



Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université Blida 1

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département de Biotechnologie



Mémoire en vue de l'obtention du

Diplôme de Master en sciences de la nature et de la vie

Option : Biotechnologie des Plantes Aromatiques et Médicinales et des Produits Naturels

Thème

Contribution à l'étude des activités antibactérienne et antifongique des extraits des fruits et des feuilles du pistachier (*Pistacia lentiscus L.*)

Présenté par : Djoghlal Meriem

Soutenu : Le 20/ 09/2017

Devant le jury :

M^{me} CHEBATA N.

Maître Assistante (A)

USB1

Présidente

M^{me} HAMICHE A.

Maître Conférence (B)

USB1

Promotrice

M^{me} ALLAL L.

Professeure

USB1

Examinatrice

2016-2017

REMERCIEMENTS

Avant toute chose, je remercie Dieu, le tout puissant, pour m'avoir donnée la force et la patience.

J'exprime mes plus vifs remerciements, et ma reconnaissance toute particulière et gratitude à l'égard du personnel du laboratoire d'analyse physico-chimique et laboratoire de microbiologie de SAIDAL de Dar El-Beida pour l'aide précieuse qu'ils m'ont apporté.

Mes sincères remerciements à M^r Tefahi chef du laboratoire d'hygiène de Blida pour son aide et ses orientations.

J'exprime mes sincères gratitudes à Mr. Bendali A. Maître de conférences à l'université Saad DAHLEB de Blida 1 et Mme GHANAIR Maître de conférences à l'université Saad DAHLEB de Blida 1 pour l'aide précieuse qu'ils m'ont apporté.

Toutes nos profondes gratitudes à **Mme Hamiche A.** Maître de conférences à l'université Saad DAHLEB de Blida 1 pour son dévouement incomparable, son encadrement et pour la confiance qu'elle m'a accordé pour mener à bien ce travail.

Nous remercions vivement :

Mme Chabata N. maître assistante (A) à l'université SAAD DAHLEB de Blida-1- d'avoir accepté de présider le jury.

Mme Allal L. Professeur à l'université de Blida1 qui nous a fait l'honneur de juger ce travail.

Aussi je tiens à remercier tous les enseignants de la spécialité qui m'ont suivi durant tout mon cursus pour leur dévouement et précieux conseils.

Enfin, merci à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin, directement ou indirectement à la réalisation de ce mémoire.

DEDICACE



Je dédie ce modeste travail

Je dédie ce travail :

À ma très chère mère Khoukha , femme de sagesse et de patience, voici l'aboutissement de tes nombreuses nuits de prières, de tes sacrifices et de ta générosité.

À mon cher père Mansour , qui s'est tant sacrifié pour moi, qui s'est toujours donné du mal pour assurer mon bien être. J'espère que je suis à la hauteur de ce qu'il attend de moi.

Mes frères Merouane et Mustapha et ma sœur Asmaa (semsouma). Vous étiez toujours à mes cotés. Je ne pourrai jamais imaginer ma vie sans vous. Que dieu vous garde, vous protège et vous offre une vie pleine de bonheur et de succès ! Que vous trouviez dans ce travail mes vifs sentiments d'amour et d'affection

À Daoud qui m'ont toujours ne cesse pas à mon soutenir pour terminé mon travail.

À mes oncles (frères) khaled et Toufik pour aide moral

À mes cousines : Imene,Jola, Manel ,Karima ,Nada ,Chaima ,Aya

À mon cousin : Reda .

À mes grande parents maternelle et paternelle.

À tous mes oncles et tantes et à toute famille : Djoghla et Derouaoui.

Spéciale dédicace à ma chère Meriem Meka pour son amitié et ses conseilles

À toute mes amies :Hadjer, Khadidja, Razika,Amoura ,Zahra, Amina ,Hassiba, Sabrina ,Hannan et Asmaa,Meriem M.Meriem A.et Fatti tous ceux qui m'ont consacré temps ,patience et conseils surtout dans les moments difficiles.

À toute ma promotion de Biotechnologie des plantes aromatiques et médicinales et des produits naturels 2016/2017.

À tous ceux qui m'aiment.

Meriem

RESUME

Pistacia lentiscus L. est une plante médicinale très utilisée localement par la population algérienne pour traiter différentes maladies grâce à ses activités biologiques (antimicrobienne, antioxydante, anti-inflammatoire et anti-hypertensine). Dans le présent travail, nous avons procédé à l'évaluation de l'activité antibactérienne des extraits de *P. lentiscus* provenant de Hammam Melouane, dans la région de Blida (Algérie). Mais aussi, à l'étude phytochimique de la plante, à l'étude physico-chimique de l'huile fixe.

Les tests phytochimiques réalisés ont permis de mettre en évidence des polyphénols ; des flavonoïdes, des tanins totaux, des tanins gallique, les leuco- anthocyanes, les coumarines, les glucosides, les flavonoïdes et les composés réducteurs. stérols et triterpènes dans les feuilles de la plante. La teneur en phénols totaux est variable : L'extrait aqueux des feuilles a présenté la teneur la plus élevée, (0.7291 mg GAE/g), pour les extraits méthanolique, elle est de (0.628 mg GAE/g), Les analyse organoleptiques et physico-chimique de l'huile végétale des fruits ont montré qu'elle est conforme aux normes AFNOR.,COI et CEE

L'activité antibactérienne et antifongique des différents extraits montre la capacité d'inhibition des extraits aqueux et méthanolique. L'infusé et décocté présentent une activité antimicrobienne modérée. Les résultats obtenus nous ont révélé la résistance de nombreux germes pathogènes en particulier les bactéries Gram (-) aux extraits testées.

Mots clés : *Pistacia lentiscus* L., huile végétale, activité antimicrobienne, antifongique, CPG.

Abstract

Pistacia lentiscus L. is a medicinal plant that is used for many reasons like in antibacterial, antioxidant, anti-inflammatory

Most of interest of current research relates to study the natural antibacterial molecules. Our work aim is to study a phytochemical and their health statements, the method of extraction and antibacterial activity of *Pistacia lentiscus* L.

The present study is a contribution to the popularization, phytochemical screening and antibacterial tests of mastic tree "*Pistacia lentiscus* L." wide spread in Hammam Melouane of Blida.

The phytochemical tests realized can be to highlight the flavonoids, tannins, gallic, leuco-anthocyanes, coumarins, glucosides, reducteur compose and sterols and triterpenes, in the three parts of the plant as well as the presence of the anthocyanes in the leaves.

The total phenol content was varied. Water extract presented higher total phenol contents (0.7291 mg GAE/g) than methanolic extract (0.628 mg GAE/g).

The analytical study of the vegetable oils of *Pistacia lentiscus* L, which related to the organoleptic analysis, and physico-chemical, revealed results in agreement with those recommended by standards AFNOR, COI and CEE.

The oil is mainly composed of unsaturated fatty acids, there linoleic acid dominates

The antibacterial activity were evaluated using different extracts including:

Water extract and methanolic extract was important and boiled water and warm water has a moderate antibacterial activity. Our result present that the extract from *Pistacia lentiscus* L can only detect the bacteria positive gram

Key words : *Pistacia lentiscus* L., antibacterial activity, CPG.

الملخص

جزء كبير من البحوث الموهمة حاليا تعمل على دراسة الجزئيات الطبيعية المضادة للبكتيريا . تعتبر نبتة الضرو نبتة معروفة بنشاطها مضاد الأكسدة و مضاد الالتهاب و مضاد البكتيريا يهدف عملنا هذا إلى الدراسة الفيتوكيميائية والنشاط المضاد للبكتيريا لمستخلصات نبتة الضرو *Pistacia lentiscus L* . المتحصل عليها من منطقة حمام ملوان ولاية البليدة .

الاختبار الفيتوكيميائي الذي قمنا به سمح ل بإظهار الفلافونويدات ،تانا،ستيروول وتريتاربان،و لوكانوتوسيان و غلوكوزيد و مركبات الارجاع في أوراق النبتة.

كمية متعدد الفينولات . للمستخلص المائي لأوراق يمثل الكمية المرتفعة (0.7291)مع معادل حمض الغاليك/غ). (بالنسبة للمستخلص الميثانولي فتمثل 0.628) مغ مع معادل حمض الغاليك/غ). بعد التحاليل الكمية و النوعية لزيت الضرو تبين أن الزيت يخضع لمعايير AFNOR و COI و CEE تمت دراسة النشاط المضاد للبكتيريا لمختلف المستخلصات بواسطة مستخلص المائي و المستخلص الميثانولي الذين اظهرا نشاطا جيدا ضد البكتيريا و أما بالنسبة لمنقوع و مغلي الأوراق اظهرا نشاطا متوسطا ضد البكتيريا و الفطريات .

الكلمات المفتاحية :

زيت نباتي, مضاد البكتيري,مضاد فطري , *Pistacia lentiscus L* .CPG..

AFNOR : Association Française de Normalisation

AG : Acide gras

ATCC: American Type Collective Cultures

CEE : Communauté Economique Européenne

COI : [International Olive Council](#)

CPG : Chromatographie Phase Gazeuse

DMSO: Diméthylsulfoxyde

EAG : Equivalent d'acide gallique

EAQ: Extrait queux

EMAG : Esters méthyliques des acides gras.

FAO :Food association

ISO : International Organization for Standardization

KOH :Hydroxyde de potassium

MeOH :Méthanol

Min : Minute.

Nm : Nanomètre

pH :Potentiel d'hydrogène

UICPA : Union internationale de chimie pure et appliquée.

UV : Ultra violet

ZI: Zone d'Inhibition.

Figure01 : Origine biogénétique des différents polyphénols de type « flavonoïde » en « C6-C3-C6 » » ...	06
Figure02 : Cyclisation des "cinnamates" en coumarines.....	07
Figure 03 : <i>Pistacia lentiscus</i> L.[Anacardiaceae].....	11
Figure 04 Arbuste mâle avec ses étamines rouges.	12
Figure05 : Fleurs femelles (très grossies): les trois stigmates rouges et collants attirent le pollen venu des pieds males.....	12
Figure06 : Fruits rouges en drupes.....	13
Figure 07 : Larmes de résine	13
Figure08 : Aire de répartition de <i>Pistacia lentiscus</i> L. autour du bassin Méditerranéen.....	14
Figure09 :. Carte géographique de la région de Blida	21
Figure 10 : Schéma général de la procédure expérimentale, effectuée sur les rameaux feuillés et fruits du pistachier lentisque « <i>Pistacia lentiscus</i> L. ».....	25
Figure 11 : Feuilles secs	26
Figure 12 : Poudres obtenues après broyage d'échantillon séché (Feuilles de lentisque).	27
Figure 13 : Dispositif de l'extraction des huiles essentielles par hydrodistillation (Clevenger)	31
Figure 14 :Différentes étapes de la réalisation de la technique de double coloration	33
Figure 15 : Extraction liquide-liquide des composés phénoliques d'huile de lentisque.....	35
Figure 16 : Deux phase après décantation (extraction de flavonoïdes)	37
Figure 17 : Protocole de mythélation des AG et les paramètres de le méthode d'analyse	46

Figure 18 : Etapes de la préparation des échantillons pour l'analyse CPG.	47
Figure 18 : Coupe transversale dans la feuille de pistachier lentisque observé en microscope photonique : (G X 40)... ..	56
Figure 19 : Coupe transversale dans la tige de pistachier lentisque observé en microscope photonique : (G X 40).....	56
Figure 20 : Coupe transversale dans la pétiole de pistachier lentisque observé en microscope photonique : (G X 40).....	56
Figure 21 : Rendements des extraits de <i>Pistacia lentiscus L.</i>	57
Figure 22 : Teneurs en phénols totaux pour les deux extraits de la plante étudiée	58
Figure 23 : Composition en acides gras de notre huile déterminée par (C.P.G).....	62
Figure 24 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.....	annexe05
Figure25 : Résultats de l'activité microbienne.....	annexe 07

Tableau 01 : Classification taxonomique d'espèce étudiée	11
Tableau 02 : Différentes activités de <i>Pistacia lentiscus</i> L.....	18
Tableau 03 : Bactéries utilisées dans l'évaluation de l'activité bactérienne	22
Tableau04 : Champignons utilisées dans l'évaluation de l'activité bactérienne.....	23
Tableau 05 : Dosage différentiel spectrophotométrique, des polyphénols totaux de l'extrait méthanolique et l'extrait aqueux	36
Tableau 06 : Degré de sensibilité des souches microbiennes selon le diamètre de la zone d'inhibition	50
Tableau 07 : Résultat du teneur en eau de le <i>Pistacia lentiscus</i> L.....	52
Tableau 08 : Résultats des différentes réactions du screening phytochimique.....	53
Tableau 09 : Aspect des extraits étudiés.....	57
Tableau10 : Caractéristiques physico-chimiques de l'huile de <i>Pistacia lentiscus</i> L.....	60
Tableau 11 : Diamètres des zones d'inhibition de la croissance microbienne obtenus par différentes dilutions de l'huile de lentisque.....	63
Tableau 12 : Gamme d'étalon de l'acide gallique.....	annexe05

- **Anti-diarrhéique** : Un anti-diarrhéique est un principaux administré dans le but de combattre la diarrhée. En d'autres termes de réduire le volume et la fréquence des selles, luttant ainsi contre la déshydratation.
- **Anti-inflammatoire** : qui combat des processus inflammatoires (liée à une infection, à des rhumatismes).
- **Antioxydant** : molécule qui diminue ou empêche l'oxydation d'autres substances chimiques.
- **Antiseptique** : Substance capable de prévenir la manifestation d'infections en contribuant à la destruction des microbes.
- **Antispasmodique** : qui calme les spasmes musculaire.
- **Astringent** : Qui diminue la sécrétion et favorise la cicatrisation des blessures.

Décantation : Elle consiste à laisser se déposer par gravité les particules solides en suspension dans un liquide au fond du récipient .

- **Diurétique** : Les déclenchent une augmentation de l'émission d'urine (diurèse). Au sens strict, il s'agit de substances qui agissent directement sur les reins.
- **Les phialides** : sont des cellules conidiogènes fertiles, en forme de bouteille et qui prennent naissance sur la vésicule terminale.
- **Phytothérapie** : Le mot phytothérapie provient de deux mots grecs qui signifient essentiellement « soigner avec les plantes ».

Chapitre I : Synthèse bibliographique

Résumé

Liste des abréviations

Listes des figures

Liste des tableaux

Glossaire

Introduction1

I. Partie bibliographique

I.1. Plantes médicinales03

I.2. Métabolites secondaires

I.2.1. Composés phénoliques04

I.2.1.1. Les acides phénols04

I.2.1.2. Anthocyanes04

I.2.1.3. Tanins04

I.2.1.4. Flavonoïdes05

I.2.1.5. Coumarines06

I.2.2. Hétérosides07

I.2.3. Alcaloïdes07

I.2.4. Saponosides08

I.2.5. Huiles essentielles08

I.2.6. Huile végétal09

I.3. Rappelle sur les activités étudiées

I.3.1. Activité antimicrobienne.....09

I.3.2. Les principales substances antimicrobiennes10

I.4. CARACTERISTIQUE Du PISTACIA LENTISCUS L.

I. 4.1. Classification systématique10

I. 4. 2. Description botanique..... 11

I.4.3.Répartition géographique de Pistacia lentiscus L..... 14

I.4.4.Exigences écologique de Pistacia lentiscus L.....14

1.4. 5. Produits et dérivés à base de *Pistacia. lentiscus L*..... 15

1. 4.6. Propriétés biologiques et pharmacologiques

I. 4.6.1.Les utilisations en médecine humaine16

I.4.6.2 Les utilisations en médecine vétérinaire17

PARTIE II : MATERIEL ER METHODES

II.1. MATERIEL UTILISE

II.1.1. Matériel non biologique.....20

II.1.2. Matériel biologique.....20

II.2. METHODES D'ETUDE

II.2.1. Détermination de le taux d'humidité de la plante26

II.2.1. Test du screening phytochimique.....27

II.2.2.Extraction des huiles essentielles	31
II.2.3. Confection des coupes histologiques.....	32
II.2.4. Extraction et dosage des polyphénols totaux.....	34
II.2.5. Extraction des différentes fractions.....	36
II.2.6.Huile de Pistacia lentiscus L	
II.2.6.1. Extraction de l'huile végétale.....	38
II.2.6.2.Analyse organoleptique	39
II.2.7. Analyse physico-chimique de l'huile fixe.....	39
II.2.8. Activité biologique	
II.2.8.1. Evaluation de l'activité antimicrobienne.....	49
PARTI :III : RESULTATS ET INTERPRETATIONS	
III.1. Résultat de la taux d'humidité	53
III.2. Screening phytochimique.....	53
III.3.Résultat concernant les huiles essentielles	55
III. 4. Résultat concernant coupes histologiques	49
III.5.Caractérisation et rendement des extraits.....	58
III.6.Dosage des polyphénols totaux.....	59
III.7.Résultat concernant l'huile végétale de Pistacia lentiscus.....	60
III.8. Résultats des activités biologiques	64
CONCLUSION	68
REFERENCES BIBLIOGRHAPIQUES	72
ANNEXES	

I.1. Plantes médicinales et métabolites secondaires:

I.1.1. Plantes médicinales

On appelle plante médicinale toute plante renferment un ou plusieurs principes actifs capable de prévenir, soulager et guérir des maladies (**Schaeberg, 2005**). Les plantes sont dites médicinales lorsqu'un de leurs organes (feuilles, fleurs, racine, tige, graine, et fruits) possèdent des activités pharmacologiques ou possèdent au moins une partie ayant des propriétés médicamenteuses (**Bruneton, 1999**).

I.2. Métabolites secondaires

- **Définition**

Les plantes possèdent des métabolites dits « secondaires » par opposition aux métabolites primaires qui sont les protéines, les glucides et les lipides. Les métabolites secondaires sont classés en plusieurs grands groupes : parmi ceux-ci, les composés phénoliques, les terpènes et stéroïdes et les composés azotés dont les alcaloïdes. Chacune de ces classes renferme une très grande diversité de composés qui possèdent une très large gamme d'activité biologique (**Ali et al.2001 ; Li et al.,2007**).

Ces molécules présentent un intérêt thérapeutique curatif ou préventif pour l'homme ou l'animal, elles sont issues de plantes fraîches ou des plantes séchées (**Benghanou, 2012**). Pour les plantes, ces métabolites secondaires peuvent être considérés comme des substances indirectement essentielles à leur vie. Elles participent à l'adaptation de la plante avec l'environnement, ainsi qu'à la tolérance contre les chocs (lumière UV, les insectes nocifs, les variations des températures). Par contre, les métabolites primaires sont essentiels pour le développement et la croissance de la plante (**Rnimanchado et Cheynier, 2006**).

On distingue plusieurs principes actifs dont les principaux sont les alcaloïdes, les anthocyanosides, les essences et les résines, les flavonoïdes, les glucides, les hétérosides, les quinones, les saponides, les stérols, les tanins...etc.

I.2.1. Composés phénoliques

Composés phénoliques sont des molécules possédant une ou plusieurs fonctions phénoliques c'est-à-dire un ou plusieurs cycles (noyau) benzéniques portant un groupement hydroxyle libre ou engagé dans une fonction ester, éther ou hétéroside (**Judd, 2002**).

