

Faculté des Sciences Exactes et de l'Informatique
Département de Chimie
Filière : Chimie

MEMOIRE DE FIN D'ETUDES
Pour l'Obtention du Diplôme de Master en Chimie
Option : **Chimie Appliquée**

THEME :

Caractérisation biochimique des fruits de
Pistacia Lentiscus

Etudiante : **BAGHARNOUT Zoubida Sara**

Encadreur : **Mme N. MESSAOUDI**

Président : **Mr M. BOURAADA**

Examineur : **Mr A. BENGUENDOZ**

Remerciements

Au nom de **Dieu** le tout puissant, et le salut sur le prophète Mohamed messenger de Dieu, que la paix soit sur lui.

Ce travail a été réalisé au laboratoire pédagogies de la faculté des sciences exacte et de l'informatique Mostaganem.

Je remercie chaleureusement **Mme N. Messaoudi**, Docteur à l'université de Mostaganem, d'avoir accepté de m'encadrer, pour l'intérêt qu'elle a porté à ce travail, pour sa disponibilité, et ses remarques pertinentes.

Elle a toujours su me faire confiance et m'apporter l'aide nécessaire, tant sur le plan scientifique que moral.

Elle a été très attentive, à l'écoute de toutes mes sollicitations et questions, pendant tout le temps que j'ai consacré à ce travail.

Je tiens également à exprimer ma reconnaissance et mes sincères remerciements aux membres du jury d'accepter d'honorer de leur présence et de leur compétence, la soutenance de ce mémoire.

Je remercie chaleureusement toute l'équipe de laboratoire (MR H. Gheribi, Mme T. Rahmani, Mme DJ. Hamed, MR A. Bengandouz, MR Ayatsaada et toutes son équipes et MR A. Belouatek et son équipe) pour leurs disponibilités, pour leur gentillesse et patience, pour leurs orientations et leurs remarques objectives.

Dédicace

Je tiens à remercier le bon Dieu et tout puissant, qui avec son aide, on a pu accomplir notre mémoire.

Je dédie ce mémoire :

A celle, que le bon dieu dit : « Que le paradis est sous les pieds des mères » : ma mère.

Ala personne qui m'a conduit vers la bonne voie, avec ses conseils, son amour, son très grand et tendre cœur : mon père.

A mon très cher et unique frère «ALI» qui mérite tous le bonheur, la joie et la réussite du monde.

A mes cousines Ibtissem, Imane et leurs enfants Haroun, Lotfi, Eyad. A tous mes tantes, oncles, cousins et cousines.

A mes adorables amis et collègues: Mouad, Mohammed, Mohamed, Aicha, Nesrine, Nayla, Assia et Rahma.

A tous mes professeurs de chimie.

A toute ma promotion 2017-2018

Résumé :

La présente étude porte sur l'évaluation des activités antimicrobienne et antioxydante des huiles extraites à partir des fruits de *Pistacia lentiscus*. Utilisées par une grande popularité en Algérie pour ses propriétés thérapeutiques. L'extraction par Soxhlet (éthanol comme solvant) des fruits de *Pistacia lentiscus* de la station (RAMKA wilaya de RELIZANE) nous donne une teneur en huile ayant un rendement de 15,16%. Tandis que l'extraction par méthode traditionnelle, nous a révélé que la teneur en huile est plus ou moins supérieure à celle extraite par Soxhlet, nous obtenons 40,5%. L'étude phytochimique nous a permis de mettre en évidence 7 composés d'en les tannins, flavonoïdes, Tannins catéchiques, Anthracénosides, Anthocynosides, Hétérosides triterpéniques, Stéroïdes et stéroïdes. La teneur en phénols totaux dans l'extrait brut (1,94 µgEq/mg d'acide gallique) présente une valeur très importante. Par contre, le dosage des flavonoïdes et des tannins révèle des teneurs de l'ordre de 0,41 µgEq/mg et 1,27 µgEq/mg respectivement.

L'huile de notre plante présente une activité considérable du piégeage du radical DPPH dont le IC₅₀=4,468 mg/ml. L'évaluation de l'activité antimicrobienne de l'huile est réalisée par la méthode de diffusion en milieu gélosé. L'huile fixe de *Pistacia lentiscus* a une activité bactéricide importante sur toutes les souches bactériennes (*Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*, *Candida albicans*, *Aspergillus niger*). Avec des diamètres (44mm, 47mm, 40mm, 55mm, 56mm, 50mm, 48mm.) respectivement.

Mots clés : *Pistacia lentiscus* ; Méthode de Soxhlet; Activité antimicrobienne ; Activité antioxydante.

Liste des Abréviations :

°C : degré Celsius

mm: millimètre

DPPH: 2,2 diphenyl-picrylhydrazyl

FeCl₃: Chlorure de fer

HCl : acide chlorhydrique

HgCl₂ : chlorure de mercure

NaNO₂: nitrite de sodium

NaOH:soude (hydroxyde de sodium)

NH₄OH: ammoniac

mg: milligramme

H : heure

H₂O: eau distillée

I₂: iode

KI: iode de potassium

min: minute

ml: millilitre

% : pourcentage

µl : microlitre

µg : Microgramme

HV : huile végétale

PAM : plante aromatique médicinale

P. Lentiscus : *pistacia lentiscus*

Eq : équivalent gramme

C.M.I : concentration minimale inhibitrice

Liste des figures

Figure 1 : Formules d'un acide benzoïque et d'un acide cinnamique	7
Figure 2 : Structure générale des flavonoïdes	8
Figure 3 : Structure d'un tannin hydrolysable	9
Figure 4 : Structure d'un tannin condensé: polymère de proanthocyanidine	10
Figure 5 : Composition d'une huile végétale	13
Figure 6 : Arbusto de <i>Pistacia lentiscus</i>	15
Figure 7 : le mastic de <i>Pistacia lentiscus</i>	16
Figure 8 : les Feuilles de <i>Pistacia lentiscus</i>	16
Figure 9 : les fleurs de <i>Pistacia lentiscus</i>	17
Figure 10 : les fruits de <i>Pistacia lentiscus</i>	18
Figure 11 : Aire de répartition de <i>Pistacia lentiscus</i> autour du bassin méditerranéen	19
Figure 12 : l'huile de <i>Pistacia lentiscus</i>	21
Figure 13 : le fruit de <i>Pistacia lentiscus</i>	25
Figure 14 : Carte géographique de la région de RELIZANE	25
Figure 15 : montage soxhlet	27
Figure 16 : Appareil de rotavapeur	29
Figure 17 : les étapes de diffusion en puits	39
Figure 18 : les étapes de la microdilution	40
Figure 19 : présentation des rendements, des extraits de <i>Pistacia lentiscus</i> selon les deux méthodes	43
Figure 20 : courbe d'étalonnage des composés phénoliques	45
Figure 21 : courbe d'étalonnage des flavonoïdes	46
Figure 22 : courbe d'étalonnage des tannins	47
Figure 23 : Teneurs en polyphénols, flavonoïdes et tannins de l'huile fixe de <i>Pistacia lentis</i>	48

Figure 24 : courbe d'étalonnage de quercetine	49
Figure25 : courbe de l'activité antioxydante de l'extrait des fruits de <i>Pistacia lentiscus</i>	49
Figure26 : étude de l'activité antibactérienne de l'extrait brute en présence E. coli et S.auréus	50
Figure27 : étude de l'activité antibactérienne de l'extrait brute en présence de B.S et P.S .	51
Figure28 : étude de l'activité antibactérienne de l'extrait brute en présence de candida et ASP	51
Figure29 : étude de l'activité antibactérienne de l'extrait brute en présence de B.C	52
Figure 30 : Résulta de C.M.I par la méthode de micro dilution	53
Figure 31 :les souches etudier en fonction des C.M.I	54

Liste des tableaux :

Tableau 1 : la nature et l'origine de différentes souches pathogènes utilisées	38
Tableau 2 : composition de bouillon nutritif	38
Tableau 3 : composition de Heller Hinton	39
Tableau 4 : Résultats des tests phytochimiques.	44
Tableau 5 : Teneur de l'huile de <i>Pistacia lentiscus</i> en polyphénols, flavonoïdes et tannins	47
Tableau 6 : Résultat de l'activité antimicrobienne	52
Tableau 7 : Résultats de Concentration Minimale Inhibitrice (C.M.I) de l'extrait brute de <i>pistacia lentiscus</i>	54

Sommaire :

<i>Remerciement</i>	<i>I</i>
<i>Dédicace</i>	<i>II</i>
<i>Résumé</i>	<i>II</i>
<i>Liste d'abréviation</i>	<i>IV</i>
<i>Liste des figures</i>	<i>V</i>
<i>Liste des tableaux</i>	<i>VII</i>
<i>Sommaire</i>	<i>VIII</i>
Introduction	1

Partie 1 : étude bibliographie

1. Généralité sur les plantes médicinales	5
a. Définition d'une plante médicinale	5
b. Aperçu historique des PAM	5
c. Intérêt de l'étude des plantes médicinales :	5
2. Les activités biologiques des extraits	6
a. Activités anti-inflammatoire	6
b. Activité anti-oxydante	6
c. Activité antimicrobienne	6
d. Activité antifongique	6
e. Activité antivirale	6
f. Activité antibactérienne	6
3. Les molécules bioactives des plantes médicinales	7
a. Les composés phénoliques	7
4. Les utilisation des divers plante de Pistacia lentiscus	10
a. La phytothérapie	10
b. Les plantes en médecine	11
c. En pharmaceutiques	12
d. En cosmétologiques	12
e. En alimentaires	12
5. Les types d'huiles	13
a. Les huiles végétales	13

b.	L'huile essentielle	14
6.	<i>Pistachia lentiscus</i>	14
a.	Introduction	14
b.	Description morphologique.....	15
c.	Etude botanique de l'espèce <i>Pistacialentiscus</i>	15
d.	Habitat	18
e.	Composition chimique d'espèce végétale	19
f.	Propriétés et usages thérapeutiques de la plante.....	20
g.	Aspects Pharmacologiques et effets thérapeutiques de <i>Pistacialentiscus</i>	20
h.	Huile de fruits de <i>Pistacialentiscus</i>	21
7.	Evaluation de l'activité antioxydante.....	22
8.	La nature de l'activité antibactérienne	23
a.	Evaluation de l'activité antibactérienne	24

Partie 2 : Matériel et méthodes

1.	Matériel végétal	26
2.	Période et lieu de la récolte du matériel végétal	26
3.	Conservation du matériel végétal	28
4.	Méthodes d'extractions	28
a.	La méthode d'extraction par soxhlet	28
b.	Méthode traditionnelle	31
5.	Analyse de l'huile végétale de <i>Pistacia lentiscus</i>	31
a.	Calcul du rendement	31
b.	La densité	31
c.	Les tests phytochimiques	32
6.	Dosage des polyphénols.....	35
7.	Dosage des flavonoïdes	36
8.	Dosage des tannins	36
9.	Evaluation de l'activité antioxydante des extraits de <i>Pistacia lentiscus</i>	36
a.	Test du DPPH* par spectrophotométrie d'huile de <i>Pistacia lentiscus</i>	36
b.	Détermination du pourcentage d'inhibition	37
10.	Evaluation de l'activité anti microbienne des extraits et de l'huile végétale de <i>Pistacia lentiscus</i>	37
a.	Origine des souches microbiennes	37

b.	Choix des milieux de culture et condition de croissance	38
c.	Réactivation de souches pathogènes	39
d.	Méthode de diffusion en puits	39
e.	Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI)	40

Partie 3 :Résultats et discussion

1.	Extraction et détermination des rendements	43
2.	Densité relative	44
3.	Tests phytochimiques	44
4.	Dosage des polyphénols	45
5.	Dosage des flavonoïdes	46
6.	Dosage des tannins	47
7.	Piégeage du radical libre DPPH(2,2-diphényl-1-picryl-hydrazil)	48
8.	Activité antimicrobienne de l'huile <i>Pistacia lentiscus</i>	50
9.	Résultat du calcul de la concentration minimale inhibitrice (C.M.I)	54
Conclusion générale		55
Références bibliographie		57

PARTI 1 :
ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

1. Généralité sur les plantes médicinales :

a. Définition d'une plante médicinale :

Une plante médicinale est définie par la pharmacopée française comme une « drogue végétale au sens de la pharmacopée européenne dont au moins une partie possède des propriétés médicamenteuses ». Une « drogue végétale » est une plante ou une partie de plante, utilisée, soit le plus souvent sous la forme desséchée, soit à l'état frais [8].

L'expression drogue végétale ou, plus couramment, drogue, désigne donc une matière première naturelle servant à la fabrication des médicaments.

b. Aperçu historique des plantes aromatiques et médicinales :

Les plantes aromatiques et médicinales leur histoire est directement liée à l'évolution des civilisations. Dans toutes les civilisations précédentes, l'histoire montre que l'homme s'est toujours servi des plantes pour se nourrir, s'habiller, s'abriter, chasser et se soigner [9]. La connaissance des préparations médicinales et de leur potentiel toxique a été transmise au cours des générations par la tradition orale et parfois transcrite en littérature des remèdes en herbes.

c. Intérêt de l'étude des plantes médicinales :

La plupart des espèces végétales contiennent des substances qui peuvent agir, à un niveau ou un autre, sur l'organisme humain et animal. On les utilise aussi bien en médecine classique qu'en phytothérapie. Elles présentent en effet des avantages dans les médicaments sont souvent dépourvus [10]. La raison fondamentale est que les principes actifs végétaux proviennent de processus biotiques répandus dans tout le monde vivant, alors que l'essentiel des médicaments de synthèse sont des xénobiotiques aux effets secondaires très mal maîtrisés [11].

Les plantes médicinales sont donc importantes pour la recherche pharmaceutique et l'élaboration des médicaments, directement comme agents thérapeutiques, mais aussi comme matière première pour la synthèse des médicaments ou comme modèle pour les composés pharmaceutiquement actifs [12].

2. Les activités biologiques des extraits :

Le rôle physiologique des extraits pour le règne végétal est encore inconnu. Cependant la diversité moléculaire des métabolites qu'elles contiennent, leur confère des rôles et des propriétés biologiques très variés.

a. Activités anti-inflammatoire :

L'activité anti-inflammatoire a été décrite pour les plantes de *Protiumstrumosum*, *Protiumlewellyni*, *Protiumgrandifolium* [13], et plus récemment, pour les extraits des racines de *Carlinaacanthifolia* [14].

b. Activité anti-oxydante:

Certaines huiles essentielles présentent des activités anti-oxydantes et sont utilisées dans le traitement préventif de certains types de cancers. L'huile essentielle, isolée des graines de *Nigella saliva* L, démontre une activité cytotoxique *in vitro* contre différentes lignées cellulaires tumorales. *In vivo*, elle limite la prolifération de métastases hépatiques et retarde la mort des souris ayant développé la tumeur [15]. L'huile essentielle de *pistacialentiscus* de *Melissa officinalis* est, révélée efficace contre des cellules de lignées cancéreuses humaines, incluant les cellules leucémiques [16].

c. Activité antimicrobienne :

De nombreux auteurs ont rapporté que les extraits d'herbes ont des composés chimiques capables d'avoir une activité antimicrobienne [17]. Les constituants des extraits sont actifs contre une large gamme de bactéries levures et champignons.

d. Activité antifongique :

Le pouvoir antifongique des plantes aromatiques a été mis en évidence par de nombreux auteurs contre les moisissures allergisantes [18] et contre les dermatophytes et les champignons pathogènes et opportunistes tels que *Candida albicans* (levure) [19].

e. Activité antivirale :

Les virus sont généralement fortement sensibles aux molécules aromatiques des extraits telles que les monoterpénols. De nombreuses pathologies virales sévères traitées avec des extraits ont montrées des améliorations importantes [20].

f. Activité antibactérienne :

Les plantes n'ont pas un système immunitaire proprement dit qui peut identifier une infection spécifique, leurs propriétés antimicrobiennes sont généralement efficaces contre une large gamme de micro-organisme. Ces propriétés sont utiles pour les infections

chez les humains [21]. La recherche des molécules naturelles aux propriétés antimicrobiennes est d'une grande importance aussi bien dans le domaine médical que dans le domaine de l'industrie alimentaire [17].

