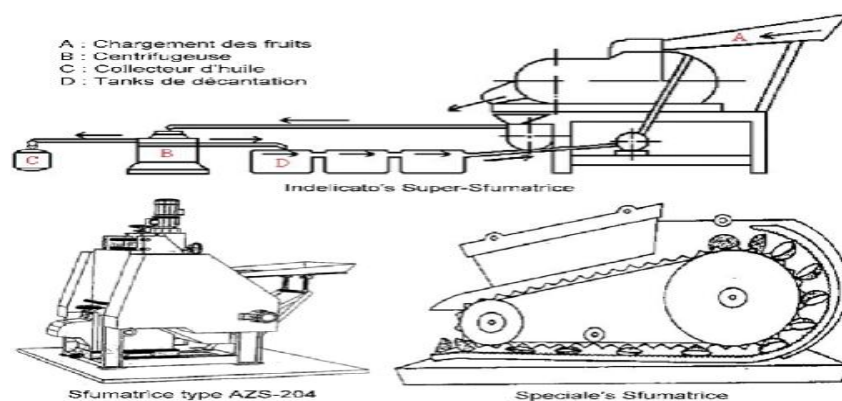


Figure 05 : Extraction par la sfumatrice.

VII-4-Extraction par micro-ondes :

L'extraction assistée par micro-ondes est une nouvelle technique qui combine l'utilisation des micro-ondes et d'autres méthodes traditionnelles. Dans ce procédé, la matière végétale est chauffée par micro-ondes dans une enceinte close dans laquelle la pression est réduite de manière séquentielle. Les composés volatils sont entraînés par la vapeur d'eau formée à partir de l'eau propre à la plante. Ils sont ensuite récupérés à l'aide des procédés classiques : condensation, refroidissement, et décantation. Des études démontrent que cette technique possède plusieurs avantages tels que le gain de temps d'extraction, utilisation de petites quantités de solvant, et un rendement d'extraction élevé. [23]

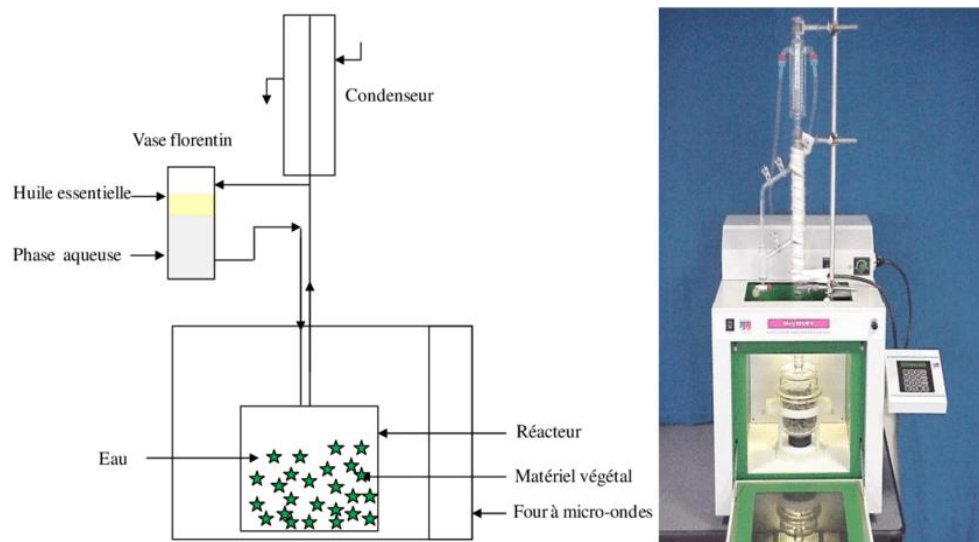


Figure 06 : Montage d'extraction sans solvant assistée par micro-ondes.

VII-5-Extraction au CO₂ supercritique :

Cette technique est basée sur le pouvoir solvant du CO₂ qui est modulable à volonté selon les conditions de pression et de température qu'on lui applique (à l'état supercritique : la pression est plus de 74 bar et la température est de 31°C).

Cette méthode d'extraction fonctionne en circuit fermé. Elle comporte des organes de mise en pression (pompes) et en température (échangeurs) afin d'amener le CO₂ au-dessus de son point critique. Le produit à traiter est placé dans un extracteur traversé par le flux de CO₂ supercritique. Le fluide se charge en composé extrait, puis il est détendu, passe en phase gazeuse et se sépare du composé extrait. Ce dernier est recueilli dans un séparateur. Les

molécules solubles dans le CO₂ supercritique sont les composés peu polaires de faible masse moléculaire. [24]

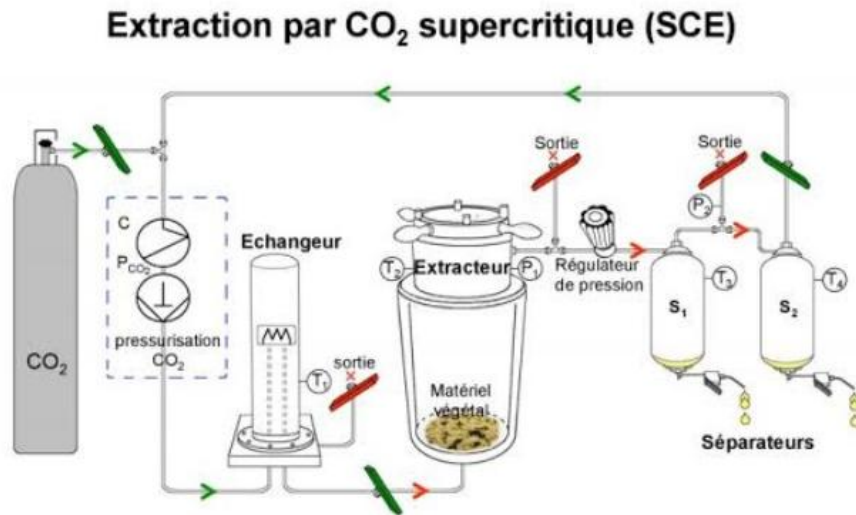


Figure 07 : Extraction par CO₂ supercritique.

VIII-Principaux domaines d'application :

Les huiles essentielles commercialisées dans le monde sont destinées à quatre grands secteurs industriels : parfumerie cosmétique, parfumerie technique (savons, détergents), alimentation et médecine (médecine douce et pharmaceutique). [25]

L'huile essentielle utilisée en parfumerie pour fabriquer les déodorants, en cosmétique et comme un agent pour rehausser le goût, aromatiser et colorer les aliments : liqueurs, boissons, confiseries, plats cuisinés. [26]

Les HEs sont utilisées aussi dans l'industrie pharmaceutique où la plupart des médicaments les substances actives sont exclusivement une ou plusieurs substances végétales ou préparation à base d'huile essentielle.

Les huiles essentielles entrent dans la composition de produits industriels très variés. Cela va de l'industrie des détergents (la grande majorité de la production mondiale d'huiles essentielles de lavandin est utilisée dans des lessives et adoucissants), aux colles et vernis en passant par la désinfection des locaux. [27]

Références bibliographiques:

- [1]: Lamamra, M. (2018) .Contribution à l'étude de la composition chimique et de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles de *tinguarra sicula* (L.) parl Et de *filipendula hexapetala* Gibb, Université Farhat Abbas –Sétif . Mémoire de Magistère, P75.
- [2]: Abadlia ,A., Chebbour A. (2014) . Étude des huiles essentielles de la plante *menthapiperita* et tester leur effets sur un modèle biologique des infusoires. Université constantine1. Mémoire de Master, P68.
- [3]: Elhaded.S. (2014) .Les extrais des plante médicinales. Université Abdelhamid Ibn Badis_Mostaganem. Mémoire de Master, P30.
- [4]: disponible sur <https://www.future.sciences.com> consulté le18/06/2022.
- [5]: Guemidi, C.,Djerourou ,N. (2017) . Effets antimicrobiens de l'extrait au éthanol de *thymusvulgarie(Thym)* récolté dans la région de naama sur la croissance des germes spécifique du yaourt :*steptococcus thermophilus* et *lactobacillus bulgaricus*. Université AbdelhamidIbn Basis- Mostaganem. Mémoire de Master, P51.
- [6]: Rafi A., Tasneem U. S. & Ashfaq A. (1995). *The essential oils. Hamdard Medicus* (Hamdard Medicus ed.).
- [7]: Abbas, Z., Bessaoudi T. (2018) . Étude de l'effet acaricide de l'huile essentielle de feuilles de *lentisque pistachier (Pistacia Lentiscus)* .Université Aklimohand Oulhadj-Bouira .Mémoire de Master, P33.
- [8]: Bruneton, J. (1999). Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes médicinales, 3éme édition. Paris: Editions médicales internationales, éditions Toc & Doc Lavoisier, 1120p.
- [9]: Finar, I.L. (1994). Organic chemistry, Scientific et Technical. Londone: Longman. The fundamontal principeles. Vol .1, No .6.
- [10]:Aissous,N. (2016).Activité insecticide des huiles essentielles de quatre plantes aromatiques et médicinales sur les pucerons verts :*Aphis pomi* . Université Mouhamed Sedik Ben Yahia-Jijel. Mémoire de Master, P55.
- [11] : Carole, M. (2013). 200 plantes qui vous veulent du bien. Franc.

Chapitre II : Revue bibliographique sur les huiles essentielles

- [12]: Kabera Nzeyumwami , J. (2004). Caractérisation des huiles essentielles de trois plantes aromatiques : *Hyptis Spicigera*, *Pluchea Ovalis* et *Laggers Aurita*. Université de Lomé- Togo. Mémoire de Master.
- [13]: Huet., R. (1991). Essential oils of citrus fruits. *Fruits*, 46, 501-513.
- [14]: Habtermariam, S. (2019). Medicinal foods as potential therapies for type 2 Diabetes and associated diseases, 109-132.
- [15]: Benchaara C. et Greatheadb H. (2011). Essential oils and opportunities to mitigate enteric methane emissions from ruminants animal Feed Science and Technology, p 96-100.
- [16]: Choutah,O. (2012).Composition chimique et activité antibactérienne des huiles essentielles des feuilles de *Glycyrrhiza glabra*. Université d'Oran. Thèse de DOCTORAT, P 132.
- [17]: Maillard, A. Toxicité des HE. Disponible sur : <https://www.aude-maillard.fr/huiles-essentielles-toxicite-contre-indications-dangers-partie-1/>. Consulter le 23/05/2022.
- [18]: Ketrouf ,I. (2020) . Caractérisation photochimique des feuilles de *Pistacia Lentiscus*. Université Larbi Ben Mhidi- Oum Bouaghi. Mémoire de Master, P39.
- [19]: Abdeldjelil , M. (2016) . Effet cicatrisant de produits à base d'huile de lentisque (*pistacia lentiscus* L) sur les brûlures expérimentales chez le rat .Université des frères Mentourie-Constantine1. Thèse de DOCTORAT, P171.
- [20]: Boukhatem, M N. (2019). Méthode d'extraction et de distillation des Huiles Essentielles : Revue de littérature. *Revue Agrobiologia*, 9, 1653-1659.
- [21]: Piochon, M. (2008). Etude des huiles essentielles d'espèces végétales de la flore laurentienne: composition chimique, activités pharmacologiques et Héli-synthèse. Université du QUEBEC, Mémoire de Maitrise, P 5-6.
- [22]: Lucchesi, M.,E. (2005). Extraction Sans Solvant Assistée par Micro-ondes Conception et Application à l'extraction des huiles essentielles. Université de la Reunion- France. Thèse de Doctorat, P19-20.
- [23]: Yaacoub, R., Tlidjane, I. (2018). Caractérisation physico-chimiques et analyses biologiques de l'huile essentielle des grains de *Cuminum cyminum* L. et de *Foeniculum*

Chapitre II : Revue bibliographique sur les huiles essentielles

vulgare Mill. extraite par hydrodistillation et CO₂ supercritique : Etude comparative. Université Larbi Ben Mhidi- Oum El Bouaghi. Mémoire de Master, P14.

[24]: Jouault,S. (2012). La qualité des huiles essentielles et son influence sur leur efficacité sur leur toxicité. Université de Lorraine- Nancy. Thèse de Doctorant, P23.

[25]: Kaibi, F., Timizar, A. (2016). Étude de quelques activités biologique anti microbienne, anti-oxydante cicatrisant de deux agrumes « *citrus limonum et citrus sienensis* ». Université Saad Dahlab- Blida. Mémoire de Master, P55.

[26]: Benhammou,N., Atikbekkara, F. (2009) . Activité antibactérienne de l'huile essentielle de *Pistacia Lentiscus* L de deux station de la région de Tlemcen. ResearchGate, 281-285.

[27]: Robin, D. (2017).Variabilité de la composition des huiles essentielles et intérêt de la composition des huiles essentielles et intérêt de la notion de chémotype en Aromatherapie. Université d'Aix -Marseille.Thèse de DOCTORAT, P149.

Chapitre III:

Matériels et méthodes

➤ Introduction:

Ce présent travail a été achevé aux environ deux mois, à partir de la mi-février jusqu'à la fin du mois de Mars. L'extraction et l'étude phytochimique des substances bioactives de *Pistacia lentiscus* L. ont été réalisées au niveau du laboratoire pédagogique de la faculté de Technologie de l'université de Skikda-20 Aout 1955-, et à l'entreprise de Bioverma, suivi d'une évaluation de l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle et des extraits polaires (E-MeOH et E-AcOEt) de feuilles de *Pistacia lentiscus* qui a été effectuée au niveau du laboratoire d'analyse médicale de Dr. Messoudi.

➤ Objectif :

L'étude consiste à déterminer les caractéristiques des feuilles de *Pistacia lentiscus*, puis de faire une extraction de l'HE par l'**entraînement à la vapeur d'eau** ensuite évaluer le pouvoir antimicrobien de l'huile essentielle et des extraits polaires de feuilles de *P. lentiscus* sur une souche bactérienne et un champignon.

Dans ce chapitre on va présenter la méthodologie adoptée pour le travail expérimental et le matériel manipulé. L'organigramme ci-dessous (**Figure N° 1**) résume le plan générale de travaille approuvé pour atteindre les objectifs souhaités de cette étude.

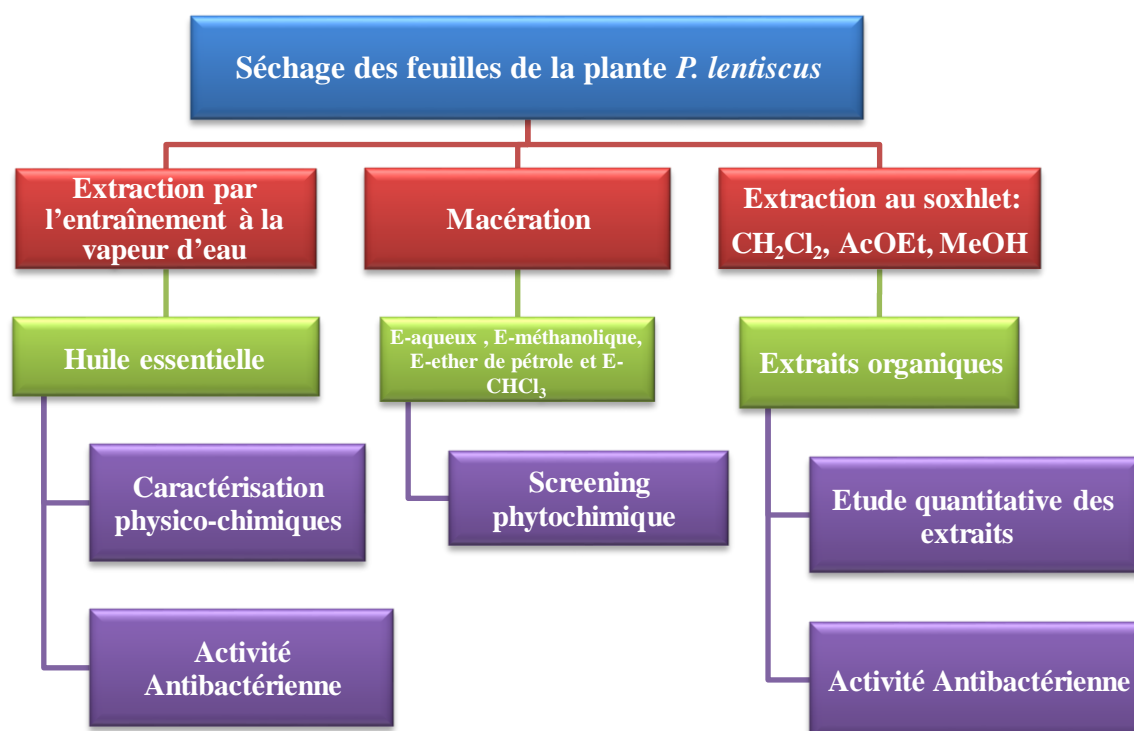


Figure 01 : Organigramme représente le plan générale de travaille.

I- Matériels et méthodes :

I-1-Matériels :

I-1-1-Matériel végétal :

Les feuilles de *Pistacia lentiscus* L. ont été collectées en mois de Février de l'année 2022, dans deux région (la foret de la commune de Filfila et la commune de Cheraia) dans la wilaya de Skikda. Les feuilles ont été séchées à une température ambiante, à l'abri de la lumière et de l'humidité pendant 15 jours, ensuite réduite en poudre.



Plante sèche



Plante tamisée

Figure 02 : Photo de la plante *Pistacia lentiscus* L sèche et tamisée.

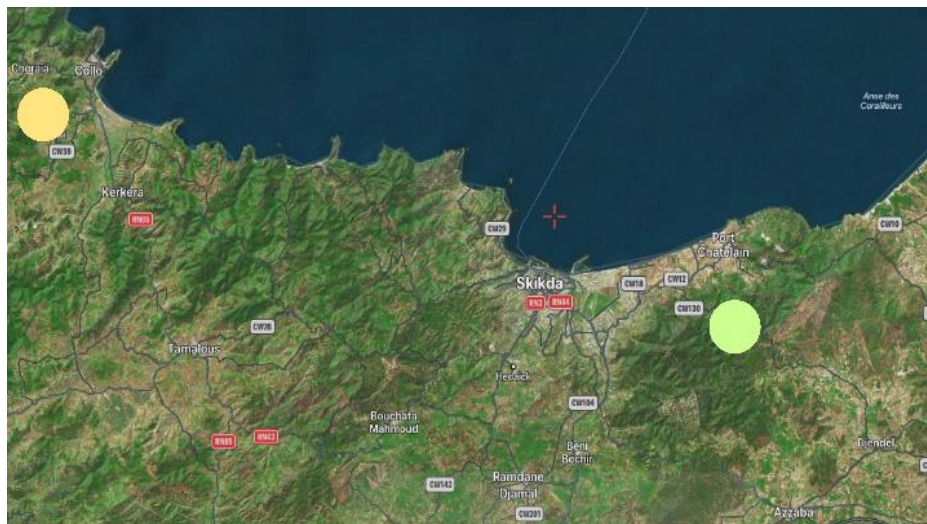


Figure 03 : Carte géographique de la station de récolte (Google Earth, 2022)

(Cheraia : Jaune –Filfila : Vert)

I-1-2-Solvants et réactifs chimiques :

Tableau 01 : Solvants et réactifs chimiques utilisés.

