



MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE
LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
UNIVERSITÉ ABDELHAMID IBN BADIS - MOSTAGANEM

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 feuilles de
Pistacia Lentiscus

Etudiant(e) : **MIDANI Mohammed**

Encadrant(e) : **Mme N. MESSAOUDI**

Année Universitaire 2017-2018

Remerciements

Au nom de **Dieu** le tout puissant, et le salut sur le prophète Mohamed
messager 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 Ayat saada 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

Avec l'aide de Dieu tout puissant, on a pu achever ce modeste

travail que je dédie :

A la personne importante de ma vie dont l'affection, l'amour et les conseils m'ont toujours aidé et qui a sacrifié sa vie pour mon éducation : ma mère.

A l'autre personne qui m'a toujours servi de modèle dans la vie, en témoignage de l'amour, du respect et de la gratitude que je lui porte et j'espère que par ce travail je pourrai l'honorer : mon père

A mes frères : «Abed El Kader, Tayeb, Ahmed et Bou Abed ullah» dont leurs fraternités m'ont toujours aidée.

A mes sœurs adorées : «Aicha, Halima, Fatima et Samia» dont leurs amitiés et complicités m'ont toujours servi.

A mes cousins et cousines

A tous mes collègues qui ont partagé avec moi les plus belles années à l'université et exceptionnellement : Mouad, Mohemmed, Youcef, Nacer, Abba, Nabil, Hociene.K, Sara, Aicha, Nesrine.

A toute ma promotion 2017-2018.

Résumé

La présente étude porte sur l'évaluation des activités antioxydants et antimicrobienne des huiles essentielles et des flavonoïdes des feuilles de la *Pistacia lentiscus*. Qui est utilisées par une grande popularité en Algérie pour ses propriétés thérapeutiques. L'extraction par hydrodistillation sur un appareil de type clevenger des feuilles de *Pistacia lenliscus* récoltés dans la région du RAMKA de la wilaya de RELIZANE. Nous donne un rendement en huile essentielle de 0,054 % avec une densité de 0,80 et un indice de réfraction de $N_t = 1,4828$. Les résultats obtenus révèlent que l'huile de *Pistacia lentiscus* possède une teneur considérable en polyphénols (44,463 μg équivalent d'acide gallique /mg d'huile), les tannins (14,179 μg équivalent de catéchine/mg d'huile) et les flavonoïdes (20,105 μg équivalent de quercétine/mg d'huile). L'Etude du pouvoir antioxydant de notre huile essentielle est effectué par le test DPPH sur chromatographie sur couche mince (CCM) et la méthode de Test du DPPH* par spectrophotométrie qui permet de déterminer la concentration d'inhibition 50% (IC50) qui est égale à 1,961 ($\mu\text{g/ml}$), et un pourcentage de l'activité antiradicalaire atteint jusqu'à 97,3%. L'huile essentielle de *Pistacia lentiscus* a une activité bactéricide importante d'après les zones d'inhibition on remarque que les diamètres des zones d'inhibition varient de : 26 mm dans le cas de *Bacillus subtilis*, 15 mm pour *Condida albicans*, 14 mm pour *Aspergillus nigeret Bacillus cereus*, 12 mm pour *Staphylococcus aureus*, 10 mm pour *Escherichia coli* et 9 mm pour *Pseudomonas aeruginosa* qui sont prouvés par la méthode des disques.

Mots clés : *Pisiacia lentiscus*; Huiles essentielles ; Activité antimicrobienne ; Activité antioxydante .

Liste des Abréviations :

PMA : plantes médicinales et aromatiques

HE :huile essentielle

DPPH: 2,2 diphenyl-picryldrazyl

CCM : chromatographie couche mince

°C : degré Celsius

mm: millimètre

UV : ultra-violet

AlCl₃: Chlorure d'aluminium

HCl : acide chlorhydrique

HgCl₂ : chlorure de mercure

NaOH: soude (hydroxyde de sodium)

NH₄OH: ammoniac

mg: milligramme

h : heure

min: minute

ml: millilitre

% : pourcentage

µl : microlitre

µg : Microgramme

Eq : équivalent gramme

C.M.I : concentration minimale inhibitrice

Liste des tableaux :

Tableau 1 : Noms vernaculaires de <i>Pistacia lentiscus</i>	9
Tableau 2 : les principaux chimique de composés phénoliques	20
Tableau 3 : classification des flavonoïdes.	21
Tableau 4 : la nature et l'origine de différentes souches pathogènes utilisées.	42
Tableau 5 : composition de bouillon nutritif.	42
Tableau 6 : composition de Muller Hinton.....	43
Tableau 7 : diamètres des zones d'inhibition de la croissance microbienne	55

Listes des figures :