3. Les molécules bioactives des plantes médicinales :

Les différentes propriétés, notamment antioxydantes des plantes médicinales sont essentiellement dues à leurs composés bioactifs. L'intérêt porté sur ces composés ne cesse de croître ces dernières années. Ils sont étudiés dans le but de trouver de nouvelles structures modèles pour le développement de médicaments thérapeutiques ou protecteurs [22].

a. Les composés phénoliques :

Les composés phénoliques sont des métabolites secondaires des végétaux tous ces composés possèdent des groupements hydroxyles sur les noyaux aromatiques. Parmi ces métabolites on cite : les acides phénoliques, les flavonoïdes et les tannins qui sont les classes majeures des polyphénols et sont groupés selon la présence des différents substituants sur les noyaux et selon leur degré de saturation. Ils sont fréquemment attachés aux molécules de sucre pour augmenter leur solubilité dans l'eau [23].

➤ Les acides phénols :

Le terme acide phénolique peut s'appliquer à tous les composés organiques possédant au moins une fonction carboxylique et un hydroxyle phénolique. En phytochimie, cette dénomination est réservée aux acides benzoïques caractérisés par un squelette en C₆-C₁ (acide gallique, p-hydroxybenzoïque, protocatechique, syringique) et les acides cinnamiques de structure C₆-C₃ (acide p-coumarique, caféique, ferulique et plus rarement l'acide sinapique) (figure 1) [24].

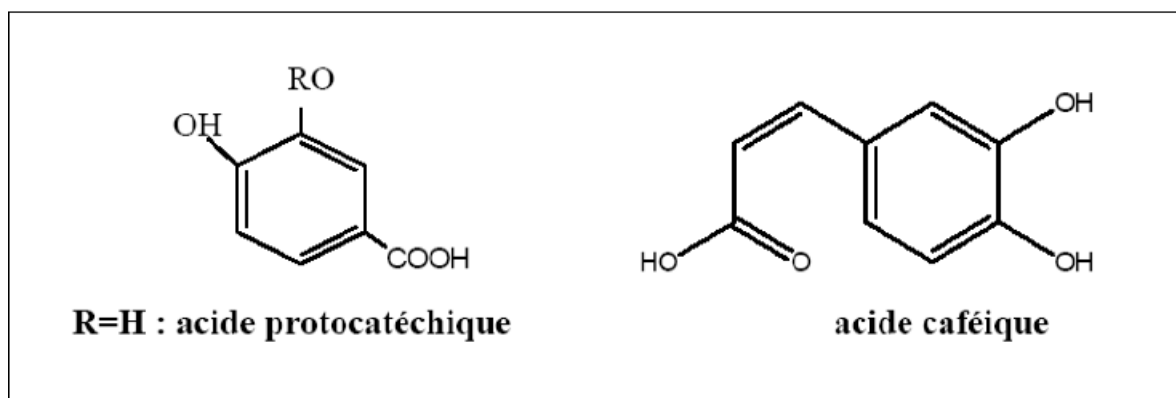


Figure 1 : Formules l'acideprotocatéchique et de l'acide caféique[25]

➤ Les flavonoïdes :

Le terme flavonoïde désigne une très large gamme de composés naturels appartenant à la famille des polyphénols. Ils sont considérés comme des pigments quasi universels des végétaux et un groupe vaste connu du produit naturel [26]. A l'heure actuelle, 4000 flavonoïdes dans le règne végétal ont été identifiés [26].

Les flavonoïdes sont diversifiés par l'oxydation, alkylation et la glycolisation [27]. Ils se répartissent en plusieurs classes de molécules, dont les plus importantes sont les flavones, les flavonols, les flavanones, les dihydroflavonols, les isoflavones, les isoflavanones...ect.

Ces diverses substances se rencontrent à la fois sous forme libre ou sous forme de glycosides et polymères [26].

Les flavonoïdes des plantes vasculaires sont localisés dans divers organes : racines, tiges, bois, feuilles, fleurs et fruits [26].

Ils sont reconnus pour leurs nombreuses activités biologiques, citons par exemples : les activités antivirales, anti-inflammatoires et anticancéreuses (figure 2) [28].

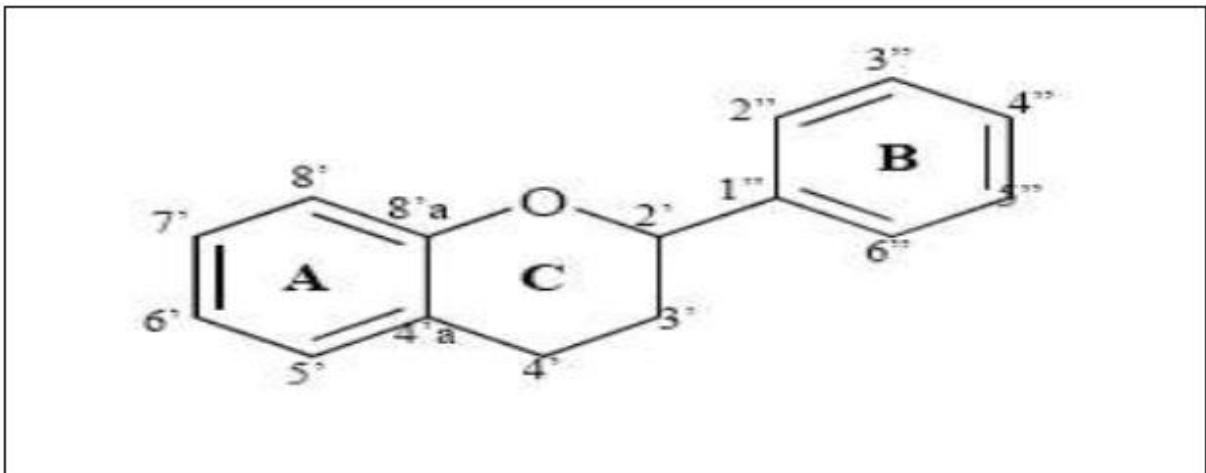


Figure 2: Structure générale des flavonoïdes [28].

➤ Les tannins :

Ces composés résultent généralement de la condensation des formes simples de flavonoïdes. Selon la nature des constituants impliqués et le type de condensation, il est classique de distinguer deux grands groupes de tannins différents à la fois par leur réactivité chimique et par leur composition : les tannins hydrolysables et les tannins condensés [29].

❖ Les tannins hydrolysables :

Ce sont des oligo ou des polyesters d'un sucre et d'un nombre variable de molécules d'acides phénols, le sucre est généralement le glucose.

Les tannins hydrolysables sont scindés en deux groupes : les tannins galliques ou gallotannins qui donnent par hydrolyse des sucres et uniquement de l'acide gallique, et les tannins ellagiques dont l'hydrolyse donne en plus des sucres et de l'acide gallique, de l'acide ellagique (figure 3) [30].

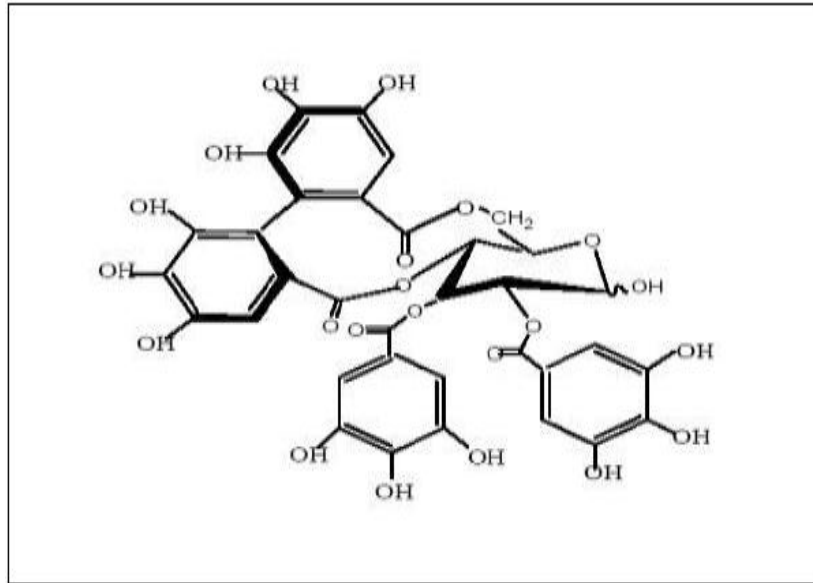


Figure 3: Structure d'un tannin hydrolysable [31].

❖ Les tannins condensés :

Ils sont constitués par la polymérisation de molécules élémentaires qui possèdent des structures générales des flavonoïdes dont les plus importantes sont les flavan-3-ols (catéchines), et les flavan-3-4-diols (leucoanthocyanidines). La polymérisation des catéchines et leucoanthocyanidines est également possible (figure 4) [32].

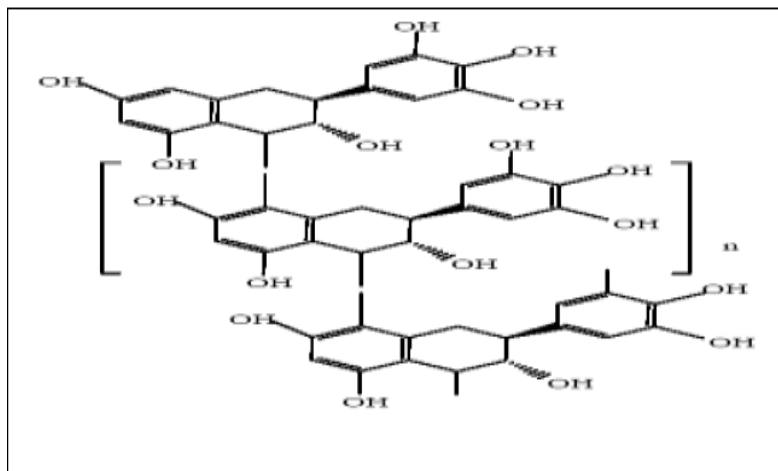


Figure 4 : Structure d'un tannin condensé: polymère de proanthocyanidine[33]

4. Les utilisations de diverses plantes de *Pistacia lentiscus* :

a. En phytothérapie :

La phytothérapie est l'utilisation des plantes (de l'ensemble des éléments de la plante) à des fins thérapeutiques. Ce terme vient du grec : « phytos » la plante et « therapiea » la thérapie. Il s'agit d'une des sciences médicales les plus anciennes, elle est parfois connue aujourd'hui sous le nom de « remède de bonne femme », étymologiquement : Bonafama = grande renommée. Une citation de Galien dit : « la meilleure médecine, c'est la nature car elle guérit les trois quart de toutes les maladies ».

Aujourd'hui, 60 % des spécialités médicamenteuses employées en médecine courante sont issues, directement ou par héli-synthèse, du règne végétal [34].

Toutefois, malgré les énormes progrès réalisés par la médecine moderne, la phytothérapie offre de multiples avantages. N'oublions pas que de tout temps, à l'exception de ces cent dernières années, les hommes n'ont eu que les plantes pour se soigner, qu'il s'agisse de maladies bénignes, rhume ou toux, ou plus sérieuses, telles que la tuberculose ou la malaria. Aujourd'hui, les traitements à base de plantes reviennent au premier plan, car l'efficacité des médicaments tels que les antibiotiques (considérés comme la solution quasi universelle aux infections graves) décroît. La phytothérapie, qui propose des remèdes naturels et bien acceptés par l'organisme, est souvent associée aux traitements classiques. Elle connaît de nos jours un renouveau exceptionnel en Occident, spécialement dans le traitement des maladies chroniques, comme l'asthme ou l'arthrite. De plus, les

effets secondaires induits par les médicaments inquiètent les utilisateurs, qui se tournent vers des soins moins agressifs pour l'organisme [10].

L'exploitation des ressources naturelles, et notamment du monde végétal, est encore capitale à l'heure actuelle. Elle est réalisée par :

- Etude chimiotaxonomique qui consiste à rechercher des catégories de molécules dans les plantes en fonction de leur appartenance botanique. Ainsi les Apocynaceae, les Rutaceae, les Rubiaceae renferment souvent des alcaloïdes et c'est parmi ces familles que l'on recherche d'abord les alcaloïdes.
- Etude ethnopharmacologique qui consiste à recueillir des renseignements sur l'utilisation des plantes auprès des populations vivant encore près de la nature en Amérique du Sud, dans les îles du Pacifique, en Afrique ou dans le Sud- Est Asiatique.
- Etude pharmacologique qui est caractérisée par l'observation du comportement des plantes dans leur environnement naturel. Les interactions plantes-plantes (allélopathie), plantes microorganismes, plantes-insectes, plantes-animaux sont associées à des signaux chimiques [35].

b. En médecine :

Les plantes ont de tout temps été employées pendant des siècles comme remèdes pour les maladies thérapeutiques. Le pouvoir de guérison des plantes provient des effets de leurs métabolites secondaires. Ces métabolites interviennent dans la défense contre les parasites pathogènes. On distingue plusieurs groupes de métabolites notamment les phénols (simples phénols, acides phénoliques, quinones, flavonoïdes, flavones, flavonols, tannins et les coumarines), les alcaloïdes, les terpénoïdes et polypeptides. [36]. Depuis la préhistoire, plus d'une centaine ou milliers de plantes ont été utilisées dans le monde entier sous forme de cataplasme ou d'infusion. En Côte d'Ivoire, de nombreux travaux ont été réalisés sur les plantes médicinales on peut citer ceux de *Zinzendorf (1989)*, *Kamanzi Atindehou (2002)*, *Vangah-Manda et al. (1994)*, *Bouboutou et al., (1995)*, *Weiss (1997)*, *Diehl (1998)*, *Djaman et al. (1998)*, *Koné (1998)*, *Mobié et al. (1998)*, *Traoré et al. (1999)* .

Ces données sur les plantes médicinales ont permis d'une part d'expliquer leur action thérapeutique et d'autre part de confirmer leurs utilisations en médecine traditionnelle.

La majorité de la population mondiale (75%) représentant la tranche vivant sous le seuil de la pauvreté, utilise les plantes pour subvenir aux besoins de santé primaire, malgré

l'existence des médicaments synthétiques [37]. Comme dans beaucoup d'autres pays d'Afrique subtropicale, plus de 75 % des ivoiriens se soignent par les plantes [38].

Cette ruée vers la médecine par les plantes peut s'expliquer par le fait que les plantes sont accessibles et abondantes, rendant ainsi la médecine par le traitement des plantes, abordable surtout dans les pays en voie de développement [39]. De plus, les effets secondaires causés par les plantes sont minimes voire absents, au contraire des médicaments semi synthétiques ou synthétiques [36].

c. En pharmaceutiques :

Les sauges ont été employées comme des plantes à propriétés médicinales salutaires pendant des milléniums. La sauge était un composant fréquent des mélanges de tisanes, recommandés pour les patients tuberculeux. L'huile essentielle de la sauge est encore utilisée en condiments d'assaisonnement, viandes traitées et liqueurs. Outre ces utilisations, les feuilles de la sauge (*S. officinalis*), montrent une gamme des activités biologiques; antibactérienne, antifongique, antivirale et astringente [40]. La sauge est avérée active dans les préparations combinées pour le traitement de la bronchite aiguë et chronique. Les études in vivo, montrent que les extraits de sauge ont un effet hypotensif et déprimant sur le système nerveux central [41], et vu leurs activités antimicrobiennes et astringentes, ces extraits entrent souvent dans la constitution des dentifrices [42].

Malgré tous ces bienfaits des espèces de sauges et de ses préparations commerciales, leurs utilisations doivent être contrôlées. L'inhalation ou l'ingestion des huiles essentielles de la sauge officinale sont avérées provoquant des convulsions qui proviennent de l'effet sur le système nerveux central [43].

d. En cosmétologiques :

Les espèces *pistacia lentiscus* ont un grand intérêt en cosmétologie, dont les extraits de *p. officinalis* et *p. lavandulaefolia* sont largement introduits dans les produits de beauté et les parfums [44]. La sauge est peut être utilisée comme compresse ou infusion ou même dans les préparations des masques de visage et leurs crèmes sont souvent appliquées sur des blessures froides près de bouches [45].

e. En alimentaires :

Au Mexique et à l'Amérique latine, les graines de quelques espèces de sauge sont intensivement employées par les Américains indigènes comme source de nourriture et aussi pour préparer des boissons [46]. La découverte des antioxydants a augmenté l'usage

des extraits de sauge officinale connue par son activité antioxydante élevée [47] due essentiellement à l'acide Rosmarinique et l'acide Carnosique[48], afin de protéger les denrées alimentaires contre la détérioration oxydative [49].

5. Les types d'huiles :

a. L'huile végétale :

Il s'agit des huiles végétales contenant des corps gras, obtenues par pression (huile de lentisque) ou sous l'effet de cuisson (huile de laurier). La production des corps gras alimentaires et plus particulièrement d'huile d'origine végétale a été l'une des préoccupations de l'homme depuis la haute antiquité [50].