Réactifs / Solvants	Formule Chimique
Méthanol	CH ₃ OH
Dichlorométhane	CH ₂ Cl ₂
Acétate d'éthyle	CH ₃ COOCH ₂ CH ₃
Ethanol	CH ₃ CH ₂ OH
Carbonate de sodium	NaCO ₃
Folin-Ciocalteu	-
Vanilline	C ₈ H ₈ O ₃
Chlorure d'aluminium	AlCl ₃
Acide chlorhydrique	HCl
Hydroxyde de potassium	KOH
Phénol- phtaléine	C ₂₀ H ₁₄ O ₄
Liqueur de Fehling	-
Chloroforme	CHCl ₃
Chlorure de Fer 3	FeCl ₃
Ether de pétrole	(CH ₃) ₃ (CH ₂) ₂ CH
Mayer	-
Dragendorff	K [BII ₄]
Anhydride acétique	C ₄ H ₆ O ₃
Ammoniaque	NH ₄ OH
Acide sulfurique	H ₂ SO ₄

I-1-3-Appareils :

- Un rotavapeur (Laborota4000, Heidolph).
- Un spectrophotomètre (Cary 60 UV-Vis, Agilent).
- Un ultrasoniques (Elma).
- Un réfractomètre (A.KRUSS OPTRONIC Germany).
- Un polarimètre (KRUSS).
- Un densimètre (DMA 4500M – Anton Paar).

II- Etude phytochimique des feuilles de *P. lentiscus*:

II-1- Tests Phytochimique :

Le screening phytochimique est une étape très importante dans l'étude des caractéristiques d'une plante, il nous a permis de mettre en évidence la présence des classes principales de métabolites secondaires que renferme la plante. Les techniques de détection sont basées sur des réactions de précipitation, changement de couleur ou un examen sous l'UV.

➤ Préparation des extraits:

Pour réaliser cette étude, nous avons préparé les extraits suivants par macération :

- **Extrait Méthanolique "A"** : consiste à introduire 5g de poudre végétale dans 60 ml de méthanol puis on le laisse macérer pendant 24h.
- **Extrait Aqueux " B"** : consiste à introduire 5 g de poudre végétale dans 60 ml d'eau chaude après on laisse le mélange infuser pendant 15 min puis on le filtre.
- **Extrait d'éther de pétrole:** consiste à introduire 1g de poudre végétale dans 15 à 30ml d'éther de pétrole. Après on laisse le mélange infuser pendant 24h.
- **Extrait éthérique:** consiste à introduire 1g de poudre végétale dans 20 ml d'éther puis on le laisse macérer pendant 24h.
- **Extrait chloroformique:** consiste à introduire 1g de poudre végétale dans 20 ml de chloroforme puis on le laisse macérer pendant 24h.

II-1-1- Test des flavonoïdes :

Introduire 1 ml d'extrait A et B dans chaque tube à essai, ajouter 1 ml d'acide chlorhydrique et trois copeaux de magnésium. L'apparition d'une coloration rouge ou jaune révèle la présence des flavonoïdes. [1]

II-1-2-Test de glycosides cardiaques :

1ml de chaque extrait (A et B) a été mélangé à 2 ml de chloroforme et 0,5ml d'acide sulfurique. L'apparition d'une coloration brun-rougeâtre indique la présence des glycosides cardiaques. [2]

II-1-3- Test des Tanins :

1 à 2 gouttes de solution de FeCl_3 diluée à 1% sont ajoutées à 1 ml de chaque extrait et 1 ml d'eau.

- L'apparition d'une coloration verte foncée ou bleue verte indique la présence des tanins.
- L'apparition d'une coloration verte foncée indique la présence des tanins catéchiques.
- L'apparition d'une coloration bleue-verte indique la présence des tanins galliques. [3]

II-1-4- Test de Mucilages :

Dans deux tubes à essai, 1 ml de chaque extrait (A et B) a été mélangé à 5 ml d'alcool absolu. L'obtention d'un précipité floconneux après l'agitation indique la présence des mucilages. [4]

II-1-5- Test des Quinones libres :

1g de matériel végétal sec broyé est placé dans un tube avec 15 à 30 ml d'éther de pétrole. Après agitation et un repos de 24 h, l'extrait est filtré et concentré au rotavapeur, puis on ajoute quelques gouttes de NaOH (1/10). L'apparition d'une coloration jaune, rouge ou violet dans la phase aqueuse indique la présence des quinones libres. [5]

II-1-6- Test des alcaloïdes :

La méthode générale de détection des alcaloïdes est basée sur la formation de complexes insolubles avec les métaux lourds en utilisant les réactions de précipitation avec le réactif de Mayer et Dragendorff.

➤ Réactif de Mayer :

À 0,5 g de matériel végétal en poudre, on ajoute 15 ml de méthanol. Après une sonication de 15 min et une agitation de 20 h, on laisse reposer l'extrait jusqu'à décantation complète, suivie d'une filtration et d'une évaporation à sec.

La formation d'un précipité blanc, après ajout de quelques gouttes du réactif de Mayer (0,68g de HgCl_2 et 2,5g de KI dissous dans 50ml de l'eau distillée) sur 1 ml de l'extrait, témoigne de la présence d'alcaloïdes. [5]

➤ Réactif de Dragendorff :

Introduire 10 g de poudre végétale sèche dans un erlenmeyer, à laquelle 50ml de H_2SO_4 dilué au 1/10 avec de l'eau distillée est ajouté. Ce mélange a été agité et macéré pendant 24 h. Ensuite, dans 1ml du filtrat, 5 gouttes de réactif de Dragendorff sont ajoutées. L'apparition d'un précipité orange, révèle la présence d'alcaloïdes. [6]

II-1-7- Test des huiles essentielles :

1 g de matériel végétale a été introduit dans 10 ml de dichlorométhane. Après l'élimination de solvant à l'aide de l'évaporateur, le résidu a été dissous dans 3 ml d'éthanol. Puis, la solution a été évaporée à sec de nouveau. La sensation d'une odeur parfumée indique la présence d'huiles essentielles. [7]

II-1-8- Test des stérols et triterpènes :

Les stérols et les terpènes ont été recherchés par la réaction de Liebermann. 5ml de chacun des deux extraits (A et B) ont été évaporés sur bain de sable. Le résidu est dissout à chaud dans 1 ml d'anhydride acétique, nous avons ajouté 0,5 ml d'acide sulfurique concentré à la solution préparée. L'apparition, à l'interphase, d'un anneau pourpre ou violet, virant au bleu puis au vert, a indiqué une réaction positive. [2]

II-1-9- Test des saponines :

1, 2,3,...,10ml de la solution à analyser préparer par décoction en milieu aqueux, hydroalcoolique ou par infusion ont été introduit respectivement dans une série de 10 tubes à essai. Le volume de chaque tube a été ajuster à 10 ml avec de l'eau distillée. Après l'agitation de chaque tube dans le sens de la longueur du tube pendant 15 secondes, laisser reposer 15 min et mesurer la hauteur de la mousse produite dans chaque tube.

L'indice de mousse (I) est calculée par la formule suivante : $I = 1000/N$

N est le numéro du tube où la hauteur de mousse est égale à 1 cm. [3]

II-1-10- Test des coumarines :

5 ml d'extrait éthérique a été évaporé, puis 2 ml d'eau chaude a été ajoutée au résidu. La solution a été partagée entre 2 tubes à essais. Au contenu de l'un des tubes, 0,5 ml a été ajouté de NH_4OH à 25%. La fluorescence est observée sous U.V à 366 nm. Une fluorescence intense dans le tube où il a été ajouté de l'ammoniaque indique la présence de coumarines. [8]

II-1-11-Test des dérivés anthracéniques libres :

Les Anthracéniques libres ont été détectées en ajoutant 1 ml d'extrait chloroformique et 1 ml de NH_4OH dilué dans un tube à essai. Après agitation, une coloration plus ou moins rouge indique la présence d'anthraquinones libres. [4]

II-1-12- Test des polyphénols :

A 2 ml de chaque extrait (A et B), nous avons ajouté une goutte de solution méthanolique de chlorure ferrique à 2%. L'apparition d'une coloration bleu-verdâtre ou verte plus ou moins foncée fut le signe de la présence de polyphénols. [9]

II-1-13- Test des composés réducteurs :

Leur détection consiste à introduire 2 ml de l'extrait **B** dans un tube à essai, puis 2 ml de la liqueur de Fehling sont ajoutés. Ensuite, l'ensemble est porté au bain-marie bouillant durant 8 min. L'obtention d'un précipité rouge brique indique la présence des composés réducteurs. [3]

II-2- Extraction des composés phénoliques :

II-2-1 - Extraction au soxhlet :

➤ Principe :

L'extraction par l'appareil de Soxhlet consiste à faire passer à travers la matière à traiter contenue dans une cartouche de cellulose, un flux descendant de solvant toujours neuf puisque distillé à chaque cycle.[10]

Le solvant choisi, en plus d'être autorisé devra posséder une forte solubilité des composés phénoliques, certaine stabilité face à la chaleur, sa température d'ébullition sera de préférence basse afin de faciliter son élimination, et il ne devra pas réagir chimiquement avec l'extrait. [11]

➤ Mode opératoire :

Nous avons Introduit 50g du broyat de lentisque pistachier dans une cartouche poreuse dans la nacelle, 250 ml de solvant (**Tableau N° 02**) est introduit dans le ballon (500ml) puis chauffé pour démarrer l'extraction. Le système de chauffage est mis en marche et règle de façon à ce que les cycles remplissages \ vidanges de la cartouche se fassent de façon rapprochée.

Après plusieurs cycles d'extraction (8 à 12 cycles), la concentration des composés augmente progressivement dans le solvant à l'intérieur de la cuve au cours de chaque cycle d'extraction. L'extraction est arrêtée lorsque le liquide entourant la cartouche devient clair, cette couleur indique que le solvant n'extrait plus rien du solide.

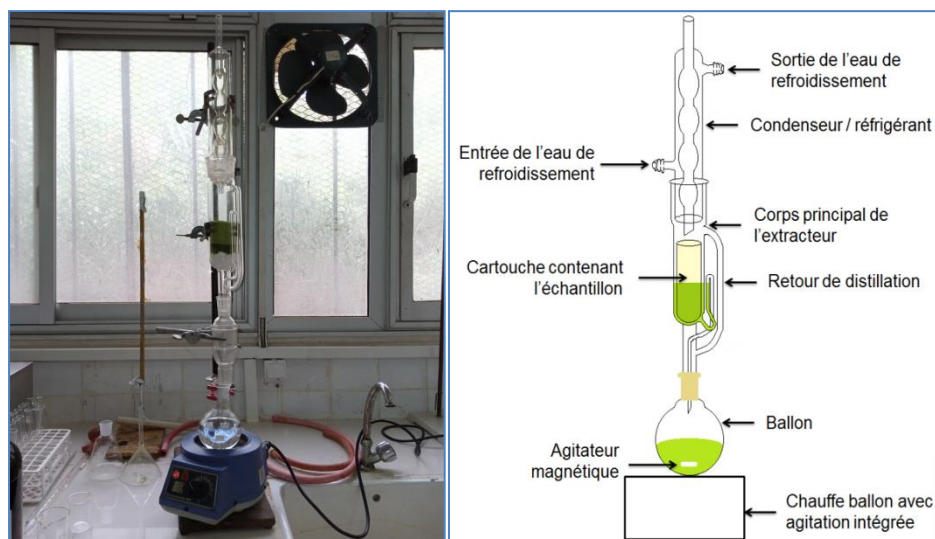


Figure 04 : Montage de Soxhlet.

Les solutions obtenues ont été évaporées et concentrés au rotavapeur à 40°C pour éliminer le solvant et le résidu est pesé pour quantifier la masse totale d'extrait.

Tableau 02 : Solvants utilisés et leurs affinités avec les molécules.

Solvant	Polarité du solvant	Nature des molécules extraites
CH₂Cl₂	3,1	Faiblement Polaire
AcOEt	4,4	Moyennement polaire
MeOH	5,1	Polaire



Figure 05 : Dispositif d'évaporation.

Tableau 03 : Rendement de différents extraits des feuilles de *Pistacia lentiscus*.

Masse de la plante	Solvants	T° d'ébullition	Nombre de cycle	Masse résultante
50g	Dichloromethane	40°C	12	3,73g
	Méthanol	35°C	8	2,82g
	Acétate d'éthyle	35°C	12	1,21g

II-2-2 - Calcul de rendement :

La formule utilisée pour calculer le rendement en pourcentage d'extraction de la plante est la suivante : $R(\%) = (M \div M_0) \times 100$

Où :

R(%) : Le rendement en pourcentage.

M : la masse en gramme de l'extrait sec résultant.

M₀ : la masse en gramme de matériel végétal de départ.

II-3- Analyse quantitative des polyphénols :

II-3-1- Dosage des polyphénols :

Le dosage des polyphénols totaux a été déterminé par spectrophotomètre, selon la méthode colorimétrique en utilisant le réactif de 'Folin-Ciocalteu'. [12]

La méthode se base sur la réduction en milieu alcalin de réactif de Folin-Ciocalteu Par les groupements oxydables de composés phénoliques conduisant à la formation d'un complexe molybdène-tungstène de couleur bleu qui absorbe à 765 nm.

➤ Mode opératoire :

Le protocole utilisé est basé sur celui décrit par **Singleton et Ross (1965)**. [13]

Brièvement, 300µl des solutions méthanoliques des extraits (E-MeOH et E-AcOEt) sont introduites dans des tubes à essai, 1500µl du réactif de « folin-ciocalteu) dilués 10 fois et sont additionnés, agités puis incubés. Après 5min d'incubation, 1200µl de carbonate de sodium Na_2CO_3 (7.5%) sont ajoutés au mélange réactionnel, l'ensemble est incubé durant 2h à la température ambiante et l'obscurité.

L'absorbance de tous les extraits est mesurée par un spectrophotomètre à 765nm contre un blanc.

Le protocole du dosage est effectué comme suit :

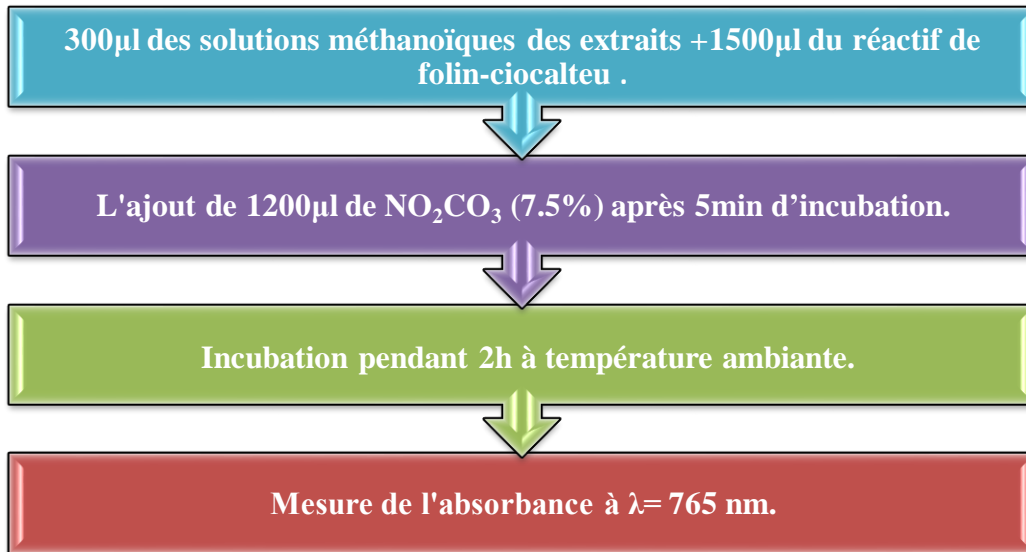


Figure 06 : Étapes de dosage des polyphénols pour les extraits E-MeOH et E-AcOEt de feuilles de *P.lentiscus*.

Courbe d'étalonnage de l'acide gallique:

La courbe d'étalonnage est effectuée en parallèle dans les mêmes conditions opératoires en utilisant l'acide gallique comme positif à des différentes concentrations finales comme le montre la figure suivante :



Figure 07: Dilution de la solution mère de l'acide gallique.

La teneur en polyphénols totaux des extraits de plante étudiée est exprimée en microgramme (µg) équivalent d'acide gallique par 1mg de l'extrait (µg EQ/mg).

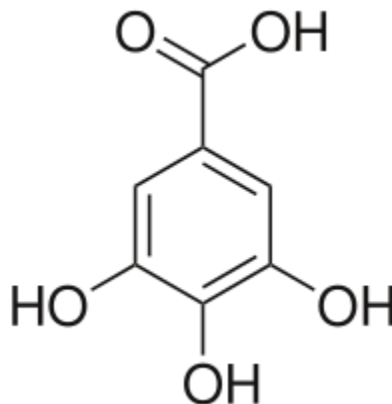


Figure 08 : Structure d'acide gallique.

➤ **Résultats :**

Le taux de polyphénols totaux dans nos extraits E-MeOH et E-AcOEt a été calculé à partir d'une courbe d'étalonnage linéaire ($y=ax+b$) établie avec des concentrations précises d'acide gallique comme standard de référence, dans les mêmes conditions que l'échantillon.

II-3-2- Dosage des flavonoïdes :

Diverses méthodes de dosage des flavonoïdes sont employées, basées soit sur leurs propriétés physiques : techniques fluorométriques et spectrophotométriques, soit sur la présence de fonctions phénoliques qui permettent la formation de dérivés colorés se prêtant à des mesures. [14]

➤ **Principe :**

La méthode utilisée dans cette étude repose sur l'aptitude des flavonoïdes à chélater les métaux (fer et aluminium), cette propriété est propre aux groupements hydroxyles des flavonoïdes capables de donner un complexe en présence d'aluminium (chlorure d'aluminium). [15]

➤ **Méthode :**

2 ml de solution mère (1 mg/1ml) de chaque extrait (dissous dans le MeOH) avec 2 ml de solution de $AlCl_3$ ont été mélangées, après l'incubation pendant 4 min, l'absorbance a été mesurée à une longueur d'onde égale à 430 nm.

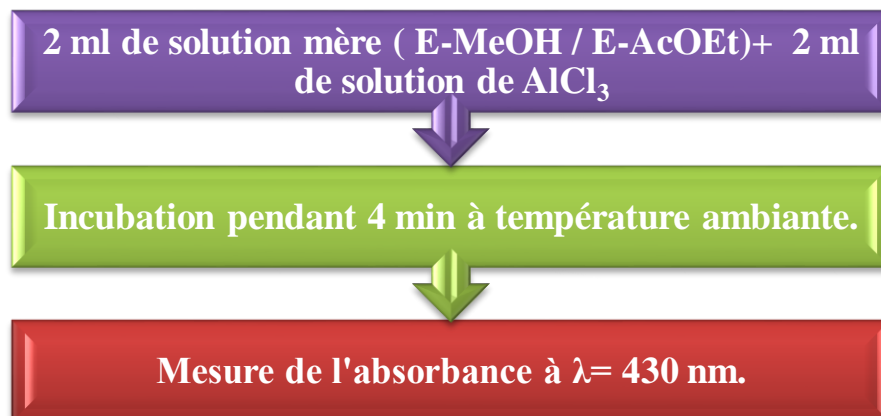


Figure 09 : Étapes de dosage des flavonoïdes pour les extraits E-MeOH et E-AcOEt de feuilles de *P.lentiscus*.