Figure 1 : L'arbre de <i>Pistacia lentiscus</i> L.	11
Figure 2 : les feuilles	10
Figure 3 : Les fleurs.....	10
Figure 4 : Les folioles.....	11
Figure 5 : les fruits.....	11
Figure 6 : Distribution géographique de genre Pistacia	12
Figure 7 : Les monoterpènes	18
Figure 8 : les fonctionalcools des monoterpènes.	19
Figure 9 : Structures chimique de composés phénoliques.	20
Figure 10 : Noyau flavone	21
Figure 11 : Composé phénolique.	23
Figure 12 : Structure chimiques des alcaloïdes.....	23
Figure 13: présentation de <i>Pistacia lentiscus</i>	34
Figure 14 : les feuilles de <i>pistacia lentisque</i> avant séchage.....	34
Figure 15 : les feuilles de <i>pistacia lentisque</i> après séchage.	34
Figure 16 : Carte géographique de la région de RELIZANE.	35
Figure 17 : Montage clevenger.	36
Figure 18 : Réaction d'un donneur d'hydrogène (antioxydant) avec le radicale DPPH'	40
Figure 19 : Test de l'aromatogramme (méthode des disques)	44
Figure 20: la méthode de micro dilution.....	45
Figure 21 : la cinétique d'extraction.....	47
Figure 22 : Taux d'humidité des feuilles <i>Pestacia lentiscus</i>	47

Figure 23 : l'huile essentielle de <i>pistacia lentiscus</i>	48
Figure 24 : Courbe d'étalonnage des composés phénoliques.....	49
Figure 25 : courbe d'étalonnage des flavonoïdes totaux.....	50
Figure 26 : courbe d'étalonnage des tannins	51
Figure 27 : test DPPH sur CCM.....	52
Figure 28 : Activité antiradicalaire de l'huile de <i>Pistacia lentiscus</i> vis-à-vis radical DPPH' ..	53
Figure 29 : Zones d'inhibitions de la croissance microbienne obtenue.	54
Figure 30 : diamètres des zones d'inhibition de la croissance microbienne.....	55
Figure 31 : histogramme des résultats de CMI	56

Sommaire

<i>Remerciement</i>	I
<i>Dédicace</i>	II
<i>Résumé</i>	III
<i>Liste d'abréviations</i>	IV
<i>Liste des tableaux</i>	V
<i>Liste des figures</i>	VI
Introduction générale	1

Partie 1 : Recherche bibliographique

I. Les plantes médicinales et aromatiques	5
1. Généralité sur les plantes médicinales	5
2. La phytothérapie	5
3. Les huiles essentielles	6
4. Les huiles végétales	6
5. Propriétés biologiques des molécules bioactives	7
5.1. Propriétés antioxydantes	7
5.2. Propriétés anti-inflammatoires.....	7
5.3. Propriétés anti-allergiques	7
5.4. Propriété anticancéreuse	8
5.5. Propriété anti-enzymatique	8
II. Présentation de l'espèce végétale <i>Pistacia Lentiscus L</i>	9
1. Définition	9
1.1. Les feuilles	10
1.2. Les fleurs.....	10
1.3. Les folioles.....	10
1.4. Le fruit	11
2. Habitat	11

3. Usages thérapeutiques	12
3.1. Usages des feuilles	13
3.2. Autres usages	13
4. Etude chimique de l'espèce <i>Pistacia lentiscus</i>	13
4.1. Feuilles	13
4.2. Fruits	13
4.3. Mastic	14
4.4. L'huile essentielle	14
4.5. L'huile fixe de <i>Pistacia lentiscus</i>	14
III. Les huiles essentielles	15
1. Définition.....	15
2. Historique	15
3. Localisation et répartition	15
4. Fonction	16
5. Propriétés physico-chimiques des Huiles Essentielles.....	16
6. Méthodes d'extraction	16
6.1. Hydrodistillation.....	17
6.2. Entraînement à la vapeur d'eau.....	17
6.3. Hydrodiffusion	17
6.4. Autres procédés	17
7. Purification et conservation	17
8. Toxicité des Huiles Essentielles.....	18
9. Composition chimique	18
9.1. Dérivés terpéniques	18
9.1.1. Les monoterpènes (C10)	18
9.1.2. Les sesquiterpènes (C 15)	19
9.2. Les composés phénoliques	19
9.2.1. Flavonoïdes.....	21
9.2.2. Les tannins.....	22
9.2.3. Les coumarines	22
9.2.4. Les alcaloïdes.....	23
9.2.5. Les saponines.....	23
9.2.6.Effets des composés phénoliques	24
10. Activités biologiques des extraits des plantes.....	24

11. Applications des HE	26
IV. Evaluation de l'activité antioxydant et antibactérienne des huiles essentielles.....	29
1. Evaluation de l'activité antioxydante	29
2. Evaluation de l'activité antibactérienne	30
2.1. Le mode d'action antimicrobienne des huiles essentielles	31
2.2. Huile essentielle comme agents antimicrobiens	32

Partie 2 : Matériel et méthodes

1. Matériel végétal	34
2. Période de la récolte du matériel végétal	35
3. Conservation du matériel végétal	35
4. Méthode d'extraction de l'huile essentielle de <i>Pistacia lentiscus</i>	35
5. Description de l'appareil de distillation	36
6. La cinétique d'extraction	36
7. Analyse de l'huile essentielle de <i>Pistacia lentiscus</i>	36
7.1. Détermination de la matière sèche et de l'humidité	36
7.2. Calcul du rendement	37
7.3. La densité	37
7.4. Indice de réfraction	38
8. Dosage des polyphénols totaux	38
9. Dosage des flavonoïdes	39
10. Dosage des tannins	39
11. Etude du pouvoir antioxydante de l'huile essentielle de <i>Pistacia lentiscus</i>	39
11.1. Test du DPPH' sur CCM d'huile essentielle du <i>Pistacia lentiscus</i>	40
11.2. Test du DPPH' par spectrophotométrie d'huile du <i>Pistacia lentiscus</i>	41
11.3. Détermination du pourcentage d'inhibition	41
12. Activité antibactérienne des HE	41
12.1. Matériel biologique	41
12.2. Origine des souches microbiennes	42
12.3. Milieux de culture	42
12.4. Réactivation de souches pathogènes	43
12.5. Test de l'aromatogramme (méthode des disques)	43
12.6. Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI)	44