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. 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 (figure 5) [51].

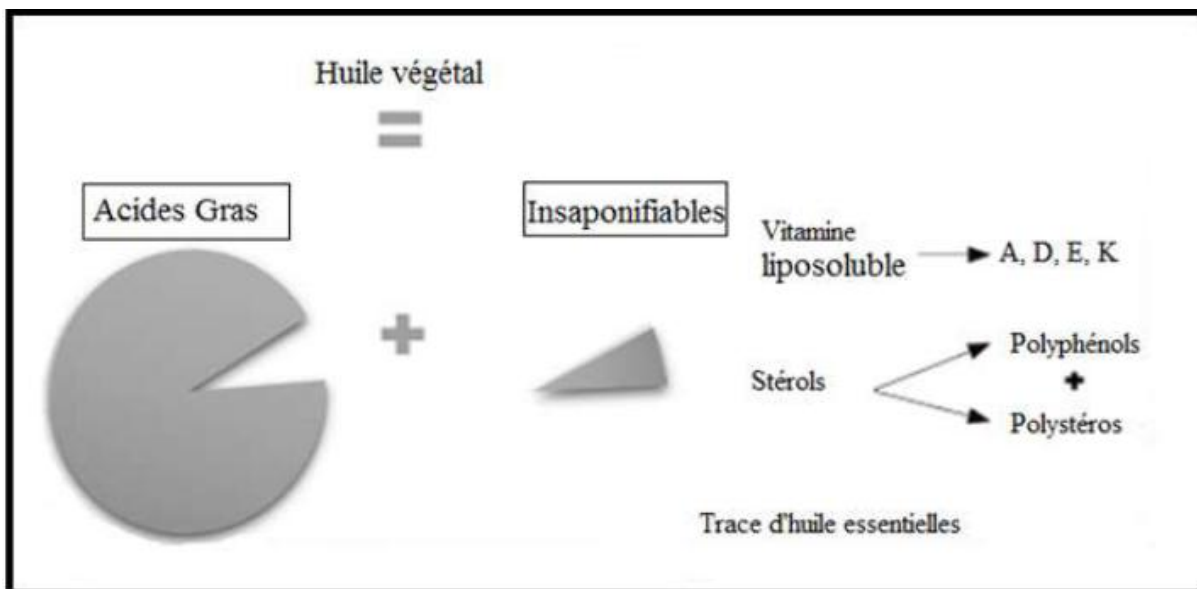


Figure 5: Composition d'une huile végétale [51].

➤ Propriétés antioxydantes :

La reconnaissance des composés phénoliques comme antioxydants naturels est maintenant bien acquise et elle est pour une part à l'origine du regain d'intérêt que l'on porte à ces molécules dans le domaine de la nutrition et de la pharmacologie [52]. Grâce à

leur diversité structurale, les composés phénoliques sont impliqués dans cette activité via plusieurs mécanismes en agissant à différents niveaux des réactions radicalaires par la chélation des métaux, l'effet scavenger, l'inhibition des enzymes génératrices des radicaux libres et l'induction de la synthèse des enzymes antioxydantes[53].

La présence dans les huiles végétales, de triglycérides d'acides gras polyinsaturés dits « essentiels », de phytostérols, de tocophérols et d'autres constituants sont responsables aux propriétés cardioprotective, anti-oxydante, anti-inflammatoire et d'autres activités que revendiquent ces corps gras [11].

b. L'huile essentielle :

Lorsque vous pressez une écorce d'orange au-dessus d'une bougie, des centaines de petites étoiles s'allument sur la flamme, c'est de l'huile essentielle. C'est ce produit précieux qui parfume toute l'orange.

L'huile essentielle est le parfum des plantes aromatiques. Elle s'appelle aussi l'essence ou l'huile volatile qui est un produit de composition généralement assez complexe renfermant les principes volatiles contenus dans les végétaux et plus ou moins modifiés au cours de la préparation [11].

➤ Composition chimique:

Les constituants des huiles essentielles appartiennent à deux grands groupes, les stéroïdes d'une part et les composés aromatiques dérivés du phénylpropane, beaucoup moins fréquents d'autre part. Elles peuvent également renfermer divers produits issus de processus dégradatifs mettant en jeu des constituants non volatils [11].

6. *Pistacia lentiscus* :

a. Introduction:

Pistacia lentiscus est un genre qui appartient à la famille des *Anacardiaceae* ou *Pistaciaceae* (figure 6) [54]. Il comprend les espèces qui sont des plantes dioïques dont la majorité est connue pour leur capacité à produire les oléorésines [55].



Figure6: Arbuste de *Pistacialentiscus*[56].

b. Description morphologique:

Le genre *Pistacia* est de la famille des *Anacardiaceae*, comprend de nombreuses espèces très répandues dans la région Méditerranéenne et Moyen-Orientale [57]. Le pistachier de l'Atlas (*Pistacia atlantica.*), communément appelé *ElBetoum*, *Botma* en langue arabe ; est une espèce ligneuse et spontanée pouvant atteindre 10 mètre (m) de haut. L'arbre possède un tronc individualisé et à frondaison hémisphérique [58]. Ses feuilles composées sont constituées de sept à neuf folioles, les fleurs sont en grappes lâches, les fruits, gros comme un pois, sont des drupes [59].

c. Etude botanique de l'espèce *Pistacialentiscus* :

➤ Description de la plante :

Pistacia Lentiscus, Darou en arabe local, appartenant à la famille de Térébinthacées [60], est un arbrisseau vivace de trois mètres de hauteur, ramifié, à odeur de résine fortement âcre. *Pistacia Lentiscus* est particulièrement représentatif des milieux les plus chauds du climat méditerranéen que l'on retrouve en association avec l'Oléastre (olivier sauvage), la salsepareille et la myrte dans un groupement végétal nommé "l'Oléolentisque" (l'OléoLentiscetum des phytosociologues), mais également dans les boisements clairs à Pin d'Alep ou d'autres formations de garrigues basses (Chêne vert). *Pistacialentiscus* 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[60]. (figure 7)

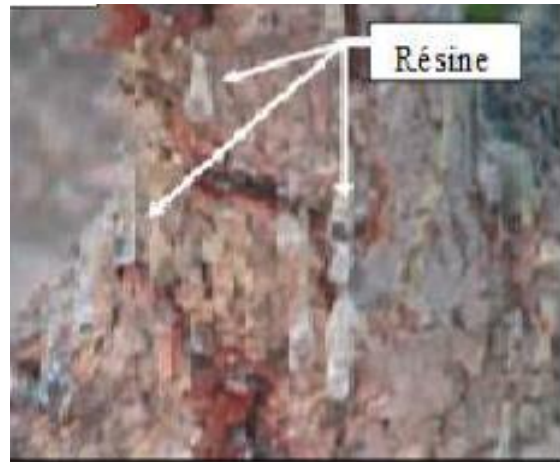


Figure 7 : Le mastic de *PistaciaLentiscus*[56].

❖ Feuilles:

Sont persistantes, composées (Figure 8), et possèdent un nombre pair de folioles (4 à 10) d'un vert sombre, elliptiques, obtuses, luisantes en dessus, glabres, coriaces et dont le pétiole est bordé d'une aile verte. On trouve des pieds mâles et femelles distincts (espèce dioïque) qui fleurissent en grappes denses en mois de Mai [60].



Figure 8 : Les Feuilles de *PistaciaLentiscus*[56].

❖ Fleurs :

Les fleurs unisexuées d'environ trois millimètre (mm) (Figure 9) de large se présentent sous forme de grappe, Elles apparaissent au printemps et sont très aromatiques, forment des racèmes de petite taille à l'aisselle des feuilles.

On différencie les fleurs femelles des fleurs mâles grâce à leur couleur, vert jaunâtre pour les femelles et rouge foncé pour les mâles[60].

Les fleurs mâles et femelles poussent sur des arbustes différents, les mâles ont 5 petits sépales dont émergent 5 étamines rougeâtres reposant sur un disque nectarifère. Les femelles, à 3 ou 4 sépales à un ovaire supère avec un style court à 3 stigmates. Floraison de Mars à Mai.



Figure 9 : Les fleurs de *PistaciaLentiscus*[56].

❖ Fruit :

Est une baie globuleuse [de 2 à 5 mm], (Figure10), monosperme, remplie par nucléole de la même forme; d'abord rouge, il devient brunâtre à sa maturité, qui est complète l'automne [56].



Figure 10 : Les fruits de *Pistacia Lentiscus* [56].

➤ **Description botanique:**

Le nom du pistachier de l'Atlas (*Pistacia atlantica* Desf) diffère d'une région à une autre; elbetoum; botma; betouma ou btouma, bettam en Arabe local et Iggh en berbère, est un bel arbre à odeur simplement résineuse [58].

Nom Latin : *Pistacia atlantica* Desf

Nom Français : Pistachier de l'Atlas.

Nom Arabe: btouma

Les feuilles sont caduques, composées, imparipennées; 3 à 5 folioles ovales acuminées et sont relativement grandes, elles rougissent à l'automne et tombent. Les fruits sont appelés Elkhodiri par les populations locales, appellation due à la prédominance de la couleur vert foncé à maturité. Ce sont des drupes comestibles de la grosseur d'un pois, légèrement ovales et aplaties, riches en huile dense très énergétique, cette huile a un goût très proche de celui du beurre. Ils sont récoltés en septembre-octobre. L'écorce produit une résine-mastic qui s'exsude naturellement de façon abondante par temps chaud [61].

La floraison a lieu en été en panicule de petites fleurs apétales (1 à 3) et 1 à 5 sépales. Elle peut atteindre 15 à 20 m de hauteur dont la croissance est lente et ne produit qu'à partir de 5 à 7 ans [62].

Il est associé au Jujubier (*Ziziphus lotus*; Cedra en arabe local), famille des Rhamnacées, qui forme une brousse dégradée sous le pistachier de l'Atlas [61].

d. Habitat:

Le bétoum, son aire d'origine en Iran, mais il est réparti dans toute la région méditerranéenne. Il existe à l'état disséminé dans toute l'Algérie: régions semi-arides

etarides, dans la région de Djelfa (Senalba, Ain Oussera, Messaad), Laghouat (partie sud) et Ghardaia (dans l'Oued M'zab) [61]. Aussi, il préfère les rocailles, pâturages arides, sauf dans les zones très arrosées [58]. (figure 11)

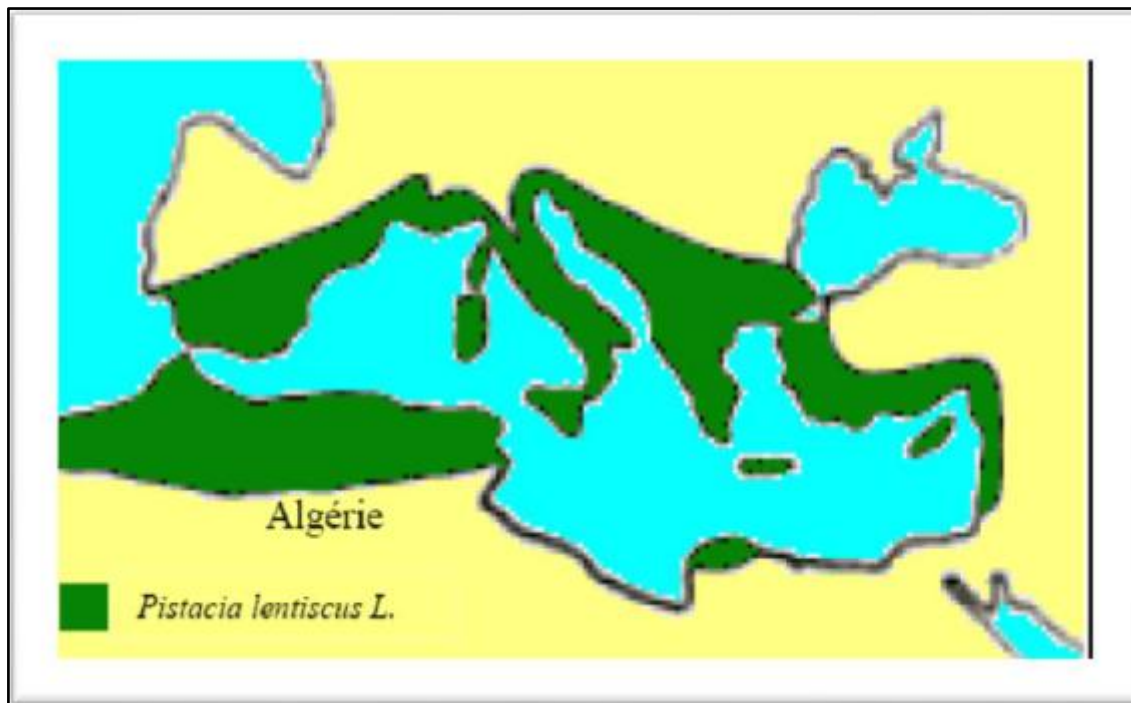


Figure 11 : Aire de répartition de *Pistacia lentiscus* autour du bassin méditerranéen [63].

e. Composition chimique d'espèce végétale:

La plante *P. Lentiscus* est très riche en quercétine-3- glucoside, quercétine-3- galactoside et la vicénine-2 et le kaempférol-3-glucoside et la quercétine-3- rutinoside ont été trouvés sous forme de traces [64].

Romaniet al (2002) [54] ont identifié chez *P. lentiscus* trois classes de métabolites secondaires qui sont l'acide gallique et les dérivés galloyl du sucre et d'acide quinique; les glycosides de flavonols par exemple les glycosides de myricétine et de quercétine; les anthocyanes nommés deiphinidine 3-0-glucoside et cyanidine 3-0-glucoside et des quantités minimales de catéchine.

Les flavonoïdes et les tannins chez *P. lentiscus* trouvés par [65] ont montré leur capacité antioxydante à inhiber l'oxydase xanthine. L'acide gallique et ses dérivés polygalloyl sont responsables à piéger les radicaux libres [66].

L'huile essentielle de cette espèce est caractérisée par une haute fraction oxygénée en plein floraison [67]. Notant que, les principaux constituants sont le upinène, 7-terpinène et terpinène-4-ol [68].

f. Propriétés et usages thérapeutiques de la plante:

Pistacia occupent une place appréciable dans la médecine traditionnelle et pharmaceutique. Les qualités thérapeutiques de cette espèce sont connues depuis l'antiquité où les anciens égyptiens ont utilisé le mastic du *Pistacia lentiscus* pour l'embaumement [69].

P. lentiscus est considéré comme une espèce principale de la production d'oléorésine [54]. Cette résine est utilisée comme antiseptique du système respiratoire [70]. Elle possède une activité *anti-Helicobacter pylori* et peut être bénéfique dans le traitement d'ulcère de l'estomac et une activité antivirale contre certains virus dans l'embryon du poulet [54].

L'oléorésine, cette substance purement économique est très utilisée depuis longtemps pour préparer le chewing-gum en Iran [54]. Elle entre dans la fabrication des dentifrices, des produits destinés au plombage des dents [70], en parfumerie pour fabriquer les déodorants, en cosmétique et comme un agent de saveur dans les préparations alimentaires [54].

L'écorce du *P. lentiscus* est employée dans le domaine aromatique et médicinal. Cette espèce possède une activité antioxydante et antimicrobienne.

La partie aérienne de *P. lentiscus* est utilisée dans le traitement d'eczéma, diarrhées, paralysie, jaunisse, l'asthme, antipyrétique, diurétiques et anti-inflammatoire [70]. Tandis que l'écorce est largement utilisée contre l'hypertension dans certaines régions d'Espagne [71]. La présence des stérols dans l'huile de *Pistacia lentiscus* confère une valeur nutritive élevée puisqu'ils représentent les précurseurs de provitamine D et ils jouent un rôle important dans l'activité antioxydante en abaissant le cholestérol de sang [72].

g. Aspects Pharmacologiques et effets thérapeutiques de

***Pistacia lentiscus* :**

Pistacia lentiscus est connue pour ses propriétés médicinales depuis l'antiquité [73].

La décoction des racines séchées est efficace contre l'inflammation intestinale et d'estomac ainsi que dans le traitement de l'ulcère [74].

La partie aérienne de *Pistacia lentiscus*, est largement utilisée en médecine traditionnelle dans le traitement de l'hypertension artérielle grâce à ses propriétés diurétiques.