I.2.1.1. Acides phénols

Les acides phénols ou acides phénoliques sont contenus dans un certain nombre de plantes agricoles et médicinales (**Bessas, 2008**). Ils sont constitués d'un noyau benzénique et au moins d'un groupe hydroxyle et ils peuvent être liés à des sucres sous forme d'hétérosides, leurs biosynthèse dérive de l'acide benzoïque et de l'acide cinnamique (**Wichtichtl et Anton, 2003**).

I.2.1.2. Anthocyanoïdes

Ce sont des plantes à hétérosides qui sont des composés colorés qui favorisent la pollinisation entomophile (**Vercauteren, 2011**). Les anthocyanes se trouvent dans la plante sous forme d'anthocyanosides, dont l'hydrolyse libère les génines appelées anthocyanidines ou anthocyanidols (**Salle, 1991**), Elles ont des propriétés antirhumatismales et anti-inflammatoires reconnues (**Bruneton, 2001**).

I.2.1.3. Tanins

Les tanins sont des mélanges complexes de polyphénols. Le principe actif est un phénol qui se combine avec des sucres. Les plantes à tanins possèdent des substances non azotées ayant des vertus pour tanner la peau, c'est-à-dire de la rendre imputrescible (**Salle, 1991**). On distingue deux catégories :

- Les tanins condensés "catéchiques" ou "procyanidoliques" qui sont des polymères flavanoliques, constitués d'unités de flavan-3-ols liées entre elles par des liaisons carbone-carbone le plus souvent C4-C8 ou C4-C6. Ils résultent d'un couplage entre le C4 électrophile

d'une unité flavanyle, issue d'un flavan-4-ol ou d'un flavan-3,4-diol, et une position C8, plus rarement C6, nucléophile d'une autre unité, généralement un flavan-3-ol, tel la catéchine ou l'épicatéchine.

Les tanins hydrolysables qui sont des polymères qui pour « cœur » un glucose polyestérifié par des acides gallique et/ou ellagique. Ils contiennent parfois de longues chaînes d'esters d'acide gallique.

Les tanins sont solubles, dans l'eau et dans l'alcool. Ils ont des propriétés astringente, antidiarrhéique, avec une action vaso-constrictive des vaisseaux et antiseptique intestinal (**Vercauteren, 2011**).

I.2.1.4 Flavonoïdes

Les génines des flavonoïdes sont composés de plusieurs phénols C6-C3-C6. Ils sont très répandus chez les végétaux supérieurs sous forme d'hétérosides (solubles), stockés dans le suc vacuolaire des organes jeunes (épiderme de feuille, pellicule fruit) (**Salle, 1991 et Vercauteren, 2011**).

Selon la fonction phénol on distingue :

- Les flavones : que l'on retrouve dans les familles des rutacées, et des papilionacées.
- Les flavonol : ce sont des flavones associées à un groupement hydroxyle(OH) en position 3.
- Les isoflavones : on les trouve surtout chez les papilionacées.
- Les xanthones : qui donnent des pigmentation jaunes ou orangées.

Les flavonoïdes ont surtout des propriétés antioxydants, vitaminique P (citroflavonoïdes), diurétique, antispasmodique (**Salle, 1991**).

La figure 1 met en évidence l'origine biogénétique des différents polyphénols de type flavonoïde.

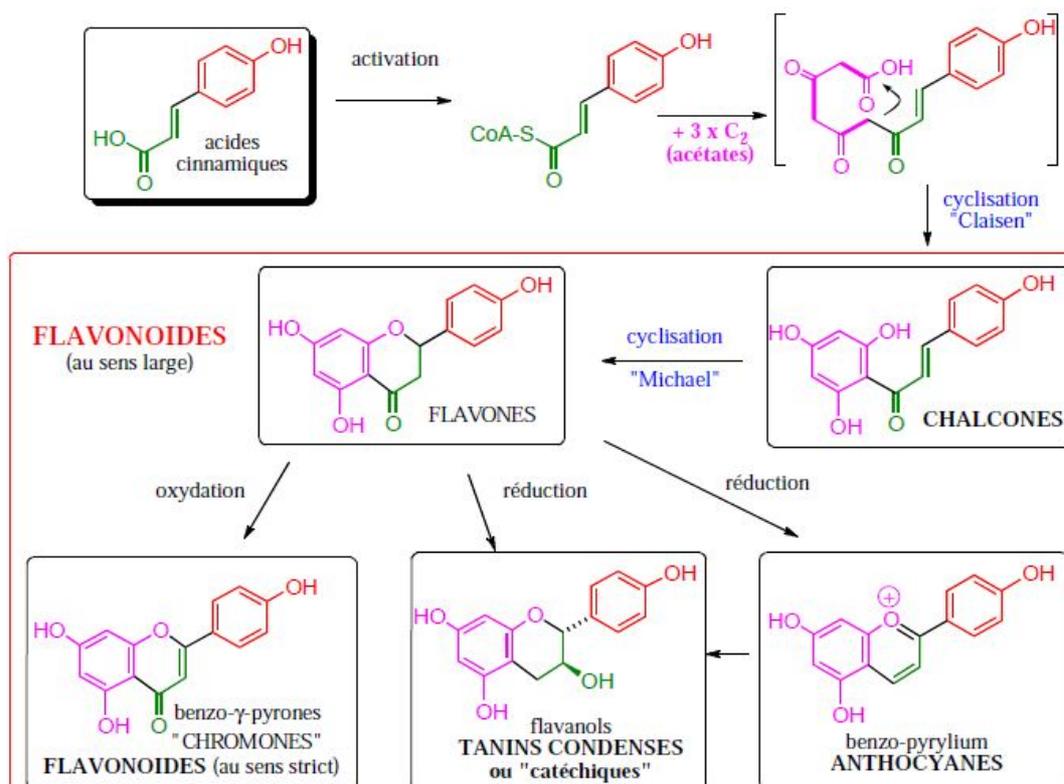
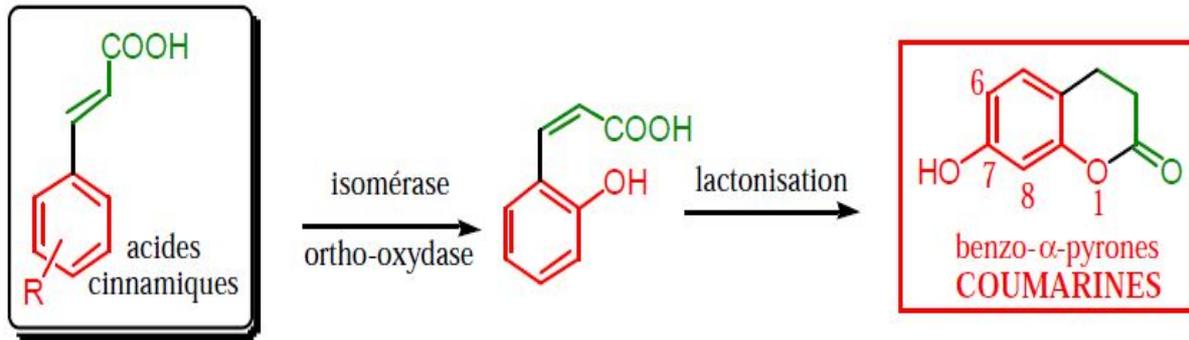


Figure 1 : Origine biogénétique des différents polyphénols de type « flavonoïde » en C₆-C₃-C₆ (Vercauteren, 2011)

I.2.1.5. Coumarines

Les plantes à coumarines, sont riches en coumarines qui sont des esters des acides composés qui peuvent être soit libres soit hétérosides dans tous les organes mais principalement dans tissus âgés ou lésés. Les coumarines naturelles sont issues de l'acide cinnamique. Les dérivés de la coumarine ont les propriétés antibactériennes et fluidifiantes du sang (Salle, 1991).



I.2.2. Hétérosides

Les plantes à hétérosides sont des plantes qui possèdent une substance active qui est liée à un

Figure02 : Cyclisation des "cinnamates" en coumarines (Vercauteren, 2011). tance active qui ne possède pas de glucides s'appelle la gomme. Cette gomme (aglycone) ne possède presque pas de propriétés thérapeutiques (Salle, 1991).

I.2.3. Alcaloïdes

Une plante à alcaloïdes est une plante dont l'azote n'est pas totalement transformé en protide végétal, mais circule dans la sève et se fixe dans les différents organes de la plante (Salle, 1991). Vercauteren, (2011) ajout que les alcaloïdes sont des substances d'origine naturelle végétale basique. Elle donne des réactions de précipitation avec les "réactifs généraux" des alcaloïdes.

D'après (Salle, 1991), il se conserve bien dans les plantes séchées. Ils sont amers et apéritifs. L'action physiologique des alcaloïdes est importante, ils agissent comme Hypo-ou hyper-tenseurs, excitants du système nerveux et aussi paralysants. Ils ont une action mydriatique et analgésiques du système nerveux et antispasmodique pour certains.

I.2.4. Saponosides

Ce sont des glycosides, qui se rencontrent dans une grande variété de végétaux. Elles ont un goût amer et la capacité de former une mousse, en présence d'eau (**Bernard et Larbier, 1992**). Ainsi la majorité des saponines, ont des propriétés hémolytiques. De nombreuses plantes contenant des saponines sont utilisées en industrie pour les préparations galéniques et détergentes (**Oda et al., 2000 ; Sparg et al., 2004**).

I.2.5. Huiles essentielles

L'huile essentielle est un extrait végétal provenant des plantes dites: aromatiques. Celles-ci contiennent dans leurs feuilles, fruits, graines, écorces, ou racines, un grand nombre de molécules aromatiques, qui constituent le ou les principes essentiels des plantes. Les huiles essentielles sont des substances de consistance huileuse, plus au moins fluides, voire rétinolides très odorantes, volatiles, souvent colorées : du jaune pâle au rouge foncé voir brun, en passant par le vert émeraude ou encore le bleu. Elles sont plus légères que l'eau (densité de l'ordre de : 0,750 à 0,990). Les principaux constituants des huiles essentielles sont des terpènes (aliphatiques, acycliques, aromatiques...), plusieurs corps oxygénés aux propriétés chimiques diverses (alcools, aldéhydes, cétones, phénols, esters, acides organiques, coumarines, etc.). La composition chimique et le rendement en huiles essentielles varient suivant plusieurs conditions: l'environnement, le génotype, origine géographique, la période de récolte, le séchage, l'état sanitaire, la flore adventice..... (**Mohammedi, 2006; Bardeau, 2009**).

Les huiles essentielles jouent un rôle dans la protection des plantes contre l'excès de lumière et dans l'attraction des insectes pollinisateurs (**Dunstan et al., 2013**). Elles sont utilisées pour soigner des maladies inflammatoires telles que les allergies, eczéma et peuvent favoriser l'expulsion des gaz intestinaux (**Iserin et al., 2001**). Elles sont utilisées aussi pour : leur pouvoir antiseptique, propriétés spasmolytiques, cholérétiques, cicatrisantes et vermifuges (**Vercauteren , 2011**).

I.2.6. Huiles végétales

Les huiles végétales proviennent de la substance dure et ligneuse des graines ou des noyaux et se trouvent enfermées dans les cellules oléifères sous forme de petites gouttes. Chaque huile végétale est caractérisé par ces composants propres, mais c'est toujours le même principe : des acide gras + des vitamines et/ou des insaponifiables. Les huiles végétales sont des lipides simples, c'est-à-dire des corps 100% gras, composés d'atome de carbone, d'hydrogène et d'oxygène qui forment eux même des triglycérides(Salas *et al.*, 2009).A cela s'ajoutent des insaponifiables qui regroupent tantôt des vitamines tantôt des stérols végétaux, des trace d'huile essentielle aromatique, ou tout cela à la fois (Julien, 2013).Trois rôles essentiels sont assurés par les lipides : source d'énergie ; source d'acides gras essentiels et de vitamines liposolubles en plus de leur rôle structurant (Combe et Castera, 2010 ; Legrand, 2010).

I.3. Rappel sur les activités biologiques étudiées

I.3.1. Activité antimicrobienne

Dès la naissance, l'homme se trouve en contact avec des micro-organismes qui vont progressivement coloniser son revêtement cutanéomuqueux. Pour résister à ces micro-organismes de nombreux moyens sont mis en jeu. On peut schématiquement en distinguer 3 groupes : les barrières anatomiques, les mécanismes de résistance naturelle (ou innés) et l'immunité acquise (Kaufmann, 1997).

La thérapeutique des infections bactériennes se base principalement sur l'usage des antibiotiques. La prescription à grande échelle et parfois inappropriée de ces agents peut entraîner la sélection de souches multi-résistantes d'où l'importance d'orienter les recherches vers la découverte de nouvelles voies qui constituent une source d'inspiration de nouveaux médicaments à base des plantes (Billing et Sherman, 1998).

Les polyphénols notamment les flavonoïdes et les tannins sont reconnus par leur toxicité vis-à-vis des microorganismes. Le mécanisme de toxicité peut être lié à l'inhibition des enzymes hydrolytiques (les protéases et les carbohydrases) ou d'autres interactions pour inactiver les adhesines microbiennes, les protéines de transport et d'enveloppe cellulaire (Cowan, 1999).

I.3.2. Principales substances antimicrobiennes

I.3.2.1. Antibiotiques

Les antibiotiques, au sens strict, sont des produits élaborés par des micro-organismes, mais on inclut généralement parmi eux les dérivés semi-synthétiques et les produits entièrement synthétiques. La thérapeutique des infections bactériennes se base principalement sur l'usage des antibiotiques qui inhibent sélectivement certaines voies métaboliques des bactéries, sans exercer habituellement d'effets toxiques pour les organismes supérieurs. Cette propriété les distingue des antiseptiques (**Bergogne-Berezin et Dellamonica, 1995**).

I.3.2.2. Les composés phénoliques

Plusieurs études *in vitro* et *in vivo* ont été focalisées sur l'évaluation des propriétés antimicrobienne des polyphénols. A l'heure actuelle, cet effet est certain et démontré par de nombreuses recherches expérimentales. Les études du pouvoir inhibiteur des flavonoïdes sur la croissance bactérienne ont démontré que de nombreux composés flavoniques (apigénine, kaempferol et d'autres) sont doués d'un effet important sur différentes souches bactériennes à Gram négatif (*Escherichia coli*) et à Gram positif (*Staphylococcus aureus*) (**Ulanowska et al., 2007**). Des flavonoïdes, une flavone et une flavanone, respectivement isolées des fruits de *Terminalia bellerica* et de l'arbuste *Eysenhardtia texana* ont été montrés comme possédant l'activité contre le microbe pathogène opportuniste *Candida albicans* (**Wächter et al., 1999**). Deux autres flavones isolées de la plante *Artemisia giraldi* ont été rapportés exhiber une activité contre l'espèce *Aspergillus flavus*, une espèce de mycète qui cause la maladie envahissante chez les patients immunosuppresseurs (**Valsaraj et al., 1997**).

I.4. Caractéristiques du lentisque *Pistacia lentiscus* L.

1.4.1. Classification systématique

Pistacia lentiscus L., le lentisque, arbre au mastic ou pistachier lentisque (Linné, 1753) on le trouve à l'état naturel dans toute l'Algérie (le nord algérien) (**Quezel et Santa, 1993**).

Tableau 01 : Classification taxonomique de l'espèce étudiée

Règne	Plantae
Embranchement	Embranchement : Spermatophyta
Sous-embranchement	(Angiospermae)
Classe :	<i>Eudicots</i>
Famille :	<i>Anacardiaceae</i>
Genre :	<i>Pistacia</i>
Espèce :	<i>Pistacialentiscus L.</i>

(Thorne et Reveal, 2007).

1. 4.2. Description botanique :

Pistacia lentiscus L. est un arbuste ou arbrisseau vivace ramifié à petites feuilles elliptiques, coriaces et persistantes, à fleurs rougeâtres en grappes et à fruits ronds rouges qui noircissent en murissant (Iserin, 2001).



Figure03: *Pistacia lentiscus L.* [Anacardiaceae]
(Cherf, 2011)

Selon More et White (2005), *Pistacia lentiscus L.* 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 avec 4 à 10 paires de folioles elliptiques et lancéolées, alternées, coriaces, composées, entières et sessiles, la rachis est ailé entre les paires de folioles. Elles sont vertes foncées lavées de pourpre, luisantes en dessus mates et pâles en dessous.
- **Fleurs :** La période de floraison s'étale d'avril jusqu'au juin. Les fleurs sont toutes très petites, de 2-3 mm de large, vertes ou rougeâtres, denses, unisexuées, elles sont disposées en épis cylindriques courts, serrés, latéraux à l'aisselle des feuilles.

Les fleurs mâles sont à calice et à 5 pointes, de 8 à 10 petites étamines rouges foncés, qui produisent de 47000 à 60000 graines de pollens par fleurs. Quant aux fleurs femelles, elles sont vertes jaunâtres, à calice, à 3-4 pointes, parfois un peu velues, style à 5 stigmates tricarpel et ovaire uniloculaire fourré par un seul anatropo ovule et regroupées dans une inflorescence de 4 à 21 fleurs. Les fleurs femelles ont des ovaires uni et tri-carpelles (Garnier et *al.*, 1961; Bayer et *al.*, 1987, Verdu et Garcia-Fayos, 1998; Baba-Aissa, 1999)



Figure04 : Arbuste mâle avec ses étamines rouges. (<http://www.atlasbota.com/>; [le site consulté le 17/07/2017]).



Figure05 : Fleurs femelles (très grossies): les trois stigmates rouges et collants attirent le pollen venu des pieds males (<http://www.atlasbota.com/>; [le site consulté le 17/07/2017]).

- **Fruit :** Le fruit de lentisque est une petite grappe sèche de 7mm de long, globuleuse et légèrement comprimée, de la taille d'un pois, d'abord rouge puis

noir à maturité, le noyau renferme une seule graine (Garnier *et al.*, 1961; Bayer *et al.*, 1987). Son écorce grisâtre devenant avec le temps noirâtre (Garnier *et al.*, 1961).



Figure06 : Fruits rouges en drupes.

(<http://www.atlasbota.com/>; [le site consultés le 17/07/2017]).

- **Mastic** : L'incision du tronc de cet arbuste fait écouler un suc résineux nommé mastic qui, une fois distillé, fournit une essence employée en parfumerie (Ferradji, 2011). Les différentes parties de *Pistacia lentiscus* sont présentées dans la figure 03 et 04 :



Figure 07 : Larmes de résine <https://www.papillesetpupilles.fr> [le site consulté le 17/07/2017].

I.4.3. Répartition géographique de *Pistacia lentiscus* L

Pistacia lentiscus L. est un arbrisseau dioïque thermophile qui pousse, à l'état sauvage, dans les maquis et les garrigues dans tout type de sols en préférant les terrains siliceux pauvres en potassium et en phosphore.

Généralement, il se trouve dans les lieux arides de la région méditerranéenne de l'Europe, de l'Asie, de l'Afrique jusqu'au Canaries (**Benoît Bock, 2009 ; Bonnier et Douin, 1990 ; cité par Castola et al. 2000 ; Palacio, et al. 2005**).

