

République Algérienne Démocratique Et Populaire
Ministère De L'enseignement Supérieur Et De La Recherche Scienti-
fique
Université Du 20 Août 1955 – Skikda



Faculté Des Sciences

Département De Chimie

Mémoire De Master

Filière : Chimie - Spécialité : Chimie pharmaceutique.

Présenté Par :

Zahi Fadila

Thème
Caractérisation phytochimique et biologique de
pistacia lentiscus L

Soutenu le : 26 / 06 / 2024

Devant Le Jury :

Dr. BENACHOUR Naima	MCB	Univ.De Skikdq	Présidente
Dr. BOUDERMINE Sihem	MCA	Univ.De Skikdq	Encadreur
Dr. CHABANE Hanane	MCB	Univ.De Skikdq	Examinatrice

Année Universitaire : 2023/2024

Remerciement

Au terme de ce modeste travail, nous tenons à exprimer notre profonde gratitude et nos vifs remerciements : Avant tout, à notre créateur « **Allah** » pour nous avoir donné la force et la patience pour mener à terme ce travail.

- ✓ A notre **encadreur : Dr Boudermine .S enseignante** à l'université 20 Aout 1955-Skikda, accepté de me guidé et constamment assisté à réaliser ce travail.
- ✓ A **Dr. N.Benachour** Chef du Département de Chimie à l'université 20 Août 1955-Skikda .
- ✓ A **Dr. Mahmoudi .A** chef de parcours de chimie pharmaceutique .
- ✓ A **Dr. Chaabane .H enseignante** à l'université 20 Aout 1955-Skikda qui est une examinatrice dans le mémoire de fin d'études.
- ✓ A **Dr.Becheker .I** enseignantes au département de biologie , pour leur aide dans le domaine de la biologie .
- ✓ A tous les enseignants du département de chimie pour leurs soutiens techniques et pédagogiques.
- ✓ A tous ceux qui m'ont aidé a mener la formation pratique en particulier tous qui travaille a laboratoire de chimie et de micro biologie et tous les cadre étude sont réalisés au niveau des laboratoires de microbiologie situés au niveau du hall technologique de l'université du 20 aout 1955 de Skikda. et à toute personne ayant participé de près ou de loin a l'aboutissement de ce travail.



Dédicace

*Pour que ma réussite soit complète, je la partage
Avec les gens qui j'aime, je dédie ce modeste
travail qui est le fruit de nos efforts :*

*A mes très chers parents: mon père et ma mère, que
dieu ait pitié d'eux qui était ma force dans la vie.*

A mon mari Abdallah et mes enfants

ABDELAZIZE ET NOR ELHOUDA.

A mon frères Salah et sa femme et ses enfants surtout Ahlem.

A ma sœurs Hafida et son mari et ses enfants.

*Sans oublie mes amies, et mes collègues et à tous
les enseignants de ma carrière universitaire
et tous les gens qui je les connais de près ou de loin...*

Fadila

Sommaire

	page
Liste des abréviations	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
Introduction	01
Chapitre I : Synthèse bibliographique	
I. <i>Pistacia lentiscus</i> L.,1753	04
I.1. Généralités	04
I.2. Répartition géographique	04
I.3. Description botanique	05
I.4. Taxonomie	07
I.5. Noms vernaculaires	08
I. 6. Etude chimique de l'espèce <i>Pistacia lentiscus</i>	08
I.6.1. Les feuilles	08
I.6.2. Les fruits	08
I.6.3.Résine	10
I.6.4. Composition chimique de l'huile de <i>Pistacia lentiscus</i> L	10
I.7. Effet thérapeutique des biomolécules de <i>Pistacia lentiscus</i>	14
I.8. Activités biologiques de <i>Pistacia lentiscus</i>	15
I.9. Autres utilisations	15
I.10. Données toxicologiques de <i>Pistacia lentiscus</i>	15
I.11 .Les métabolites secondaires	15
I. 12.Les composés phénoliques	16
I .12.1.Les acides phénoliques	16
I.13.Les flavonoïdes	16
I.14.Les tanins	16
I.14.1.Les tanins hydrolysables	17
I.14.2. Les tanins condensés	17
I.15.Les coumarines	18
I.16.Les anthocyanes	18
I.17.Les composés azotés (les alcaloïdes) les trois classes d'alcaloïdes	18
I.17.1.Alcaloïdes vrais	18
I.17.2.Pseudo-alcaloïdes	19
I.17.3.Proto-alcaloïdes	19
I.18.Les terpénoïdes (isoprénoïdes)	19

Chapitre II : Matériel Et Méthodes	
II.1.Lieu et période de travail	21
II .2.Matériels	21
II.2.1.Matériel technique	21
II.2.2. Matériel végétal	21
II.2.3.Matériel biologique	22
II.3.Les méthodes de travail	22
II.3.1.Extraction	22
II.3.1.1.Extraction solide-liquide	22
II.3.1.2.Méthode d'extraction des plantes Pistacia lentiscus L.	23
II.3.1.3. Méthode d'extraction de l'huile végétale de Pistacia lentiscus L.	25
II.3.1.4.Méthode D'extraction De L'huile Végétale De Pistacia Lentiscus L.	27
II.3.1.5. caractéristiques physicochimiques	27
II.3.1.6.Mesure du pH	27
II.4.Etude phytochimique d'une plante (pistacia lentiscus L)	28
II.4.1. Screening phytochimique (ou étude qualitative des substances extraites)	28
II.4.2.extraction à l'eau chaude	28
II.4.3-extraction par solvant	29
II.4.4. Déterminer le pourcentage d'eau dans la plante	31
II.5. Evaluation de l'activité antimicrobienne	31
II.5.1. Activité antibacterienne	31
II.5.1.1. Revivification des bactéries	31
II.5.1.2. Aromatogramme	32
II.5.2. Activité Antifongique	34
II.5.2.1. Préparation des milieux de culture	34
II.5.2.2.Méthode de contact direct	35
Chapitre III : Résultats Et Discussion	
III.3.1.4.Le Rendement	39
III.3.1.5. Caractéristiques Physicochimiques	40
III.3.1.6. Résultats Du pH	40
III.4. Etude phytochimique d'une plante (<i>Pistacia Lentiscus L</i>)	41
III.4.1. Résultat de screening Phytochimique de Pistacia Lentiscus L	41
III.4.4. Le pourcentage d'eau dans la plante	44
III. 5. Evaluation de l'activité antimicrobienne	44
III.5.1. Résultats de l'activité antibactérienne	44
III.5.2. Résultats de l'activité antifongique	56
Conclusion	
Annexe	
Références bibliographiques	
Résumé	

Liste des abréviations

H V	Huile végétale
P.L	<i>Pistacia lebtuscus</i>
E-coli	<i>Echirichia-coli.</i>
KP	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
SA	<i>Staphylococcus aureus</i>
SGd	Streptocoque du groupe (d)
mm	Milimètre
ml	Milliliter
PDA	potato dextrose agar
g	Gramme
mn	Minute
%	Pourcentage
µl	Microlitre
C°	Degrés celsius
Hex (C₆H₁₄)	Hexane
Chlo (CHCl₃)	Chloroform
Met (CH₃OH)	Methanol
Ethe de p	Ether de petrol
ext	Extrait
R	Rendement
%	percentage
m	masse
TRE	le pourcentage d'eau dans la plante.
HV1	Huile végétale extraite de fruits immatures
HV2	Huile végétale extraite l'année dernière
HV3	Huile végétale extraite de fruits mûrs
pH	Potentiel d'hydrogène
S_m	Solution mere
svl	Solvant

Listes des figures

Figure	Titres	Page
1	Arbuste de <i>P. lentiscus</i> (L.)	4
2	Distribution géographique de <i>Pistacia</i>	5
3	Répartition de <i>Pistacia Lentiscus</i> autour du bassin Méditerranéen	5
4	Différentes parties de plante <i>Pistacia lentiscus</i>	6
5	Structures chimiques des anthocyanes de fruits de <i>Pistacia lentiscus</i>	9
6	Structures chimiques des polyphénols de fruits de <i>Pistacia lentiscus</i> L.	9
7	Structure de base des flavonoïdes	16
8	structure de l'acide gallique (A) et ellagique (B)	17
9	Structure des tanins condensés	17
10	Structure de base des coumarines	18
11	Structure de base des anthocyanes	18
12	Exemples des classes des alcaloïdes	19
13	Structure de la molécule d'isoprène	19
14	Carte géographique de la région de Beni-zid	21
15	broyer des parties aériennes de <i>pistacia lentiscus</i> L	22
16	Les étapes d'extraction de la plantes <i>pistacia lentiscus</i> L	24
17	les étapes d'extraction par macération par solvant	25
18	Étapes d'extraction des huiles végétale par la méthode traditionnelle	26
19	La gamme de couleur selon le pH	27
20	4 extrait par solvant (hexane , chloroforme ,chloro/metha,methanol)	29
21	Les étapes de revivification des bactéries	31
22	Methode de disque	33
23	Methode de spot	34
24	Schéma démontrant les étapes de préparation d'un milieu (PDA).	35
25	Les principales étapes illustrant l'activité antifongique	36
26	Schéma représentant les principales démarches expérimentales de notre travail	37
27	Resultat de pH	40
28	Activité antibactérienne des extraits de <i>Pistacia lentiscus</i> et de l'Huile Végétale contre différentes souches bactériennes	46
29	Activité antibactérienne de l'extrait hexanique des Feuilles de <i>Pistacia lentiscus</i> à diverses concentrations contre différentes souches bactériennes	48
30	Activité antibactérienne de l'extrait chloroformique des feuilles de <i>Pistacia lentiscus</i> à diverses concentrations contre différentes souches bactériennes	49
31	Activité antibactérienne de l'extrait chloroformique/méthanolique des feuilles de <i>Pistacia lentiscus</i> à diverses concentrations contre différentes souches bactériennes	50
32	Activité Antibactérienne de l'extrait méthanolique des feuilles de <i>Pistacia lentiscus</i> à diverses concentrations contre différentes souches bactériennes	51
33	Effet antibactérien d'un extrait brut de Huil v (1 mg/ml) et dilution sur différentes souches bactériennes	52
34	Efficacité de divers agents antimicrobiens sur différentes souches bactériennes	55

Liste des tableaux

N°	Titre du tableau	page
1	Description botanique des différentes parties de la plante	6
2	Classification botanique du <i>Pistacia Lentiscus</i>	7
3	Noms communs de <i>Pistacia lentiscus</i>	8
4	Composition en acides gras de l'huile de fruits de <i>Pistacia lentiscus</i>	10
5	Les vertus thérapeutiques des parties de <i>Pistacia Lentiscus</i>	14
6	les micro organisme testes	22
7	Degré de sensibilité des souches microbiennes selon le diamètre de la zone d'inhibition.	34
8	Le rendement d'extraction	39
9	Résultats des tests phytochimiques de <i>pistacia</i> par solution aqueux	41
10	Résultats des tests microchimiques de <i>pistacia</i> par solvant	42
11	Teneur en eau de <i>Pistacia lentiscus</i>	44
12	Zones d'Inhibition (en mm) des Extraits de <i>Pistacia lentiscus</i> et de leurs Solvants contre différentes souches bactériennes	46
13	Activité antibactérienne de l'extrait hexanique de <i>Pistacia lentiscus</i> (Ext Exa) contre différentes souches bactériennes	48
14	Activité Antibactérienne de l'extrait chloroformique de <i>Pistacia lentiscus</i> (Ext Exa) contre différentes souches bactériennes	49
15	Activité Antibactérienne de l'extrait chloroformique /méthanolique de <i>Pistacia lentiscus</i> (Ext Exa) contre différentes souches bactériennes	50
16	Activité Antibactérienne de l'extrait chloroformique /méthanolique de <i>Pistacia lentiscus</i> (Ext Exa) contre différentes souches bactériennes	51
17	Activité Antibactérienne de l'extrait brut de Huil v (1 mg/ml) et dilution sur différentes souches bactériennes	52
18	Efficacité de divers agents antimicrobiens sur différentes souches bactériennes	54
19	Résultat de l'activité antifongique	57
20	Activité antifongique des différents extraits	59

Introduction

Introduction

La nature, créée par dieu le tout-puissant, a été mise à la disposition de l'homme, offrant des remèdes pour ses maux et maladies. Depuis toujours, l'humanité s'est tournée vers elle pour y trouver stabilité et guérison de nombreuses maladies au fil du temps.

Les plantes médicinales sont une source essentielle pour la santé humaine. De nombreuses cultures traditionnelles continuent de valoriser les remèdes à base de plantes médicinales, qui sont la principale source de médicaments d'origine végétale, utilisés pour préparer des extraits, des substances actives ou des matières premières nécessaires à la production de certains composés chimiques.

L'utilisation des herbes médicinales remonte à environ 6000 ans, les anciens égyptiens étant parmi les premiers à s'intéresser aux plantes médicinales.

Cependant, avec la découverte et l'usage intensif des antibiotiques au siècle dernier, l'utilisation des plantes médicinales a diminué.

Mais face aux effets secondaires des substances chimiques, les plantes médicinales ont regagné en importance comme source principale de médicaments. C'est pourquoi, depuis quelques années, les compagnies pharmaceutiques se consacrent à la recherche de substances naturelles et de composés actifs extraits des plantes, cherchant à déterminer leurs composants, leurs structures moléculaires et à mesurer leur efficacité pour produire de nouveaux médicaments. Parmi ces composés, résultant du métabolisme secondaire, se trouvent les composés phénoliques, largement utilisés en traitement comme antioxydants pour combattre les espèces réactives de l'oxygène produites dans le corps lors du métabolisme normal ou en cas de blessure, et qui sont à l'origine de nombreuses maladies chroniques et graves telles que le cancer, les maladies cardiovasculaires.

Notre étude vise à enrichir la liste des plantes médicinales en Algérie, à identifier et à valoriser les composés actifs et biologiquement actifs pour une éventuelle utilisation dans la fabrication de médicaments. Pour donner une touche pratique à notre recherche, nous avons choisi de présenter certaines plantes médicinales présentes dans notre nature algérienne et répandues dans divers lieux et espaces.

De nombreuses plantes et herbes médicinales et leurs bienfaits thérapeutiques ont été mentionnés dans divers articles, comme par exemple le *pistachier lentisque*, une plante de grande valeur économique pour ses nombreuses et importantes utilisations en médecine alternative.

- Nous avons structuré le manuscrit en trois chapitre :
 - Chapitre I : est consacré à une recherche bibliographique et généralité sur les métabolites secondaire
 - Chapitre II: consiste l'ensemble des techniques expérimentales employées dans le cadre de cette étude ainsi que les conditions expérimentales adoptées.
 - Chapitre III: les résultats expérimentaux et l'interprétation et les discussions.
- Notre travail et terminée par une conclusion et référence bibliographique

CHAPITRE I

Synthèse bibliographique

I- *Pistacia lentiscus* L.,1753

I.1. Généralités

Pistacia lentiscus L est un arbuste de genres des pistachiers, il appartient à la famille des *Anacardiaceae* qui comprend plus de 600 espèces et environ 70 genres différents (Landau et al., 2014), c'est un originaire du bassin méditerranéen, le lentisque pousse à l'état sauvage dans la garrigue et sur les sols en friche.

Le lentisque, ou pistachier lentisque, est un arbuste ou arbrisseau du genre *pistacia* à feuilles composées pennées ou trifoliolées, généralement alternes, le *lentisque* est également appelé arbre à mastic en référence à la résine appelée mastic qui coule des troncs et branches de la plante (figure 1).

Pistachier lentisque est connu sous l'appellation de : darou, *dherouou* drou en Arabe local, *lentisque* est arbre au mastic en Français et *lentisken* Anglais (Bensalem G ,2014).



Figure 1 : Arbuste de *P. lentiscus* (L.)

I.2.Répartition géographique :

Pistacia lentiscus L. se trouve couramment en sites arides, asie et région méditerranéenne de l'europe et d'afrique, jusqu'aux canaries (Bellakhdar, 2003).

L'aire de répartition de genre de Pistacia est illustrée dans la figure ci-dessous :

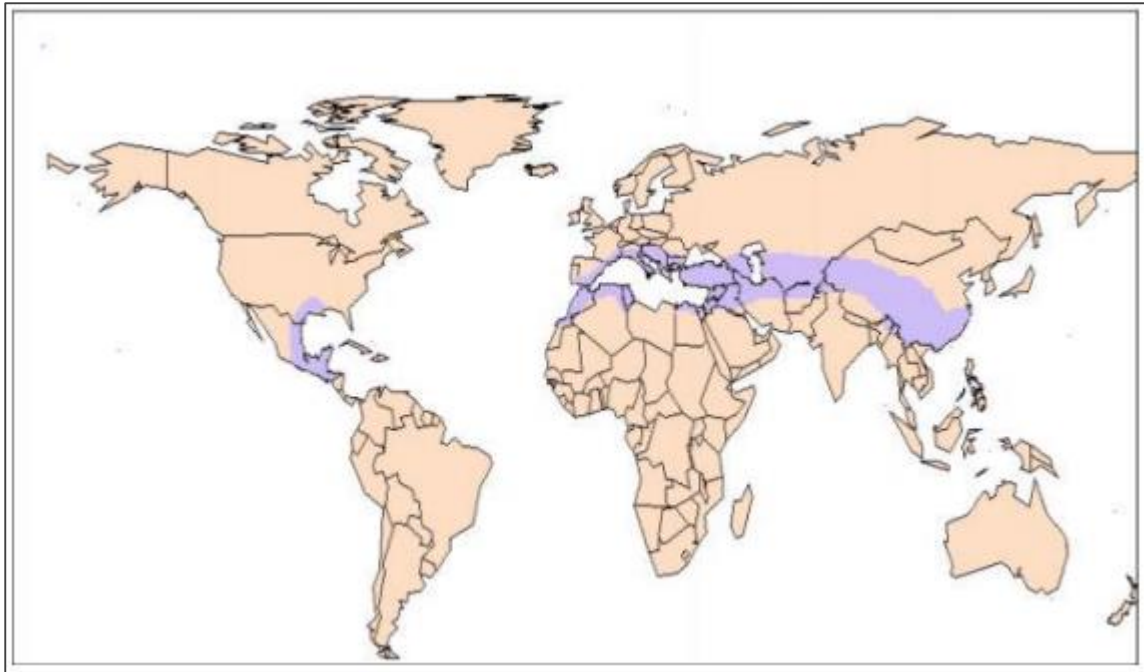


Figure 2. Distribution géographique de *Pistacia* (Belfadel, 2009).

Le *pistachier* se disperse sur tout le tell algérien et tunisien, et existe avec densité dans les zones forestières et champêtres fraîches. Le *lentisque* préfère une ambiance climatique subhumide, semi-aride et chaude (Djedaia, 2017).

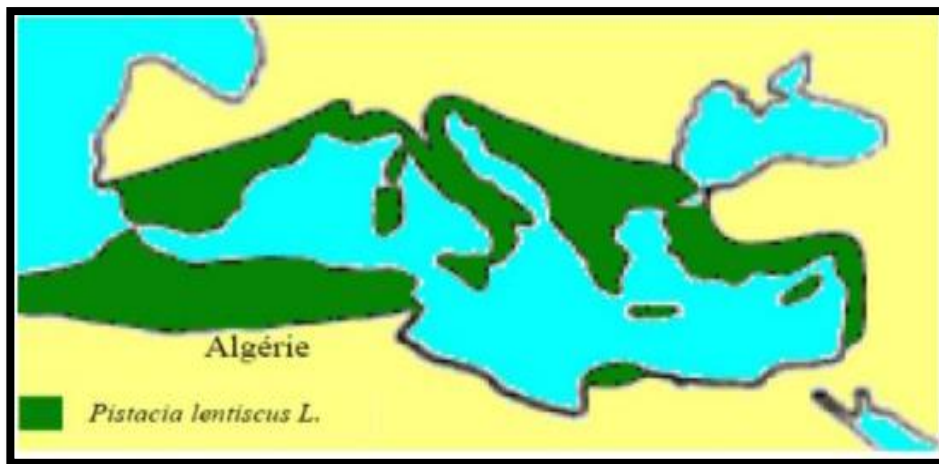


Figure 3. Répartition de *Pistacia Lentiscus* autour du bassin méditerranéen (Seigue, 1985)

I.3.Description botanique

La description botanique des différentes parties de la plante est décrite dans la Figure 4 et le Tableau 1 .



Figure 4 : Différentes parties de plante *Pistacia lentiscus*

Tableau 1 : Description botanique des différentes parties de la plante.

Les racines	Longues racines pivotantes qui pénètrent profondément dans le sol afin de puiser l'eau nécessaire à la plante, ce qui permet sa croissance tout en gardant son feuillage vert foncé même durant la sécheresse.	(Quézel et Medail , 2003).
Ecorce et tronc	L'écorce de <i>Pistacia</i> est rougeâtre sur les jeunes branches, et deviennent gris quand l'arbre vieillit.	(Abdeldjelil , 2016).
Les branches	Tortueuses et pressées, qui forment une masse serrée.	(Bougherara , 2015).
Les feuilles	Feuilles alternes, persistantes, toujours paripennées, à 3-5 paires de folioles elliptiques, obtuses, mucronulées, coriaces, vert foncé sur la face supérieure, vert clair en dessous, à limbe décurrent . Le pétiole est étroitement ailé	(Lemaistre, 1959)

Les fleurs	Unisexuées d'environ 3 mm de large se présentent sous forme de grappe, et très aromatiques, forment des racèmes de petite taille à l'aisselle des feuilles. Les fleurs femelles sont vert jaunâtre et les fleurs males sont rouge foncé, la période de floraison a lieu de mars à mai.	(Harrat , 2020 ; Aissi et al., 2016)
Les fruits	La période de fructification a eu lieu au milieu et à la fin de l'été (Juillet-Août) et la maturation des fruits est achevé en automne (Octobre). Les fruits sont généralement une graine drupes (4-6 mm), d'abord vertes, puis rouges et deviennent noir brillant à pleine maturation (Septembre-Octobre). La perte de fruits a eu lieu pendant la fin de l'automne (octobre novembre)	(Yosr et al., 2018).
Le mastic	C'est une résine naturelle de couleur jaune clair transparente et en forme de larme (entre 4 à 5 kg par arbre), Qui est obtenue en été par incision du tronc.	(Chaabani , 2020).

