

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي
REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE SAAD DAHLAB DE BLIDA



**FACULTE DE TECHNOLOGIE
DEPARTEMENT DE CHIMIE INDUSTRIELLE**

MÉMOIRE DE MASTER

OPTION : MATÉRIAUX ET PRODUITS ORGANIQUES INDUSTRIELS

Extraction des huiles végétales des baies du lentisque

« *Pistacia lentiscus L.* »

Caractérisation physico-chimiques et biologiques

Présenté par :

M^{elle} BOUZIANI Safia

Dirigé par :

Dr. H. BOUTOUMI

Promotion 2013

Remerciements

Avant tout je remercie ALLAH tout puissant de m' avoir accordé la force, le courage et les moyens pour accomplir ce travail

Je voudrais tout d'abord adresser toute ma gratitude à mon promoteur, Dr .H.BOUTOUMI pour sa patience, sa disponibilité et surtout ses judicieux conseils, qui m'ont permis d'apprendre et de mener à bien mon mémoire

Avant d'aborder ce mémoire, Je tiens à remercier vivement les membres du jury :

Monsieur KHODJA Professeur responsable du Master génie des procédés organiques Université Saâd DAHLAB de Blida

Madame HADJ-ZIANE-Zafour. Maître de Conférences, Université Saâd DAHLAB de Blida

Monsieur MOLAY Professeur, Université Saâd DAHLAB de Blida

Mes sentiments de reconnaissance et mes remerciements vont également à l'encontre de toute personne qui a participé de près ou loin, directement ou indirectement à la réalisation de ce travail.

Dédicace

Je dédie ce mémoire de fin d'études

A

Mon très cher père et ma très chère mère

*En témoignage de ma reconnaissance envers le soutien, les
sacrifices et tous les
efforts qu'ils ont fait pour mon éducation ainsi que ma formation*

A

Mes chers sœurs et frères

Pour leur affection, compréhension et patience

A

*Tous ceux qui ont une relation de proche ou de loin
avec la réalisation du présent rapport.*

Safia

المخلص

منذ القدم اشتهر نبات الضرو (*Pistacia lentiscus*) بخصائصه الطبية العديدة , اجزاء منه كالجذور والزيت الدهني للمصطكى يستخدم في الطب التقليدي على نطاق واسع في علاج بعض الامراض نذكر منها الاكزيما , الاصابات الشفوية , حصى الكلى , اليرقان , الصداع , القرحة , الام المعدة واخيرا يستعمل كعلاج للربو و المشاكل التنفسية . يستخدم زيت الضرو في الطب التقليدي على خصوص في مناطق شمال شرق الوطن و في تونس بشكل واسع ضد حساسية الجهاز التنفسي , الاصابات الشفوية , كما يستعمل لعلاج الحروق و الالتهابات الجلدية . دراسات كيميائية اجرية بالفعل على هذا النبات بينت وجود مركبات متعددة كالفينول (الفلافونيدات) , ثلاثية التربينات ذات الاساس لوبان و الزيوت العطرية , ومن المعروف ان ثمار الضرو يحتوي على الزيت الدهني اذ لم تجرى دراسة من قبل حول تركيبته الكيميائية و تقييم اثاره البيولوجية .

ABSTARCT

Pistacia lentiscus (Anacardiceae), one of the many evergreen bushes found in the eastern Mediterranean region, has a long tradition in folk medicine dating from the time of the ancient Greeks.

Its traditional medicinal uses are diverse and decoctions of its parts and or resine used to treat sore throats, eczema, stomach aches, kidney stones and jaundice.

In the eastern region of Algeria to Tunisia, the fruit's oil is used for respiratory allergies, to treat sore troats and locally applied for burns.

Precedent studies indicate that mastic obtained by incising the trunk contains 30% of resin, an essential oil (2%) and a bitter principle. The leaf contains flavonoids, an essential oil and tannins. The fruit is a small drupe, from which is expressed a fatty oil

A little has been done on pharmacological evaluation of the fatty oil of *Pistacia lentiscus* fruits. This present study is the first report dealing with the phytochemical analysis and the in vivo experimental evaluation of the wound healing effect of *Pistacia lentiscus* fruit's oil.

RESUME

Lentisque est connu pour ses propriétés médicinales depuis l'antiquité. Les parties de la plante (parties aériennes, racines, mastic huile essentielle, huile grasse) sont largement utilisées en médecine traditionnelle dans le traitement de certaines maladies telles que l'eczéma, infections buccales, diarrhées, lithiases rénales, jaunisse, maux de tête, ulcères, maux d'estomac, asthme et problèmes respiratoires.

Dans la région du nord-est d'Algérie jusqu'à la Tunisie, l'huile de fruits de lentisque est largement utilisée en médecine traditionnelle, en cas d'allergie respiratoire, d'infections buccales et dans le traitement de certaines brûlures et irritations cutanées.

Les études chimiques déjà effectuées sur cette espèce, signalent la présence de polyphénols (flavonoïdes, tanins,...), de triterpénoïdes à noyau lupane et d'une huile essentielle. Les fruits sont connus pour contenir une huile grasse. La composition de l'huile grasse de lentisque n'a fait l'objet d'aucune étude publiée, en ce qui concerne sa composition chimique et l'évaluation de ces effets biologiques.

Introduction générale :

Depuis des milliers d'années, l'humanité a utilisé diverses ressources trouvées dans son environnement afin de traiter et soigner toutes sortes de maladies [1].

L'histoire des plantes aromatiques et médicinales est associée à l'évolution des civilisations. Dans toutes les régions du monde, l'histoire des peuples montre que ces plantes ont toujours occupé une place importante en médecine, dans la composition des parfums et dans les préparations culinaires.

Les plantes sont depuis toujours une source essentielle des médicaments, les égyptiens employaient le pavot (*Papaver Somniferum* L) à opium. L'utilisation des plantes continua et, vers 1660, l'écorce de quinquina (*Cinchona Ledgeriana* Moens) fut rapportée d'Amérique du sud en Europe par les Jésuites pour traiter la malaria [2].

L'*Artemisia Annu*a, utilisée en Chine depuis plus de deux mille ans: l'artémisinine est extraite de cette plante qui est devenu l'ingrédient essentiel des traitements contre le Paludisme. D'autres plantes Africaines connaissent un regain d'intérêt, comme le Géranium Africain (*Pelargonium x asperum*), le Prunier d'Afrique (*Pygeum africanum*), et la *Sutherlandia Frutescens* (Baguenaudier d'Éthiopie). Cette dernière, qui ne pousse qu'en Afrique du Sud, est utilisée en complément des thérapies de lutte contre le SIDA [3.4]

L'industrie pharmaceutique moderne s'inspire encore largement des métabolites secondaires végétaux, l'avènement Taxol en un exemple éloquent. Depuis 1993, le Taxol a été également approuvé pour le traitement du cancer avancé du sein et le cancer du poumon à grandes cellules (NSCLC), ce qui a permis à plus d'un million de patients de bénéficier éventuellement de ce traitement.

Actuellement, l'organisation mondiale de la santé (OMS) estime qu'environ 80% des habitants de la planète ont recours aux médecines traditionnelles à base de plantes en tant que soins de santé primaire [5.6]. À l'origine, ces ressources étaient employées sous leur forme brute, puis au fil du temps, les différentes préparations d'extraits et de concentrés ont permis d'en intensifier l'effet médicinal des plantes [7].

À partir du XIX^{ème} siècle, les molécules responsables des effets thérapeutiques ont été isolées et ont servi de prototypes à l'élaboration de médicaments conventionnels [8.9]. Par exemple, l'aspirine, un dérivé de la salicine tirée du saule (*Salix* spp.), est un analgésique et

antipyrétique très efficace. Pour preuve, ce médicament est encore aujourd'hui l'un des plus vendus au monde [10].

Plus de 120 composés provenant de plantes sont aujourd'hui utilisés en médecine moderne et près de 75% d'entre eux sont utilisés selon leur usage traditionnel [11]

La flore algérienne est caractérisée par sa diversité florale: Méditerranéenne, Saharienne et une flore paléo tropicale, estimée à plus de 3000 espèces appartenant à plusieurs familles botanique Ces espèces sont pour la plupart spontanées avec un nombre non négligeable (15%) d'espèces endémiques [12].Ce qui a donnée à la pharmacopée traditionnelle une richesse inestimable.

Le genre *Pistacia* est de par sa dioïcie et ses fleurs nues, un genre particulier de la famille des [13]. *Pistacia lentiscus L.* est une espèce médicinale. Cet arbuste des maquis de toute la région méditerranéenne, se développe sur tout type de sol, dans l'Algérie subhumide et semi-aride.

L'huile de fruits de lentisque est souvent utilisée comme un remède d'application locale externe sous forme d'onguent pour soigner les brûlures [14] ou les douleurs dorsales (Bellakhdar, 1997).

Notre travail a pour objectif principal la comparaison entre les huiles des fruits du lentisque extraites par différents techniques et celle du commerce, la détermination de la composition de ces derniers en acide gras et l'étude de leurs comportements vis-à-vis des souches bactériennes et fongiques.

Le mémoire est organisé en plusieurs parties:

1° la première partie constitue l'étude bibliographique, et est divisée en plusieurs chapitres;

- Chapitre 1 est consacré aux aspects botanique, biologique, chimique et pharmacologique spécifiques à la famille (Anacardiaceae), le genre (*Pistacia*) et de l'espèce (*Pistacia lentiscus L.*).

- Chapitre 2 traite des lipides, en l'occurrence leur définition, leur biosynthèse et leurs propriétés biologiques et pharmacologiques.

- Chapitre 3 est consacré à l'étude des méthodes d'extraction des huiles végétales.

2° la seconde partie traite en deux chapitres de la partie expérimentale: de la phase extraction à l'identification de la composition des huiles extraites et commerciale. Ainsi que l'étude de comportement de ces dernières vis-à-vis des souches microbiennes.

3° la troisième partie est consacrée à la description et la discussion des résultats obtenus.

La fin du mémoire est réservée aux références bibliographiques.

TABLE DES MATIERES

Liste des tableaux

Liste des figures

Sommaire

Introduction générale

Synthèse bibliographique

CHAPITRE I

I-Etude caractéristique de l'espèce *Pistacia lentiscus* L.....1

I.3. Répartition géographique de lentisque4

I.2. Produits et dérivés à base de lentisque4

I.4. Aspects Pharmacologiques et effets thérapeutiques de lentisque.....5

I.4.Données toxicologiques de lentisque.....6

CHAPITRE II

II.1.Les huiles végétales7

II.1.1. Classification des huiles végétales.....7

II.1.2 .Composition des huiles végétales des baies de lentisque7

II.2. Lipides8

II.2.1. Introduction – Définition8

II.2.2. Lipides vrais.....9

II.2.2.1. Acides gras.....9

II.2.2. 2.Triglycérides15

II.2.3. Constituants mineurs.....16

II.2.3.1.Phospholipides.....	16
Partie expérimental	
Partie I : Matériels et méthodes	
I.1 Introduction.....	17
I.2. Matériel d'étude	18
I.2.1.produits chimiques.....	18
I.2.2.Matériels végétales	18
II.2.3.Matériels biologiques.....	19
I.2.4.Appareillages.....	20
I.2.4.1.Spectrométrie infrarouge à transformée de Fourier (IRTF).....	20
I.2.4.2.Chromatographie en phase gazeuse(CPG).....	21
I.3.Méthodes	22
I.3.1. Protocole expérimental d'extraction.....	22
I.3.1.1. Description du dispositif d'extraction.....	22
I.3.2. Rendement.....	24
I.3.3. Analyses physico-chimiques des huiles de lentisque.....	25
I.3.3.1.Détermination des indices physiques.....	25
I.3.3.1.1.Détermination de l'indice de réfraction.....	25
I.3.3.2. Mesure des indices chimiques.....	25
I.3.3.2.1. Détermination de l'indice d'acide.....	25
I.3.3.2.2.Détermination de l'indice d'ester.....	26
I.3.3.2.3.Détermination de l'acidité.....	27
I.3.3.2.4.Détermination.Indice de peroxyde.....	27

I.3.3.2.4.Hydrolyse de l'huile végétale des baies de lentisque.....	28
I.3.3.2.5.Réaction d'estérification des acides gras.....	31
I.3.4. Etude de l'activité antimicrobienne des huiles végétal des baies de lentisque.....	32
I.3.4.1. Protocole expérimental.....	34
Partie II : Résultats et Discussions	
II.1 Rendement en huile végétale de lentisque.....	35
II.2. Propriétés organoleptiques de l'huile végétale de lentisque.....	35
II.2. Propriétés organoleptiques de l'huile végétale de lentisque.....	35
II.3 Caractéristiques physico-chimiques des huiles végétales de lentisque.....	35
II.4.Spectrophotométrie infrarouge	37
II.5. Activité antimicrobienne des huiles végétales de lentisque.....	41
Conclusion générale	

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1: Principaux acides gras saturés.....	11
Tableau 2: Principaux acides gras insaturés.....	12
Tableau 03 : Produits Chimiques.....	18
Tableau 4: Liste des microorganismes testés.....	19
Tableau 5 : Propriétés organoleptiques de l'huile végétale de lentisque.....	35
Tableau 6 : Caractéristiques physico-chimiques des huiles végétales de lentisque.....	35
Tableau 07 : Rendement de la réaction de saponification.....	36
Tableau 8 : Activités antibactériennes des huiles végétales des baies de lentisque.....	41

LISTES DES FIGURES

Figure 1: Description botanique de lentisque.....	1
Figure 2 : fleurs de lentisque.....	2
Figure 3 : Mastic (résine) de lentisque	2
Figure 4 : Différentes parties de lentisque	3
Figure 5 : Aire de répartition de lentisque autour du bassin Méditerranéen.....	4
Figure 6: Isoméris Géométriques trans (à gauche) et cis (à droite).....	13
Figure 7: Différentes étapes de biosynthèse des acides gras.....	14
Figure 8: Formule semi-développée des triglycérides.....	15
Figure 9: Formule développée d'un phospholipide.....	16
Figure 10: Bactéries vues sous microscope.....	19
Figure 11: Levures vues sous microscope.....	20
Figure 12: Montage de flux utilisé pour les analyses.....	21
Figure13 : Schéma du Soxhlet.....	22
Figure 14: Huile végétal des baies de lentisque extraite avec soxhlet.....	23
Figure 15 : Huile végétale de lentisque récupéré par l'hexane.....	24
Figure 16: Réfractomètre Abbé.....	25
Figure 17 : Schéma du Dean- Starck.....	31
Figure 18: Illustration de la méthode des antibiogrammes.....	33
Figure 19 : Exemple des activités antifongiques.....	42
Figure 20 : Exemple des activités antibactériennes.....	43

Chapitre I

Chapitre II

Partie I :
Matériels et
méthodes

Partie II :
Résultats et
Discussions

I-Etude caractéristique de l'espèce *Pistacia lentiscus* L.

Description de la plante

Le pistachier lentisque, appelé communément lentisque est un petit arbuste qui peut atteindre 2 à 3 mètres de haut, fortement ramifié à partir de la base, plante de la famille des anacardiées, à feuillage persistant. Elle donne des fruits, d'abord rouges, puis noirs. On le trouve à l'état naturel dans le nord algérien. Le pistachier lentisque est connu pour ses vertus médicinales [16]. On l'appelle aussi arbre à mastic car sa sève est utilisée pour la réalisation d'une gomme à odeur prononcée [17].



Figure 1: Description botanique de lentisque.

Lentisque est caractérisée par

- **Ecorce:** Rougeâtre sur les jeunes branches et vire au gris avec le temps. Quand on incise l'écorce la plante laisse s'écouler une résine irritante non colorée à odeur forte.