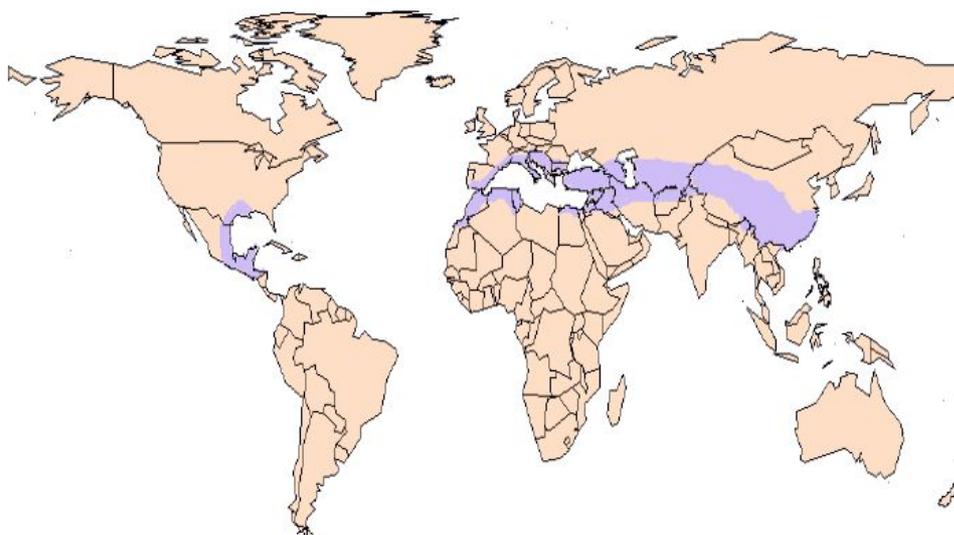


Figure 08: Aire de répartition de *Pistacia lentiscus L.* autour du bassin Méditerranéen (Belfadel F.. 2009)

I.4.4. Exigences écologiques de pistachier lentisque :

Selon **Dogan et al. (2003)**, cette espèce de plante est adaptée au stress consécutif au manque hydrique et est capable de lutter contre l'érosion qui représente un facteur primordial de désertification de l'écosystème des régions méditerranéennes semi arides.

Le pistachier lentisque est un arbrisseau qui préfère les sols siliceux et sec, il se développe sur des sols calcaires. C'est une plante considérée comme thermophile et xérophile indifférente aux propriétés physico-chimiques du sol mais préfère des sols à faible concentration en phosphore et potassium conjugués avec des concentrations différentes en carbonates de calcium et en azote.

I.4.5. Produits et dérivés à base de *P. lentiscus* L:

-La composition chimique des feuilles de *Pistacia lentiscus* est caractérisée par la présence de glycosides de flavonoles comme la quercétine, myricétine, luteoline ainsi que l'isoflavone genisteine (Romani *et al.*, 2002; Stocker *et al.*, 2004; Vaya et Mahmood, 2006). Elle contient 6 à 7% de gallotannins de faible poids moléculaire, à savoir l'acide gallique et les dérivés d'acide quinique 5-O-, 3,5-O-di- et 3,4,5-O-trigalloyl (Romani *et al.*, 2002):

-Les études phytochimiques effectuées sur les huiles essentielles obtenues à partir des feuilles de lentisque des régions d'Alger, de Tizi-Ouzou et d'Oran ont montré la présence de longifolène, α -pinène, β -pinène, γ -cadinène, trans- β -terpinéol, α -acomeol, γ -muurolène, Sabinène et terpinén-4-ol (Romani *et al.*, 2002).

-La résine contient des alpha et des bêta mastico-résines, une huile essentielle (principalement constituée d'alphapinène), des tanins, de la masticine et de l'acide masticique. (Iserin, 2001). De la résine extraite du tronc et des tiges de *Pistacia lentiscus* ont été isolés une huile essentielle, riche en monoterpènes en quantité majoritaire, des monoterpénols et des sesquiterpènes en quantité moyenne, et des esters terpéniques en quantité mineure (Baudoux, 2003 et Grosjean, 2007).

-Pour sa robustesse et la finesse de sa texture, le bois de cette espèce est très apprécié en ébénisterie (Seigue, 1985),.

-Selon Luigia *et al.* (2007), les fruits de *Pistacia lentiscus* contiennent 5,4 mg/ml d'anthocyanines, essentiellement: cyanidine 3-O-glucoside (70%), delphinidine 3-O-glucoside (20%) et cyanidine 3-O-arabinoside (10%). De plus, des polyphénols; l'acide gallique, le pentagallolylucose (Abdelwahed *et al.*, 2006), et l'acide digallique (Behouriet *et al.*, 2011) ont été isolés de l'extrait d'acétate d'éthyle des fruits de *Pistacia lentiscus*. Les travaux réalisés par Hamad *et al.* (2011) ont montré aussi que les protéines représentent 5% du poids des fruits de *Pistacia lentiscus*. La composition minérale de ces fruits montre que la teneur en potassium est la plus élevée (2,67%), alors que celles du sodium, calcium et phosphore sont de : 0,46, 0,37 et 0,004 % respectivement.

-L'huile de lentisque est constituée majoritairement par des acides gras insaturés(mono et polyinsaturés)et acides gras saturés, accompagnés de substances lipidiques auxiliaires dites constituants mineurs, tels que les tocophérols ,les phytostérols et des composés phénoliques **(Dhifi et al.,2013)**. La classe la plus importante des acide gras dans l'huile de *Pistacia lentiscus* est représentée par les acides gras mono -insaturés (AGMI), suivie par les AG saturée (AGS) et polyinsaturés (AGPI). Le principal AG de l'huile de lentisque est l'acide oléique (C18: 1) ; Cet AG est réputé pour son rôle dans la préservation des maladies cardiovasculaires et pour sa valeur nutritive **(Corbett, 2003)**.

I.4.6.Propriétés biologiques et pharmacologiques :

I.4.6.1. Utilisations en médecine humaine

Une vaste utilisation de cette plante dans la pharmacopée arabe et européenne est connue depuis les anciens temps en médecine traditionnelle et ce pour soigner quelques irritations de la peau, la chute de cheveux et certains malaises gastriques **(Hamlat et Hassani, 2008)**.

En médecine traditionnelle, on utilise la résine de pistachier lentisque afin de combattre les ulcères d'estomac. Son efficacité contre la bactérie *Helicobacter pylori* a en effet été confirmée. Cette méthode consiste à éliminer la bactérie *H. pylori* par mastication de la résine de cette plante. Cette résine est peu employée aujourd'hui, mais elle serait efficace contre les affections bronchiques et la toux et pour soigner la diarrhée. Mélangée à d'autres composants, elle sert de pansement dentaire provisoire **(Iserin,2001)**.

-L'huile de lentisque est souvent utilisée en médecine comme astringent, expectorant, et cicatrisant **(Seigue, 1985)**.

-La décoction des racines séchées est préconisée pour le traitement des inflammations intestinales et stomacales ainsi que dans le traitement des ulcères **(Ouelmouhoub, 2005)**.

-Les feuilles sont toujours employées au Maroc sous forme de décocté comme diurétique et emménagogue, et sous forme de décocté ou réduites en poudre pour traiter les maladies du ventre et des intestins **(Bellakhdar, 1997)**.En Tunisie, en usage interne sous forme de décocté, elles sont utilisées pour calmer les douleurs gastriques ou directement consommées

pour apaiser le pyrosis (reflux du liquide acide gastrique de l'estomac vers l'œsophage) ; elles sont aussi mastiquées pour combattre l'hypertension artérielle.

Les feuilles disposent d'une action anti-inflammatoire, antibactérienne, antifongique, antipyrétique, astringente, hépato protective, expectorante et stimulante (Villar et al., 1987; Magiatis et al., 1999; Janakat et Al-Meir, 2002; Kordali et al., 2003; Paraschos et al., 2007).

I.4.6.2. Utilisations en médecine vétérinaire

Pistacia lentiscus L. est une plante utilisée, aussi bien en médecine traditionnelle humaine que vétérinaire, sa consommation par les moutons et les chèvres diminue le risque des infections par les larves contagieuses (Rogosic et al., 2006; Landau et al., 2010).

Comme l'huile du fruit est riche en acides gras insaturés, elle est utilisée comme l'un des constituants des aliments du bétail (Charef et al., 2008).

Les différentes activités attribuées au lentisque sont données ans le tableau ci-après.

Tableau 02 : Différentes activités de *Pistacia lentiscus* (Cheraf, 2011)

Activités biologiques	Plantes	Extraits/composés	Parties	Références
Antioxydante	<i>P.lentiscus</i>	Acide gallique et 1, 2, 3, 4, 6-pentagalloylglucose	Fruits	Abdalwahed et al., 2007
	<i>P.lentiscus</i>	Triterpènes	Résine	Assimopoulou et al., 2005
	<i>P.atlantica</i> <i>P.lentiscus</i>	Extrait éthanolique	Feuilles	Benhammaou et al., 2008
	<i>P.lentiscus</i>	Etraits phénoliques	Feuilles	Atmani et al., 2010
	<i>P.lentiscus</i>	Acide Di gallique	Fruits	Bhourri et al., 2010
Anti-microbienne	<i>P.lentiscus</i>	-	Résine	Asko et al., 2006
	<i>P.atlantica</i> <i>P.lentiscus</i>	Extrait éthanolique	Feuilles	Benhammaou et al., 2008
	<i>P.lentiscus</i> <i>P.vera</i> <i>P.terebinthus</i>	Ether alcool, éther de pétrol, éthyle acétate, chloroforme	Feuilles	Kordali et al., 2003
	<i>P.lentiscus</i> <i>P.vera</i> <i>P.terebinthus</i>	Huiles essentielles	Feuilles et résine	Duru et al., 2003

Chapitre II : Matériels et méthodes

Cette étude a été réalisée au sein ; du laboratoire de recherche des plantes aromatiques et médicinales du département de Biotechnologie, du laboratoire des méthodes physique d'analyses du département de Chimie de l'université SAAD DAHLEB de Blida1. Ainsi qu'aux laboratoires des Substances Naturelles, de Physico-chimie et de Microbiologie du SAIDAL. Une partie de ce travail est effectuée au laboratoire d'hygiène du SAMPAC de Blida. Et ce durant la période allant du mois de février au mois de juin 2017.

Dans ce qui suit, il est présenté le matériel et les méthodes utilisés pour cette étude.

II.1. Matériel utilisé

Le matériel non biologique et biologique sont données dans la partie suivante.

II.1.1. Matériel non biologique

Verrerie et accessoires ainsi que l'appareillage utilisé sont présentés dans les Annexes 01 et 02.

II-1. 2 Matériel biologique

Le matériel végétal et microbiologique est donné tour à tour.

II-1-2-1. Matériel végétal

Le choix du végétal est porté sur la partie aérienne de pistachier lentisque (*Pistacia lentiscus* L.) de la famille des Ananardiaceae.

Les parties aériennes de cette espèce ont été séchées à l'ombre à température ambiante, à l'abri de la lumière et dans des endroits bien aérés pendant 2 semaines. Elles ont été par la suite conservées dans des sacs en papier étiquetés (voir Annexe 03).

Dans ce qui suit, il est présenté une fiche de renseignements concernant l'espèce *Pistacia lentiscus*.

- **Lieu de récolte et altitude** : Les feuilles et les fruits de lentisque spontané sont récoltés dans Hamma Melouane, au niveau de la Daïra de Bougara, Wilaya de Blida. Cette région se situe à une altitude de 396m.
- **Date de récolte** : La récolte a été réalisée aux mois de Novembre 2016 (les feuilles à partir des arbustes avant le stade de floraison).
- **Moment de récolte** : Matinée
- **Partie des plantes récoltées** : Partie aérienne (feuille) avec fruit.
- **La température ambiante** était de 27°C.

la figure suivante montre la situation géographique de la région d'étude

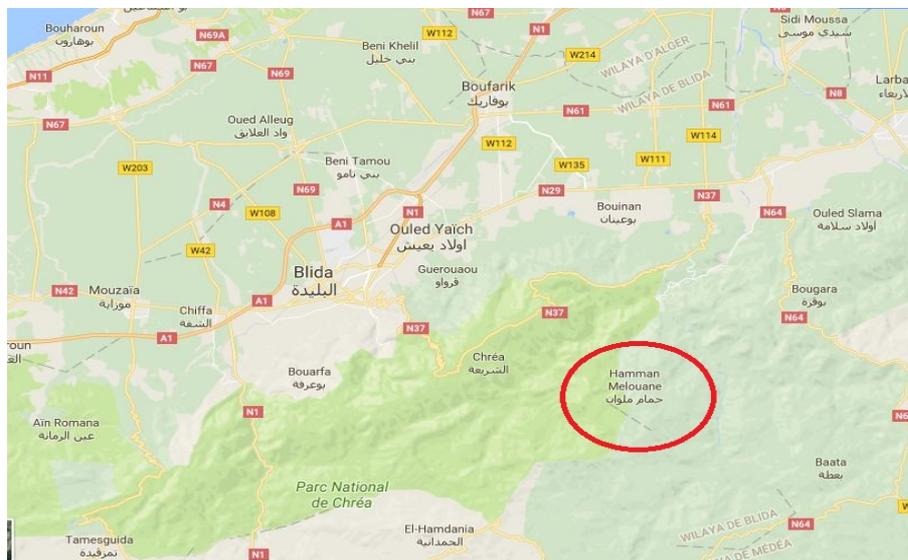


Figure 09: Carte géographique de la région de Blida ([www. Google com](http://www.Google.com))

II-1-2-1. Matériel microbiologique

II. Matériel et méthodes

Le test de sensibilité bactérienne à nos extraits est effectué sur un nombre de bactéries et de champignons responsables de certaines maladies chez l'Homme et chez les végétaux. Ils sont illustrés dans les tableaux suivant n° 03 et n°04 :

Tableau 03 : Bactéries utilisées dans l'évaluation de l'activité bactérienne

bactéries utilisées	Caractéristiques	Pouvoir pathogène	Référence
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538	Famille de <i>Staphylococaceae</i> , cocci, immobile, gram positif, disposé en amas ou en grappe de raisin.	Infections cutanées suppurées, toxi-infection alimentaire	(Clave, 2013)
<i>E. coli</i> ATCC 8739	Famille de <i>Enterobacteriaceae</i> Bacille, mobile, gram négatif, pathogène.	Diarrhée, infection urinaire, méningite, septicémie	(Burits et Bucar, 2000)
<i>Salmonella typhi</i> (souche clinique)	Famille de <i>Enterobacteriaceae</i> un bacille Gram négatif, mobile, non sporulé et anaérobie facultatif mesurant 0,7-1,5 µm par 2,0-5,0 µm	Gastroentérites et la fièvre typhoïde	(CATSAROS, 2007)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC9027	Famille : <i>Pseudomonadaceae</i> bacilles fins à Gram négatif, non capsulés, mobiles.	Infections nosocomiales (infections pulmonaires, cutanées).	(http://www.chups.jussieu.fr , 2017)
<i>Pseudomonas flavescens</i> (souche clinique)	Famille : <i>Pseudomonadaceae</i> Gram négatif, non capsulés, mobiles.	Chancre bactérien	(www.eol.org , 2017)
	Famille : <i>Enterobacteriaceae</i>		

II. Matériel et méthodes

<i>Klebsiella pneumoniae</i> (souche clinique)	Gram négatif, bâtonnet, non mobiles, généralement encapsulées habituellement des anaérobies varie de 0,3 à 1,0 µm de largeur et de 0,6 à 6,0 µm de longueur ⁽¹⁾ .	Infections urinaires, Broncho-pneumopathies, Bactériémies Infection sintra-abdominales	(ASPC, 2017) ⁽¹⁾ (Hazen et Howell 2007) ⁽²⁾
<i>Streptococcus</i> ATCC 7681	Famille <i>Streptococcaceae</i> : cocci à Gram positif disposés, le plus souvent en chaînettes. qui ont un métabolisme anaérobie, cependant la plupart des souches tolèrent l'oxygène et peuvent être cultivées <i>in vitro</i> en atmosphère aérobie.	Hémolyse le sang .	http://www.microbes-edu.org,2017
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633	Famille : <i>Bacillaceae</i> à Gram positif, groupés en chaînettes. La plupart sont des saprophytes du sol, de l'eau, de l'air et des plantes	Produire une entérotoxine qui provoque des diarrhées par un mécanisme similaire à celui de l'entérotoxine d' <i>E.coli</i>	http://www.chups.jussieu.fr

Tableau 04: Champignons utilisés dans l'évaluation de l'activité bactérienne

Champignons utilisés	Caractéristiques	Pouvoir pathogène	Référence
<i>Candida albicans</i>	Famille : <i>Sacchromycetaceae</i> , champignon diploïde et encapsulé, polymorphes	Candidose, infection fongique	(Hazen et Howell, 2007)
<i>Aspergillus niger</i>	Famille: <i>Moniliacées</i> une colonie peut atteindre 3 à 4 cm en 10 jours, Les colonies apparaissent d'abord blanches, puis jaunes, et enfin granuleuses noires. Elles sont portées par de longs conidiophores (1,5 à 3 mm de long) qui présentent une paroi épaisse, lisse et incolore. La vésicule est globuleuse, brune, et de grande taille (40 à 70 µm de diamètre).	Les aspergilloses immuno-allergiques responsable de mycoses pulmonaires chez l'homme ⁽²⁾	(QUATRESOUS, 2011) ⁽¹⁾ (ANOFEL2014) ⁽²⁾
<i>Penicillium Expansum</i> .	Famille : <i>Trichocomaceae</i> Les conidiophores sont formés de stipes lisses de 200 à 500 µm de longueur et se terminant en pinceaux	Produisent de la patuline, qu' est reconnue pour provoquer des désordres	