I-4 .Taxonomie :

Selon la classification de Linné 1753, *Pistacia lentiscus* est représentée comme suit :

Tableau 2 : Classification botanique du *Pistacia Lentiscus* (Maameri , 2014)

Règne	Plantae
Embranchement	Spermaphytes
Sous embranchement	Angiospermes
Classe	Dicotylédone
Sous classe	Dialypétales
Série	Diacifores
Ordre	Sapindale
Famille	Anacardiaceés
GENRE	<i>Pistacia</i>
Espèce	<i>Lentiscus</i>

I-5. Noms vernaculaires :

Cette espèce possède plusieurs noms vernaculaires qui diffèrent d'une région à une autre (Djedaia S., 2017) ; décrites dans le Tableau 3.

Tableau 3. Noms communs de *Pistacia lentiscus* (Benmehdi , 2012) .

Nom scientifique	<i>Pistacia lentiscus L</i>
Nom français	<i>Pistachier Lentisque ou arbre mastic</i>
Nom anglais	<i>Chios mastic tree</i>
Nom arabe	<i>Derw, Sareys , addraw</i>
Nom kabyle ou berbère	<i>Tidekth, Amadagh</i>
Nom espagnol	<i>Lentisco</i>
Nom turque	<i>pistache.</i>
Nom italien	<i>Lentischio, Lentisco, Sondro, Stinco</i>
Nom allemand	<i>Mastix baum</i>
Nom dans l'est algérien	<i>Gadhoun</i>

I.6. Etude chimique de l'espèce *Pistacia Lentiscus*:

I.6.1.Les Feuilles:

Les feuilles de cette plante sont persistantes, alternées, trifoliolées ou unifoliées, elliptiques, glabres, coriaces et dont le pétiole est bordé d'une aile verte(Hammi S,2020).

I.6.2.Les Fruits :

Les fruits du lentisque donnent une huile de bonne qualité nutritionnelle en raison de sa teneur en acides gras saturés (avec métrique + gras = 25.8%) et en acides gras insaturés (oléique + linoléique = 73%) (Benhammou et al., 2008).

Selon certains auteurs, les protéines représentent 5% du poids des fruits de *P. lentiscus*. La composition minérale de ces fruits montre que la teneur en potassium est la plus élevée (2,67%), alors que celles du sodium, du calcium et du phosphore, elles sont de : 0.46, 0.37 et 0.004 % respectivement (Hamdan, Afifi, 2004).

Une étude phytochimique appliquée sur les baies de *Pistacia lentiscus*, a permis d'identifier trois anthocyanes appelés : cyanidine 3-O-glucoside (1), Delphinidine 3-O-glucoside (2) et cyanidine 3-O-arabinoside (3) (Figure 05) (BELFADEL, 2009).

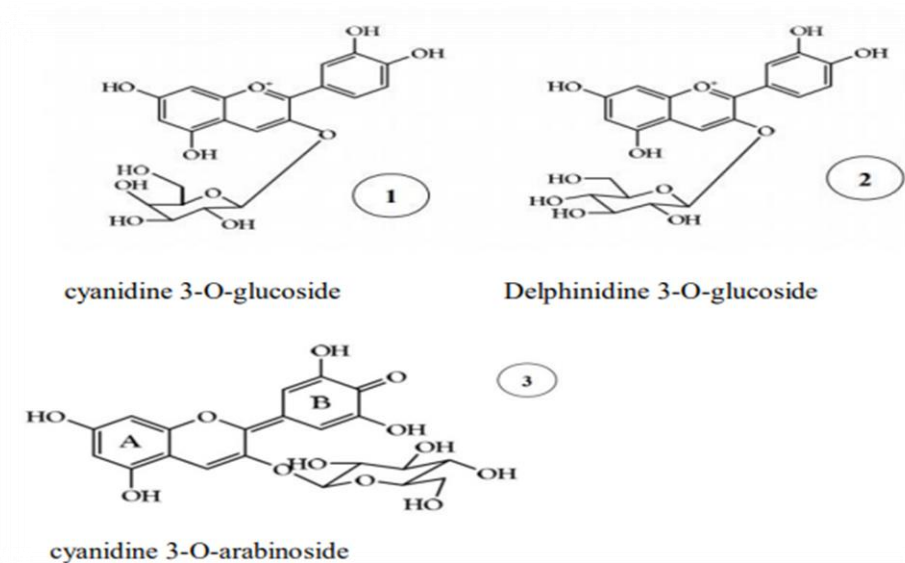
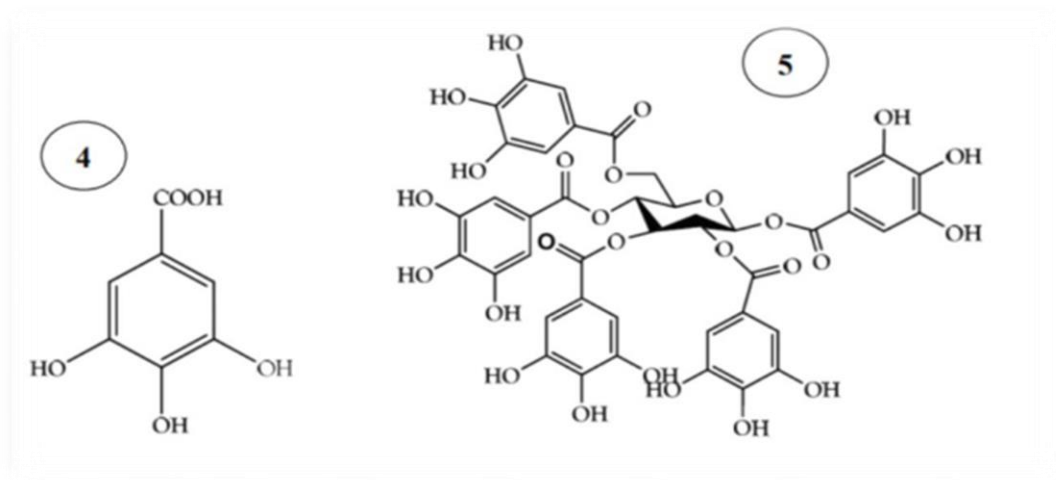


Figure 5: Structures chimiques des anthocyanes de fruits de *Pistacia lentiscus* (BELFADEL, 2009)

D'autres études chimiques effectuées sur la fraction d'acétate d'éthyle (AcOEt) de fruits de *Pistacia lentiscus* ont donc permis d'isoler deux polyphénols acide gallique (4) et 1.2.3.4.6- pentagolloylylucose (5) (Figure 06)



Acide gallique

(5) 1.2.3.4.6- pentagolloylylucose

Figure 6: Structures chimiques des polyphénols de fruits de *Pistacia lentiscus L.*

I.6.3- Résine :

La résine, également connue sous le nom de mastic (ou mastix), est une substance aromatique et résineuse qui suinte du tronc et des branches principales du lentisque. Elle est récoltée comme une épice dans le Sud de l’île grecque de Chios en mer Egée. Les analyses chimiques ont révélé la présence d’un polymère de β - myrcène, le cis- 4-poly- β - myrcène, une petite fraction d’huile essentielle (environ 2%) (**Belfadel, 2009**).

I.6.4.Composition Chimique De L’huile De *Pistacia Lentiscus* L.

Dans la région méditerranéenne, beaucoup d’études ont été faites sur la composition chimique du *Pistacia lentiscus* (**Mezni et al, 2013 ; Bensalem, 2015 ; ARABI et al, 2017**).

Les huiles de fruit sont composées de 90-96% d’hydrocarbures de monoterpènes (**Boelens et Jimenez, 1991**). En Algérie Charef et al, (2008) ont montré que l’huile extraite de fruits du *Pistacia lentiscus* de la région de Skikda est composée de trois acides gras dominants et qui sont palmitiques 16.3%, oléiques 55.3% et linoléiques 17.6%. L’huile contient une quantité appréciable d’acides gras insaturés (78.8-83.5%). 25 (1) l’acide palmitique, (2) acide linoléique, (3) 3-undecylphenol, (4) 1-formyl-1,3-cyclohexadiene, (5)3-pentadecylphenol et (6) 2, 6, 10, 14, 18,22- tetracosahexane. (Tableau04)

La détermination de la composition en acides gras de cette huile (Tableau 04) faite par chromatographie en phase gazeuse, couplée à la spectrométrie de masse (GC/MS) a montré la présence de trois principaux acides gras: acide oléique, acide palmitique et acide linoléique. Les acides gras insaturés (correspondant à l’acide oléique, l’acide linoléique et l’acide palmitoléique) représentent plus de 70% du total des acides gras (**Mezni et al, 2012**)

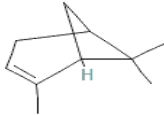
Tableau 4: Composition en acides gras de l’huile de fruits de *Pistacia lentiscus*

Acides gras	Selon (Charef et al, 2008) (%) d’acides gras	Selon (Mezni et al, 2012) (%) d’acides gras
Acide palmitiques	16,3	25
Oléiques	55,3	56
Linoléique	17,6	15

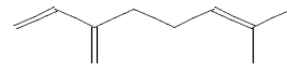
L’huile essentielle de *Pistacia lentiscus* L., également connue sous le nom de lentisque, contient une variété de composés chimiques. Voici les principaux groupes de composés et quelques exemples spécifiques de chaque groupe :

1-Monoterpènes Et Sesquiterpènes (29%)

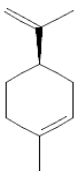
1. α -Pinène



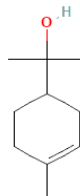
β -Myrcène



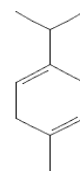
Limonène



α -Terpinéol

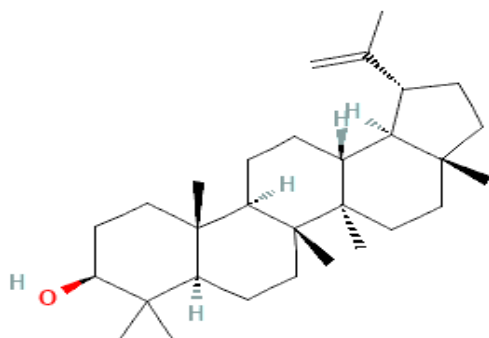


γ -Terpinène

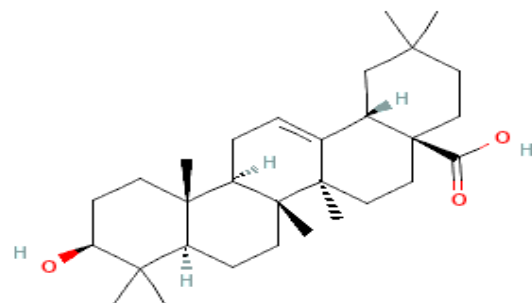


2-Triterpénoïdes (18%)

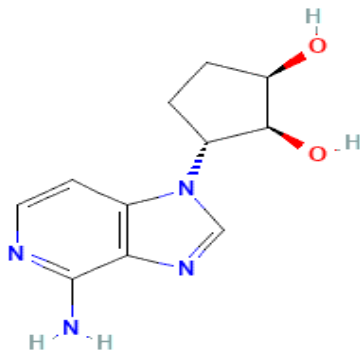
Lupéol



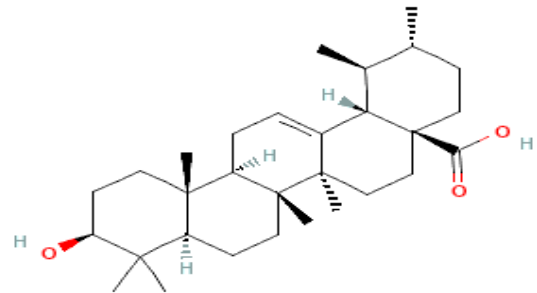
Acide oléanolique



acide maslinique

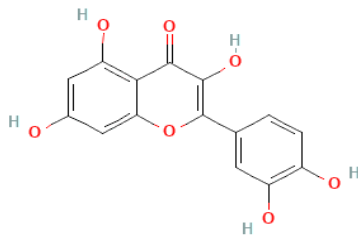


Acide ursolique

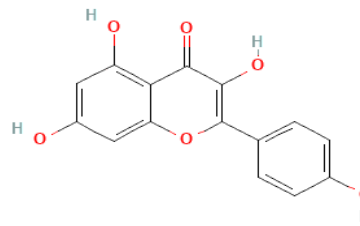


3-Flavonoïdes (17%)

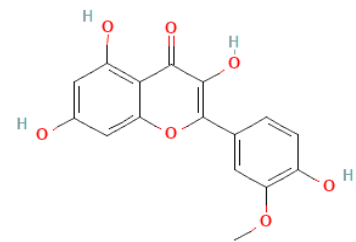
Quercétine



Kaempférol

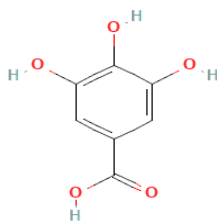


Isorhamnétine

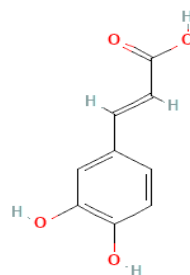


4-Phénols Simples (15%)

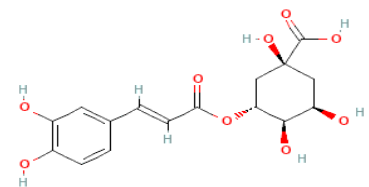
Acide gallique



Acide caféique

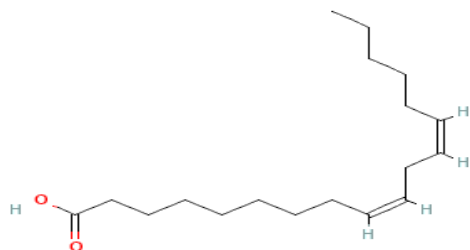


Acide chlorogénique

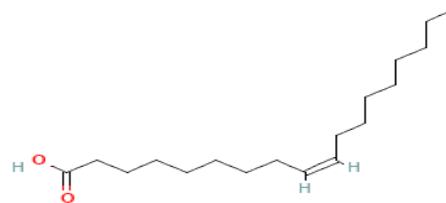


5-Acides Gras (6%)

Acide linoléique

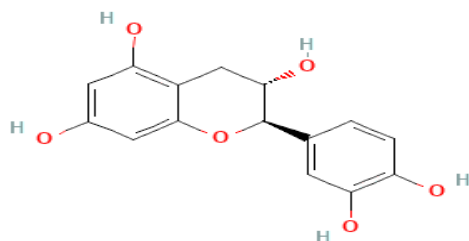


Acide oléique

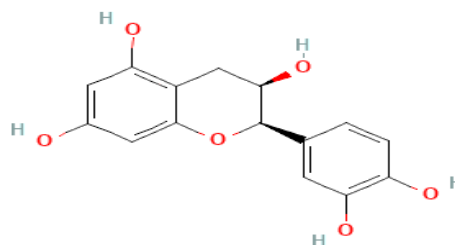


6-Tannins (6%)

Catéchines

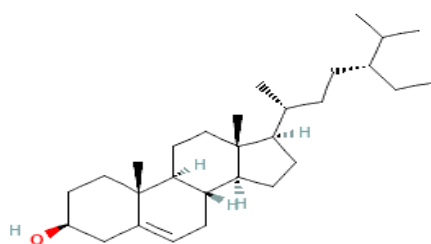


Épicatéchines

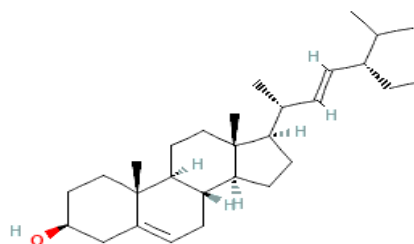


7-Stéroïdes (6%)

β-Sitostérol



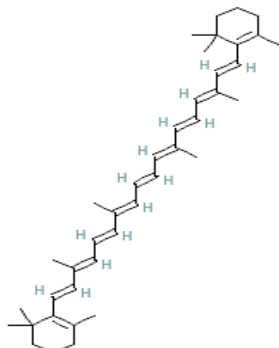
Stigmasterol



8-Composés Divers (3%)

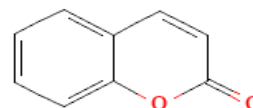
1. Caroténoïdes

- Ex. **β-Carotène**



2. Cumarines

- Ex. **Cumarine**



Ces structures montrent la diversité des composés chimiques présents dans l'huile essentielle de *Pistacia lentiscus L.*, chacun ayant des propriétés et des applications potentiellement bénéfiques en pharmacologie et en produits de santé.

I.7. Effet Thérapeutique Des Biomolécules De *Pistacia Lentiscus* :

P.lentiscus est connu pour ses propriétés médicinales depuis l'antiquité ; il occupe une place appréciable dans la médecine traditionnelle et pharmaceutique dans plusieurs régions méditerranéennes avec différentes utilisations. Toutes les parties de cette plante ont des vertus thérapeutiques qui sont récapitulés dans le tableau suivant :

Tableau 5. Les vertus thérapeutiques des parties de *Pistacia Lentiscus* .

Fruits (Hmimsa, 2004).	Feuille (Kivçak et Akay, 2005)	Résine (Belfadel, 2009)	Racine (ouelmouhoub, 2005)
✓ Douleurs dorsales.	✓ Apéritif et astringent.	✓ Analgésique	✓ Contre l'inflammation intestinale et d'estomac
✓ Pour les diabétiques.	✓ Guérir les troubles gastro-intestinaux.	✓ Antioxydant	
✓ Pour le traitement des douleurs d'estomac.	✓ Traitement de l'eczéma.	✓ Antithérogénique	✓ Traitement de l'ulcère.
✓ Soigner les brûlures.	✓ Traitement de la diarrhée.	✓ Expectorant	
	✓ Agit contre les infections de la gorge.	✓ Diurétique	
	✓ Un puissant antiulcéreux	✓ Spasmolytique	

I.8. Activités biologiques de *Pistacia lentiscus* :

De nombreuses études pharmacologiques ont rapporté que les molécules contenues dans les différentes parties de cette plante ont de multiples activités biologiques qui sont résumées dans le tableau 5.

I.9. Autres utilisations :

Les huiles essentielles extraites à partir des feuilles et des rameaux sont utilisées dans la parfumerie, en alimentation et en para-pharmacie (**Amhamdi et al., 2009**).

Le lentisque produit une oléorésine appelée mastic (gomme), consommée dans les traditions comme chewing-gum et additif alimentaire (**Dogan et al., 2003**).

Dans plusieurs pays d'orient et d'afrique du nord, on la mélange à de la farine et à de la pâte d'amandes pour faire une sorte de beurre considéré comme aphrodisiaque qui est dilué dans le thé , l'huile essentielle et la gomme de la plante sont largement utilisées comme additifs aromatisants dans les aliments et les boissons dans les biscuits, la crème glacée et les «bonbons au mastic» (**Piccolella et al., 2016 ; Koutsoudaki et al., 2005**).

Utilisation de résine dans certains mélanges de cosmétiques et de parfumeries et aussi comme ingrédient dans les obturations dentaires. Produire du dentifrice ; car il a, entre autres, les propriétés de purifier l'haleine, blanchiment des dents et traitement des problèmes de gingivite (**Dogan et al., 2003**).

1.10. Données toxicologiques de *Pistacia Lentiscus* :

La gomme (mastic) provoque une toxicité aiguë, une irritation de la peau et une phototoxicité chez les animaux et les humains (**Spott et Shelley, 1970 ; Keynan et al , 1987**). Par contre, l'huile essentielles des feuilles de *P. lentiscus*, administrée par voie orale est dépourvue de toxicité aigüe chez les souris (**Keynan et al , 1997**).

I .11 . Les métabolites secondaires

Le terme métabolite secondaire est utilisé pour décrire une importante gamme de composés chimiques dans les plantes (**Abbas et Miloudi, 2016**). Ils ont un rôle important dans les interactions de la plante avec son environnement, également la protection contre les pathogènes herbivores et le stress abiotique (**Greathead, 2003**). Les métabolites secondaires sont divisés principalement en trois grandes familles : les composés phénoliques (polysphénols), les composés azotés (alcaloïdes) et les terpénoïdes .

I. 12-Les composés phénoliques

Les composés phénoliques présents une grande classe de substance organique cyclique, qui dérive du phénol C_6H_5OH (Abbas et Miloudi, 2016).

Sont présents dans toutes les parties des végétaux, sont impliqués dans de nombreux processus physiologiques comme la croissance cellulaire, ils sont largement utilisés en thérapeutique comme vasoconstrictrice, anti-inflammatoire, inhibitrice enzymatiques, antioxydants et antimicrobiens (Djemai, 2008).