➤ **Courbe d'étalonnage de la quercétine:**

La courbe d'étalonnage est effectuée dans les mêmes conditions opératoires et les mêmes étapes de dosage par une solution mère de quercétine 40µg /ml à des différentes concertations comme le montre la figure suivante :

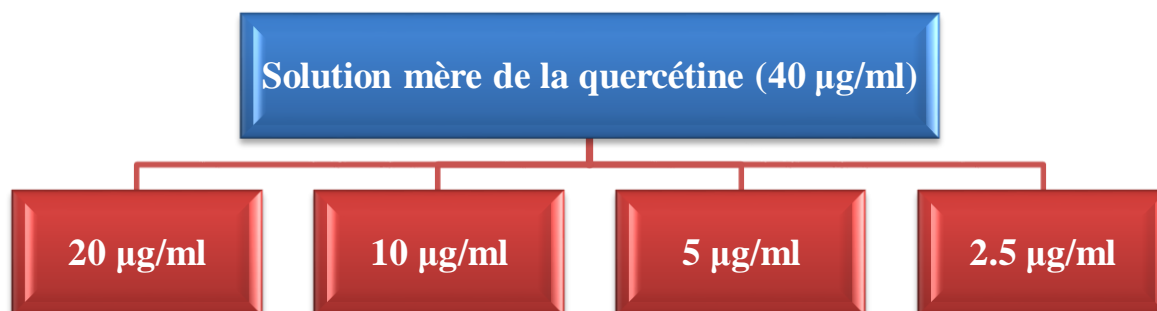


Figure 10 : Dilution de la solution mère de la quercétine.

Les résultats sont exprimés en microgrammes d'équivalents de quercétine par milligramme d'extrait (µg EQ/ mg Ext).

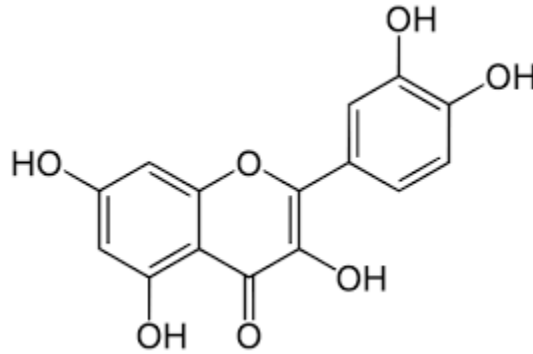


Figure 11 : Structure de la Quercétine.

➤ **Résultats:**

La quantification des flavonoïdes a été faite en fonction d'une courbe d'étalonnage linéaire ($y = a \times x + b$) réalisée par un standard étalon solution de quercétine à des différentes concentrations (40 μ g/ml) dans des mêmes conditions opératoires que l'échantillon.

II-3-3- Dosage des Tanins :

➤ **Principe :**

Les tanins condensés sont déterminés par la méthode à la vanilline en milieu acide. Cette méthode est basée sur la capacité de la vanilline à réagir avec les unités des tanins condensés en présence d'acide pour produire un complexe coloré mesuré à 550 nm. Les quantités des tannins sont estimées en utilisant la méthode de vanilline décrite par Julkunen-Titto 1985. [16]

➤ **Méthode :**

Un volume de 50 μ l de l'extrait brut a été ajouté à 1500 μ l de la solution vanilline/méthanol (4% m/v) puis mélangé à l'aide d'un vortex. Ensuite, 750 μ l de l'acide chlorhydrique concentré HCl a été additionné. Le mélange obtenu a été laissé à réagir à la température ambiante pendant 20 min. l'absorbance a été mesurée à 550 nm contre un blanc à l'aide d'un spectrophotomètre.

Le protocole du dosage est effectué comme suit :

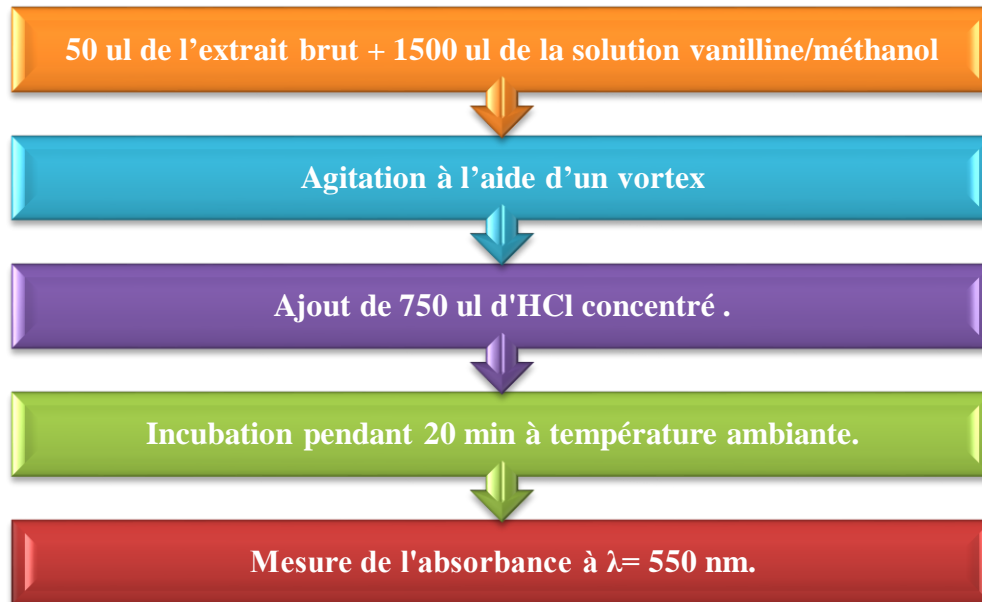


Figure 12 : Étapes de dosage des Tannins pour les extraits E-MeOH et E-AcOEt de feuilles de *P.lentiscus*.

➤ **Courbe d'étalonnage de la catéchine:**

Une courbe d'étalonnage est réalisée en parallèle dans les mêmes conditions opératoires en utilisant de la catéchine comme contrôle positif.

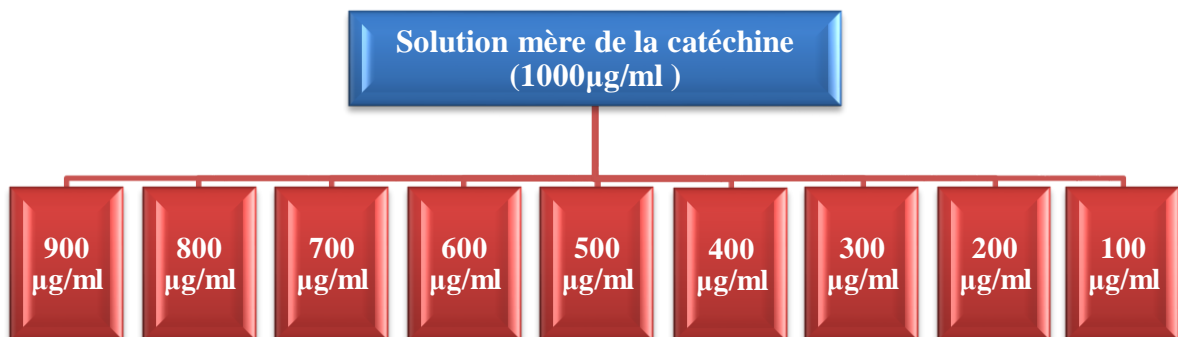


Figure 13: Dilution de la solution mère de la catéchine.

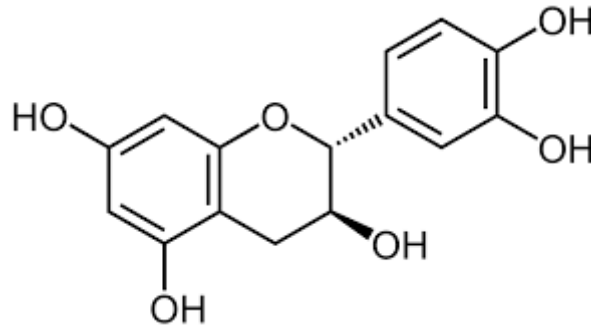


Figure 14 : Structure de la catéchine.

➤ **Résultats :**

Les résultats sont exprimés en milligramme (mg) équivalent de la catéchine par gramme de la matière végétale sèche (mg EC/g).

III- Étude phytochimique d'huile essentielle de lentisque :

III-1-Extraction d'huile essentielle :

L'extraction des huiles essentielles à partir de la matière végétale sèche a été effectuée par l'entraînement à la vapeur dans l'entreprise Bioverma spécialisée dans la parfumerie et l'extraction des huiles essentielles dans la commune de Cheraia, Wilaya de Skikda.

Le processus de distillation s'effectue dans un **alambic** ; 70 kg de la matière végétale constituée de la partie feuilles a été introduite dans le vase de l'alambic. Une fois rempli et bien tassé, celui-ci a été refermé avec des couvercles étanches et la distillation peut commencer. La vapeur d'eau émise par l'eau portée à ébullition dans la chaudière va traverser la masse de plante; le fond de l'alambic n'est donc pas chauffé directement.

Ainsi, le végétal libère ses essences aromatiques qui sont récoltées dans une cuve (le décanteur) à la sortie de l'alambic, après 3 heures on a recueilli deux phases

- une phase aqueuse qui est : l'**hydrolat aromatique**
- une phase huileuse qui est : l'**huile essentielle**.

A l'aide d'un essencier (vase florentin), l'huile essentielle a été ainsi récupérée à la surface de l'eau par un système de sur-verse (la plupart des huiles essentielles ont une densité inférieure à 0,9,

sauf rares exceptions).La quantité d'essence obtenue a été pesée pour le calcul du rendement.
[17]



Figure 15 : Montage de l'entraînement à la vapeur d'eau.

(La matière des matériels utilisés est : l'inox alimentaire 304)

- | | |
|-----------------|---------------|
| 1 : Chaudière | 2 : Alambic |
| 3 : Réfrigèrent | 4 : Essencier |

L'extraction de l'huile essentielle du *P.lentiscus* a été faite selon le plan suivant :

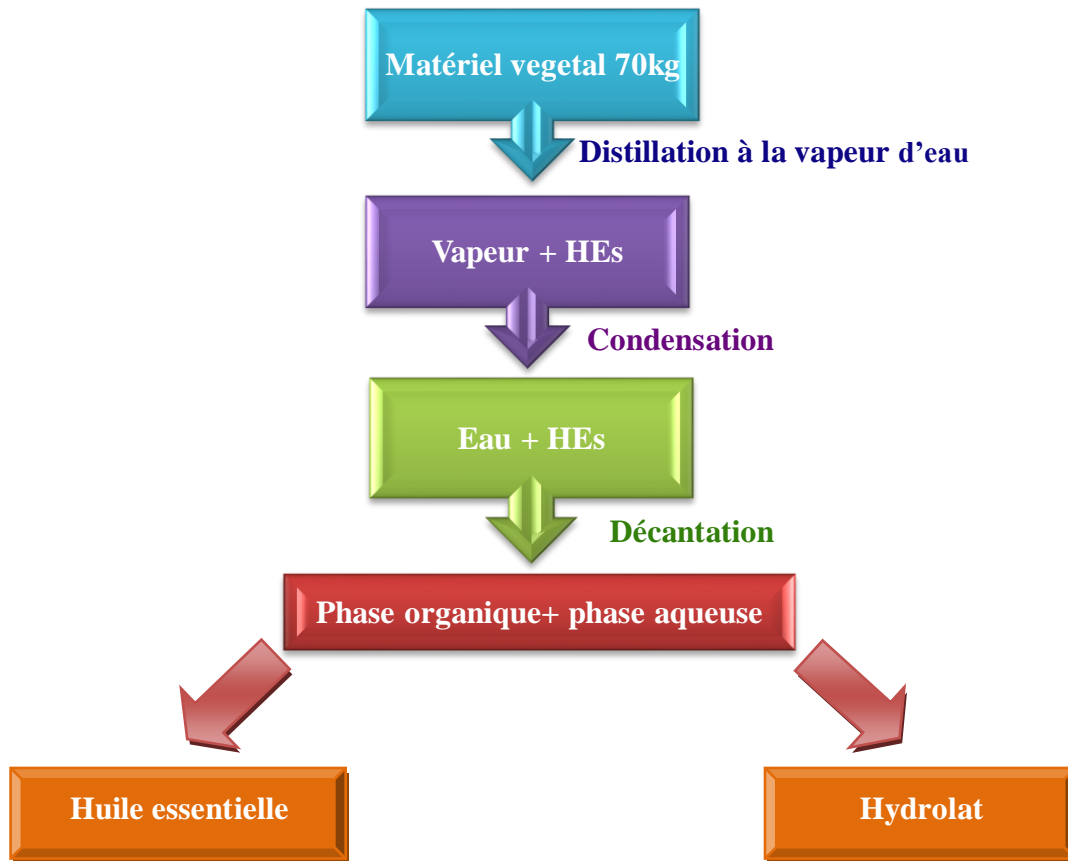


Figure 16 : Etapes d'extraction d'HE par l'entraînement à la vapeur.

➤ Conservation de l'huile essentielle obtenue:

A cause de leur évaporation rapide, de leur sensibilité à l'air et à la lumière, les huiles essentielles doivent être rangées à l'abri de la lumière et de la chaleur (idéalement, entre 5° et 30°). Les huiles essentielles sont fragiles et peuvent s'altérer dans de mauvaises conditions de stockage.

Les zones de stockage doivent être hors de la portée des enfants. Les flacons doivent être stockés en position verticale, en position horizontale, il y a un risque que le bouchon soit attaqué par l'huile (les huiles ont une action corrosive sur le plastique). Ainsi protégées, les huiles essentielles peuvent être conservées environ 5 ans (seulement 3 ans pour les essences d'agrumes; un peu moins, soit 2 ans pour les huiles essentielles obtenues à partir d'aiguilles de conifères, comme le pin sylvestre).

➤ **Calcul de rendement:**

Pour calculer le rendement en pourcentage d'huile essentielle de la plante, nous avons utilisées la formule suivante : $R(\%) = (M \div M_0) \times 100$

Où :

R(%) : Le rendement en pourcentage.

M : La masse en gramme de l'huile essentielle résultant.

M₀ : La masse en gramme de matériel végétal de départ.

III-2-Détermination des indices physicochimiques :

Les huiles essentielles sont caractérisées par leurs propriétés physiques (indice de densité, indice de pouvoir rotatoire, indice de réfraction, indice de miscibilité à l'éthanol) ainsi que par leurs indices chimiques (indice d'acide, indice d'ester, indice de saponification et l'indice de peroxyde).

Les propriétés physicochimiques étudiées ont été évalué selon les normes de l'Association Française de Normalisation (AFNOR) et l'Organisation Internationale de Standardisation (ISO).

III-2-1 Détermination des indices physiques :

III-2-1-1-Caractéristiques organoleptiques :

Les caractères organoleptiques des huiles essentielles dépendent principalement de trois critères : l'aspect, la couleur et l'odeur qui eux même dépendent de l'origine de la plante, des techniques d'extraction utilisées, de la conservation etc.

III-2-1-2-Densité relative :

- **Définition :** La densité relative de l'HE est le rapport de la masse d'un certain volume de l'huile à 20°C et la masse d'un volume égal d'eau distillée à 20°C. [18]



Figure 17 : Densitémètre DMA 4500 M.

➤ **Mode opératoire :**

1. Après le rinçage, remplir la seringue 2 ml avec l'échantillon et l'injecter dans l'appareil.
2. Répéter l'opération 2 à 3 fois pour assurer qu'il ya pas des bulles d'air.
3. Laisser la seringue à sa place.
4. Appuyer sur le bouton START et laisser jusqu'à ce que le résultat de la densité à 15°C s'affiche sur l'écran.

III-2-1-3-Pouvoir rotatoire :

➤ **Définition :**

Le pouvoir rotatoire est l'angle de déviation du plan de polarisation d'une lumière polarisée rectilignement, pour un observateur situé en face du faisceau incident il est lié à l'activité optique ou biréfringence circulaire. [19]

La loi de Biot permet de relier le pouvoir rotatoire spécifique d'une molécule à l'angle de déviation mesuré dans des conditions données.

La loi de Biot :

$$[\alpha]_{\lambda}^t = \frac{\alpha}{l \times c}$$

Avec

- α : l'angle de rotation mesuré en degré $^{\circ}$.
- l : la longueur de la cuve en dm.
- c : la concentration en g/cm^3 .
- λ : la longueur d'onde de lumière.
- t : la température.

➤ Mode opératoire :

A fin d'évaluer l'angle de rotation $[\alpha]_{\lambda}^t$ d'huile de lentisque, nous avons utilisé le polarimètre marque : Jasco1010 (réglé de façon à donner 0° et 180° avec l'eau).

- Source lumineuse (lamp à vapeur de sodium), permettant d'obtenir une lumière de longueur d'onde $589,3 \pm 0,3$ nm.
- Tube d'observation de $100 \pm 0,5$ nm de longueur.



Figure 18 : Polarimètre de marque Jasco1010.

La technique consiste à préparer une dilution de l'essence de lentisque de $0,25g/100ml$ d'éthanol. Ensuite le tube remplis avec l'échantillon préparé pour essai, en s'assurant qu'il ne reste aucune bulle d'air interposée et placer le tube dans le polarimètre qui permet de lire et mesurer la valeur de l'angle de rotation du plan sur l'oculaire de l'appareil.

III-2-1-4-Indice de réfraction :

- **Définition :** l'indice de réfraction d'une huile essentielle est le rapport entre le sinus de l'angle d'incidence et le sinus de l'angle de réfraction d'un rayon lumineux de longueur d'onde déterminée, passant de l'air dans l'huile essentielle maintenue à une température constante. [20]



Figure 19 : Refractomètre.

➤ **Mode opératoire :**

La mesure de l'indice de réfraction des huiles essentielles a été effectuée à l'aide d'un réfractomètre de marque *KRUSS* (**Figure 19**).

Après avoir nettoyé l'appareil, 2 ou 3 gouttes d'HE ont été mis au centre du prisme, puis la mesure de l'indice de réfraction a été fait en tournant les boutons de réglage de l'indice de réfraction pour faire apparaître les zones sombres et éclairer le centre de la réticule. Enfin la valeur de I_{20} et la température a été notée .l'indice de réfraction exprimé par :

$$I_{20} = I_{\theta} + 0.00045 \times (\theta - 20^{\circ}\text{C})$$

Où :

I_{20} : Indice de réfraction à 20°C.

I_{θ} : Indice de réfraction à la température de mesure.

θ : Température de mesure.

0,00045 : Constant de variation de l'indice d'acide quand la température varie de 1°C.

III-2-1-5-Miscibilité à l'éthanol :

Une huile essentielle est dite miscible à un volume et plus d'éthanol de titre alcoométrique déterminé, à la température de 25°C, lorsque le mélange de un (01) volume d'huile essentielle considérée avec V volumes de cet éthanol est limpide et le reste après addition graduelle d'éthanol de même titre. [21]

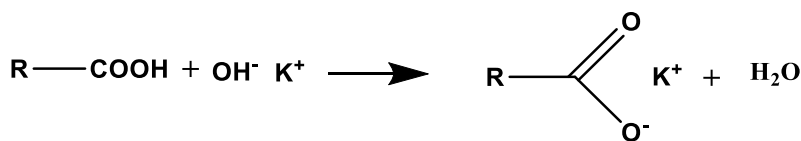
➤ Mode opératoire :

Dans un erlenmeyer contenant 1 ml d'HE, 0,5ml d'éthanol à 70% a été ajouté à l'aide d'une burette de 20mL, en agitant après chaque ajout. Après la formation d'une solution limpide, le volume d'alcool ajouté a été noté.