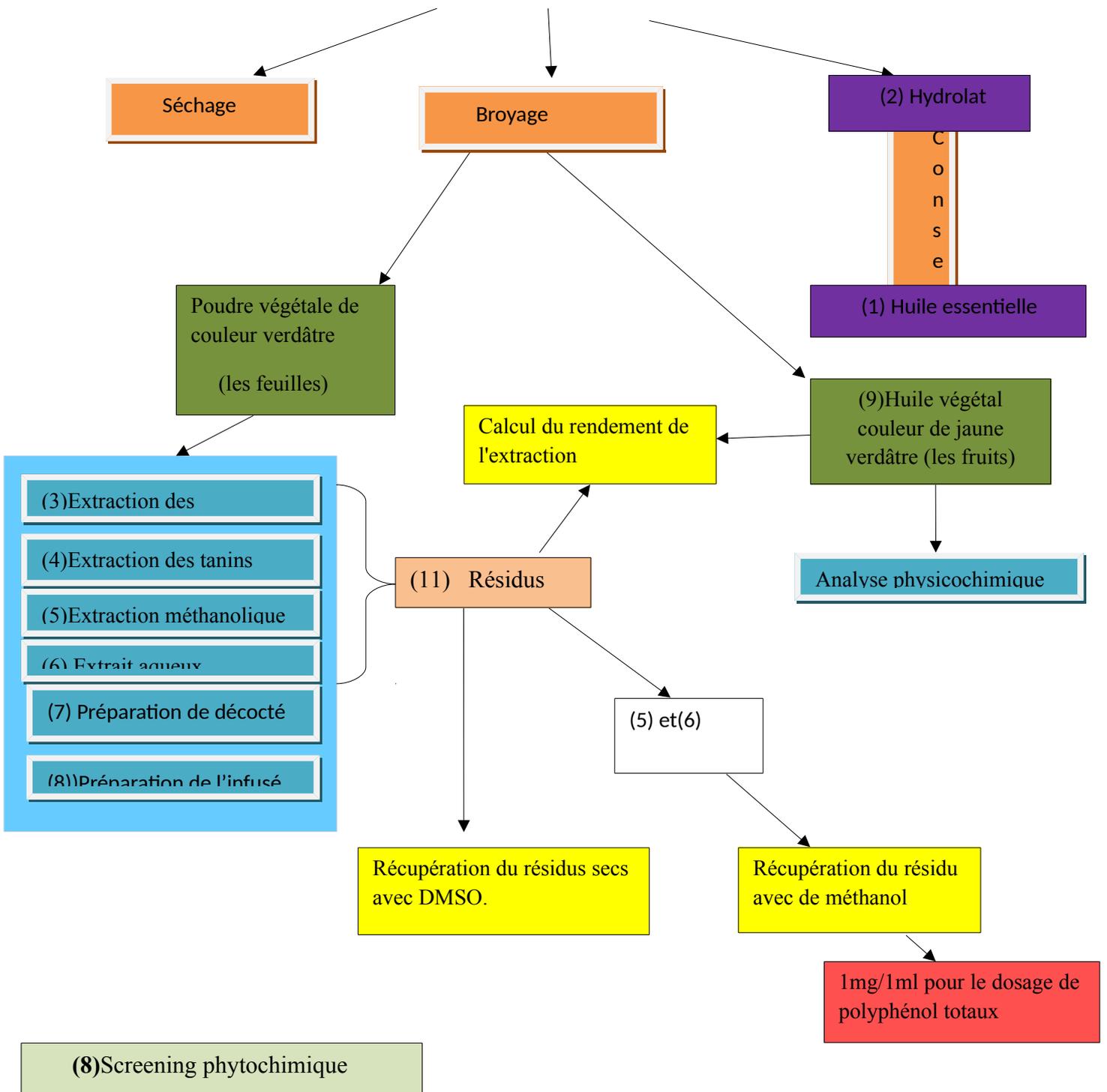
II. Matériel et méthodes

Phytopathogène	typiquement terverticillés (présence d'une ou plusieurs branches sur le stipe, avec une ramification par stipe, la longueur des métules est de 12 à 15 µm, celle des phialides très serrées de 8 à 11 µm, les conidies sont lisses et ellipsoïdales de 3 à 3,5 µm de longueur.	gastro-intestinaux avec ulcérations, distensions et hémorragies, voire des perturbations de la fonction rénale, à plus forte dose.	(Anses, 2011)
<i>Penicillium globrum</i> . Phytopathogène	Famille : Trichocomaceae champignon filamenteux monoverticillé subgenus <i>Aspergilloïdes</i> : phialides directement sur le conidiophore ⁽¹⁾ .	Production des mycotoxine Trypacidine, citromycétine souvent impliqué dans la contamination des aliments ⁽²⁾	http://www.univ-brest.fr ⁽¹⁾ (HAL ,2011) ⁽²⁾
<i>Aspergillus ochraceus</i> Phytopathogène	Famille : <i>Moniliaceae</i> sont des champignons à conidiophores libres et dont tous les éléments fongiques sont transparents ou de couleur claire. la colonie est de 40 à 52 mm après 7 jours d'incubation à 25°C. Le stipe ,est de 400 à 1000 µm, de couleur hyaline jusqu'à légèrement brune. Les vésicules sont globuleuses, de diamètre de 20 à 35 µm. ⁽¹⁾	Le principal agent producteur d'OTA dans le café ⁽²⁾	(DAO,2005) ⁽¹⁾ (UBO2017) ⁽²⁾

II.2. Méthodes utilisées

Le procédé expérimental suivi pour les différentes extractions à partir des rameaux et des feuilles du pistachier lentisque est donné dans la figure10.

Matière végétale fraîche de *Pistacia lentiscus*



(1),(2)(7),(8),(9)et (11)
utilisées dans l'activité
antimicrobienne

Figure 10: Procédé expérimental suivi pour les différentes extractions à partir des rameaux et des feuilles du pistachier lentisque (**Original, 2017**).

En suivant la méthode d'**ISO 662 (1998)**, nous avons séché les béchers dans l'étuve et les laisser refroidir. Puis, nous avons pesé leur poids. Après avoir taré, nous avons pesé 10 g de poudre végétale dans des béchers avec une balance de précision. Ensuite, nous avons placé les béchers dans l'étuve à 105 °C pendant 24 heures. Après étuvage, nous avons pesé chaque 3h jusqu'à l'obtention d'un poids constant.

Le taux d'humidité est calculé par la formule suivante :

$$T_{\%} = (P_i - P) \cdot 100 / P_i$$

H : Taux d'humidité en pourcent.

P_i : Masse de l'échantillon avant séchage à l'étuve (g).

P : Masse de l'échantillon après séchage à l'étuve (g).

Dans ce cas présent la teneur en eau est calculée pour les feuilles (poudre) (figure 11).



Figure 11 : feuilles secs du lentisque (**original, 2016**)

- **Préparation de la poudre végétale à partir des feuilles**

Les échantillons de feuilles de lentisque spontané sont séchés, à l'abri de la lumière et de l'humidité à température ambiante. Cette matière végétale sèche a été réduite en poudre à l'aide d'un broyeur électrique à hélice de type « moulin à café électrique ». La poudre obtenue est tamisée pour homogénéisation et pour augmenter la surface d'échange entre le solide et le solvant d'extraction afin de faciliter l'extraction des molécules de l'intérieur des tissus cellulaires du végétal. Elle est ensuite conservée dans des flacons en verre fumé afin de protéger les molécules de la dégradation par la lumière (Figure 09).



Figure 12 Poudre obtenue à partir des feuilles séchées de lentisque (original , 2017)

II.2.1. Tests du Screening phytochimique

Le but de ces tests est de connaître la composition en métabolites secondaires de la plante. Ils sont effectués, soit sur la poudre végétale, soit sur l'infusé ou à partir d'un extrait éthanolique.

II.2.1.1. Recherche des métabolites secondaires sur l'infusé et sur la poudre

II.2.1.1.1. Recherche des polyphénols

La réaction au chlorure ferrique (FeCl_3) a permis de caractériser les polyphénols.

A 2 ml de chaque extrait, on ajoute une goutte de solution alcoolique de trichlorure ferrique à 2 %. La présence de dérivés polyphénoliques provoque l'apparition d'une coloration bleue ou vert foncé (Préparation de réactif de Fer chlorure anhydrique alcoolique à 2% (voir l'Annexe 04) (Kablan et al., 2008).

II.2.1.1.1. Identification des tanins :

À 1 ml d'infusé rajouter quelques gouttes d'une solution de FeCl_3 à 5%. La réaction donne une coloration bleue noire ou une coloration verdâtre en présence des tanins.

(Préparation de réactif de Fer chlorure anhydrique à 5% : voir l'Annexe 04)

(Ekoumou, 2003).

A/ Tanins catéchétiques

15 ml d'infusé sont additionnés à 7 ml de réactif de Stisany. La réaction donne une coloration rouge en présence des tanins catéchétiques.

(Préparation de réactif de Stisany : voir l'Annexe 04)(Bruneton , 1999).

B/ Tanins galliques

À 5 ml d'infusé rajouter 2g d'acétate de sodium et quelques gouttes de FeCl₃5%. La réaction donne une coloration bleue foncé en présence des tanins galliques. (Bruneton, 1999)

II.2.1.1.2. Identification des anthocyanes

Rajouter quelques gouttes d'HCl (acide chlorhydrique) à 5 ml d'infusé. La réaction donne une coloration rouge en présence d'Anthocyanes(Bruneton, 1999).

II.2.1. 1.3. Recherche des alcaloïdes

5 g de poudre végétale sont humectés avec 20 ml d'ammoniaque ½, puis laisser macérés pendant 24 heures dans 50 ml d'un mélange éther chloroforme (3v /v). Ensuite, le filtrat est épuisé par HCL à 2N. Ensuite, quelques gouttes du réactif de drangendroff sont ajoutées à la solution chlorhydrique. L'apparition d'un précipité rouge indique la présence des alcaloïdes.(Paris et Moysse, 1976).

II.2.1.1. 4.Recherche des stérols et triterpènes

A 2 ml de chaque extrait, 1ml d'acide sulfurique concentré est ajoutée. Le chloroforme est ajouté le long des côtés du tube d'essai. Les tubes à essai sont agités. Après un repos, l'apparition de la couleur rouge dans la couche supérieure montre la présence de stérol et l'apparition de la couleur jaune dans la couche inférieure indique la présence de Triterpenoides (Kavishankar et al., 2011).

II.2.1.1.5. Mise en évidence de l'amidon

Le test effectué consiste :

▪ Chauffer 5 ml de l'extrait aqueux avec 10 ml d'une solution de NaCl saturée(voir Annexe 04) dans un bain-marie(voir Annexe 02) jusqu'à ébullition ;

☞ Ajouter quelques gouttes du réactif d'amidon. (**Annexe 4**).

Un test positif est révélé par l'apparition d'une coloration bleue violacée (**Bruneton, 1999**).

II.2.1.1.6. Recherche des saponosides

La détection des saponosides est réalisée en ajoutant un peu d'eau à 2 ml de l'extrait aqueux, puis la solution est fortement agitée. Ensuite, le mélange est laissé pendant 20 minutes et la teneur en saponosides est évaluée :

- Pas de mousse = test négatif
- Mousse moins de 1 cm = test faiblement positif
- Mousse de 1-2 cm = test positif
- Mousse plus de 2 cm = test très positif (**Trease et Evans, 1987**).

II.2.1.1.7. Mise en évidence des stéroïdes

1 ml de chaque infusés est dilué dans 10 ml de Chloroforme et un volume égal d'Acide sulfurique concentré est ajouté.. L'apparition d'une couleur rouge avec une couche d'acide sulfurique de couleur jaune avec une fluorescence verte, indique la présence des stéroïdes (**Savithramma et al., 2011**).

II.2.1.1.8. Recherche du Mucilage

Dans un tube à essai, 1ml d'infusé est ajouté à 5 ml d'alcool absolu. La formulation d'un précipité floconneux blanc montre la présence des mucilages(**Bouyer, 1996**).

II.2.1.1.9. Identification des leuco-anthocyanes

2 g de poudre végétale dans 20 ml d'un mélange de propanol/Acide chlorhydrique (V/V). Sont portés en bain marie bouillant pendant quelques minutes. Une coloration rouge se développe en présence des leuco anthocyanes. (**Bruneton, 1999**).

II.2.1.1.10. Recherche des Coumarines

2 g de poudre végétale, sont mis à ébullition dans 20 ml d'alcool éthylique pendant 15 min dans un bain-marie puis filtrer. Ensuite, 3 à 5 ml de filtrat, sont ajoutés à 10 gouttes de

la solution alcoolique de KOH à 10% jusqu'à l'obtention d'un milieu faiblement acide avec formation de troubles (**Bouyer, 1996**).

II.2.1.1.11. Composés réducteurs :

Leur détection consiste à traiter 1 ml de l'extrait éthanolique avec 2 ml d'eau distillée et 20 gouttes de la liqueur de Fehling, puis chauffer. Un test positif est révélé par la formation d'un précipité rouge-brique (**Trease et Evans, 1987**).

II.2.1.1.12. Identification des glucosides :

À 2 g de poudre végétale rajouter quelques gouttes de H₂SO₄. La formation d'une coloration rouge brique ensuite violette indique la présence des glucosides. (**Bruneton, 1999**).

II.2.1.2. Recherche des métabolites secondaires par épuisement du matériel végétal avec l'éthanol

Dans un ballon monocol surmonté d'un réfrigérant, 10 g de matériel végétal est mis en présence de 60 ml d'éthanol. L'ensemble est porté à reflux pendant une heure (**Annex02**). Ensuite, le mélange est filtré et l'extrait éthanolique est soumis aux tests suivants :

II.2.1.2.1. Flavonoïdes

La réaction de détection des flavonoïdes consiste à traiter 5 ml de l'extrait éthanolique avec 1 ml d'HCl concentré et 0,5 g de tournures de magnésium. La présence des flavonoïdes est mise en évidence si une couleur rose ou rouge se développe après 3 minutes (**Debraybet al., 1971 ; Paris et al, 1969**).

II.2.1.2.2. Tanins

La confirmation de la présence des tanins est mise en évidence en ajoutant, à 1 ml de l'extrait éthanolique, 2 ml d'eau et 2 à 3 gouttes de solution de FeCl₃ diluée. L'apparition d'une coloration bleu-noire révèle la présence des (tanins galliques), bleu-vert (tanins catéchiques) (**Trease et Evans, 1987**).

II.2.1.2.3. Composés réducteurs

Leur détection consiste à traiter 1 ml de l'extrait éthanolique avec 2 ml d'eau distillée et 20 gouttes de la liqueur de Fehling, puis chauffer. Un test positif est révélé par la formation d'un précipité rouge-brique (**Figure 10**) (Trease et Evans, 1987).

II.2.2. Extraction de l'huile essentielle du pistachier lentisque :

- **Principe**

L'huile essentielle est extraite par hydrodistillation. Cette méthode consiste à immerger directement le matériel végétal à traiter (intact ou éventuellement broyé) dans un alambic rempli d'eau distillée qui est ensuite porté à ébullition. Les vapeurs hétérogènes sont condensées sur une surface froide et l'huile essentielle se sépare par différence de densité (Bruneton, 1999).

Mode opératoire :

Mettre 40g du matériel végétal sec dans un ballon rond de 1000 ml et introduire 600 ml d'eau dans le même ballon.

Chauffer le contenu avec un chauffe ballon ; la vapeur se charge de substance volatils, puis se condense grâce à un réfrigérant.

Poursuivre la distillation jusqu'à l'obtention de maximum d'HE, des HE est faite après l'aide de la burette



distillation jusqu'à l'obtention (**figure11**). La récupération la lecture du rendement à graduée attaché à l'appareil.

Figure13 : Dispositif d'extraction de l'huile essentielle par hydrodistillation (Clevenger) (**Original, 2017**)

II.2.2.1. Détermination du rendement en huiles essentielles

Le rendement en huile essentielle est calculé par rapport à la matière végétale sèche et exprimé selon la formule ci-dessous :

$$R_H = (V/M_{MV}) \cdot 100$$

Où :

R_H: Rendement des huiles essentielles/ végétal en (ml) par apport à 100g de matière sèche (%).

V : volume d'huile essentielle/végétal en (ml)

M_{MV}: masse de la matière végétale sèche (g)

II.2.3. Confection des coupes histologiques

Le but de cette étude c'est de déterminer l'anatomie des feuilles de lentisque et la localisation des sites d'accumulation des huiles essentielles présentés dans cet organe.

Les coupes ont été réalisées à l'aide d'une lame de rasoir neuve. Elles doivent être aussi fines que possible et immédiatement recueillies dans l'eau pour éviter leur dessèchement.

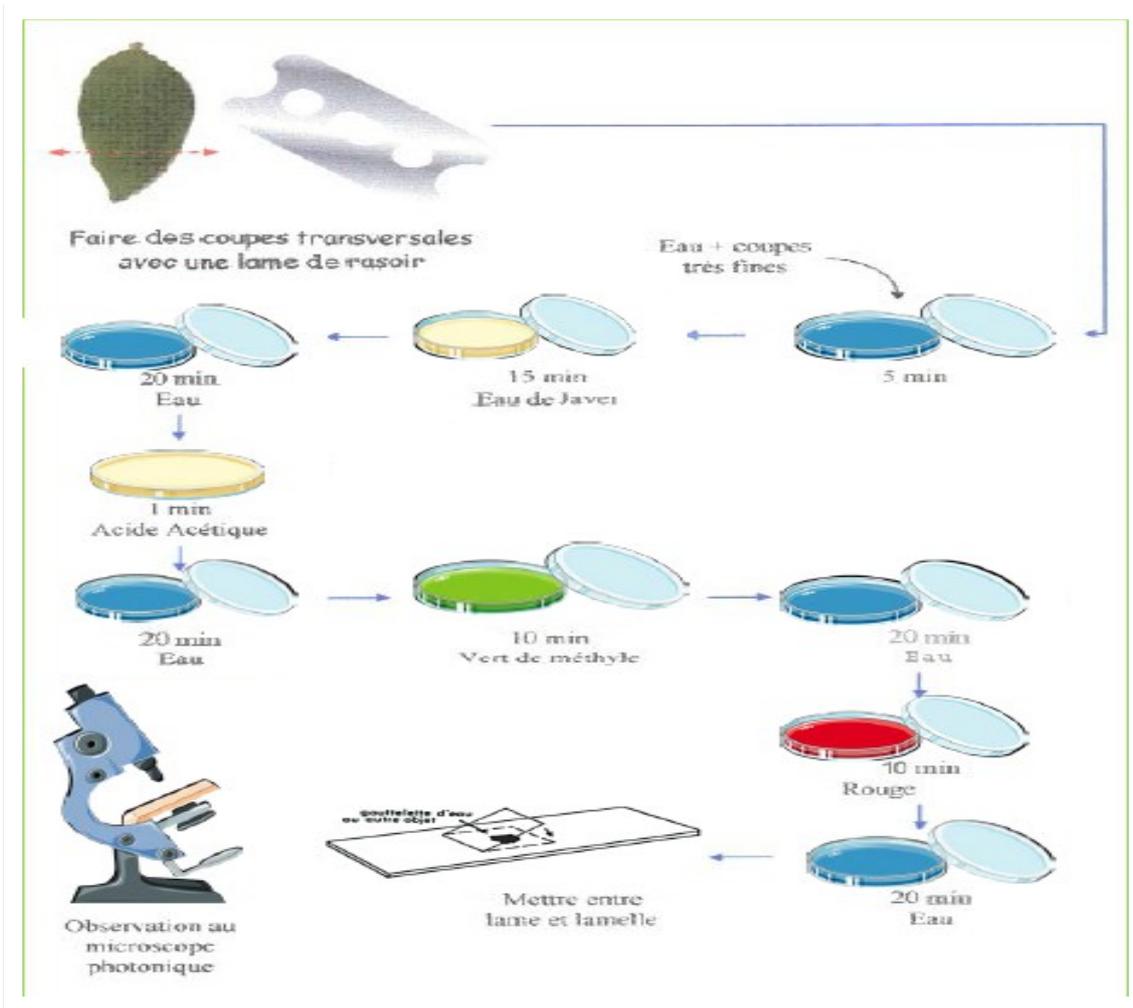
II.2.3.1. Coloration des parois :

Pour la différenciation des tissus, nous avons utilisé la technique classique de double coloration (**Langeron, 1949**), qui comporte les étapes suivantes:

- Traitement des coupes à l'hypochlorite de sodium pendant 15 minutes, afin de vider le contenu cellulaire, à l'exception des parois qui persistent.
- Rinçage soigneux des coupes à l'eau de robinet pendant 5 min.

II. Matériel et méthodes

- Traitement à l'acide acétique à 0.1% pendant 1 min, afin de neutraliser le pH et assurer la fixation des colorants sur les parois.
- Traitement au vert de méthyle pendant 10min, pour colorer les parois lignifiées et subérifiées.
- Rinçage soigneux des coupes à l'eau de robinet et laisser dans l'eau pendant 5 min.
- Traitement avec le rouge Congo pendant 10 min, pour colorer les parois pecto-cellulosiques.