I.12-1-Les acides phénoliques

Ils appartiennent à deux groupes, les acides hydroxybenzoïques, dérivés de l'acide benzoïque, ont une structure de base de type C6-C1 et les acides hydroxycinnamiques, dont la structure de base (C6-C3) dérive de celle de l'acide cinnamique (Vermerris *et al*, 2006).

I-13-Les flavonoïdes

Sont des molécules considérées comme des pigments quasiment universels des végétaux, ils sont responsables de la coloration des fleurs, des fruits et constamment des feuilles (Djemai, 2008). Ils sont constitués d'un cycle benzoïque présentant plusieurs groupements hydroxyles (Figure 07). Ces groupements hydroxyles sont responsables de la fonction antioxydante des polyphénols (Boubekri, C., 2014).

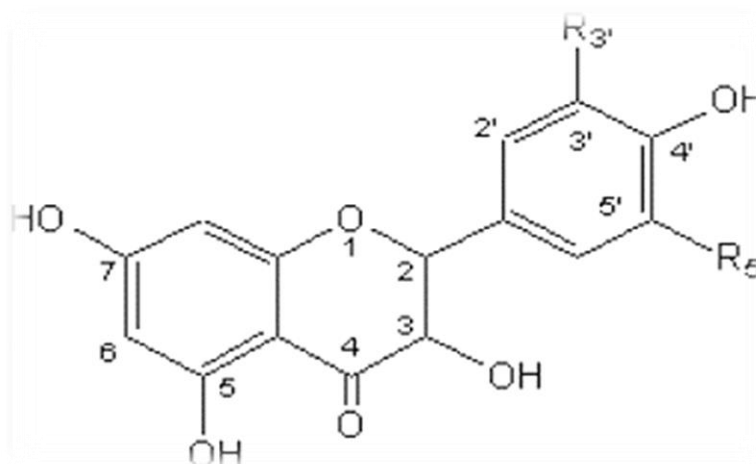


Figure 7: Structure de base des flavonoïdes (Lugasi *et al*, 2003).

I-14-Les tanins

Sont dérivés de deux groupes principaux d'après leurs structures et leurs propriétés :

I-14-1-Les tanins hydrolysables

Sont des oligo ou des polyesters d'un sucre et d'un nombre variable d'acide phénol.

Le sucre est généralement le D-glucose et l'acide phénol, pour l'acide gallique dans le cas des gallotannins, ou ellagique (figure 08) (Cowan, 1999).

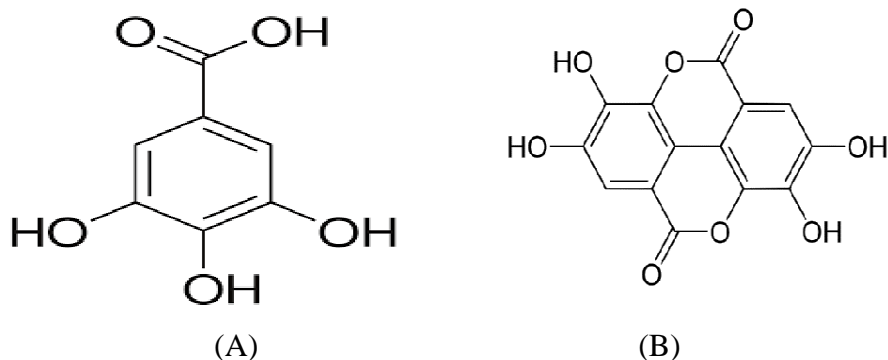


Figure 8 : structure de l'acide gallique (A) et ellagique (B) (Cowan, 1999).

I-14-2 Les tanins condensés

Appelés tanins catéchiques, ce sont des polyphénols de la famille des flavonoïdes, dont la structure chimique repose sur un système d'hétérocycle (figure 09). Ils sont beaucoup moins toxiques que les tanins hydrolysables, car non hydrolysables et peu absorbés par la muqueuse digestive en raison de leur poids moléculaire élevé.

La structure des composés phénoliques naturels varie depuis les molécules simples (acides phénoliques simples) vers les molécules les plus hautement polymérisées (tanins condensés) (Macheix et al., 2005)

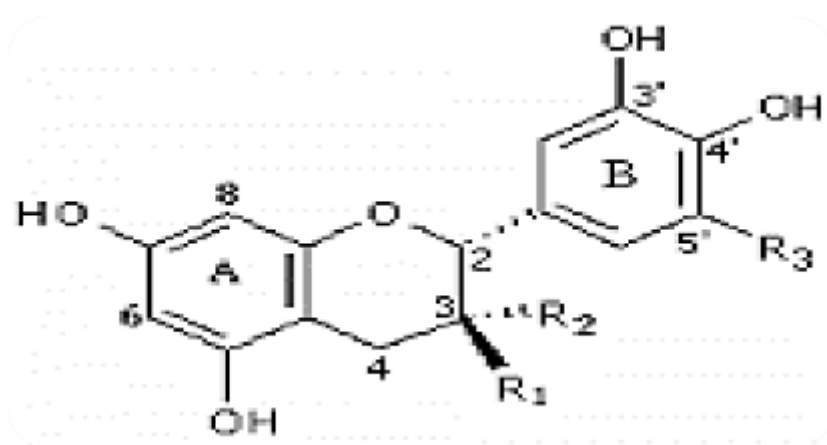


Figure 9 : Structure des tanins condensés (Bessas, 2008)

I-15-Les coumarines

Se sont des composés aromatiques naturels (**figure 10**), largement distribués dans le règne végétal, elles sont bénéfiques si ya présence d'affection cutanées (**Abbas et al, 2016**).

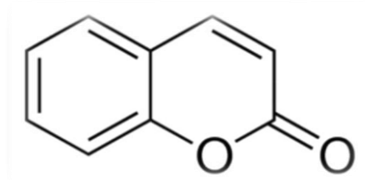


Figure 10: Structure de base des coumarines

I-16-Les anthocyanes

Se sont des pigments colorés, responsables de la pigmentation des fleurs, des fruits et des grains (**Samouelian et al, 2009**).

Les anthocyanes possèdent une structure de base, le 2 phényl-1benzopyrilium, possède trois cycles aromatiques, responsable du pouvoir absorbant (chromophore).

Cette structure a plusieurs fonctions hydroxyles dont l'une est glycosylée par des différents oses (glucose, galactose, rhamnose, arabinose), omigosides ou hétérosides (**figure 11**) (**Samouelian et al, 2009**).

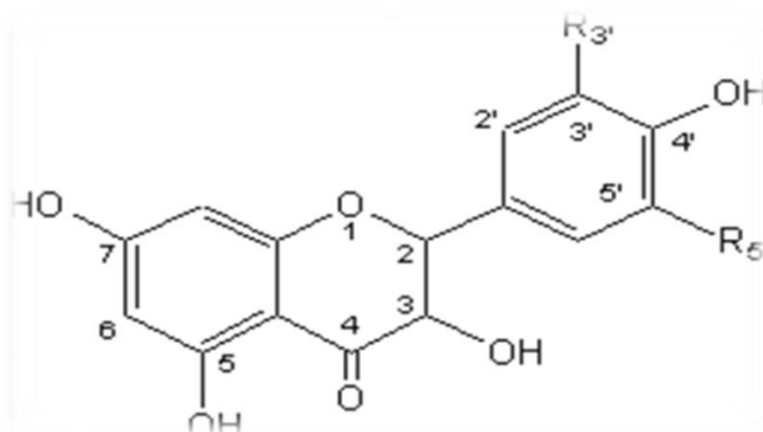


Figure 11 : Structure de base des anthocyanes (**Samouelian et al, 2009**).

I-17-Les Composés Azotés (Les Alcaloïdes) Les Trois Classes D'alcaloïdes :

I-17-1-Alcaloïdes vrais : sont bio synthétiquement formés à partir d'un acide aminé et comporte un atome d'azote dans un système hétérocyclique, exemple : hyoscyamine (**figure 12**).

I-17-2-Pseudo-alcaloïdes : représentent couramment toutes les caractéristiques des alcaloïdes vrais, mais ne sont pas dérivés des acides aminés, exemple : conine (**figure 12**).

I-17-3-Proto-alcaloïdes : sont des amines simples dont l'azote n'est pas inclus dans le système hétérocyclique, exemple : cathionone (**figure 12**).

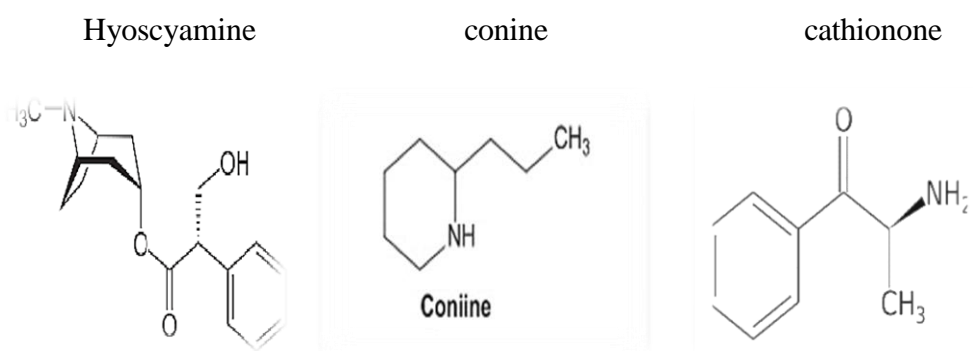


Figure 12 : Exemples des classes des alcaloïdes (Tadeusz, 2007).

I-18-Les Terpénoïdes (Isoprénoïdes)

Se sont des molécules de faible poids moléculaire, volatiles, dérivés de l'isoprène (C₅H₈) (**figure 13**) (Yarnell, 2007).

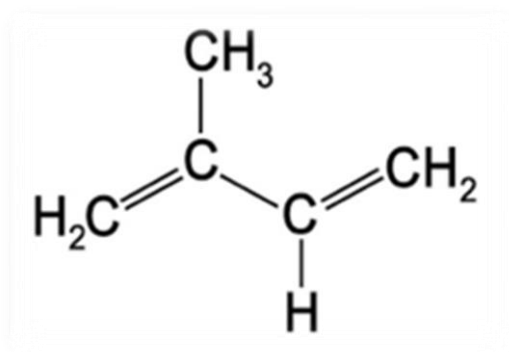


Figure 13 : Structure de la molécule d'isoprène (Loomis et Caroteau, 1980).

CHAPITRE II

Matériels et méthodes

II.1.Lieu et période de travail

Les travaux de cette étude sont réalisés au niveau des laboratoires situés au niveau du hall technologique de l'université du 20 aout 1955 de Skikda.

Cette étude a été effectuée durant la période du 03/04/2024 au 17/04/2024 au laboratoire de chimie et du 28/04/2024 au 16/05/2024 au laboratoire de microbiologie .

II .2. Matériels

II.2.1. Matériel technique (voir annexe 1)

II.2.2.Matériel végétal

Le choix de la plante, *Pistacia lentiscus*, comme sujet d'étude dans le présent travail a été guidé non seulement par les nombreuses utilisations traditionnelles qui en sont répertoriées, mais aussi par le fait qu'il s'agit d'une plante très abondante localement et relativement peu étudiée en Algérie. Sur cette base, nous avons utilisé l'huile fixe des fruits qui ont été récoltés en décembre 2023, dans la région du Beni-zid de la wilaya de skikda. (Fig. 14)

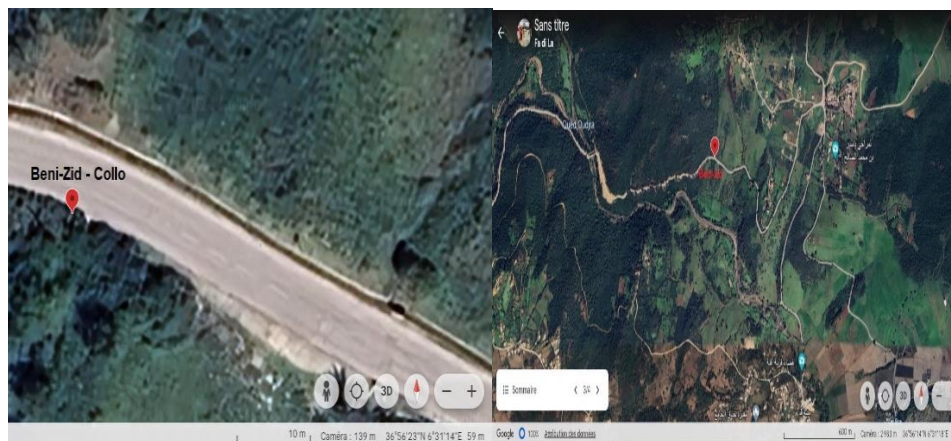


Figure 14: Carte géographique de la région de Beni-zid

Les feuilles et les branches ont été récoltées au mois de mars 2024, les fruits noirs en décembre 2023. Nettoyons toutes les parties de la plante avec de l'eau et sécher à l'obscurité, dans un endroit sec et bien aéré, puis broyer finement à l'aide d'un broyeur jusqu'à obtention d'une poudre de plante.

Conserver à température ambiante dans des sacs en papier.



Figure 15 : broyer des parties aériennes de *pistacia lentiscus L*

II.2.3. Matériel biologique :

Quatre Bactéries et un champignon sont récapitulés dans le Tableau 6:

Tableau 6 : les micro organisme testes

Nom de la souche	Gram	Origine
KP : <i>Klebsiella pneumoniae</i>	Négatif	clinique
E-coli : <i>Escherichia-coli</i>	Négatif	clinique
SA : <i>Staphylococcus aureus</i>	Positif	clinique
SGd : Streptocoque du groupe (d)	Positif	clinique
<i>Sclerotium hydrophilum</i>		Tomate pourrie

II.3.Les Méthodes De Travail

II.3.1.Extraction

L'isolement d'un composé ou d'une famille de composés en utilisant des solvants organiques est appelé extraction. Si la substance à isoler est liquide, on parle alors d'extraction liquide-liquide. En revanche, si la substance à isoler est solide, on parle d'extraction solide-liquide. Cette dernière présente plusieurs formes qui dépendent de différents facteurs tels que la température, la pression et la manière d'utiliser le solvant.

II.3.1.1.Extraction Solide-Liquide

Extraction à froid (trempage) : Cette méthode consiste à placer le matériau dans un récipient contenant une quantité spécifique de solvant, de telle sorte que le volume de

solvant utilisé recouvre le matériau sec dans un rapport approximatif de (soluté 1 / solvant 3) dans des conditions normales (pression et température ambiante) sous agitation. De temps en temps, on laisse un certain temps pendant lequel les composés à séparer sont transférés de la matière sèche au solvant, suivi du processus de filtration. Nous utilisons la méthode de trempage des matériaux. qui sont affectés et désintégrés par la chaleur.

II.3.1.2.Méthode d'extraction de la Plante *Pistacia Lentiscus L.*

Nous prenons un poids de 100 grammes de plante *pistacia* et le trempons dans un volume d'hexane recouvre le matériau sec dans un récipient (1000 ml). Nous le couvrons pour éviter que le solvant ne s'évapore et le laissons pendant 24 heures dans un endroit qui. on maintient les conditions réglementaires.

On filtre et conserve ensuite le filtrat, et on y ajoute un autre volume de chloroforme et on laisse reposer 24 heures. On répète la même étape avec un volume de chloroforme à 10% + méthanol à 90% (10 ml de chloroforme + 90 ml de méthanol), et laisser reposer 24 heures, On filtre et conserve ensuite le filtrat .

Après cela, nous ajoutons un autre volume de méthanol et laissons reposer 24 heures. On filtre et conserve ensuite le filtrat Après une période de 5 jours, nous obtenons les quatre extraits :

- Extrait d'hexane (C_6H_{14})
- Extrait chloroformique ($CHCl_3$)
- Extrait chloroformique méthanolique 1/9
- Extrait méthanolique (CH_3OH)

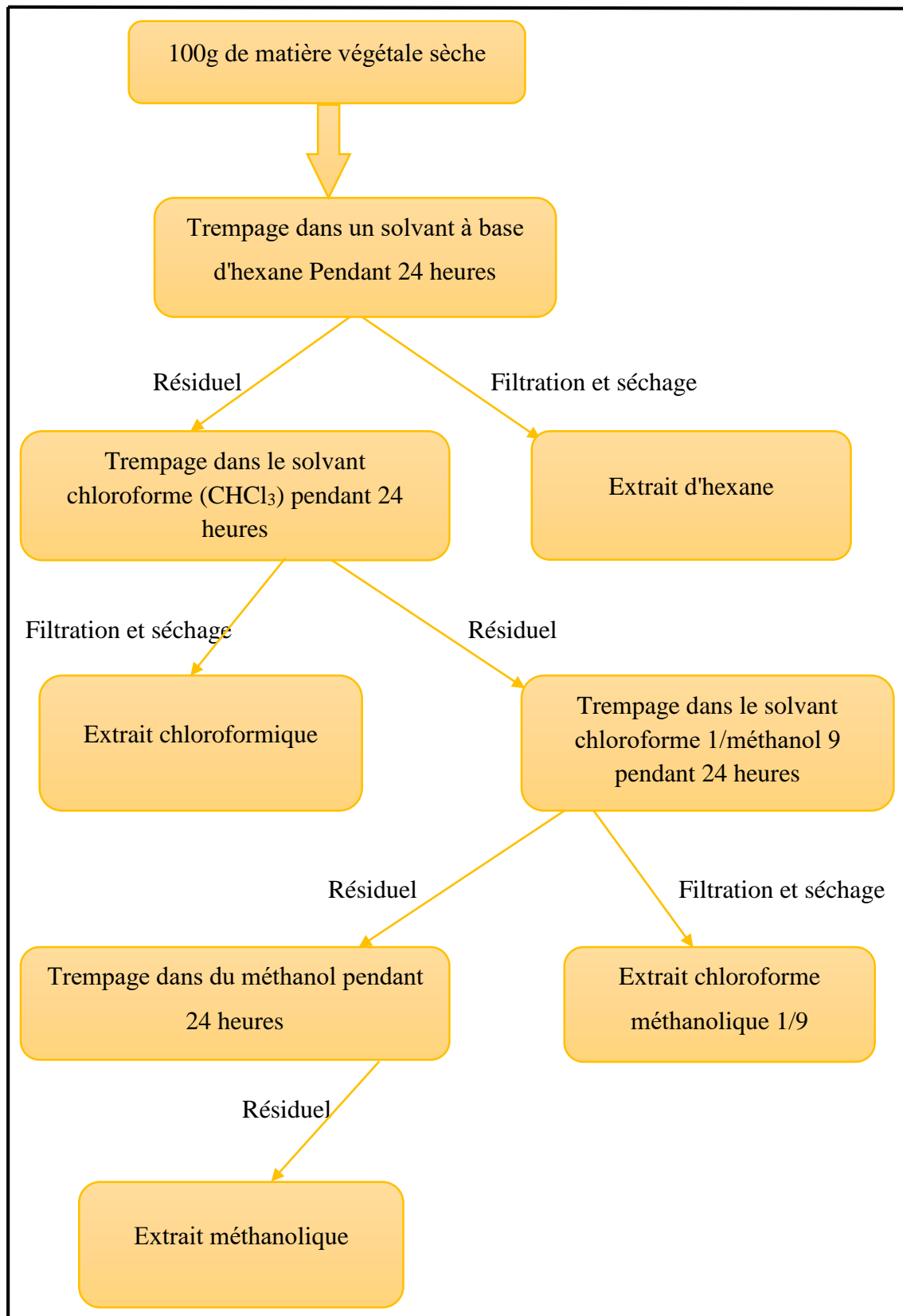


Figure 16 : Les étapes d'extraction de la plantes *Pistacia Lentusculus L*

Nous séparons le solvant de l'extrait végétal à l'aide d'un évaporateur rotatif au point d'évaporation du solvant utilisé dans chaque extrait, afin d'obtenir la matière première sous forme de substance collante ou complètement sèche.

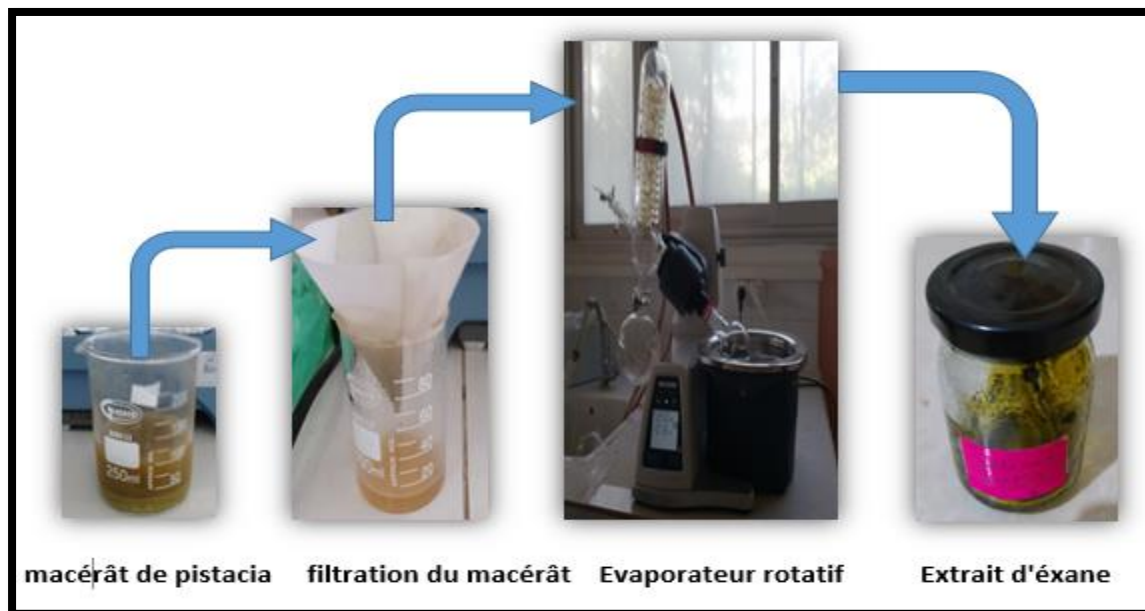


Figure 17 : Les étapes d'extraction par macération par solvant

II.3.1.3.Méthode d'extraction de l'huile végétale de *Pistacia Lentiscus L.*

L'huile de *lentisque* est extraite de fruits du *Pistacia lentiscus* selon une méthode traditionnelle .