III-2-2-Détermination des indices chimiques:

III-2-2-1- Indice d'acide(IA):

Indice d'acide exprime le nombre qui exprime en milligrammes la quantité d'hydroxyde de potassium nécessaire à la neutralisation des acides libres présents dans 1 g de substance. Il renseigne sur l'état d'altération d'une huile à travers le taux d'acides gras libres. [22]



➤ Mode opératoire :

1g de la prise d'essai a été ajoutée dans la fiole. Puis 5ml d'éthanol absolue à 99,8%, et 5 gouttes de Phénolphtaléine à 0,2 ont été ajoutés. La neutralisation de liquide a été réalisée par la solution

d'hydroxyde de potassium (0.1 mol/l) contenu dans la burette. Finalement, le volume de KOH a été noté pour calculer l'indice d'acide par la relation : $IA = 56.11 \times V \times C/m$

V : Volume en ml de KOH utilisé.

M : Masse en g de la prise d'essai.

C : Concentration exacte de KOH (0.1) en mol /l.

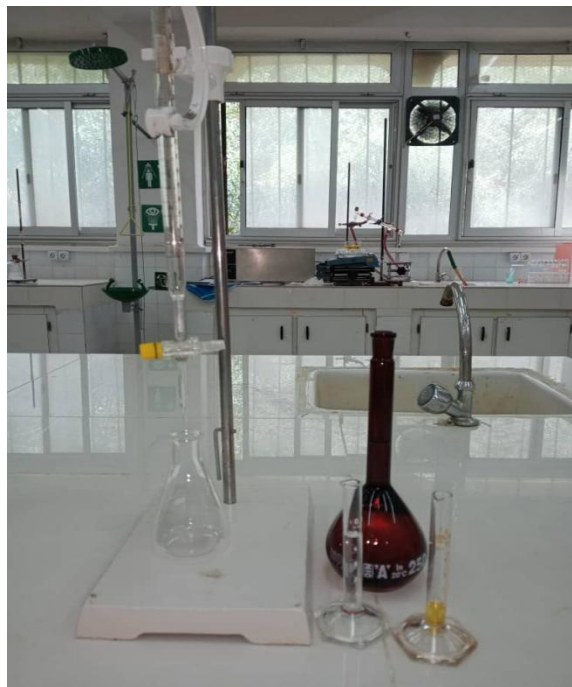
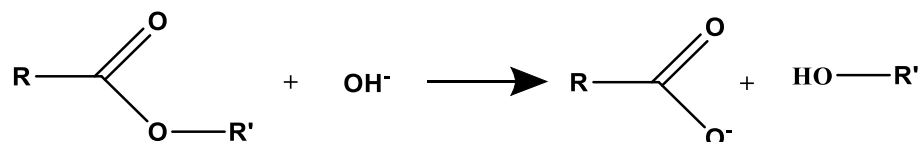


Figure 20: Dispositif de mesure d'indice d'acide.

III-2-2-2-Indice d'ester(IE) :

L'indice d'ester est le nombre de milligramme de potasse nécessaire pour saponifier les esters présents dans 1 gramme d'HE [23].



➤ Mode opératoire :

0,5 ml d'HE et 15ml d'une solution alcoolique d'hydroxyde de potassium (KOH) 0,5 M ont été introduit dans un ballon de 100 ml à l'aide d'une burette ainsi que quelques gravement de pierre ponce. L'ensemble a été porté au reflux pendant une heure, après refroidissement de la solution, 20ml d'eau distillée et 5 gouttes de phénolphaléine ont été ajoutés

Puis l'excès de KOH a été titré avec une solution d'acide chlorhydrique HCL (0,5N) jusqu'à la disparition de la couleur rose.

Parallèlement, une opération à blanc a été réalisée dans les mêmes conditions que précédemment en utilisant les mêmes réactifs.

L'indice d'ester (I_E) est calculé à l'aide de relation suivante:
$$I_E = \frac{28.05}{m} (v_0 - v_1) - I_a$$

Où :

V1 : Volume en ml d'HCL pour la détermination.

V0 : Volume en ml d'HCL pour le blanc.

M : Masse de la prise d'essai.

IA : Indice d'acide.

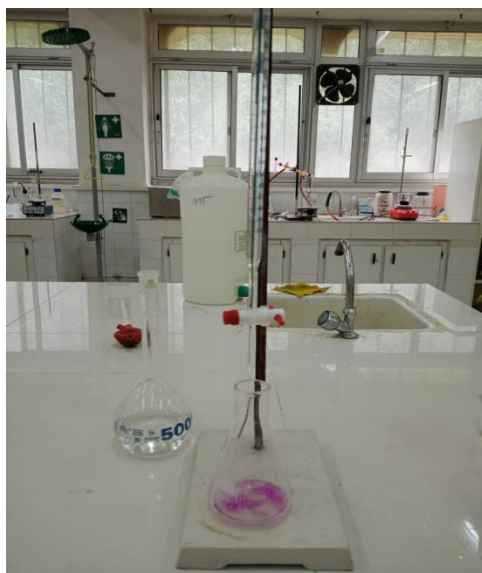


Figure 21 : Dispositif de mesure d'indice d'ester.

III-2-2-3-Indice de saponification (IS) :

(IS) est donc la quantité de potasse (KOH), exprimé en mg nécessaire pour saponifier 1g de corps gras. [24]

Calcule : $\boxed{\text{IS} = \text{IE} + \text{IA}}$

Où :

IS : L'indice de saponification.

IE : L'indice d'ester.

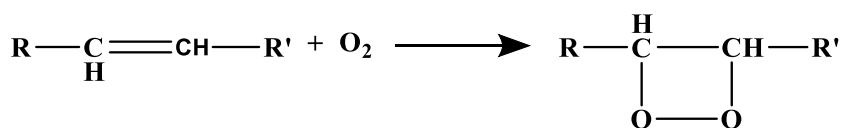
IA : l'indice d'acidité.

III-2-2-4-Indice de peroxyde(IP) :

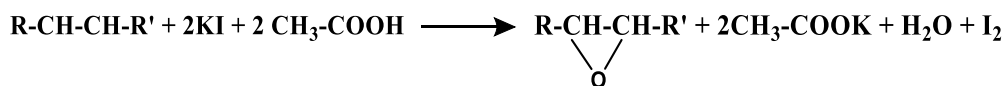
L'indice de peroxyde d'un corps gras représente le nombre de microgramme d'oxygène actif présent dans 1 g de matière grasse. L'oxygène actif est l'oxygène existant sous forme de peroxyde, d'hydroxyde, d'époxyde dans une matière grasse.

Le principe repose sur une prise d'essai, en solution dans l'acide acétique et du chloroforme, par une solution d'iodure de potassium, l'iodure (I⁻) réagit avec les peroxydes et clive la fonction en donnant deux électrons :

- > Réaction de déroulement de l'oxydation et la formation de peroxyde est la suivante:



- > Réaction d'iodure de potassium au milieu acide :



Puis on titre l'I₂ libéré avec une solution de thiosulfate de sodium (Na₂S₂O₃) à l'aide d'un indicateur à l'amidon. [25]:



➤ Mode opératoire :

1g de matière grasse a été ajouté dans un erlenmeyer de 250ml.

10ml chloroforme a été ajouté et dissoudre rapidement la prise, puis 15ml d'acide acétique et 1ml d'une solution d'iode de potassium KI ont été ajoutés respectivement.

Ensuite, une agitation durant 1 min avant de mettre au repos à l'abri de la lumière pendant 5min à une température comprise entre 15 et 25C°.

75ml d'eau distillée a été ajouté suivi par une agitation rigoureuse, puis l'iode libéré a été titré par le thiosulfate de sodium en présence d'amidon comme indicateur.

Parallèlement à la détermination, un essai à blanc a été effectuée dans la même façon.

L'indice de peroxyde est calculé selon l'équation :
$$P = \frac{(V_0 - V)}{P} \times 10 \quad (\text{m éq. O}_2 / \text{kg d'H.E})$$

Où

V : Volume de la solution de thiosulfate de sodium utilisé pour l'essai.

V₀ : Volume de la solution de thiosulfate de sodium utilisé pour l'essai à blanc.

P : Prise d'essai en gramme.



Figure 22 : Dispositif de mesure de l'indice de peroxyde.

IV- Évaluation de l'activité antimicrobienne :

L'activité antimicrobienne des extraits et de l'huile essentielle de feuilles de *Pistacia lentiscus* est réalisée par la méthode de diffusion en milieu gélosé en utilisant des disques stériles, en raison de sa simplicité et son efficacité pour tester la sensibilité des bactéries. Cette étude a été effectuée au niveau du laboratoire d'analyse médicale du DR.Messoudi dans la wilaya de Skikda.

IV-1-Principe général de la méthode de diffusion ou aromatoigrammes :

La méthode de diffusion sur disque mise au point par Schroeder et Messing en 1949. Cet examen se fait de la même manière qu'un antibiogramme où les antibiotiques sont remplacés par des essences aromatiques ou des extraits, préalablement sélectionnées et reconnues. [26]

Le principe général de cette méthode est de placer des disques imprégnés par les extraits ou HE sur la surface d'un milieu d'agar solide qui a été déjà inoculé par des organismes d'essai.

Les plaques sont ensuite incubées pendant 24 h à 37 °C. Après l'incubation, le diamètre de la zone est mesuré au millimètre. [27]

IV-2-Souches testées :

L'activité antimicrobienne des extraits et de l'huile essentielle de *Pistacia lentiscus* a été évaluée contre une souche bactérienne Gram négatif (*E.coli* ATCC 25922) et un champignon (*Candida albicans*). La bactérie et le champignon étudiés ont été fournis par le laboratoire d'analyse médicale du Dr. Messoudi, elles sont purifiées sur des milieux spécifiques et identifiées par la plaque API20.

➤ *Escherichia coli* :

L'*E. Coli* est un micro-organisme à Gram négatif (-) qui peut causer des maladies d'origine alimentaire chez les humains et les animaux. La majorité des souches de *E. coli* sont inoffensives, quelques-unes seulement sont pathogènes pour l'homme. C'est le cas des souches d'*E. Coli* dites entérohémorragiques (ECEH). Ces dernières provoquent des diarrhées sanglantes et produisent une puissante toxine à l'origine du syndrome hémolytique et urémique (SHU). Régulièrement, des souches d'ECEH sont la cause d'intoxications alimentaires via la consommation de produits animaux (viande ou produits laitiers) mal cuits ou consommés crus. Le milieu d'isolement de l'*E.coli* est Mueller Hinton (MH).[28 ,29]

➤ *Candida albicans* :

Le *Candida albicans* est un champignon microscopique, habituellement inoffensif et présent au niveau des voies génitales, du tube digestif, de la bouche et sur la peau. Il peut parfois devenir pathogène. Donc il peut causer des affections potentiellement mortelles chez les sujets immunodéprimés comme immunocompétents. Le milieu d'isolement de *C. albicans* est : Gélose Sabouraud chloramphénicol. [30,31]

IV-3-Mode d'opérateur:

➤ Isolement des souches bactériennes :

La séparation des bactéries permettra d'obtenir des colonies séparées et donc permettra de faire des études. Une seule bactérie se multiplie en des millions d'exemplaires identiques = un clones qui forme une colonie visible à l'œil nu.

La technique utilisée pour faire l'isolement est : l'épuisement à l'anse de platine, les étapes sont les suivantes :

- 1- Marquage au dos de la boîte de pétri des 3 cadrans.
- 2- Prélèvement de la suspension à partir d'une gélose à l'aide d'une anse de platine stérilisé.
- 3- Réalisation des stries serrées dans le 1^{er} cadran, puis la stérilisation de l'anse.
- 4- Tourner la boîte de ¼ de tour et refaire les mêmes étapes avec les deux cadrans restants.
- 5- L'incubation de milieux ensemencés dans un incubateur pendant 24-48 heures à une température 35-37 C°.

➤ Choix des milieux de culture:

Les milieux de culture utilisés dans l'activité antimicrobienne sont :

- La gélose nutritive.
- La gélose Mueller Hinton (MH).

➤ Préparation de milieu de culture MH:

A l'aide de l'étuve, le milieu de culture MH a été dissout, puis il a été coulé dans les boîtes de pétri et on laisse le milieu jusqu'à la solidification, puis les boîtes ont été mises à l'étuve à une température 37°C pendant 20 minutes.

➤ Préparation de l'inoculum :

A partir d'une culture pure et jeune des bactéries ou champignons sur milieu d'isolement (gélose nutritive) ayant au maximum 18 h, on réalise des suspensions en prélevant 3 à 5 colonies bien isolées avec une anse ou une aiguille d'inoculation et les transférer dans 10 ml d'eau physiologique stérile, puis on agite au vortex pendant quelques secondes .

➤ Ensemencement :

La technique d'ensemencement complet vise à favoriser la multiplication des bactéries sur un milieu nutritif lorsqu'elles proviennent d'un milieu à faible concentration. Les bactéries sont prélevées à l'aide d'un écouvillon stérile ou de l'anneau de l'anse de Platine.

Les étapes (Figure 23) :

- 1- Le contenu du tube a été mélangé uniformément.
- 2- Dépôt initial de la souche près d'un bord d'une boîte de gélose adaptée à l'espèce désirée (voir photo : ❶).
- 3- Etalement de ce dépôt en réalisant des stries serrées sur environ 1/3 de la boîte.
- 4- Stérilisation de l'instrument d'étalement.
- 5- Etalement d'une partie des stries précédentes, après avoir fait tourner la boîte d'environ 50 ° (❷).
- 6- Répétition des deux étapes précédentes une fois (❸).
- 7- Enfin, quelques stries ont été faites au centre intact de l'assiette. Ne touchez pas l'inoculum d'origine (❹).
- 8- Incubation de la plaque (inversée) à 35°C.

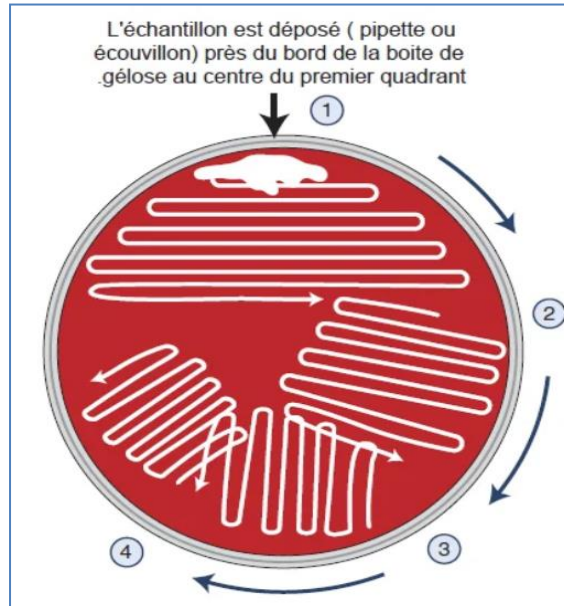


Figure 23 : Isolement bactérien (technique des quadrants ou par épaisseur).

➤ Préparation des disques de papier :

Des disques de 6 mm de diamètre ont été découpés sur papier filtre Wattman n°3, stérilisés pendant 15 min à 120°C par autoclavage et conservés jusqu'au moment de leur utilisation.

➤ Dépôt des disques :

À l'aide d'une pince stérile, les disques papier wattman ont été déposés sur l'agar qui a été précédemment inoculé avec les moisissures à tester.

Les Extraits :

Les deux extraits de la plante de *Pistacia lentiscus* (extrait d'acétate d'éthyle et extrait méthanolique) ont été dissous dans l'éthanol (2mg/ml) et homogénéisés. Une gamme de concentration a été préparée de chaque extrait à partir de concentration de 2 mg/ml selon la méthode de dilution de deux en deux (1/2, 1/4, 1/8)

Un volume correspondant à 10 µL de chaque solution est déposé sur des disques de papier Whatman stériles. [32]

L'huile essentielle :

Pour l'activité antibactérienne de l'huile essentielle d'*P. Lentiscus*, des disques de papier Whatman stériles de 6 mm de diamètre ont été imprégnés avec des quantités croissantes d'huiles essentielles pur (0 µL, 10 µL, 20 µL, 40 µL) et déposés stérilement sur les boîtes ensemencées.

[33]

L'ensemble des boîtes de Pétri ont été maintenues à une température de 25-30 °C pendant 1 h pour permettre la diffusion des extraits et l'huile essentielle.

➤ Incubation :

Pour toutes les souches testées les boîtes ont été préparées et incubées 24 heures à 37°C.

IV-4- Lecture de résultat :

Après l'incubation des boîtes de pétri, la lecture des résultats est effectuée en fonction de l'existence ou non d'un halo d'inhibition de la croissance microbienne autour des disques contenant les produits à tester.

Les diamètres des zones d'inhibition (mm) sont mesurés à l'aide d'un pied à coulisse ou d'une règle. Tous les tests ont été réalisés en double.

D'après **Meziti,A., Mehri,I. (2019) [34]**, la sensibilité à produit testé a été classée par le diamètre des halos d'inhibition :

- **Non résistant (-)** : diamètre = 6 mm.
- **Résistant (+)** : diamètre compris entre 7 a 10 mm.
- **Très résistant (+++)** : diamètre compris entre 11 et 19 mm.
- **Extrêmement résistant (++++)**: diamètre ≥ 20 mm.

Références bibliographiques:

- [1]: Karumi, Y. Onyeyili, P., Ogugbuaja, O. (2004). Identification of active principles of *M. balasmina* (Balsam Apple) Leaf Extract. *J. Med. Sci*, 4, 182.
- [2]: Yam, M.F, Ang L.F, Ameer O.Z, Salman I.M, Aziz H.A, Asmawi M.Z. (2009). Anti-inflammatory and analgesic effects of *Elephantopus tomentosus* ethanolic extract. *Journal of acupuncture and meridian studies*, 2, 282-283.
- [3]: Bentabet Lasgga, N. (2015). Étude phytochimique et évaluation des activités biologiques de deux plantes *Fredonia aretioides* et *Echim vulgare* de l'ouest Algérien. Université des Frères Mentouri - Constantine. Thèse de DOCTORAT, P 20-22.
- [4]: El Haoud, H., Boufellous, M., Berrani, A., Tazougart, H., Bengueddour, R. (2004). Screening phytochimique d'une plante médicinale *Mentha Spicata* L. *American Journal of Innovative Research and Applied Sciences*, 228.
- [5]: Dohou, N., Yamni, K., Tahrouch, S., Hassani Idrissi, M. (2003). Screening phytochimique d'une endémique ibéro-marocaine, *thymelaea lythroides*. *Bull. Soc. Pharm. Bordeaux*, 142, 66-67.
- [6]: Madi, A. (2018). Caractérisation phytochimique et évaluation des activités biologiques de *Cleome arabica*. Université de Constantine 1 - Constantine. Thèse de DOCTORAT, P45.
- [7]: Belfkih, F., El Yahyaoui, O., Chleh, M., Oulad Abdelhadi, L., Sammama, A., Lrhorfi, A., Bengueddour, R. (2017). Screening phytochimique d'*arbutus unedo* L. *American Journal of Innovative Research and Applied Sciences*, 241.
- [8]: Niare, A. (2006). Etude de la phytochimie et des activités pharmacologiques de *Syzygium guineense Willd* (Myrtaceae). Université de Bamako- République du Mali. Thèse de DOCTORAT, P45.
- [9]: Ghedadba, N., Hambaba, L., Ayachi, A., Aberkane, M. (2015). Polyphénols totaux, activités antioxydantes et antimicrobienne des extraits des feuilles de *Marrubium deserti* de Noé. *Phytothérapie*, 13, 120.
- [10]: Lucchesi, M.E. (2005). Extraction Sans Solvant Assistée par Micro-ondes Conception et Application à l'extraction des huiles essentielles. Université de La Réunion, Thèse de DOCTORAT, P142.