Partie 3 : Résultats et discussion

1. Optimisation de la cinétique d'extraction :	47
2. Détermination de la teneur en eau	47
3. Détermination du rendement :	48
4. Détermination de la densité :	48
5. Détermination de l'indice de réfraction :	48
6. Analyse de l'Huile fixe de <i>Pistacia lentiscus</i>	49
6.1. Dosage des polyphénols totaux	49
6.2. Dosage des flavonoïdes.....	50
6.3. Dosage des tannins	50
7. Effet scavenger du radical DPPH•	51
7.1. Résultats de tests DPPH• par CCM	51
7.2. Test du DPPH• par spectrophotométrie d'huile du <i>Pistacia lentiscus</i>	52
8. Activité antimicrobienne de l'huile essentielle de <i>Pistacia lentiscus</i>	53
9. La concentration minimale inhibitrice (CMI)	56
Conclusion	57
Références bibliographiques	59

INTRODUCTION GENERALE

Introduction :

Pendant des siècles, l'homme s'est toujours soigné par les plantes, de manière empirique, guidé par la tradition ou les coutumes. La plupart de grands médecins du passé ont été des phytothérapeutes [1].

Les plantes médicinales sont des drogues végétales au sens de la Pharmacopée européenne dont au moins une partie possède des propriétés médicamenteuses. Il est actuellement prouvé qu'environ 20% des espèces végétales poussant dans le monde entier possèdent des vertus thérapeutiques ou cosmétiques, car elles contiennent des molécules ou des principes actifs à différentes propriétés biologiques, qui trouvent leur application dans divers domaines (médecine, pharmacie, cosmétologie et agriculture, etc.). Parmi ces molécules ou ces constituants chimiques figurent les huiles essentielles [2].

Actuellement, les plantes aromatiques ont des applications de leurs huiles essentielles dans les soins de santé. De nos jours, nous comprenons que les principes actifs sont souvent liés aux métabolites secondaires des plantes médicinales, qui sont largement utilisés en thérapeutique, comme des agents préventifs, anti-inflammatoires, antimicrobiens, antiseptiques, diurétiques, mais essentiellement comme des antioxydants pour la lutte contre le stress oxydatif. Ainsi que leurs utilisations dans d'autres domaines d'intérêt économique. Leurs nombreux usages font qu'elles connaissent une demande de plus en plus forte sur les marchés mondiaux [3,4].

L'Algérie, compte parmi les pays du bassin méditerranéen les plus riches en ressources phytogénétiques à intérêt aromatique et médicinal, vu la diversité de ses étages bioclimatiques. On dénombre à plus de 300 espèces à usage thérapeutique ou aromatique existant parmi les 3150 espèces végétales que compte notre pays [5].

Le genre *Pistacia lentiscus* est un arbrisseau appartenant à la famille des Anacardiaceae, cette plante est largement utilisée par la population locale dans la médecine traditionnelle. L'huile de lentisque, est une huile végétative extraite à partir de l'espèce *Pistacia lentiscus*.

Cette huile est utilisée dans la médecine traditionnelle pour le traitement des petites blessures, brûlures légères et érythèmes. Elle est employée par voie orale contre les problèmes respiratoires d'origine allergique et les ulcères de l'estomac. Aussi sont utilisés

depuis longtemps dans un intérêt économique pour préparer le chewing-gum. La substance responsable est une substance visqueuse qui est la résine [6-8].

Malgré sa large utilisation en médecine traditionnelle, peu de travaux scientifiques ont été réalisés pour déterminer la composition chimique et les propriétés pharmacologiques de l'huile de *Pistacia lentiscus*, récolté de Ramka près de la wilaya de Relizane Ceci, nous a poussé à étudier la composition de cette l'huile et voir leur pouvoir antioxydant et antibactérienne.

Notre rapport est constitué de trois parties :

La première constitue une synthèse bibliographique regroupant les principales informations sur les plantes médicinales et leurs molécules bioactives, suivi par les aspects botanique, biologique, chimique et pharmacologique spécifiques de l'espèce *Pistacia lentiscus*.

La seconde partie de ce travail, concerne le matériel et méthodes utilisées pour l'extraction de l'huile de *Pistacia lentiscus* et leur activité antiradicalaire et antimicrobienne.

La troisième partie est consacrée à une discussion qui synthétise l'ensemble des résultats obtenus.

Nous achevons notre travail par une conclusion.

I. Les plantes médicinales

1. Généralités

L'utilisation des plantes médicinales fut le principal recours pour guérir l'homme. Cette utilisation est généralement adaptée aux pathologies légères, en visant un traitement symptomatique.

Il y'a presque 500 000 plantes sur terre, environ 100 000 d'entre elles, possèdent des propriétés médicinales attribuées à leur principes actifs qui agissent directement sur l'organisme. On les utilise aussi bien en médecine classique qu'en phytothérapie, elles présentent en effet des avantages dont les médicaments conventionnels sont souvent dépourvus [9].