❖ Récolte des baies de Lentisque :

Le choix des fruits a été porté sur des arbustes dont le stade de pigmentation des baies a était semi-noire ou noire en évitant le stade vert ou rouge.

Ce dernier stade, maturité dite précoce, pourrait influencer le rendement de production de l'huile ainsi que sa conservation.

❖ Effeillage :

Cette opération a été effectuée manuellement dans le but de se débarrasser des rameaux et des feuilles récoltées avec les fruits.

❖ Lavage :

les baies ont été lavées avec de l'eau courante pour éviter d'éventuelles contaminations et éliminant les baies moisies qui flottent sur l'eau.

❖ Séchage :

Les baies lavées ont été égouttées et ensuite séchées dans un endroit aéré à l'abri de lumière.

❖ **Broyage et malaxage :**

Les baies de lentisque ont été ensuite écrasées, y comprises les enveloppes et les graines, et malaxées pour les transformer en une pâte.

Un peu d'eau froide a été ajouté en triturant soigneusement le mélange.

❖ **Décantation :**

Le mélange obtenu a été versé dans une jarre contenant de l'eau froide.

Dans cette étape l'huile remonte naturellement à la surface puisque sa densité est inférieure à celle de l'eau.

Généralement, 30 à 36 heures sont nécessaires pour cette opération.

❖ **Stockage :**

L'huile obtenu a été stockée dans des bouteilles en verre bien remplies (95% de leur capacité), hermétiquement fermées et gardaient au frais à l'abri de la lumière jusqu'à l'utilisation.



Figure 18: Étapes d'extraction des huiles végétale par la méthode traditionnelle

II.3.1.4. Le Rendement

La mesure d'un rendement de l'extrait (R) est une étape très importante pour savoir la quantité et le pourcentage d'extrait obtenus par une extraction. Ce rendement est le rapport entre le poids de l'extrait sec (après l'évaporation) exprimé en g et le poids de l'échantillon initial (poudre végétale en g).

Le rendement d'extraction(%) pour chaque extrait a été calculé par la formule suivante :

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

Equation 1 de Rendement

(%) : Rendement d'extraction exprimé en %.

me : masse de l'extrait sec résultant en g

m : masse du matériel végétal (poudre) en g utilisée pour l'extraction.

II.3.1.5. Caractéristiques Physicochimiques

II.3.1.6. Mesure du pH

Il s'agit d'un coefficient permettant de savoir si une solution est acide, basique ou neutre. Elle est acide si son pH est inférieur à 7, neutre s'il est égal à 7, basique s'il est supérieur à 7

✚ Protocole expérimental:

- Mettre quelques gouttes d'HV 1 et 2 et 3 du matériel végétal, sur un bout de papier pH;
- Après le changement de la couleur du papier, comparer avec une gamme de couleurs qui varient selon le pH



Figure 19 : La gamme de couleur selon le pH.

II.4. Etude phytochimique d'une plante (*Pistacia Lentiscus .L*)

II.4.1. Screening phytochimique (ou étude qualitative des substances extraites).

L'examen phytochimique est un premier pas dans la recherche des nouvelles molécules d'origine végétale ayant des activités biologiques et thérapeutiques. Les tests phytochimiques sont basés sur des essais de solubilités des constituants présents dans la plante vis-à-vis des solvants organiques de polarité différente et des réactions de coloration spécifique et de précipitation. L'extraction des composés est faite par deux méthodes : extraction à l'eau chaude et extraction par des solvant organique .

II.4.2. Extraction avec l'eau chaude

Dans un ballon monocol surmonté d'un réfrigérant, 50g du matériel végétal est mis en présence de 300 ml d'eau, l'ensemble est porté à reflux pendant une heure . Le mélange est ensuite filtré, et l'extrait aqueux est soumis à différents tests qualitatifs pour la mise en évidence de : amidon, saponines, tannins, eucoanthocyanes, anthocyanes.

✚ Amidon

Chauffer dans un bain marine jusqu'à l'ébullition, 2,5 ml de la solution à tester avec 5 ml d'une solution de NaCl saturée.

Ajouter quelques gouttes d'eau iodée, la présence d'amidon est révélé par l'apparition d'une coloration bleu- violacée (**Bruneton, 1999**).

✚ Terpénoïdes

2 ml de chloroforme et 3 ml de H₂SO₄ concentré sont ajoutés à 0,5 g d'extrait .

Une coloration brune rougeâtre de l'interface indique la présence des terpénoïdes.

✚ Anthocyanes

La présence d'anthocyanes est révélée en traitant 2 ml d'une solution aqueuse avec 2 ml de HCl (2N) et quelques gouttes de NH₄OH.

Une coloration rose- rouge qui vire au bleu violé indique la présence des anthocyanes (**Debray et al.1971**).

✚ Quinones

Quelques gouttes d'une solution de soude (NaOH) à 10% sont ajoutés a 1 ml d'extrait, l'apparition d'une coloration jaune, rouge ou violet indique la présence des quinones(**Oloyede,2005**).

✚ Leuco Anthocyanes

2 ml de la solution aqueuse , additionner respectivement 1 ml de NaOH, 1 ml d'eau distillée et 1 ml d'acide chlorhydrique concentré (HCl) et quelques copeaux de magnésium. En présence de leuco anthocyanes , une coloration rose – rouge apparait.

✚ Coumarines

Ajouter 20ml d'éther à 1g de la poudre végétale , Laisser macérer pendant 24h. Filtrer le mélange puis compléter à 20ml avec de l'eau distillée , Evaporer le mélange obtenu à l'air libre jusqu'à l'obtention de 5ml, Ajouter 2ml d'eau distillée chaude, Partager la solution en deux tubes à essai, ajouter au contenu de l'un des tubes de l'ammoniaque à 25%, mélanger et observer la fluorescence sous UV à 365 nm.

- Une fluorescence intense dans le tube contenant l'ammoniaque confirme la présence des coumarines.

II.4.3.Extraction par solvant :

Nous avons préparé 4 erlen Mayer de 100 ml contenant chacun 3 g de poudre de plante et les avons trempés dans 50 ml de solvant (erlina 1 contient de l'héxane, erlina 2 contient du chloroforme, erlina 3 contient du chloroforme 10 + méthanol 90, erlina 4 contient du méthanol) et nous avons couvrez-le et laissez-le pendant deux heures, puis filtrez-le. Il est utilisé pour l'analyse phytochimique.

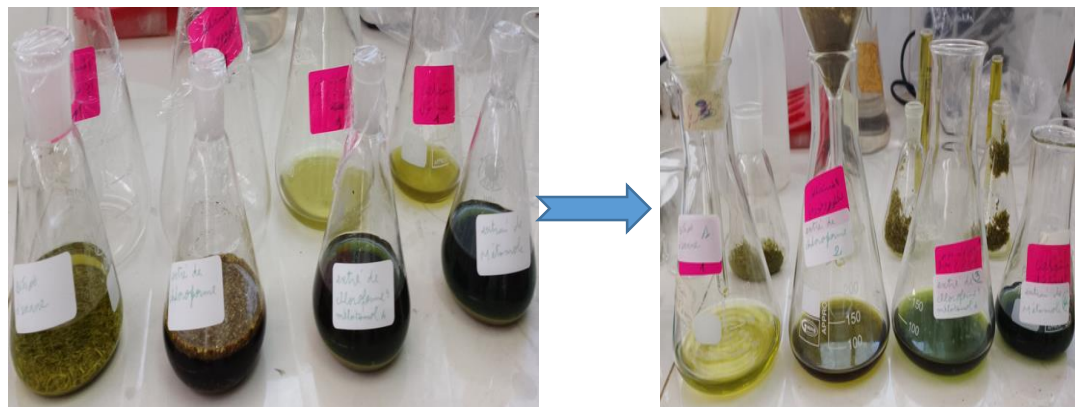


Figure20 :4 Extrait par solvant (Hexane , Chloroforme , Chloroforme/Méthanol, Méthanol 100%)

✚ Alcaloïdes

★ Essai de Wagner

Nous prenons 1 ml de chaque extrait, le mettons dans des tubes à essai et y ajoutons des gouttes de réactif de Wagner (5 g de KI et 1,27 g d'I₂ dissous dans 100 ml d'eau distillée).

Un précipité brun rougeâtre se forme, indiquant la présence d'alcaloïdes.

Flavonoïdes

★ **Test de détection de base de NaOH**

Nous prenons 1 ml de chaque extrait, le mettons dans des tubes à essai, ajoutons des gouttes de base NaOH (0,1 M) et laissons agir 3 minutes.

La couleur de l'extrait vire au jaune, ce qui témoigne de la présence de flavonoïdes.

Tanins

★ **Test FeCl₃**

On prend 1 ml de chaque extrait (0,5 d'extrait et 0,5 d'eau distillée), on le met dans des tubes à essai et on ajoute des gouttes de solution de chlorure de fer (FeCl₃). L'apparition d'une couleur brun verdâtre témoigne de la présence de tanins. .

Coumarines

On prélève 2 ml de chaque extrait, on le met dans des tubes à essai, et on ajoute 3 ml de solution d'hydroxyde de sodium (NaOH, 10%).

L'apparition d'une couleur jaune témoigne de la présence de coumarines.

Stérols Et des triterpènes

★ **Test de Salkowski**

On prend 1 ml de chaque extrait, on le met dans des tubes à essai, on ajoute soigneusement 5 ml de chloroforme (CHCl₃) et 1 ml d'acide sulfurique concentré (H₂SO₄), puis on l'agite.

La formation d'une couleur rouge pourpre dans la couche inférieure est observée. Indiqué la présence de stérols.

★ **Essai de Liebermann-Burchard**

On prélève 1 ml de chaque extrait et on le met dans des tubes à essai et on y ajoute des gouttes d'anhydride acétique, puis des gouttes d'acide sulfurique (H₂SO₄) soigneusement concentré.

L'apparition d'un anneau rouge témoigne de la présence de triterpènes, et de l'apparition de couleur verte témoigne de la présence de stérols.

✚ Saponines :

Chauffer 2 g de poudre végétale avec 80 ml d'eau distillée, et après filtration et refroidissement, agiter vigoureusement.

L'apparition d'une mousse ferme témoigne de la présence de savons.

II.4.4. Déterminer le pourcentage d'eau dans la plante

Nous pesons une masse de 3 g de plante et la plaçons dans l'incubateur pendant 3 heures à une température de $105 \pm 2^\circ\text{C}$. Nous la pesons après l'avoir retirée et calculons le pourcentage d'eau dans la plante sur la base de cette équation.

$$\text{TRE} = (\text{PF} - \text{PS}) \times 100 / \text{PF}$$

où :

TRE : le pourcentage d'eau dans la plante.

PF : Poids de la plante avant sa mise en couveuse.

PS : Le poids de la plante après l'avoir placée dans l'incubateur.

II. 5. Evaluation de l'activité antimicrobienne**II.5.1. Activité antibacterienne:****II. 5.1.1.Revivification des bactéries:**

Pour chaque bactérie, des colonies ont été introduites dans un tube à essai stérile contenant 5 ml de bouillon nutritif à l'aide d'une anse de platine stérile. Les tubes sont ensuite incubés à 37°C pendant 18 à 24 heures.

Couler la gélose Mueller Hinton (MH) dans des boîtes de Pétri sur une épaisseur de 4mm et les faire séchées avant emploi.

- A partir d'une culture pure de 18H sur milieu d'isolement, racler à l'aide d'une anse de platine quelques colonies bien isolées et parfaitement identiques.
- Décharger l'anse dans 5 à 10 ml d'eau physiologique stérile à 0,9%.
- Bien homogénéiser la suspension bactérienne.
- L'ensemencement doit se faire dans les 15mn qui suivent la préparation de l'inoculum.
- Tremper un écouvillon stérile dans la suspension bactérienne et l'essorer en le pressant fermement sur la paroi interne du tube, afin de le décharger au maximum, puis frotter l'écouvillon sur la totalité de la surface gélosée en stries serrées.
- Répéter l'opération deux fois, en tournant la boîte de 60° à chaque fois sans oublier de faire pivoter l'écouvillon sur lui-même. Finir l'ensemencement en passant l'écouvillon sur la périphérie de la gélose. Dans le cas où l'on ensemence plusieurs boîtes de Pétri, il faut recharger l'écouvillon à chaque fois.
- Les disques de 6 mm de diamètre, imbibés d'extraits à raison de 50 µl par disques, sont déposés et presser légèrement sur la gélose inoculée, à l'aide d'une pince stérile. Une fois appliqués les disques ne doivent pas être déplacés
- On laisse diffuser sur la paillasse pendant 30 minutes, puis on incubé à 37°C pendant 24heures pour les bactéries et à 25°C pendant 48heures pour les champignons (**Rahal, 2005**).

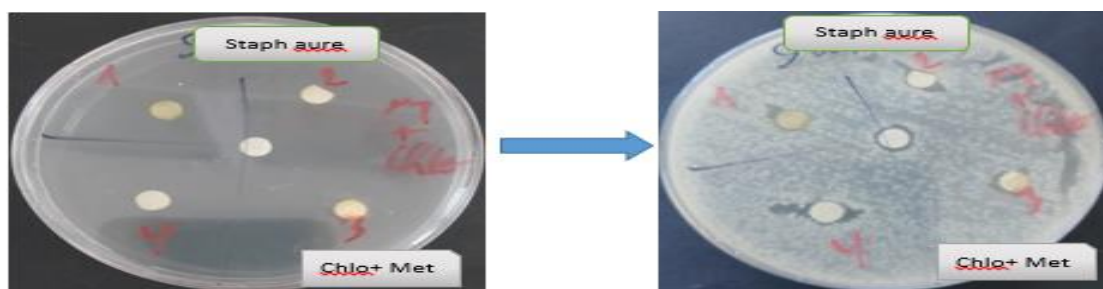


Figure 22 : méthode de disque

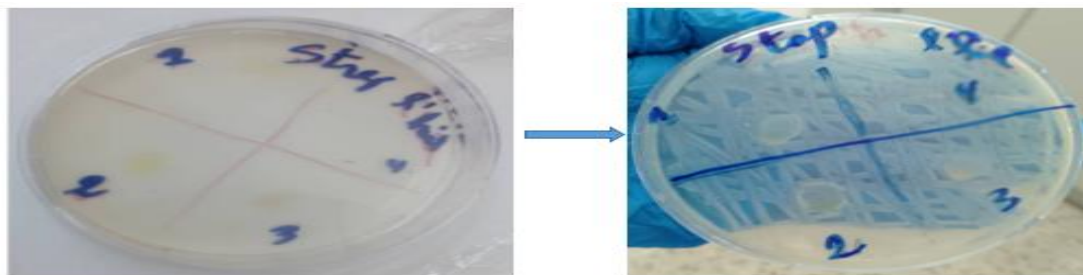


Figure 23 : methode des spots

Remarque : Nous avons imprégné les disques absorbants de 6mm dans le DMSO comme témoin négatif en suivant la même procédure expérimentale pour l'extrait et pour l'infusé.

- Lecture des résultats

Les diamètres des zones d'inhibition, sont mesurés avec précision à l'aide d'un pied à coulisse. Ils sont classés en 4 classes (**Tableau 7**) (**Moreira et al., 2005**).

Tableau 7 : Degré de sensibilité des souches microbiennes selon le diamètre de la zone d'inhibition.

Diamètre de la zone d'inhibition (mm)	Degré de sensibilité des souches
D= 9	Souche résistante
$10 \leq D \leq 14$	Souche sensible
$15 \leq D \leq 19$	Très sensible
$D > 20$	Extrêmement sensible

II. 5.2. Activité antifongique

II.5.2.1. Préparation du milieu de culture :

Pour l'activité antifongique, nous avons utilisé le milieu PDA dont la composition et la méthode de préparation sont les suivantes:

Milieu P.D.A

200 g de pomme de terre

20 g d'agar agar

20 g de glucose

1000 ml d'eau distillée

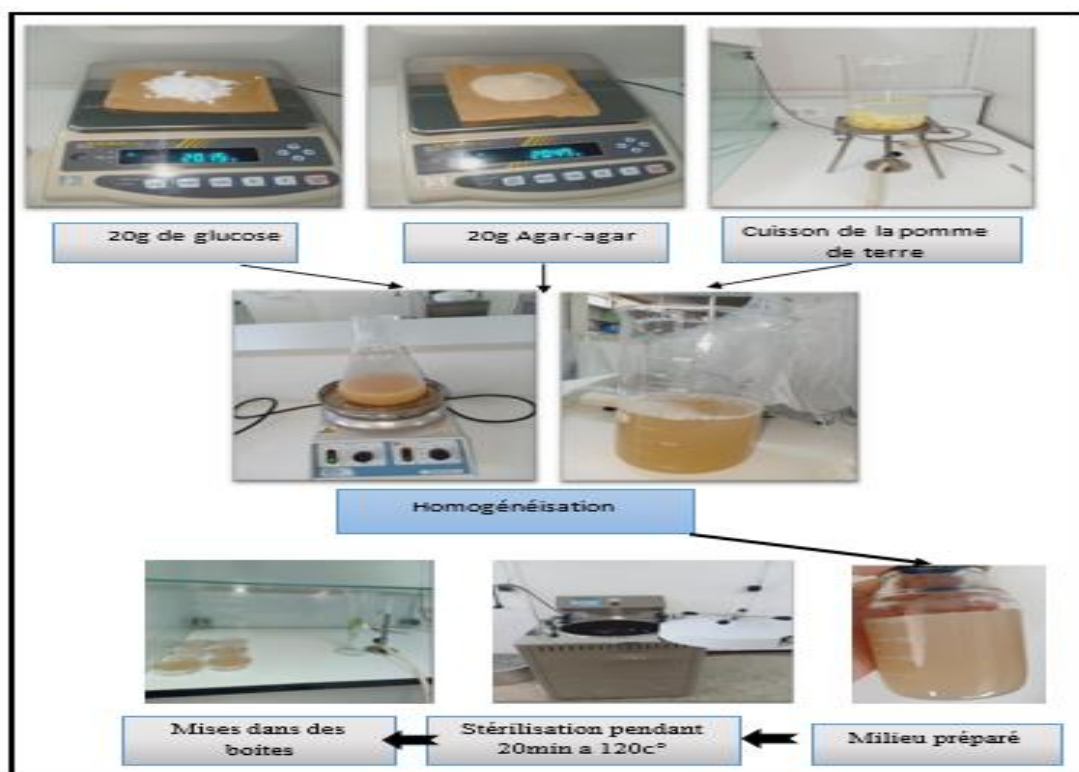


Figure 24 : schéma démontrant les étapes de préparation d'un milieu (PDA).

Le milieu de culture PDA contenant une dose d'huile végétale brute et sa dilution au 1/2 sont coulés dans des boîtes de pétri de 8,5 cm de diamètre à raison de 15 ml par boîte.

II.5.2.2.Méthode de contact direct:

La technique de contact direct ou « poisoned food » est employée pour étudier le pouvoir inhibiteur des huiles ; vis-à-vis des champignons phytopathogènes (Hamrouni *et al*, 2014 ; Messgo-Moumene *et al*, 2014). Cette activité a été testée vis-à-vis de la souche fongique *Sclerotium hydrophilum* isolée à partir d'une tomate pourrie.

- Mode opératoire:

Après refroidissement du milieu, un petite morceau de champignon de la souche fongique est placé au centre de la boîte de pétri tout en plaçant la surface mycélienne vers le bas. Les boîtes sont incubées à 25°C pendant 05 jours.

Nous faisons de la même façon pour chaque extrait, les boîtes de pétri sont ensuite fermées hermétiquement par le parafilm et incubées à 25°C pendant 05 jours.