Rinçage des coupes à l'eau de robinet. Les coupes ont été placées entre lame et lamelle pour l'observation au microscope photonique.

Figure14 : Différentes étapes de la réalisation de la technique de double coloration

II.2.4.Extraction et dosage des polyphénols totaux

II.2.4.1. Extraction solide– liquide des composés phénoliques des feuilles

La plus part des auteurs suggèrent que l'entrée du solvant se fait par un mécanisme osmotique et la sortie du soluté par dialyse ou par diffusion. Le solvant utilisé dans cette présente étude est le méthanol pur (99.96%).Celui-ci possède l'avantage d'être plus facilement éliminé sous-vide. Il donne en plus un meilleur rendement d'extraction. Le deuxième solvant est l'eau.

Toutes les étapes d'extraction suivies dans ce travail ont été effectuées à l'abri de la lumière et ce en couvrant toute la verrerie utilisée par du papier aluminium.

Figure 12 : Différentes étapes de la réalisation de la technique de double coloration

Dans le cas présent, nous avons utilisé une extraction par macération: Pour extraire les polyphénols de feuilles de lentisque par macération, nous avons opté pour le protocole décrit par **Farrukhet *al.***, (2006). En y apportant quelques modifications : On fait macérer pendant 24 heures 10g de poudres végétales dans 100ml de MeOH absolu



Ces extraits sont filtrés sur mousseline et deux fois sur papier filtre puis concentrés au Rota vapeur à 40°C jusqu'à l'obtention d'une poudre collée sur les parois internes du ballon (**annexe02**).

Les extraits secs obtenus ont été pesés pour déterminer le rendement de l'extraction, puis récupérés secs et conservés par la suite dans des tubes stériles à 4°C (**annexe03**).

II.2.4.2. Extraction liquide-liquide des composés phénoliques d'huile de lentisque :

La méthode utilisée est celle de Tsimidou et *al.* (1992), modifiée, elle consiste à ; une introduction d'une solution d'échantillon (20g d'huile dans 20ml d'hexane) (v/v) dans une ampoule à décanter, l'ajout du mélange méthanol/eau (80/20), agitation (5min) à l'aide d'une centrifugeuse et décantation. La phase polaire (phase méthanolique) contenant les composés phénoliques est récupérée tandis que la phase apolaire subit une 2ème et une 3ème extraction pour récupérer la fraction phénolique restante. Chaque phase polaire récupérée subit un lavage par l'hexane puis concentré au Rota vapeur à 40°C jusqu'à l'obtention d'une poudre jaune collée sur les parois internes du ballon. (**figure 13 ; annexe03**)

Figure 15 : Extraction liquide – liquide des composés phénoliques d’huile de lentisque (**original, 2017**)

II.2.4.3. Analyse quantitative par spectrophotométrie UV-visible

La spectrophotométrie est une méthode couramment employée, pour la détermination de la concentration d’un composé qui soit natif ou résultant d’une extraction méthanolique.

Elle permet d’utiliser toute la gamme du visible et éventuellement de l’Ultra Violet, si le spectrophotomètre est équipé d’une source UV (**Kamoun, 1997**).

⦿ Principe :

La colorimétrie base sur la propriété de certains composés, qui absorbent d’avantage la lumière à des longueurs d’ondes spécifiques dans le spectrophotomètre UV-visible(annexe02). Le dosage des composés phénoliques, utilise très fréquemment, leurs spectres d’absorptions, dans l’UV pour la plupart des autres composés, en choisissant pour chacun d’eux la longueur d’onde d’absorption maximale. Les lectures sont faites par rapport à un témoin (**Plummer, 1989**).

II.2.4.4. Dosage des polyphénols totaux

⦿ Principe

La teneur en phénol totaux, est déterminée en utilisant le réactif de Folin–Ciocalteu. Ce dernier, forme un complexe rédox avec l’acide phosphotungstique et l’acide phosphomolybdique lors de l’oxydation des phénols (**Singleton et al., 1998**).

⦿ Mode opératoire

Le mode opératoire suivi a été établie par (**Singleton et Rossi, 1965;Singleton et al., 1998**).

La préparation de la solution témoin, la solution de l’extrait méthanolique (1mg/1ml) et de l’extrait aqueux des rameaux feuillés du lentisque est illustrée dans le **Tableau 05**.

Tableau05 : Dosage différentiel spectrophotométrique, des polyphénols totaux de l'extrait méthanolique et l'extrait aqueux.

Témoin	250µl du folin ciocalteau (1ml+9ml de méthanol) + 50µl de méthanol Incubation (5 min) 750µl de carbonate de sodium à 7% +5ml d'eau distillée Incubation à température ambiante pendant 120 min
Essai 1 (polyphénols des feuilles) (5 répétitions)	250µl du folin ciocalteau (1ml+9ml de méthanol) + 50µl d'extrait méthanolique Incubation (5 min) 750µl de carbonate de sodium à 7% +5ml d'eau distillée Incubation à température ambiante pendant 120 min
Essai 2 (extrait aqueux 5 répétitions)	250µl du folin ciocalteau (1ml+9ml de méthanol) + 50µl d'extrait aqueux Incubation (5min) 750µl de carbonat de sodium à 7% +5ml d'eau distillée Incubation à température ambiante pendant 120 min



II.2.5. Extraction des différentes fractions :

Cette étape consiste à extraire les différentes fractions des polyphénols totaux à savoir, les flavonoïdes et les tannins condensés (figure 14). Les flavonoïdes ont été extraits en suivant le protocole de **Lebreton(1967)**.

II.2.5.1. Extraction des flavonoïdes

- **Mode opératoire**

-

-Ajouter 3g de la poudre végétale à 240 ml de HCl (2N) et mettre le mélange au bain marie pendant 40mn avec insufflation chaque 10 min.

- Filtrer le mélange a l'aide du papier Wattman.
- Verser le filtrat dans une ampoule à décanter et rajouter 50 ml de diéthyl éther.
- Dégazifier le mélange et laisser décanter pendant 30 minutes.
- Deux phases se forment après la décantation: une épiphase étherée et une hypophaseacide.
- Récupérer l'épiphase étherée dans un bécher.
- Répéter l'opération trois fois successives.

Figure16: Apparition de deux phases après décantation (original2017)

II.2.5.2.Extraction des Tannins

Les tannins condensés de *Pistacia lentisque* sont extraits selon le protocole de **Gredir et al. (2005)**.

- **Mode opératoire**

- Ajouter 5g de la poudre végétale à 50ml du mélange Acétone/eau (70/30 : V/V)
- Agiter le macérât pendant 24 heures.
- Reprendre l'agitation après avoir rajoute le même volume d'acétone/eau, au macérât obtenu précédemment et ce pendant 24 heures.
- Rajouter le même volume d'acétone/eau au macérât soit 50 ml qui est agité une troisième fois pendant 24 heures.
- Décanter le macérât pendant 24 heures.
- Filtrer et évaporer sous pression réduite à 60°C.
- Récupérer les extraits avec 100ml d'eau distillée, et les conserver à 4 °C.

II.2.5.3. Expression des résultats :

Les rendements (**R**) en polyphénols totaux, extrait aqueux, flavonoïdes et tannins condensés des feuilles de lentisque, pour les différents extraits préparés sont calculés selon la formule suivante :

$$R (\%) = (P - P_0 / P_T) \times 100$$

Où:

P: Poids du ballon avec l'extrait.

P₀ : Poids du ballon vide.

P_T : Poids de la poudre végétale

II.2.6. Huile de *Pistacia lentiscus* L.

II.2.6.1. Extraction de l'huile végétale

Les baies mûres de *Pistacia lentiscus* L. ont été récoltées en Novembre 2016 dans la région de Hammam Melouane distante de 25 Km au Nord Est de Blida (Algérie). L'extraction de l'huile végétale a été réalisée par une méthode traditionnelle selon le procédé suivant :

- Effeillage : Cette opération a été effectuée manuellement dans le but de se débarrasser des rameaux et des feuilles récoltés avec les fruits.
- Lavage : Les baies ont été lavées avec de l'eau courante en 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 la lumière pendant 7 jours.
- Broyage et malaxage : Les baies de lentisque ont été ensuite écrasées, y compris les enveloppes et les graines et malaxées pour les transformer en une pâte. Un peu d'eau froide a été ajoutée 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 a été séparée de l'eau et des déchets par décantation naturelle. 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.
- Huile obtenu est conservé dans un flacon en verre (**annexe03**).

II.2.6.2. Analyses organoleptiques :

Une observation à l'œil nu nous permet de définir des propriétés organoleptiques de l'huile à savoir la couleur et l'aspect .L'odeur peut être aussi appréciée.

Une partie de l'huile extraite est utilisée pour les analyses physico-chimiques et l'autre partie a servi pour l'étude biologique.

II.2.7. Analyse physico-chimique de l'huile fixe :

Les méthodes utilisées pour la détermination des caractéristiques physico-chimiques sont celles décrites dans les normes du **règlement CEE Européen n°2568/91**.

II.2.7.1. L'Humidité H₂O :

- Mettre une capsule dans l'étuve a 103 C°-105 °C pendant d 15 min
- Refroidir dans dessiccateur et peser à vide : m₀
- Peser P_E = 5gr de huile et mettre dans l'étuve pendant environ 30' à 1h
- Refroidir dans dessiccateur et peser
- Refaire la pesée jusqu'à poids constant m

$$\text{H}_2\text{O}\% = \frac{(\text{PE} + \text{m}_0) - \text{m}}{100} \times$$

II.2.7.2. Analyse physique

II.2.7.2.1. Densité relative

La densité relative d'une huile à 20°C par rapport à l'eau à la même température est le quotient de la masse dans l'atmosphère d'un certain volume de cette huile à 20°C par la masse du même volume d'eau à 20°C (UICPA 2.101. 1999). Ce test est effectué l'aide densimètre.

II.2.7.2.2. Détermination de l'indice de réfraction

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 l'extrait maintenue à une température constante. Il est le meilleur critère de pureté (AFNOR, 2000). La mesure est faite à l'aide d'un réfractomètre (annexe02).

II.2.7.2.3. Détermination du potentiel d'hydrogène

Le pH donne une indication sur l'acidité ou l'alcalinité du milieu, il est déterminé à partir de la quantité d'ions d'hydrogène libres (H^+) contenue dans l'huile de lentisque (Audigie et al., 1984).

Mode opératoire :

Avant d'effectuer une mesure, on règle la température du pH mètre (**annex01**) à celle du milieu ambiant, on rince toujours la sonde à l'aide d'eau distillée, puis on l'essuie, on prend 200 ml d'huile de lentisque à analyser dans un erlenmeyer, on plonge la sonde dans la solution et on lit le pH.

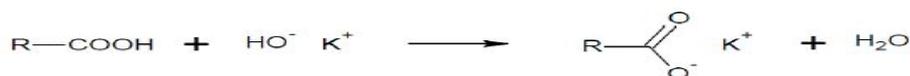
$$A\% = \frac{V \times C \times M}{10 \times m}$$

II.2.7.2.4. Analyses chimiques :

II.2.7.2.4. Acidité (A%) :

Elle correspond à la teneur en pourcentage d'acide gras présent dans l'huile de lentisque. Elle représente un paramètre important dans l'évaluation de sa qualité. Ce dosage nous renseigne sur le degré d'altération de l'huile et sur le taux d'acides gras libres dans l'huile exprimée en acide oléique (Perrin, 1992). L'acidité est mesurée selon la norme (ISO : 660-2003).

Le principe repose sur la neutralisation des acides gras à l'aide d'une solution éthanolique d'hydroxyde de potassium de normalité 0,5 mole/L pour donner des savons selon la réaction suivante :



Mode opératoire :

La détermination est effectuée sur l'échantillon filtré. 2.5g d'huile de lentisque sont dissout dans 100ml du mélange éthanol/éther diéthylique (V/V), puis titrés, en agitant, avec la solution d'hydroxyde de potassium (KOH) à 1N en présence de 0,3ml de solution de phénolphaléine à 1% dans l'éthanol, jusqu'à virage de l'indicateur (coloration rose).

L'acidité est exprimée en pourcentage est égale à :

V : est le volume en ml de la solution titrée de KOH utilisé,

C : est la concentration exacte, en moles /litre, de la solution titrée de KOH utilisé,

M : est le poids molaire, en g/mole, de l'acide adopté pour l'expression du résultat (= 282),

m : est la prise d'essai en grammes.

II.2.7.2.5. Indice de Peroxyde (IP)

Cet indice nous donne la quantité de peroxyde présent dans l'échantillon. Il est exprimée en milliéquivalents d'oxygène actif contenu dans un kilogramme de produit, oxydant l'iodure de potassium avec libération d'iode. En effet, cet indice nous permet d'évaluer l'état de fraîcheur de l'huile.

Cet indice de peroxyde I.P estime l'état d'oxydation, c'est un mécanisme lent mais inéluctable. En effet, les huiles peuvent s'oxyder en présence d'oxygène et de certains facteurs favorisant ce phénomène néfaste (température élevée, eau, enzyme, trace de métaux Cu, Fe, Co...).

Cette auto-oxydation ou rancissement oxydatif aldéhydique conduit dans un premier temps à la formation de peroxydes ou hydro peroxydes qui se décomposent ultérieurement en dérivés carbonylés aldéhydiques et hydro cétones (responsables de l'odeur de rance) et divers produits oxygénés (alcools, acides...).

Le principe repose sur le titrage de l'iode libéré par une solution de thiosulfate de sodium $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$.

L'indice de peroxyde est mesurée selon la norme (ISO : 3960-2001).

Mode opératoire :

→ 5g d'huile de lentisque pesés dans une fiole à 0,001g près et mélangés avec 12ml de chloroforme; le tout est agité.

→ 18ml d'acide acétique glacial ainsi que 1ml d'Iodure de potassium (KI) sont ajoutés.

→ Le mélange est agité pendant 1mn et laissé reposer pendant 5mn à l'abri de la lumière et à une température de 15 à 25°C.

→ 75ml d'eau distillée sont additionnés suivi d'un titrage de l'iode libéré avec une solution de thiosulfate de sodium [$\text{C}(\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3)$] à 0,01N (Préparation de réactif

[C (Na₂S₂O₃)] de : voir l'Annexe 04)] des en agitant vigoureusement et en employant la solution d'amidon (1g/100ml) comme indicateur jusqu'à disparition de la couleur.

Un essai à blanc est effectué simultanément.

L'indice de peroxyde en milliéquivalent d'O₂/kg est calculé selon l'équation :

V : est le volume de thiosulfate de Na de l'échantillon,

V₀ : est le volume requis pour titrer le blanc,

N : est le titre exact de thiosulfate de Na utilisé,

M : est la prise d'essai en grammes.

II.2.7.2.6. Indice de Saponification (IS)

$$IP(\text{meq d'O}_2/\text{kg}) = \frac{(V - V_0) \times N}{M} \times 100$$

C'est le nombre de milligrammes de KOH nécessaires pour

neutraliser" l'acidité libre et

saponifier à chaud les esters de 1 g de lipide.

La valeur de l'indice de saponification nous permet d'estimer les longueurs des chaînes de carbone des acides gras constituant l'huile d'une part, et de calculer les masses moléculaires moyennes des acides gras et des triglycérides qui renferment l'huile.

- Pour déterminer l'Indice de Saponification, nous avons appliqué la méthode (ISO : 657 - 2002).

Mode opératoire :

2 g d'échantillons sont pesés puis mis en solution dans 50ml de KOH alcoolique dans un ballon Büchi de 250ml.

Placer ensuite un réfrigérant sur le ballon

L'échantillon par la suite chauffé à 80° C pendant 1h 30mn pour être sûr que la saponification soit complète.

Titrer l'échantillon après refroidissement du récipient, avec du HCl 0,5N jusqu'à

disparition complète de la couleur rose.

¶ Dans les mêmes conditions, un essai à blanc est effectué.

L'Indice de Saponification est calculé selon l'équation :

$$IS \text{ [mg de KOH /g]} = \frac{(V_b - V) \times N}{m} \times 56.1$$

V_b : est le volume d'HCl 0,5N requis pour titrer le blanc,

V : est le volume d'HCl 0,5N requis pour titrer l'échantillon,

N :est la normalité de la solution d'HCl,

mest la prise d'essai en grammes.

II.2.7.2.7. Indice d'Ester (IE)

L'Indice d'Ester est la masse en milligramme de potasse requise pour la saponification à chaud des esters contenus dans un gramme de corps gras. Il est calculé à partir de l'Indice d'Acide (IA) et l'Indice de Saponification (IS). Il permet d'évaluer une éventuelle hydrolyse des triglycérides (FAO, 1979).

L'Indice d'Ester est calculé selon l'équation suivante :

$$IE = IS - IA$$

IS: Indice de Saponification.

IA: Indice d'Acide.

II.2.7.2.8. Indice d'Iode (II)

L'indice d'iode d'un corps est la masse d'iode, exprimée en gramme, que l'on peut fixer par addition sur 100 grammes de lipide. Il permet d'évaluer le degré d'insaturation selon le protocole de SAIDAL (**Pharmacopie européenne ,2014**).

- Dans un récipient de 250 ml muni d'un bouchon rodé, se cou rincé avec l'acide acétique glacial R, introduisez le prise d'essai (mg) et dissolvez la dans 15 ml de chloroforme R sauf indication contraire.
- Ajouter très lentement 25ml de solution de bromure d'iode R .Bouchez le récipient et placez le à l'obscurité pendent 30 min, sauf indication contraire, en agitant fréquemment.

- Après addition de 10 ml d'une solution d'iodure de potassium R à 100g/l et de 100ml d'eau R titrer par thiosulfate de sodium 0.1M en agitant énergiquement jusqu'à ce que la coloration jaune et presque disparu
- Ajouter 5ml de solution d'amidon R et continuez le titrage en agitant énergétiquement et en ajoutant, goutte à goutte, la thiosulfate de sodium 0.1M jusqu'à disparition de coloration (n_1 ml de thiosulfate de sodium 0.1M)
- Effectuez un essai à blanc dans les mêmes conditions (n_2 ml de thiosulfate de sodium 0.1M).

Un essai à blanc sans l'huile est réalisé en même temps dans les mêmes conditions.

- L'indice d'iode est calculé selon la formule suivante :

- $$\frac{1.269(n_2-n_1)}{M}$$

II.2.7.2.8. Extinction spécifique :

Tous les corps gras naturels contiennent de l'acide linoléique en quantité plus ou moins importante. l'oxydation d'un corps gras conduit à la formation d'hydroperoxydes linoléique qui absorbent la lumière ultraviolette au voisinage de 266 nm .Si l'oxydation se poursuit, il se forme des produits secondaires d'oxydation , en particulier les hydro- peroxydes et les cétones insaturées qui absorbent la lumière à 232 et 270 nm .

Une prise de 0,25 grammes de l'huile et dissoute dans 25 ml de cyclohexane.

L'absorbance de la solution de matière grasse est mesurée dans une cuve de quartz par rapport à celle du solvant utilisé à l'aide d'un spectrophotomètre U.V / Visible (PERKIN-ELMER Lambda) à longueur d'onde spécifiques de 232 et 270 nm .