Elles sont également utilisées dans le traitement d'autres maladies telles que l'eczéma, infections buccales, diarrhées, lithiases rénales, jaunisse, maux de tête, ulcères, maux d'estomac, asthme et problèmes respiratoires [75].

La résine obtenue de *Pistacia lentiscus* est connue par son effet analgésique, antibactérien, antifongique, antioxydant, antithérogénique, expectorant, stimulant, diurétique et spasmolytique [76].

h. Huile de fruit de *Pistacia lentiscus* :

Huile de *lentisque* sur la figure 12 (dont les baies peuvent fournir 20 à 25% de leur poids) est de couleur jaune foncée; elle n'est entièrement liquide qu'à la température de 32 et 34 C°; au-dessous elle laisse déposer une matière blanche, susceptible de cristallisation, qui bientôt envahit la totalité de l'huile et la solidifie complètement [77].

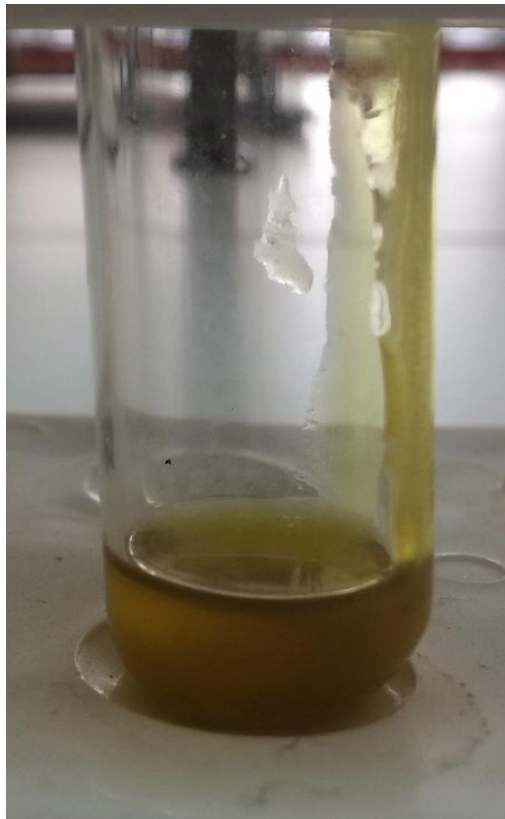


Figure 12 : L'huile de *Pistacia lentiscus*

7. Evaluation de l'activité antioxydante :

Les méthodes d'évaluation du caractère antioxydant sont nombreuses et peuvent être qualitatives ou quantitatives. Les méthodes qualitatives, utilisées pour repérer l'activité antioxydante de Composés, sont relativement peu nombreuses et font intervenir en général, la coloration ou la décoloration d'un réactif spécifique en présence d'agents antioxydants. Une des méthodes les plus utilisées pour la détection d'antioxydants est la chromatographie sur couche mince (CCM), qui donne naissance à des réactions colorées en présence de tels composés [78].

D'autres méthodes, moins pratiques, nécessitent la pulvérisation successive de deux solutions différentes. Une méthode à phase inversée de la chromatographie (CCM), combinée avec la détection visuelle pour l'évaluation de l'activité de balayage de radical libre des fractions antioxydantes en employant le 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle (DPPH) [79].

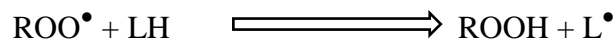
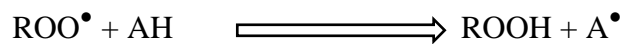
En ce qui concerne l'évaluation quantitative de l'activité antioxydante, beaucoup de méthodes peuvent être appliquées pour estimer directement l'activité antioxydante. La génération de radical libre est directement reliée avec l'oxydation dans les nourritures et les systèmes biologiques. Les méthodes principales comportent le balayage des radicaux de sur peroxyde (O_2) ; le balayage de peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) ; le balayage d'acide hypochloreux (HOCl) ; le balayage du radical d'hydroxyle (OH) ou le balayage du radical de peroxyde (ROO) [79].

La plupart des méthodes sont basées sur l'utilisation de systèmes générant des radicaux très variés. Ce sont principalement des méthodes dites "d'inhibition" dans lesquelles une espèce chimique capable de générer des radicaux libres est utilisée avec une substance capable de détecter ces espèces. L'échantillon dont on souhaite mesurer le pouvoir antioxydant est capable d'inhiber la génération des radicaux. Compte tenu de la complexité des processus d'oxydation, [80].

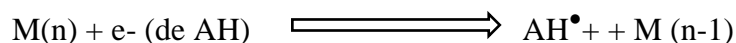
Les antioxydants peuvent réagir à différentes étapes du procédé d'oxydation et ils peuvent avoir plus d'un mécanisme d'action, ce qui ne facilite pas leur classification [81].

Selon Huang et al, (2005), les méthodes d'évaluation de l'activité antioxydante in vitro peuvent être divisées en deux grandes catégories suivant les réactions mises en jeu :

Les tests basés sur le transfert d'un atome d'hydrogène (HAT, HydrogenAtom Transfer), dans lequel l'antioxydant et le substrat sont en compétition pour les radicaux peroxydes ROO^\bullet :



Les tests basés sur le transfert d'un électron (SET, Single Electron Transfer), dans le cadre desquels on mesure la capacité d'un antioxydant à réduire un oxydant, qui change de couleur quand il est réduit :



Il existe de nombreuses méthodes de mesure de l'activité antioxydante (Diouf et al, 2006).

Les méthodes d'évaluation du caractère antioxydant sont nombreuses et peuvent être qualitatives ou quantitatives. La méthode qualitative, utilisée pour repérer l'activité antioxydante de Composés, sont relativement peu nombreuses et font intervenir en général, la coloration ou la décoloration d'un réactif spécifique en présence d'agents antioxydants. Une des méthodes les plus utilisées pour la détection d'antioxydants est la chromatographie sur couche mince (CCM), qui donne naissance à des réactions colorées en présence de tels composés [79].

D'autres méthodes, moins pratiques, nécessitent la pulvérisation successive de deux solutions différentes. Une méthode à phase inversée de la chromatographie (CCM), combinée avec la détection visuelle pour l'évaluation de l'activité de balayage de radical libre des fractions antioxydantes en employant le 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle (DPPH $^\bullet$) [80].

8. La nature de l'activité antibactérienne :

Lorsque l'on parle d'activité antibactérienne, on distingue deux sortes d'effets[83]

- Une activité létale (bactéricide) : c'est la propriété de tuer les bactéries dans des conditions définies.
- Une inhibition de la croissance (bactériostatique) : inhibition momentanée de la multiplication d'une population.

L'activité biologique d'un extrait végétale est liée à sa composition chimique, aux groupes fonctionnels des composés majoritaires (alcools, phénols, composés terpéniques etcétoniques) et à leur effets synergiques [84].

a. Evaluation de l'activité antibactérienne :

Deux méthodes différentes sont employées pour l'évaluation de l'effet antimicrobien des extraits : la méthode de diffusion sur milieu gélosé (méthode de disques) qui permet la mise en évidence de l'activité antimicrobienne et la méthode de microdilution en milieu solide qui permet la détermination de la concentration minimale inhibitrice (C.M.I).

PARTIE 2 :
MATÉRIELS ET MÉTHODES

1. Matériel végétal :

Le choix de la plante, *Pistacialentiscus* (Figure 13), nous avons utilisé les fruits comme sujet d'étude, dans le présent travail a été guidé non seulement par les nombreuses utilisations traditionnelles qui en sont répertoriées, mais aussi par le fait qu'il s'agit d'une plante très abondante localement et relativement peu étudiée en Algérie.



Figure 13 : Le fruit de *Pistacialentiscus*

2. Période et lieu de la récolte du matériel végétal :

Pour la récolte du matériel végétal ; Cette étude est réalisée sur les fruits mûrs violets de *Pistacialentiscus* qui ont été récoltés de la région du RAMKA de la wilaya de RELIZANE (figure 14), durant le mois de fin de Décembre 2017 début de Janvier 2018.



Figure 14 : Carte géographique de la région de RELIZANE [63]

➤ **Récolte des fruits de *Lentisque* :**

Le choix des fruits a été porté sur des arbustes dont le stade de pigmentation des fruits a été semi-noire ou noire en évitant le stade vert ou rouge. Ce dernier stade, maturité dite précoce, pourrait influencer le rendement de production de l'huile ainsi que sa conservation.

➤ **Effeillage :**

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

➤ **Lavage :**

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

➤ **Séchage :**

Les fruits lavés ont été égouttés et ensuite séchés dans un endroit aéré à l'abri de lumière.

➤ **Broyage et malaxage :**

Les fruits de *lentisque* ont été ensuite écrasés, y comprises les enveloppes et les graines, et malaxés pour les transformer en une pâte. Un peu d'eau froide a été ajouté en triturant soigneusement le mélange.

➤ **Décantation :**

Le mélange obtenu a été versé dans une jarre contenant de l'eau froide. Dans cette étape l'huile remonte naturellement à la surface puisque sa densité est inférieure à celle de l'eau. Généralement, 30 à 36 heures sont nécessaires pour cette opération.

➤ **Stockage :**

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

3. Conservation du matériel végétal :

Une fois la récolte est achevée et après un tri rapide, notre plante est lavée soigneusement à l'eau froide puis séchée par la suite à l'ombre à une température ambiante dans une pièce aérée. Cette étape séjourne environ de 15 à 20 jours, elle poursuit par l'étape de conservation dans des bouteilles en verre et transporté au laboratoire de pédagogie de chimie, puis ont été mis dans l'étuve à 40 °C pendant 48 h, puis réduits en poudre à l'aide d'un mortier.

4. Méthodes d'extractions :

a. La méthode d'extraction par soxhlet :

Extraction des extraits aromatiques par solvant organique sur appareillage Soxhlet :

L'extraction par solvant organique à chaud est actuellement largement utilisée. Le principe de cette méthode consiste à faire tremper les plantes dans un solvant organique volatil à chaud, soit pour obtenir des produits que l'on ne peut extraire par un autre procédé, soit en vue de rendements plus élevés [85]. Dans l'appareillage Soxhlet un système de régénération interne du solvant permet de mettre en contact en permanence le végétal avec du solvant pur. Le choix du solvant est influencé par des paramètres techniques et économiques : sélectivité, stabilité, inertie chimique et température d'ébullition pas trop élevée pour permettre son élimination totale.

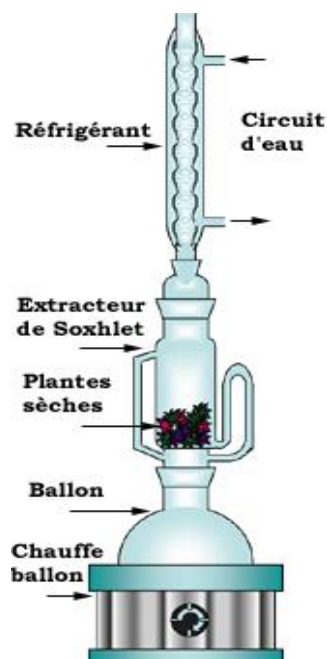


Figure 15 : Montagesoxhlet.

➤ Matériels utilisés :

- Balance analytique.
- Réfrigérant.
- Tube de 250 ml.
- Ballon de 500ml.

➤ Les produits :

- Solvant organique (éthanol).
- Eau distillée.
- Matière végétal 30 g.

Extraction pendant 6h ou bien 6h30min selon le solvant utilisé.

Après on utilise le rota-vapeur pour éliminer totalement le solvant.



Figure 16 :Appareil du rotavapeur

➤ Principe de la méthode :

L'extraction de l'huile de *lentisque* est réalisée dans un appareil approprié de type Soxhlet en utilisant l'éthanol comme solvant organique. Après l'élimination du solvant d'extraction, l'extrait obtenu représente la matière grasse contenue dans la prise d'essai[85].

➤ Mode opératoire :

- 30 g de l'échantillon à analyser sont placés dans une cartouche à extraction.
- Un ballon, préalablement séché dans une étuve, est pesé : c'est (**mi**).
- La cartouche contenant la prise d'essai est placée dans l'appareil à extraction, puis la quantité nécessaire du solvant est versée dans le ballon.
- Le ballon est adapté à l'appareil à extraction sur un chauffe-ballon réglé à une température voisine à l'ébullition du solvant, soit 60°C et le chauffage est conduit dans des conditions telles que le débit du reflux soit d'au moins 3 gouttes par seconde (ébullition modérée, nontumultueuse).
- Après 6 heures d'extraction, passer le ballon au rotavapeur, dans le but d'éliminer le solvant d'extraction ; ensuite, le ballon est chauffé à l'étuve (60°C / 30-60 mn) pour chasser les dernières traces du solvant.
- Laisser refroidir et peser le ballon + huile extraite[85].

b. Méthode traditionnelle :

La méthode traditionnelle artisanale est la plus ancienne est la plus répandue, elle utilise la meule en pierre ou par le biais des pieds pour le broyage des fruits de *Pistacialentiscus*.

Ils sont récoltés à la main, macérée dans de l'eau chaude et puis écrasés à l'aide d'une presse. Des baies s'exultent un liquide épais de couleur jaune vert. L'huile est récupérée par décantation [86].

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

5. Analyse de l'huile végétale de *Pistacialentiscus* :

a. Calcul du rendement :

Le rendement en extrait est défini comme étant le rapport entre la masse d'huile essentielle obtenue et la masse sèche du matériel végétal à traiter [87].

$$R = (m / m_0) \times 100$$

m: représente la masse en gramme de l'extrait.

m₀: représente la masse en gramme du matériel végétal sec.

b. La densité :

C'est le rapport de la masse d'un certain volume d'extrait à 20 °C à la masse d'un volume égale d'eau distillé à 20 °C. Brièvement, à l'aide d'un pycnomètre de capacité de 5ml, on pèse successivement des volumes égaux d'extrait et d'eau distillée à la température ambiante (20 °C). En remplit le pycnomètre avec de l'eau distillée récemment bouillie, puis refroidie aux environs de 25 °C. On plonge le pycnomètre dans un bain marie, jusqu'à équilibre de la température aux environs de 20°C et on le retire. Après essuyage, on pèse le pycnomètre, en remplaçant l'eau par l'huile. Et en appliquant la formule suivante[88] :

$$D = m_2 - m_0 / m_1 - m_0$$

m₀ : est la masse (g) du pycnomètre vide.

m₁ : est la masse (g) du pycnomètre rempli d'eau distillée.

m_2 : est la masse (g) du pycnomètre rempli d'extrait.

c. Les tests phytochimiques :

L'examen phytochimique permet de détecter la présence ou l'absence des constituants chimiques essentiellement les composés phénoliques, les saponosides, les alcaloïdes, les isoprénoides qui renferment les stéroïdes et les terpénoides, l'amidon et les composés réducteurs.

Ces tests phytochimiques sont basés sur:

- les essais de solubilité, des constituants de la plante, vis-à-vis des solvants organiques dépolarisés différents : l'eau, l'éthanol.
- des réactions de colorations et de précipitations.
- l'examen sous la lumière ultraviolette comme les coumarines.

➤ Amidon:

L'amidon est caractérisé par un réactif spécifique connu sous le nom de réactif d'amidon.

Ce dernier a été préparé comme suit :

- Dissoudre 1,2 g d'iode dans 50 ml d'eau distillée contenant 2,5 g d'iodure de potassium.
- Chauffer pendant 5 min; Diluer jusqu'à 500 ml.
- La détection de l'amidon s'effectue comme suit
- Chauffer 5 ml de l'extrait aqueux avec 10 ml d'une solution de NaCl saturée dans un bain-marie jusqu'à ébullition ; ajouter le réactif d'amidon.
- Un test positif est révélé par l'apparition d'une coloration bleue- violacée[11].

➤ 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 abandonné pendant 20 min et la teneur en saponosides est évaluée [89]:

- 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

➤ Tannins :

La présence des tannins est mise en évidence en ajoutant à 1 ml de l'extrait aqueux, 1 ml d'eau et 1 à 2 gouttes de solution de FeCl_3 diluée (1%).

L'apparition d'une coloration vert foncée ou bleu-vert indique la présence des tannins[89].

➤ **Alcaloïdes :**

Deux réactifs sont utilisés :

Réactif de Mayer et réactif de Wagner qui sont préparés

❖ **Réactif de Mayer :** 5g de KI et 1,358 g de HgCl_2 solubilisés dans 100 ml d'eau distillée.

❖ **Réactif de Wagner :** 2g de KI et 1,27g d' I_2 solubilisés dans 100 ml d'eau distillée.