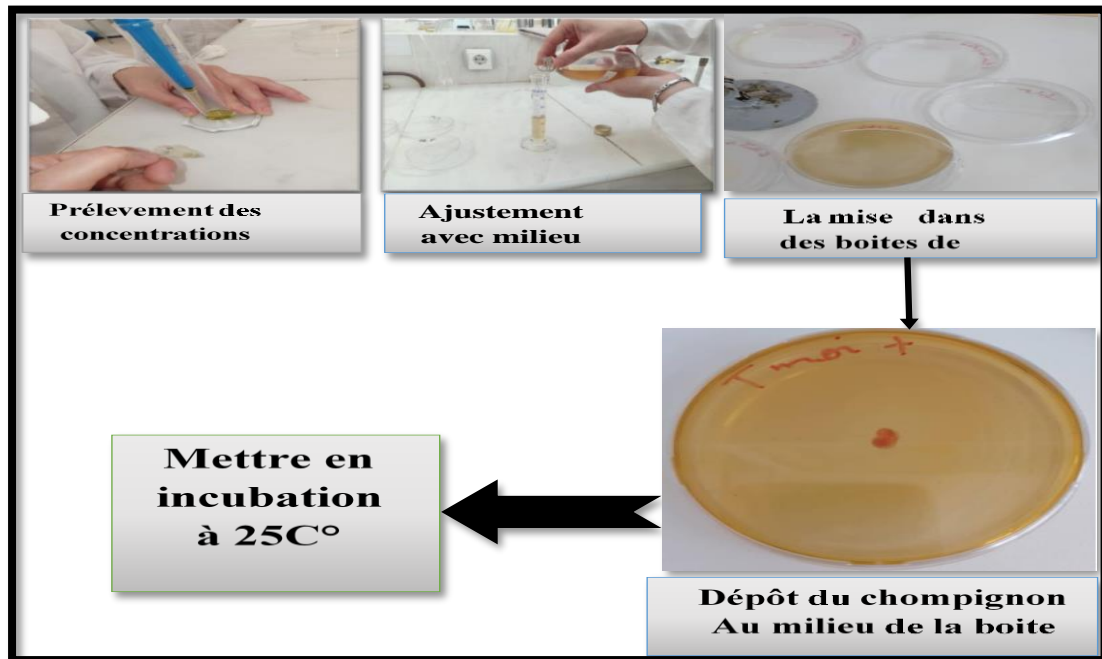


Figure 25: les principales étapes illustrant l'activité antifongique.

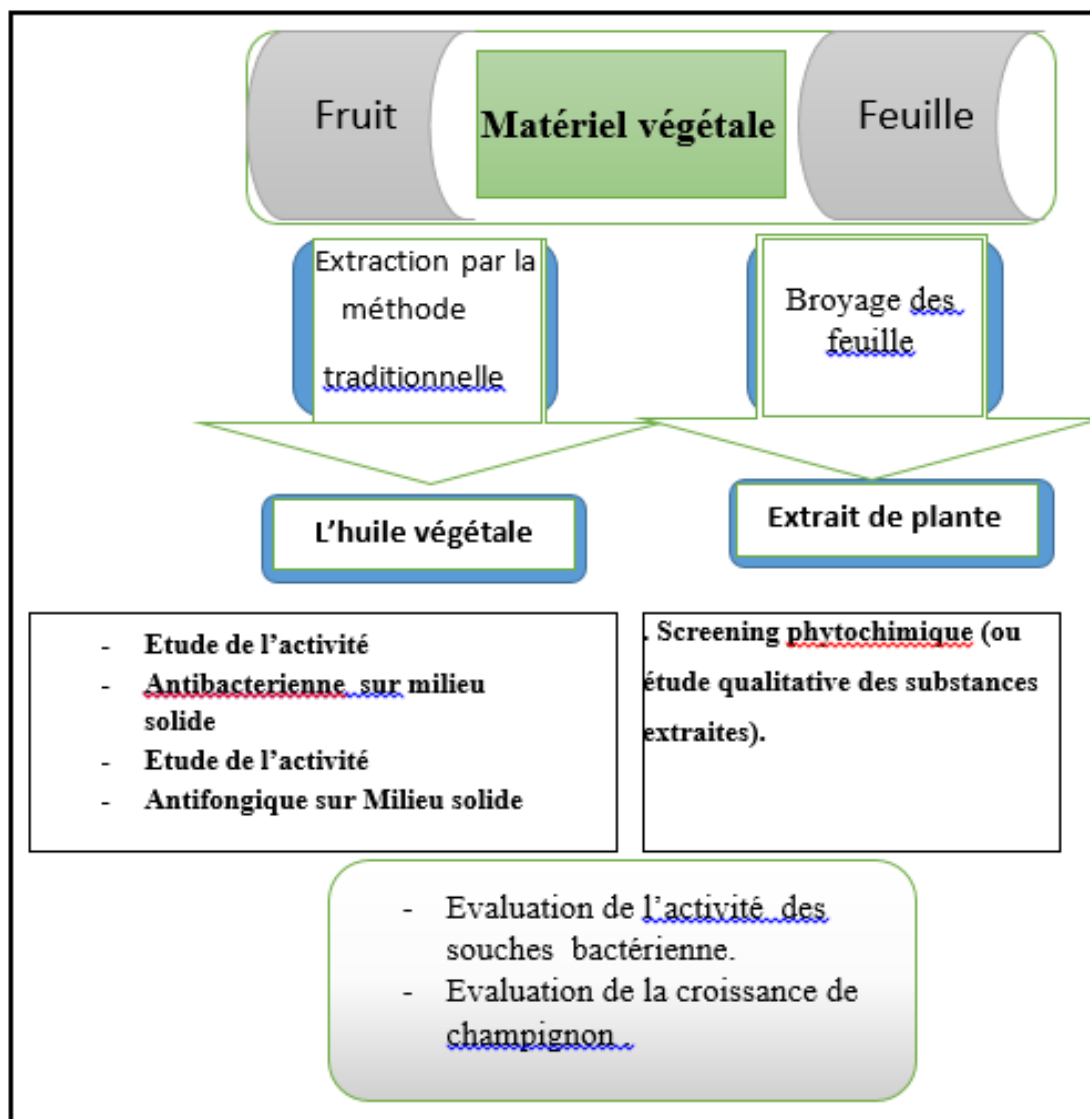


Figure 26 : Schéma représentant les principales démarches expérimentales de notre travail.

CHAPITRE III

Résultats et discussions

Résultats et discussion

III.3.1.4. Le Rendement

Tableau 8 : Le rendement d'extraction :

Extrait	Hexane	Chloroforme	Chlo /meth (1/9)	Méthanol 100%	HV
Masse d'extrait	0,96 g	0,66 g	1,17 g	1,68 g	44,02 g
R %	0,96 %	0,66 %	1,17 %	1,68 %	3,24 %

m = 100 g

m grain = 1355,19 g

Discussion :

1. Efficacité des Solvants :

- **Hexane** et **chloroforme** montrent des rendements relativement faibles, respectivement 0,96% et 0,66%. Cela peut être dû à leur polarité limitée, ce qui les rend moins efficaces pour extraire des composés polaires ou hydrophiles présents dans les feuilles de *Pistacia lentiscus*.
- **Chloroforme/méthanol** a un rendement modéré de 1,17%, suggérant que la combinaison de ces solvants est plus efficace que chaque solvant utilisé individuellement. Le mélange peut extraire une gamme plus large de composés, y compris certains métabolites secondaires qui sont solubles dans les deux solvants.
- **Méthanol** présente un rendement plus élevé de 1,68%, indiquant une meilleure capacité d'extraction des composés polaires, tels que les flavonoïdes, tanins et saponines, comme observé dans les tests phytochimiques.
- **Huile végétale (HV)** montre le rendement le plus élevé à 3,24%.
- Ce résultat est notable et peut être expliqué par l'efficacité de l'huile végétale à extraire les composés lipophiles, tels que les stérols et triterpènes, en grande quantité.

2. Quantité de matière extraction :

- La masse élevée de l'extrait dans l'huile végétale (44,02 g) par rapport aux autres solvants (tous en dessous de 2 g) souligne l'efficacité de l'huile végétale pour extraire les composés lipophiles à partir d'une quantité relativement grande de matière première.

3. Implications des Rendements :

- Les différences de rendements et de masses extraites montrent que la sélection du solvant est cruciale pour cibler des métabolites spécifiques. Les solvants polaires, comme le méthanol, sont plus efficaces pour extraire des composés polaires, tandis que les solvants non polaires, comme l'hexane et l'huile végétale, sont meilleurs pour les composés non polaires.
- Ces résultats peuvent guider la sélection de solvants pour des applications spécifiques. Par exemple, pour extraire des composés à potentiel antioxydant ou antimicrobien, le méthanol pourrait être préféré, tandis que pour extraire des lipides ou stérols à des fins nutraceutiques ou cosmétiques, l'huile végétale serait plus appropriée.

Les rendements d'extraction varient considérablement selon le solvant utilisé, chaque solvant ayant une affinité différente pour les divers métabolites secondaires présents dans les feuilles de *Pistacia lentiscus*. Ces variations doivent être prises en compte lors de la conception de processus d'extraction pour maximiser la récupération des composés d'intérêt selon l'application désirée.

III.3.1.5. Caractéristiques Physicochimiques

III.3.1.6. Résultats Du PH



Figure 27: Résultat de pH

PH1= PH2= PH3= 6

➤ Discussion

Bien que les pH des trois huiles soient identiques, les conditions de récolte et de production ont une grande influence sur leurs propriétés.

- **Huile 1** pourrait être riche en antioxydants, mais avec une teneur en huile plus faible.



- **Huile 2** risque de présenter des signes de dégradation due à l'oxydation survenue pendant le stockage prolongé.
- **Huile 3** est probablement de la meilleure qualité globale, avec une teneur élevée en huile et des profils nutritionnels optimaux.

Pour des utilisations spécifiques, comme les applications culinaires ou les produits cosmétiques, il serait important de choisir l'huile en fonction de ses qualités organoleptiques et de son état de conservation.

III.4. Etude phytochimique d'une plante (*Pistacia Lentiscus L*)

III.4.1. Résultat de screening Phytochimique de *Pistacia Lentiscus L*

Tableau 9 : Résultats des tests phytochimiques de *pistacia .L* :

Métabolites Secondaires	Remarque	Résultats	
Amidon	bleu- violacée	-	
Terpenoides	Brune rougeatre	-	
Anthocyanes	Bleu violet	-	
Ies quinones	Jaune ,Rouge au violet	-	
Leuco anthocyanes	rose , rouge apparait	-	
Les coumarines	Une fluorscence intense	+	
Les tanins	Formation d'un précipité	+	

(-) : Réaction négative

(+) : Réaction positive



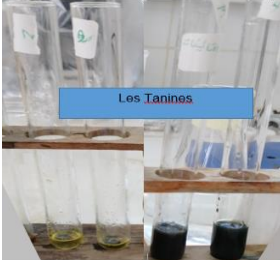
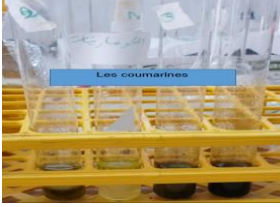
➤ Discussion



Interprétation des résultats :

- La présence de coumarines et de tanins dans les extraits aqueux est confirmée par des réactions positives.
- L'absence d'amidon, de terpenoïdes, d'anthocyanes, de quinones, et de leucoanthocyanes dans ces extraits est indiquée par des réactions négatives.

Tableau 10 : Résultats des tests phytochimiques de *pistacia. L* :

★ Extraction Par Solvant :

Métabolites Secondaires	Remarque	Résultats	
Alcaloïdes	précipité brun rougeâtre	1-Ext exa :+++ 2-EXT Chlo : +++ 3-Extchlo9/meth1 :+ 4-meth :+	
les flavonoïdes.	Jaune	1-Ext exa :+++ 2-EXT Chlo : +++ 3-Ext chlo 9/meth1 :+ 4-meth :+	
Les tanins	brun verdâtre	1-Ext exa : - 2-EXT Chlo : - 3-Ext chlo9/meth1 :++ 4-meth :+++	
Les coumarines	jaune témoin	1-Ext exa :+++ 2-EXT Chlo : + 3-Ext chlo 9/meth1 : - 4-meth : -	

des stérols et des triterpènes	verte témoigne de la présence de stérols anneau rouge témoigne de la présence de triterpènes.	1-Ext hexa :+ 2-EXT Chlo : +++ 3-Ext chlo 9/meth1 :+++ 4-meth :+	 des stérols et des tri terpènes
Les saponines	Plus de 2 cm	+++	 Saponins

(-) : Réaction négative (+) : Réaction moyennement positive (+++) : Réaction fortement positive

Interprétation des résultats :

- Les extraits avec l'hexane et le chloroforme montrent une forte présence d'alcaloïdes, de flavonoïdes, et de saponines.
- Les tanins sont principalement présents dans les extraits méthanol et dans l'extrait chloroforme/méthanol 1/9.
- Les coumarines sont fortement présentes dans les extraits hexane et, dans une moindre mesure, dans l'extrait chloroforme.
- Les stérols et triterpènes sont détectés dans tous les extraits, mais sont particulièrement abondants dans les extraits chloroforme et chloroforme/méthanol.

➤ Discussion :

Les résultats montrent que la nature des solvants utilisés pour l'extraction influence fortement la composition phytochimique des extraits de *Pistacia lentiscus L.*. Les solvants polaires (comme le méthanol) et non polaires (comme l'hexane) peuvent extraire différentes classes de composés. Cette diversité dans les métabolites secondaires extraits par différents solvants suggère que les extraits de *Pistacia lentiscus L.* peuvent avoir des applications variées en fonction des propriétés pharmacologiques des composés extraits. Par exemple, les alcaloïdes et flavonoïdes, largement présents dans les extraits hexane et chloroforme, sont connus pour leurs activités antioxydantes et antimicrobiennes. Les tanins, détectés dans les extraits méthanol et chloroforme/méthanol, possèdent des propriétés astringentes et peuvent être utilisés comme agents anti-inflammatoires.

III.4.4. Le Pourcentage d'eau dans la plante

Tableau 11 : Teneur en eau de *Pistacia lentiscus*

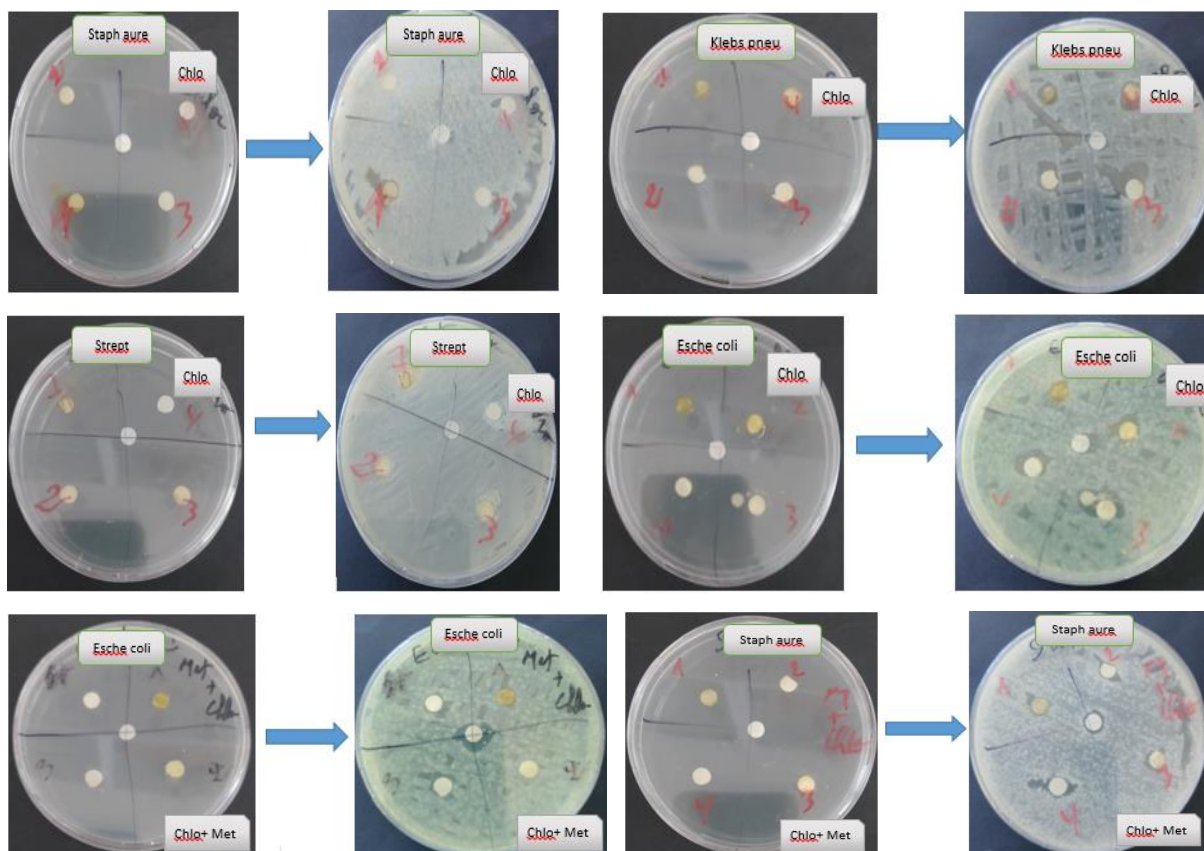
Paramètre	Feuilles
Poids frais (g)	03
Poids sec (g)	2,7200
Teneur en eau (g)	0,0933
Teneur en eau (%)	09,33%

La teneur en eau de feuilles de *Pistacia lentiscus* est de 09,33%. Cette valeur, parait nettement inférieure à 15 % qui est une valeur répondant aux normes de pharmacopée européenne, 2002. Ce résultat démontre que, notre matériel végétal a été séché et conservé dans de bonnes conditions, ce qui rend par conséquent les résultats de nos analyses phytochimiques fiables.

❖ III. 5. Evaluation de l'activité antimicrobienne

❖ III.5.1. Résultat de l'activité antibactérienne:

❖ méthode de disque



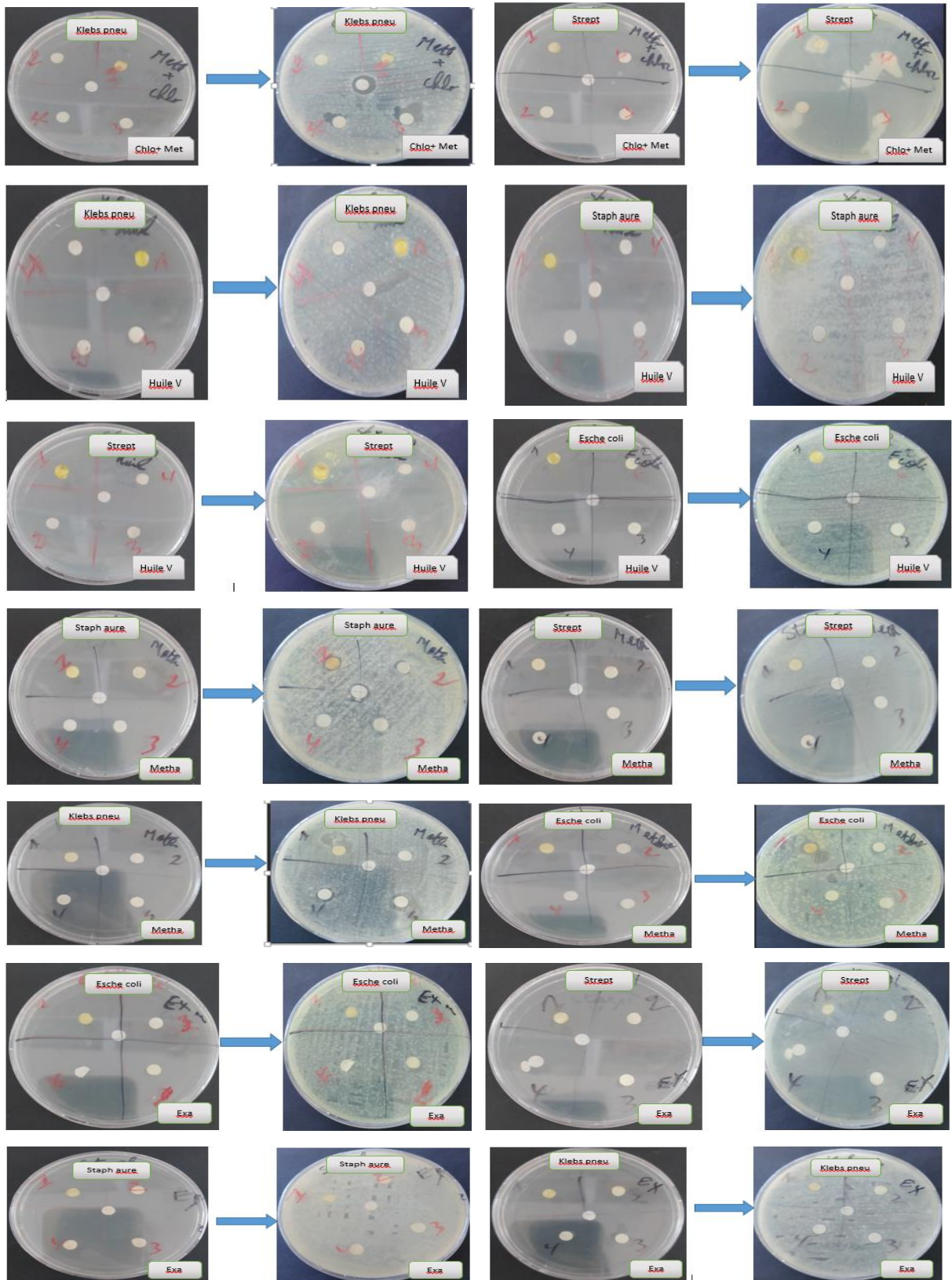


Tableau12 : Zones d'inhibition (en mm) des extraits de *Pistacia Lentiscus* et de leurs solvants contre différentes souches bactériennes