- [11]: Elhaddad ,S. (2014) . Les extrais des plantes médicinales .Université Abdelhamid Ibn Badis- Mostaganem .Mémoire de Master, P 75.
- [12]: Ali-Rachedi , F.,et al .(2018) . Analyse quantitative des composés phénoliques d'une endémique algérienne *Scabiosa Atropurpurea sub. Maritima L.* Bulletin de la Société Royale des Sciences de Liège, 87.
- [13]: Singleton, V.L., Rossi, J.R. (1965) . *Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic – phosphothungstic acid* . *Am. J. Enol. Vitic*, Vol. 16
- [14]: Jacquín-Dubreuil, A. Dosage densitométrique direct par réflexion des flavonoïdes de la gaude *Reseda luteola L* séparés par chromatographie sur couche mince. *Journal of Chromatography A*. 1972, vol 72 , no 3 , p. 488.
- [15]: Louassaa , H. Etudes des activités biologiques d'une plante médicinale « *Pistacia lentiscus L* » . Mémoire pour l'obtention du diplôme de Master. Université Mohamed El Bachir El Ibrahimí- B.B.A. 2019, p22.
- [16]: Zergui, F. (2016). Contribution à l'étude phytochimique et possibilités de valorisation d'une espèce dunaire du littoral oranais *Matthiola sinuata (L)*. RBr.1812. Mémoire pour l'obtention du diplôme de Magister. Université Djillali Liabes de Sidi Bel Abbes, p 64.
- [17]: Boukhatem, M . et al. (2019). Méthodes d'extraction et de distillation des huiles essentielles : revue littérature. *Revue Agrobiologia.*, vol 9, no 2, p 1655.
- [18]: Yahiaoui, S. , Zouaoui, K., (2018) . Etude des effets anti microbiennes et anti oxydants de l'huile essentielle de l'eucalyptus globulus , université A.M.OULHADJ- Bouira . Mémoire de Master, P 44.
- [19]: Khanfri, F. , Oussalah, I., (2018) . Contribution à l'étude phytochimique des extraits bruts de *retama monosperma (L)* boiss (Fabaceae) . Université Mouhamed Elibrahimi- Bordj BouArreridj. Mémoire de Master ,,P62 .
- [20]: Djoughalam, M. (2017). Contribution à l'étude des activités antibactérienne et antifongique des extraits des fruits et des feuilles du pistachier (*pistacia lentiscus L.*). Université Blida. Mémoire de Master ,,P 72 .

[21]: Seddik, M. (2010). Analyse physico-chimique, chromatographique et spectroscopique de l'huile essentielle d'*Ammodendron Verticillata* de la région d'Adrar. Étude de son activité biologique et anti-oxydante. Université Oran ES-sénia. Mémoire de Magister, P119.

[22]: Younes, F. (2020). Étude botanique phytochimique et activités biologiques d'une espèce végétale utilisée en médecine traditionnelle Algérienne (*Teucrium polium*). Mouhamed KHider-Biskra. Mémoire de Master, P 67.

[23]: Boukeloua, A. (2009). Caractérisation Botanique et chimique et évaluation Pharmacotoxicologique d'une préparation topique à base d'huile de *Pistacia lentiscus* L. (Anacardiaceae), Universités de Constantine. Mémoire de Magister, P 75.

[24]: Bouziani, S. (2013). Extraction des huiles végétales des baies du lentisque (*Pistacia lentiscus* L.) caractérisation physico-chimique et biologique, Universités de Blida. Mémoire de Master, P76.

[25]: Alloume, R., Liqid, A., Tazerout, M. (2012). Études comparatives de deux plantes oléagineuses locales pour la production du biodiesel en Algérie. *Revue des Energies Renouvelables SIENR'12 Ghardaïa*, 19 – 22.

[26]: Bachiri, L., Echchegadda, G., Ibiqbijen, J., Nassiri, L. (2016). Étude Phytochimique et Activité Antibactérienne de deux espèces de Lavande Autochtones Au Maroc: «*Lavandulastoechas* L. et *Lavandula dentata* L.». *European Scientific Journal*, 12, 313-332.

[27]: Das, K., Tiwari, R., Shrivastava, D. (2010). Techniques for evaluation of medicinal plant products as antimicrobial agents: current methods and future trends. *Journal of medicinal plants research*, 4, 107.

[28]: Cossetini, A., Vidic, J., Maifreni, M., Marin, M., Pinamonti, D., Manzano, M. (2022). Rapid detection of *Listeria monocytogenes*, *Salmonella*, *Campylobacter* spp, and *Escherichia coli* in food using biosensors. *Food Control*. 2022, 137, 6-7.

[29]: Fiche de description de danger biologique transmissible par les aliments / *E. coli* Entérohémorragiques (EHEC).

[30]: Della Valle, A. (2019). Qu'est-ce qu'un *Candida albicans*. *Le journal des femmes santé*. Disponible sur « <https://sante.journaldesfemmes.fr/fiches-sante-du-quotidien/2514813-candida-albicans-definition-traitement-symptomes/#cause-candidose> ». Consulter le 04/04/2022.

[31]: Direction de la réglementation des agents pathogènes, Agence de la santé publique du Canada. (2011). Fiche Technique Santé-Sécurité : Agents Pathogènes – *Candida albicans*.

[32]: Belfadel, F. (2017). Etude phytochimique et activité biologique de deux espèces végétales : *Retama monosperma* (L.) (fabaceae) et *Blackstonia grandiflora* (Viv.) Maire (Gentianaceae). Université des Frères Mentouri – Constantine. Thèse de DOCTORAT, P 221.

[33]: M, Abers., Schroeder, S., Goelz, L., Susler, A., St Rose, T., Puchalski, K., Langland, J. (2021). Antimicrobial activity of volatile substances from essential oils. *BMC Complementary Medicine and Therapies*, 3.

[34]: Meziti, A., Mehri, I. (2019). Synthèse des dérivés de la Benzoazolinone potentiellement actif. Université 20 aout 1955- Skikda. Mémoire de Master, P 96.

Chapitre IV :

Résultats et discussions

I- Les tests phytochimiques :

Les tests phytochimiques consistent à identifier les différentes familles des métabolites secondaires existantes dans les feuilles de *Pistacia lentiscus* L et ceci par une caractérisation qualitative afin de rechercher des alcaloïdes, des composés polyphénoliques (tanins, flavonoïdes, anthocyanes), les stérols, les triterpènes...

Les résultats du screening phytochimique réalisés dans les différents extraits de feuilles de *Pistacia lentiscus* sont représentés dans le **tableau N° 1**.

Tableau 01 : Résultats de screening phytochimique de *Pistacia lentiscus* L.

Composé	Extrait	Observation	Résultats
Flavonoïdes	A	Couleur Rouge	+
	B	Couleur Jaune	+
Glycosides Cardiaque	A	Couleur Brune rougette	+
	B	Couleur Brune	+
Tanins		Couleur verte foncée	+
	A		
	B	Couleur bleue verte	+
Mucilage	B	Aucune observation	-
Quinones libres	Extrait d'éther de pétrole	Aucune observation	-
Alcaloïdes (Réactif de Mayer)	A	Aucune observation	-
Alcaloïdes (Réactif de Dragendorff)	Extrait de H ₂ SO ₄	Couleur orange claire sans formation de précipité	-
Huile essentielle	Matière végétale	Une odeur parfumée	+
Stérols et tri-terpènes	A	Anneau vert	+
Saponines	B	Aucune observation	-
Coumarines	Extrait éthérique	Aucune observation	-

Dérivés anthracéniques libres	Extrait chloroformique	Aucune observation	-
Polyphénols	A	Couleur bleue verdâtre	+
	B	Couleur bleue foncée	+
Composés réducteurs	B	Précipité rouge brique	+

(+) Présence de composé (-) Absence de composé

Suite tableau 01: Résultats de screening phytochimique de *Pistacia lentiscus* L.

D'après les résultats présentés dans le tableau ci-dessus, on remarque :

- La présence des flavonoïdes dans les deux extraits : méthanolique et aqueux, avec une coloration rouge pour l'extrait A et une coloration Jaune pour l'extrait B. Le résultat indique la richesse de la plante par la quercétine et les flavonoïdes glycosides dans les deux extraits A et B respectivement.
- La richesse de cette plante en composés phénoliques : (tanins catéchiques et tanins galliques).
- Une forte présence des polyphénols, des glycosides cardiaques, d'huile essentielle, des stérols, des tri-terpènes et des composées réducteurs.
- Une absence totale des : quinones, alcaloïdes, saponines, coumarines et les dérivés anthracéniques libres est observée dans ces extraits.

Ces résultats, confirment la richesse des feuilles de *Lentisque Pistachier* par la majorité des métabolites secondaires, et cette diversité chimique peut conférer à la plante de nombreux avantages thérapeutiques.

L'étude de la composition chimique des extraits méthanolique et aqueux de *Pistacia lentiscus* L, a révélé la richesse de ces deux extraits en composés chimiques actifs : les tannins, les flavonoïdes, les stérols et les glycosides qui confirmé par les résultats de **Bammou et al (2015)** ; **Arab et all (2014)**. [1,2]

II- Rendement de l'extraction :

Le rendement des extractions, l'aspect et la couleur des différents extraits de *Pistacia lentiscus* sont représentés dans le tableau ci-dessous.

Tableau 02: Caractéristiques des extraits des feuilles de *Lentisque pistachier* et leurs rendements.

Matière sèche	Extrait	Aspect	Couleur d'extrait	Masse (g)	Rendement(%)
50 g	E-DCM	Poudre	Verte foncée	3,73	7,46
	E- AcOEt	Poudre	Verdâtre	1,21	2,42
	E-MeOH	hygroscopique	Marron	2,82	5,64
	Résidu	hygroscopique	/	42,24	84,48



Figure 01 : Les extraits des feuilles de *P. lentiscus*.

D'après les résultats obtenus, nous constatons que le rendement le plus élevé est celui de l'extrait E-DCM (7,46%) suivi par l'extrait E-MeOH (5,64%), tandis que la fraction acétate d'éthyle (E- AcOEt) a montré le rendement le plus faible (2,42%).

III-Dosage des composés phénoliques :

III-1- Dosage des Polyphénols :

Les polyphénols totaux ont été déterminés par la méthode colorimétrique en utilisant le réactif de folin-Ciocalteu, l'absorbance a été lue dans une longueur d'onde de 765 nm. Les résultats obtenus pour le dosage des polyphénols sont exprimés en μg équivalent acide gallique par mg d'extrait (μg EAG/mg d'extrait) en utilisant l'équation de la régression linéaire de la courbe d'étalonnage tracée par l'acide gallique suivante (**Figure N°02**) : $y = 0.0255x + 0.0078$ avec un coefficient de corrélation $R^2 = 0.9965$.

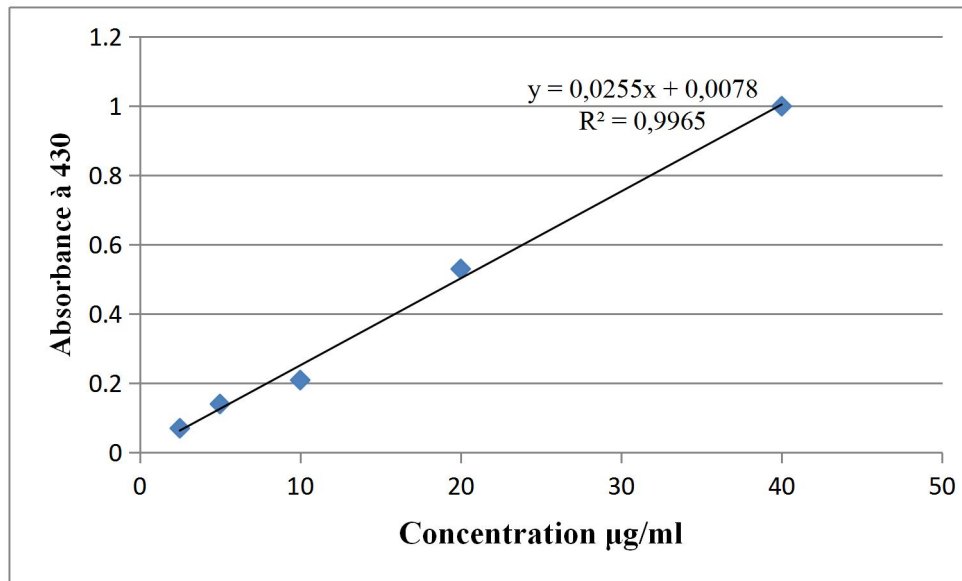


Figure 02 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.

Les résultats du dosage des teneurs de polyphénols obtenus selon les conditions d'expérimentation variées sont illustrés dans la **figure N° 3** et le **tableau N° 3**.

Tableau 03 : Résultats de la quantification spectrophotométrique des phénols totaux.

Extrait	Teneur en polyphénols ($\mu\text{gAGE}/\text{mg}$)
E-MeOH	99,70±0,56
E-AcOEt	31±5,65

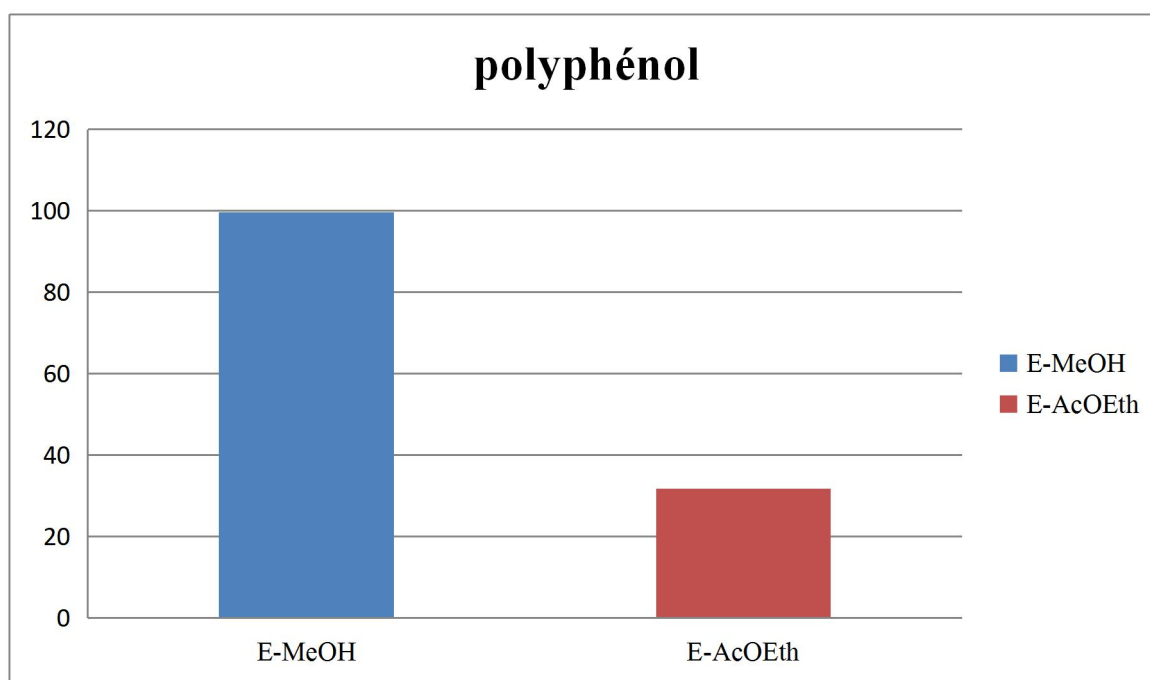


Figure 03 : Histogramme de la teneur en polyphénols totaux des extraits MeOH et AcOEt des feuilles de *P. Lentiscus*.

D'après les résultats obtenus nous pouvons constater que l'extrait méthanolique (E-MeOH) est plus riche en polyphénols totaux, elle est de l'ordre de 99.70 $\mu\text{g AGE/mg}$ d'extrait suivi par l'extrait d'acétate d'éthyle (E-AcOEt) avec une teneur de 31.71 $\mu\text{g AGE/mg}$

D'après ces résultats, on déduit que le contenu phénolique dans les extraits examinés, dépend de la polarité du solvant utilisé pour l'extraction du degré de polymérisation des molécules à extrait de la longueur des chaînes carbonées et du nombre et la position de groupement hydroxyde. [3]

La valeur obtenue à partir du titrage des polyphénols dans l'extrait E-MeOH est supérieure à celle obtenue par **Belhachat .D (2019)** ; 89.822 $\mu\text{g/mg}$ et **Kheira .A (2021)** ; 21.6 mg EQ/mg et inférieure à la valeur obtenue par **Cherfi.K et al (2016)**; à 120.22mg EQ/mg. [4-6]

Cette différence de la teneur peut être due au biotope de la plante, la saison de récolte, les conditions climatiques et environnement. Cela peut également être liée à la technique d'extraction utilisée dans ces études, qui utilisait la macération pour extraire les composés phénoliques par rapport à la méthode utilisée dans notre étude ; la méthode Soxhlet.

III-2-Dosage des flavonoïdes :

Le dosage des flavonoïdes a été réalisé selon la méthode de trichlorure d'aluminium ($AlCl_3$). L'absorbance a été lue dans une longueur d'onde de 430 nm. La quercétine a été utilisée comme un standard de référence pour l'établissement de la courbe d'étalonnage et pour la quantification de la teneur en flavonoïde totaux exprimées en microgramme d'équivalent de quercétine par 1 mg d'extrait ($\mu gEQ/mg$).

Les teneurs en flavonoïdes de l'extrait ont été déterminées à partir de la courbe d'étalonnage

$$y = 0.0143x + 0.2567 \quad \text{avec } R^2 = 0.9929. \quad (\text{Figure 04})$$

Les résultats obtenus sont regroupés dans le **tableau N° 04** et représentés dans l'histogramme ci-dessous :

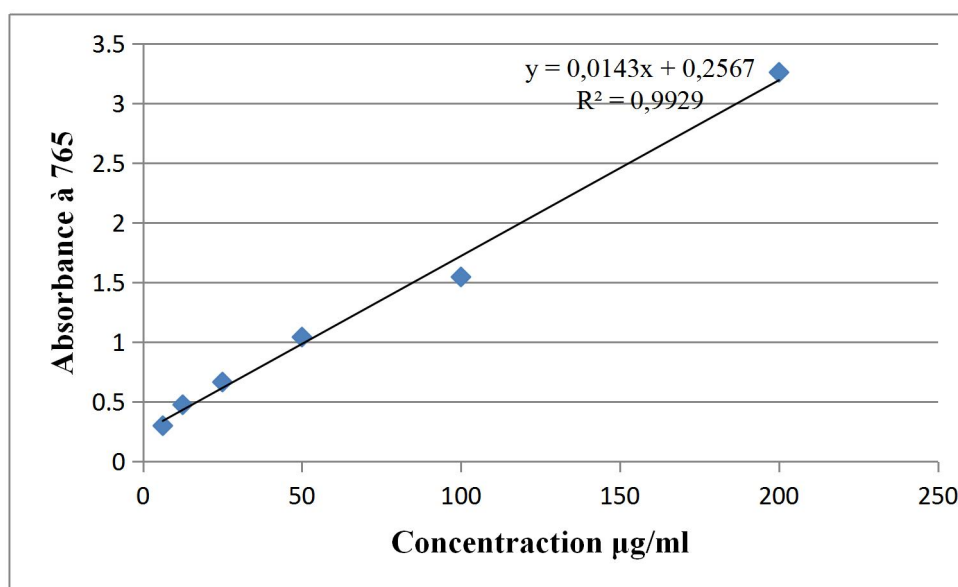


Figure 04 : Courbe d'étalonnage du quercétine pour le dosage des flavonoïdes.