✓ **Sur l'extrait éthanolique :**

- 0,5g de la poudre végétale dans un erlenmeyer de 250 ml, ajouter 10 ml de H_2SO_4 dilué au 1/10 (10 ml). Agitation et macération pendant 24 h à la température ambiante du laboratoire.
- Filtration sur papier lavé à l'eau distillée de manière à obtenir environ 10 ml de filtrat.
- 1 ml de filtre + 5 gouttes du réactif de Mayer s'il apparaît un précipité blanc- jaunâtre c'est qu'on est en présence d'alcaloïdes.
- 1 ml de filtre + 5 gouttes du réactif de Wagner s'il apparaît un précipité brun c'est qu'on est en présence d'alcaloïdes[90].

✓ **Sur l'extrait aqueux :**

Dans un bain-marie on mélange 0,2 ml de l'extrait aqueux avec 5 ml d'une solution aqueuse de HCl préparée à 1% (en utilisant un agitateur avec barreau magnétique)

Après filtration un volume de 1 ml du filtrat est traité par 3 gouttes du tétra-iodo-mercure de potassium connu sous le nom du réactif de Mayer, alors que l'autre quantité (imi) est traitée par le réactif de Wagner. Toute turbidité ou précipitation indique la présence des alcaloïdes[91].

➤ **Flavonoïdes :**

La réaction de détection des flavonoïdes consiste à traiter 2, 5 ml de l'extrait éthanolique avec 0,5ml d'HCl concentré et 0,25 g de tournures de magnésium. La présence des flavonoïdes est mise en évidence si une couleur rose ou rouge se développe après 3 min[92].

➤ **Tannins galliques et cathéchiques:**

La présence des tannins 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 FeCl_3 diluée (1%). Un test positif est révélé par l'apparition d'une coloration bleue-noire (Tannins galliques), verte ou bleue-verte (Tannins cathéchiques) [89].

➤ **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[89].

➤ **Coumarines:**

Placer 1g d'échantillon de la plante humide dans un tube à essai. Couvrir le tube avec un papier imbibé d'une solution de NaOH et le placer dans un bain marie pendant quelques min.

Ajouter 0,5ml de NH_4OH (10%). Mettre deux taches sur un papier filtre et examiner sous la lumière ultraviolette. La fluorescence des taches confirme la présence des coumarines[93].

➤ **Anthracénosides et anthocyanosides:**

Pour mettre en évidence ces composés, il faudra suivre les étapes suivantes[94] :

- Ajouter 9ml d'HCl (10%) à 15 ml de l'extrait éthanolique.
- Porter l'ensemble à reflux pendant 30 min.
- Refroidir la solution et l'extraire 3 fois avec 9 ml d'éther.
- Ensuite, chacune de ces familles est détectée séparément.

✓ **Anthracénosides:**

La détection des anthracénosides consiste à traiter 2 ml de la solution extractive éthérique avec la réaction de *Borntrager*. En milieu alcalin aqueux (NH_4OH), ces composés donnent à la solution une teinte vive variant de l'orangé rouge au violet pourpre plus ou moins violacé, ceci indique la présence des anthracénosides.

✓ **Anthocyanosides:**

Doser la solution aqueuse acide avec une solution NaOH (10 %). S'il y a un virage de couleur à pH différent, la présence des anthocyanosides est confirmée.

L'apparition d'une couleur rouge à $\text{PH}<3$ et bleue entre 4 et 6, caractérise les anthocyanosides.

➤ Stérols et triterpènes:

Deux essais ont été effectués :

✓ test pour les stérols et stéroïdes :

- 10 ml de l'extrait éthanolique est placé dans un erlenmeyer; après évaporation à sec, le résidu est solubilisé avec 10 ml de chloroforme anhydre.
- Ensuite mélanger 5 ml de la solution chloroformique avec 5 ml d'anhydride acétique ; ajouter quelques gouttes d'acide sulfurique concentré ; Agiter, puis laisser la solution se reposer.

Un test positif est révélé par l'apparition d'une coloration violacée fugace virant au vert(Maximum d'intensité en 30 min à 21 °C)[89].

✓ test pour les hétérosides stéroïdique et triterpénique :

Il consiste à évaporer à sec l'extrait éthanolique correspondant à 10 ml; en suite dissoudre le résidu obtenu dans 5 ml / 5 ml (v/v) d'anhydride acétique /chloroforme, puis filtre; et en fins traiter le filtrat par quelques gouttes d'acide sulfurique concentré (la réaction de Liebermann-Burchardt). Si cette réaction donne des colorations verte-bleue et vertes-violette, elle indique la présence des hétérosides stéroïdique et tri terpénique respectivement[89].

6. Dosage des polyphénols :

La teneur en composés phénoliques de l'huile de *Pistacialentiscuse* est estimée par la méthode de Folin-Ciocalteu selon (Li et al., 2007) qui est basée sur la réduction en milieu alcalin de la mixture phosphotungstique (WO_4^{2-}) phosphomolybdique (MoO_4^{2-}) de réactif de Folin par les groupements oxydables des composés phénoliques, conduisant à la formation de produits de réduction de couleur bleue. Ces derniers présentent un maximum d'absorption à 765 nm dont l'intensité est proportionnelle à la quantité de polyphénols présents dans l'échantillon [95]. 1ml de réactif de Folin (10 fois dilué) est ajouté à 200 µl d'échantillon ou standard préparés dans l'eau distillée) avec des dilutions convenables, Après 4 min, 800 µl d'une solution de carbonate de sodium (75 mg/ml) sont additionnés au milieu réactionnel. Après 2 h d'incubation à température ambiante l'absorbance est mesurée à 765nm.

La concentration des polyphénols totaux est calculée à partir de l'équation de régression de la gamme d'étalonnage établie avec l'acide gallique (0-200 µg/ml) et est exprimée en

microgramme d'équivalent d'acide gallique par milligramme d'huile (μgEq Acide gallique/mg d'huile).

7. Dosage des flavonoïdes :

La méthode du trichlorure d'aluminium [96] est utilisée pour quantifier les flavonoïdes dans l'huile de *Pistacia lentiscus*. 1 ml d'échantillon ou standard (préparés dans l'éthanol) est ajouté à 1 ml de la solution d' AlCl_3 (2% dans l'éthanol). Après 10 minutes de réaction, l'absorbance est lue à 430 nm. La concentration des flavonoïdes est déduite à partir d'une gamme d'étalonnage établie avec la quercétine (0-40 $\mu\text{g/ml}$) est exprimée en microgramme d'équivalent de quercétine par milligramme d'huile ($\mu\text{g Eq}$ quercétine/mg d'huile).

8. Dosage des tannins :

Le dosage des tannins condensés dans l'huile de *Pistacia lentiscus* est effectué selon la méthode de Broadhurst et Jones (1978). Le principe de ce dosage est basé sur la fixation du groupement aldéhydique de vanilline sur le carbone 6 du cycle A de la catéchine pour former un complexe chromophore rouge qui absorbe à 500 nm. La concentration des tannins est déduite à partir d'une gamme d'étalonnage établie avec la catéchine (0-300 $\mu\text{g/ml}$) est exprimée en microgramme d'équivalent de catéchine par milligramme d'huile ($\mu\text{g Eq}$ catéchine/mg d'huile)[97].

9. Evaluation de l'activité antioxydante des extraits de *Pistacia lentiscus* :

a. Test du DPPH' par spectrophotométrie d'huile de *Pistacia lentiscus* :

Le principe du test se résume en la capacité des huiles à réduire le radical libre DPPH' (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl) de couleur violette foncée, qui se transforme en coloration jaunâtre (après réduction). Cette décoloration est mesurable par spectrophotométrie[98].

Le teste de DPPH est réalisé en suivant la méthode décrite par [99]. où 50 μl de chacune des solutions éthanoliques des extraits éthaloniques testées à différentes concentrations (0, 2, 4, 6, 8, 10 mg/ml) sont mélangées avec 5ml d'une solution éthanolique de DPPH (0.004%). Après une période d'incubation de 30 min à une température ambiante, l'absorbance est lue à 517nm.

b. Détermination du pourcentage d'inhibition :

Selon SHARIFIFAR *et al.* (2007), l'inhibition du radical libre de DPPH^{*} en pourcentage (I%) est calculée de la manière suivante [100] :

$$I \% = [(A_{\text{blanc}} - A_{\text{échantillon}}) / A_{\text{blanc}}] \times 100$$

A_{blanc} : Absorbance du blanc (DPPH dans l'éthanol)

A_{échantillon} : Absorbance du composé d'essai.

Les concentrations d'extrait éthanolique en fonction des pourcentages du DPPH inhibés, ont été tracées à la fin de la réaction afin d'obtenir l'index IC50. Ce paramètre est défini comme la concentration d'antioxydant requise pour diminuer la concentration du DPPH initiale de 50%.

10. Evaluation de l'activité anti microbienne des extraits et de l'huile végétale de *Pistacia lentiscus* :

Notre travail a été effectué au sein du laboratoire des microbiologies, des aliments fonctionnels et de la santé (LMBAFS) à la faculté des sciences exactes et informatique à l'université d'Abdelhamid Ibn Badis à Mostaganem.

Les méthodes utilisées pour étudier l'interaction entre les extraits éthanolique et les espèces microbiennes sont basées sur la diffusion de cette huile dans des milieux de culture pour inhiber la croissance d'un microorganisme pathogène.

a. Origine des souches microbiennes :

Les souches utilisées dans ce travail comportent des souches pathogènes qui proviennent de la collection du laboratoire LMBAFS.

Tableau 1 : la nature et l'origine de différentes souches pathogènes utilisées.

Souches	Référence
<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 33862
<i>Escherichia coli</i>	ATCC 25922
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC 27853
<i>Bacillus cereus</i>	ATCC 10876
<i>Bacillus subtilis</i>	ATCC 6633
<i>Condidaalbicans</i>	ATCC10231
<i>Aspergillus niger</i>	ATCC 106406

b. Choix des milieux de culture et condition de croissance :

- **Milieu bouillon nutritif** : (pour la réactivation des souches pathogènes)

Milieu universels pour la culture, croissance, et la numération des germes peu exigeants dans les eaux, les boissons et les produits biologiques

Tableau 2 : composition de bouillon nutritif(g/l).

Peptone	10
Extrait de viande	5
Chlorure de sodium	5

Préparation :

Dissoudre 20g de poudre bouillon nutritif (BN) et 39 g de la gélose nutritive(GN) dans un litre d'eau distillé sous agitation ; autoclave 15mn à 121 °C ; PH = 7,3 +/-0,2.

- **Milieu de Muller Hinton** :

Milieu non sélectif pour l'étude de la sensibilité ou la résistance des germes pathogènes envers les antibiotiques et les sulfamides.

Tableau 3 : composition de Heller Hinton(g/l)

Extrait de viande	3
Hydrolysate acide de caséine	17.5
Amidon	1.5
Agar	16

c. Réactivation de souches pathogènes :

➤ **Préparation de l'inoculum :**

L'inoculum a été préparé en transférant 10 µl de culture conservé a 10 ml de bouillon nutritif de chaque bactérie pathogène testé et incubée 37° C pendant 24h . Puis ajuster la densité optique entre 0,080 à 0.1 avec un spectrophotomètre a la longueur d'onde de 600 nm qui correspond à 10^8 UFC / ml [101].

d. Méthode de diffusion en puits (méthode de Barefoot et kaenhammer, 1983)

La méthode de diffusion très utilisée en microbiologie (antibiogramme et antifongigramme), repose sur la diffusion du composé antimicrobien en milieu semi solide (gélose molle), l'effet du produit antimicrobien sur la cible est apprécié par la mesure d'une zone d'inhibition, et en fonction du diamètre d'inhibition la souche du microorganisme sera qualifiée de sensible, d'intermédiaire ou de résistante. Dans la technique de diffusion il y a compétition entre la croissance du microorganisme et la diffusion du produit testé[102].

Cette méthode consiste à couler 21 ml Muller Hinton molle avec 100µl d'une culture jeune de 18h d'incubation de nombre de 10^7 UFC/ml (la densité optique 0.08-0.1) sur une boîte de pétri. Après solidification à température ambiante dans une zone stérile, des puits sont creusé à l'aide d'un embout stérile. Généralement on réalise un puits par boîte de 6mm de diamètre. Un volume de 80ul de l'extrait brut est mis dans les puits.

Les boîtes de pétri sont incubées à 37°C pendant 24h pour permettre la bonne diffusion de la substance antibactérienne (pré-diffusion) [103].La figure 16 représente les étapes de diffusion en puits

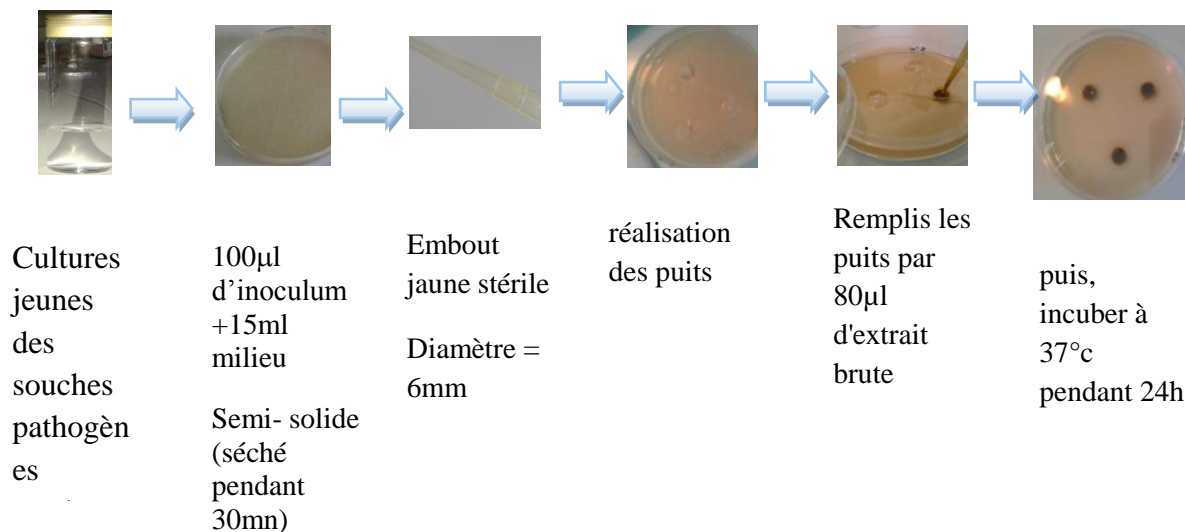


Figure 17 : Les étapes de diffusion en puits

La présence de zone d'inhibition formées autour des puits est examinée après 18 à 24h d'incubation [104].

La lecture des résultats se fait par la mesure de diamètre des zones d'inhibition apparaissant ; il sera considéré comme positif si le diamètre est supérieur à 10mm.

e. Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI) :

Généralement la concentration minimale inhibitrice (CMI) est considérée comme étant la plus faible concentration de substance antimicrobienne capable d'inhiber la croissance visible d'un microorganisme donné après un temps d'incubation de 24h [105].

La détermination de la C.M.I a été réalisée par la Méthode de micro dilution sur milieu liquide selon CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute) (2008) [105].