En effet, l'usage de plantes médicinales peut apporter directement des réponses à certains problèmes de santé, mais avant de pouvoir recommander l'usage de telle espèce pour une maladie, il est nécessaire de valider l'usage traditionnel qui en est fait.

En d'autres termes, il convient d'évaluer scientifiquement l'activité pharmacologique de la plante médicinale retenue, et apprécier si celle-ci confirme sa réputation.

De plus, il est impératif de vérifier également l'absence de toxicité des plantes employées. L'usage de plantes médicinales locales, en réponse à des problèmes de santé peut-être perçu comme une alternative aux médicaments conventionnels [10].

2. La phytothérapie

En étymologie, le terme « phyto » de phytothérapie provient du grec ancien avec le terme plus précis de « phyton » et signifie « végétal ». La phytothérapie est donc la « thérapie par le végétal ou par le monde végétal », c'est la connaissance et l'utilisation des propriétés thérapeutiques des plantes.

La phytothérapie est une branche de la médecine. Elle repose essentiellement sur l'emploi des plantes médicinales. La plupart des plantes ne sont pas utilisées en entier, leurs principes actifs étant souvent concentrés dans une seule partie : racines, feuilles, fleurs....etc.

Les plantes peuvent être présentées de diverses façons : fraîches ou séchées pour faire des infusions, en gélules, en huile essentielle ou en ampoule buvable. Toutefois, il est conseillé d'avoir recours à la phytothérapie sur avis médical.

3. Les huiles essentielles

L'huile essentielle est un extrait végétal provenant des plantes dites : aromatiques qui contiennent donc dans leurs feuilles, fruits, graines, écorces, ou racines, un grand nombre de molécules aromatiques, qui constituent le ou les principes essentielles des plantes. Les huiles essentielles sont des substances de consistance huileuse, plus au moins fluides, voire rétinoides très odorantes, volatiles, souvent colorées : du jaune pâle au rouge foncé voir brun, en passant par le vert émeraude ou encore le bleu. Elles sont plus légères que l'eau (densité de l'ordre de : 0,750 à 0,990) [11]. Ces essences sont solubles dans l'alcool, l'éther, le chloroforme, les huiles, les émulsifiants et dans la plupart des solvants organiques, mais insolubles dans l'eau [11]. Ce sont des métabolites secondaires, la plante utilise l'huile pour favoriser la pollinisation, comme source énergétique, facilitant certaines réactions chimiques et conservant l'humidité des plantes dans les climats désertiques [12].

Les principaux constituants des huiles essentielles sont des terpènes (aliphatiques, acycliques, aromatiques...), des substances grasses, (intimement associées aux fonctions biologiques des organismes vivants) et plusieurs corps oxygénés aux propriétés chimiques diverses (alcools, aldéhydes, cétones, phénols, esters, acides organiques, coumarines, etc.). La composition chimique et le rendement en huiles essentielles varient suivant plusieurs conditions : l'environnement, le génotype, origine géographique, la période de récolte, le séchage, l'état sanitaire, la flore adventice..... [11,12].

4. Les huiles végétales :

Les huiles végétales contiennent des corps gras, obtenues par pression (huile de *lentiscus*) 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 [13]. 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 [14].

5. Propriétés biologiques des molécules bioactives

Les polyphénols et les huiles (végétale, essentielle) possèdent de remarquables activités biologiques et pharmacologiques dues essentiellement à leur pouvoir antioxydant et à l'inhibition de certaines enzymes productrices de radicaux libres [15,16].

5.1. 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 [17]. 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 [18-21].

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 [22].

5.2. Propriétés anti-inflammatoires

Les propriétés anti-inflammatoires des composés polyphénoliques peuvent être dues à leurs capacités d'inhiber des enzymes impliquées dans les processus inflammatoires [23], et leurs activités antioxydants. La matricaire, appelée également la camomille allemande ou camomille commune, est une plante médicinale employée pour ses propriétés anti-spasmodique et anti-inflammatoire [24].

5.3. Propriétés anti-allergiques

Les flavonoïdes sont également connus pour leurs effets antiallergiques. La quercétine exerce un puissant effet inhibiteur de la libération d'histamine à partir des Astrocytes [25]. Ils

agissent aussi par inhibition des enzymes qui favorisent la libération d'histamine à partir des mastocyte et des basophiles.

5.4. Propriété anticancéreuse

Les flavonoïdes et autre phénols peuvent jouer un rôle préventif dans le développement du cancer [26]. Ils interviennent dans l'étape d'initiation comme piègeurs des mutagènes électrophiles ou en stimulant la réparation de l'ADN muté. Durant les étapes de promotion et de progression, ils agissent comme des agents supprimeurs de tumeurs par différents mécanismes comme l'induction de l'apoptose et l'inhibition de la prolifération cellulaire [27].

5.5. Propriété anti-enzymatique

Les flavonoïdes sont des inhibiteurs enzymatiques in vitro. Ils agissent par la formation des liaisons covalentes et non covalentes (inhibition compétitive, non compétitive, mixte) [28].