- **Branches :** tortueuses et pressées, forment une masse serrée

-**Feuilles:** Sont persistantes, composées (Figure1), et possèdent un nombre pair de folioles (4 à 10) d'un vert sombre, elliptiques, obtuses, luisantes en dessus, glabres, coriaces et dont le pétiole est bordé d'une aile verte. On trouve des pieds mâles et femelles distincts (espèce dioïque) qui fleurissent en grappes denses en mois de Mai.

- **Fleurs** : Les fleurs unisexuées d'environ trois mm de large (Figure 2) se présentent sous forme de grappe, Elles apparaissent au printemps et sont très aromatiques, forment des racèmes de petite taille à l'aisselle des feuilles. On différencie les fleurs femelles des fleurs mâles grâce à leur couleur, vert jaunâtre pour les femelles et rouge foncé pour les mâles.



Figure 2 : Fleurs de lentisque.

-**Fruit** : Est une baie globuleuse [de 2 à 3 mm, Figure(1)], monosperme, remplie par nucléole de la même forme; d'abord rouge, il devient brunâtre à sa maturité, qui est complète l'automne.

-**Mastic (résine)**: Si l'on incise le tronc de ce végétal (Figure 3), il s'en écoule un suc résineux nommé mastic utilisé pour des buts culinaires par des personnes de Méditerranée [18] et cette résine a été employée aussi pour mâcher.



Figure 3 : Mastic (résine) de lentisque

Taxonomie de lentisque

Règne PLANTAE

Embranchement TRACHEOBIONTA – plantes vasculaires

Super-division SPERMATOPHYTA – Les plantes de la graine+

Division MAGNOLIOPHYTA – plantes fleuries

Classe MAGNOLIOPSIDA

Sous-classe ROSIDAE

Ordre SAPINDALES

Famille ANACARDIACEAE – La famille du sumac

Genre PISTACIA L. – pistache

Espèce PISTACIA LENTISCUS L. – Arbre de mastic



Figure 4 : Différentes parties de lentisque

I.2. Répartition géographique de lentisque.

C'est un arbuste poussant dans les sites arides de la région méditerranéenne (Asie, Europe, Afrique) [17, 18, 19,20] (Figure 5), jusqu'aux Canaries [21]. lentisque pousse à l'état sauvage dans la garrigue et sur les sols en friche. On le plus précisément dans le bassin du Soummam en association avec le pin d'Alep, le chêne vert et le chêne liège [22].

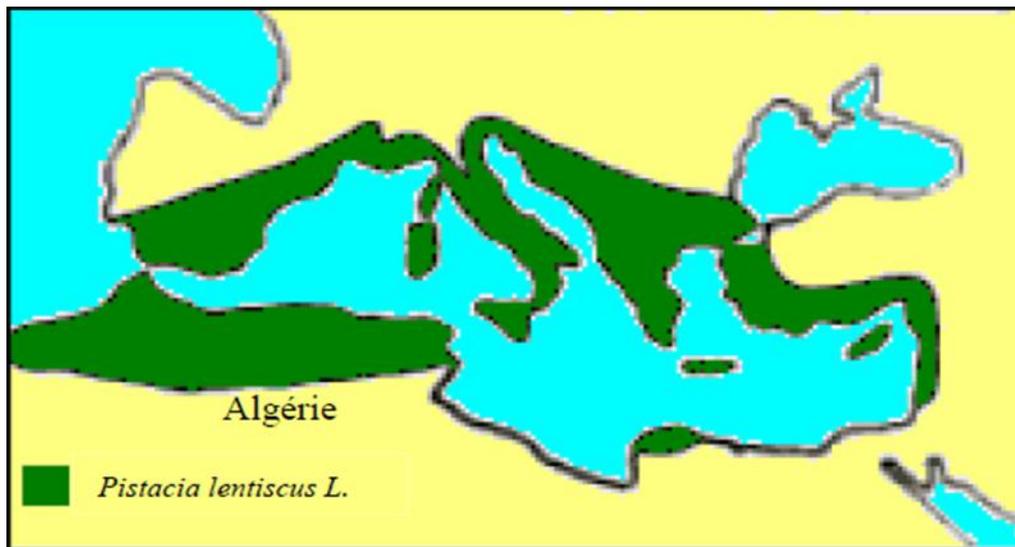


Figure 5 : Aire de répartition de lentisque autour du bassin

Méditerranéen

I.3. Produits et dérivés à base de lentisque.

Les principaux produits dérivés du lentisque et leur utilisation sont décrites.

- **Bois** : pour sa robustesse et la finesse de sa texture, le bois de cette espèce est très apprécié en ébénisterie.
- **Essence de Mastic**: après hydrodistillation du mastic est récupérée une essence [23] qui entre dans la confection de parfums, produits cosmétologiques et pharmaceutiques, de vernis de grande qualité recherché par les peintres œuvrant à la peinture à l'huile et aussi dans l'industrie photographique.

- **Essence des feuilles et rameaux** : de ces parties est extraite une huile essentielle [24] qui est utilisée en aromathérapie et phytothérapie [25] pour ses propriétés décongestionnantes, prescrite aussi pour traiter les problèmes veineux dont les hémorroïdes.

-**Huile grasse de lentisque** : est extraite partir des du fruit par une méthode traditionnelle était couramment utilisée pour l'alimentation et en médecine traditionnelle [26]. La teneur élevée en acides gras essentiels témoigne de l'importance de la valeur alimentaire de cette huile [27].

I.4. Aspects Pharmacologiques et effets thérapeutiques lentisque

Lentisque est connu pour ses propriétés médicinales depuis l'antiquité [25].

Les nombreuses vertus thérapeutiques attribuées à l'huile de lentisque poussent depuis quelques années beaucoup de personnes à se lancer dans sa production.

La décoction des racines séchées est efficace contre l'inflammation intestinale et d'estomac ainsi que dans le traitement de l'ulcère [29].

La partie aérienne de lentisque est largement utilisée en médecine traditionnelle dans le traitement de l'hypertension artérielle grâce à ses propriétés diurétiques [30, 31,32].

Les feuilles ont pourvue d'action anti-inflammatoire, antibactérienne, antifongique, antipyrétique, astringente, hépatoprotective, expectorante et stimulante [33.34.36].

Elles sont également utilisées dans le traitement d'autres maladies telles que l'eczéma, infections buccales, diarrhées, lithiases rénales, jaunisse, maux de tête, ulcères, maux d'estomac, asthme et problèmes respiratoires [37.38.39.40.41].

L'huile végétale de lentisque est employée traditionnellement par la population tunisienne dans le traitement des scabies, du rhumatisme et dans la fabrication de pilules d'anti-diarrhée [26].

La résine obtenue de lentisque est connue par son effet analgésique, antibactérien, antifongique, antioxydant, antithérogénique, expectorant, stimulant, diurétique et spasmolytique[41.42.43], Par conséquent, cliniquement, le mastic est souvent cité comme un remède efficace contre certaines maladies telles que l'asthme, diarrhée, infections bactériennes, ulcères gastro-dodénaux et comme un agent antiseptique du système respiratoire [44.45.46].

La résine de lentisque a été traditionnellement considérée comme un agent anticancéreux, en particulier contre les tumeurs du sein, du foie, de l'estomac, de la rate, et de l'utérus [37]. Ces croyances traditionnelles sont en accord avec de récentes études montrant que mastic de Chios induit l'apoptose [48] et dispose d'action anti-proliférateur contre les cellules cancéreuses du côlon [49].

L'huile essentielle de lentisque est connue pour ses vertus thérapeutiques en ce qui concerne les problèmes lymphatiques et circulatoires.

Des travaux précédents sur les huiles essentielles de lentisque révèlent la présence de certaines activités antalgique, antioxydante, anti-inflammatoire, antimicrobienne [50.51.52].

I.4.Données toxicologiques de lentisque.

Les données toxicologiques de la gomme mastic ont été rapportées concernant la toxicité aiguë, irritation de la peau et la phototoxicité chez les animaux et les humains [53].

L'huile essentielle de lentisque a montré une toxicité sur les sur le troisième stade larvaire et les adultes du charançon roux de la semoule *Tribolium castaneum*. L'huile essentielle testée a montré une toxicité vis-à-vis des larves et des adultes. Le taux de mortalité est de l'ordre de 51% pour les larves et de 100% pour les adultes à une concentration de 1023 µl/l air après 24 heures d'exposition. Les résultats ont démontré une différence significative en termes de mortalité et qui dépend du stade de développement de l'insecte, de la concentration de l'huile et du temps d'exposition. L'effet fumigène de l'huile essentielle de lentisque est plus important sur les adultes que sur les larves. Les résultats indiquent que l'huile essentielle de lentisque présente un potentiel insecticide qui pourrait être utilisé dans le cadre de la lutte contre cet important insecte des denrées stockées [54].

CHAPITRE II

II.1. Les huiles végétales

Les huiles végétales sont des substances hydro-insolubles produites à partir des graines des plantes. Elles sont majoritairement composées de triacylglycérols communément appelés triglycérides. Les triglycérides sont les produits de la réaction entre une molécule de glycérol et trois molécules d'acides gras. Ce sont donc des triesters du glycérol (glycérine) et d'acides gras. Les huiles végétales sont composées à environ 95 % de triglycérides, le reste étant des mono- et diglycérides et des composés dits insaponifiables tels que les alcools, caroténoïdes, la chlorophylle, les hydrocarbures, stérols et tocophérols

II.1.1. Classification des huiles végétales

D'après Guichard C. (1967) [55], selon l'utilisation finale des huiles, on distingue :

-Huiles officinales

Ce sont des huiles utilisées dans un but thérapeutique ou cosmétique. Elles sont exclusivement obtenues par expression à froid. Il s'agit d'huile vierge de première pression.

-Huiles alimentaires

Ce sont des huiles destinées à être utilisées par le secteur agro-alimentaire, obtenues par expression des graines oléagineuses, à froid ou à chaud. Elles peuvent subir des traitements de raffinage pour éliminer les pigments, les substances odorantes, à goût insipide et d'autres contaminants.

-Huiles industrielles

Ce sont des huiles de qualité moindre utilisées par différents secteurs industriels (peintures, lubrifiants, détergents, biocarburants). Elles sont le plus souvent obtenues par extraction par solvant (hexane).

II.1.2. Composition des huiles végétales des baies de lentisque

Une étude a été réalisée sur l'huile extraite à partir des fruits mûrs du de *Pistacia lentiscus L.* de la Tunisie occidentale nordique et du nord. L'extraction a été faite par deux méthodes méthode traditionnelle pratiqué par des femmes dans des secteurs de forêt et la méthode de

pression qui a été proposée pour améliorer le rendement et la qualité d'huile La composition en acides gras a été déterminée par (GC/MS) L'acide oléique était l'acide gras principal avec plus de 56%, suivi de l'acide palmitique avec 27%, Linoléique 15.82%, Palmitoléique 1.13% et l'acide stéarique 1.58% [56]

La composition en acides gras des extraits d'huile grasse des fruits noirs de lentisque récoltés en Algérie sont l'acide oléique (55.3%), l'acide linoléique (21.4%), l'acide palmitique (19.5%), l'acide palmitoléique (2.1%), et l'acide stéarique (1.7%) [57].

II.2. Lipides

II.2.1. Introduction – Définition

Les lipides, largement répandus dans l'environnement, sont des produits complexes dont les différents constituants jouent de façon directe ou indirecte, immédiate ou retardée, un rôle énergétique, structural et fonctionnel.

Dans le monde du vivant, la plupart des familles de molécules sont définies par leur structure, à l'inverse, les lipides sont caractérisées par une propriété chimique: la solubilité. Ces composés ont une solubilité nulle ou faible dans l'eau mais élevée dans les solvants organiques de type apolaire (chloroforme, cyclohexane, éther éthylique, etc.)

Les termes d'huiles, beurre, graisses, cires ne désignent que leur état physique liquide ou solide à température ambiante. Par définition, un lipide est une molécule soit complètement apolaire (lipide neutre) soit bipolaire ou molécule amphiphile avec une tête polaire liée à une chaîne fortement apolaire.

Les graisses alimentaires sont d'origine végétale et animale. Parmi les graisses d'origine végétale on distingue les huiles «fluides», liquides à température de 15° C (arachide, olive, tournesol, colza, soja, maïs, pépins de raisin, etc.) et les huiles «concrètes», solides à la température de 15° C (palme, coprah).

Les graisses animales sont soit d'origine laitière (lait, crème, beurre, fromage), soit apportées (viandes et poissons consommés) ou extraites des animaux terrestres (saindoux de porc, suif de bœuf, suif de mouton, graisse d'oie et de canard) ou marins (huile de hareng, sardine, saumon, etc.).

Les lipides se répartissent en différentes catégories dont la plus courante est appelée «lipides vrais». Les lipides vrais comprenant les acides gras à plus ou moins longue chaîne ou résultant de la condensation de ces acides gras avec des alcools liés par une liaison ester ou amide. Parmi ceux-ci, on retrouve les lipides simples qui sont neutres comprenant les glycérolipides (l'alcool est le glycérol), les cérides (les alcools sont à longue chaîne) et les stérides (l'alcool est un stérol dit polycyclique). Ils regroupent également les lipides complexes, di-ou triesters auxquels s'ajoutent divers groupements phosphorés, azotés, soufrés ou des oses.

II.2.2. Lipides vrais

Les lipides vrais résultent de la condensation d'acides "gras" avec des alcools par liaison ester ou amide; ils comprennent les acides gras et les lipides simples (acylglycérols, cérides, stérides).

II.2.2.1. Acides gras

Tous les acides gras (AG) sont constitués d'une chaîne hydrocarbonée comprenant un groupement méthyle (CH_3 -) à l'une de ses extrémités et un groupement carboxyle ($-\text{COOH}$) à l'autre extrémité. Ils se caractérisent par une structure spécifique sous forme de monoacides carboxyliques possédant un nombre pair d'atome de carbone (de 10 à 40 atomes), une chaîne non ramifiée et non substituée et sont saturés ou non.

On parlera d'acides gras saturés lorsqu'il y a absence de double liaison dans la chaîne hydrocarbonée et sa formule est de type ($\text{C}_n\text{H}_{2n}\text{O}_2$); les acides gras sont dit insaturés lorsqu'il y a présence d'une double liaison (mono-insaturés) ou de plusieurs (poly-insaturés).

-Nomenclature des acides gras

La nomenclature retenue pour ces acides est la suivante: C_x : y n-m, avec x représentant le nombre d'atomes de carbone dans la molécule et y est le nombre d'insaturations soit le nombre de doubles liaisons. La lettre m correspond à la position de la double liaison à partir du groupement terminal. Les critères de classification portent sur la longueur de la chaîne, le nombre de doubles liaisons et la configuration spatiale de leur chaîne.

Le degré d'insaturations est suivi de la notation 4 x où x est la position de la double liaison par rapport au carbone aliphatique terminal. Les préfixes «a» et «i» indiquent que le

substituant méthyle est en position antéiso (troisième carbone impair à partir du carbone aliphatique terminal) ou iso (deuxième carbone pair à partir du carbone aliphatique terminal) .

-Distribution des acides gras

La distribution des acides gras permet de relier ces composés à leur origine, même si souvent un acide gras donné peut avoir plusieurs origines. Par exemple, les distributions des acides gras des végétaux supérieurs ou des animaux sont dominées par ceux à nombre de carbone pair compris entre 12 et 24 atomes de carbone, avec une prédominance des chaînes C16 et C18. Les acides gras des bactéries sont essentiellement saturés ou monoinsaturés présentant un nombre de carbone impair.

Les substitutions en position iso- ou antéiso- sont surtout présentes dans les distributions des acides gras d'origine bactérienne et notamment les bactéries Gram positives. Les résidus de cuisine riches en graisses animales et huiles végétales sont caractérisés par des distributions dominées par la présence de C16:0, C18:1w9 et C18:0. Les fèces humaines sont quant à elles dominées par la présence de C16:0 et C18:1 9. Tous ces acides gras sont susceptibles de se retrouver dans les boues d'épuration en raison de la nature variée des effluents traités.