Les étapes de la microdilution sont représenté dans la figure 18

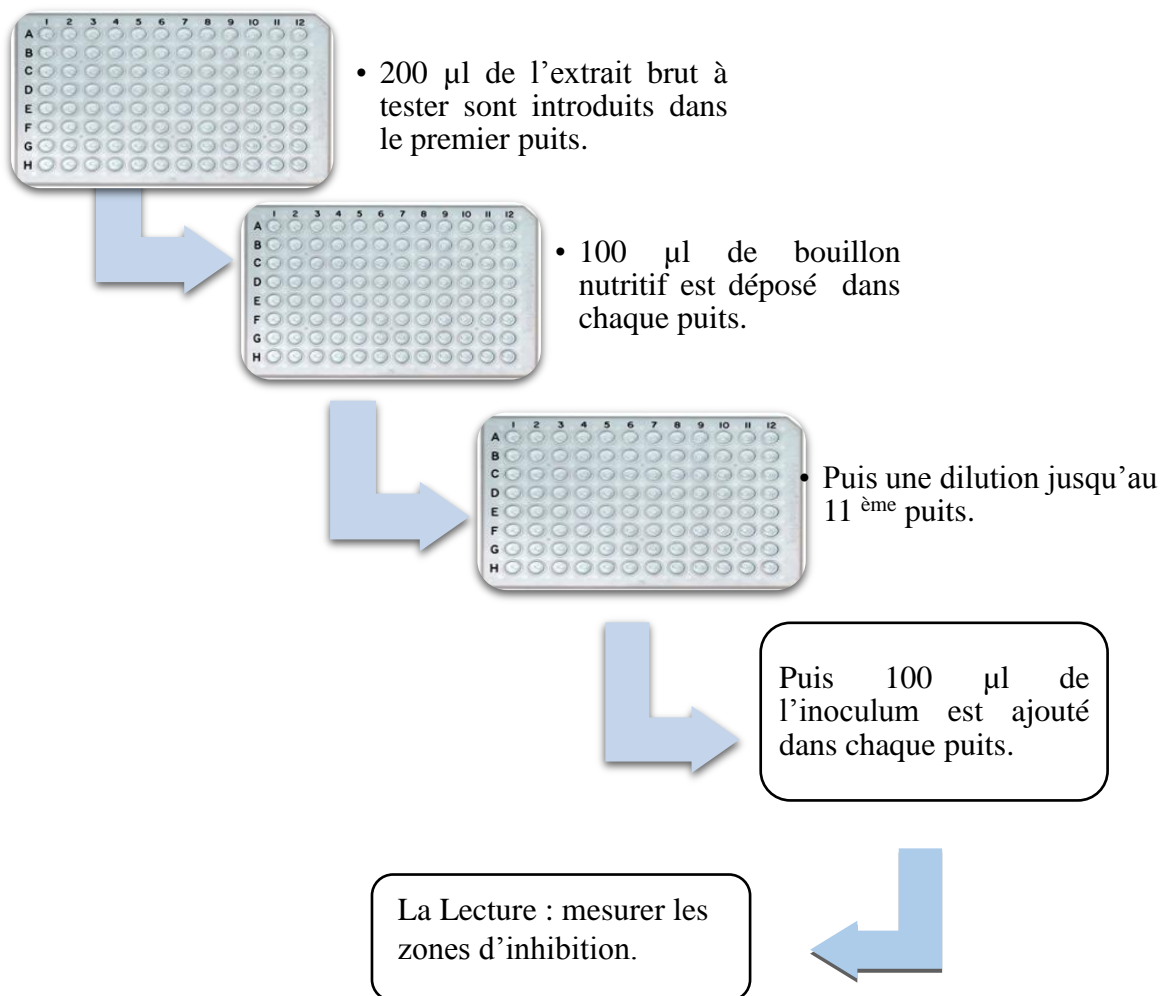


Figure 18 : Les étapes de la micro dilution

Dans cette technique, des microplaques à fond rond (96puits) sont utilisées pour déterminer la concentration minimale inhibitrice, dans chaque ligne de la microplaque, est déposé 100 µl du bouillon nutritif

Ensuite, 200 µl de l'extrait brut à tester sont introduits dans le premier puits. Après avoir bien mélangé le contenu du premier puits, 100 µl est prélevé, puis déposé dans le 2^{ème} puits, et ainsi de suite jusqu'au 11^{ème} puits ou 100 µl restants sont éliminés. Par conséquent, nous obtenons une dilution $\frac{1}{2}$ entre chaque puits. Le dernier puits représente le témoin négatifs : le puits n°12 contient uniquement le bouillon nutritif.

Enfin, 100 µl de l'inoculum ($1 \cdot 10^6$ UFC/ml) est ajouté dans chaque puits.

Les microplaques sont scellées et incubées à 37 °C pendant 24h.

PARTIE 3 :
RESULTAT ET DISCUSSION

1. Extraction et détermination des rendements :

L'extraction par distillation sur un appareil de type soxhlet, à partir des fruits de *Pistacia lentiscus*, après 6H d'extraction. Nous a permis d'obtenir des rendements de l'ordre de 15.16%.

Puis L'extraction de l'huile végétale par la méthode traditionnelle a donné un rendement de 40.5%.

Comparativement au travail de BENROKIA et AOUAR (2015) [79], l'extrait éthanolique de *Pistacia lentiscus* (fruits) de la région de *Tarik Ibn Ziate*, a donné un rendement de 12,5%.

Les résultats obtenus sont représentés sur l'histogramme de la figure19, l'huile végétale et l'extrait de *Pistacia lentiscus* (fruits) représente le rendement le plus élevé (40,5%) suivi du rendement de l'extrait éthanolique (15,16%).

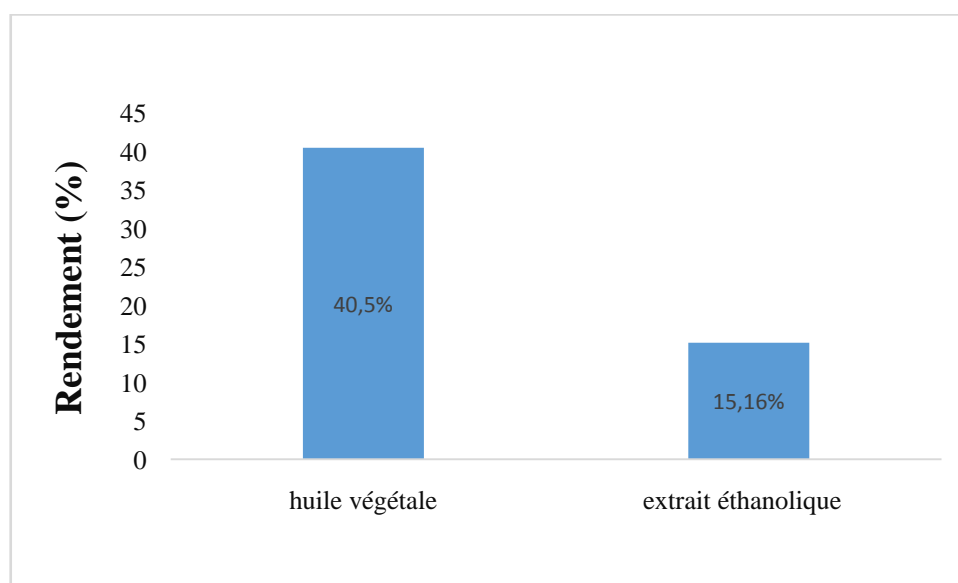


Figure 19 : Présentation des rendements des extraits de *Pistacia lentiscus*

Selon les deux méthodes

2. Densité relative :

La densité relative à 20°C par rapport à l'eau à 20°C d'une huile est le contenu 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 [106].

La densité calculée des fruits *pistacia lentiscus* est de **0,9**. ces résultat sont similaire aux résultats de BENSALÉM (2015) est de 0,988 [106].

3. Tests phytochimiques :

Les résultats des tests phytochimiques des fruits de *Pistacia Lentiscus* sont représenté sur le tableau suivant : Tableau 4

Tableau 4 : Résultats des tests phytochimiques.

Les extraits	Espèce étudiée	<i>P. atiantica</i>
	partie étudiée de la plante	Fruits
Familles chimiques		
Extrait aqueux	Amidon	-
	Tannins	+++
	Saponosides	-
	Alcaloïdes	-
Extrait éthanolique	Flavonoïdes	+++
	Tannins catéchiques	+++
	Alcaloïdes	-
	Composés réducteurs	-
	Coumarines	-
	Anthracénosides	+++
	Anthocynosides	+++
	Stérols et stéroïdes	++
	Hétérosides triterpéniques	+++

- (+) Présence en faible quantité;
- (+ +) Présence en quantité moyenne;
- (+ + +) : Présence en forte quantité;
- (-) Absence.

Les résultats présentés sur le Tableau 4 montrent une forte présence de tannin dans l'extrait aqueux. Alors que pour l'extrait éthanolique, il est beaucoup plus riche en (flavonide, tannins, anthracénosides, anthocynosides, hétérosides triterpéniques, stérols et stéroïdes).

On compare nos résultats à Belyagoubi (2010) [68] qui a obtenu 7 composés d'en les tannins, flavonoïdes, Tannins cathéchiques, Anthracénosides, Anthocynosides, Hétérosides triterpéniques, Stérols et stéroïdes. Les résultats sont similaires aux nôtres.

4. Dosage des polyphénols :

Les analyses quantitatives des phénols, des flavonides et des tannins sont déterminées à partir des équations de la régression linéaire de chaque courbe d'étalonnage exprimées successivement en μg équivalent d'acide gallique, μg de quercétine et en μg de catéchine par mg d'extrait éthanolique de *pistacia lentiscus*.

Le graphe ci-dessous figure 20 représente l'absorbance en fonction des concentrations de l'acide gallique.

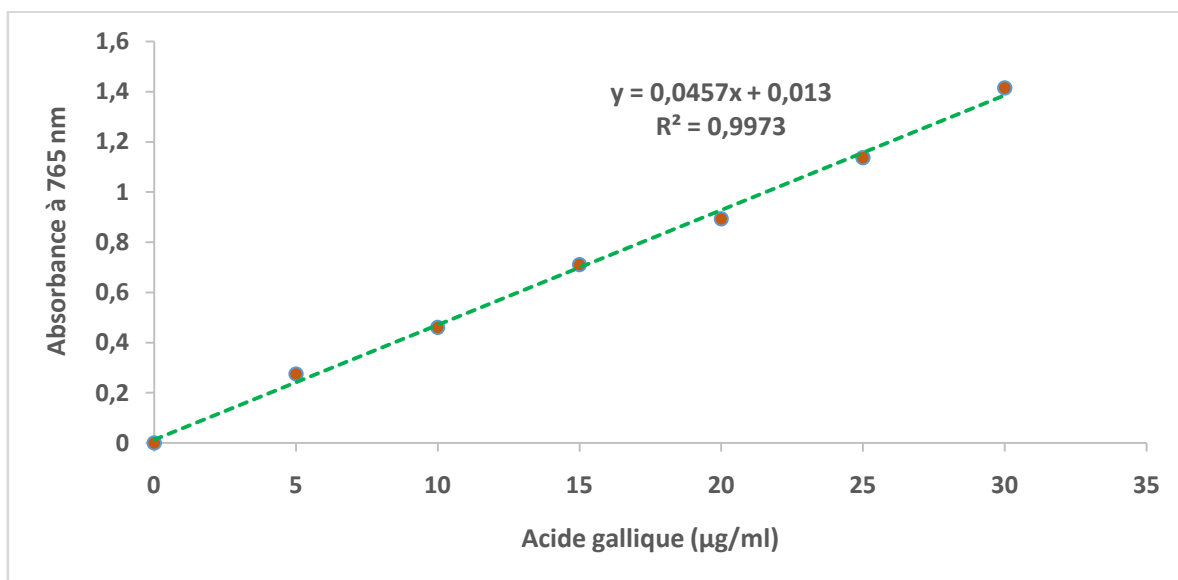


Figure 20 : Courbe d'étalonnage des composés phénoliques

D'après les résultats obtenus sur la figure 20, on remarque que la teneur en l'huile de *Pistacia lentiscus* en polyphénols est 1,94 μg Eq AG/mg de l'huile de *Pistacia lentiscus*.

Chaher (2006) a prouvé que les extraits des phases aqueuses des fruits *Pistacia lentiscus* présentent un taux élevé en composés phénolique.

5. Dosage des flavonoïdes :

Concernant la teneur de l'huile de *Pistacia lentiscus* en flavonoïdes (figure 21), l'analyse de nos résultats montre une faible teneur en flavonoïdes 0,41 en μg Eq quercétine/mg.

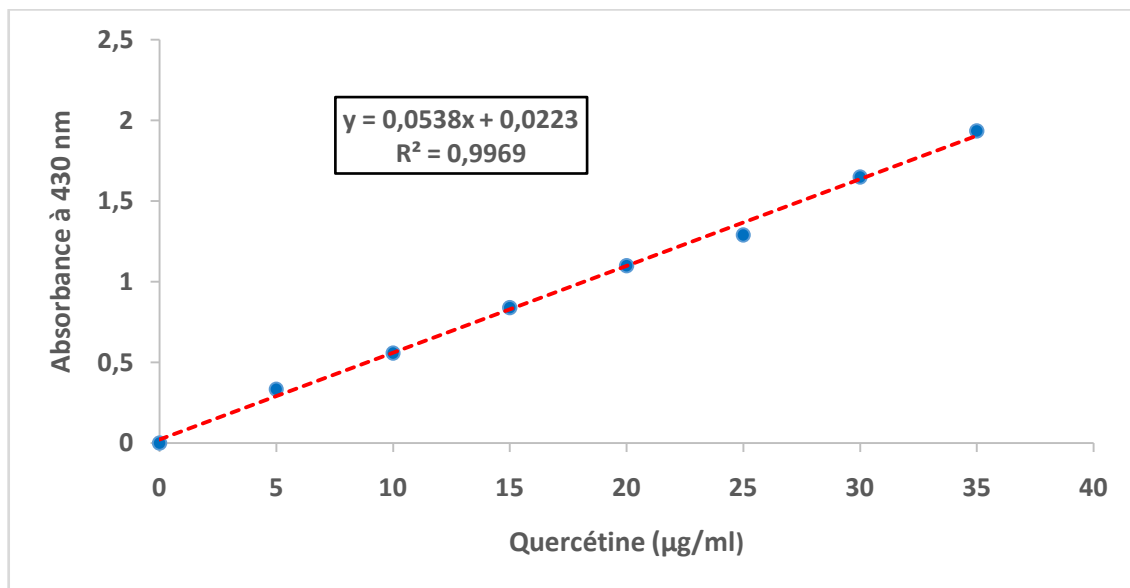


Figure 21 : Courbe d'étalonnage des flavonoïdes

6. Dosage des tannins :

D'après nos résultats la teneur de notre huile en tannins est de 1,27 μg Eq catéchine /mg d'huile. (figure 22), c'est une teneur considérable comparativement aux flavonoïdes.

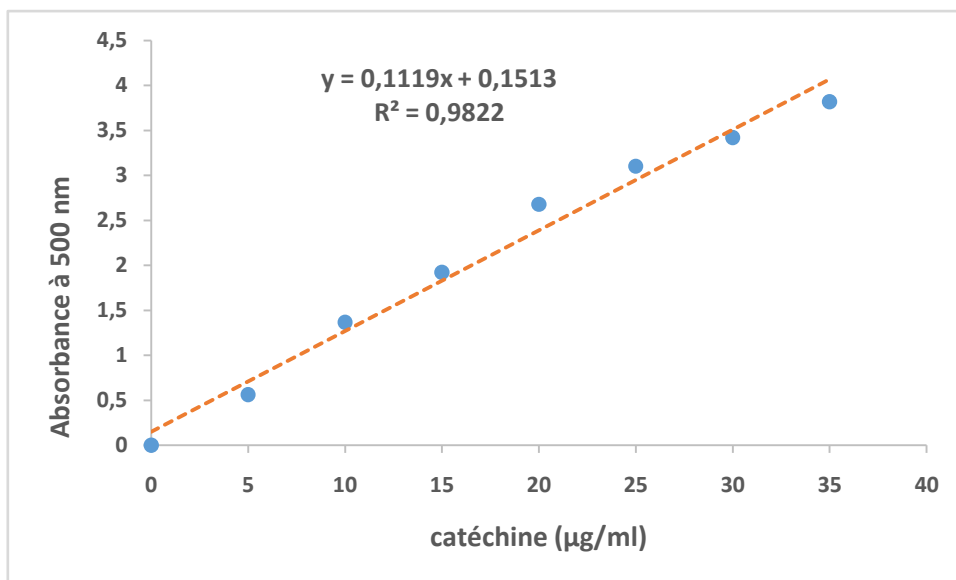


Figure 22 : Courbe d'étalonnage des tannins

Les teneurs de l'huile de *Pistacia lentiscus* en polyphénols, flavonoïdes et tannins sont représentés sur le tableau 5

Tableau 5 : Teneur de l'huile de *Pistacia lentiscus* en polyphénols, flavonoïdes et tannins.

	Polyphénols	les flavonoïdes	Les tannins
l'huile de <i>Pistacia lentiscus</i>	1.94 ($\mu\text{gEq/mg}$)	0.41 ($\mu\text{gEq/mg}$)	1.27 ($\mu\text{gEq/mg}$)

L'histogramme de la figure 23 représente les teneurs en polyphénols, flavonoïdes et tannins de l'huile fixe de *Pistacia lentiscus*.