Tableau 04 : Résultats de la quantification spectrophotométrique des flavonoïdes totaux.

Extrait	Teneur en flavonoïdes ($\mu gEQ/mg$)
E-MeOH	3.45±0.08
E-AcOEt	197.76± 2.82

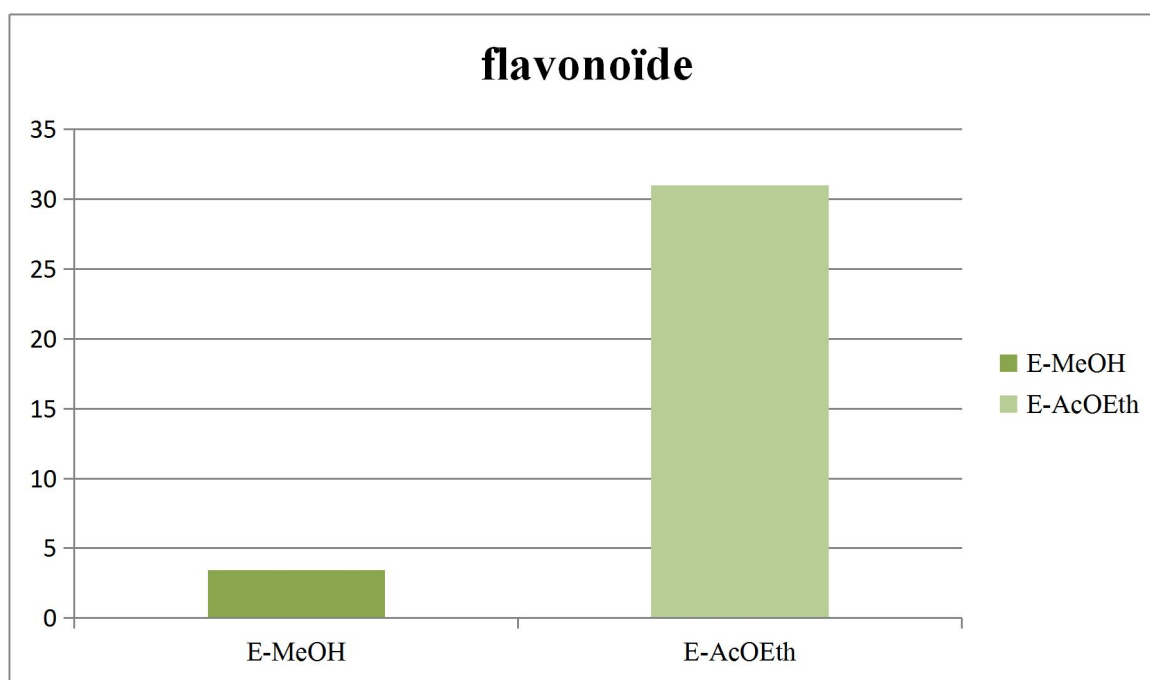


Figure 05 : Histogramme de la teneur en flavonoïdes des extraits MeOH et AcOEt des feuilles de *P. Lentiscus*

Plusieurs études ont été réalisées sur les feuilles de PL qui ont montrées la richesse en composés de type flavonoïde tel que les flavonols glycosylés, les flavones et les anthocyanes.[7]

Les résultats du dosage des flavonoïdes (**Figure 05**) révèlent que l'extrait de l'acétate d'éthyle (E-AcOEt) contient 197.76 µgEQ/mg de l'extrait plus riche que l'extrait méthanolique (E-MeOH) avec une teneur 3.45 µgEQ/mg.

Ces valeurs sont inférieures à celles rapportées par **Louassaa. H (2019)** qui varient entre 450.2 et 33.95µgEQ/mg. [7]

La valeur obtenue par rapport la concentration en flavonoïdes dans l'extrait méthanolique (E-MeOH) est supérieure à celle obtenue par **Kheira .A (2021)** ; 1.9 mg EQ/mg. [5]

III-3-Dosage des Tanins :

La teneur des tanins condensés a été obtenue à partir d'une courbe d'étalonnage en utilisant l'équation de la régression linéaire de la courbe d'étalonnage tracée par la catéchine (**Figure 06**) suivante : $y=0.0004x$

Les résultats obtenus sont exprimés en µg équivalent catéchine par mg d'extrait (µg ECT/mg Extrait). Avec coefficient $R^2= 0$.

Les résultats des taux en tanins pour les deux extraits de *Pistacia lentiscus* sont représentés dans le **tableau N° 5**

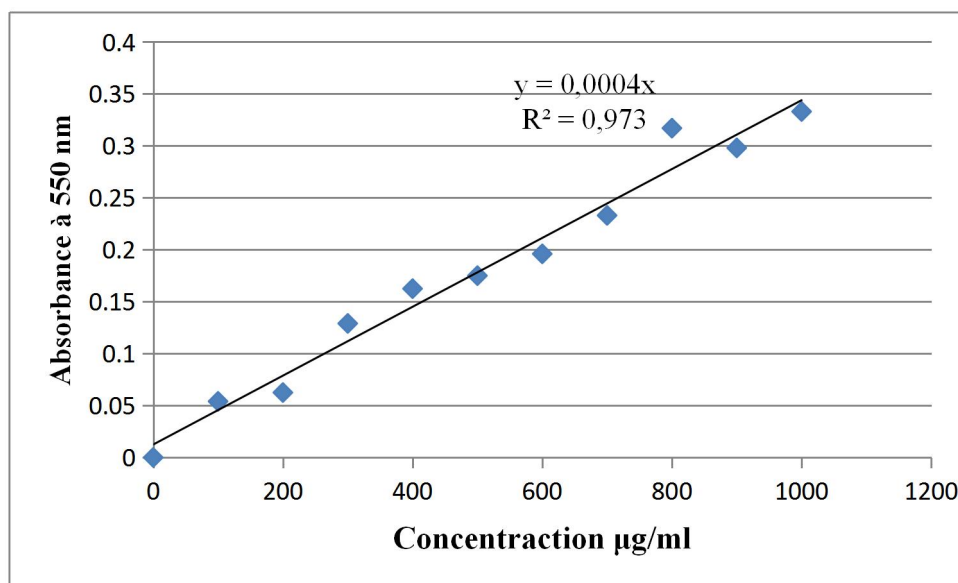


Figure 06 : Courbe d'étalonnage de la catéchine pour le dosage des tannins condensés.

Tableau 05 : Résultats de la quantification spectrophotométrique des tannins totaux.

Extrait	Teneur en tanins condensés ($\mu\text{gECT}/\text{mg}$)
E-MeOH	1.55±00
E-AcOEt	305±00

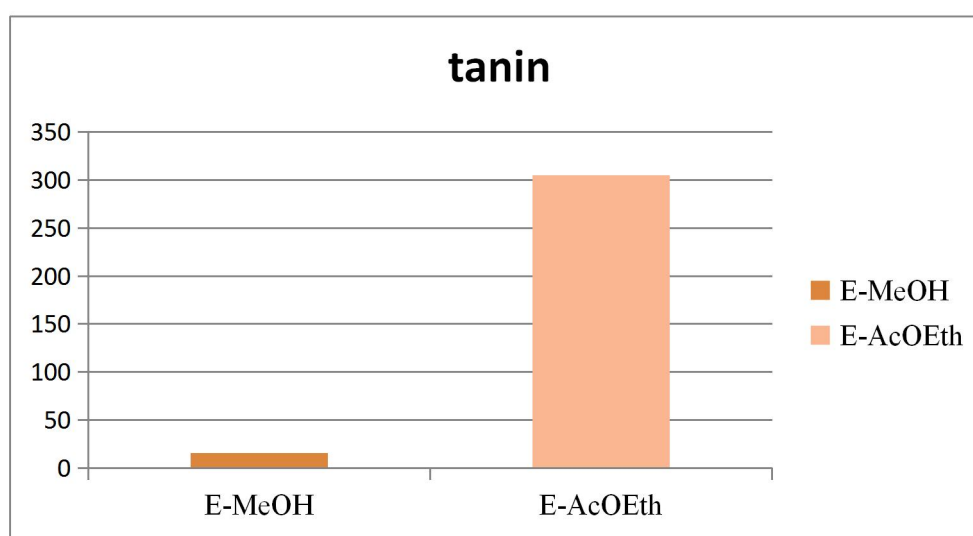


Figure 07 : Histogramme de la teneur en tanin condensé des extraits MeOH et AcOEt des feuilles de *P. Lentiscus*.

Le dosage révèle que la fraction de l'acétate d'éthyle renferme les plus importantes teneurs en tanins condensés, avec une valeur de 305 µgECT/mg MS. En revanche, la fraction méthanolique a enregistré une faible teneur à concentration atteinte 1.55 µgECT/mg .

Ce qui montre que l'extrait de l'acétate d'éthyle renferme un taux plus élevé en tanins que l'extrait hydro méthanolique. Cette différence peut s'expliquer par le fait que l'extraction des tanins condensés dépend de leurs propriétés physico-chimiques et du solvant utilisé, leur solubilité dans le solvant varie selon le degré de polymérisation. [8]

IV- Étude phytochimique d'huile essentielle de lentisque :

IV-1-Rendement d'extraction d'HE :

Le volume d'huile essentielle récupéré dépend du rendement de distillation, qui est variable, chez une même plante, en fonction de la saison. Le rendement en huile essentielle de Lentisque Pistachier est représenté sur **tableau N°6**, il a été calculé en fonction de la matière végétale sèche de la partie aérienne de la plante.

Tableau 06 : Rendement d'extraction de l'HE de Lentisque Pistachier par entraînement à la vapeur.

Matière sèche	70 Kg
Durée d'extraction	3 heures
Quantité d'HE récupérée	100g
Rendement %	0,14

L'extraction d'huile essentielle des feuilles de *Pistacia lentiscus* par entraînement à la vapeur a fourni un rendement faible de 0,14% obtenu à partir de 70 Kg de la matière végétale sèche.

D'après **Aouinti et al. (2013) [9]** ; l'extraction en huiles essentielles par l'hydrodistillation de la partie aérienne de Lentisque Pistachier récolté à partir de Jerada Maroc donne des rendements 0.23%, ce qui est plus important que la notre.

Le rendement de l'huile essentielle est fortement lié à plusieurs facteurs tels que :

- La zone géographique de collecte.
- L'espèce.
- Le climat.
- Les pratiques culturales.
- Le moment de collecte et la méthode d'extraction. [10]

IV-2-Caractéristiques physico-chimiques:

IV-2-1-Propriétés organoleptiques de l'HE de *P. Lentiscus* :

Les caractéristiques organoleptiques de l'huile essentielle de *P. Lentiscus* sont résumées dans le **tableau N° 07**. Les résultats obtenus ont montré que l'huile essentielle issue de la méthode de l'entraînement à la vapeur ayant un aspect liquide mobile avec une couleur jaune et une odeur aromatique forte (**Figure 08**).

Tableau 07 : Caractères organoleptiques de l'H.E de *Pistacia lentiscus*.

Huile essentielle	Caractéristiques organoleptiques		
	Aspect	Couleur	Odeur
<i>Pistacia lentiscus</i>	Liquide, mobile et limpide	Jaune	Forte odeur caractéristique
AFNOR (2000) [11]	Liquide, mobile et limpide	Jaune pâle	caractéristique

Les paramètres organoleptiques de notre HE sont en accord avec ceux répertoriés dans les normes AFNOR (**Tableau 07**). [11]



Figure 08 : Huile essentielle des feuilles de *P. Lentiscus* extraite par l'entraînement à la vapeur.

IV-2-2- Caractéristiques physiques de l'H.E :

Les résultats de la détermination des paramètres physique de l'H.E de *Pistacia Lentiscus*, obtenu par entraînement à la vapeur sont regroupés dans le **tableau N° 08**.

Tableau 08 : Indices physico-chimiques des HEs de *Pistacia lentiscus*.

Paramètres étudiés	Huile essentielle	AFNOR [11]
Densité relative D_r	0,86588	0,884- 0,912
Le pouvoir rotatoire	174,3	-
Indice de réfraction I_{20}	1,6500	< 5
Miscibilité à l'éthanol	17,5	-

Les résultats obtenus indiquent que la densité relative et l'indice de réfraction de nos HE sont d'accord avec ceux mentionnés par les normes.

A partir des valeurs du **tableau 08**, il en ressort que toutes ces constantes étant influencées par les conditions édaphiques et climatiques ainsi que les pratiques culturales [12]. Cela fait partie de la complexité de la notion de chémotype. D'après les résultats mentionnés dans le **tableau 08** on constate que :

✓ Densité relative D_r :

La densité relative constitue un critère très important pour évaluer la qualité d'une huile essentielle, elle dépend de la température et de la composition chimique de l'huile. La densité d'une huile nous renseigne sur sa pureté.

Les résultats de notre étude, révèlent que la valeur de densité est 0.86588g/cm^3 . La valeur obtenue de densité de notre huile est comparable à ceux rapportés dans la bibliographie. [4,13]

✓ Pouvoir rotatoire :

Les résultats obtenus ont montré que le pouvoir rotatoire d'huile essentielle de *Pistacia lentiscus* a une valeur de $+174.3^\circ$, ce qui explique que cette huile est dextrogyre. [14]

✓ Indice de réfraction :

L'indice de réfraction variant essentiellement avec la teneur en monoterpènes et en dérivés oxygénés. Une forte teneur en monoterpènes donnera un indice élevé. [15] Plus l'indice de réfraction est faible ; plus l'huile essentielle est de bonne qualité. [16]

D'après les résultats mentionnés dans le **tableau 08**, l'indice de réfraction d'HE de *Pistacia lentiscus* mesuré est inférieur à l'indice de réfraction des huiles essentielles rapporté par la norme AFNOR (2000). [11]

✓ Miscibilité à éthanol :

La bonne miscibilité des huiles essentielles montre la possibilité de l'utiliser dans les préparations pharmaceutiques. [17]

L'huile essentielle de *Pistacia lentiscus* est miscible à $V = 17,5$ ml d'éthanol de titre alcalimétrique de 80° à la température de 25°C . Le mélange était limpide, il garde la limpidité même après addition de 20 ml d'éthanol.

La miscibilité de l'huile essentielle étudiée dans éthanol à 75% à 25°C , nous a donné 17.5 d'ETOH/ 1volume d'huile de lentisque pistachier.

VI-2-3-Détermination chimique :

Nous avons regroupé les propriétés chimiques d'huile essentielle de *Pistacia lentiscus* évaluées expérimentalement dans le **tableau 09**.

Tableau 09 : Valeur des indices chimiques d'huile essentielle.

Caractérisation	L'huile essentielle	AFNOR [11]
Indice d'acide I_A	16,83	< 10
Indice d'ester I_E	72,93	53-76
Indice de saponification I_S	98,93	-
Indice de peroxyde I_P	28	< 10

D'après ces résultats, on remarque que :

✓ **Indice d'acide I_A :**

L'indice d'acide indique le comportement et la quantité des acides libres présents dans notre huile. [18] Il peut aussi nous renseigner sur la susceptibilité de l'huile à subir des altérations, notamment l'oxydation.

D'après nos résultats, l'huile essentielle des feuilles présente un indice d'acide très élevé avec une valeur de 16.83, cet indice n'est pas conforme à ceux mentionnés dans les normes. Cela peut trouver une explication dans la dégradation de l'HE (hydrolyse des esters) durant sa conservation, ce qui est à terme préjudiciable [19], donc une faible valeur d'indice d'acide nous laisse penser qu'elle ne contient pas beaucoup d'acides libres et ne sont pas altérées en raison de l'oxydation de l'huile, car l'huile se dégrade rapidement par oxydation et provoque une augmentation de l'indice d'acidité.

Les valeurs de l'indice d'acide des huiles essentielles rapportées par la norme **AFNOR** inférieur à 10 est une preuve de bonne conservation de l'essence (faible quantité d'acides libres). [11]

✓ **l'indice d'ester I_E :**

D'après nos résultats, l'huile essentielle des feuilles de *Pistacia lentiscus* présente un indice d'ester (=72.93 KOH / g), cette valeur est considérablement supérieure à celles trouvées par **Belhachat .D (2019) [4]** ; mais elle est très proche de celles trouvées par **Amara, N.et al, (2019)** pour l'huile essentielle des feuilles de Lentisque. [13].

En comparant nos résultats expérimentaux avec la norme **AFNOR**, nous avons constaté que la valeur de l'indice d'ester est située dans l'intervalle des indices d'ester, rapporté par la norme **AFNOR** pour les huiles essentielles de lentisque (53 à 76).

L'indice d'ester de notre H.E possède un indice plus élevée, ce qui veut dire que cette huile contient une quantité appréciables d'acides gras libres. Par conséquent, des précautions de pré-raffinage et de conditionnement doivent être prises afin de limiter une dénaturation ultérieure qui conduirait à une décoloration de l'huile. [20] De manière générale, les huiles de très bonnes qualités ont un indice ester très élevé.

✓ **L'indice de saponification :**

La connaissance de l'indice de saponification d'un corps gras nous renseigne sur la longueur de la chaîne carbonée des acides constituant ce corps gras. [21] L'indice de saponification de l'huile essentielle de lentisque a enregistré une valeur élevée de 98.93 mg de KOH/g d'huile. Cela implique que ces huiles contiennent une forte quantité d'acides gras de faible poids moléculaire; car la valeur de l'indice de saponification est élevée lorsque la chaîne carbonée des acides gras hydrocarbonés est courte. [22]

✓ **L'indice de peroxyde I_P :**

L'indice de peroxyde constitue l'un des critères de qualité des huiles. Il sert à évaluer l'état d'oxydation d'une huile au cours du stockage et ne doit pas dépasser 10 méqO₂/Kg. [23] La valeur de l'indice de peroxyde trouvée dans cette étude est de l'ordre 28 méqO₂/kg d'huile, Cette valeur est supérieure à 10 méqO₂/kg. Cela signifie que cette huile est moins stable avec une durée de conservation plus courte. [24]

V- Activité antimicrobienne :

L'activité antibactérienne des huiles essentielles et des extraits de feuilles de *P. lentiscus* L. effectuée par aromatogramme. Dans ce travail, Une souche microbienne (*Escherichia coli*) et une espèce de champignons (*Candida albicans*), à l'origine de plusieurs infections, ont été utilisées lors de ce screening.

Ce teste nous a permet de juger qualitativement l'activité antibactérienne de nos produits par mesurer les diamètres de zones d'inhibitions apparaissent autour des disques qui contiennent les différentes concentrations et volumes des produits (**Figure 09 et 11**).

Les résultats obtenus sont représentés dans les **tableaux 10 et 11**.

A-Résultats de l'activité antimicrobienne des extraits à partir des feuilles de *P. Lentiscus* :

Les extraits obtenus à partir des feuilles de *Pistacia Lentiscus* possèdent une activité antibactérienne vis-à-vis des deux souches testées (*Escherichia coli* et *Candida albicans*). Les diamètres d'inhibition sont compris entre **6.5 mm** et **11,5 mm** (**Tableau 10**).