- Acides gras saturés

Ce groupe de lipides est constitué d'acides gras possédant un nombre pair d'atome de carbone (4 à plus de 30), on les retrouve chez les animaux, végétaux et microbes (Tableau 1). Pour les plantes supérieures et les animaux, les acides gras les plus communs ont 14 à 20 carbones, avec une majorité de ceux à 16 ou 18 carbones. Les acides dont le nombre est inférieur à 12 sont retrouvés dans le lait des mammifères et le beurre. Les acides gras dont le nombre de carbones est supérieur à 24 sont essentiellement des composants des cires protectrices fabriqués par les plantes, les bactéries et insectes.

Tableau 1: Principaux acides gras saturés.

Longueur relative	nC	Nom courant de l'acide	Origine
Chaîne courte	4	Butyrique	Beurre
	6	Caproïque	Lait de chèvre
	8	Caprylique	...
	10	Caprique	...
Chaîne moyenne	12	Laurique	Huile, graisses animales et végétales
	14	Myristique	
	16	Palmitique	
	18	Stéarique	
Chaîne longue	20	Arachidonique	Graines
	22	Béhénique	Cires des plantes
	24	Liglocérique	
	26	Cérotique	
	28	Montanique	bactéries
	30	Mélistique	Insectes
	32	Lacérique	

- Acides gras insaturés

Ils représentent plus de la moitié des acides gras des plantes et des animaux, possédant une ou plusieurs doubles liaisons (Tableau 2). La plupart des acides gras insaturés ont des longueurs de chaînes de 16 à 20 carbones et souvent, la première double liaison est établie entre les C9 et C10, les doubles liaisons multiples ne sont pas conjuguées mais séparées par un groupe méthylène et les doubles liaisons sont de configuration cis.

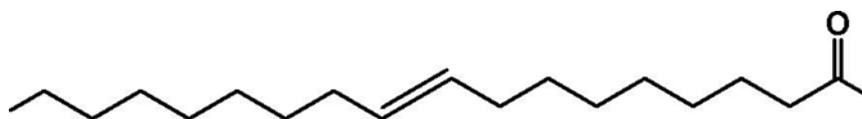
Les acides gras mono-insaturés sont relativement rares, les chaînes comportant moins de 16 carbones se retrouvent dans le lait et les graisses de poissons alors que les chaînes à plus de 18 carbones sont présentes chez les animaux marins. Les acides gras polyinsaturés sont beaucoup plus répandus, ils comportent au moins 18 carbones.

Tableau 2: Principaux acides gras insaturés.

nC	Nom courant	Symbole	Origine
16	Palmitoléique	C16 : 1(9)	Très répandu
18	Oléique Vaccénique Linoléique Linoléinique	C18 : 1(9) C18 : 1(11) C18 : 2(9, 12) C18 : 3(9, 12, 15)	Très répandu Bactéries Graines Graines
20	Arachidonique Acide Eicosapentanoïque	C20 : 4(5, 8, 11, 14) C20 : 5(5, 8, 11, 14, 17)	Animaux Huiles de poissons
24	Nervonique	C24 : 1(15)	Cerveau

- Stéréochimie

La libre autour de chacune des liaisons carbone-carbone rend les molécules d'acide gras saturé extrêmement flexible. Il subsiste néanmoins des contraintes stériques et la conformation la plus stable pour les acides gras saturés est la conformation étirée.



Acide oléique

Dans la plupart des huiles naturelles, les acides gras insaturés ont une configuration moléculaire particulière appelée cis, cela signifie qu'un atome d'hydrogène est situé d'un côté de la double liaison (Figure 6), et que l'atome d'hydrogène du carbone suivant est situé du même côté.

En revanche, lors du processus de fabrication trans. Certains des doubles liaisons (non saturées) prennent une configuration trans. Dans ce cas, les radicaux liés carbones ne sont plus du même côté de la double liaison.

Or les acides gras de configuration trans sont moins bénéfiques que ceux de configuration cis, car ils favoriseraient les maladies coronaires. C'est pourquoi il est recommandé de limiter la consommation des acides gras de types trans.

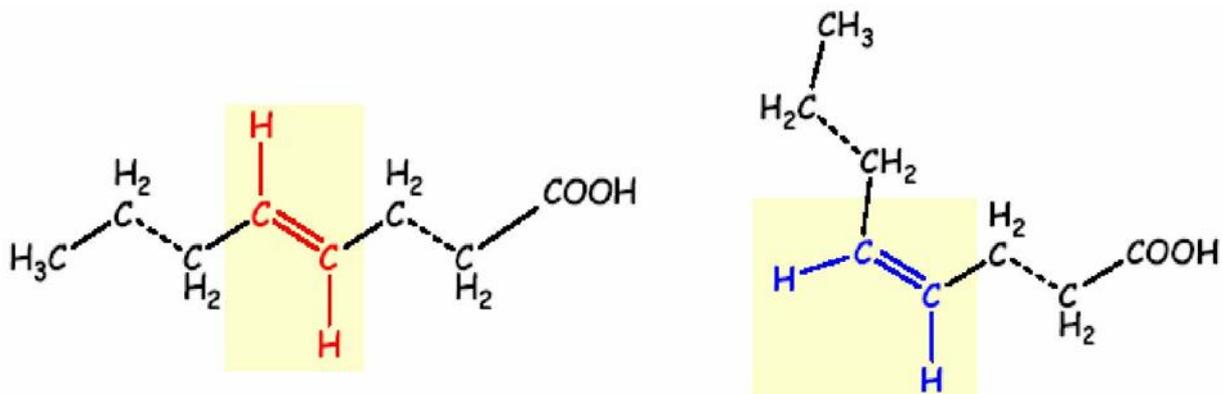


Figure 6: Isomères Géométriques trans (à gauche) et cis (à droite)

-Biosynthèse des acides gras (Figure7).

Les étapes individuelles de l'allongement des chaînes des acides gras sont pratiquement les mêmes dans les organismes, les enzymes permettent de distinguer chacune des étapes du processus avant de pouvoir les analyser, par extension, celui des étapes de la biosynthèse chez l'animal, les réactions d'allongement commencent par la formation de l'Acétyl-ACP et du Malonyl-ACP. La synthèse des acides gras s'arrête dans le cytosol au niveau de l'acide palmitique.

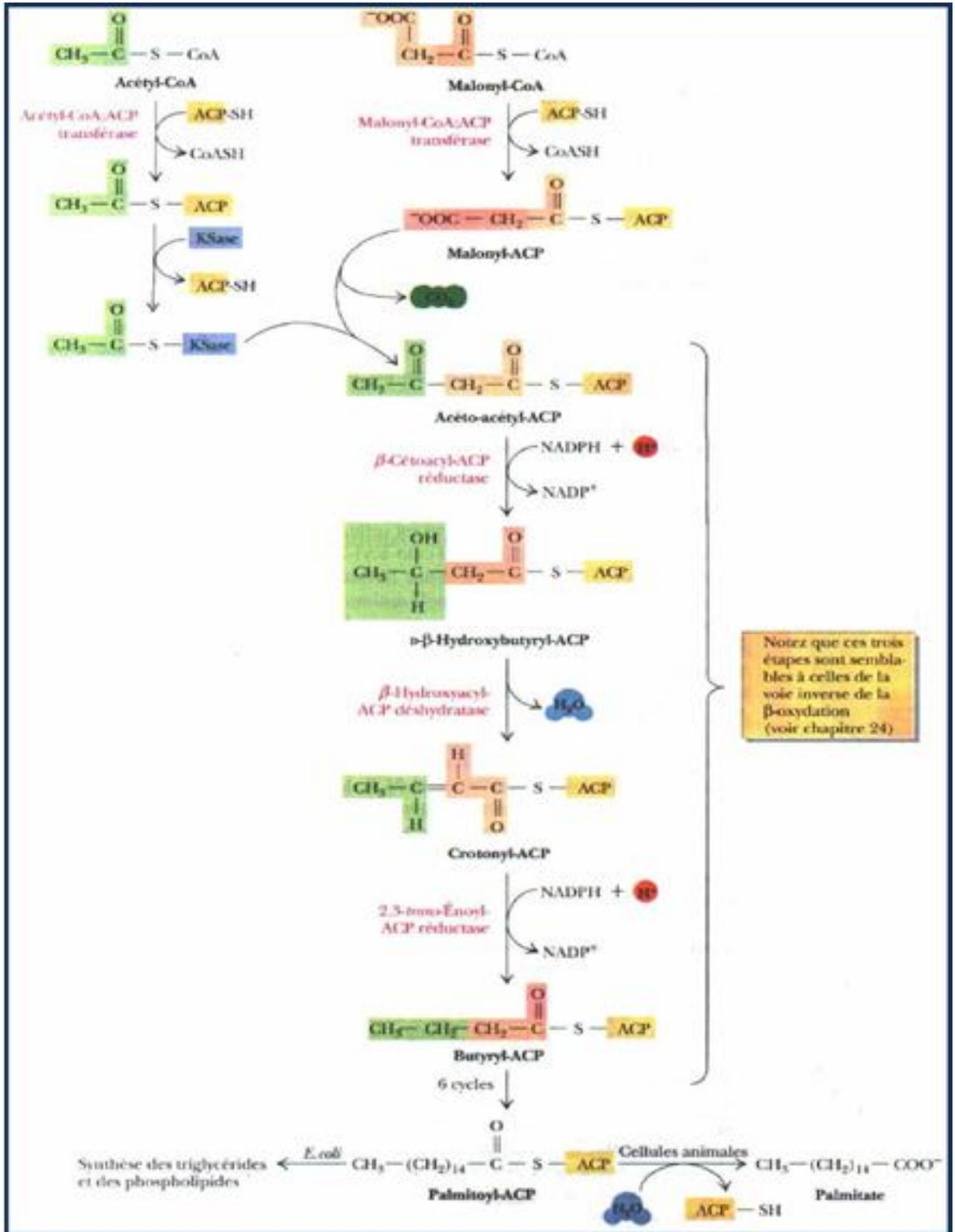


Figure 7: Différentes étapes de biosynthèse des acides gras

-Rôles biologique des acides gras

Les acides gras (mono-insaturés) ont une influence sur le taux de cholestérol sanguin. On considère comme des éléments protecteurs des maladies cardio-vasculaires. En effet, ils sont reconnus pour abaisser le mauvais cholestérol (cholestérol LDL) et pour augmenter le bon cholestérol (cholestérol HDL).

Une consommation exclusive d'acides gras favorise le déséquilibre en acides gras et une carence en acide gras essentiel. De plus, une consommation excessive de matières grasses riches en acides gras mono-insaturés favorise comme toutes les graisses, une prise de poids pouvant conduire l'obésité [57].

II.2.2. 2.Triglycérides

Les triglycérides (TG) représentent 95 à 98 % des graisses alimentaires et sont composés d'une molécule de glycérol dont les 3 fonctions alcool sont estérifiées par 3 acides gras semblables ou différents. Par simplification, la formule chimique d'un triglycéride peut s'écrire comme présentée en Figure 8.

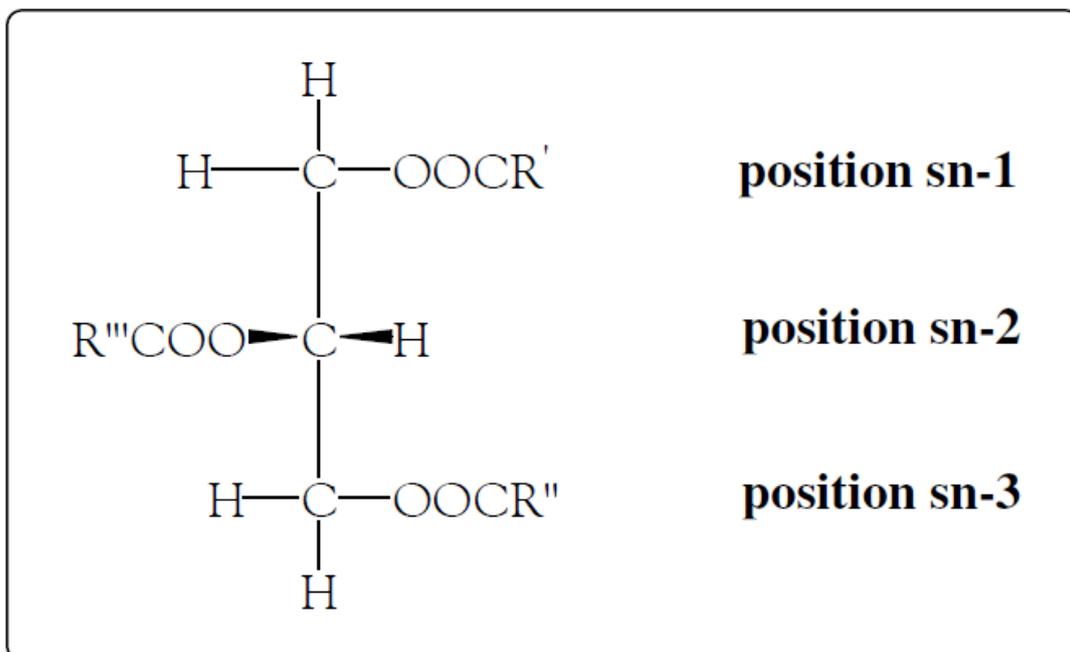


Figure 8: Formule semi-développée des triglycérides

II.2.3. Constituants mineurs

II.2.3.1. Phospholipides

Les phospholipides sont des esters du glycérol dont les positions sn-1 et sn-2 sont estérifiées par des AG et la fonction alcool en sn-3 est naturellement estérifiée par un acide phosphorique lui-même associé à un sucre (inositol) ou une amine (choline, éthanolamine, sérine) (Figure9).

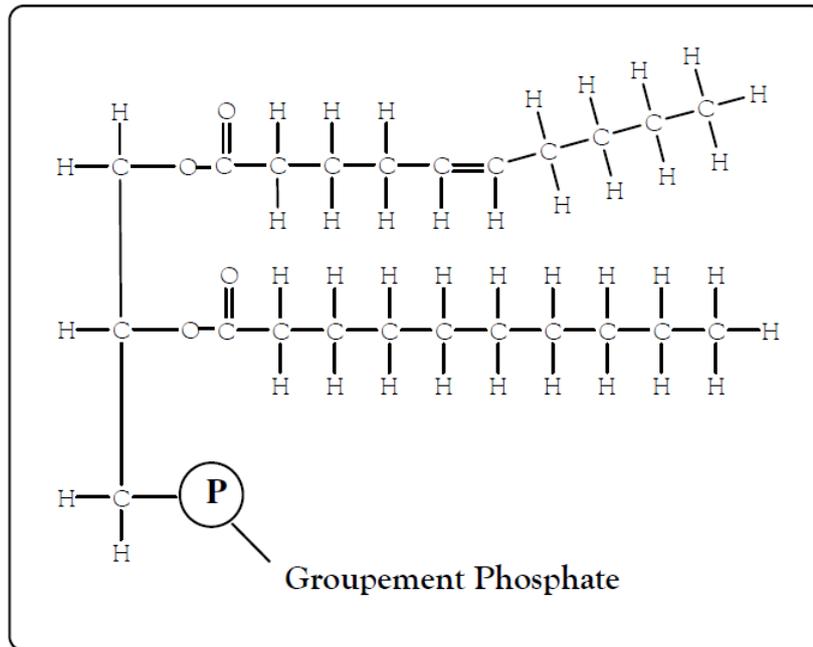


Figure 9: Formule développée d'un phospholipide

Partie I : Matériels et méthodes

I.1. Introduction

Ce chapitre est consacré à l'étude chimique et des activités microbiologiques des huiles des baies de lentisque. Il est reparti en quatre parties : l'extraction de l'huile végétal par soxhlet, l'élimination de l'huile essentielle des baies de lentisque par entraînement à la vapeur d'eau et récupération de l'huile végétale, la détermination des différents indices physico-chimiques, analyse des esters éthyliques par spectrophotométrie infrarouge, détermination de sa composition chimique par CPG, et enfin l'étude de l'activité antibactérienne et antifongique de l'huile végétal.