II. Présentation de l'espèce végétale *Pistacia lentiscus* L

1. Définition :

Pistachier lentisque ou *Le lentisque* ou arbre à mastic (*Pistacia lentiscus* L) ; en arabe locale «Derou» ou «Tadist» est en général un arbuste de 1 à 8 m de hauteur (**figure 1**). [29]

Le nom *Pistacia lentiscus* donné à cette plante lui vient de mot latin " pistakia" constitue une altération du mot "foustak", nom arabe de l'espèce principale, et *Lentiscus*, vient du mot latin "*lentiscus*" nom de l'arbre au mastic [30].



Figure 1 : L'arbre de *Pistacia lentiscus*.

Tableau 1 : Noms vernaculaires de *Pistacia lentiscus* [31].

Langue	Noms
Berbère	Tidekth, Amadagh
Arabe	Derou, Sareys
Français	Arbre au mastic, Pistachier lentisque, Restringe, Lentisque d'Espagne
Anglais	Mastic ou masticktree
Espagnol	Lentisco, charnecacomun
Allemand	Mastixbaum
Italien	Lentischio, sondrio

Il se distingue des autres pistachiers par :

1.1. Les feuilles :

Composées à folioles en nombre pair 6 à 12, sont vert sombre, luisantes en dessus, glabres, entières, coriaces, persistantes ; le rachis (axe principal d'une feuille composée pennée, prolongement du pétiole) est bordé d'une aile verte. Quand on en déchire une, une odeur forte s'en dégage (**figure 2**). Autrefois, par incision de l'écorce on obtenait une résine odorante ou mastic qui servait de masticatoire (substance qui par mastication excite la salivation ; d'où son nom "arbre-aumastic"). C'est une espèce dioïque (qui possède des fleurs mâles et des fleurs femelles sur des pieds différents).



Figure 2 : les feuilles *Pisiacia*

1.2. Les fleurs :

Sont petites, en épis, et sont dépourvues de pétales ; verdâtres, rouges puis noires pour les femelles, jaunâtres pour les mâles. Floraison avril à juin (**figure 3**).



Figure 3 : Les fleurs *Pisiacia lentiscus*.

1.3. Les folioles :

Assez étroites et coriaces, sont ovales à elliptiques, terminées par une petite pointe. Leur nombre varie de 2 à 12 (**figure 4**).



Figure 4 : Les folioles *Pistacia lentiscus*.

1.4. Le fruit :

Est une petite drupe arrondie d'environ 5 mm. D'abord rouge, elle devient ensuite noire, la graine est identique aux pistachiers, mais beaucoup trop petite pour être consommée (**figure 5**). L'inflorescence en grappes composées lâches, aussi longues que les feuilles et la floraison a lieu pendant le mois mars à mai [32].



Figure 5 : les fruits *Pistacia lentiscus*.

2. Habitat :

Pistacia lentiscus est un arbrisseau que l'on trouve couramment en sites arides Asie et région méditerranéenne de l'Europe et d'Afrique, jusqu'aux Canaries [33]. On la rencontre dans les garrigues et surtout les maquis du bassin méditerranéen et les forêts [32], (figure 6).

Elle préfère les endroits pauvres en nutriments, en eau et aussi à une exposition longue des températures et des radiations solaires plus élevées [34].

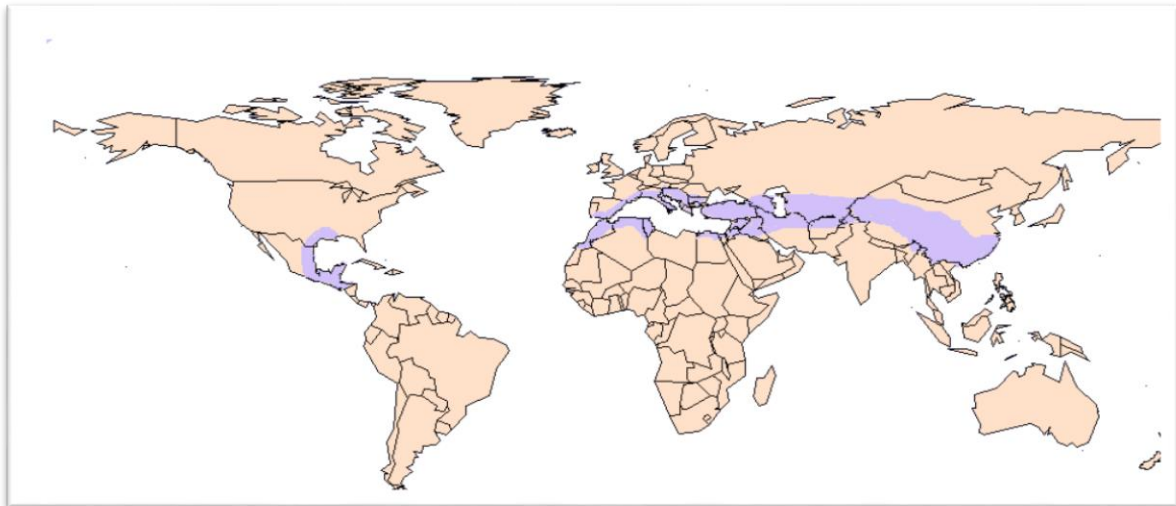


Figure 6 : Distribution géographique de genre *Pistacia* (Belfadel, 2009).