Tableau 10 : Diamètre des zones d'inhibition de la croissance bactérienne des extraits bruts étudié en mm.

Souches utilisées	Extrait	Activité antibactérienne			
		1mg/ml	0,5mg/ml	0,25mg/ml	0,125mg/ml
<i>E. coli</i>	CH ₂ Cl ₂	8,5±0,71	7,5±0,71	6,5±0,71	6,5±0,71
	EtOAc	11,5±0,71	8,5±0,71	7,5±0,71	6,5±0,71
	MeOH	9,5±0,71	7,5±0,71	6,5±0,71	-
<i>C. albicans</i>	CH ₂ Cl ₂	12±0	9,5±0,71	8±00	7,5±0,71
	EtOAc	11,5±0,71	8,5±0,71	7±00	-
	MeOH	10,5±0,71	9±00	8±00	7±00

D'après **Meziti .A et al, (2019)[25]** , la sensibilité des germes a été classée par le diamètre des halos d'inhibition comme suit :

- Non sensible lorsque le diamètre de la zone d'inhibition est inférieur à 6 mm.
- Sensible (+) lorsque le diamètre de la zone d'inhibition est compris entre 7 à 10 mm
- Très sensible (++) lorsque le diamètre de la zone d'inhibition est compris entre 11 et 19 mm

- Extrêmement sensible (+++) lorsque le diamètre de la zone d'inhibition est supérieur à 20 mm.

La lecture dans le tableau des résultats montre clairement la diminution du diamètre des zones d'inhibition contre les deux souches examinées en fonction de la concentration des extraits de *P. Lentiscus* appliquée (1, 0.5, 0.25 et 0,125 mg/ml).

D'après les résultats obtenus, concernant les deux souches testées sont très sensibles à l'extrait d'acétate d'éthyle des feuilles à concentration 1mg/ml contre *Escherichia coli* et *Candida albicans* avec des zones d'inhibitions de 11.5 mm de diamètres. L'extrait dichlorométhane a également montré une bonne activité inhibitrice vis-à-vis de la souche fongique, *Candida albicans*, avec un diamètre de zone d'inhibition de 12 mm, tandis que les résultats ont montré une activité inhibitrice faible du même extrait contre *Escherichia coli* avec un diamètre de zone d'inhibition 8,5 mm.

D'autre part les deux souches testées sont moins sensibles à l'extrait méthanolique avec un diamètre d'inhibition de 10,5 mm pour *Candida albicans* et de 9,5 mm pour *Escherichia coli*.

Les résultats sont similaires a ceux publiés par **Tahiri et al (2016)** ; **Arif et al (2017)** qui confirment l'activité antibactérienne des extraits de feuilles de *Pistacia lentiscus* contre *Escherichia coli*. [26,27]

D'après les résultats obtenus, les deux souches étudiés sont sensibles aux trois extraits (E-DCM, E- AcOEt et E-MeOH) des feuilles de Lentisque Pistachier, avec un diamètre variable d'une souche à l'autre. Cette sensibilité est due à cause des compositions chimiques et surtout aux alcools terpéniques. [28]

Le screening phytochimique a révélé la présence chez les extraits de *Pistacia lentiscus* des principales familles de composés chimiques susceptibles de conférer les propriétés antimicrobiennes à une plante. Ce sont notamment, les triterpènes, les tanins et les flavonoïdes [4] , donc on peut supposer que la forte activité inhibitrice de la croissance bactérienne de l'extrait E- AcOEt de *Pistacia Lentiscus* contre *E. coli* est due à la présence des flavonoïdes et des tanins dans cet extrait.

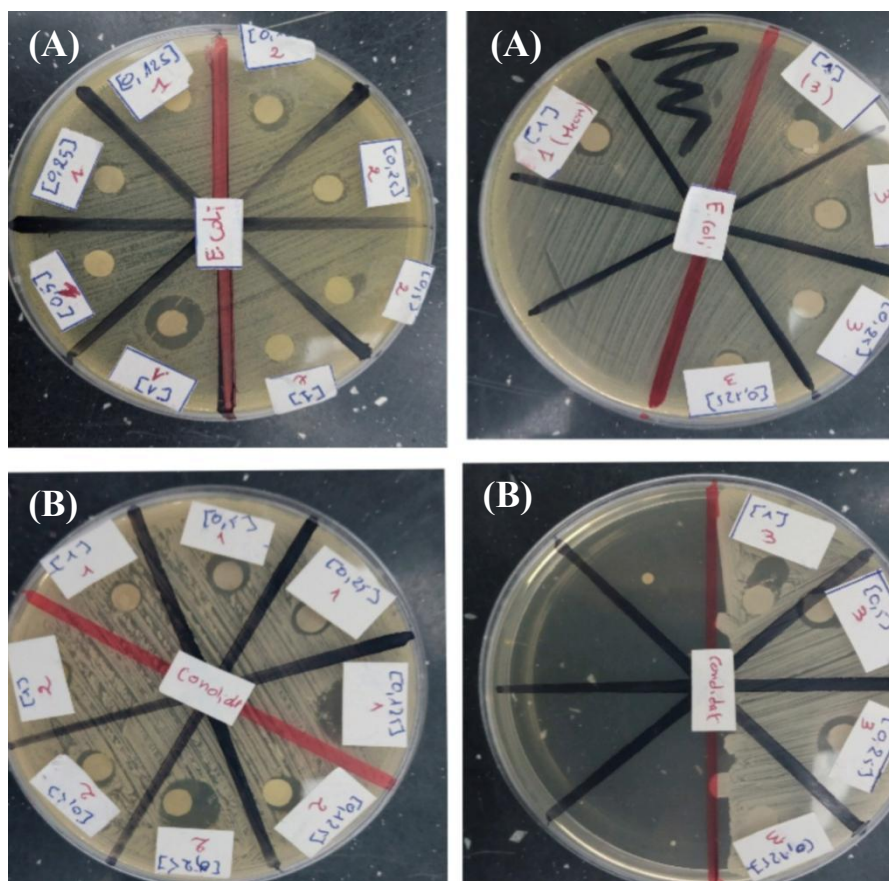


Figure 09 : Activité antimicrobienne en fonction du taux de dilution des extraits de *Pistacia lentiscus*. A : *E. coli* 25 928 .B : *Candida albicans*

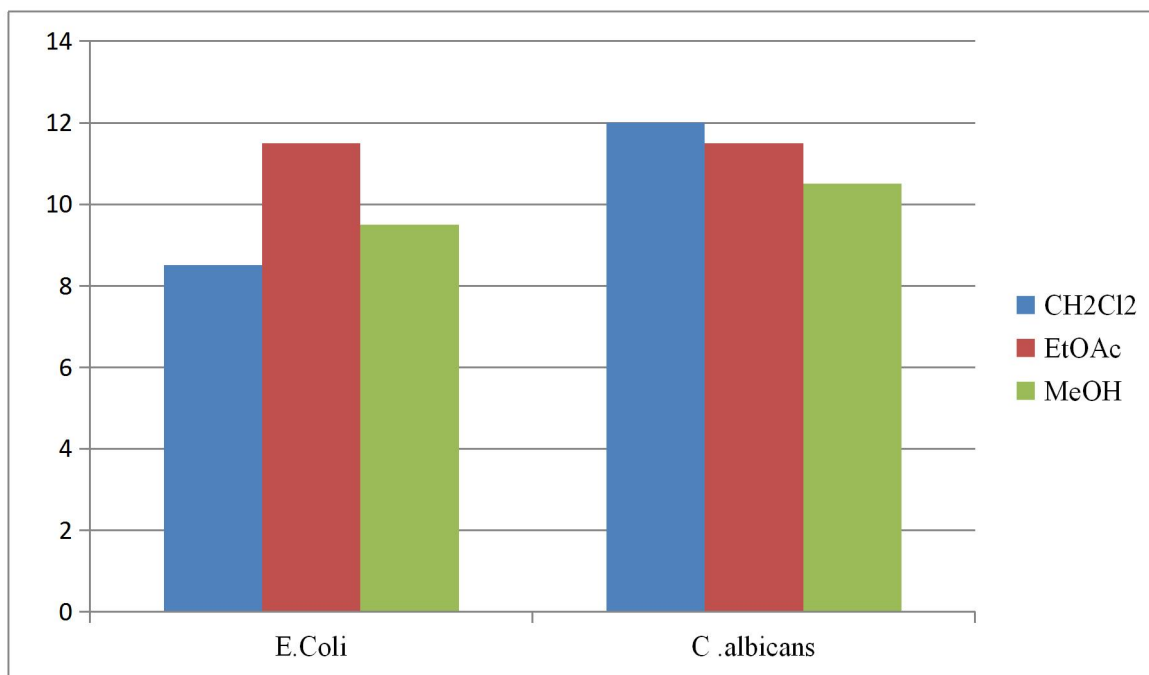


Figure 10 : Histogramme présentant les zones d'inhibition des extraits de *Pistacia lentiscus* à concentration 1mg/ml pour les deux souches testées.

B-Résultats de l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle de *P. lentiscus* :

L'activité antimicrobienne d'huile essentielle évaluée contre une bactérie de Gram négative et une levure après 24 heures d'incubation à une température adéquate de 37°C. Cette activité est évaluée par la méthode de diffusion par disque.

Les résultats des diamètres d'inhibition sont représentés dans le tableau suivant :

Tableau 11 : Diamètres de zones d'inhibition de l'huile essentielle extraite.

Souches utilisées	Activité antimicrobienne			
	0 ul	10 ul	20ul	40 ul
<i>E. coli</i>	-	8,5±0,71	13,5±0,71	16,5±0,71
<i>C. albicans</i>	-	14,5±0,71	17,5±0,71	25,5±0,71

A partir des résultats des diamètres des zones d'inhibition dans le (Tableau 11) et (Figure 11) l'HE de *Pistacia Lentiscus* on montre une activité antimicrobienne par rapport à toutes les souches testées, la concentration de 40 µl/ disque a été largement suffisante pour arrêter la croissance de *C.Albicans* (levure) qui s'est montré l'activité inhibitrice la plus élevée à cette HE par de zone d'inhibition 25 ,5 mm, suivi du *E. Coli*(Gram -) par de zone d'inhibition 16,5 mm.

Ces résultats sont en accord avec ceux des travaux **Benhammou et al. (2007)** ; **Midani et al (2017)**, qui montrent que l'huile essentielle de la partie aérienne de Lentisque pistachier présentait une activité inhibitrice sur une bactérie Gram- (*E. coli*) et une souche fongique *C.Albicans*. [29,30]

Selon plusieurs études, l'activité anti-microbienne des huiles essentielles pourrait s'expliquer par la présence des biomolécules en particulier le thymol et le carvacrol qui sont des molécules phénoliques dont les propriétés antibactériennes ont été démontrées. [31]

La classification de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles s'effectue selon la nature des principaux composés constitutifs des huiles essentielles par ordre décroissant : phénols > alcools > aldéhydes > cétones > oxydes > hydrocarbures > esters. [32]

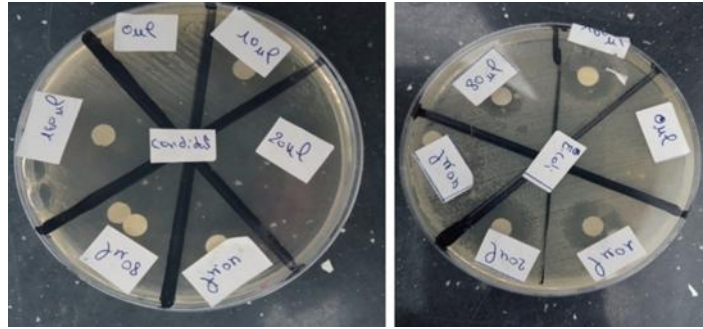


Figure 11 : Activité antimicrobienne de l'H.E à l'état pur de *Pistacia lentiscus* par la méthode d'aromatogramme.

Références bibliographiques:

- [1]: Bammou, M., Daoudi, A., Slimani, I., Najem, M., Bouiamrine1, E., Ibjibjen, J., Nassiri, L. (2015). Valorisation du lentisque « *Pistacia lentiscus* L. » : Étude ethnobotanique, Screening phytochimique et pouvoir antibactérien. *Journal of Applied Biosciences*, 86, 7966–7975.
- [2]: Arab, K., Bouchenak, O., Yahiaoui, K. (2014). Phytochemical study and evaluation of the Antimicrobial and antioxidant activity of essential oils and phenolic compounds of *Pistacia Lentiscus*. *Journal of fundamental and Applied Science* ,6 ,77-91.
- [3]: Naczka, M., Shahidi, F. (2004). extraction and analysis of phenolics in Food . *journal chromatography A*,1054(1-2),95-111.
- [4]: Belhachat , B. (2019) . Etude phytochimique des extraits de *pistacia lentiscus* (L) activité antioxydant, antimicrobienne et insecticide. Ecole nationale supérieure agronomique El Harrach- Alger. Thèse de DOCTORAT, P 186.
- [5]: Kheira, A., BENACHOUR, K. (2021) . Activité antioxydants et anti-inflammatoire des polyphénols extraits de *Pistacia lentiscus*. Université Mohamed Khider - biskra. Mémoire de Master, P24.
- [6]: Cherfie, K. , Omanis, S. (2016) . Extraction et dosage des polyphenols totaux du *pistacia lentiscus* L et évaluation de leur activité antibactérienne vis-vis de *staphylococcus aureus* et de *Escherichia coli* .Université Mouloud Mammeri - tizi-ouzou. Mémoire de Master, P46.
- [7]: Louassaa ,H . (2019) . Etude des activités biologique d'une plante médicinale *pistacia lentiscus* L. Université Mohamed el Bachir el Ibrahimie B.B.A . Mémoire de Master,P28.
- [8]: Deba, F. , Dang Xuan, T, Yasuda, M, Tawata, S. (2008) . *Chemical composition and antioxidant, antibacterial and antifungal activities of the essential oils from Bidens pilosa Linn. var. Radiata*. Food Control, Vol. (19), No . 346.
- [9]: Aouinti, F., Zidane, H., Tahri , M., Wathelet, J., El Bachiri, A. (2014). Chemical composition, mineral contents and antioxidant activity of fruits of *Pistacia lentiscus* L. from Eastern Morocco. *J. Mater. Environ. Sci.* 5, 199-206.
- [10]: Bousbia, N. (2011). Extraction des huiles essentielles riches en anti-oxydants à partir de produits naturels et de co-produits agroalimentaires. Ecole Nationale Supérieure Agronomique. Thèse de DOCTORAT, P 44.

[11]: AFNOR. (2000) . « Recueil de normes : les huiles essentielles. Tome 2. Monographies relatives aux huiles essentielles ». AFNOR, Paris, 661-663.

[12]: Boukhatem,M., Hamaidi,M., Saidi ,F.,Yahia, H . (2010) .Extraction, composition et propriétés physico-chimiques de l'huile essentielle du *Géranium Rosat (Pelargonium graveolens L.)* cultivé dans la plaine de Mitidja (Algérie). *Nature et Technologie*, No .03.

[13]: Amara, N.et al . (2019) .Activité Antimicrobienne de l'huile essentielle des fruits du *pistachier lentisque (pistacia lentiscus L.)* . *Revue Agro Biologia* ,vol. 2, No. 9.

[14]: Disponible sur <https://phytochimia.com> . Consulte le 15/04/2022.

[15]: Kanko ,C., Saweliho, B., Kone, S., Koukoua, G., N'Guessant ,YT. (2004) . Étude des propriétés physico-chimiques des huiles essentielles de *Lippia multiflora*, *Cymbopogon citratus*, *Cymbopogon nardus*, *Cymbopogon giganteus*. *Comptes rendus Chimie* ,7, 1039–1042.

[16]: Gacem, D., Cherif, D., Mekhtoui ,K . (1995). Evaluation de la qualité de l'huile d'olive à travers la wilaya de tizi-ouzou .Thèse de Magistère. P150.

[17]: Bekhti, N. (2020) . Caractérisation physico-chimiques des polyphenols et alcaloïdes utilisée en médecine. Université Bjillalia liabes . Thèse de DOCTORAT ,P192.

[18]: Bensalem,R. (2014) . l'huile de lentisque (*pistacia lentiscusL*) dans l'est algérien caractéristique physico-chimiques et composition en acides gras .Université Constantine .Mémoire de Magister,,P105.

[19]: Cliff, S., Harerimana, P.C. (2013) . Extraction de l'huile essentielle complète de fleurs De canange odorata de la plaine de *l'Imbo* : vers la vulgarisation d'une nouvelle filière de plantes industrielles au Burundi.Revue de l'université de Burundi .Série Sciences Exactes, Vol. 28, No. 1-17.

[20] : Novidzro, K. et al. (2019) . Etude de quelques paramètres physicochimiques et analyse des éléments minéraux, des pigments chlorophylliens et caroténoïdes de l'huile de graines de *Griffonia simplicifolia* . *nt. J. Biol. Chem. Sci*, vol.4, No. 1

[21]: Bruni U., Cortesi N., Fiorino P. (1994). « Influence des techniques culturales, des cultivars et des zones d'origine sur les caracteres de l'huile d'olive vierge et les niveaux de certains de ces composants (mineurs) ». *Rev.Oliva* , 53,28-34.

[22]: lipides déterminations des indices de saponification et indices d'acidité disponible sur le lien : <https://takween.com> . Consulté 29/05/2022.

[23]: SNIMA: Service de normalisation industrielle. (2003) . Corps gras d'origine animale et végétale- Huiles d'argan. Spécifications, Norme Marocaine NM 08.5.090. Rabat (Morocco)

[24]: Nouros P.G., Georgiou C.A., Polissiou M G., 1999. Direct parallel flow injection multichannel spectrophotometric determination of olive oil peroxide value. *Analytica Chimica Acta* ,389, 239-245.

[25]: Meziti,A., Mehri, I. (2019). Synthèse des dérivés de la Benzoazolinone potentiellement actif. Université 20 aout 1955- Skikda. Mémoire de Master,P 96.

[26]: Tahiri, O., Atmani,D., Atmani, D.(2016). Caractérisation de l'activité anti-bactérienne des extraits de *Pistacia Lentiscus* et de *Fraxinus Angustifolia*. Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Université A. MIRA de Bejaïa, p42-45.

[27]: Arif,T., Tahir , H. (2017). Etude de l'activité antibactérienne des extraits des feuilles de lentisque pistachier (*Pistacia lentiscus*). Univerité Akli Mohaned Oulhadj – Bouira. Mémoire fin d'étude Master, P27.

[28]: Haied, N. et al. (2015). Chemical composition and antibacterial activity of the needles essential oil of *Pinus halepensis* Mill. from north east of Algeria. *Rev. Sci. Technol., Synthèse*, 30 , 33-39.

[29]: Benhammou, N., Bekkara, F. (2009). Activité antibactérienne de l'huile essentielle de *Pistacia lentiscus* L. de deux stations de la région de Tlemcen (Algérie). *ResearchGate*, 281-285.

[30]: Midani, M. (2018). Caractérisation biochimique des feuilles de *Pistacia Lentiscus*. Université Abdelhamid Ibn Badis – Mostaganem. Mémoire fin d'étude Mster, P 55-56.

[31]: Essawi, T., Srour, M. (2000). Screening of some Palestinian medicinal plants for antibacterial activity. *Journal of Ethnopharmacology*, 70, PP. 343–349.