L'extraction des huiles et la détermination des indices physico-chimiques ont été réalisés au laboratoire de chimie organique (département de Chimie industrielle de l'Université Saad Dahlab de Blida), alors que l'analyse des huiles par chromatographie en phase gazeuse a été effectuée au sein du laboratoire de méthodes physiques d'analyses au département de chimie industrielle à l'Université de Blida. Les analyses infrarouges ont été réalisées au niveau du laboratoire des substances Naturelles du département de Chimie.

Les tests d'activité antimicrobienne ont été réalisés au sein de laboratoire d'hygiène de la Wilaya de Tipaza.

I.2. Matériel d'étude

I.2.1. produits chimiques

Les produits chimiques utilisés lors de notre étude sont donnés dans le tableau suivant :

Tableau 03 : Produits Chimiques.

Produits	Marque
C_6H_{14}	BIOCHEM
$(CH_3CH_2)_2$	BIOCHEM
Na_2SO_4	BIOCHEM
KOH	Merck
C_2H_5OH	BIOCHEM
HCl	Panreac
phénolphtaléine	
CH_3COOH	BIOCHEM
$CHCl_3$	SIGMA-ALDRICH
KI	Panreac
$Na_2S_2O_3$	BIOCHEM
Empois d'amidon	Panreac
CH_3OH	BIOCHEM
CCl_4	ALDRICH
H_2SO_4	BIOCHEM
BF_3	ALDRICH
$KHCO_3$	Merck

I.2.2. Matériels végétales

Les baies mures de lentisque utilisées dans cette étude ont été récoltées en décembre 2012 au niveau de la ville de Sidi-Amar de la Wilaya de Tipaza ; située à environ 13 km au sud-est de la ville de Cherchell et à environ 20 km au sud-ouest de Tipaza.

II.2.3. Matériels biologiques

-Souches microbiennes choisies

Les souches bactériennes utilisées proviennent de la collection de référence ATCC du laboratoire d'hygiène du Centre du sang de la Wilaya de Tipaza, Le nombre sélectionné est de 07 : 03 souches bactériennes et 04 levures.

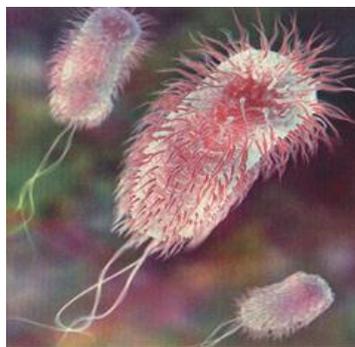
L'essai d'inhibition est réalisé sur des cultures jeunes. La liste des souches est regroupée dans le Tableau (4) Les microorganismes testés vus sous microscope sont illustrés dans la Figure (10 et 11).

Tableau 4: Liste des microorganismes testés.

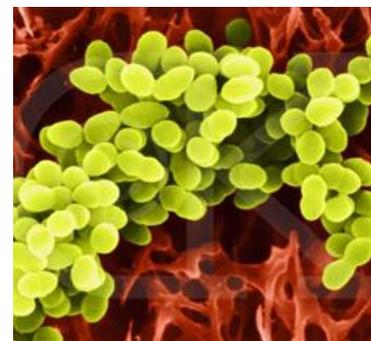
Bactéries
<i>Escherichia coli</i> (Gram-)
<i>Staphylococcus aureus</i> (Gram+)
<i>Bacillus subtilis</i> (Gram+)
Levures
<i>Aspergillus flavus</i>
<i>Aspergillus Niger</i>
<i>Aspergillus fumigatus</i>
<i>Penicillium SP</i>



Bacillus subtilis

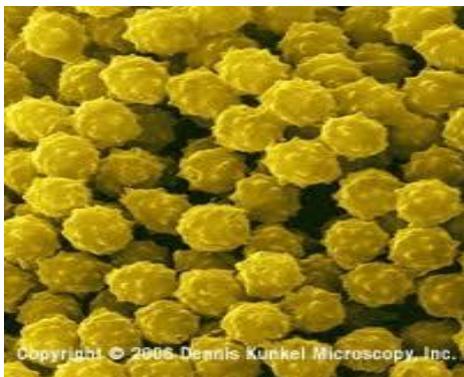


Escherichia coli



Staphylococcus aureus

Figure 10: Bactéries vues sous microscope

*Aspergillus flavus**Aspergillus Niger**Aspergillus fumigatus**Pénicillium SP***Figure 11:** Levures vues sous microscope

I.2.4.Appareillages

I.2.4.1.Spectrométrie infrarouge à transformée de Fourier (IRTF)

L'infrarouge analytique regroupe plusieurs méthodes d'identification et de dosage non destructif basé sur l'étude de l'absorption (ou la réflexion), par l'échantillon, des radiations électromagnétiques comprises entre 1 et 100 μ m. Cette bande spectrale est-elle même divisée en proche I.R (1 à 2.5 μ m), en moyen I.R (2.5 à 25 μ m) et en lointain I.R au-delà. La partie la plus riche en information est celle du moyen I.R .Tous les spectromètres I.R conduisent à un document de base, appelé spectre I.R qui représente, pour chaque longueur d'onde, le rapport, des intensités transmises, avec ou sans échantillon. Ce rapport, appelé transmittance T, peut être remplacé par son pourcentage (%T) ou par l'absorbance, $A = \log(1/T)$. Il est fréquent d'exprimer les longueurs d'onde λ sous forme de nombre d'ondes γ (cm^{-1}) sachant que $\gamma = 1/\lambda$.

L'appareille utiliser est un spectrophotomètre à transformée de Fourier IRTF de marque Jasco type IRTF-8900 (Figure 12).

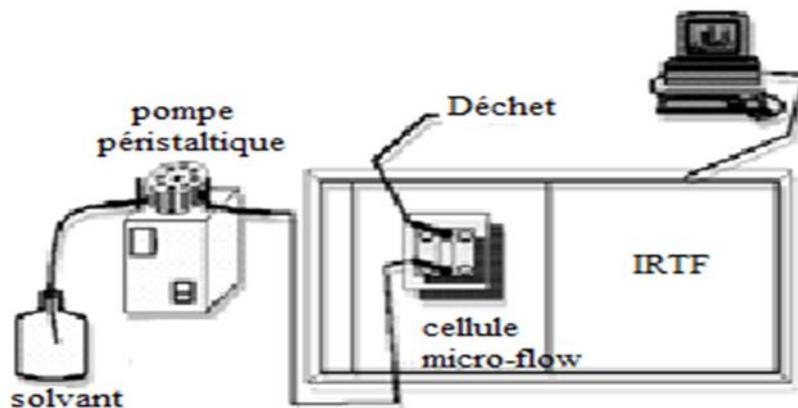


Figure 12: Montage de flux utilisé pour les analyses

I.2.4.2. Chromatographie en phase gazeuse (CPG)

-Principe :

La chromatographie en phase gazeuse (CPG) est une technique de séparation des substances chimiques qui repose sur des différences de comportement de séparation entre une phase mobile courante et une phase stationnaire pour séparer les composants d'un mélange. Si les conditions d'équilibre thermodynamique sont remplies de façon idéale, les molécules du soluté se dispersent de façon gaussienne et leur distribution à la sortie de la colonne peut être figurée par une courbe de Gauss, qui est un pic spécifique à chaque élément à analyser du fait de temps de rétention spécifique dans la colonne en fonction de leur affinité pour celle-ci. Cette méthode permet donc l'analyse de la composition des lipides en acides gras après estérification et permet la détermination exacte de la composition des lipides par comparaison avec des standards (étalons).

I.3.Méthodes

I.3.1. Protocole expérimental d'extraction

I.3.1.1. Description du dispositif d'extraction

-Extraction avec soxhlet

Mode opératoire

Les baies du lentisque ont été broyées à l'aide d'un mixeur. 150 g de broyé sont remplis dans des cartouches placées dans un Soxhlet (Figure 12) de 250ml. Le ballon utilisé est un ballon de 500 mL, remplis de 250mL d'hexane chauffé à l'aide d'un bain-marie.

A la fin de l'extraction, l'hexane est éliminé sous vide à l'aide d'un évaporateur rotatif.

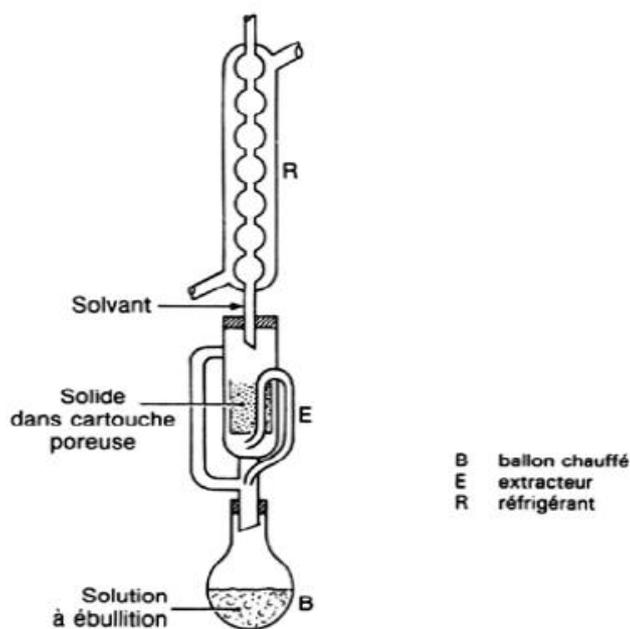


Figure13 : Schéma du Soxhlet



Figure 14: Huile végétal des baies de lentisque extraite avec soxhlet

-Élimination de l'huile essentielle par entrainement à la vapeur d'eau

Mode opératoire

Les baies du lentisque ont été broyées à l'aide d'un mixeur et sont remplis dans un ballon de 2l, alimenté par un courant de vapeur, Les constituants volatiles entrainés par la vapeur d'eau sont condensées au niveau du réfrigérant pour donner un hydrolat et récupérée dans une ampoule à décanter.

L'huile essentielle étant immiscible avec l'eau, le mélange forme un liquide légèrement opaque.

-Récupération de l'huile végétale des baies de lentisque

Ou cour de l'élimination de l'huile essentielle les baies appauvris en huile essentielle est imbibé de l'eau sont soumise à l'extraction par l'hexane pour augmenter le rendement.

A la fin de l'extraction, l'hexane est éliminé sous vide à l'aide d'un évaporateur rotatif.

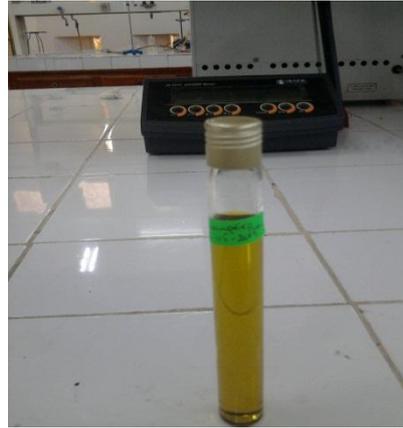


Figure 15 : Huile végétale de lentisque récupéré par l'hexane

-Extraction de l'huile végétale par l'eau chaude

La méthode d'extraction d'huile grasse de lentisque est très ancienne. L'extraction de l'huile étudiée a été réalisée par une méthode traditionnelle par une femme au niveau du Sidi-Amar de la Wilaya de Tipaza. La récolte de la baie se fait entre les mois Novembre et Décembre. Après avoir récolté quantité suffisante des baies mures la récupération de l'huile de lentisque passe par la macération dans de l'eau chaude du fruit, suivie d'une décantation.

Un autre échantillon de l'huile végétale artisanal de lentisque est acheté chez un artisan au niveau de du village de Minasseur dans la Wilaya de Tipaza.

I.3.2. Rendement

Le rendement en huile est estimé par le rapport des masses d'huile et de la matière végétale utilisée. Il est exprimé en pour cent (%) et calculé par la formule suivante :

$$\eta(\%) = M_{HV}/M_{MV} \times 100$$

η (%): Rendement des huiles (%)

M_{HV} : Masse des huiles(g)

M_{MV} : Masse de la matière végétale utilisée (g)

I.3.3. Analyses physico-chimiques des huiles de lentisque

I.3.3.1. Détermination des indices physiques

I.3.3.1.1. Détermination de l'indice de réfraction (AFNOR NF T75-112:1999)

C'est le rapport entre le sinus des angles d'incidence et de réfraction d'un rayon lumineux de longueur d'onde déterminée, passant de l'air dans les huiles maintenue à une température constante. La mesure a été effectuée en utilisant un réfractomètre Abbé. (Figure 16).



Figure 16: Réfractomètre Abbé.

I.3.3.2. Mesure des indices chimiques

I.3.3.2.1. Détermination de l'indice d'acide (AFNOR NF T 75-103:1999)

C'est le nombre de mg de KOH nécessaire à la neutralisation des acides libres contenus dans 1g d'huile essentielle. Les acides libres sont neutralisés par une solution d'hydroxyde de potassium KOH éthanolique.

L'indice d'acide (IA) est calculé par la relation :

$$IA = V.C.56,11 / m$$

IA : Indice d'acide

V : Volume de solution de KOH utilisé pour le titrage en ml ;

C : Concentration exacte de la solution de KOH en moles par litres ;

m : Masse de l'huile végétal en grammes.

-Mode opératoire

On introduit 0.5 g d'huile végétale dans un Erlenmeyer, on ajoute 25 ml d'éthanol et 5 gouttes de solution de phénolphtaléine, comme indicateur colorée et on neutralise la solution avec l'hydroxyde de potassium KOH (0.1 mol/l) contenue dans la burette.

I.3.3.2.2. Détermination de l'indice d'ester (AFNOR NF T 75-104:1994)

C'est le nombre de mg de KOH nécessaire à la neutralisation des acides libérés par l'hydrolyse des esters contenus dans 1g d'huile essentielle. L'hydrolyse des esters présents dans l'huile essentielle se fait par chauffage, dans des conditions définies, en présence d'une solution d'hydroxyde de potassium éthanolique et dosage en retour de l'excès d'alcali par une solution d'acide chlorhydrique HCl.

L'indice d'ester (IE) est donné par la formule suivante :

$$IE = 28.05/m (V_0 - V_1) - IA$$

Où :

IE : Indice d'ester ;

V₀ : Volume de la solution de HCl utilisé pour l'essai à blanc en ml ;

V₁ : Volume de la solution de HCl utilisé pour la détermination en ml ;

m : Masse de l'huile végétal en grammes ;

IA : Valeur de l'indice d'acide déterminé selon la norme NF T 75-103

-Mode opératoire

Dans un ballon on introduit 0.5g d'extrait, on ajoute à l'aide d'une burette 25 ml de la solution d'hydroxyde de potassium C (KOH) =0.5 mol/l, on adapte un tube en verre ou un réfrigérant et on place le ballon sur le bain d'eau bouillante et on laisse pendant une durée précisée dans la monographie de d'extrait à analyser.

I.3.3.2.3.Détermination de l'acidité

L'indice d'acidité est un indicateur qui permet d'évaluer l'altération de la matière grasse consécutive à de mauvais traitement ou à une mauvaise conservation. Il est exprimé en pourcentage (%) d'acide oléique et est mesuré par la quantité de potasse nécessaire à la neutralisation des acides gras libres contenus dans un gramme de corps gras.

L'indice d'acidité (Acidité %) est donné par la formule suivante :

$$\text{Acidité (\%)} = \frac{N \times V \times 282,5}{m \times 1000} \times 100$$

Acidité (%) : Indice d'acidité

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

N : Normalité de la solution d'hydroxyde de potassium en eq.g/l ;

V : Volume de titrage en ml ;

282.5g/mol : Masse molaire de l'acide oléique.