L'extinction à 232 et 270 nm d'un corps gras brut peut être considérée comme une image de son état d'oxydation , plus l'huile est peroxydée et plus l'extinction à 232 et 270 nm est forte , plus elle est riche en produits secondaires d'oxydation en particulier des hydroperxydes, des dicétones et des cétones insaturées qui absorbent la lumière à 232 et 270 nm. (**Gharby et al., 2011**).

II.2.7.2.9.Teneur en Acides Gras par CPG

Cette partie a pour objectif de compléter les analyses physico- chimiques réalisée. Les acides gras étant les constituants essentiels des triglycérides, il est important de déterminer la teneurs de ces constituants (**Karleskind et Wolff, 1992 ; Ollé, 2002**).

- Principe

Le principe de l'analyse, tient compte du fait que les molécules composant principalement les huiles et qui sont les triglycérides - triesters d'acides gras du glycérol, sont difficiles à analyser tel quel en chromatographie gazeuse. En effet pour réaliser ces analyses, il faut dans un premier temps détruire les liaisons ester glycérol – acide gras, et synthétiser des esters du méthanol et des acides gras (ces esters, étant plus volatils, sont plus faciles à analyser que les acides gras « libres »).

- Mode opératoire

Deux étapes successives d'extraction lipidique sont réalisées par séparation des phases à l'aide d'hexane. La phase contenant l'hexane est ensuite évaporée sous azote et l'extrait lipidique sec contenant les esters méthyliques est remise en suspension dans l'hexane à la concentration adéquate pour l'analyse chromatographique en phase gazeuse (**Mimoun, 2010**) (**Figure 16**)

Le protocole ci-dessous a été appliqué en vue de réaliser la méthylation.

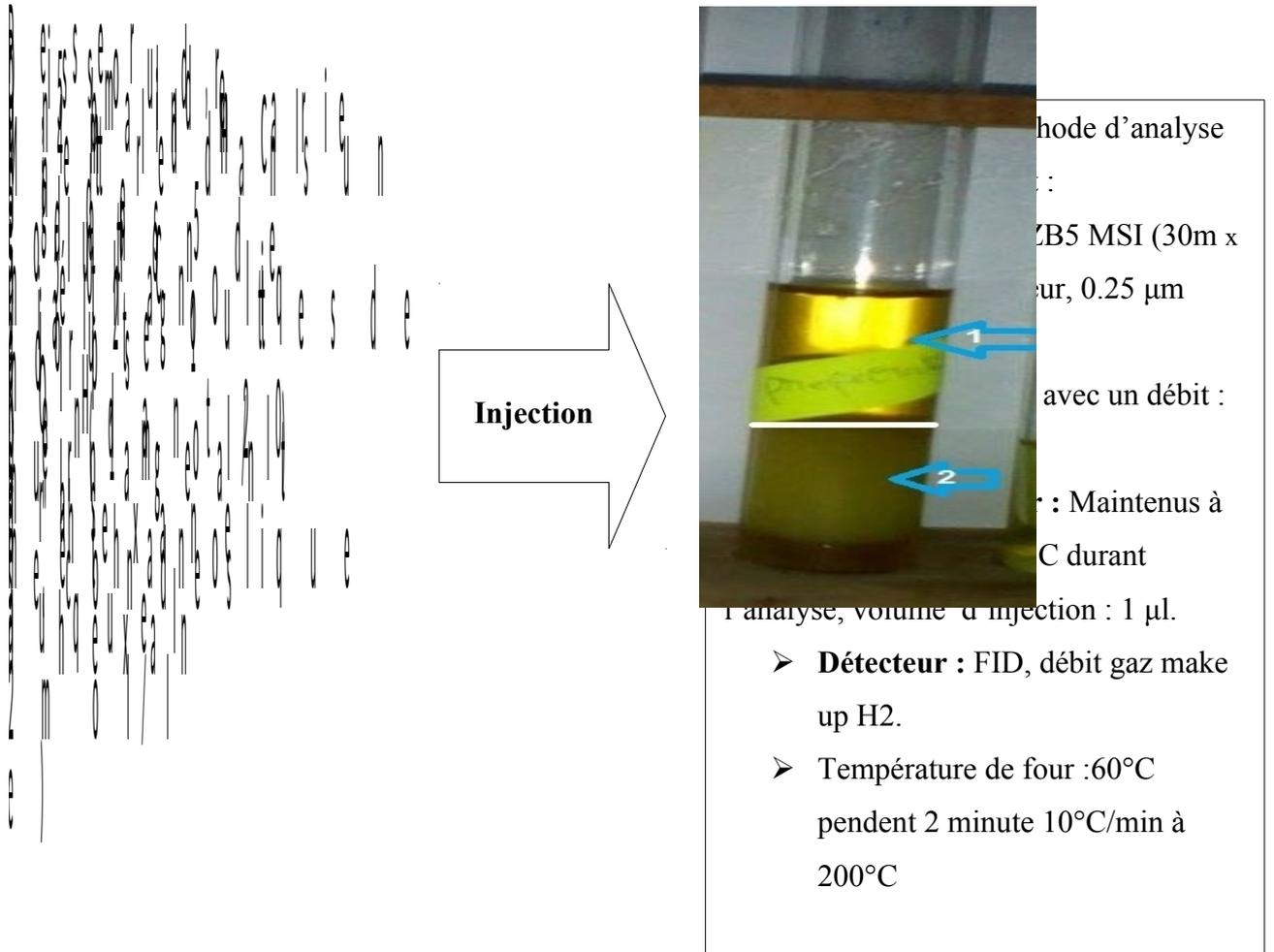


Figure17 : Protocole de méthylation des acides gras

❖ Séparation de phase après méthylation

- 1 : Une phase supérieure, contenant les esters des acides gras dissous dans l'hexane
- 2 : une phase inférieure formée par la fraction de glycérol et les constituants mineurs de l'huile.

❖ Dilution du surnageant dans une phase hexanique



Injection dans la colonne de **CPG**



Figure 18: Etapes de la préparation des échantillons pour l'analyse CPG.

II.2. 8. Activités biologiques des extraits de lentisque :

II.2.8.1. Activité antimicrobienne

Le principe utilisé est celui de la **Pharmacopée européenne (2002)**.

a technique, consiste à utiliser des disques en papier absorbants de 9 mm de diamètre (**voir Annexe 01**), imprégnés d'une quantité d'extrait et déposés à la surface d'une gélose inoculée et uniformément ensemencée par la suspension bactérienne à étudier (**voir Annexe 03**). La diffusion de l'extrait dans la gélose permet d'avoir comme résultat positif une zone d'inhibition après incubation. La lecture des résultats se fait par mesure des diamètres des zones d'inhibitions obtenues pour chacune des souches.

-Mode opératoire

Selon la **fiche technique de Sidal (2002)**, l'activité antimicrobienne est réalisée comme suit :

-Les milieux de culture

Les milieux de culture utilisés pour la réalisation des tests antimicrobiens sont les

Suivants :

La gélose **Muller Hinton « MH »** pour l'étude de la sensibilité des bactéries.

La gélose **Sabouraud « SAB »** pour l'isolement, la conservation et le repiquage des Levures et champignons ainsi que pour l'étude de leur sensibilité.

-Conservation et repiquage des souches

Les souches, sont conservées à 4°C dans des tubes stériles contenant 10 ml de milieu de culture incliné. A partir de ces tubes à essai, un repiquage a été réalisé. Les milieux sont incubés respectivement à 37°C pendant 24h pour les bactéries et à 25°C pendant 48h pour les levures et champignons.

II.4.1.1. Evaluation de l'activité antibactérienne des extraits :

L'activité antibactérienne est évalué par la méthode de diffusion en milieu solide (Gélose), dont le principe consiste à mesurer le diamètre de la zone d'inhibition de la croissance bactérienne autour d'une source d'antibiotique déposée à la surface de la gélose (**Atefeibu, 2002**). Les étapes suivies sont les même utilisés dans la réalisation d'un antibiogramme.

➤ **Mode opératoire :**

- 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 9 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**).

Remarque : Nous avons imprégné les disques absorbants de 9mm dans le DMSO comme témoin négatif en suivant la même procédure expérimentale pour l'extrait et pour l'infusé.

➤ **Lecture des résultats**

Les extraits méthanolique, aqueux, l'infusé et le décoction des feuilles à 10%, le hydrolat et les tanins, les flavonoïdes et l'huile végétal possèdent une activité antimicrobienne si le diamètre de la zone d'inhibition obtenu après incubation, dépasse le diamètre du disque

absorbant .Les diamètres des zones d'inhibition, sont mesurés avec précision à l'aide d'un pied à coulisse(voir **Annexe 01**). Ils sont classés en 4 classes (**Tableau6**) (**Moreira et al., 2005**).

Tableau06 :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

III.1. Teneur en eau de *Pistacia lentiscus*

Après séchage des échantillons dans l'étuve, la teneur en eau est déterminée et le résultat est présenté dans le tableau 07.

Tableau 07 : Teneur en eau de *Pistacia lentiscus*

Paramètre	Feuilles
Poids frais (g)	10
Poids sec (g)	8.9969
Teneur en eau (g)	0,10031
Teneur en eau (%)	10,31

La teneur en eau de feuilles de *Pistacia lentiscus*

est de 10,31%. Cette valeur, paraît 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.2. Screening phytochimique

Les tests phytochimiques sont réalisés sur la poudre, sur l'infusé à 10% et sur l'extrait éthanolique des feuilles de *Pistachier lentiscus L.*, en utilisant des solvants de polarités différentes et des réactifs spécifiques de révélation.

Le screening phytochimique nous a permis de mettre en évidence la présence de métabolites secondaires au niveau des tissus végétaux de notre plante. La détection de ces composés chimiques est basée sur des essais de solubilités des constituants, des réactions de précipitation et de turbidité et de changement de couleurs spécifiques.

Les résultats des différents tests sont donnés dans le tableau 08.

Tableau 08 : Résultats des différentes réactions du screening phytochimique

Composés secondaires	Infusé (10%)	Poudre	Extrait éthanolique
Les polyphénols	+	/	/

III. Résultats et interprétations

Les tanins totaux	+	/	+
Tanins gallique	+	/	/
Tanin catéchétiques	-	/	/
Les anthocyanes	-	/	/
Stérols et triterpènes	+	/	/
Amidon	/	-	/
Saponosides	-	/	/
Stéroïdes	-	/	/
Mucilage	-	/	/
Alcaloïdes	/	-	/
Leuco-anthocyanes	/	+	/
Coumarines	/	+	/
Glucosides	/	+	/
Flavonoïdes	/	/	+
Composés réducteurs	-	/	+

Présence : + ; Absence : - ; / non testé

Ces résultats montrent la présence des polyphénols, des tanins totaux, des tannins galliques, des leuco-anthocyanes, des stérols et triterpène, glycosides et des coumarines. Il est remarqué l'absence des tanins catéchétiques, des anthocyanes, des alcaloïdes, des saponosides et des mucilages dans les feuilles de *Pistacia lentiscus*.

Les familles chimiques, détectées dans cette étude phytochimique, viennent confirmer les travaux antérieurs d'Arab et *al.* (2014) sur *Pistacia lentiscus* qui ont identifié la présence des leuco-anthocyanes, des tanins totaux, des tanins gallique, des flavonoïdes, des saponosides et des glucosides. Ces auteurs signalent aussi l'absence des coumarins, de l'amidon et des mucilages.

Par ailleurs, les résultats concernant l'absence des alcaloïdes se concordent avec ceux obtenus par Bammou et *al.* (2015) chez la même plante.

III.3.Résultat concernant les huiles essentielles

Dans les paragraphes suivants, il est présenté le rendement en huile essentielle chez le lentisque et ses caractéristiques organoleptiques

III.3.1. Rendement en huile essentielle des feuilles

Le rendement en huile essentielle obtenue à partir d'échantillons récoltés à Hammam Melouane est très faible puisqu'il est de l'ordre de 0.05%. **Benyoucef et al. (2005)** ont obtenu un rendement de 0.11% à partir des feuilles récoltées dans la forêt de Bainem. **Arab et al. (2014)** signale un rendement de 0,131% à partir des feuilles récoltées à Boumerdes. Ces résultats paraissent donc supérieurs à celui que nous avons obtenu.

A Tizi Ouzou, **Taleb (2015)**, note un rendement en huile essentielle de 0,02%, inférieur à celui trouvé dans notre échantillon. De ce fait, il est à remarquer que les rendements en huile essentielle de cette plante dépendent de plusieurs facteurs tel que la partie de la plante utilisée, la méthode d'extraction, la période de récolte, l'origine de la plante et les facteurs biotiques liés à chaque région.

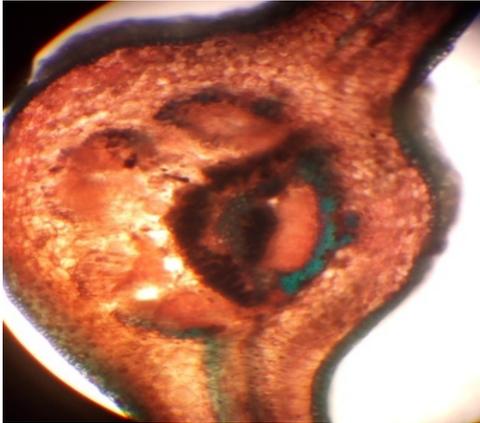
III.4. Résultats concernant les coupes histologiques

La réalisation des coupes que ça soit sur feuilles ou sur tiges permettent de connaître les tissus dont *Pistacia lentiscus* est constituée. Dans ce cas précis, les tissus rencontrés sont nombreux. Cependant, il est possible de les regrouper en cinq catégories : les tissus de revêtement, les parenchymes, les tissus conducteurs, les tissus de soutien et les tissus sécréteurs.

Les figures 19,20 et 21 nous permettent de distinguer plusieurs couches allant de la face supérieure à la face inférieure de la feuille.

L'anatomie foliaire de *Pistacia lentiscus* est articulée, constituée par un épiderme supérieur ou inférieur. Entre les deux, existe un tissu médian très chlorophyllien habituellement différencié en deux niveaux : Un parenchyme palissadique renfermant des cellules prismatiques régulièrement alignées et au-dessous, un parenchyme lacuneux dont les cellules sont de forme lobée. On note la présence d'un amas de cellules du collenchyme annulaire, en position périphérique. Il est constitué de cellules vivantes plus ou moins allongées, sans espaces lacunaires, à paroi primaire, munie d'épaississements pecto-cellulosiques.

III. Résultats et interprétations



Le sclérenchyme observé sous microscope montre que c'est le tissu de soutien des organes lorsque l'allongement est achevé. C'est l'ensemble des cellules mortes à parois épaisses, caractérisées par des cellules semblables. Le limbe foliaire présente une symétrie bilatérale clairement perceptible en section transversale.

Taleb (2015) qui a utilisé un microscopie électronique a réussi à mettre en évidence des structures endogènes toutefois rares, localisées dans le parenchyme chlorophyllien lacuneux. Ce sont des canaux glandulaires lysigènes. Ceci peut expliquer la faiblesse des rendements en huiles essentielles chez le lentisque.

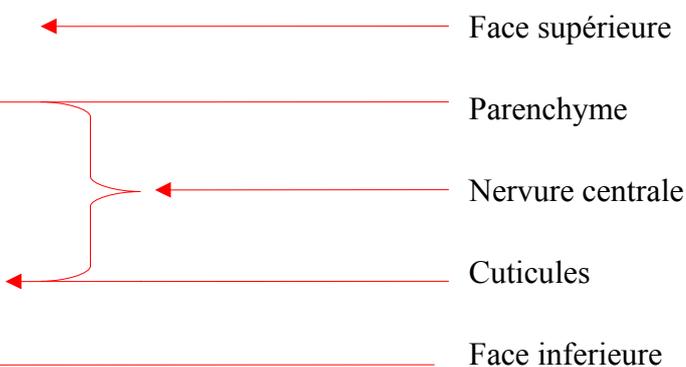


Figure 19 : Coupe transversale dans la feuille de pistachier lentisque observé en microscope photonique : (G X 40)

Xylèmes

Bois

Phloème

Sclérenchymes

Parenchyme

Epiderme

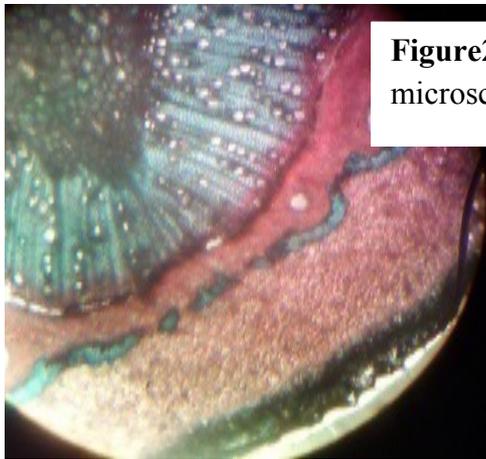


Figure20: Coupe transversale dans la tige de pistachier lentisque observé en microscope photonique : (G X 40)

Collenchyme

Fibre

Bois



Figure 21: Coupe transversale dans la pétiole de pistachier lentisque observé en microscope photonique : (G X 40)

III.5.Caractérisation et rendements des extraits

Les caractéristiques des différents extraits ; méthanolique, aqueux, tanins et flavonoïdes de la poudre des feuilles et celles concernant l'extraction liquide-liquide de l'huile végétale du lentisque sont mentionnées dans le **(Tableau 09)**.

Tableau 09 : Aspect des extraits étudiés.

	Extrait	Aspect	Colure
Feuilles	Méthanol (polyphénols)	Poudre	Vert
	Extrait aqueux	Poudre	Marron
	Flavonoïdes	Poudre	Jaune verdâtre
	Tanins	Poudre	Vert
Fruits	Polyphénols d'huile fixe	Pate huileux	Jaune

Nos résultats vont dans le même sens que ceux trouvés par Bammouet *al.* (2015).

Concernant le rendement des extraits, et d'après la **figure 21**

l'extrait des tanins chez *Pistacia lentiscus* représente le rendement le plus élevé avec 28.32%.il est suivi de l'extrait MeOH (100 %) avec un rendement de 12%. Le rendement de l'extrait aqueux (09 %) est quant à lui proche de celui des flavonoïdes (8.9%).Nous remarquons aussi que les tanins sont les composés dominants des polyphénols totaux .Les polyphénols dans l' huile fixe est de l'ordre de 0.421 %

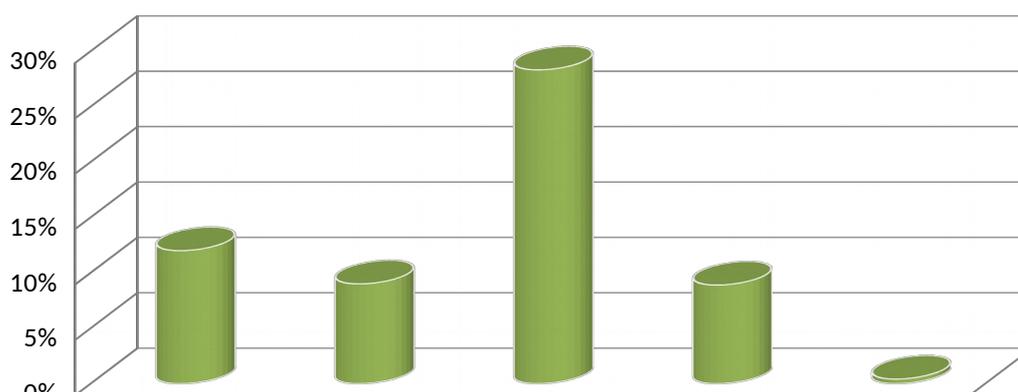


Figure 22: Rendements des extraits de *Pistacia lentiscus* L.