N	Extrait et sa dilution	<i>E coli</i>	<i>Klep</i>	<i>Staph</i>	<i>Stre</i>
1	Ext Hexa(s m) 1mg/ml		10		
2	0.1mg/ml	10	10		
3	0.01mg/ml		10		
4	0.001mg/ml		10		
5	slv exa				
1	ext Chlor(s m) 1mg/ml		10		
2	0.1mg/ml	13	10		10
3	0.01mg/ml	15	20		
4	0.001mg/ml	12	11		10
5	slv Chlor	10	6		
1	ext Chlor/Met(s m)1mg/ml	13		12	
2	0.1mg/ml	8		14	
3	0.01mg/ml	8	13	10	
4	0.001mg/ml	10	11	16	
5	slv Chlor/Met	15	11	8	
1	ext Met(s m)1mg/ml	17	16	8	6
2	0.1mg/ml	8	12	10	18
3	0.01mg/ml		6	10	6
4	0.001mg/ml		8	7	6
5	slv Met			11	
1	ext Huil v (brute)1mg/ml				
2	1mg/ml			6	
3	0.1mg/ml	8	7		
4	0.01mg/ml	6	8		
5	slv dmsso	6			

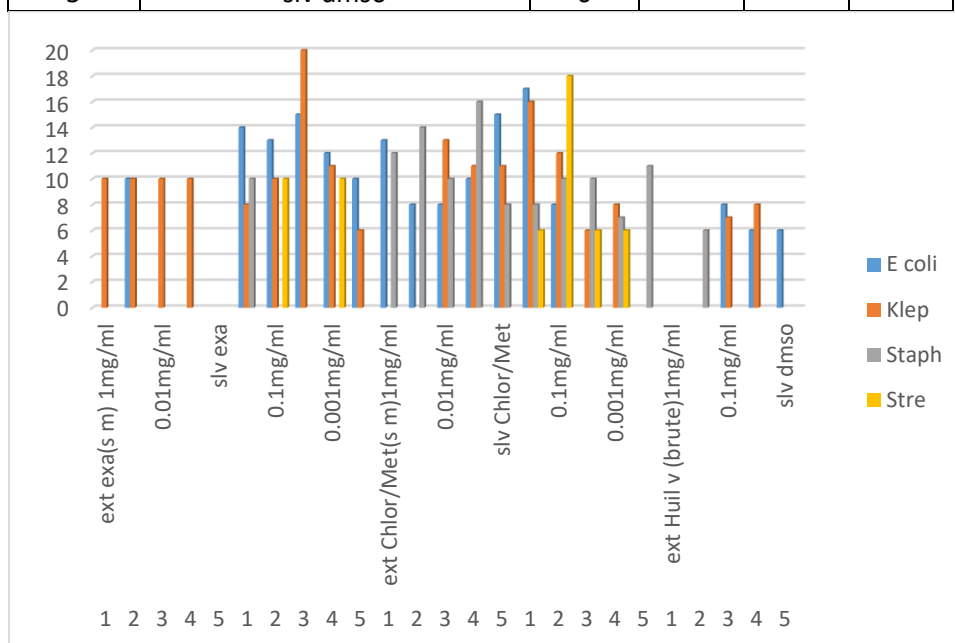


Figure 28 :Activité antibactérienne des extraits de *Pistacia Lentiscus* et de l'Huile végétale contre différentes Souches bactériennes

❖ Interprétation et discussion des résultats

Les résultats fournis dans le tableau montrent l'effet de divers extraits à différentes concentrations sur quatre types de bactéries : *E. coli*, *Klebsiella*, *Staphylococcus aureus* (, et **Streptocoque du groupe (d)**.

Extrait Hexanique

- *E. coli* : Activité observable à 0.1mg/ml (10 mm de zone d'inhibition).
- *Kleb* : Activité notable à 0.1mg/ml, 0.01mg/ml et 0.001mg/ml (10 mm).
- *Staph* : Activité seulement à 0.1mg/ml (10 mm).

Extrait Chloroformique

- *E. coli* : La meilleure activité à 0.01mg/ml (15 mm).
- *Kleb* : Activité maximale à 0.01mg/ml (20 mm).
- *Staph* : Activité notable à 1mg/ml (10 mm) et 0.001mg/ml (10 mm).
- *Stre* : Activité à 1mg/ml et 0.1mg/ml (10 mm).

Extrait Chloroforme/Méthanol (1/9)

- *E. coli* : Bonne activité à 1mg/ml (13 mm).
- *Kleb* : Activité à 0.01mg/ml (13 mm).
- *Staph* : Meilleure activité à 0.1mg/ml (14 mm).
- *Stre* : Forte activité à 0.001mg/ml (16 mm).

Extrait Méthanolique (100%)

- *E. coli* : Activité maximale à 1mg/ml (17 mm).
- *Kleb* : Bonne activité à 1mg/ml (16 mm).
- *Staph* : Activité à 0.1mg/ml (10 mm).
- *Stre* : Forte activité à 0.1mg/ml (18 mm).

Huile végétale (HV)

- *E. coli* : Faible activité à 0.1mg/ml (8 mm) et 0.01mg/ml (6 mm).
- *Kleb* : Faible activité à 0.1mg/ml (7 mm) et 0.01mg/ml (8 mm).
- *Staph* : Activité seulement à 1mg/ml (6 mm).

➤ Discussion

les extraits méthanolique et chloroforme sont les plus efficaces contre les bactéries testées. L'extrait méthanolique a montré une forte activité contre *E. coli* (17 mm) et **Streptocoque du groupe (d)** (18 mm) à des concentrations relativement élevées (1mg/ml et 0.1mg/ml).

Cela corrobore des études antérieures indiquant que les extraits méthanologiques peuvent extraire efficacement des composés bioactifs avec des propriétés antibactériennes significatives .

L'extrait chloroformé a également montré une activité notable, en particulier contre *Klebsiella* (20 mm à 0.01mg/ml).

Ces résultats sont en ligne avec des recherches montrant que les solvants chloroformé peuvent extraire des composés antibactériens actifs contre une variété de bactéries pathogènes .

Les extraits hénaniques ont montré une activité limitée, ce qui suggère que les composés actifs dans ces extraits peuvent ne pas être aussi concentrés ou efficaces que ceux dans les extraits méthanologiques ou chloroformique.

L'huile végétale (Huile v) a montré une activité antibactérienne minimale, ce qui est conforme aux observations selon lesquelles les huiles végétales brutes sont souvent moins efficaces comme agents antibactériens à moins qu'elles ne contiennent des composés spécifiques en concentrations suffisantes.

Les extraits méthanologiques et chloroformiques sont les plus prometteurs pour une utilisation antibactérienne contre *E. coli*, *Klebsiella*, *Staphylococcus aureus*, et **Streptocoque du groupe (d)** Cependant, il est crucial de poursuivre des études supplémentaires pour isoler et identifier les composés actifs spécifiques et évaluer leur sécurité et efficacité dans des applications pratiques.

Tableau13 : Activité antibactérienne de l'extrait hexanique de *Pistacia lentiscus* contre différentes souches bactériennes

N	Extrait et sa dilution	E coli	Klep	Staph	Stre
1	Ext Hexa(s m) 1mg/ml		10		
2	0.1mg/ml	10	10		
3	0.01mg/ml		10		
4	0.001mg/ml		10		
5	slv exa				

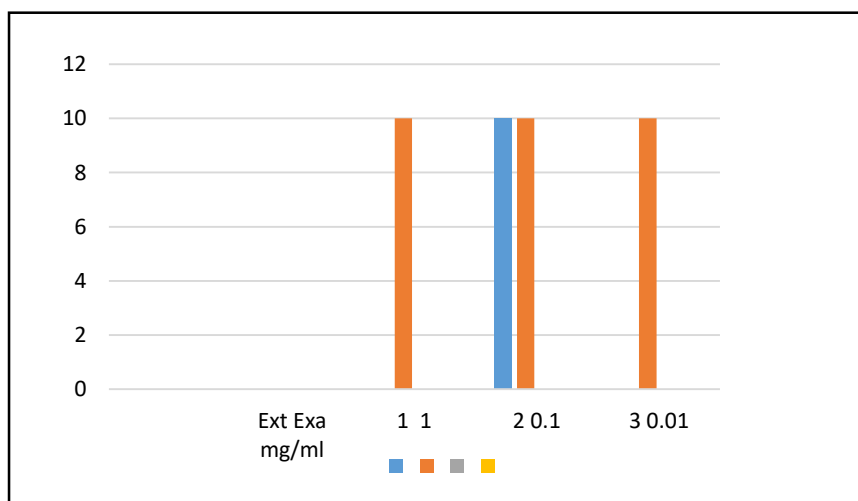


Figure 29 :Activité antibactérienne de l'extrait hexanique des feuilles de *Pistacia lentiscus* à diverses concentrations contre différentes souches bactériennes

❖ **Interprétation et discussion des résultats**

1. *E. coli* : Les données montrent qu'*E. coli* a une zone d'inhibition de 10 mm à une concentration de 0,1 mg/ml. Aucune inhibition n'est rapportée à d'autres concentrations.
2. *Klebsiella* : *Klebsiella* montre une zone d'inhibition de 10 mm aux concentrations de 0,1 mg/ml, 0,01 mg/ml et 0,001 mg/ml.
3. Cela indique que *Klebsiella* est constamment inhibée à ces concentrations plus faibles.
4. *Staphylococcus* : *Staphylococcus* montre une zone d'inhibition constante de 10 mm à toutes les concentrations testées (1 mg/ml, 0,1 mg/ml, 0,01 mg/ml et 0,001 mg/ml). Cela suggère que *Staphylococcus* est très sensible à l'extrait, quelle que soit la concentration.
5. **Streptocoque du groupe (d)** : au qu'une zones d'inhibition pour tout les extrait na été observe que cette bactérie est Résistance.

Cette représentation visuelle permet de comprendre rapidement l'efficacité de l'extrait contre différentes bactéries à diverses concentrations. *Staphylococcus* semble être la plus sensible à l'extrait, tandis qu'*E. coli* ne réagit qu'à une concentration spécifique.

Tableau14 : Activité antibactérienne de l'extrait chloroformique de *Pistacia lentiscus* contre différentes souches bactériennes

N	Extrait et sa dilution	E coli	Klep	Staph	Stre
1	ext Chlor(s m) 1mg/ml		10		
2	0.1mg/ml	13	10		10
3	0.01mg/ml	15	20		
4	0.001mg/ml	12	11		10
5	slv Chlor	10	6		

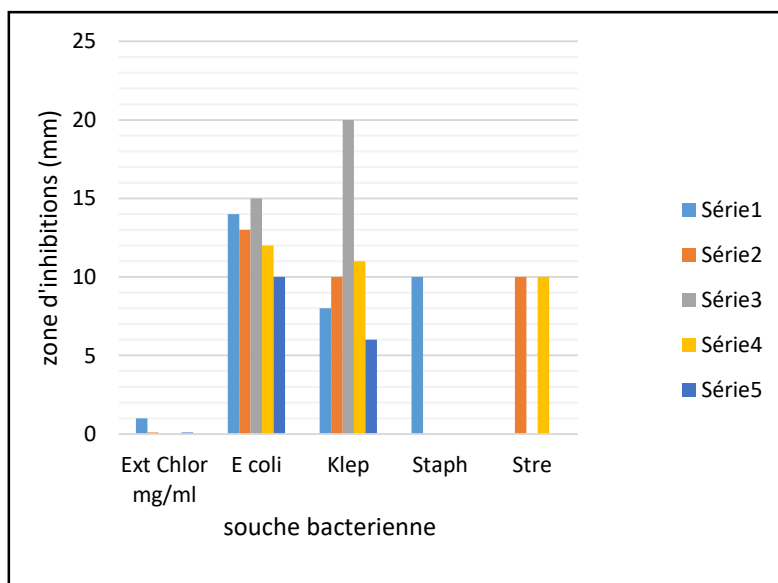


Figure 30 : Activité antibactérienne de l'extrait chloroformique des feuilles de *Pistacia lentiscus* à diverses concentrations contre différentes souches bactériennes

❖ Interprétation et discussion des résultats

- *E. coli* est inhibée de manière significative à toutes les concentrations, avec une inhibition maximale à 0,01 mg/ml.
- *Klebsiella* montre une inhibition maximale à 0,01 mg/ml.
- *Staphylococcus* montre au qu’une zones d’inhibition pour tout les extrait na été observe que cette bactérie est Résistance.
- **Streptocoque du groupe (d)** est inhibée de manière significative à 0,1 mg/ml et 0,001 mg/ml.

Cette représentation visuelle permet de comprendre rapidement l'efficacité du chloroforme contre différentes bactéries à diverses concentrations. *E. coli* et *Klebsiella* semblent être les plus sensibles au chloroforme , tandis que les données pour *Staphylococcus* sont incomplètes et montrent une inhibition à une seule concentration. **Streptocoque du groupe (d)** montre une inhibition à certaines concentrations spécifiques.

Tableau15 : Activité antibactérienne de l'extrait chloroformique /méthanolique de Pistacia lentiscus contre différentes souches bactériennes

N	Extrait et sa dilution	E coli	Klep	Staph	Stre
1	ext Chlor/Met(s m)1mg/ml	13		12	
2	0.1mg/ml	8		14	
3	0.01mg/ml	8	13	10	
4	0.001mg/ml	10	11	16	
5	slv Chlor/Met	15	11	8	

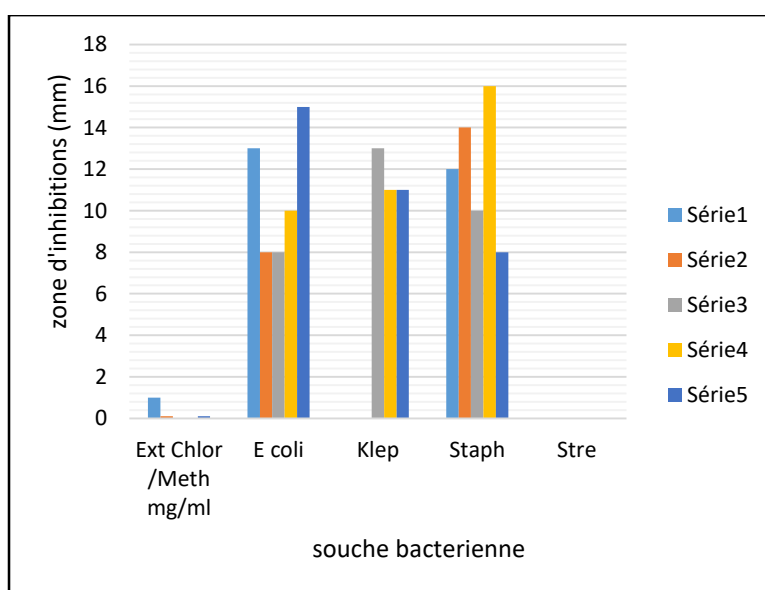


Figure 31 :Activité antibactérienne de l'extrait chloroformique/méthanolique des feuilles de Pistacia lentiscus à diverses concentrations contre différentes souches bactériennes

❖ Interprétation Et Discussion Des Résultats

- *E. coli* montre une inhibition variable avec une zone d'inhibition maximale à 0,1 mg/ml.
- *Klebsiella* montre une inhibition significative seulement à certaines concentrations.
- *Staphylococcus* montre une inhibition variable avec une zone d'inhibition maximale à 0,001 mg/ml.

Streptocoque du groupe (d) : au qu'une zones d'inhibition pour tout les extrait na été observe que cette bactérie est Résistance.

Cette représentation visuelle permet de comprendre rapidement l'efficacité du mélange chloroforme/méthanol contre différentes bactéries à diverses concentrations. *E. coli* et *Staphylococcus* montrent une inhibition à toutes les concentrations, tandis que *Klebsiella* est inhibée uniquement à des concentrations spécifiques.

Tableau16: Activité antibactérienne de l'extrait méthanolique de *Pistacia lentiscus* (Ext Hexa) contre, différentes souches bactériennes

N	Extrait et sa dilution	E coli	Klep	Staph	Stre
1	ext Met(s m)1mg/ml	17	16	8	6
2	0.1mg/ml	8	12	10	18
3	0.01mg/ml		6	10	6
4	0.001mg/ml		8	7	6
5	slv Met			11	

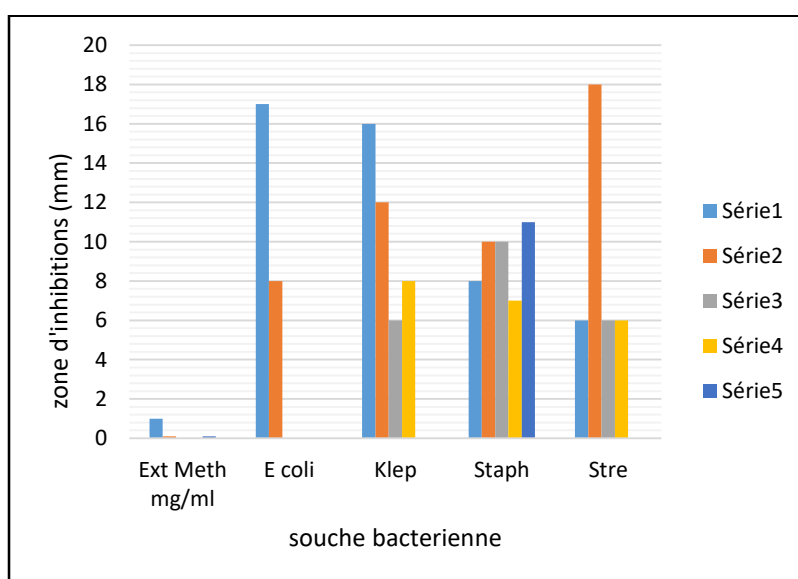


Figure 32 :Activité antibactérienne de l'extrait méthanolique des feuilles de *Pistacia lentiscus* à diverses concentrations contre différentes souches bactériennes

❖ Interprétation Et Discussion Des Résultats

- *E. coli* montre une inhibition significative à des concentrations plus élevées.
- *Klebsiella* montre une inhibition à toutes les concentrations testées.
- *Staphylococcus* montre une inhibition variable à toutes les concentrations, avec une légère augmentation à 0,1 mg/ml.
- **Streptocoque du groupe (d)** montre une inhibition significative à 0,1 mg/ml, avec une inhibition moindre à d'autres concentrations.

Cette représentation visuelle permet de comprendre rapidement l'efficacité du méthanol contre différentes bactéries à diverses concentrations. *E. coli* et *Klebsiella* sont inhibées de manière significative à des concentrations plus élevées, tandis que *Staphylococcus* et Streptocoque du groupe (d) montrent une inhibition variable.

Tableau17 : Activité antibactérienne de l'extrait brut de Huil v (1 mg/ml) et ce dilution sur différentes souches bactériennes

N	Extrait et sa dilution	<i>E coli</i>	<i>Klep</i>	<i>Staph</i>	<i>Stre</i>
1	ext Huil v (brute)1mg/ml				
2	1mg/ml			6	
3	0.1mg/ml	8	7		
4	0.01mg/ml	6	8		
5	slv dms0	6			

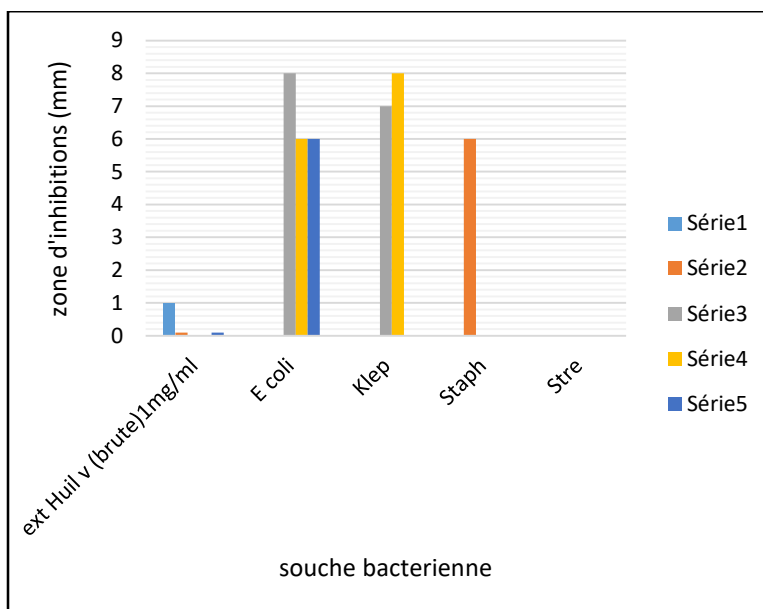


Figure 33 :Effet antibactérien d'un extrait brut de Huil v (1 mg/ml) et ce dilution sur différentes souches bactériennes

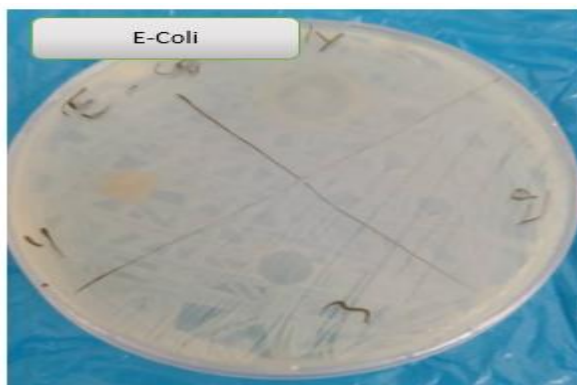
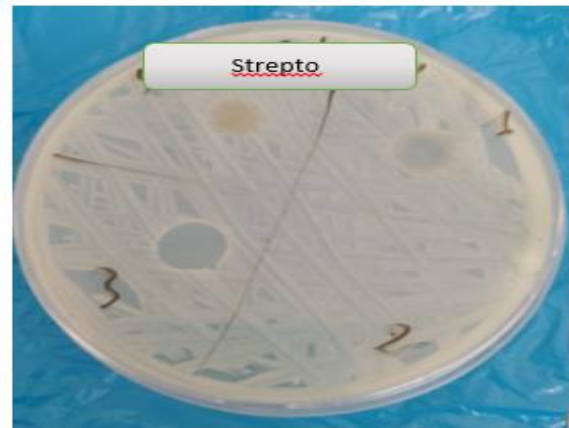
❖ Interprétation Et Discussion Des Résultats

- *E. coli* montre une inhibition à des concentrations spécifiques, avec des zones d'inhibition similaires à 0,001 mg/ml et 0,1 mg/ml.
- *Klebsiella* montre une inhibition à ces concentrations spécifiques, avec une légère augmentation de l'inhibition à 0,001 mg/ml.
- Interprétation : *Staphylococcus* montre une inhibition à une seule concentration testée (0,1 mg/ml).