-Mode opératoire

Le dosage de l'acidité consiste à mesurer la quantité d'hydroxyde de potassium nécessaire pour neutraliser 2 gramme de l'huile végétal en présence de 50ml de solvant organique (25ml d'éthanol à 96% et 25ml d'éther diéthylique) et un indicateur coloré (phénol phtaléine). La solution vire au rose persistant pour un volume de KOH (0.1N) correspondant à l'équilibre acido-basique.

I.3.3.2.4.Détermination.Indice de peroxyde

L'indice de peroxyde d'un corps gras représente le nombre de microgramme d'oxygène actif présent dans 1g de matière grasse. L'oxygène actif est l'oxygène existant sous forme de peroxyde, d'hydroxyde ou d'époxyde dans une matière grasse. Il est déterminé conformément à la norme AFNOR NF T60-220 de décembre 1968 dont le principe est le suivant :

Une prise d'essai est mise en solution dans un mélange d'acide acétique et de chloroforme, traitée ensuite par une solution d'iodure de potassium. On titre l'iode libéré par une solution de thiosulfate de sodium en présence d'empois d'amidon (indicateur coloré)

L'indice de peroxyde (IP) est donné par la formule suivante :

$$IP (\mu\text{g/g}) = \frac{(V - V_0) \times N \times 8000}{P}$$

IP : Indice de peroxyde ;

V_0 : Volume de la solution de thiosulfate de sodium utilisé pour l'essai à blanc en ml ;

V : Volume de la solution de thiosulfate de sodium utilisé pour la prise d'essai en ml ;

N : Normalité de la solution de thiosulfate de sodium ;

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

-Mode opératoire

On pèse environ 1g d'huile végétale dans un erlenmeyer de 250 ml auquel on ajoute 10 ml de chloroforme, 15 ml d'acide acétique glacial et 1 ml d'une solution aqueuse saturée d'iodure de potassium. On agite pendant une minute et on met à l'obscurité pendant 5mn. On ajoute 75ml d'eau distillée en agitant rigoureusement et quelques gouttes d'empois d'amidon (indicateur). Le dosage se fait alors avec une solution de thiosulfate de sodium 0.01N. Un essai à blanc sans le corps gras est effectué parallèlement au premier essai.

I.3.3.2.4. Hydrolyse de l'huile végétale des baies de lentisque

La méthode de la saponification suivie (Schéma 1)

50 mL d'une solution éthanolique d'hydroxyde de potassium (0.5 N) sont ajouté à (10 g) de l'huile végétale de lentisque contenu dans un ballon menu d'un réfrigèrent et chauffé sous agitation dans un bain-marie pendants 1 heures. En suite le mélange est concentré à sec sous vide à l'aide d'un évaporateur rotatif .100mL de l'eau distillée sont ajouté au résidu.

Les fractions insaponifiables sont extraites de la solution ainsi obtenue avec de l'éther diéthylique (3x100).

Les fractions combinées sont rincées par 100 mL d'une solution aqueuse d'hydroxyde de potassium (0.5 N) et deux fois par 100 ml de l'eau distillée. La phase organique étherée séchée avec Na_2SO_4 , l'éther éliminé à l'aide d'un évaporateur rotatif.

La phase aqueuse est acidifiée avec une solution de HCl 10% jusqu'à pH acide (pH=1).

Les acides gras libres sont extraits avec de l'éther diéthylique (3x100), la phase organique est lavée avec l'eau distillée jusqu'à pH neutre. Après séchage à l'aide de Na_2SO_4 l'éther est éliminé dans un évaporateur rotatif. Les acides gras récupérés sont stockés pour les analyses.

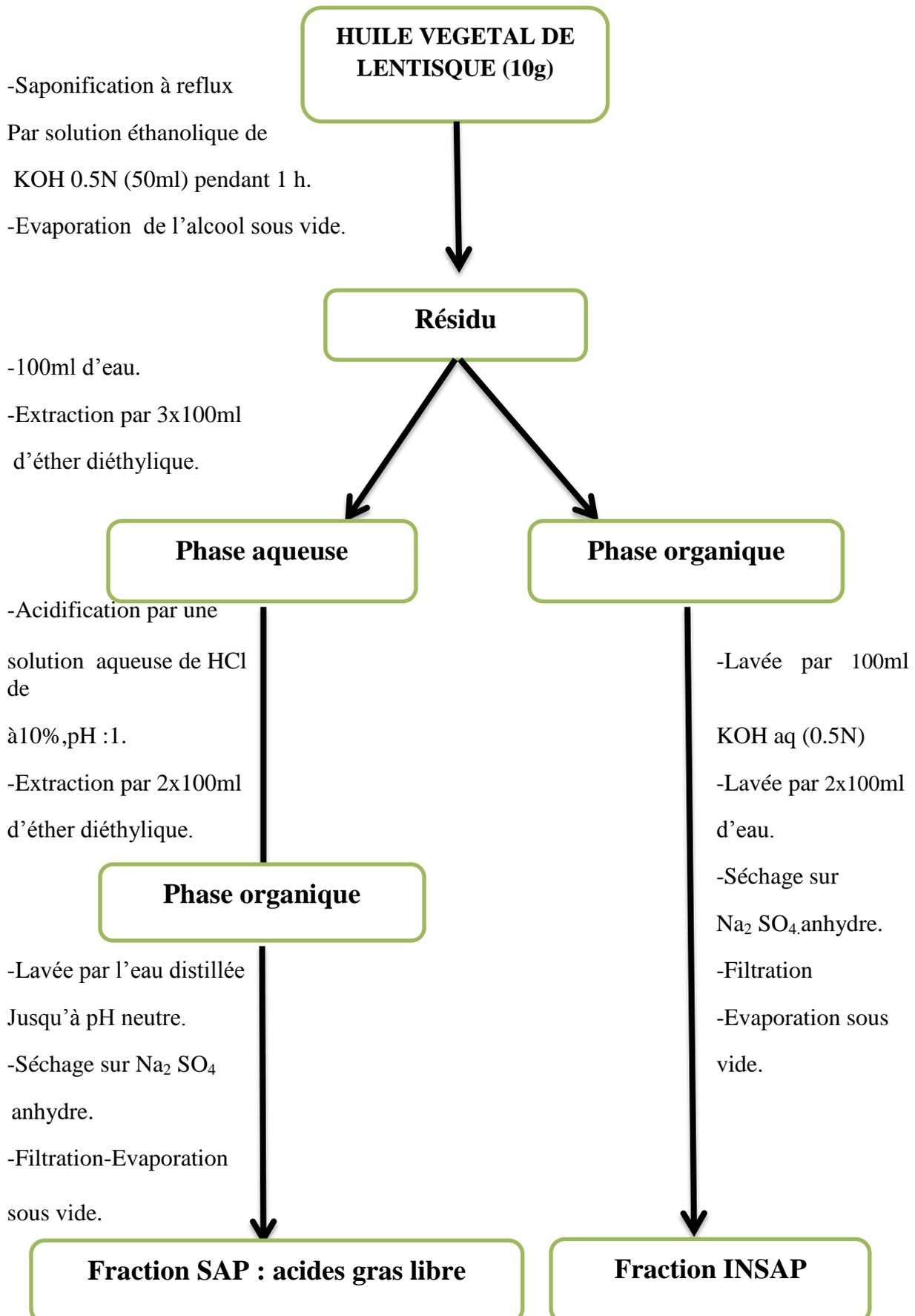


Schéma 1 : Protocole de saponification de l'huile végétal de fruit de lentisque.

Afin de réaliser l'analyse qualitative et quantitative des extraits lipidiques isolés, la chromatographie en phase gazeuse apparaît comme la méthode la plus appropriée.

Cependant, du fait de leur structure, l'étude des acides gras sous forme libre par cette technique est impossible. Il est indispensable de transformer les différents composés en des dérivés spécifiques, afin de les rendre plus volatils. Parmi les dérivés les plus employés : la réaction d'estérification.

I.3.3.2.5. Réaction d'estérification des acides gras

Plusieurs réactions d'estérifications sont faites.

-Estérification extractive

Dans un ballon monocolé de 100 mL muni d'un Dean-Stark sont introduits 10 g d'acide gras, 5 mL d'éthanol, 50 mL (de tétrachlorure de méthyle ou bien chloroforme) et 0,4 mL de H_2SO_4 . Le mélange est chauffé sous reflux jusqu'à la quantité d'eau reste constante.

Après refroidissement les 2 phases sont séparées à l'aide d'une ampoule à décanté la phase organique est lavée avec l'eau distillée jusqu'à pH neutre. En suite la phase organique est lavée par une solution saturée de bicarbonate de potassium suivie d'un lavage à l'eau. La phase organique est récupérée et séchée par Na_2SO_4 anhydre, le solvant est éliminé sous vide à l'aide d'un évaporateur rotatif.

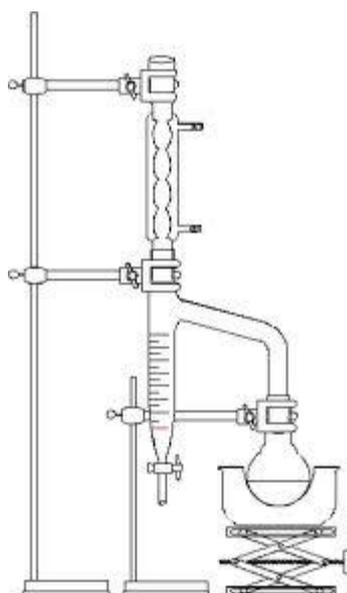


Figure 17 : Schéma du Dean- Starck

-Estérification simple

Dans un ballon monocolle de 100mL sont introduit 4.56g de l'acide gras ,1.92mL d'éthanol .25mL de tétrachlorure de méthyle et 0.4mL de l'acide sulfurique concentré, le mélange réactionnelle est chauffée sous reflux pendant 10heure.

Après refroidissement les 2 phases sont séparées à l'aide d'une ampoule à décanté la phase organique est lavée avec l'eau distillée jusqu' à pH neutre. En suite la phase organique est lavée par une solution saturé de bicarbonate de potassium suivez d'un lavage à l'eau .La phase organique récupérer et sécher par Na_2SO_4 anhydre, le solvant est éliminé sous vide à l'aide d'un évaporateur rotatif.

-Estérification par BF_3

50 mg de l'acide gras sont estérifiés par 5 ml de méthanol. Le mélange est chauffé sous reflux pendant 10min. En suit 2.2ml de BF_3 sont ajoute au mélange réactionnelle est encore chauffé jusqu'à l'ébullition pendant 5min. Après refroidissement l'ester méthylique a été extrait par l'hexane dans une ampoule à décante. .

I.3.4. Etude de l'activité antimicrobienne des huiles végétal des baies de lentisque

Cette partie consiste à mettre en évidence le pouvoir antiseptique des huiles végétal des baies de lentisque à l'aide de deux méthodes qualitative et quantitative, en procédant à des tests sur une sélection de souches de référence bactérienne et fongique connues et qualifiées comme étant dangereuses et pathogène pour l'homme et l'animal.

L'aromatogramme

L'aromatogramme est basé sur une technique utilisée en bactériologie médicale, appelée « antibiogramme » ou « méthode par diffusion en milieu gélosé » ou encore « méthode des disques ».

Cette méthode a l'avantage d'être d'une grande souplesse dans le choix des antibiotiques testés, de s'appliquer à un très grand nombre d'espèces bactériennes, et d'avoir été largement évaluée par 50 ans d'utilisation mondiale

Il s'agit d'une méthode en milieu gélosé à l'agar réalisé dans une boîte de pétri (in vitro). Le contact se fait par l'intermédiaire d'un disque absorbant sur lequel on dépose une quantité donnée d'échantillon.

-Principe :

La technique consiste à utiliser des disques de papier absorbants stériles (de 9 mm de diamètre) imprégnés d'une quantité de solution (2mL huile végétal+2mL hexane) et déposés à la surface d'une gélose inoculée et uniformémentensemencée par la suspension bactérienne à étudier. La diffusion de la solution à partir du disque au sein de la gélose détermine un gradient de concentration.

Les micro-organismes poussent sur toute la surface de la gélose sauf là où elles rencontrent une concentration de la solution suffisante pour inhiber leur croissance dont on observe après incubation tout autour des disques une zone circulaire claire indemne de colonies, appelée « zone d'inhibition » (Figure 18).

Plus le diamètre de cette zone est grand, plus la souche est sensible à l'huile. Plus il est petit, plus la bactérie est résistante

Cette méthode est tirée du principe du titrage des antibiotiques « pharmacopée européenne 2002 », elle a été aussi utilisée par plusieurs auteurs.

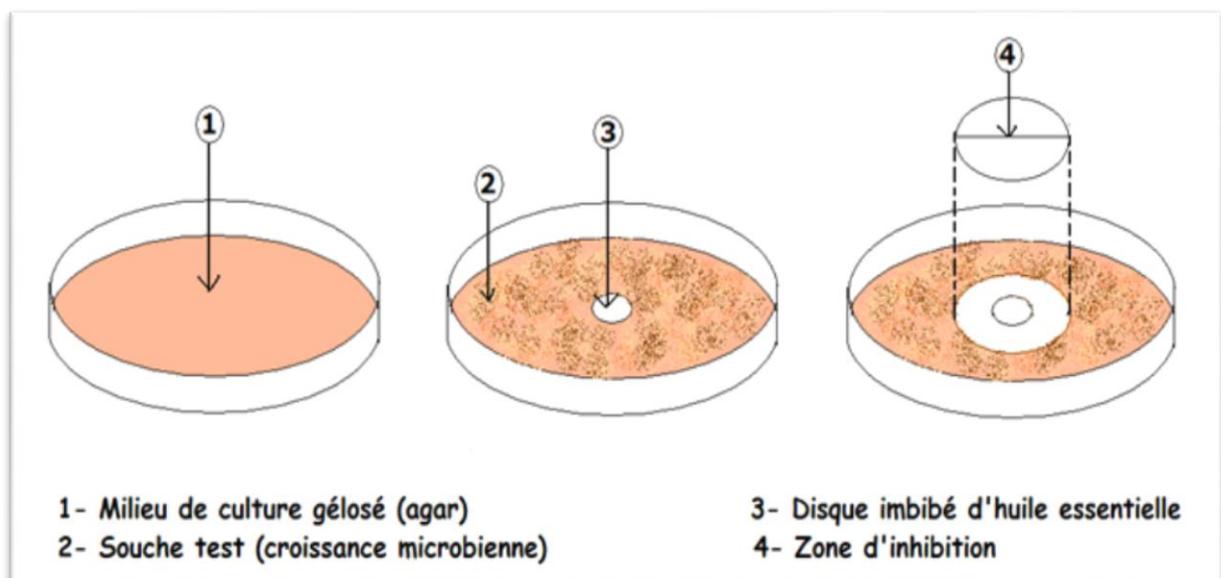


Figure 18: Illustration de la méthode des antibiogrammes

I.3.4.1. Protocole expérimental

-Préparation de l'inoculum

Les suspensions bactériennes ont été réalisées par prélèvement de 3 à 5 colonies bien isolées et identiques d'une culture jeune de 18h pour les bactéries et 48h pour les levures, les mettre ensuite dans 9 ml d'eau physiologique stérile, puis agiter au vortex pendant quelques secondes.

-Préparation des milieux de culture

Verser les milieux gélosés déjà liquéfiés dans un bain marie (gélose nutritive (GN) pour les bactéries et gélose base à l'oxytetracycline (OGA) pour les levures) sur des boîtes de pétri à raison de 15 ml par boîte.

-Préparation de la deuxième couche du milieu

Remplir des flacons stériles avec 50 ml de gélose nutritive (GN) pour les bactéries, et avec 50 ml de gélose base à l'oxytetracycline (OGA) pour les levures, ceci pour chacune des souches,

Ensemencer les milieux de culture avec 200 μ L de chaque suspension,

Transvaser rapidement 4 ml de chaque milieu inoculé en deuxième couche sur la surface des boîtes contenant déjà la première couche de gélose,

Etaler rapidement la seconde couche en faisant pivoter la boîte sur elle-même pour avoir une surface uniforme et laisser solidifier sur la paillasse.