3. Usages thérapeutiques :

Les espèces du genre *Pistacia* occupent une place appréciable dans la médecine traditionnelle et pharmaceutique. Les qualités thérapeutiques de ces deux espèces sont connues depuis l'antiquité où les anciens égyptiens ont utilisé le mastic du *P.lentiscus* pour l'embaumement [7]. *Pistacia lentiscus* et *Pistacia atlantica* sont considérés comme deux espèces principales de la production d'oléorésine [6].

Cette résine est utilisée comme antiseptique du système respiratoire [8]. Elle possède une activité anti-*Helicobacter pylori* et peut être bénéfique dans le traitement d'ulcère de l'estomac [6].

Il est aussi suggéré que l'epilupeol et l'epilupeol acétate trouvés dans la résine de ces espèces ont une activité antivirale contre certains virus dans l'embryon du poulet. [35]

Une activité antidiabétique est notée pour la plante *P.atlantica*. Cet effet montre une inhibition significative de α -amylase dans une étude réalisée sur des rats [36].

L'écorce du *P.lentiscus* est largement utilisé contre l'hypertension dans certaines régions d'Espagne, les gens préparent la partie aérienne de la plante en décoction à 1% et prennent 150 ml, une fois par jour à jeun [37]. La résine de cette plante possède des activités antioxydante et antimicrobienne [35].

D'autres activités ont été soulignées : dans le traitement d'eczéma, diarrhées, jaunisse, l'asthme, antipyrétique et anti-inflammatoire [8].

3.1. Usages des feuilles :

Les feuilles sont pourvues d'activités anti-inflammatoire, antibactérienne, antifongique, antipyrétique, astringente, hépatoprotective, expectorante et stimulante [38].

Elles sont également utilisées dans le traitement d'autres maladies telles que l'eczéma, infections buccales, diarrhées, lithiases rénales, jaunisse, maux de tête, ulcères, maux d'estomac, asthme et problèmes respiratoires [37].

3.2. Autres usages :

La résine, cette substance purement économique, est très utilisée depuis longtemps pour préparer le chewinggum en Iran [6]. Elle entre dans la fabrication des dentifrices et des produits destinés au plombage [8]. L'huile essentielle d'oléorésine est aussi utilisée en parfumerie pour fabriquer les déodorants, en cosmétique et comme un agent de saveur dans les préparations alimentaires [6].

4. Etude chimique de l'espèce *Pistacia lentiscus* :

En raison de sa large utilisation en médecine traditionnelle, les différentes parties de *Pistacia lentiscus* en fait l'objet de plusieurs études phytochimiques à fin d'identifier leurs principes actifs.

4.1. Feuilles :

La composition chimique des feuilles de *Pistacia lentiscus* est caractérisée par la présence de glycosides de flavonoles comme la quercétine, myricétine, luteoline ainsi que l'isoflavonegenisteine. Elles contiennent 6 à 7% du gallotannins de faible poids moléculaire, à savoir l'acide gallique et les dérivés d'acide quinique 5-O-, 3,5-O-di- et 3, 4,5-O-trigalloyl [39].

4.2. Fruits :

Selon Luigia et al [40], les fruits de *Pistacia lentiscus* contiennent 5,4 mg/ml d'anthocyanines, essentiellement : cyanidine 3-O-glucoside (70%), delphinidine 3-O-glucoside (20%) et cyanidine 3-O-arabinoside (10%). De plus, des polyphénols ; l'acide gallique, le pentagalloylucose, et l'acide digallique ont été isolés de l'extrait d'acétate d'éthyle des fruits de *Pistacia lentiscus*. Les travaux réalisés par [36] ont montré aussi que les protéines représentent 5% du poids des fruits de *Pistacia lentiscus*.

La composition minérale de ces fruits montre que la teneur en potassium est la plus élevée (2,67%), alors que celles du sodium, calcium et phosphore sont de : 0,46, 0,37 et 0,004 % respectivement.

4.3. Mastic

Mastic d'odeur forte, en forme jaune qui est obtenue par incision du tronc est formée de 80 à 90% d'acide masticque et de 10 à 20% de masticine [35, 41].

L'huile essentielle de mastic est un liquide incolore, d'odeur balsamique très prononcée, cette essence est formée principalement de α -pinène, β -cymène et triterpénoïdes [41].

4.4. L'huile essentielle

L'huile essentielle représente 0,14- 0,17% du poids des feuilles de *Pistacia lentiscus*. Les études phytochimiques effectuées sur les huiles essentielles obtenues à partir des feuilles de lentisque des régions d'Alger, de Tizi-Ouzou et d'Oran ont montré la présence de longifolène, α -pinène, β -pinene, γ -cadinene, trans- β -terpinéol, α comeol, γ -muurolene, Sabinene et terpinén-4-ol [42].

Il représente 0,2% du poids des fruits, les monoterpènes à savoir, α -pinene, β pinene, β -myrcene, limonène, et α -phellandrène sont les composés caractéristiques de cette huile. Quelques sesquiterpènes, esters aliphatique, cétones, et des composés phénoliques (thymol et carvacrol ont été aussi identifiés [43,44].

4.5. L'huile essentielle de *Pistacia lentiscus*

L'huile de lentisque (dont les baies peuvent fournir 38,8 % du poids des fruits, elle contient 53% d'acide gras monoinsaturé) est de couleur verte 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 [45].