Streptocoque du groupe (d) montre au qu'une zones d'inhibition pour l'huile V brute na été observe que cette bactérie est Résistance.

Cette représentation visuelle permet de comprendre rapidement l'efficacité de l'huile brute contre différentes bactéries à diverses concentrations. *E. coli* et *Klebsiella* montrent une inhibition à des concentrations spécifiques, tandis que *Staphylococcus* montre une inhibition à une seule concentration.

Resultat de la methode de spot



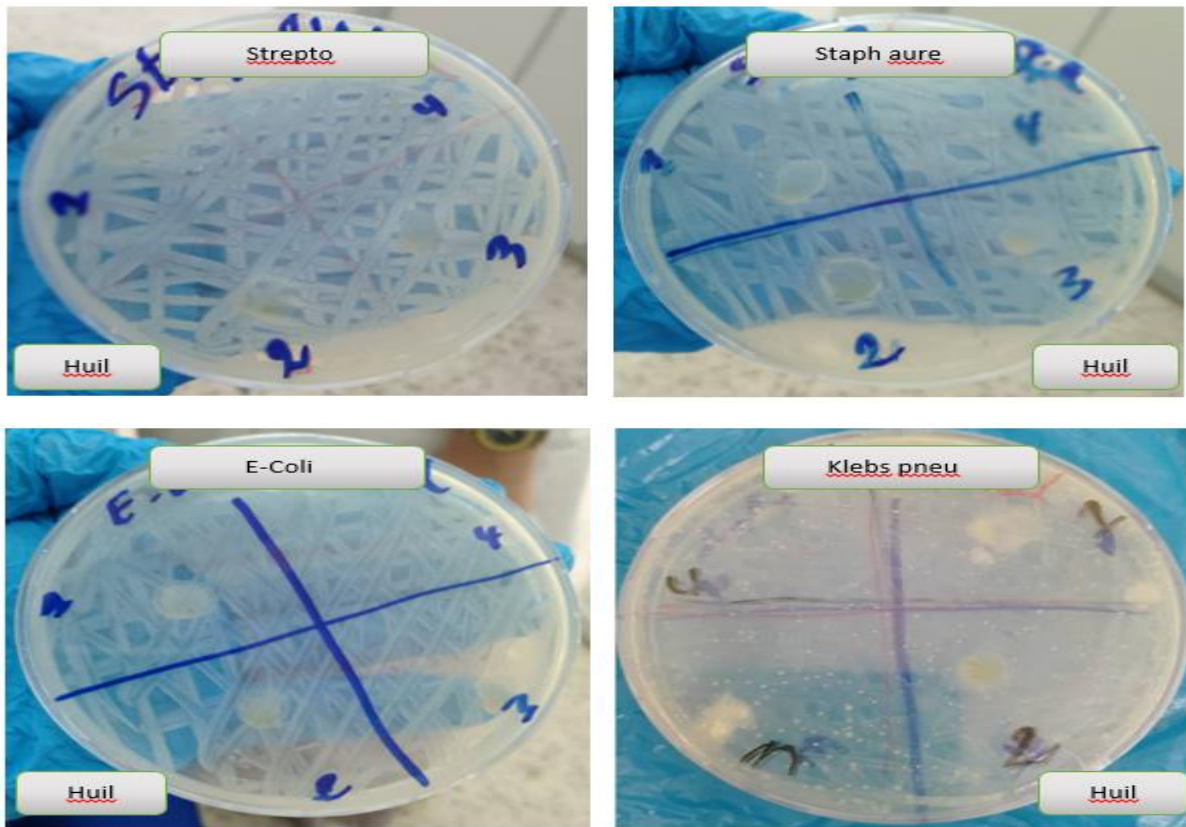


Tableau18 : Efficacité de divers agents antimicrobiens sur différentes souches bactériennes

souche bacterienne	E coli	Klep	Staph	Stre
ext eth p	6	0	6.3	0
ext chlor	9	10.3	8.6	11.3
ext met	14	15.3	18.3	7.3
ext e distile	0	0	0	9.3

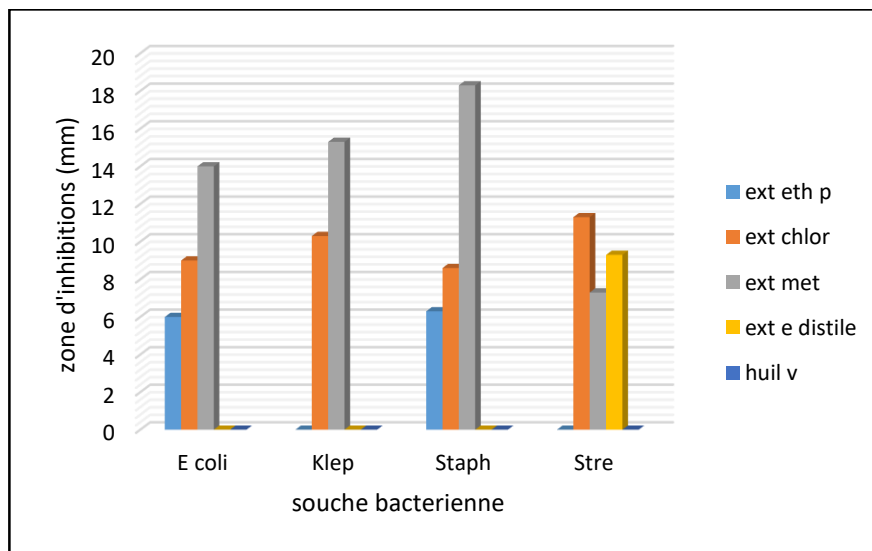


Figure 34 : Efficacité De Divers Agents Antimicrobiens Sur Différentes Souches Bactériennes

❖ Interprétation et discussion des résultats**1. Efficacité des extraits sur *E. coli* :**

- L'extrait méthanolique (ext met) est le plus efficace avec un score de 14.
- L'extrait éther de pétrole (ext eth p) et chloroforme (ext chlor) montrent aussi une activité, avec des scores de 6 et 9 respectivement.
- Les autres extraits (ext e distile et huile v) n'ont montré aucune activité contre *E. coli*.

2. Efficacité des extraits sur *Kleb* :

- L'extrait méthanolique est le plus efficace avec un score de 15.3.
- L'extrait chloroforme montre une bonne activité avec un score de 10.3.
- L'extrait éther de pétrole et les autres extraits n'ont montré aucune activité contre *Kleb*.

3. Efficacité des extraits sur *Staph* :

- L'extrait méthanolique est encore le plus efficace avec un score de 18.3.
- Les extraits éther de pétrole et chloroforme montrent une activité modérée, avec des scores de 6.3 et 8.6 respectivement.
- Les autres extraits n'ont montré aucune activité contre *Staph*.

4. Efficacité des extraits sur *Stre* :

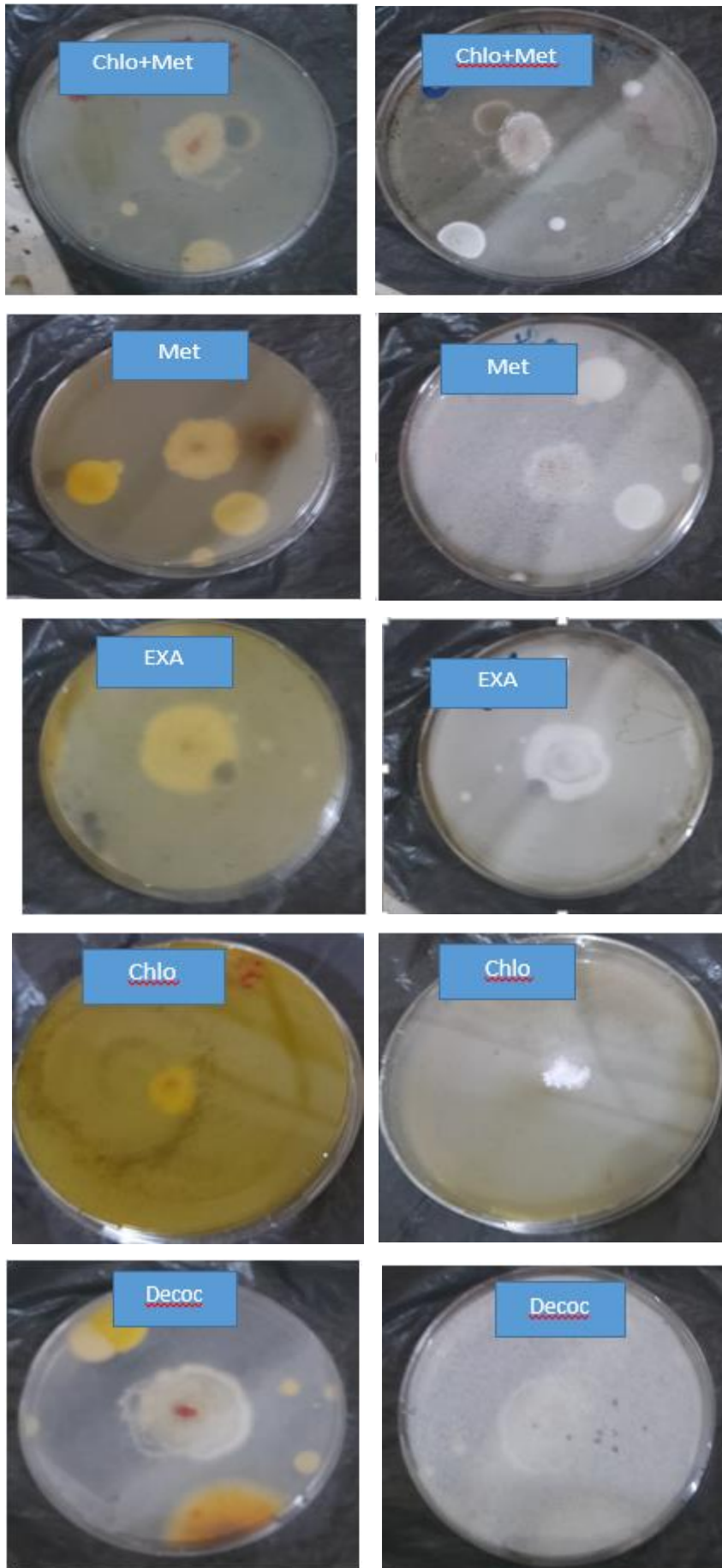
- L'extrait chloroformique est le plus efficace avec un score de 11.3.
- L'extrait méthanolique montre une activité modérée avec un score de 7.3.
- L'extrait éther de pétrole n'a montré aucune activité contre *Stre*.
- L'extrait aqueux montre une activité notable avec un score de 9.3
- Huile v n'a montré aucune activité contre *Stre*.

❖ Discussion

Les résultats montrent que les extraits méthanoliques (ext met) et chloroformiques (ext chlor) sont les plus efficaces contre les bactéries testées, qu'elles soient Gram-négatif ou Gram-positif.

Les extraits méthanoliques ont montré une plus grande zone d'inhibition contre *Staphylococcus*, une bactérie Gram-positif. Les extraits aqueux (ext e distile) ont montré une efficacité limitée, n'étant efficaces que contre *Streptococcus* du groupe (d). L'huile végétale (huile v) n'a montré aucune activité inhibitrice contre les bactéries testées.

❖ III.5.2. Résultat de l'activité anti fongique



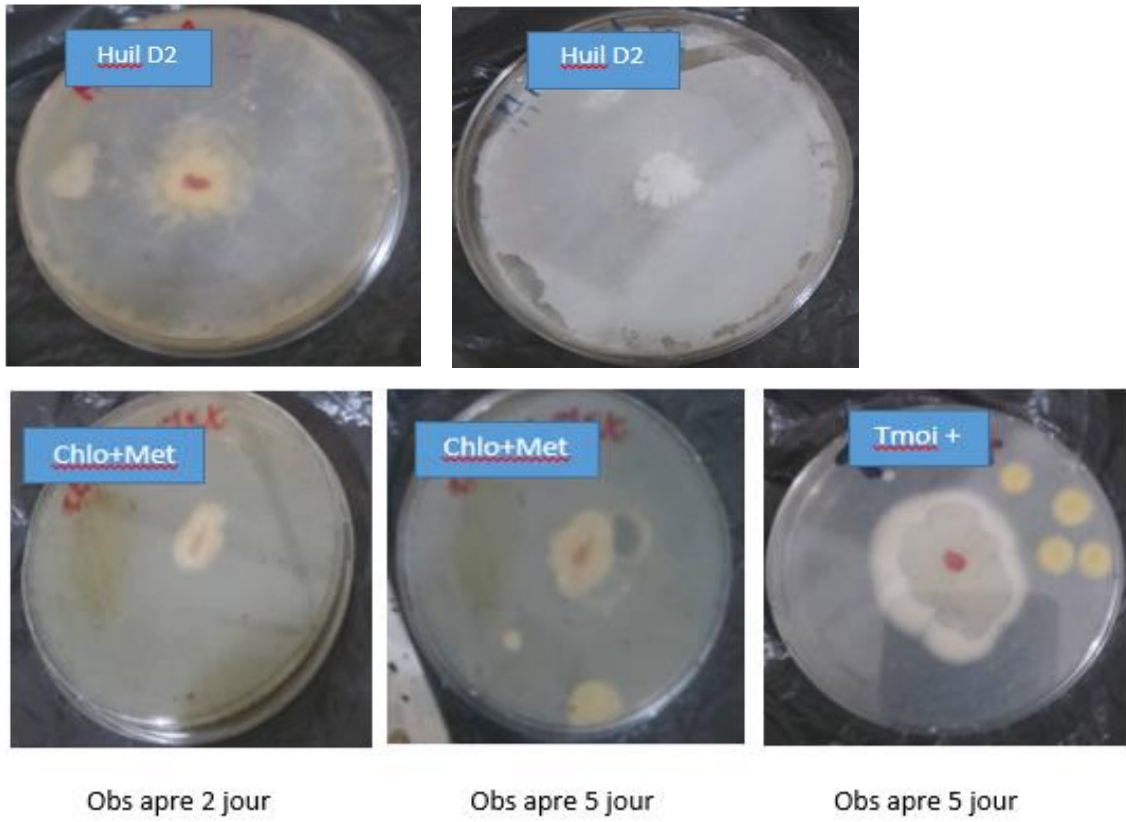






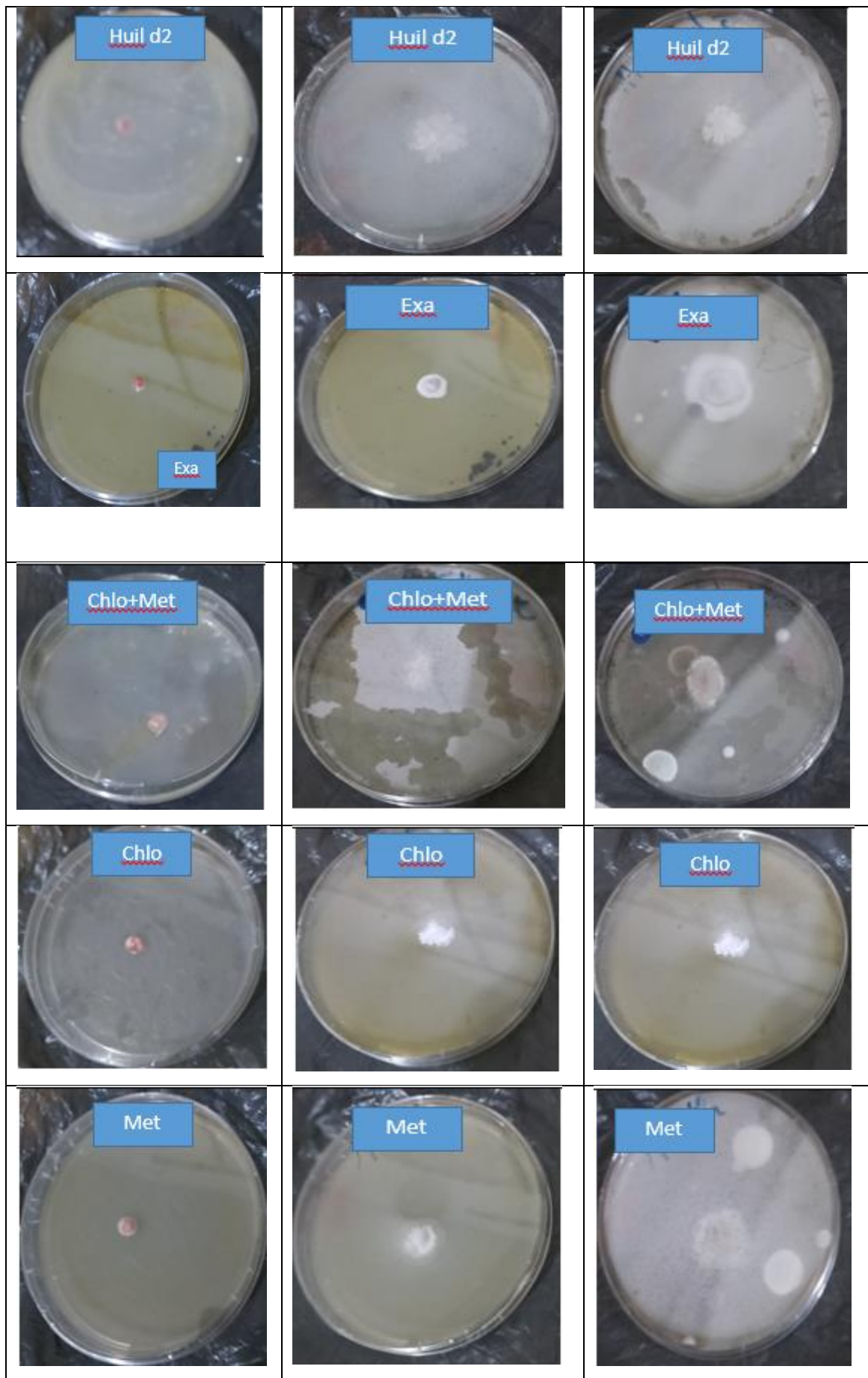
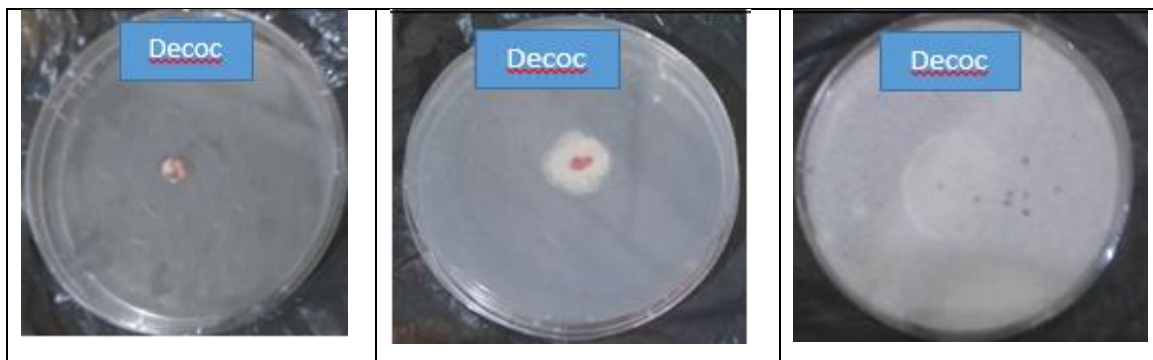


Tableau 19 : Résultat de l'activité antifongique :

	Observation après 2 jour	Observation après 5 jour
		
		





➤ **Interprétation et discussion**

Tableau 20 : Activité antifongique des différents extraits :

Extraits	Observations Après 2 jours	Observations Après 5 jours
Témoin +	Une faible croissance fongique.	Augmentation significative de la croissance fongique.
Huile B2 (Huile brute 2)	Croissance fongique modérée	Croissance fongique notable, mais certaines zones restent claires, suggérant une activité antifongique partielle
Huile d2 (Dilution de l'huile 2)	Croissance fongique similaire à celle de l'Huile B2	Croissance fongique similaire à celle de l'Huile B2
Exa (Extrait exanique)	Croissance fongique minimale, indication d'une bonne activité antifongique.	Croissance fongique plus importante qu'après 2 jours, mais encore relativement contrôlée
Chlo (Extrait chloroformique)	Croissance fongique très limitée.	Croissance fongique très faible, indiquant une bonne activité antifongique
Met (Extrait méthanolique)	Croissance fongique modérée	Croissance fongique observable mais pas excessive
Decoc (Extrait par décoction)	Croissance fongique limitée	Croissance fongique modérée

Chlo+Met (Combinaison d'extraits chloroformique et méthanolique)	Très peu de croissance fongique, indiquant une forte activité antifongique combinée.	Très faible croissance fongique, indiquant une forte activité antifongique
---	--	--

- **Témoin+** : Traitement témoin positif
- **Huile B2** : Huile brute 2
- **Huile d2** : Dilution de l'huile 2
- **Exa** : Extrait hexanoïque
- **Chlo** : Extrait chloroformique
- **Met** : Extrait méthanolique
- **Decoc** : Extrait par décoction
- **Chlo+Met** : Combinaison d'extraits chloroformique et méthanolique

Les traitements avec l'extrait chloroformique et l'extraits chloroformique / méthanolique montrent une forte activité antifongique, limitant la croissance des colonies fongiques même après 5 jours.