-Dépôt des disques

Les disques en cellulose stériles, imbibés d'une quantité de notre solution (huile végétal +hexane), sont déposés sur la surface de la gélose, puis laisser diffuser sur la paillasse pendant 30 minutes. L'incubation s'effectue à 37°C pendant 24 H pour les bactéries et 25°C pendant 48 H pour les levures.

-Lecture

Mesurer le diamètre des zones claires autour des disques (zone d'inhibition) à l'aide d'un pied à coulisse.

Partie II : Résultats et Discussions

II.1 Rendement en huile végétale de lentisque

Dans le but d'obtenir une masse de l'huile végétale suffisante pour effectuer toutes les analyses physico-chimiques et microbiologiques, nous avons réalisé une série d'extraction de végétale de lentisque.

Le rendement de l'extraction de l'huile végétale par soxhlet la moyenne des rendements obtenus exprimée en pourcentage est de 4%. Cette valeur étant inférieure à celle obtenue par la méthode artisanale 20% [55].

II.2. Propriétés organoleptiques de l'huile végétale de lentisque

L'huile végétale obtenue par différentes méthode d'extraction et commerciale présente les caractères organoleptiques regroupés dans le tableau 5.

Tableau 5 : Propriétés organoleptiques de l'huile végétale de lentisque.

Aspect	Couleur	Odeur
liquide	Vert- jaunâtre	balsamique

II.3 Caractéristiques physico-chimiques des huiles végétales de lentisque

Les résultats des analyses physico-chimiques sont donnés par le tableau 4.

Tableau 6 : Caractéristiques physico-chimiques des huiles végétales de lentisque.

	HV extraite par l'eau chaude	HV commerciale	HV extraite par soxhlet	HV récupéré par hexane
η_{20}^D	1.470	1.473	1.468	1.464
A(%)	4.09	2.54	4.94	4.66
IA	8.97	7.85	6.73	3.36
IE	5.05	11.78	15.71	5.05
IS	14.02	19.63	22.44	8.41
IP	0	0	0	0

-Les indices de réfraction obtenus sont semblables à ceux de l'huile d'olive et dépendent aux critères d'utilisation en cosmétologie. Les valeurs d'indice de réfraction sont conformes aux méthodes d'extraction sélective utilisées.

-La qualité de l'huile végétale est liée à l'acidité. L'acidité augmente au cours de la décomposition des huiles végétales la stabilité est améliorée par le faible degré d'acidité.

-Les huiles végétales extraites à partir des baies de lentisque par les deux procédés utilisant l'eau chaude possèdent le même indice d'ester, par contre celle extraite avec l'hexane est trois fois supérieure, cela permet d'attribuer cette différence à la dissolution des esters dans l'eau.

-L'indice de peroxyde est nul ce qui indique l'absence des insaturations.

-Réaction de saponification

La réaction de saponification a permis de récupérer :

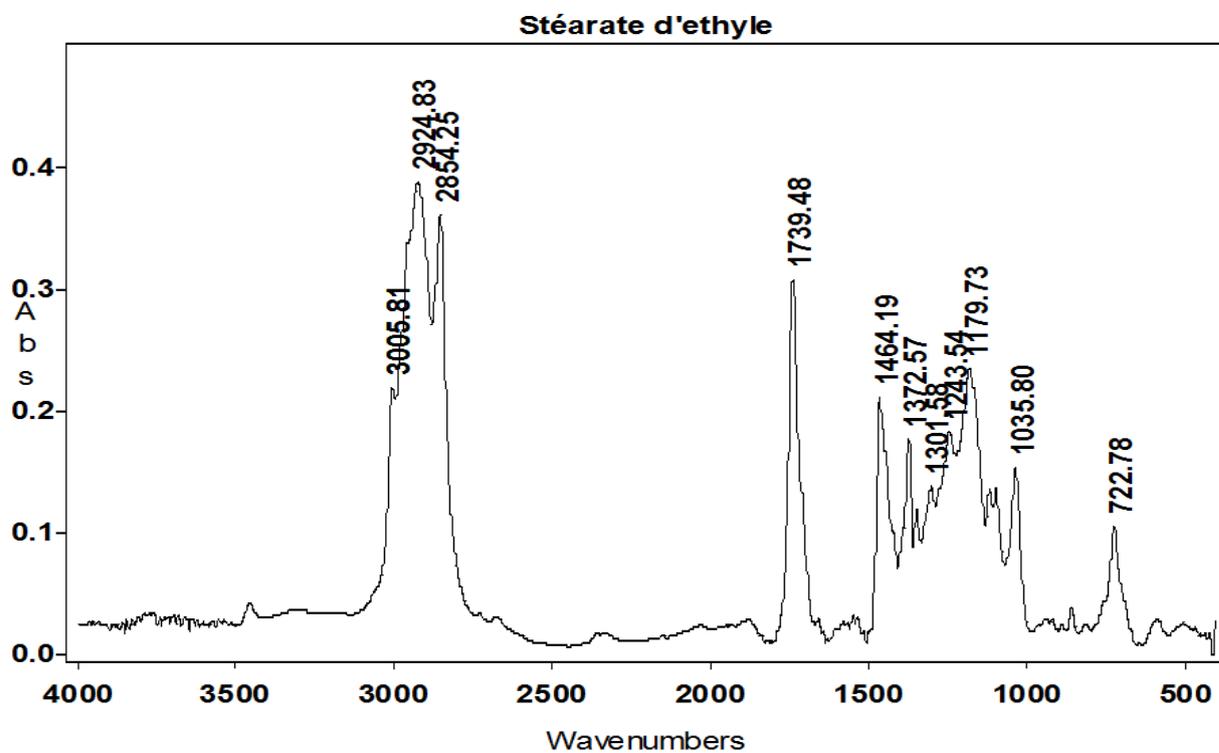
- Une fraction saponifiable (SAP). Elle se présente sous forme pâteuse de couleur Jaune verte. le rendement est présenté dans le tableau (5).
- 1- Une fraction insaponifiable (INSAP). Cette fraction se présente sous forme de traces.

Tableau 07 : Rendement de la réaction de saponification.

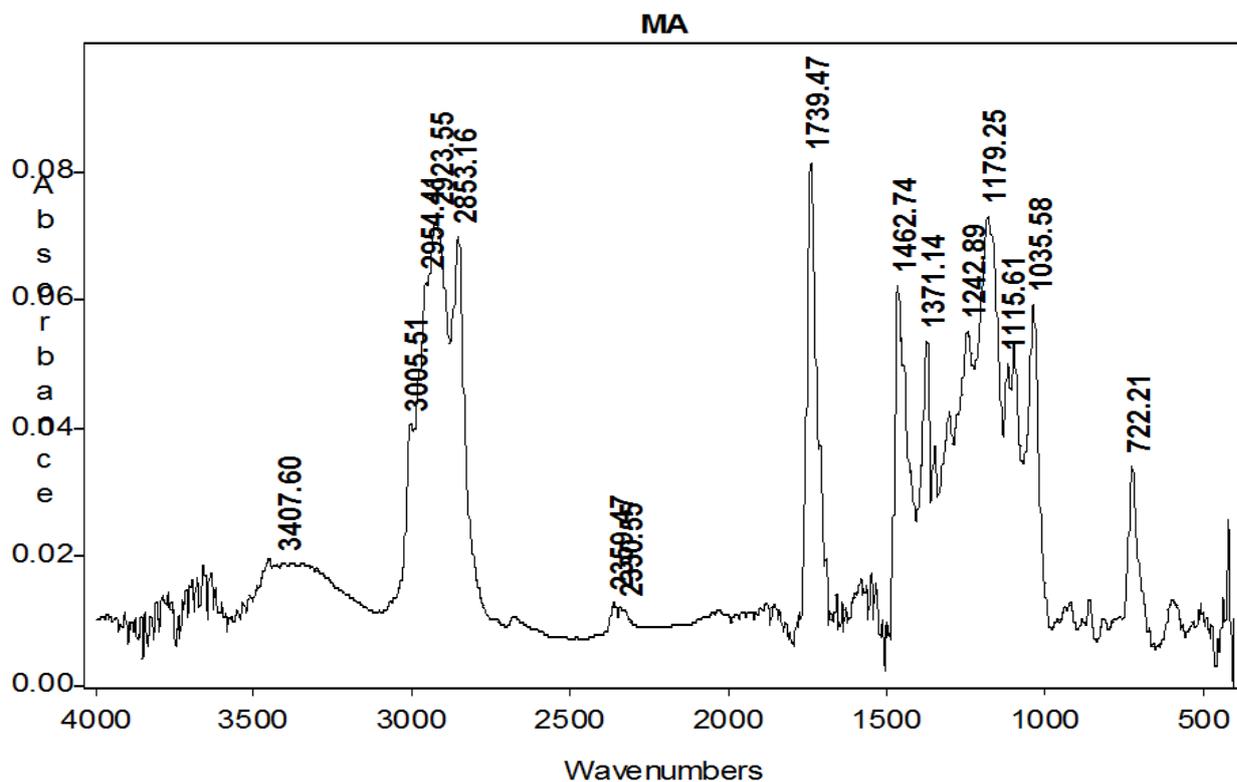
	HV extraite par l'eau chaude	HV commerciale	HV extraite par soxhlet	HV récupéré par hexane
Rendement	78.4%	85.8%	56.6%	65.9%

II.4.Spectrophotométrie infrarouge

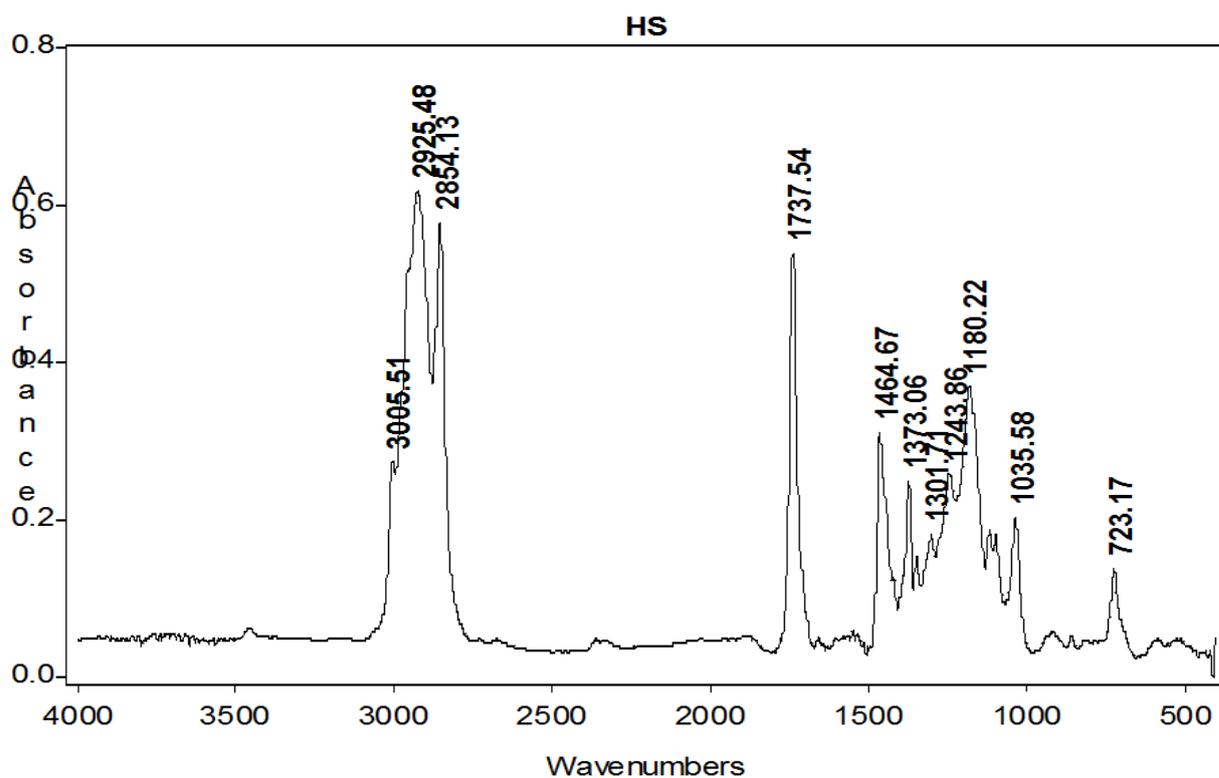
Spectre infrarouge de stéarate d'éthyle :



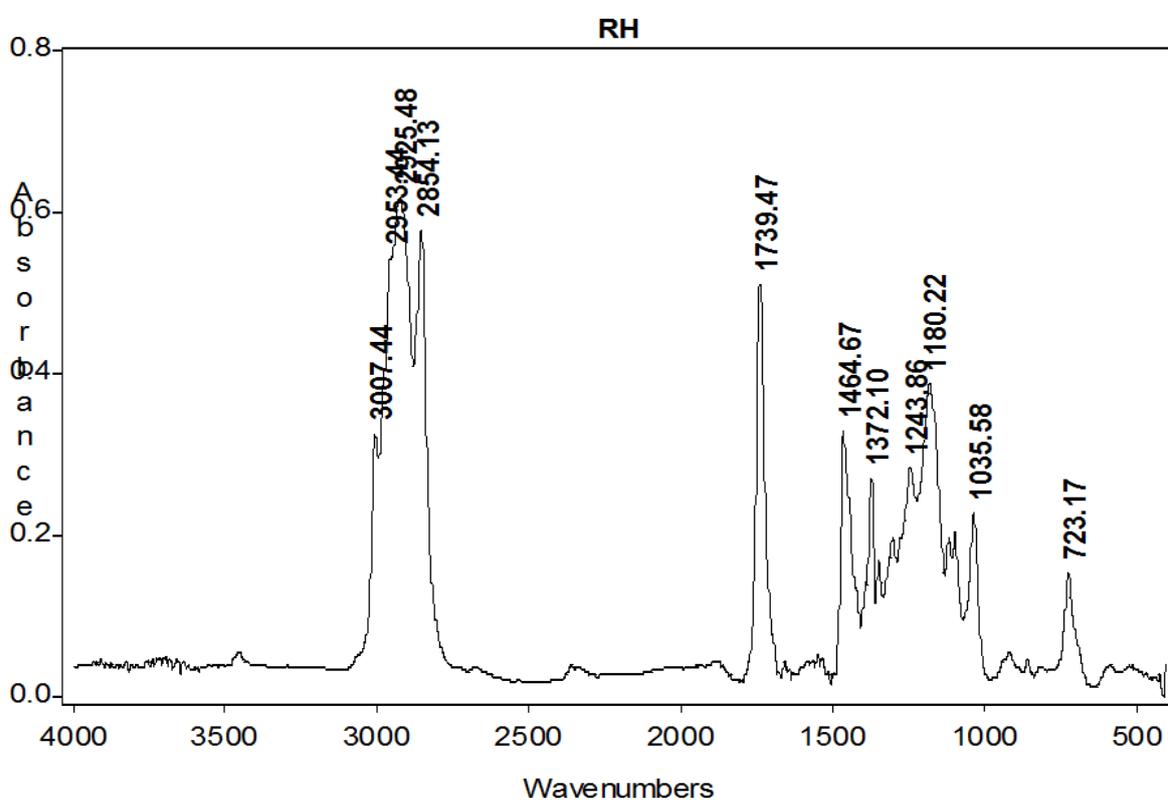
Spectre infrarouge de l'huile végétale extraite par l'eau chaude estérifiée



Spectre infrarouge de l'huile végétale extraite avec soxhlet estérifiée



Spectre infrarouge de l'huile végétale récupéré par l'hexane estérifiée



Les spectres infrarouges de l'estérification des acides gras d'huile végétale extraite par l'eau chaude, l'huile végétale extraite avec soxhlet et l'huile végétale récupéré par l'hexane estérifiées sont identiques celui du stéarate d'éthyle ils sont caractérisés par :

L'existence de deux pics de fortes elongations à 2953,44 (elongation asymétrique) et 2854,23 cm^{-1} (elongation symétrique) associés à a vibration de la liaison -C-H du groupement méthyle (-CH_3).