III. 6. Dosage des phénols totaux

Le dosage des phénols totaux est effectué par la méthode spectrophotométrique adaptée de **Singleton et Ross (1965)** avec le réactif de Folin-Ciocalteu. Cette méthode est simple à mettre en œuvre et très sensible et spécifique aux polyphénols puisqu'il peut réagir avec les acides aminés (tyrosine et tryptophane), les protéines, les sucres réducteurs comme le glucose et le fructose, l'acide ascorbique, l'acide tartrique et les sulfites(**Boizot et al.,2011**).

Les résultats obtenus sont exprimés en mg équivalent d'acide gallique par gramme de matière végétale sèche (mg GAE/g), en utilisant l'équation de la régression linéaire de la courbe d'étalonnage tracée de l'acide gallique (Annexe 5, Figure 22). Pour les deux extraits (méthanolique et aqueux) nous avons remarqué une variabilité des teneurs en phénols totaux. La teneur la plus élevée est constatée dans l'extrait aqueux, elle est de l'ordre de 0.7291 mg GAE/g. celle de l'extrait méthanolique est de 0.6281 mg GAE/g.

Ce qui indique que l'eau peut être considérée comme un solvant approprié pour l'extraction de composés phénoliques chez le lentisque.

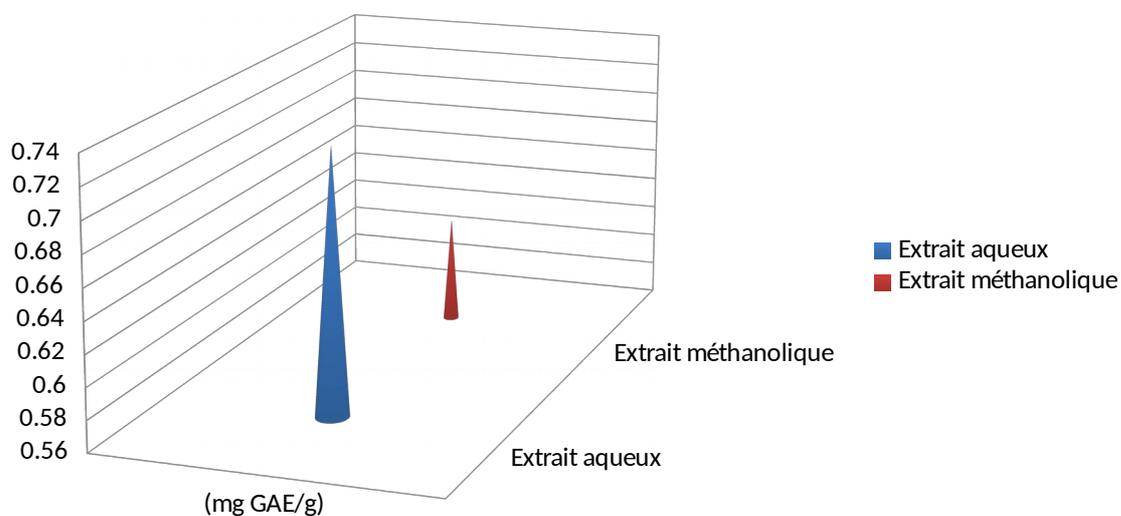


Figure 23 : Teneurs en phénols totaux pour les deux extraits de la plante étudiée

III.7. Résultat concernant l'huile végétale de *Pistacia lentiscus*

III. 7.1. Rendement des fruits en huile végétale

La teneur en huile, des fruits de *Pistacia lentiscus* est de 9.3%. Cette valeur est inférieure à celle trouvée par **Charef et al.(2008)** qui signalent des teneurs de l'ordre de 32,8% en huile extraite à partir des fruits matures issues du nord-centre Algérien. Elle est aussi inférieure à celle obtenue à partir des fruits rouges de la même plante et de la même zone (11,07%). Elle est également inférieure à celle de **Merzougui (2015)** qui signale un taux 17,45% en huile extraite de l'est algérien.

D'après ces données on peut dire que le rendement en huile végétale chez le lentisque est influencé par le stade de maturité des fruits, la zone d'échantillonnage. **Salvador et al. (2001)** ajoutent que le taux en huile chez cette plante augmente au début du stade de maturation et baisse légèrement quand le fruit est très mûr.

III.7.2. Analyses organoleptiques

L'huile de lentisque a une odeur très forte et caractéristique de la plante, une couleur jaune verdâtre, un goût un peu acide mais comestible et un aspect liquide mobile mais susceptible de laisser déposer une matière blanche. Ceci est dû à la présence de matière grasse.

III.7.3. Caractéristiques physico-chimiques de l'huile végétale

Les caractéristiques physicochimiques de l'huile végétale du lentisque sont présentés dans le tableau suivant.

Les caractéristiques physico-chimiques sont présentées sur le Tableau 11.

Tableau10 : Caractéristiques physico-chimiques de l'huile de *Pistacia lentiscus L.*

Indices physico-chimiques	Moyennes	Normes COI2011	Normes CEE2005	Codex, FAO 2001	AFNOR (2000)
Humidité %	7.19	/			
L'acidité %	1.495	0,8- 3,3	0,8 -2,0	/	<10
L'indice de peroxyde	1.7505	≤ 20	≤ 20	<20	/

III. Résultats et interprétations

L'indice d'iode	76.95	/	/	75-94	/
L'indice de saponification (mg de KOH /g d'huile)	185.28	184 - 196	184 - 196	/	170-210
L'indice de réfraction	1.469	1,467-1,4705	/	/	/
Potentiel Hydrogène(pH)	5.29	/	/	/	3.9-5.4
Extinction à 232 nm	4.0302	2,50- 2,60	2,50- 2,60	/	/
à 270nm	4.0302	0,22- 0,30	0,22- 0,25	0,25-0,3	/
Indice d'ester	183.78	Non indiqué			
Densité	0.9132	/	/	/	0.906-0.920

Le taux d'humidité de l'ordre de 0,791% est inférieur à 1%, valeur considérée comme niveau d'humidité acceptable pour les huiles

L'Acidité de l'huile de *Pistacia lentiscus* est conforme aux différentes normes (1,495 %). Celles de ;COI(0.8-3.3) , de CEE(0.8-2.0) et d'AFNOR(<10). Dans ce cas un corps gras se trouve à l'abri de l'altération par hydrolyse.

L'indice de peroxyde dans le cas présent est de 1.7505mécq O₂/kg. C'est une valeur inférieure à 20 méq O₂/kg d'huile. C'est une caractéristique de la plupart des huiles conventionnelles (FAO, 1981) cet indice est considérée comme témoin d'un niveau d'oxydation acceptable (Rossell, 1993).

L'indice de peroxyde n'étant pas le seul paramètre indicateur d'oxydation ; il est complété par la détermination de l'extinction à 232 nm à 270 nm. Les valeurs obtenues avec cette huile sont très élevées (4.0302- 4.0302) comparées aux normes COI et CEE (8,9); ce qui montre la présence de produits d'oxydation secondaires dans l'huile tels que : Les hyd

roperoxy des qui sont absorbés à 232 nm, et les cétones absorbés au voisinage de 270 nm.

L'indice d'iode est de 76.95 ; il est inférieur à celui trouvé par **Merzougui (2015)** pour une huile issue de la même espèce (80.44). Cette valeur est située dans l'intervalle signalée dans la littérature pour les huiles d'olive (75 à 94) (**Nichols, 2003**).

L'indice de saponification est de l'ordre de 185,28 mg de (KOH/ g d'huile), cette valeur semble relativement élevée par rapport à celle obtenue par **Charef (2008)**, qui note une valeur de l'ordre de $147,8 \pm 0,2$ pour l'huile extraite à partir des fruits noirs de *Pistacia lentiscus L.* Tandis que pour les fruits rouges, cet indice est de $154,6 \pm 0,1$. Ceci montre que l'huile de *Pistacia lentiscus L.* extraite de Hammam Melouane est moins riche en acide gras à longues chaînes. Donc notre huile est riche en acides gras à chaînes courtes. Ces derniers, peuvent jouer un rôle important dans la santé humaine. Ils peuvent réduire le risque de maladies inflammatoires, de diabète de type 2, d'obésité, de maladies cardiaques et d'autres atteintes (**Cook et Sellin, 1998**).

L'indice de réfraction mesuré pour l'échantillon de l'huile *Pistacia lentiscus L.* est de 1,469 Cette valeur est la même que celle rapportée par (**Merzougui, 2015**).

Concernant le potentiel hydrogène, sa valeur est de 5.29. elle se situe dans les normes d'AFNOR (3.9-5.2).

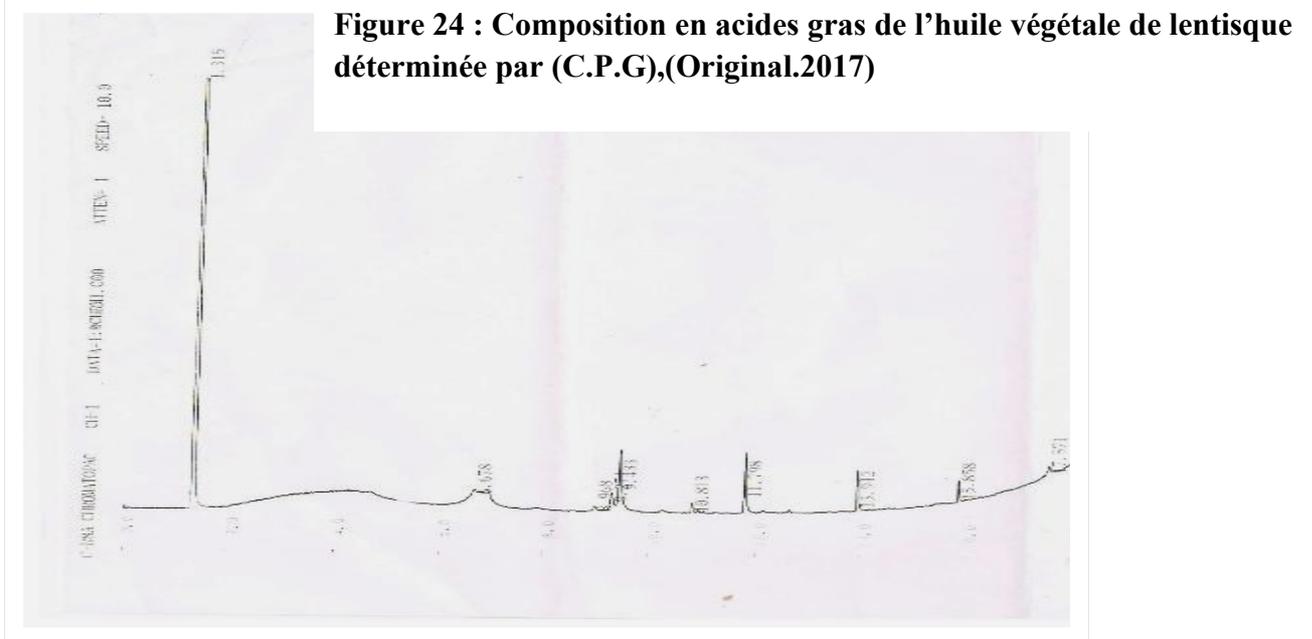
La valeur de la densité relative de l'huile végétale de lentisque trouvée est de **0.9132**. Ce résultat est en accord avec la norme **AFNOR**.

III.7.4. Composition en acides gras par CPG :

La composition de l'huile de *Pistacia lentiscus* en acide gras est représentée par la **Figure 23** quatre acides gras ont été identifiés dans l'huile de *Pistacia lentiscus*, 2 sont des AG saturés et 2 autres sont insaturés Les acides gras saturés détectés sont : palmitique C16 :0 et stéarique C18 :0. En ce qui concerne les acides insaturés ; acide oléique C18: 1 et linoléique C18: le premier est déterminé comme étant l'acide gras dominant dans l'huile.

Les acides gras insaturés sont prédominants dans l'huile de *Pistacia lentiscus L.* et cela est confirmé par le test de l'indice d'iode qui est de 76.95.

Toutefois, l'acide oléique est l'acide gras principal de cette huile suivi par l'acide linoléique. La présence de ces AGI protégerait contre certaines maladies métaboliques, les maladies cardiovasculaires et les cancers (Delplanque et al., 2002; Soel, 2007). Ce qui confère à l'huile de *Pistacia lentiscus* une grande importance nutritionnelle et pharmacologique.



III.8. Résultats des activités biologiques des extraits et de l'huile de lentisque

III. Résultats et interprétations

Les diamètres des zones d'inhibition de la croissance microbienne obtenus après l'utilisation des extraits et de l'huile de lentisque sont donnés dans le tableau 11 et annexe 08.

Tableau 11 : Diamètres (mm) des zones d'inhibition de la croissance microbienne

Les souches	EAQ. (1g/ml)	EMeO. (100mg/ml)	H.V. (pure)	Tan. (50mg/ml)	Flv. (50mg/ml)	Hyd. (pure)	Inf. (10%)	Déco. (10%)	Gen tm	Floc
<i>E-coli</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	27	/
<i>Staphylococcus aureus</i>	10.3	-	-	-	-	-	10.40	10.43	21	/
<i>Pseudomonas aerogenosa</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	24	/
<i>Pseudomonas flavescens</i>	16.11	17.04	-	10.59	-	12.23	11.88	11.71	24	/
<i>Bacillus subtilis</i>	15.32	14.21	-	10.85	-	-	11.40	10.24	27	/
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	-	-	-	10.70	-	12.79	-	-	27	/
<i>Salmonella tify</i>	10.1	10.2	-	-	-	11.94	-	11.5	27	/
<i>Streptococcus</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Candida albicans</i>	10.1	-	-	-	-	-	11.41	10.82	/	36
<i>Aspergillus niger</i>	-	-	-	-	-	11.2	10.20	-	/	-
<i>Penicillium Expansum.</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	/	-
<i>Penicillium globrum .</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	/	-
<i>Aspergillus ochraceus</i>	-	-	-	-	-	-	-	--	/	-

HV=huile végétal ;EMeO=extrait méthanolique ;EAQ=extrait

aqueux ;Tns=tanins ;Flv=Flavonoïdes ;Hyd :hydrolat ;Inf=infusé, Déco=décocté ;Gntm= Gentamicine

;Floc=Floconazol.

III. Résultats et interprétations

Il apparait que les flavonoïdes et l'huile de *Pistacia lentiscus* n'ont aucun effet sur les souches bactériennes et fongiques. Alors que les tanins laisse voir une légère sensibilité (diamètre d'inhibition : 10 ± 1.00 mm) sur trois souches bactériennes : *Pseudomonas flavescens* (10.59mm) ,*Bacillus subtilis* (10.85mm) et *Klebsiella pneumoniae* (10.1mm).

L'hydrolat est dotée d'une activité antibactérienne plus élevée vis-à-vis de *Pseudomonas flavescens* (12.23mm), *Salmonella tiphy* (11.94mm), *Klebsiella pneumoniae* (12.79mm) et *Aspergillus niger* (11.20mm).

Le décocté (10%) et l'infusé (10%) des poudres des feuilles , sont considérés comme étant modérément inhibiteurs vis-à-vis de la souche *Staphylococcus aureus* avec respectivement 10.43mm et 10.40mm. Mais le diamètre obtenu par l'infusé sur *Pseudomonas flavescens* est de 11.88 mm, il est de 11,40 mm pour *Bacillus subtilis* et 11,41mm pour *Candida albicans*. En utilisant le décocté, les valeurs obtenus pour les mêmes souches sont plus élevées avec respectivement (11.71mm) (10.24mm)et (10.82mm). *Aspergillus niger* montre une sensibilité envers l'infusé seulement (10.20mm)..

L'extrait aqueux suivie de l'extrait méthanolique(polyphénol) et extrait aqueux montrent une meilleure activité antibactérienne contre *Bacillus cereus* (15.32mm),(14.21mm), *Pseudomonas flavescens* (16.11mm),(17.04mm)et *Salmonella tiphy* (10.1mm), (10.2mm)respectivement. De même, l'extrait aqueux apparait aussi actif que les polyphénols contre *Staphylococcus aureus* (10.3) et *Candida albicans* (10.1mm).

Il ressort que les extraits aqueux et méthanolique ainsi que l'infusé et la décoction sont plus efficaces que l'huile végétale et les flavonoïdes contre les bactéries et les champignons testées.

L'utilisation de solvants à polarités différentes permet de séparer des composés selon leur degré de solubilité dans le solvant d'extraction. Ainsi, les fractions aqueuses, méthanolique et celle d'acétate d'éthyle se sont révélées actives avec un degré différent. Ceci est lié probablement au contenu des extraits en substances activité antimicrobienne (**Bammou et al.,2015**).

Les bactéries Gram+ apparaissent donc plus sensibles que les bactéries Gram- aux extraits. Ce qui est avancé par **Debbabi (2017)**. Ceci peut être attribué à la différence de la structure entre les bactéries gram positif et les bactéries gram négatif. En effet, la paroi cellulaire des bactéries gram positif est constituée par une seule couche alors que celle des grams négatifs a une structure multicouche liée par une membrane cellulaire externe (**Ali-Shtayeh et al.,1998**).

III. Résultats et interprétations

Les interactions synergiques entre les différents composés peuvent être à l'origine d'une activité beaucoup plus prononcée que celle prévisible pour les composés majoritaires.

1. **Anses, 2011** Fiche de description de danger biologique transmissible par les aliments / *Penicillium expansum* et autres moisissures productrices de patuline
2. **Bakker J., Bridle P., Honda T., Kuwano H., Saito N., Terahara N., Ben Aldjia M., Bichari S.** Contribution à l'étude de quelques facteurs influençant l'extraction de l'huile d'argan (*Argania spinosa* : (L) skeels) par voie chimique et physiques. Th.ing, INA El-Harrach, Alger, 2005, p49.
3. **Benghanou M., 2012.** La phytothérapie entre la confiance et mefiance. Mémoire professionnel infirmier de la sante publique, institut de formation paramédical CHETTIA (Alger): 56.
4. **Benjamin L. 2007.** Extraction, Derivatization, and Analysis of Fatty Acid Methyl Ester (FAME) in Tissue Homogenates and Blubber by ASE and Gas chromatography. Timberlake, C.F., « Identification of anthocyanin occurring in some red wines” *Phytochemistry*, N° (4), pp; 145-148.
5. **Bensalem**
6. **Benyoussef, E.H., Charchari, S., Nacer-Bey, N., Yahiaoui N., Chakou, A. and Bellatreche, M. 2005.** The Essential Oil of *Pistacia lentiscus* L. from Algeria. *Journal of Essential Oil Research*, 17, 642-644.
7. **Belfadel F. Z.2009 ;** Huile de fruits de *Pistacia lentiscus* Caractéristiques physico-chimiques et effets biologiques (Effet cicatrisant chez le rat) thèse pour obtenir le magister en chimie organique université Mentouri –Constantine p.144.
8. **Benhammou, N., Atik Bekkara, F., Panovska, T.K. ,2008.** Antioxidant and antimicrobial activities of the *Pistacia lentiscus* and *atlantica* extracts. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*. 2(2) : 022-028.
9. **Boizot N., Charpentier J.P.2011.** Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier. Le Cahier des Techniques de l'Inra,4p.
1. **Boukeloua A. ; 2009.** Caractérisation botanique et chimique et évaluation pharmaco-toxicologique d'une réparation topique à base d'huile de *Pistacia lentiscus* L. thèse pour obtenir le magister en science biologique université Mentouri –Constantine p.108.
1. **Bouyer J., 1996** : « Méthodes statistiques, médecine biologie », pp : 139.
2. **Bruneton J., 1999** : *Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales*, 3ème édition : Lavoisier, Tec & Doc, Paris, 1120p.