Le principal acide gras est l'acide oléique (50 -72%), suivie de l'acide palmitique (23,2%) et l'acide linoléique (21,7%), les autres acides gras sont retrouvés en faible quantités acide palmitoléique (1,3%), stéarique (1,1%), linoléique (0.8%), gadoléique (0,2%) et arachidique (trace)]. Quatre stérols ont été trouvés dans l'huile fixe, le β sitostérol (90%), le camestérol, les stérols et le stigmastérol [46].

III. Les huiles essentielles

1. Définition :

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 [22].

2. Historique :

Utilisées à des fins diverses depuis des millénaires, les plantes aromatiques ont toujours été tenues en haute estime par les thérapeutes du monde entier.

Sur le plan historique, les grandes civilisations connues pour avoir utilisé les plantes aromatiques sont : l'Inde, la Chine et le bassin méditerranéen. Ces civilisations ont légué à l'humanité des procédés et des connaissances dans le domaine des huiles essentielles dont la validité est toujours d'actualité. L'histoire de l'aromathérapie, qui est celle des HEs, peut se résumer en quatre époques :

L'époque où les plantes aromatiques étaient utilisées telles quelles ou en infusion ou en décoction ;

Ensuite celle, dans laquelle les plantes aromatiques étaient brûlées ou mises à infuser ou à macérer dans une huile végétale. A cette époque, intervient la notion d'activité liée à la substance odorante ;

La troisième époque correspond à la recherche de l'extraction de cette substance odorante. Il apparaît le concept "HE" qui aboutit à la création et au développement de la distillation ;

Enfin, la dernière époque qui est la période moderne dans laquelle la connaissance des composants des HE intervient et explique les effets physiques, chimiques, biochimiques, physiologiques, voire électroniques des arômes végétaux.

Ainsi, l'industrie des plantes médicinales est devenue, en peu de temps, le secteur de l'industrie pharmaceutique connaissant la plus forte croissance annuelle, soit 15 à 20%

3. Localisation et répartition:

2000 espèces de plantes sont capables d'élaborer les constituants qui composent les huiles essentielles avec une quantité appréciable. Ce nombre est réparti dans 60 familles. Les

Rutaceae, les Lauraceae, les Myrtaceae, les Umbellifereae (Apiaceae), les Labiateae (Lamiaceae), les Compositeae (Asterales) et les Pinaceae sont particulièrement riches en huiles essentielles [47].

Les huiles essentielles se forment dans le cytosol des cellules où, soit elles se rassemblent en gouttelettes comme la plupart des substances lipophiles, soit s'accumulent dans les vacuoles des cellules épidermiques ou des cellules du mésophylle de nombreux pétales [47].

D'autres structures histologiques spécialisées souvent localisées sur ou à proximité de la surface de la plante sont impliquées dans l'accumulation des huiles volatiles. Ces structures regroupent les poils et les canaux secteurs et les poches sécrétrices [22].

4. Fonction :

Le rôle des terpénoïdes des huiles essentielles demeure le plus souvent obscur. Cependant, à l'appui des expérimentations, certains auteurs remarquent que certains d'entre eux ont un rôle écologique soit dans le domaine des interactions végétales (agent allélopathiques, notamment des inhibiteurs de germination) que dans celui des interactions végétal-animal : protection contre les prédateurs de la plante (insectes, champignons) et attraction des pollinisateurs. Pour quelques auteurs, ils pourraient constituer des supports à une «communication» et ce d'autant mieux que leur variété structurale autorise le transfert de «messages biologiques » sélectifs [22].

5. Propriétés physico-chimiques des Huiles Essentielles :

On trouve généralement les HEs incolores ou jaune pâles à l'état liquide à température ordinaire.

Toute les HE volatiles, odorantes et inflammables.

-Leur densité est le plus souvent inférieure à 1. Seules HEs officinales ont une densité supérieure à celle de l'eau.

-Elles sont peu solubles dans l'eau, solubles dans les alcools et dans la plupart des solvants organiques.

- Elles sont altérables et très sensibles à l'oxydation.

-Elles possèdent un indice de réfraction souvent élevé et sont douées d'un pouvoir rotatoire.

-Leur point d'ébullition varie de 160°C à 240°C.

6. Méthodes d'extraction :

L'extraction des huiles essentielles se fait par des procédés divers.

-Par distillation à la vapeur d'eau :

6.1. Hydrodistillation :

Elle consiste à immerger directement le matériel végétal à traiter dans un alambic rempli d'eau qui est ensuite portée à ébullition. Les vapeurs hétérogènes sont condensées sur une surface froide et l'huile essentielle se sépare par différence de densité [22].

6.2. Entraînement à la vapeur d'eau :

Le matériel végétal n'est pas en contact avec l'eau, la vapeur d'eau est injectée au travers de la masse végétale disposée sur une grille perforée au-dessus de la base de l'alambic. La vapeur pénètre les tissus de la plante et vaporise toutes les substances volatiles en éclatant les cellules [48].

6.3. Hydrodiffusion :

Elle consiste à pulser de la vapeur d'eau à très faible pression (<0.1 Bar) à travers la masse végétale, du haut vers le bas [49].

6.4. Autres procédés :

Irradiation micro-onde (microw aveassisted proccss: MAP) est une technique récemment développée et reportée par plusieurs auteurs. Elle permet l'extraction des huiles essentielles d'une façon à obtenir un bon rendement et au cours d'un temps limité [49].