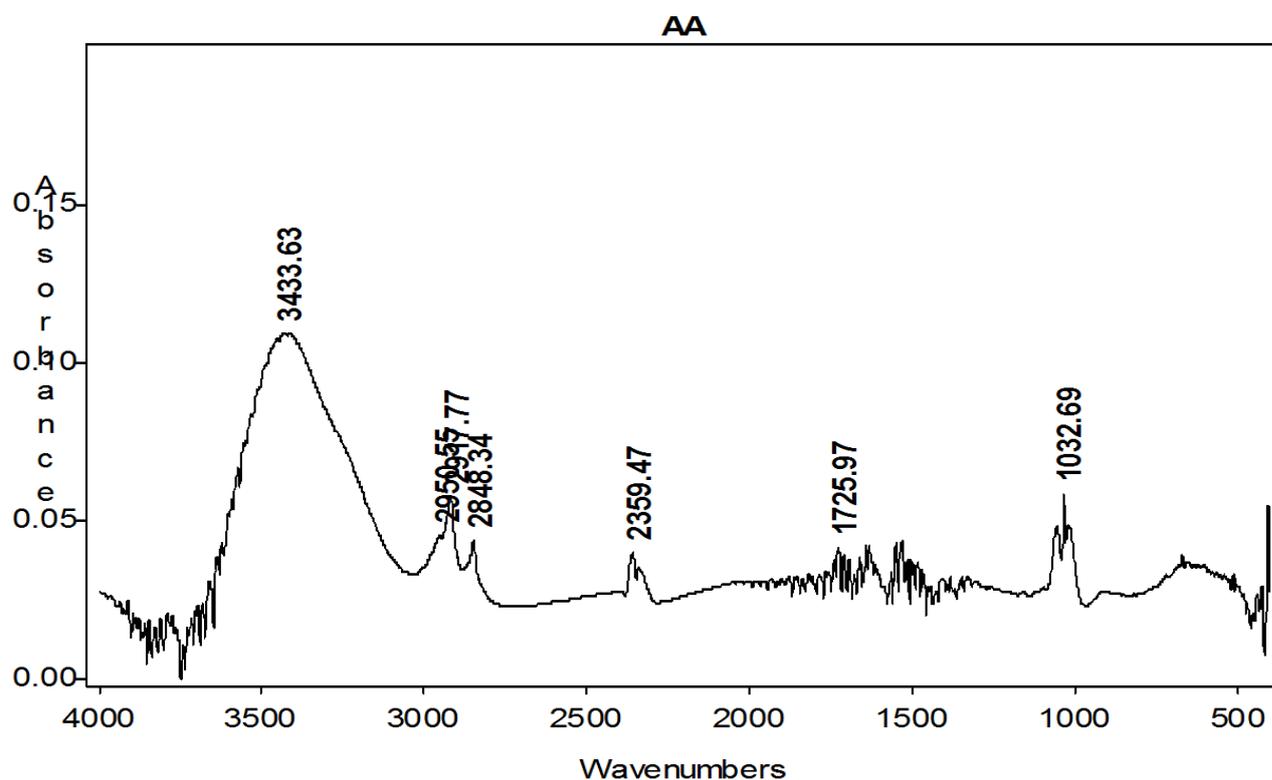
Dans la même région, on distingue 2 autres pics, le premier d'intensité forte à 2925,82 cm^{-1} pour l'elongation asymétrique associé à la liaison -C-H du groupement méthylène (-CH_2) et un autre pic moyenne à 2850,00 cm^{-1} d'elongation symétrique de la même liaison -C-H du groupement méthylène (-CH_2).

Dans la région entre 1750 et 1730 cm^{-1} , un pic d'intensité forte est localisé à 1739,48 cm^{-1} caractéristique du groupement carbonyle -C=O des esters aliphatiques.

On remarque aussi la présence de 2 bandes de fortes intensités entre 1300 et 1050 cm^{-1} pour l'elongation de la liaison -C-O .

Cependant l'ester de l'acide gras correspondant à l'huile extraite par l'eau chaude caractérisé en plus des pics déjà décrit par la présence d'une bande à 3407.60 cm^{-1} spécifique à la fonction du phénol et 2 pics voisins à 2359.47. cm^{-1} et 2350.55 cm^{-1} associe à la forme chélate des polyphénols.

Spectre infrarouge de l'huile végétale commerciale estérifiée



Le spectre infrarouge obtenu à partir de l'huile des baies de lentisque commerciale est totalement différent de ceux préparé au laboratoire.

Une bande large visible sur le spectre, elle est spécifique à l'élongation de vibration de la fonction (-OH) des phénols ou polyphénols.

Les pics relatifs à l'élongation de vibration des liaisons (-CH) des groupements méthyles, méthylènes sont présents sur le spectre.

Il faut noter aussi la présence des deux pics voisins à 2359.47 cm^{-1} correspondants à la forme chélate.

II.5. Activité antimicrobienne des huiles végétales de lentisque

L'activité antimicrobienne des huiles végétales est évaluée en fonction du diamètre (mm ou cm) des zones d'inhibition de la croissance microbienne.

L'estimation de l'activité antimicrobienne des huiles végétales est basée sur une échelle de mesure mise en place par Meena et al. (1994). Ils ont classé le pouvoir antimicrobien, en fonction des diamètres des zones d'inhibition de la croissance microbienne, en 04 classes :

- Fortement inhibitrice lorsque le diamètre de la zone d'inhibition est supérieure à 28mm.
- Modérément inhibitrice lorsque le diamètre de la zone d'inhibition varie entre 16 et 28 mm.
- Légèrement inhibitrice lorsque le diamètre de la zone d'inhibition varie entre 10 et 16 mm.
- Non inhibitrice lorsque le diamètre de la zone d'inhibition est inférieure à 10 mm.

Les résultats des activités antibactériennes des huiles végétales des baies de lentisque sont donnés par le Tableau 7.

Tableau 8 : Activités antibactériennes des huiles végétales des baies de lentisque.

		Les échantillons			
		HV extraite par l'eau chaude	HV commerciale	HV extraite par soxhlet	HV récupéré par hexane
Microorganismes					
Bactéries	<i>Escherichia coli</i> (Gram-)	-	-	-	-
	<i>Staphylococcus aureus</i> (Gram+)	-	-	-	-
	<i>Bacillus subtilis</i> (Gram+)	-	-	-	-
Levures	<i>Aspergillus flavus</i>	-	-	-	-
	<i>Aspergillus Niger</i>	-	-	-	-
	<i>Aspergillus fumigatus</i>	-	-	-	-
	<i>Pénicillium SP</i>	-	-	-	-

(-) : aucune activité antimicrobienne.

Les huiles végétale des baies de lentisque favorise le développement des levures par conte les bactéries son insensible à ces huiles.

Ces résultats permettent d'attribuer l'activité biologique des huiles végétales de lentisque seulement aux effets pharmacologique.

Aspergillus fumigatus



HV extraite par l'eau chaude

Aspergillus Niger



HV récupéré par hexane

Aspergillus flavus



HV commerciale

Penicillium SP



HV extraite par soxhlet

Figure 19 : Exemple des activités antifongiques

Escherichia coli



Staphylococcus aureus

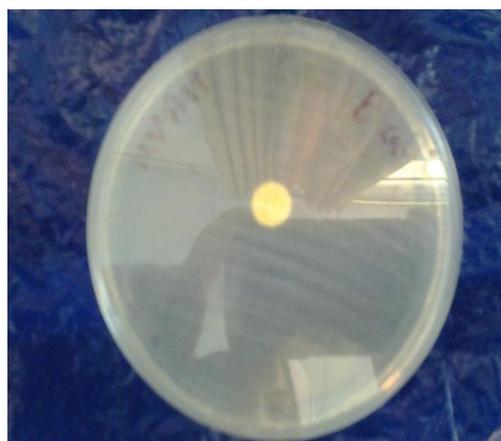


Figure 20 : Exemple des activités antibactériennes

ANNEXE

Figures des résultats des activités antifongiques

Aspergillus Niger



HV commerciale



HV extraite par l'eau chaude



HV extraite par soxhlet



HV récupéré par hexane

Aspergillus flavus



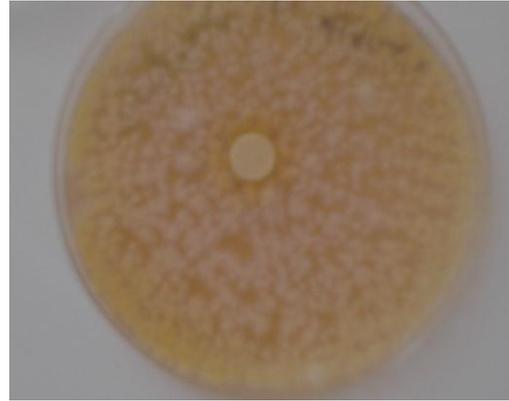
HV commerciale



HV extraite par l'eau chaude



HV extraite par soxhlet



HV récupéré par hexane

Aspergillus fumigatus



HV commerciale



HV extraite par l'eau chaude



HV extraite par soxhlet



HV récupéré par hexane

Penicillium SP



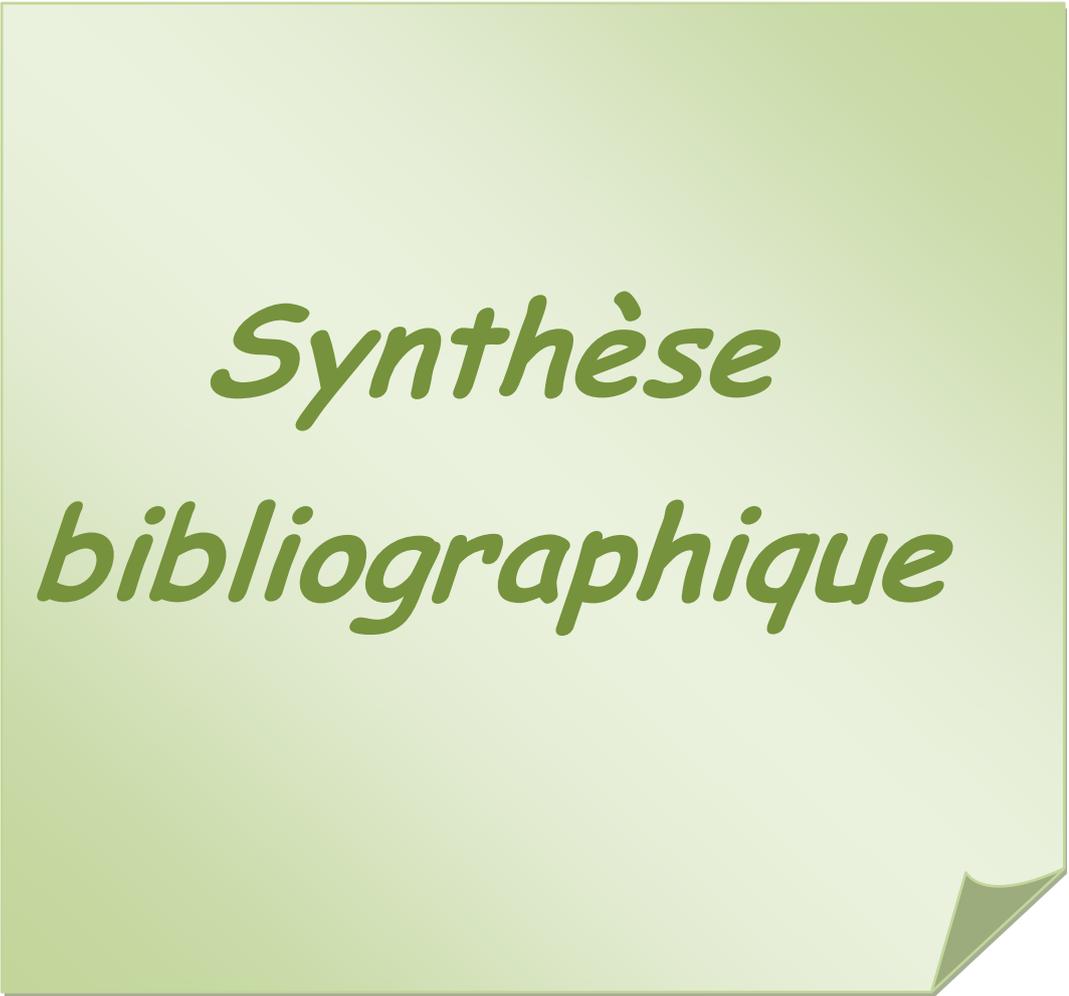
HV commerciale



HV récupéré par hexane

Introduction

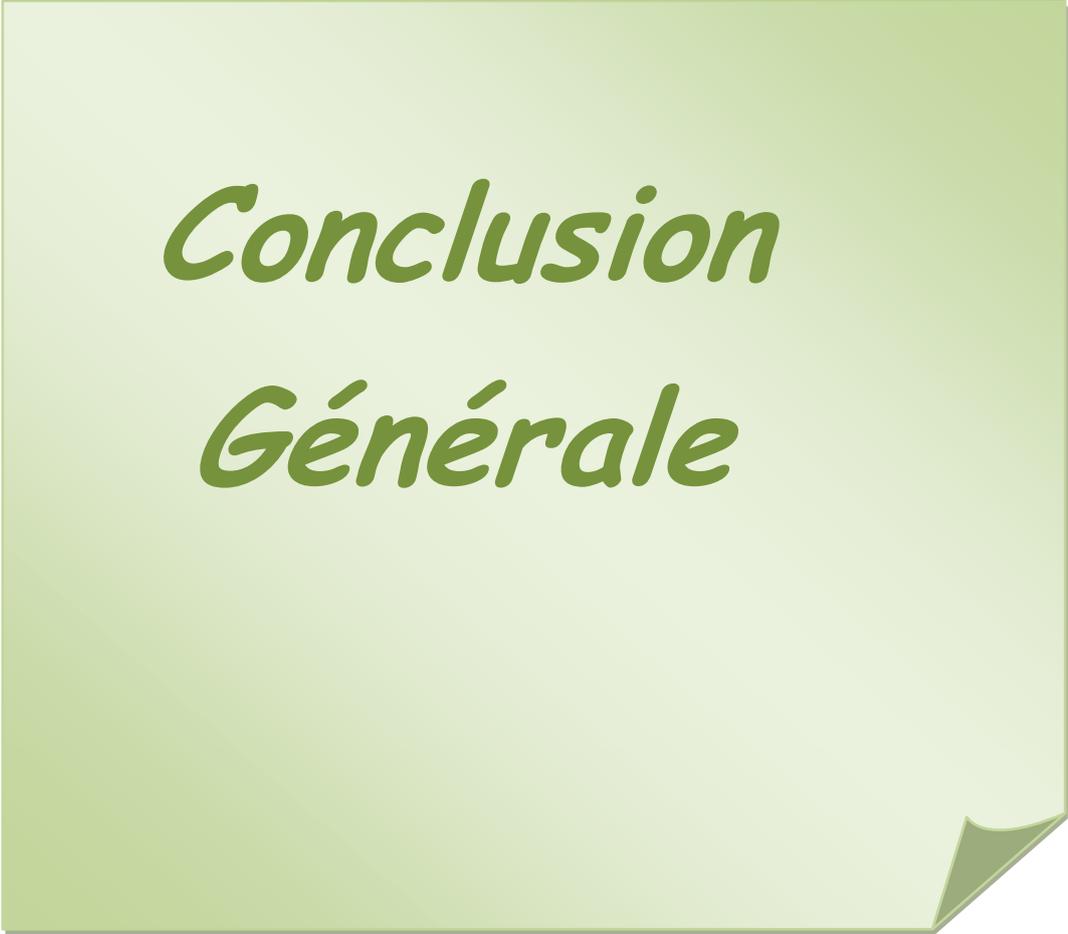
Générale



*Synthèse
bibliographique*



*Partie
expérimental*



*Conclusion
Générale*

Références

Bibliographique

ANNEXES

Conclusion générale :

L'application de procédés et de méthodes bien étudiés ont permis de connaître la composition de l'huile des baies du lentisque. Ces résultats, une fois exploitée vont permettre d'établir la relation entre la structure chimique et l'activité biologique. Le procédé artisanale d'extraction est très apprécié pour son rendement mais les techniques d'extraction par solvant volatil et la séparation de l'huile essentielle des huiles végétales des baies ont permis d'identifier le composé principale.