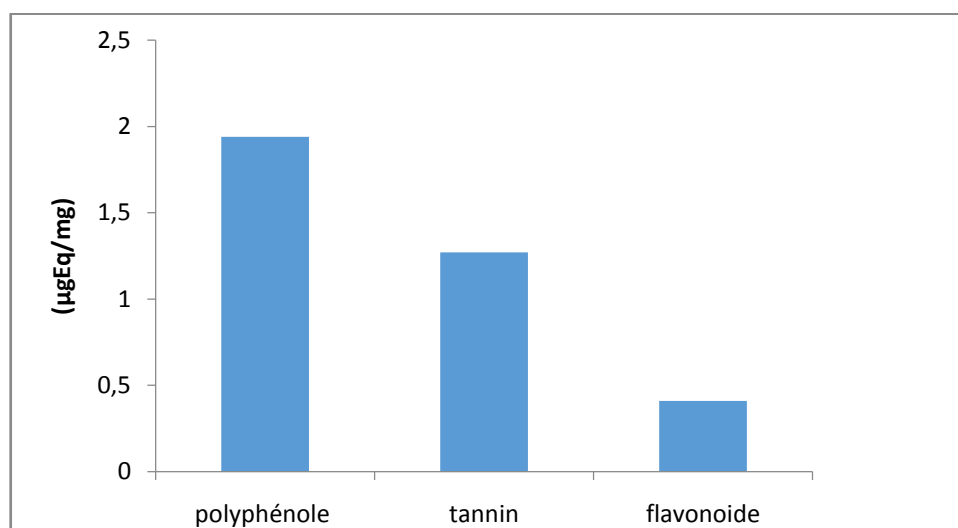


Figure 23 : Teneurs en polyphénols, flavonoïdes et tannins de l'huile de *Pistacia lentiscus*.

Les résultats effectués des dosages des polyphénols totaux sont représenté sur la figure 23, flavonoïdes et tannins. On déduit que le contenu élevé des polyphénols n'est pas toujours accompagné par des teneurs élevées en flavonoïdes. Ces conclusion ont aussi été tirer par Lizcano et *al.*(2010) [78], qui ont étudié 19 plantes d'Amazone dont deux de la famille Anacardiaceae. Cela peut être interpréter par le non spécificité du réactif de Folin-Ciocalteu pour les composés phénoliques [107].

La richesse du genre *Pistacia lentiscus* en polyphénols a été également confirmée par autres travaux (Goli et *al.*, 2005) [19], où la teneur la plus élevée des polyphénols totaux est marquée chez *Pistacia vera* avec un taux de 34,7 mg Eq d'acide tannique/g de la plante.

7. Piégeage du radical libre DPPH (2,2-diphényl-1-picryl-hydrazil):

Dans ce teste les antioxydants réduisent le diphenyl-picryl-hydrazil ayant une couleur violette en un composé jaune, le diphenyl-picryl-hydrazil, dont l'intensité de couleur est inversement proportionnelle à la capacité des antioxydants présents dans le milieu à donner des protons. Nos résultat ci-dessous montre que les échantillons testés, leurs habilité à décolorer les solutions éthanoliques du DPPH est presque complète à une concentration élevée.

Il est possible d'obtenir un effet du piégeage de DPPH' à 100%.

Les pourcentages d'inhibition des extraits éthanoliques des composés phénoliques de *Pistacia lentiscus* varient entre 17,325% et 93,975%. figure 25

Le graphe ci-dessous figure 24 représente la courbe d'étalonnage des concentrations de quercétine en fonction du % d'inhibition calculer.

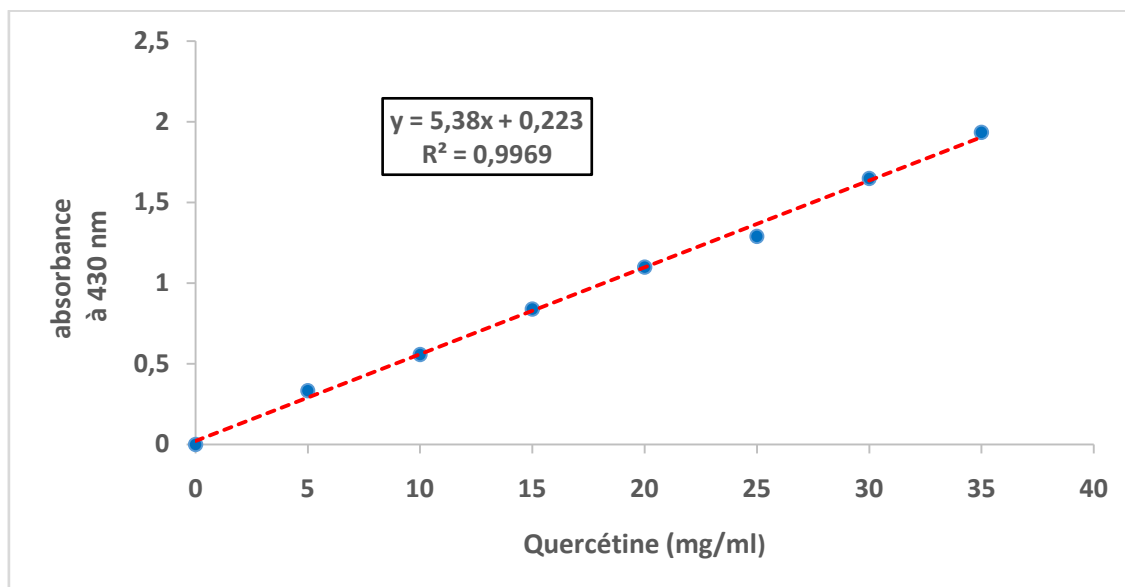


Figure 24 : Courbe d'étalonnage de quercétine

Le graphe suivant figure 25 représente le % d'inhibition en fonction des concentrations de la solution d'extrait éthanolique/ DPPH.

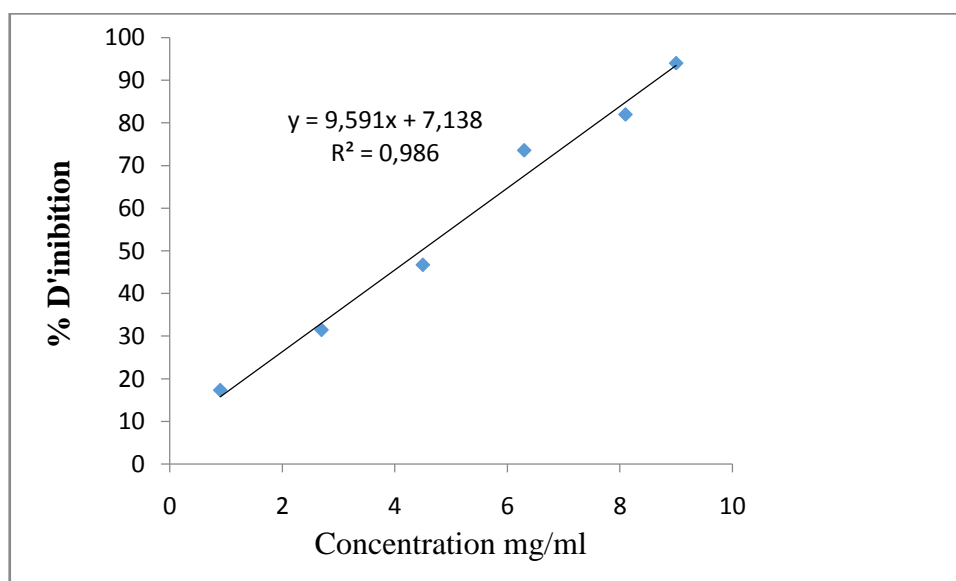


Figure 25 : Courbe de l'activité antioxydante de l'extrait des fruits de *Pistacia lentiscus*

on a utilisé la quercétine comme standard, A partir de la courbe d'étalonnage de quercétine de l'activité antioxydante représenté sur la figure 24 , la quercétine montre une activité antiradicalaire puissante ($IC_{50} = 9,429$ mg/ml).

La concentration des extraits permet de déterminer la concentration qui correspond à 50% d'inhibition ($IC_{50}=4,468$ mg/ml). Au vu des résultats obtenus et comparais a BENSACI et HADJ MOKHNACH (2015) [83] qui on trouvait un ($IC_{50} = 5,09$ mg/ml), on constate que l'huile de *Pistacia lentiscus* a prouvé une très bonne activité antioxydante dont le pourcentage de l'activité antiradicalaire atteint jusqu'à 93,975%, ce qui montre que l'huile de *Pistacia lentiscus* est active vis-à-vis du DPPH•.

8. Activité antimicrobienne de l'huile *Pistacia lentiscus*:

L'activité antibactérienne se traduit par l'apparition d'une zone d'inhibition autour de L'extrait brut étudié. Le diamètre de la zone d'inhibition diffère d'une bactérie à une autre et d'un extrait à un autre. La variation de l'activité antimicrobienne des extraits expliquent les variations de leurs compositions chimiques. Comme a été rapporté dans la littérature, nous avons considéré qu'un extrait a une activité antibactérienne si son diamètre d'inhibition est supérieur à 10mm [108].

Les résultats exprimés dans les figures (26 à 29) montrent que les espèces bactériennes Étudiées présentent des degrés de sensibilité différente vis-à-vis des extraits étudiées

Tableau 6 : Résultat de l'activité antimicrobienne

souches	Diamètres (mm)	N° de Figure
<i>Staphylococcus aureus</i> (<i>S.auréus</i>)	44	Figure 26
<i>Escherichia coli</i> (<i>E.coli</i>)	74	Figure 26
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (<i>P.S</i>)	56	Figure 27
<i>Bacillus cereus</i> (<i>B.C</i>)	55	Figure29
<i>Bacillus subtilis</i> (<i>B.S</i>)	56	Figure 27
<i>Condidaalbicans</i>	50	Figure 28

(<i>condida</i>)		
<i>Aspergillus niger</i> (A.S.P)	48	Figure 28

Les diamètres mesurés après incubation sont représenté sur le tableau 6 et montre que notre extrait brute de *Pistacia lentiscus* répond à une activité antibactérienne sur toutes les souches utilisées contrairement à l'huile végétale qui n'en possède pas.

9. Résultat du calcul de la concentration minimale inhibitrice (C.M.I):

D'après les zones d'inhibition, générées par l'extrait de *pistacia lentiscus* figure 30, le potentiel inhibiteur de l'extrait est testé par détermination de la C.M.I

Résultats de la concentration minimale inhibitrice capable d'inhiber la croissance d'un microorganisme donné après un temps d'incubation de 24h sont représentés dans le Tableau7.

Tableau 7 : Résultats de Concentration Minimale Inhibitrice (C.M.I) de l'extrait brute de *pistacia lentiscus* :

	100	50	25	12,5	6,25	3,125	1,568	0,781	0,39	0,19	0,09	0,048
E. Coli	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-
B.S	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-
A.S.P	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
P.S	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-
B.C	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
S.Aurés	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Condida	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-

(+) résultat positif absence de la bactérie

(-) résultat négatif présence de la bactérie

L'histogramme suivant (figure 31) représente les souches en fonction de leur concentration minimale inhibitrice :

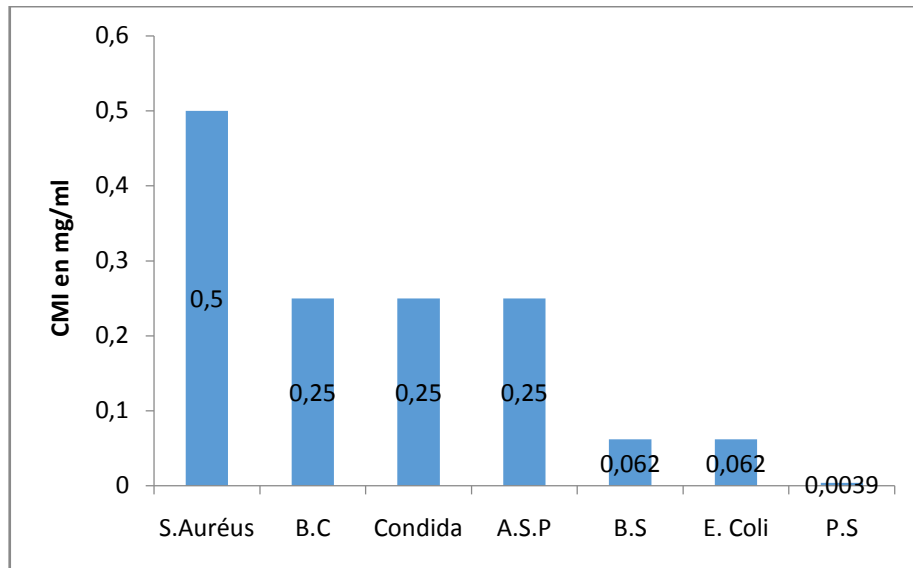


Figure 31 : Les souches étudiées en fonction des C.M.I

Donc notre extrait est un bon inhibiteur pour *S.aurés* moyennement pour *B.C*, *Condidia* et *A.S.P* et son résultat pour *B.S*, *E.colis* et *P.S*.

CONCLUSION GENERALE

Conclusion générale :

Les plantes de *Pistacia lentiscus* se trouvent réparties dans toute l'Algérie, elles sont utilisées dans la médecine traditionnelle (antidiabétique et antihypertension) et sont très connues pour leurs vertus thérapeutiques (antioxydante et antiulcéreuse). L'huile des fruits est largement appréciée par la population algérienne en mélangeant avec les dattes et peut être consommée à toute heure.

La préparation des extraits aqueux et alcooliques des fruits de *Pistacia lentiscus* est réalisée suivant une méthode traditionnelle et une distillation par appareil de Soxhlet le plus fort rendement est de 40.5% et 15.16% respectivement.

Le présent travail portant sur quatre axes dont le premier concerne les tests phytochimiques des fruits mûrs de *Pistacia lentiscus*, le deuxième porte sur les dosages des phénols totaux, des flavonoïdes et des tannins.

L'évaluation de l'activité antioxydante et dans le quatrième axe l'activité antimicrobienne de l'extrait brut de *Pistacia lentiscus*.

Les résultats obtenus nous ont permis de mettre en évidence la richesse des fruits par les tannins, les flavonoïdes, les anthocyanes et les triterpènes.

La teneur en phénols totaux dans l'extrait brut (1.94(µgEq/mg) d'acide gallique) présente une valeur très importante. Par contre, le dosage des flavonoïdes et des tannins révèle des teneurs de l'ordre de 0,41(µgEq/mg) et 1,27(µgEq/mg) respectivement.

L'huile de notre plante présente une activité considérable du piégeage du radical DPPH dont le $IC_{50}=4,468\text{mg/ml}$. L'évaluation de l'activité antimicrobienne de l'huile est réalisée par la méthode de diffusion en milieu gélosé. L'huile de *Pistacia lentiscus* a une activité bactéricide importante sur toutes les souches bactériennes (*Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*, *Candida albicans*, *Aspergillus niger*). Avec des diamètres (44mm, 47mm, 40mm, 55mm, 56mm, 50mm, 48mm.) respectivement. Ces résultats restent préliminaires, il serait intéressant de faire des études complémentaires pour comprendre les mécanismes moléculaires et cellulaires de ces effets.

Ces études doivent être aussi orientées vers la détermination des composés actifs dans l'huile

Pistacia lentiscus et l'évaluation de leurs effets sur les signalisations impliqués dans le processus antimicrobien, ainsi que dans l'activité antiradicalaire.

REFERENCE
BIBLIOGRAPHIQUE

Référence :

- [1] **Azalencok, 2005** Les plantes médicinales d'Algérie. Berti. p 147-148.
- [2] **Buehbauer et jiroetz ,1994** Effets de quelques molécules naturelles en médecine: Activité cicatrisante et innocuité de l'huile végétale de *Pistacia lentiscus* L. thèse Doct: pharmacologie toxicologie.
- [3] **shapiro et jiroetz ,1994** Ressources médicinales de la flore française. Edition, Vigot Frères Editeurs, p 665-666
- [4] **Inoué, 2001** structure, propriétés biologiques, rôle prophylactique et emplois en thérapeutique. *Phytothérapie*, 4: p 162-169
- [5] **Bruneton 1993** "Pharmacognosie, phytochimie, Plantes médicinales" (2e édition). Tec et Doc., Lavoisier, Paris, p 915.
- [6] **Bammi et Douira A. 2002** Les plantes médicinales dans la forêt de l'Achach (Plateau Central, Maroc), *Acta Botánica Malacitana*, 27 : p 131-145.
- [7] **Larhsini, 1999** Manuel des corps gras 1. Lavoisier TEC DOC. p 65.
- [8] **Sofowora, 2010** "Les huiles essentielles": 3^{ème} Recueil des normes françaises.
- [9] **Cock, 2011** Etude de l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle d'une plante sauvage *Prangos asperula* Boiss. *Phytothérapie* , 5, p129–134.
- [10] **Iserin ,2001** Encyclopédie des Plantes Médicinales, Identification, Préparation, Soins. 2^{ème} édition Ed Larousse/VUEF. p 13-16, 250, 291-296.
- [11] **Bruneton, 1999**. Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes médicinales, 3^e édition. Paris: Editions médicales internationales, éditions Tec & Doc Lavoisier, p1120
- [12] **Decaux, 2002** *Les antioxydants*. feuillet d'information, p 5.
- [13] **Siani, 1999** *Recueil de Normes Française « huiles essentielles »*. Paris.
- [14] **Dordevic ,2007** Les composés phénoliques des végétaux. Presses Polytechniques et Universitaires Romandes, p 192.
- [15] **MBahek 2007** *Huiles essentielles : de la plante à la commercialisation – Manuel pratique*. Rabat, Maroc: Corporation LASEVE, p 60.