[32]: Amara, N., Benrima, A., Anba, C., Belkhir, H. (2019) . Activité antimicrobienne de l'huile essentielle des fruits du Pistachier Lentisque (*PISTACIA LENTISCUS* L.). *Revue Agrobiologia* , 9, 1669-1676.

Conclusion générale

Conclusion générale

L'objectif principal de notre travail dans ce mémoire est de faire une étude phytochimique et une évaluation biologique des extraits organiques et de l'huile essentielle d'une plante algérienne, *Pistacia lentiscus* L. poussant à l'état spontanée de la région de Skikda.

L'extraction des molécules bioactives par Soxhlet à partir des feuilles de *Pistacia lentiscus* en réalisant des extractions successives avec des solvants de polarité croissante (dichlorométhane, acétate d'éthyle et méthanol), permet d'obtenir des extraits avec des rendements différents selon le solvant utilisé.

Les résultats obtenus montrent que le rendement de l'extrait dichlorométhane est supérieur à celui de l'extrait méthanolique, suivi de l'extrait acétate d'éthyle.

La caractérisation phytochimique des principales classes du métabolisme secondaire indique la présence en abondance chez *Pistacia lentiscus* des flavonoïdes, tanins catéchiques, tanins galliques, composés phénoliques, glycoside cardiaque et composés réducteurs. Ces caractérisations montrent aussi l'absence d'alcaloïdes, des quinones, des saponines et des coumarines dans les extraits des feuilles de *Pistacia lentiscus*.

Le dosage des polyphénols totaux a été réalisé par le réactif de Folin-Ciocalteu, la quantification des flavonoïdes par le procédé au trichlorure d'aluminium et hydroxyde de sodium, et celle des tanins condensés par la méthode à la vanilline sous conditions acides.

Les résultats ont montré que la concentration la plus élevée de phénols totaux (99,70 µg AGE/mg) a été observée dans l'extrait méthanolique. Pour les flavonoïdes, la teneur la plus élevée (2,452 mg EC/g) a été enregistrée dans l'extrait d'acétate d'éthyle. Tandis que le dosage des tanins révèle que l'extrait d'acétate d'éthyle renferme les plus importantes teneurs en tanins condensés, avec une valeur de 305µgECT/mg de l'extrait. Avec comparaison de la teneur des polyphénols, des flavonoïdes et des tanins des extraits de *Pistacia lentiscus*, on constate qu'il y a une forte teneur en flavonoïdes et tanins dans l'extrait d'acétate d'éthyle.

L'extraction des huiles essentielles par l'hydrodistillation a donné un rendement de 0,14 % pour les feuilles fraîches de *Pistacia lentiscus* L.

La détermination des propriétés physiques (densité, pouvoir rotatoire, miscibilité, réfraction) et des propriétés chimiques (indice de peroxyde, d'ester, d'acide et de saponification) de notre huile révèle que nos valeurs sont proches de certains travaux antérieurs alors que certains ne sont pas conformes aux normes AFNOR, on cite notamment l'indice de peroxyde et d'acide.

Conclusion générale

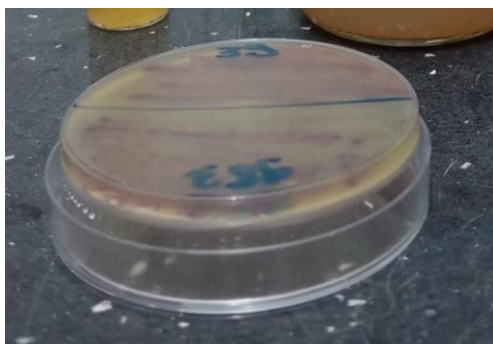
L'évaluation de l'activité anti-microbienne des extraits et d'huile essentielle des feuilles de *Pistacia lentiscus* a été réalisée sur une souche bactérienne (*Escherichia coli* ATCC 25922) et une souche fongique (*Candida albicans*) par la méthode de diffusion en milieu gélosé Mueller-Hinton.

Les résultats obtenus ont montré une sensibilité de l'extrait d'acétate d'éthyle sur les deux souches testées avec de diamètres d'inhibition de: 11,5 mm pour les deux souches (*Escherichia coli* et *Candida albicans*), tandis que l'extrait dichlorométhane a montré une bonne activité inhibitrice vis-à-vis de la souche fongique, *Candida albicans*, avec un diamètre de zone d'inhibition de 12 mm. L'étude de l'activité antibactérienne de l'extrait méthanolique contre la souche bactérienne et fongique (*E. coli* et *C. albicans*) a révélé une faible inhibition de la croissance de ces souches testées avec des diamètres 10,5mm et 9,5 mm contre *E. coli* et *C. albicans* respectivement.

Par ailleurs, Les résultats de l'aromatogramme ont démontrés que l'huile essentielle de *Pistacia lentiscus* présente un important pouvoir inhibiteur contre *Escherichia coli* ATCC 25922 et *Candida albicans*.

Annexes

Annexe 01 : Colonies de l'*Escherichia coli*



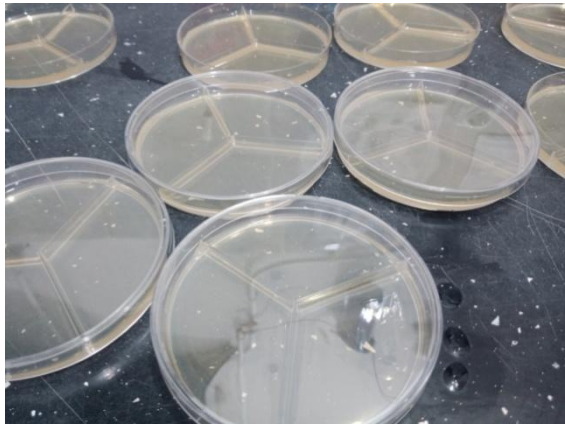
Annexe 02 : Colonies de *Candida albicans*



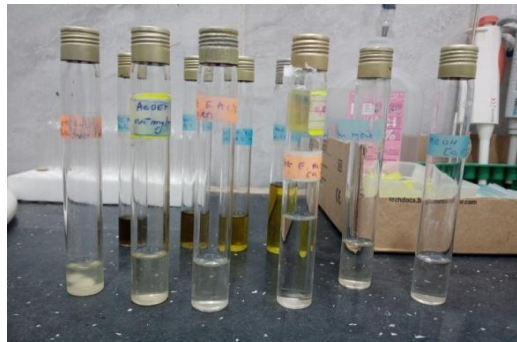
Annexe 03 : Gélose Mueller Hinton (MH).



Annexe 04 : boites de pétrie



Annexe 05 : Tubes des produits a testes



Annexe 06 : L'incubation des boites dans l'étuve.



Résumé :

Pistacia Lentiscus L. est une plante aromathérapie médicinale utilisée en médecine traditionnelle, surtout en Algérie, elle est utilisée pour traiter plusieurs maladies, comme : l'asthme, l'eczéma, la diarrhée...

L'objectif principal de ce travail est de contribuer à l'étude phytochimique de *Pistacia lentiscus* à travers la recherche de quelques molécules actives et la quantification des phénols et des flavonoïdes dans les extraits de feuilles de *Pistacia Lentiscus* L, ainsi que l'évaluation des paramètres physicochimiques de l'huile essentielle extraite des feuilles fraîches de la plante par hydrodistillation et ses activités antimicrobiennes.

L'analyse phytochimique montre que les feuilles de *Pistacia lentiscus* sont riches en flavonoïdes, glycosides, tanins, huile essentielle, stérols et tri-terpènes.

La quantification des polyphénols totaux par la méthode de Folin-Ciocalteu a donné la concentration la plus élevée avec l'extrait d'E-MeOH à 99,70 ($\mu\text{gAGE}/\text{mg}$) d'extrait, tandis que le dosage des flavonoïdes par la méthode d' AlCl_3 a montré que l'extrait E-AcOEt contient la teneur la plus élevée de : 198,76 ($\mu\text{gEQ}/\text{mg}$) d'extrait. Concernant l'analyse quantitative des tanins des extraits des feuilles de la plante, les résultats ont montré que l'extrait d'E-AcOEt a donné la valeur la plus élevée de 305 $\mu\text{g}/\text{mg}$. Cela indique que la plante est plus riche en composés phénoliques.

L'extraction des huiles essentielles effectuées par hydrodistillation, nous a permis d'obtenir un rendement de 0,14 %.

Les propriétés physico-chimiques d'huile essentielle ont été déterminées, dont les plus importantes sont : la densité relative de 0,86588 à 20 °C, l'indice de réfraction de 1,6500, l'indice d'acidité de 16,83, l'indice d'aster de 72,93, l'indice de saponification de 98,93 et l'indice de peroxyde de 28.

L'activité antimicrobienne des extraits et de l'huile essentielle des feuilles de *Pistacia Lentiscus* L a été évaluée contre deux souches l'*E.coli* et la levure de *C.Albicans*.

L'évaluation de l'activité antimicrobienne des extraits de *pistacia lentiscus* a montré une bonne activité contre les bactéries Gram-négatives (*E. coli*) et les levures *C.Albicans*, où les deux souches ont montré une grande sensibilité à l'extrait d'acétate par rapport au reste des extraits avec un diamètre d'inhibition de 11,5 mm pour les deux souches, alors que l'extrait dichlorométhane a révélé une importante inhibition de la croissance de *C.Albicans*, traduite par la formation d'un diamètre d'une zone d'inhibition de (12 mm).

Les résultats ont également montré une forte activité de l'huile essentielle contre la bactérie *E.Coli* et la levure *C.Albicans* avec des diamètres de zones d'inhibition de 25,5 mm et 16,5 mm respectivement à une concentration de 40 $\mu\text{l}/\text{disque}$.

Les mots clés :

Pistacia Lentiscus, les huiles essentielles, les polyphénols, les flavonoïdes, les tanins, les propriétés physico-chimiques, l'antimicrobiens.

Abstract

Pistacia Lentiscus is a medicinal aromatherapy plant used in traditional medicine especially in Algeria, where it is used to treat several diseases: asthma, eczema, diarrhea...

The main objective of this work is to contribute to the phytochemical study of *Pistacia lentiscus* through the search for some active molecules and the quantification of phenols, flavonoids and tannins in the extracts of leaves of *Pistacia Lentiscus* L, as well as the evaluation of the parameters physicochemical properties of the essential oil extracted from the fresh leaves of the plant by hydrodistillation and evaluation its antimicrobial activities.

Phytochemical analysis shows that the leaves of *Pistacia lentiscus* are rich in flavonoids, glycosides, tannins, essential, sterols and tri-terpenes.

The quantification of total polyphenols by the Folin-Ciocalteu method gave the highest concentration with the E-MeOH extract (99.70 µgAGE/mg of extract) , while the determination of flavonoids by the method of AlCl₃ showed that the E-AcOEt extract contains the highest content of flavonoids (198.76 µgEQ/mg of extract). With regard to the quantitative determination of the tannins levels in plant extracts, the results showed that the ethyl acetate extract of leaves contained the highest content of phenols (305µg/mg). This indicates that the plant is richer in phenolic compounds

The extraction of essential oils carried out by hydrodistillation, allowed us to obtain a yield of 0.14%.

The physiochemical proprieties of essential oil were determinate, the most important of which are: relative density 0.86588 at 20 C°, refractive index 1.6500, acidity index was 16.83, ester index e 72.93, saponification index 98.93 and peroxide index 28.

The antimicrobial activity of extracts and essential oil from the leaves of *Pistacia Lentiscus* L was evaluated against two strains, *E.coli* and *C.Albicans*. The evaluation of antimicrobial activity of *pistacia lentiscus* extracts showed a good effectiveness against Gram-negative bacteria (*E. coli*) and *C. Albicans*, where both strains showed high sensitivity to ethyl acetate extract compared to the rest of the extracts with an inhibition diameter of 11.5 mm for the two strains, while the dichloromethane extract revealed a significant inhibition of the growth of *C.Albicans*, translated by the formation of a diameter of an inhibition zone of (12 mm).

The results also showed strong activity of the essential oil against *E.Coli* bacteria and *C.Albicans* yeast with inhibition zone diameters of 25.5 mm and 16.5 mm respectively at a concentration of 40 µl. /disk.

The results also showed strong activity of essential oil against *E.coli* and *C.Albicans* with inhibition zones of: 25.5mm and 16.5 mm respectively at the concentration 40 uL/disk.

Keywords:

Pistacia Lentiscus, essentials oils, polyphenol, flavonoid, tannins, physicals and chemicals proprieties, antimicrobial.

الملخص

يعتبر نبات الضرو (*Pistacia Lentiscus L.*) من النباتات العطرية الطبية المستعملة في الطب التقليدي خاصة في الجزائر، حيث يتم استعماله من أجل علاج عدة أمراض منها: الربو، الاكزيما، الإسهال...

الهدف الرئيسي من هذا العمل هو المساهمة في الدراسة الكيميائية النباتية لنبات *Pistacia lentiscus* من خلال البحث عن بعض الجزئيات النشطة وتقدير الفينولات، الفلافونويدات و العفصيات في مستخلصات أوراق *Pistacia Lentiscus L.* ، وكذلك تقييم المعايير الفيزيو - الكيميائية من الزيت العطري المستخرج من اوراق نبات الضرو عن طريق التقطير بالبخار وتحديد أنشطتهم المضادة للميكروبات.

يُظهر التحليل الكيميائي النباتي أن أوراق نبات الضرو غني بالفلافونويدات، الجليكوسيدات، العفص، الزيت الأساسي، الستيروول وثلاثي التربينات.

أعطى القياس الكمي لمجموع البوليفينول بطريقة Folin-Ciocalteu أعلى تركيز مع مستخلص E-MeOH عند قيمة تقدر بـ 99.70 (ميكروغرام / ملغ) من المستخلص ، بينما بينت معايرة الفلافونويد بطريقة $AlCl_3$ أن المستخلص E-AcOEt يحتوي على أعلى محتوى: 198.76 ميكروغرام. أما فيما يخص التحليل الكمي للعفص للمستخلصات أوراق نبات الضرو فقد بينت النتائج أن مستخلص E-AcOEt أعطى أعلى تركيز تقدر بـ 305 ميكروغرام / ملغ. هذا يدل على أن النبات أغنى بالمركبات الفينولية.

استخلاص الزيوت العطرية عن طريق التقطير المائي سمح لنا بالحصول على عائد 0,14 %

تم تحديد الخصائص الفيزيائية والكيميائية للزيت الأساسي أهمها: الكثافة النسبية 0.86588 عند درجة 20 م° ، مؤشر الانكسار 1.6500 ، مؤشر الحموضة يقدر بـ 16.83 ، مؤشر الأستر يساوي 72.93 ، مؤشر التصبن يساوي 98.93 و مؤشر البيروكسيد يقدر بـ 28.

تم تقييم النشاط المضاد للميكروبات لكل من مستخلصات و الزيت الأساسي لأوراق نبات *Pistacia Lentiscus L* ضد سلالتين *E. Coli* و خميرة *C. Albicans*

أظهر تقييم النشاط المضاد للميكروبات لمستخلصات *Pistacia lentiscus* فعالية جيدة ضد البكتيريا سالبة الجرام (*E. coli*) وخمائر *C. Albicans* ، حيث أظهرت كلتا السلالتين حساسية عالية للمستخلص بقطر تثبيط قدره 11.5 مم للسلالتين ، بينما كشف مستخلص ثنائي كلورو ميثان عن تثبيط كبير لنمو *C. Albicans* ، يترجم بتكوين قطر منطقة تثبيط (12 مم).

كما بينت النتائج أيضا نشاطية عالية للزيت الأساسي ضد البكتيريا *E. Coli* و خميرة *C. Albicans* مع أقطار مناطق تثبيط تقدر بـ 25,5 مم و 16,5 مم على التوالي عند تركيز 40 ميكرو لتر / قرص.

الكلمات المفتاحية :

، الزيوت الأساسية، *Pistacia Lentiscus* ، متعدد الفينولات، فلافونويدات، عفص، الخصائص الفيزيائية والكيميائية ، مضاد للميكروبات.

Présenté par :

Alidra Chaima
Bouchemal Nour El Houda

Extraction, Caractérisation physico-chimiques et analyses biologiques de l'huile essentielle extraite des Feuilles de *Pistacia lentiscus* L.

Résumé :

Pistacia Lentiscus L. est une plante aromathérapie médicinale utilisée en médecine traditionnelle, surtout en Algérie, elle est utilisée pour traiter plusieurs maladies, comme : l'asthme, l'eczéma, la diarrhée...

L'objectif principal de ce travail est de contribuer à l'étude phytochimique de *Pistacia lentiscus* à travers la recherche de quelques molécules actives et la quantification des phénols et des flavonoïdes dans les extraits de feuilles de *Pistacia Lentiscus* L., ainsi que l'évaluation des paramètres physicochimiques de l'huile essentielle extraite des feuilles fraîches de la plante par hydrodistillation et ses activités antimicrobiennes.

L'analyse phytochimique montre que les feuilles de *Pistacia lentiscus* sont riches en flavonoïdes, glycosides, tanins, huile essentielle, stérols et tri-terpènes.

La quantification des polyphénols totaux par la méthode de Folin-Ciocalteu a donné la concentration la plus élevée avec l'extrait d'E-MeOH à 99,70 ($\mu\text{gAGE/mg}$) d'extrait, tandis que le dosage des flavonoïdes par la méthode d' AlCl_3 a montré que l'extrait E-AcOEt contient la teneur la plus élevée de : 198,76 ($\mu\text{gEQ/mg}$) d'extrait. Concernant l'analyse quantitative des tanins des extraits des feuilles de la plante, les résultats ont montré que l'extrait d'E-AcOEt a donné la valeur la plus élevée de 305 $\mu\text{g/mg}$. Cela indique que la plante est plus riche en composés phénoliques.

L'extraction des huiles essentielles effectuées par hydrodistillation, nous a permis d'obtenir un rendement de 0,14 %.

Les propriétés physico-chimiques d'huile essentielle ont été déterminées, dont les plus importantes sont : la densité relative de 0,86588 à 20 °C, l'indice de réfraction de 1,6500, l'indice d'acidité de 16,83, l'indice d'aster de 72,93, l'indice de saponification de 98,93 et l'indice de peroxyde de 28.

L'activité antimicrobienne des extraits et de l'huile essentielle des feuilles de *Pistacia Lentiscus* L a été évaluée contre deux souches *E.coli* et la levure de *C.Albicans*.

L'évaluation de l'activité antimicrobienne des extraits de *pistacia lentiscus* a montré une bonne activité contre les bactéries Gram-négatives (*E. coli*) et les levures *C.Albicans*, où les deux souches ont montré une grande sensibilité à l'extrait d'acétate par rapport au reste des extraits avec un diamètre d'inhibition de 11,5 mm pour les deux souches, alors que l'extrait dichlorométhane a révélé une importante inhibition de la croissance de *C.Albicans*, traduite par la formation d'un diamètre d'une zone d'inhibition de (12 mm).

Les résultats ont également montré une forte activité de l'huile essentielle contre la bactérie *E.Coli* et la levure *C.Albicans* avec des diamètres de zones d'inhibition de 25,5 mm et 16,5 mm respectivement à une concentration de 40 $\mu\text{l}/\text{disque}$.

Les mots clés :

Pistacia Lentiscus, les huiles essentielles, les polyphénols, les flavonoïdes, les tanins, les propriétés physico-chimiques, l'antimicrobiens.

Encadreur : BELFADEL F. Zahra