L'extraction de l'huile végétale des baies à l'aide de l'hexane a permis d'obtenir des composés dont l'indice de réfraction (=) est uniforme et il permet son utilisation les formulations à caractère pharmacologique et en cosmétique. Les valeurs de l'indice d'acide (=) et de l'acidité en plus de l'indice d'ester favorisent la stabilité et le stockage de l'huile extraite. L'indice de peroxyde déterminé montre que l'huile des baies du lentisque est stable vis-à-vis de l'oxydation. Cette inertie chimique montre l'absence de groupement fonctionnelle sensible à l'oxydation comme la double liaison.

Les résultats de la spectrophotométrie infrarouge montrent la superposition des spectres des esters d'acides gras des huiles extraites à l'aide de l'hexane avec celui du stéarate d'éthyle. Ces résultats sont totalement différents de ceux cités dans la littérature et qui sont en accord avec les interprétations ultérieures.

Les analyses par chromatographie en phase gazeuse des éthyles esters d'acides gras permettent de confirmer ces résultats.

Les huiles extraites des baies du lentisque ne sont pas toxique vis-à-vis des bactéries et des levures choisies.

Ces résultats doivent être poursuivis en effectuant des analyses par HPLC et RMN .

Références Bibliographiques

- [1] K.H. J. Lee « Current development in the discovery and design of new drug candidates from. Plant natural product leads» J. Nat. Prod. 67, **2004** .Pages 273-283.
- [2] C. P. Page, M. J. Curtis, M.J .Walker, M.C Sutter ET B.B. Hoffman « Histoire de la pharmacognosie.Dans pharmacologie integree» Ed: Deboeck universite.Bruxelle ; **1999**. Pages 8.
- [3] S. M.Harnett, V. Oosthuizen, M. Van de Venter « Anti-HIV activities of organic and aqueous extract of Sutherlandia frutescens and Lobostemon trigonus » Journal of ethnopharmacology 96, **2005**. Pages 113- 119.
- [4] J. Hirshberg« Production of high-value compounds: carotenoids and vitamin E» Curr. Opin. Biotechnol 10, **1999**.Pages 186-191.
- [5] N.R. Farnsworth, O. Arkerle, A.S. Bingel, D.D. Soejarto, Z. Guo « Bull» WHO 63, 1985. Pages 965-981.
- [6] J. Fleurentin, J.M. Pelt« Les plantes médicinales» La Recherche 21, **1990**.Pages 811-818.
- [7] V.E. Tyler« Phytomedicines: back to the future» J. Nat. Prod. 62, **1999** .Pages 1589-1592.
- [8] M.S. Butler «The roles of natural chemistry in drug discovery» Journal Natural Product. 67, 2004. Pages 2141- 2153.
- [9] B. Patwardhan «Ethnopharmacology and drug discovery» Journal of Ethnopharmacology 100, 2005. Pages 50-52.
- [10] S. Ege Organic Chemistry. Structure and Reactivity. 3ed Edition, D. C. Heath and Company, Lexington, **1994**. 1355 pages.
- [11] G.A. Cordell, M.D .Colvard« Some Thoughts on the Future of Ethnopharmacology» Journal of Ethnopharmacology, 100, 2005.Pages 5-14.
- [12] P. Ozenda1. Flore du Sahara, Ed. CNRS. PARIS, France, 977.Pages 250-259.
- [13] H. Gaussen, J.F. Leroy, P. OzendaPrécis de Botanique. 2 – Les Végétaux Supérieurs, Ed. Masson, 2ème édition, **1982**. Pages 579.

- [14] A. Bensegueni, 2007. Les onguents traditionnels dans le traitement des plaies et des brûlures. Thèse d'Etat en sciences vétérinaires. Université Mentouri. Constantine. **2007**. Pages 21-22.
- [15] J., Bellakhdar «La pharmacopée marocaine traditionnelle, Médecine arabe ancienne et savoirs populaires». Ibis Press, Paris, **1997**. Pages 764.
- [16] R. Alloune, A. Liazid et M. Tazerout «Etudes comparatives de deux plantes oléagineuses locales pour la production du biodiesel en Algérie » Revue des Energies Renouvelables SIENR'12 Ghardaïa , 2012. Pages 19 – 22.
- [17] H. Amhamdi, F. Aouinti¹ , J. P. Wathelet and A. Elbachiri¹ «Chemical Composition of the Essential Oil of *Pistacia lentiscus* L. From Eastern Morocco» Rec. Nat. Prod. 3:2. 2009. Pages 90- 95.
- [18] George V.Z Dedoussisa, Andriana C Kalioraa, Stelios Psarrasb, Antonia Chioua, Anastasia Mylonaa, Nikolaos G Papadopoulosb, Nikolaos K Andrikopoulos «Antiatherogenic effect of *Pistacia lentiscus* L. via GSH restoration and downregulation of CD36 mRNA expression **2004**.
- [19] P. Garcia-Fayos, M. Verdu «Soil seed bank, factors controlling germination and establishment of a Mediterranean shrub: *Pistacia lentiscus* L. »Acta Oecologica 19 4; **1998** pages 351-366.
- [20] S. Janakata, H. Al-Merie « Evaluation of hepatoprotective effect of *Pistacia lentiscus* L., *Phillyrea latifolia* and *Nicotiana glauca*» Ethnopharmacology 83; **2002**, Pages 135–138.
- [21] Bellakhdar, J. «Le Maghreb à travers ses plantes: plantes, productions végétales et traditions au Maghreb». Eds. Le fennec. 2003.
- [23] V. Castola, A. Bighelli, J. Casanova. «Intraspecific chemical variability of the essential oil of *Pistacia lentiscus* L. from Corsica » Biochemical Systematics and Ecology 28; 2000. pages 79-88.

- [24] Gardeli Chryssavgi, Papageorgiou Vassiliki, Mallouchos Athanasios, Theodosis Kibouris, Komaitis Michael «Essential oil composition of *Pistacia lentiscus* L. and *Myrtus communis* L.: Evaluation of antioxidant capacity of methanolic extracts» Food Chemistry; 107; **2008**. pages 1120–1130.
- [25] D. Djenane , J. Yangüela , L. Montañés , M.Djrbal ,P.Roncalés a. «Antimicrobial activity of *Pistacia lentiscus* L. and *Satureja montana* essential oils against *Listeria monocytogenes* CECT 935 using laboratory media: Efficacy and synergistic potential in minced beef» Food Control 22 ; **2011**.pages 1046-1053.
- [26] H. Trabelsi , O.Aicha Cherif, F. Sakouhi , P. Villeneuve , J. Renaud, N. Barouh, S. Boukhchina , P. Mayer. «Total lipid content, fatty acids and 4-desmethylsterols accumulation in developing fruit of *Pistacia lentiscus* L. growing wild in Tunisia»Food Chemistry 131; **2012**,pages 434–440.
- [27]Y. MBARK TEJ ;S. DHAOU ; S.SIFI. «Extraction et analyse de la composition acide des huiles fixes de *Pistacia lentiscus* L» Revue des régions arides 1 . **2007** ; pages . 30-39 .
- [28] D. Palevitch, Z. Yaniv «Medicinal plants of the Holy Land. Modan Publishing House» Tel Aviv, Israel. . **2000**.
- [29]S. Ouelmouhoub, « Gestion multi-usage et conservation du patrimoine forestier: cas des subéraies du Parc National d'El Kala» (Algérie). **2005**.
- [30]M.J. Sanz , M.C. Terencio, M. Paya « Isolation and hypotensive activity of a polymeric procyanidin fraction from *Pistacia lentiscus* L. » Pharmazie 47. **1992**. pages 466-471.
- [31] S.G. Wyllie, J.J. Brophy, U. Sarafis, M.J. Hobbs« Volatile components of the fruit of *Pistacia lentiscus* L. » J. Food. Sci 55, **1990**. Pages 1325-1326.
- [32] A.M., Scherrer, R. Motti, C.S., Weckerie« Traditional plant use in the areas of monte vesole and ascea, cilento national park (compania, southern Italy) » Journal of Ethnopharmacology ; 97. **2005**. Pages 129-143.
- [33] P. Magiatis, E.Melliou, A.L.Skaltsounis, I.B. Chinou, S.Mitaku « Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oils of *Pistacia lentiscus* L. var.chia » Planta Med. 65, **1999**.pages 749-751.

- [34] S. Paraschos , P. Magiatis, S. Mitaku, K. Petraki, A. Kaliaropoulos, P. Maragoudakis, A. Mentis, D. Sgouras, A.L. Skaltsounis « In vitro and in vivo activity of chios mastic gum extracts and constituents against *Helicobacter pylori*. *Antimicrob » Agents Chemother* 51, **2007**. Pages 551-559.
- [35] S. Janakat, H., Al-Merie « Evaluation of hepatoprotective effect of *Pistacia lentiscus* L., *Phillyrea latifolia* and *Nicotiana glauca* ». *Journal of Ethnopharmacology* 83, 2002. pages 135-138.
- [36] S. Kordali. A. Cakir, H. Zengin, M.E. Duru «Antifungal activities of the leaves of three *Pistacia* species grown in turkey». *Fitoterapia* 74, **2003**. Pages 164- 167.
- [37] M.S. Ali-Shtayeh, R.M.R., Yaghmour, Y.R., Faidi, Salem, K.A.L. M.A., Al-Nuri « Antimicrobial activity of 20 plants used in folkloric medicine in the palestinian area» *Journal of Ethnopharmacology* 60, 1998. pages 265-271.
- [38] M.S. Ali-Shtayeh, Z. Yaniv, J. Mahajna « Ethnobotanical survey in the palestinian area: a classification of the healing potential of medicinal plants» *Journal of Ethnopharmacology* 73, **2000**. Pages 221-232.
- [39] E. Lev, Z. Amar «Ethnopharmacological survey of traditional drugs sold in Israel at the end of the 20th century» *Journal of Ethnopharmacology* 72, **2000**. pages 191-205.
- [40] E., Lev, Z. Amar «Ethnopharmacological survey of traditional drugs sold in the Kingdom of Jordan» *Journal of Ethnopharmacology* 82, **2002**. pages 131-145.
- [41] O. Said, K. Khalil, S. Fluder, H. Azaizeh « Ethnopharmacological survey of medicinal herbs in Israel, the Golan Heights and the West Bank region» *Journal of Ethnopharmacology* 83, **2002**. Pages 251-265.
- [42] G.V.Z. Dedoussis, A.C. Kaliora, A. Chiou, A. Mylona, N.G., Papadopoulos, N.K. Andrikopoulos «Antiatherogenic effect of *Pistacia lentiscus* L. via GSH restoration and downregulation of CD36 mRNA expression » *Atherosclerosis* 174, **2004**. pages 293-303.
- [43] A.J.N. Prichard « The use of essential oils to treat snoring» *Phytotherapy Research* 18, **2004**. Pages 696- 699.
- [44] T. Baytop «Therapy with medicinal plants in turkey- Past and Present, Second ed. Nobel Publishers » Istanbul. **1999**.

- [45] E. Yasilada, G. Honda, E. Sezik, M. Tabata, T. Fujita, T. Tanaka, Y. ;Takeda ,Y.Takalshi« Traditional medicine inTurkey. V: Folk medicine in the inner Taurus Mountains» J.Ethnopharmacology 46, **1995**. Pages 133-152.
- [46] E. Tuzlaci, P.E. Aymaz« Turkish folk medicinal plants, Part IV: (Gonen Bahkesir)»Fitoterapia 72, **2001**.pages 323-343.
- [47] H.L. De pooter, N.M. Schamp, E.A. Aboutabl, S.F. Eltohamy, S.C., Doss« Essential oils from the leaves of three Pistacia species grown in Egypt» Flavour and Fragrance Journa 6, **1991**.pages 229-232.
- [48] P. Marone, L.Bono, E. Leone, S. Bona, E. Carretto, L. Perversi « Bactericidal activity of *Pistacia lentiscus* L. mastic gum against Helicobacter pylori » Journal of Chemotherapy 13, **2001**.pages 611-614.
- [49] A.N., Assimipoulou, V.P., Papageorgiou« GC-MS analysis of penta- and tetracyclic triterpenes from resins of Pistacia species. Part I. *Pistacia lentiscus* L. var. Chia» Biomedical Chromatography 19 , **2005**.Pages 285-311.
- [50] K.V. Balan, C. Demetzos, J. Prince, K. Dimas, M. Cladaras, Z. Han, J.H.Wyche, P. Pantazis « Induction of apoptosis in human colon cancer HCT116 cells treated with an extract of the plant product Chios mastic gum» In Vivo 19, **2005**. pages 93-102.
- [51] K.V. Balan, C. Demetzos, J. Prince, K. Dimas, M. Cladaras, Z. Han, J.H.Wyche, P. Pantazis « Antiproliferative activity and induction of apoptosis in human colon cancer celles treated in vitro with constituents of a product derived from *Pistacia lentiscus* L. var. Chia» Phytomedicine 14, **2007**.pages 263-172.
- [52] E.M. Giner-Larza, S. Manez, R.M. Giner-Pons, M.C. Recio, J.L. Rios «On the anti-inflammatory and anti-phospholipase A2 activity of extracts from lanostane-rich species» Journal of Ethnopharmacology 73, **2000**. Pages 61-69.
- [53] R.A. Ford, A.M. Api, C.S. Letizia « Monographs on fragrance raw materials»Food Chem. Toxicol. 30 (Suppl), **1992**. Pages 1S–138S.
- [54] O. Bachrouch, J. Mediouni-Ben Jemâa, I. Chaieb, B. Marzouk, M. Abderraba « Insecticidal Activity of *Pistacia lentiscus* Essential Oil on *Tribolium castaneum* as Alternative ton Chemical Control in Storage» Tunisian Journal of Plant Protection 5, No. 1, **2010**.

[55]A. BOUKELOUA «CARACTERISATION BOTANIQUE ET CHIMIQUE ET EVALUATION PHARMACO-TOXICOLOGIQUE D'UNE PREPARATION TOPIQUE A BASE D'HUILE DE *Pistacia lentiscus* L. (ANACARDIACEAE) » mémoire de magister université MENTOURI – CONSTANTINE. **2009**. Page 10.

[56] F. Mezni, A.Maaroufi, M.Msallem, M. Boussaid, M. Larbi Khouja and A.Khaldi «Fatty acid composition, antioxidant and antibacterial activities of *Pistacia lentiscus* L. fruit oils» Journal of Medicinal Plants Research 6(39),**2012**. Pages 5266-5271.

[57] M. Charef ,M.Yousfi ,M. Saidi, P. Stocker «Determination of the Fatty Acid Composition of Acorn (*Quercus*), *Pistacia lentiscus* Seeds Growing in Algeria» J Am Oil Chem Soc. 85, **2008**. Pages 921–924.

[58]F.Z. BELFADEL« Huile de fruits de *Pistacia lentiscus* Caractéristiques physico-chimiques et effets biologiques (Effet cicatrisant chez le rat) » mémoire de magister université MENTOURI – CONSTANTINE. **2009**. Page 47-48.