L'extrait Hexanique montre également une activité antifongique significative mais légèrement moins efficace que les traitements combinés.

L'**huile brute 2** et la **dilution de l'huile 2** montrent une activité antifongique modérée, avec une croissance fongique notable mais partiellement contrôlée, ce qui suggère que l'huile brute et sa dilution ont une certaine efficacité antifongique, bien que moins puissante que les autres traitements comme les extraits chloroformique et méthanolique combinés.

Le témoin positif (Tmoi+) présente une croissance fongique notable, confirmant l'efficacité des autres traitements.

CONCLUSION

Conclusion

L'étude sur les extraits de *Pistacia lentiscus* L. et l'huile végétale associée a révélé une activité antimicrobienne significative et une composition phytochimique diversifiée.

Les extraits aqueux contiennent des coumarines et des tanins, tandis que les extraits par solvants montrent une grande variété de composés bioactifs, tels que des alcaloïdes, flavonoïdes, tanins, coumarines, saponines, stérols et triterpènes.

Les tests antifongiques ont démontré que les extraits chloroformiques et méthanoliques étaient les plus efficaces, alors que l'huile brute avait une activité modérée. Les tests antibactériens ont indiqué une forte activité des extraits méthanoliques contre *E. coli* et Streptocoques groupe D, et des extraits chloroformiques contre *Klebsiella*.

L'huile végétale brute a montré une activité antibactérienne minimale.

Les résultats suggèrent que les extraits méthanoliques et chloroformiques de *Pistacia lentiscus* L. ont un potentiel significatif en tant qu'agents antimicrobiens naturels. Les études futures devraient isoler et identifier les composés spécifiques responsables de cette activité et évaluer leur sécurité et efficacité dans des applications pratiques.

Implications

Pour la Recherche Future

Il est crucial de poursuivre des études pour isoler et identifier les composés spécifiques responsables de l'activité antimicrobienne et évaluer leur sécurité et efficacité dans des applications pratiques.

Applications Pratiques

Ces extraits pourraient être développés en tant qu'agents naturels pour des applications médicinales ou conservatrices, offrant une alternative aux agents synthétiques.

Limites de l'étude

L'étude n'a pas inclus tous les possibles métabolites secondaires, et une analyse plus exhaustive pourrait révéler d'autres composés bioactifs.

Les tests ont été réalisés in vitro, et des études supplémentaires in vivo sont nécessaires pour confirmer l'efficacité et la sécurité des extraits.

En conclusion, *Pistacia lentiscus* L. montre un potentiel prometteur en tant que source naturelle de composés antimicrobiens, en particulier dans ses extraits méthanoliques et chloroformiques.

Cela ouvre la voie à des recherches et développements futurs dans ce domaine, avec des perspectives intéressantes pour l'application pratique de ces extraits comme agents antimicrobiens naturels.

ANNEXES

Annexes

Annexe 01

Matériel technique

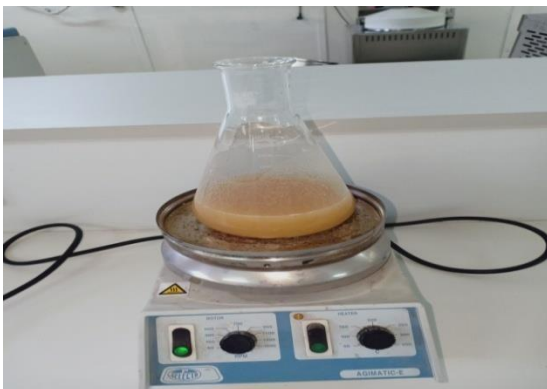
- Etuve
- Plaque chauffante
- Balance
- Boites de pétri
- Bec bunsen
- Bain marie
- Autoclave
- Homogénéisateur
- Microscope
- Autres matériels (bêchers, pipettes, micro pipette, flacons, éprouvettes graduées, erlenmeyer)



Microscope optique



balance



Homogénéisateur



Autoclave



Bain marie



Etuve

Annexe 2

Solvant

- Ether de pétrole
- Chloroforme (CHCl_3)
- Méthanol (CH_3OH)
- Ammoniac (NH_4OH)
- Hydroxyde de sodium (NaOH)
- Trichlorure de fer (FeCl_3)
- Anhydride acétique ($\text{C}_4\text{H}_6\text{O}_3$)
- Acide sulfurique (H_2SO_4)
- DMSO
- Trichloro aluminum (AlCl_3)
- Le carbonate de sodium (Na_2CO_3 7.5%)
- glucose
- agar agar
- gélose nutritif
- Muller Hinton (mH)
- P.D.A

Annexe 3

Préparation milieu de
culture pda Protocole :

Milieu P.D.A

200 g de pomme de terre

20 g d'agar agar

20 g de glucose

1000 ml d'eau distillée

Peler, laver, couper en tranches minces 200g de pomme de terre, cuire 20min dans 800ml d'eau, filtrer sur mousseline.

Mélanger 20g de glucose avec 20g de gélose dans 200ml d'eau ,mettre en agitation puis ajouter l'eau de la pomme de terre ,ajuster avec l'eau distillée jusqu'à 1000ml, mettre encore en agitation pendant 15min .

Stériliser 20min à 120c°.

REFERENCES

BIBLIOGRAPHIQUES

Références bibliographiques

- Abbas A., Miloudi S., (2016). Evaluation de l'activité antioxydante et antifongique d'une plante médicinale : *Pistacia lentiscus*. . Mémoire de fin d'études en sciences Biologiques. Université Mohamed El Bachir El Ibrahimi B.B.A.Algerie. pp: 55.
- Abdeldjelil Mohamed Cherif, effet cicatrisants de produits à base d'huile de lentisque (*pistacialentiscus* L) sur les brulures expérimentales chez le rat, thèse de doctorat, université de Frères Mentouri Constantine 1, 2016.
- Aissi, O., Boussaid, M., & Messaoud, C. (2016). Essential oil composition in natural populations of *Pistacia lentiscus* L. from Tunisia: Effect of ecological factors and incidence on antioxidant and antiacetylcholinesterase activities. *Industrial Crops and Products*, 91, 56-65.
- Amhamdi, H., Aouinti, F., Wathelet, J. P., & Elbachiri, A. (2009). Chemical composition of the essential oil of *Pistacia lentiscus* L. from Eastern Morocco. *Records of Natural Products*, 3(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* L. *Journal of Fundamental and Applied Sciences*, 6(1), 77-91.
- Arabi A ., Djibaoui R ., Malihac C., Sisbane I ., Lattab A ., Bechelaghem N ., Dahah H ., Reziga Ch ., Ettalhi Me ., TALEB F ., Ouar Korichi M ., Dahloul L.,(2017). Chemical composition and antibacterial activity of essential oil from leaves and twigs of *Pistacia lentiscus* growing in Mostaganem Province (Algeria). *International Journal of Biosciences. Int. J. Biosci. Vol. 10, No. 5*, pp : 146-158.
- Atmani, D., Chaher, N., Berboucha, M., Ayouni, K., Lounis, H., Boudaoud, H., ... & Atmani, D. (2009). Antioxidant capacity and phenol content of selected Algerian medicinal plants. *Food chemistry*, 112(2), 303-309.
- Belfadel F ,Z., (2009). Huile de fruits de *Pistacia lentiscus* Caractéristiques physico-chimiques et effets biologiques (Effet cicatrisant chez le rat). Mémoire présenté pour obtenir le diplôme de : magister en chimie organique. Université mentouri constantine.
- Bellakhdar, J. (2013). *Le Maghreb à travers ses plantes: plantes, productions végétales et traditions au Maghreb*. Editions Le Fennec.
- Benhammou, N., Bekkara, F. A., & Panovska, T. K. (2008). Antioxidant and antimicrobial activities of the *Pistacia lentiscus* and *Pistacia atlantica* extracts. *African journal of pharmacy and pharmacology*, 2(2), 022-028.
- Benmehdi, I. (2012). Contribution à une étude phyto-écologique des groupements à *Pistacia lentiscus* du littoral de Honaine (Tlemcen, Algérie occidentale). *Mém Mag. Univ. Abou Bakr Belkaid Tlemcen*, 159.

- Bensalem, G. (2015). L'huile de lentisque (*Pistacia lentiscus* L.) dans l'est algérien caractéristiques physico-chimiques et composition en acides gras. Mémoire Magister, université constantine.
- Bessas, A., Benmoussa, L., & Kerarma, M. (2008). Dosage biochimique des composés phénoliques dans les dattes et le miel récoltés dans le sud Algérien. Diplôme d'Ingénieur d'Etat en biologie, faculté des sciences, Université Djillah Liabes, Sidi Bel Abbes, Algérie, 81.
- Boelens, M. H., & Jimenez, R. (1991). Chemical composition of the essential oils from the gum and from various parts of *Pistacia lentiscus* L.(mastic gum tree). *Flavour and fragrance journal*, 6(4), 271-275.
- Bougherara Merzougui, I. (2015). Caractérisation physicochimique et biochimique d'un extrait de *Pistacia Lentiscus* et détermination de ses effets sur certains paramètres biologiques (Doctoral dissertation, Thèse de Doctorat, Université Badji Mokhtar, Annaba).
- Chaabani, E. (2019). Eco-extraction et valorisation des métabolites primaires et secondaires des différentes parties de *Pistacia lentiscus* (Doctoral dissertation, Université d'Avignon; Université de Carthage (Tunisie)).
- Charef, M., Yousfi, M., Saidi, M., & Stocker, P. (2008). Determination of the fatty acid composition of acorn (*Quercus*), *Pistacia lentiscus* seeds growing in Algeria. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 85, 921-924.
- Cowan, M. M. (1999). Plant products as antimicrobial agents. *Clinical microbiology reviews*, 12(4), 564-582.
- Djedaia, M. S. (2017). Etude physico-chimique et caractérisation du fruit de la plante lentisque (*Pistacia Lentiscus* L.). UNIVERSITÉ BADJI MOKHTAR-ANNABA.
- DJEMAI ZOUGHLACHE, S. O. U. M. I. A. (2009). Etude de l'activité biologique des extraits du fruit de *Zizyphus lotus* L (Doctoral dissertation, Université de Batna 2).
- Dogan, Y., Baslar, S., Ayden, H., & Mert, H. H. (2003). A study of the soil-plant interactions of *Pistacia lentiscus* L. distributed in the western Anatolian part of Turkey. *Acta Botanica Croatica*, 62(2), 73-88.
- Greathead, H. (2003). Plants and plant extracts for improving animal productivity. *Proceedings of the nutrition Society*, 62(2), 279-290.
- Hamdan, I. I., & Afifi, F. U. (2004). Studies on the in vitro and in vivo hypoglycemic activities of some medicinal plants used in treatment of diabetes in Jordanian traditional medicine. *Journal of ethnopharmacology*, 93(1), 117-121.
- Hammi Siham et al, Effets cicatrisants d'une crème conçue à base d'huile de lentisque (*Pistacialentiscus* L.) et de miel sur les brûlures expérimentales chez les rats, mémoire de master, université de Bouira, 2020.
- HARRAT, M. Étude de l'activité antioxydante des extraits des feuilles du *Pistacia lentiscus* L (Doctoral dissertation, UNIVERSITÉ KASDI MERBAH OUARGLA).

- Hmimsa, Y. (2004). L'agrobiodiversité dans les agrosystèmes traditionnels de montagnes: Cas du Rif marocain. Mémoire de troisième cycle. Université Abdelmalek Essaâdi, Faculté des Sciences, Tétouan, Maroc, 100.
- Keynan, N., GELLER-BERNSTEIN, C. A. R. M. I., Waisel, Y., Bejerano, A., SHOMER-ILAN, A. D. I. V. A., & Tamir, R. (1987). Positive skin tests to pollen extracts of four species of Pistacia in Israel. *Clinical & Experimental Allergy*, 17(3), 243-249.
- Keynan, N., Tamir, R., Waisel, Y., Reshef, A., Spitz, E., Shomer-Ilan, A., & Geller-Bernstein, C. (1997). Allergenicity of the pollen of Pistacia. *Allergy*, 52(3), 323-330.
- Kivçak B, Akay S., (2005). Quantitative détermination of α -tocopherol in Pistacia lentiscus, Pistacia lentiscus var. chia and Pistacia terebinthus by TLC-densitometry and colorimetry. *Fitoterapia* 76 (2005)pp : 62–66.
- Koutsoudaki, C., Krsek, M., & Rodger, A. (2005). Chemical composition and antibacterial activity of the essential oil and the gum of Pistacia lentiscus Var. chia. *Journal of agricultural and food chemistry*, 53(20), 7681-7685.
- LOOMIS, W. D., & CROTEAU, R. (1980). Biochemistry of terpenoids. In *Lipids: structure and function* (pp. 363-418). Academic Press.
- Lugasi, A. (2003). The role of antioxidant phytonutrients in the prevention of diseases. *Acta biologica szegediensis*, 47(1-4), 119-125.
- Maameri-Habibatni, Z. (2014). Pistacia lentiscus L.: Evaluation pharmacotoxicologique (Doctoral dissertation, Thèse de Doctorat en Sciences. Université Constantine 1, Algérie).
- Medjekane, M. (2017). Prévalence de l'infection à Helicobacter pylori et son inhibition par des molécules bioactives (Doctoral dissertation, ALLEM RACHIDA).
- Mezni, F., Khaldi, A., Maaroufi, A., Hamrouni, L., Msallem, M., Boussaid, M., & Khouja, M. L. (2012, March). COMPOSITION EN ACIDE GRAS ET PROPRIETES BIOLOGIQUES DE L'HUILE FIXE DES FRUITS DE PISTACIA LENTISCUS L. In *International symposium on Medicinal and Aromatic Plants-SIPAM 2012* 997 (pp. 219-224).
- Nejib, M. E. K. N. I. (2011). GC/MS Chemical Analysis of Pistashia lentiscus fatty oil from the north of Tunisia.
- Ouelmouhoub S., (2005). Gestion multi-usage et conservation du patrimoine forestier : cas des suberaies du parc national Del kala (ALGÉRIE).
- Piccolella, S., Nocera, P., Carillo, P., Woodrow, P., Greco, V., Manti, L., ... & Pacifico, S. (2016). An apolar Pistacia lentiscus L. leaf extract: GC-MS metabolic profiling and evaluation of cytotoxicity and apoptosis inducing effects on SH-SY5Y and SK-N-BE (2) C cell lines. *Food and Chemical Toxicology*, 95, 64-74.
- Quézel, P., & Médail, F. (2003). *Ecologie et biogéographie des forêts du bassin méditerranéen* (Vol. 572). Paris: Elsevier.
- Samouelian, F. (2009). *Génétique moléculaire des plantes*.
- Seigue, A. (1985). *La foret circummediterraneenne et ses problemes*.
- Spott, D. A., & Shelley, W. B. (1970). Exanthem due to contact allergen (benzoin) absorbed through skin. *JAMA*, 214(10), 1881-1882.

- Vermeris, W., & Nicholson, R. (2007). Phenolic compound biochemistry. Springer Science & Business Media.
- Yarnell, E. (2007). Plant chemistry in veterinary medicine: medicinal constituents and their mechanisms of action. *Veterinary herbal medicine*, 159-182.
- Yosr, Z., Imen, B. H. Y., Rym, J., Chokri, M., & Mohamed, B. (2018). Sex-related differences in essential oil composition, phenol contents and antioxidant activity of aerial parts in *Pistacia lentiscus* L. during seasons. *Industrial crops and products*, 121, 151-159.
- Lemaistre J. (1959). *Le Pistachier (Etude Bibliographique)*. *Fruits* 14, 57 – 77.
- Landau, S., Muklada, H., Markovics, A., & Azaizeh, H. (2014). Traditional uses of *Pistacia lentiscus* in veterinary and human medicine. *Medicinal and aromatic plants of the middle-east*, 163-180.
- Boubekri, C. (2014). *Etude de l'activité antioxydante des polyphénols extraits de Solanum melongena par des techniques électrochimiques (Doctoral dissertation, Université Mohamed Khider Biskra)*.
- Macheix J-J., Fleuriet A. et Jay-Allmend C., 2005. *Les composés phénoliques des végétaux. Collection biologie. Presses polytechniques et universitaires romandes. Lausanne, 192 p.*
- Tadeusz Aniszewski., (2007). *Alkaloids secrets of life, Alkaloid chemistry, Biological significance, Applications and Ecological Role, 1st Edition Elsevier, pp : 334.*
- Rahal K. et al., (2005). *Standardisation de l'antibiogramme en médecine humaine à l'échelle nationale selon les recommandations de l'OMS 2005. Pp : 4-40.*
- BRUNETONJ, 1999: *Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. Ed. Tec&Doc.*
- Debray, M ; Jacquemin, H ; Razafindrambo, R. (1971), *Travaux et documents del'Orstom. (Paris, N°8)*.
- Oloyede, O.I; (2005). *Chemical Profile of Unripe Pulp of Carica papaya. Pakistan journal of nutrition. 4: 379-381.*
- El Hamrouni A. (2001). *Projet de conservation des Zones Humides Littorales et des Ecosystèmes côtiers du Cap-Bon.*

Résumé

L'étude sur les extraits de *Pistacia lentiscus* L. et son huile végétale associée a révélé des résultats significatifs en termes d'activité antimicrobienne et de composition phytochimique. Les analyses phytochimiques ont confirmé la présence de coumarines et de tanins dans les extraits aqueux, tandis que les extraits par solvants ont révélé une diversité de composés bioactifs tels que les alcaloïdes, les flavonoïdes, les tanins, les coumarines, les saponines, les stérols et les triterpènes. Les tests antifongiques ont montré une efficacité notable des extraits chloroformiques et méthanoliques contre les champignons, tandis que les extraits méthanoliques et chloroformiques se sont révélés les plus efficaces contre les bactéries testées, notamment *E. coli*, Streptocoque du groupe (d) et *Klebsiella*.

Ces résultats soulignent le potentiel des extraits méthanoliques et chloroformiques de *Pistacia lentiscus* L. comme agents antimicrobiens, grâce à la présence de métabolites secondaires bioactifs.

Mots-clés : *Pistacia lentiscus* L., extraits phytochimiques, antifongique, antibactérienne, composés bioactifs.

Summary

The study on *Pistacia lentiscus* L. extracts and its associated vegetable oil revealed significant results in terms of antimicrobial activity and phytochemical composition. Phytochemical analyzes confirmed the presence of coumarins and tannins in aqueous extracts, while solvent extracts revealed a diversity of bioactive compounds such as alkaloids, flavonoids, tannins, coumarins, saponins, sterols and triterpenes. Antifungal tests showed notable effectiveness of chloroform and methanolic extracts against fungi, while methanolic and chloroform extracts were found to be most effective against bacteria tested, including *E. coli*, Group (d) du groupe (d), and *Klebsiella*. These results highlight the potential of methanolic and chloroform extracts of *Pistacia lentiscus* L. as antimicrobial agents, thanks to the presence of bioactive secondary metabolites.

Keywords: *Pistacia lentiscus* L., phytochemical extracts, antifungal, antibacterial, bioactive compounds.

ملخص

كشفت الدراسة التي أجريت على مستخلصات *Pistacia lentiscus* L. والزيوت النباتية المرتبطة بها عن نتائج مهمة من حيث النشاط المضاد للميكروبات والتركيب الكيميائي النباتي. أكدت التحليلات الكيميائية النباتية وجود الكومارين والعفص في المستخلصات المائية، بينما كشفت المستخلصات المذيبة عن تنوع المركبات النشطة بيولوجيا مثل القلويدات والفلافونويدات والعفص والكومارين والصابونين والستيرول والترايترين. وأظهرت الاختبارات المضادة للفطريات فعالية ملحوظة لمستخلصات الكلوروفورم والميثانول ضد الفطريات، في حين وجد أن مستخلصات الميثانول والكلوروفورم هي الأكثر فعالية ضد البكتيريا التي تم اختبارها، بما في ذلك الإشريكية القولونية، المجموعة (د) العقدية، والكلبيسيلا. تسلط هذه النتائج الضوء على إمكانات المستخلصات الميثانولية والكلوروفورم لنبات *Pistacia lentiscus* L. كعوامل مضادة للميكروبات، وذلك بفضل وجود المستقبلات الثانوية النشطة بيولوجيا.

الكلمات المفتاحية: الفستق العدسي L.، المستخلصات الكيميائية النباتية، مضادات الفطريات، مضادات البكتيريا، المركبات النشطة بيولوجيا.