3. **Bruneton J.**, 1993. Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes médicinales. Paris : éditions médicales internationales. Editions Tec et Doc Lavoisier.409-417.
4. **Charef M.**,2011. Contribution à l'étude de la composition chimique et étude des propriétés phytochimiques et nutritionnelles des lipides des fruits de *Pistacia lentiscus* et du *Quercus* thèse pour obtenir le grade de docteur en science chimique , université Kasdi Merbah Ouargla, 134p.
5. **Cherif, N.**,2011. Activité biologique *in vitro* des extraits de *Pistacia lentiscus* contre les radicaux ABTS•+, O₂•⁻et •NO et caractérisation des fractions actives, Mémoire présenté en vue de l'obtention du diplôme de Magister en Biologie 139 page..
6. **Combe N, Rossignol-Castera A.** (2010). Vegetable oils and frying. *Cahiers de nutrition et diététique.* (45) 44-51. constituants des feuilles de *Ziziphus mauritiana* Lam. (Rhamnaceae). C. R. Chimie. 7. P : 1073-1080.
7. **Cook SII, Sellin JH.**,1998 :Short chain fatty acids in health and disease. US National Library of Medicine National Institutes of Health Search data base Search term Search
8. **Conseil Oléicole International** , 2009 . COI / T.15 / NC n°3 / Rév.4 (Novembre). Norme
9. commerciale applicable aux huiles d'olive et huiles de grignons d'olives. **Conseil Oléicole International**, 2011. COI /T.15 / NC n° 3/ Rév.6 (Novembre). Norme commerciale applicable aux huiles d'olive et huiles de grignons d'olives.
10. **Daifas DP, Smith JP, Blanchfield B, Sanders G, Austin JW, Koukoutisis J** 2004. Effects of mastic resin and its essential oil on the growth of proteolytic *Clostridium botulinum*. *International Journal of Food Microbiology*, 94(3) : 313-322.
11. **Dabos KJ, Sfika E, Vlatta LJ, Giannikopoulos G** ,2010. The effect of mastic gum on *Helicobacter pylori*: A randomized pilot study. *Phytomedicine*, 17(3-4): 296-299.
12. **Dao H.P.**,2005. Caractérisation de certains gènes poly cétones synthésases chez *aspergillus ochraceus* nrrl 3174 producteur d'ochratoxine a et d'acide penicillique
13. **Diallo F.B. ,Bégin D. Gérin M.** 2010. La substitution des solvants par les esters méthyliques d'acides gras d'huiles végétales, p102. Substances chimiques et agents biologiques Bilans de connaissances
14. **Djenane D, Yangüela J, Montañés L, Djerbal M, Roncalés P** ;2011 antimicrobial activity of *Pistacia lentiscus* and *Satureja montana* essential oils against *Listeria monocytogenes* CECT 935 using laboratory media: Efficacy and synergistic potential in minced beef. *Food Control*, 22(7): 1046-1053.

15. **Dunstan H., Florentine S. K., Calvino-Cancela M., Westbrooke M. E., Palmer G. C., 2013.** Dietary characteristics of Emus (*Dromaius novaehollandiae*) in semi-arid New South Wales, Australia, and dispersal and germination of ingested seeds. CSIRO PUBLISHING, 113: 168-176.
16. **Ekoumou, 2003** : Etude phytochimique et pharmacologique de 5 recettes traditionnelles utilisées dans le traitement des infections urinaires et de la cystite. Thèse doctorat. Université de Bamako. P148.
17. **Farrukh Aqil, Iqbal Ahmad and Zafar Mehmood, 2006.** Antioxidant and Free Radical Scavenging Properties of Twelve Traditionally Used Indian Medicinal Plants. Turk J. Biol., 30: 177-183.
18. **Feidemann J., 2005** World Spices Plants: Economic Usage, Botany, Taxonomy Springer Verlag, Berlin Heidelberg, European Union, p 196
19. **Ghada Bensalem, 2015.** L'huile de lentisque (*Pistacia Lentiscus L.*) dans l'est algérien : Caractérisation physico-chimique et composition en acide gras magister en science alimentaire . Constantine, 139p.
20. **Gredir A., Madani S., Boukortt F., Cherkaoui-Malki M., Belleville J., Prost J. 2005.** Fructose enriched diet modifies antioxidant status and lipid metabolism in spontaneously hypertensive rats. *Nutrition*, 766p.
21. **Heinz L., Klaus M., Albrecht Z. 2001.** Atlas de poche de pharmacologie. Paris : édition française. 387p.
22. **Isabelle L.N., Vaierie V., Gwenola L., Arnaud T., Guisle-Marsollier R., Georges B. 2011,** Isolation and analysis of differentially expressed genes in *Penicillium glabrum* subjected to thermal stress.
23. **Iserin, P. 2001.** Encyclopédie des Plantes Médicinales, Identification, Préparation, Soins. 2ième édition Ed Larousse/VUEF. p13-16, 250, 291-296.
24. **Judd W S., Campbell C S., Kellogg E A. et Stevens P., (2002).** Botanique Systématique : une perspective phylogénétique. Edit. Boeck Université, 250-252pp.
25. **Julien, K. 2013.** Les huiles végétales c'est malin. Leduc.s Éditions, 22 août 2013 – 256 pages. p.13, 19, 20, 21, 35.
26. **Kamoun P., 1997** : « Application et méthodes en biochimie et biologie endogène et viticulture, Vol 320, pp; 144-158.
27. **Kavishankar G.B, Lakshmidhevi N et Mahadeva Murthy S. (2011).** Phytochemical analysis and antimicrobial properties of selected medicinal plants against bacteria

- associated with diabetic patients. *International Journal of Pharma and Bio Sciences*, 2(4): 509-518.
- 28. Lebreton P., Nader S., Barbero M., Gallet C., et B. Hubert, 1997.** Sur la
- 29. Legrand P. (2010).** Avis de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments relatifs à l'actualisation des apports nutritionnels conseillés pour les acides gras. *Magnolipsida (Angiospermae). Bot. Rev.* 73(2). Pp: 67-182.
- Nagavani V. and T. Raghava Rao 2010** Evaluation of Antioxidant Potential and Identification of Polyphenols by RP-HPLC in *Michelia champaca* Flowers *Advances in Biological Research* MASSON, Paris (France), 339p.
- 30. Nurettin Y., Zerrin K., Hasan S., Hasan G. 2001.** Characterization of Lipids and Fatty Acid Methyl Ester Contents in Leaves and Roots of *Crocus vallicola*
- 31. Paris, R.R., Moyses, H., 1976** « Précis de matière médicale », Tome 1. Ed :
- 32. Pelt J. M., 1980.** Les drogues, leur histoire et leurs effets. Édition Doin, Paris: 221
- 33. Pharmacopée européenne 2005**”. Tome I. Conseil de l'Europe. Strasbourg.. 3343p
- phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents”, *American Journal of*
- 34. Plummer D.T., 1989** : « Introduction aux techniques de biochimie », Ed, Mc Graw-Hill, Paris, p : 331.
- 35. Ozenda, P. ; 1977 ;** Les relations biogéographiques des montagnes sahariennes avec la région méditerranéenne. In: *Revue de géographie alpine*, tome 79, n°1, 1991. pp. 43-53.
- 36. Quatresous N., 2011.** Aspergillose humaine. Épidémiologie, diagnostic biologique, contrôle. Thèse de Doctorat, Université de Limoges, Limoges.
- 37. Quezel P. et Santa S., (1962-1993)** - Nouvelle Flore de l'Algérie et des régions désertiques Méridionales. Paris C.N.R.S., 2 volumes. 1170p.
- 38. Salas J. J., Bootello M. A., Martinez-Force E., Garces R., 2009** “Tropical vegetable fats and butters: properties and new alternatives”, *OCL*, 2009, 16, 254-258.
- 39. Sqalli H, El Ouarti A, Ennabili A, Ibnsouda S, Farah A, Haggoud A, Houari A, Iraqui M ;2007.** Évaluation de l'effet antimicrobactérien de plantes du centre-nord du Maroc. *Bull. Soc. Pharm. Bordeaux*, 146(3-4) : 271-288.
- 40. Savithramma N., Linga Rao M. et Suhrolata A D. 2011:** Screening of medicinal plants for secondary metabolites. *Midale East Journal of Scientific Research* Vol 8: PP 579-584.
- 41. Singleton V.L., et Rossi J. A., 1965:** « colorimetry of total phenolics with

structuration biochimique des formations végétales secondaires méditerranéennes. *Revue d'Ecologie* (Terre et Vie), 621p.

42. **Terbén M., 1980**, « La santé à la pharmacie du bon Dieu » 4ème édition, Talantikit, 220p.

43. **Thorne R.F. et Reveal J.L., 2007** - An updated classification of the class

Torkelson A. R., 1996 The Cross Name Index to Medicinal Plants, CRC Press, p. 1160

44. **Vercauteren J., 2011** : Plan du cours de Pharmacognosie - Formation Commune de Base.

45. **WICHTL M., ANTON R., 2003**, « plantes thérapeutiques, traditions, pratique officinale, science et thérapeutique » 2ème édition, Tec et Doc, 692p.

Références arabiques

1. **HALIMI A. K., 1997**. دليل النباتات الطبية في الجزائر وزارة الفلاحة و الصيد البحري 290ص.

2. Références électroniques :

1. Site03

<https://hal.archives-ouvertes.fr/> Consulté le :04/07/2017

2. Site 05 :

<https://www.papillesetpupilles.fr/2016/05/le-mastic-une-specialite-grecque.html/>

Consulté le :07/07/2017

3. Site04 :

<http://www.atlasbota.com/> Consulté le :10/07/2017

4. Site

<http://eol.org/> Consulté le: 11-07-2017.

5. Site02 : [http://www.univbrest.fr/esiabscientifique/Mycologie/Methodes+d%27%C3%A9tudes/Ide ntification+Penicillium.](http://www.univbrest.fr/esiabscientifique/Mycologie/Methodes+d%27%C3%A9tudes/Ide%20ntification+Penicillium.) Consulté le :14/07/2017

6. Site06 :

<http://www.microbes-edu.org/etudiant/streptocoques.html>

Consulté le :15/07/2017

7. Site07 :

https://www.researchgate.net/post/How_can_I_calculate_the_total_phenolic_content_of_my_sample

Consulté le :31/07/2017

8. Site 08 :

<http://sante-medecine.journaldesfemmes.com/faq/8438-candida-albicans>

Consulté le :31/07/2017

9.Site 09 :

<http://www.atlasbota.com/>

Consulté le 01/08/2017

10.Site10 :

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/>

Consulté le 14/09/2017

Conclusion

Ce travail est une contribution à l'étude de la composition chimique des constituants des extraits des feuilles et des fruits de *Pistacia lentiscus* L., et à l'évaluation de leurs activités antibactériennes et antifongiques.

Le screening phytochimique basé sur des tests spécifiques a permis de caractériser la présence des polyphénols, des tanins totaux, des tannins galliques, des leuco-anthocyanes, des stérols et triterpène, glycosides et des coumarines. Il est remarqué l'absence des tanins catéchétiques, des anthocyanes, des alcaloïdes, des saponosides et des mucilages dans les feuilles de *Pistacia lentiscus*. Ces métabolites secondaires ont de grandes valeurs thérapeutiques.

Le rendement en huile essentielle obtenue à partir d'échantillons récoltés à Hammam Melouane est très faible puisqu'il est de l'ordre de 0.05%.

L'étude microscopique des coupes transversales obtenues par la technique de double coloration a permis d'observer les tissus de lentisque et ses tissus : parenchyme, sclérenchymes, cuticule et les collenchymes.

L'extrait des tanins chez *Pistacia lentiscus* représente le rendement le plus élevé avec 28.32%. Il est suivi de l'extrait MeOH (100 %) avec un rendement de 12%. Le rendement de l'extrait aqueux (09 %) est quant à lui proche de celui des flavonoïdes (8.9%). Nous remarquons aussi que les tanins sont les composés dominants des polyphénols totaux. Les polyphénols dans l'huile fixe est de l'ordre de 0.421 %..

La teneur de polyphénols la plus élevée est constatée dans l'extrait aqueux, elle est de l'ordre de 0.7291mg GAE/g. celle de l'extrait méthanolique est de 0.6281mg GAE/g.

Certains paramètres physico-chimiques de l'huile de lentisque ont fait l'objet de cette étude. Il en ressort que cette huile a une densité relative et un indice de réfraction très proches de ceux d'une huile d'olives vierge. Quant à son acidité elle semble acceptable, en comparaison à d'autres valeurs données par certains auteurs pour huile de la même espèce.

La composition de l'huile de *Pistacia lentiscus* en acide gras montre que quatre acides gras sont présents. 2 sont des AG saturés et 2 autres sont insaturés. Les acides gras saturés détectés sont : palmitique C16 :0 et stéarique C18 :0. En ce qui concerne les acides insaturés ; acide oléique C18: 1 et linoléique C18: le premier est déterminé comme étant l'acide gras dominant dans l'huile. Les acides gras insaturés sont prédominants dans cette huile.

Concernant les activités antimicrobiennes, l'extrait aqueux suivi de l'extrait méthanolique (polyphénols) montrent une meilleure activité antibactérienne contre *Bacillus cereus* (15.32mm), (14.21mm), *Pseudomonas flavescens* (16.11mm), (17.04mm) et *Salmonella tiphy* (10.1mm), (10.2mm) respectivement. De même, l'extrait aqueux apparaît aussi actif que les polyphénols contre *Staphylococcus aureus* (10.3) et *Candida albicans* (10.1mm). Le décocté (10%) et l'infusé (10%) des poudres des feuilles sont considérés comme étant modérément inhibiteurs vis-à-vis de la souche *Staphylococcus aureus* avec respectivement 10.43mm et 10.40mm. Mais le diamètre obtenu par l'infusé sur *Pseudomonas flavescens* est de 11.88 mm, il est de 11,40 mm pour *Bacillus subtilis* et 11,41mm pour *Candida albicans*. En utilisant le décocté, les valeurs obtenus pour les mêmes souches sont plus élevées avec respectivement (11.71mm) (10.24mm) et (10.82mm). *Aspergillus niger* montre une sensibilité envers l'infusé seulement (10.20mm). Il ressort que les extraits aqueux et méthanolique ainsi que l'infusé et la décoction sont plus efficaces que l'huile végétale et les flavonoïdes contre les bactéries et les champignons testés.

Il est à signaler que cette plante peut présenter d'autres vertus thérapeutiques qui restent à mettre en évidence dans d'autres projets de recherche.

Il est nécessaire aussi :

- D'approfondir l'étude phytochimique en utilisant des techniques plus performantes (HPLC, RMN...) en présence d'étalons, pour une identification fiable.
- Appliquer les techniques biotechnologiques dans le domaine de production des métabolites secondaires à fin de tirer le maximum de ces molécules et les utiliser pour l'intérêt de la santé humaine, animale ou végétale.
- Utiliser d'autres souches microbiennes.
- Etudier d'autres activités biologiques : anti-cicatrisante et anti-oxydante et antispasmodique....
- Dans le travail présent, nous avons utilisé la partie aérienne (fruits, feuilles) mais, il serait intéressant de le compléter par l'utilisation des racines et de la résine issue de cette plante.

Introduction

Depuis la nuit des temps, l'homme constatant la fragilité de sa santé s'est soigné par ce que la nature mettait à sa disposition. **(Terben ,1980)** .La plus par des médicaments de synthèse trouvent leurs origines parmi les composants actifs des plantes. 40 %des médicaments sont à base de composants actifs sont issus de plantes **(Salle, 1991)**.

Dans les zones arides, semi-arides et steppiques de l'Algérie, la liste des plantes entrant précisément dans ce cadre est achevée, estimée à plus de 3000 espèces appartenant à plusieurs familles botaniques .Ces espèces sont pour la plupart spontanées avec un nombre non négligeable (15%) d'espèces endémiques **(Ozenda, 1977)**. Ce qui a donné à la pharmacopée traditionnelle une richesse inestimable.

Pistacia lentiscus L, connu en Algérie sous le nom de Darou, est un arbrisseau appartenant à la famille des Anacardiaceae (Pistaciaceae). Du fruit comestible de cette espèce est extraite une huile qui autrefois était couramment utilisée pour l'alimentation, l'éclairage et elle entrait aussi dans la confection de savon **(Boukeloua, 2009)**. En Algérie, l'extraction d'huile de lentisque et sa trituration, demeurent au stade artisanal domestique, donnant une production limitée pour l'usage familial ou commercialisée en petites quantités. L'huile de fruit de lentisque est traditionnellement appréciée pour ses usages thérapeutiques et cosmétiques **(Bensalem, 2015)**. La médecine traditionnelle algérienne utilise surtout l'huile grasse obtenue par pression des fruits de lentisque dans le traitement des petites blessures, brûlures légères et érythèmes. L'huile est aussi employée par voie orale contre les problèmes respiratoires d'origine allergique et les ulcères de l'estomac.

Les extraits éthanoliques des feuilles et l'huile essentielle sont actifs contre des bactéries souvent résistantes telles les mycobactéries **(Sqalli et al.2007)**, ou *Helicobacterpylori* **(Dabos et al. 2010)**. L'huile essentielle agit sur les spores de *Clostridium botulinum* **(Daifas et al. 2004)**, sur *Listeria monocytogenes* CECT 935 **(Djenane et al. 2011)**.

Vu tous ces effets bénéfiques que procurent les produits dérivés de lentisque, pour la santé des êtres vivants, nous avons jugé utile de s'intéresser de près à l'étude de cette plante qui pousse spontanément dans nos régions.

Introduction

Dans ce contexte, on s'est proposé l'étude des extraits extraient de fruits et de feuilles de *Pistacia lentiscus* L.

Notre problématique a pour objectif de déterminer :la composition chimique de lentisque, d'en connaître éventuellement les principes actifs qui lui confèrent ses propriétés thérapeutiques et évaluer leurs activités antibactérienne et antifongique . Pour cela nous nous sommes fixés les objectifs suivants :

- Le rappel des connaissances scientifiques sur cette espèce.
- La détermination des différentes classes chimiques par le test de screening phytochimique.
- Une description botanique détaillée de les feuilles, basée sur des observations microscopiques.
- L'extraction, et l'analyse physique et phytochimique de l'extrait organique et l'huile végétale de lentisque.

- Extraction et dosage des polyphénols totaux ainsi que l'extraction de chaque fraction séparément (Flavonoïdes, et les tannins condensés).
- La détermination de la composition en acides gras dans l'huile végétale par CPG.
- L'évaluation de l'activité antibactérienne et antifongique.