- [16] **De sousa, 2004** "Extraction des huiles essentielles : chimie et technologie". *Information chimie* ,p 289.
- [17] **Bousbia, 2004** Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier. *Le Cahier des Techniques de l'INRA* , p 79-82.
- [18] **Billier, 2002** Méthode d'étude des propriétés antiseptiques des huiles essentielles par contact direct en milieu gélosé. *Plant MédPhytothér*, 20: p 155-167.
- [19] **Teixeira, 2005** Activité antibactérienne et antifongique de produits à base d'huiles essentielles. *Hygiène*, 3 : p 248-250.
- [20] **Schuhmacher et reichling, 2003** Les plantes médicinales. Solor, p 2276-2277
- [21] **Remmal, 1993** Flore pratique du Maroc. Manuel de détermination des plantes vasculaires. 2ème éd. *Institut Scientifique*. Rabat. p 636.
- [22] **Bossoksi, 2003** Parasitologie et mycologie médicales. Eléments de morphologie et de biologie. *Editons Médicales internationales*, p 796.
- [23] **Berboucha, 2005** Bactériologie médicale. *Masson*, Paris, p 276.
- [24] **Balasundrum, 2006** Quelques bacilles à Gram négatif stricts non fermentaires et sensibilité aux antibiotiques. *Lett. Infectiol*, 10 : p 619-630.
- [25] **Ribereau, 1968** *Fleurs d'Algérie*. Alger, Algérie: éd Entreprise National du Livre.
- [26] **Marfak et medic-sarie, 2003** Etude pilote ouverte de l'effet antioxydant d'Ambrotose AOTM sur des personnes en bonne santé. *glyoScience et Nutrition* , 4 (6), p 7.
- [27] **Furusaw, 2005** Ecologie et biogéographie des forêts du bassin méditerranéen. *Collection Environnement*. Elsevier, Paris, France.
- [28] **Hanasaki, 1993** Connaissance du bétoum *Pistacia atlantica* Desf. Biologie et forêt. *Revue Forestière Française*, 4 : p 357-363.

[29]Reed,1995 Etude phytochimique et évaluation de l'activité antimicrobienne et antioxydante de l'huile essentielle et des composés phénoliques du pistachier lentisque (*Pistacialentiscus*L.). *J FundmentApplSci.*, 6(1), p 79-93.

[30]Richeter,1993 *Pharmacognosie et Phytochimie, Plantes Médicinales*. Paris, France: Lavoisier, p 279.

[31]Hatano, 2005 *Encyclopédie de botanique et d'horticulture (éd. française)*. Paris: éd Place des victoires(sous licence de Random House Australia).

[32]Nazck et Shahidi,2004 *Précis de botanique*. Paris, France: Masson.

[33]Tahiri,2008 Composition chimique et activités antioxydante, antimicrobienne et insecticide de l'huile essentielle de *Juniperusphoenicea*. *Journal de la Société Chimique de Tunisie* , 10, p 119-125.

[34]Grosnond,2001 *Recommandations relatives aux critères de qualité des huiles essentielles: Contribution pour l'évaluation de la sécurité des produits cosmétiques contenant des huiles essentielles*. Saint-Denis cedex: Agence française de sécurité sanitaire des produits de santé (AFSSPS), p 17.

[35] Barnes, 2007 *Propriétés physiques et psychiques des huiles essentielles*. France: Editions Diffusion crucienne, p 365.

[36]Cowan,1999 Etude comparative des composés phénoliques, du pouvoir antioxydant de différentes variétés de sorgho sénégalais et des enzymes amylolytiques de leur malt. *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.* 14(1): p 131-139.

[37]Duke,1990 Matière médicale aromatique fondamentale. Dans R. Jollois, *L'aromathérapie exactement, encyclopédie de l'utilisation thérapeutique des huiles essentielles*. édition Limoge. p 317-406

[38]pousset,1994 Toxicité des essences végétales du commerce (Sauge, Hysope). *Thèse doctorat* . Marseille, France.

- [39]OMS,2002 *le stress oxydant. Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique.* L'actualité chimique, p 108- 115.
- [40]Baricevic et Bartol,2000 *Analyse des antioxydants naturels dans les matières premières et les produits.* Euroforum-Polyphénols, Paris, France.
- [41] Nawall,1996 *Les ressources naturelles d'origine végétale au Niger : les possibilités de leur valorisation sous forme de biopesticides.* séminaire-atelier, Niamey, Niger, 28 octobre-8 novembre 1996.
- [42]Farag,1986 *Les huiles essentielles extraites des plantes médicinales marocaines: moyen efficace de lutte contre les ravageurs des denrées alimentaires stockées. Rapport de stage.* Faculté des sciences, Rabat, Maroc.
- [43]Gaspari,1979 Les antioxydants. Dans M.-C. Martini, & M. Seiller, *Actifs et additifs en cosmétologie* (éd. 2ième édition). Paris, France: Éditions Tec & Doc.p337-352
- [44]Nicolette, 2000 Huiles essentielles de certaines plantes medicinales libanaises de la famille des lamiaceae. *Lebanese Science Journal* , 7 (2), p13-22.
- [45]Back,1987Découvrir les bienfaits et les vertus d'une médecine ancestrale. Edit. FermandLanore, p 315.
- [46]Noll,1951Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. Tome 2. *Centre national de la recherche scientifique*, Paris, France.
- [47]kupeli,2007Se soigner par les Huiles Essentielles. Edition Amyri. p 145-146.
- [48]Cuvelier,1994Antimicrobialactivity of 20 plants used in folkloricmedicine in the palestinian area. *J Ethnopharmacol*,60 : p 265-271.
- [49]Madsen et Bertelsen ,1995Activité antimicrobienne des huiles essentielles de *Pistaciaatlantica*Desf. de l'Algérie. *Phytothérapie*, Vol. 7, No6, p 304-308.
- [50]Lafranchi,1998Pharmacognosie phytochimie plante médicinales .Tec et Doc. Paris. p 125-130

- [51] **Julien,2013**Aromathérapie pratique et familial. Ed : MBD. France
- [52] **Macheix, 2005**Plante aromatiques : épices, aromates, condiment et huile essentielle. Ed : Tec et doc. Paris : p 521.
- [53] **Cotelle,1995**Communiqué du comité française de l'antibiogramme. Société Française de Microbiologie. Ed : de janvier.
- [54] **De lazar,2004**Immunopathologie et reactioninflammatoires.Ed:DE Boeck superieur. p 23
- [55] **Zohary, 1952** Les plantes qui nous soignent – Tradition etthérapeutique. Ouest-France.
- [56] **Belfadel ,2009**Activité antibactérienne de l'huile essentielle de*Pistacialentiscus*L. de deux stations de la région de Tlemcen (Algérie). *Actes du congrès international*, Mezraoua (Taounate) &Fès, Maroc, p 281-285.
- [57] **tutin,1968**Histoire et renouveau des plantes médicinales. Ed : Albein Michel. Paris : p 300-303
- [58] **Quezel et santa,1963**Tisaneurs et plantes médicinales réunionnaises d'aujourd'hui. Ed : Orphie. p 50
- [59] **Ozenda,1983**Flore du Sahara. 2ème éd. *Centre national de la recherche scientifique*, Paris, France.
- [60] **Mekious,1997**Plante dans la médecine traditionnelle etla cuisine algérienne. Ed : RVBIA. p 51
- [61] **Belhadji,2001**Les pistacheraies algériennes: Etat actuel et dégradation. 11ème Colloque du GREMPA sur le pistachier et lamandier. Zaragoza : CIHEAM-IAMZ, p 107-109.
- [62] **Ozber, 1985** 1000 plantes aromatiques et médicinales. Ed: Terre: p 242
- [63] **Seigue,1985**Tisaneurs et plantes médicinales indigènes de l'ile la réunion orphie. p 20.
- [64] **kawashty, 2000**Antioxydant and antimicrobialactivities of the *Pistacialentiscus*and *Pistaciaatlantica*extractsatlanticaextracts. African J of Pharmacy and Pharmacology, 2(2): p 22-28.

- [65] **Nagao,1999**Le foret circumméditerranéenne et ses problèmes. Ed :Maisonneuve and laroseParis , p 502
- [66] **Baratto,2003**Prétraitement des semences. *Le Flamboyant*, 28: p 21-22
- [67] **gardele, 2008**L'étude des activités biologiques des extraits desfeuilles de *Lauriusnobilis*, *Thymus vulgaris*. Thèse de magistère. p 170.
- [68] **Bendouissa,2005***New study of the essential oilfromleaves of Pistacialentiscus L. (Anacardiaceae) fromTunisia. Flavourand J'ragrance Journal, 20: p 410-414*
- [69] **De pooter,1991**Une médecine nouvelle phytothérapie et aromathérapie. Ed : Presses de la renaissance. ISNB 2-85616-121-9.p 20
- [70] **Duru,2003**Effets antiinflammatoires de *Pistacialentiscus* dans un modèle d'asthme expérimental, *Thérapeutiques / Revue française d'allergologie* 3, p 266–273.
- [71] **Villar, 1994**Activité biologique de 24 flavones : inhibition de la xantine oxydase et capture de radicaux libres. *Edition INRA*, p 395-396.
- [72] **Yousfi,2002**Etude de la fraction phénolique des huilesd'olive vierge et d'argane du Maroc. *Actes de l'institut Agronomique et Vétérinaire, 8 (1et2): p 17-21.*
- [73] **PalevitchetYaniv,2000**structure, propriétés biologiques, rôle prophylactique et emplois en thérapeutique. *Phytothérapie*, 4: p 162-169.
- [74] **Ouelmouhoub,2005**L'agrobiodiversité dans les agrosystèmes traditionnels de montagnes: Cas du Rif marocain. Mémoire de troisième cycle. Université Abdelmalek Essaâdi, Faculté des Sciences, Tétouan, Maroc.
- [75] **Villaret Cool,1987**Les composés phénoliques. *Biochimie végétale*. Edition Masson, Paris p 167-231.
- [76] **Abdelrahmen et saad, 2005** Les composés phénoliques des végétaux. Presses Polytechniques et Universitaires Romandes, p 192.
- [77] **Leprieur,1860**J de médecine, chirurgie et de pharmacie, 3ème volume, Publié par la société de science médicale et naturelle de bruscelles, p 614 -615.

- [78] **Li,1999**Manuel des corps gras 1. lavoisier TEC DOC. p 65.
- [79] **Maamri,2008**Etude de *Pistaciaatlanticade* deux régions de sud algérien : dosage des lipides, dosage des polyphénols, essais antileishmaniens. Mémoire de magistère.Université de Boumerdes, Algérie, p 109 .
- [80] **Belkhier, 2010**Plantes médicinales du Maroc: Usages et toxicité. Département de pharmacie- toxicologie. Institut Agronomique et vétérinaire Hassan 11. B.P 6202, Rabat-Institut, Maroc.
- [81] **Franklet Meyer,2000**Les plantes médicinales de la plante au médicament, Exposition temporaire du 19.09 au 30.06.2000.
- [82] **Diouf, 2006**Encyclopédie des Arbres plus de 1800 Espèces et Variétés du Monde, Flammarion, p 18-24.
- [83] **Hammer, 1999**Notions générales sur les composés phénoliques. In : Les composés phénoliques des végétaux. Edition Dunod P 1-27.
- [84] **Dorman, 2000**Larousse encyclopédie des plantes médicinales. Ed : Larousse Bordas, Milan. p 9-15 et p 292-297
- [85] **ISO 659, 1988** Graines oléagineuses- détermination de la teneur en huile. International organisation for Standardisation (ISO). Geneva
- [86] **Boukeloua, 2009**La pharmacopée marocaine traditionnelle. Editions Le Fennec. Casablanca. 766pp. Bensegueni, A., 2007. Les onguents traditionnels dans le traitement des plaies et des brulures. Thèse d'Etat en sciences vétérinaires. Université Mebtouri. Constantine. p 21-22.
- [87] **carré P, 1953**Les huiles végétales c'est malin. Leduc.s Éditions, 22 août, 256 pages. p 13, 19, 20, 21, 35.
- [88] **AFNOR, 1989** : les huiles essentielles. 3^{ème}Recueil des normes françaises
- [89] **Trease et Evans, 1987**Contribution aux études ethnobotaniques et floristiques en République Populaire du Bénin. Paris : ACCT.

- [90] **Paris, 1969** Les plantes et les médicaments, l'origine végétal de nos médicaments. Edition *Delachaux et Niestlé SA*, Paris.
- [91] **Harborne, 1973** Caractérisation chimique de la matière organique au cours du traitement des eaux usées par boues activées. Thèse en Océanologie, Météorologie, Environnement. Université de Paris VI: p303.
- [92] **Earnsworth, 1974** Contribution au traitement des plaies à l'aide d'un hydrogel d'amidon. Thèse Doctorat Vétérinaire. Toulouse, France, p 49.
- [93] **Risk, 1982** Les composés phénoliques. Métabolisme des végétaux (physiologie et biochimie). Edition *DUNOD*: p 317-339.
- [94] **Pans et Movse, 1969** Medicinal plants. London: J. and A Churchill, p 68.
- [95] **Géorgé, 2005** Précis de matière médicinale (Tome 3). Paris: Masson et Cie.
- [96] **Bahorum, 1996** Contribution aux études ethnobotaniques et floristiques en République Centrafricaine. Paris: ACCT.
- [97] **Heimler, 2006** Les plantes médicinales. ED. Solor, p 2276-2277.
- [98] **BRAND, 1995** Les composés phénoliques. Biochimie végétale. Edition Masson, Paris p 167-231.
- [99] **BEKTAS, 2005** Etude ethnobotanique et perspectives thérapeutiques de plantes traditionnellement utilisées au Bénin et au Togo. Thèse Doctorat de Pharmacie, Univ. Reims p 102, 24.
- [100] **Sharififar, 2007** étude botanique écologique et propriétés antifongiques, Thèse de doctorat, l'Université de Reims Champagne-Ardenne UFR Pharmacie et de l'université de lome.
- [101] **Kishor, 2005** Gestion thérapeutique des plaies étendues chez le chien et le chat. Nouveau Praticien Vétérinaire, Hors série : Hospitalisation, p 125-130.

[102] **Broadasky, 1976** Contribution à l'étude chimique de l'huile d'arganiaspinosa (L.) (Sapotaceae). Thèse Sciences Université de Perpignan. France.

[103] **Doumandj, 2010** Laboratoire de pharmacognosie, Faculté de pharmacie, rue Avicenne, 5000 Monastir, Tunisie. *Phytothérapie*, p1: 28-34.

[104] **Hwanhlem, 2011**. Recettes de la Médecine traditionnelle. Bull. Méd. Trad. Pharm 2, p 217.

[105] **CLSI, 2008** Comparaison de l'effet anti-prolifératif de trois stéroïdes végétaux(diosgénine,hécogénine, tigogénine) sur la lignée 1547 d'ostéosarcome humain. Implication de la mitochondrie et de lacyclooxygénase-2 dans l'apoptose induite par la diosgénine sur les lignées 1547, HEp-2 (laryngocarcinome) et M4Beu (mélanome).Thèse de doctorat, Université de limoge, France.

[106] **(UICPA 2..101.1999)**.La pharmacopée marocaine traditionnelle, Médecine arabe ancienne et savoirs populaires. Ibis Press, Paris, P. 764.

[107] **Gardeli, 2008**.Le Maghreb à travers ses plantes: plantes, productions végétales et traditions au Maghreb. Eds. Le fenec.

[108] **Ponce, 2003**.Plantes aromatiques : épices, aromates, condiments et huiles essentielles. Lavoisier Tec et Doc, Paris. p45-96