Dans ce procédé, la plante est chauffée sélectivement par un rayonnement micro-ondes dans une enceinte dont la pression est réduite de façon séquentielle [22].

Le MAP utilise les micro-ondes pour exciter les molécules d'eau présentes dans les tissus de la plante en causant la rupture des cellules et la libération des huiles essentielles piégées.

Cette technique est appliquée aussi pour l'extraction des saponines à partir de quelques plantes médicinales [49].

7. Purification et conservation :

La relative instabilité des molécules constitutives des huiles essentielles rend leur conservation difficile. Les possibilités de dégradation sont nombreuses. Il convient de les éviter en utilisant des flacons propres et secs en aluminium, en acier inoxydable ou en verre teinté antiactinique, presque entièrement remplis et fermés de façon étanche (l'espace libre étant rempli d'azote ou d'un autre gaz inerte). Le stockage se fait à l'abri de la chaleur et de la lumière [22].

Afin d'éliminer toute trace d'eau dans les huiles essentielles (HE), le distillat récupéré est stocké au congélateur (-20°C) durant 24 h. On obtient ainsi une phase de l'eau congelée et une phase surmontée de l'huile essentielle. Cette dernière est transférée vers d'autres tubes en verre, stériles enveloppés et gardés au réfrigérateur à 4°C.

8. Toxicité des Huiles Essentielles :

Les HEs utilisées depuis des siècles présentent souvent des propriétés biologiques intéressantes. Cependant, certaines d'entre-elles peuvent révéler une toxicité qui peut être redoutable en raison de leur passage par voie transdermique et de leur impact sur certaines cibles de l'organisme. Elles peuvent par mésusage être utilisées non diluées et s'avérer toxiques en particulier chez l'enfant [50].

9. Composition chimique :

Les constituants des huiles essentielles appartiennent à deux grandes groupes, les terpénoïdes 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 enjeu des constituants non volatils [22].

9.1. Dérivés terpéniques :

Les terpènes les plus volatils dont la masse moléculaire n'est pas trop élevée sont les mono- et sesquiterpènes qui sont des hydrocarbures avec une formule générale (C₅H₈) [51].

1. Les monoterpènes (C₁₀) :

Dans le cas des hydrocarbures, les composés monoterpéniques correspondent le plus souvent à la formule brute C₁₀H₁₆. Ils peuvent être acycliques (myrcène), monocycliques (limonène) ou bicycliques (camphène). Ils constituent parfois plus de 90% de l'huile essentielle.

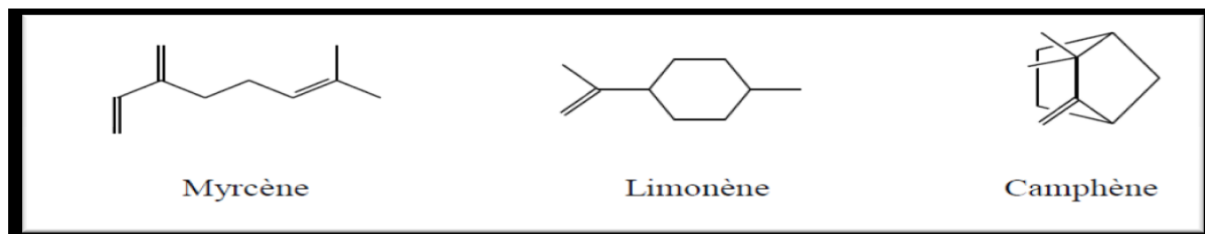


Figure 7 : Les monoterpènes

Les monoterpènes regroupent de nombreuses fonctions :

a) alcools :

Acycliques (citronellol), monocyclique (menthol), bicycliques (fenchol).

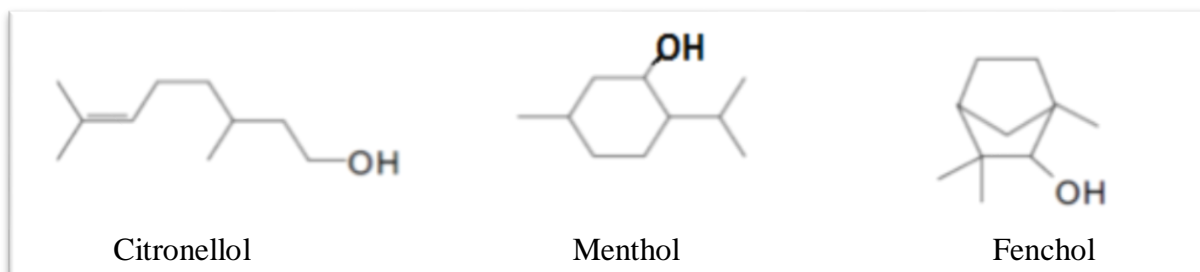


Figure 8 : les fonctions alcools des monoterpènes

b) aldéhydes :

Le plus souvent acycliques (citronellal).

c) Ester :

Acycliques (acétate de citronellyle), monocycliques (acétate de menthyle).

2. Les sesquiterpènes (C 15) :

Dont les variations structurales sont de même nature que les monoterpènes, carbures, alcools et cétones étant les plus fréquents. L'allongement de la chaîne farnésyldiphosphate (FPP) accroît le nombre des cyclisations possibles, d'où la très grande variété des structures connues [22]. Il est estimé qu'il y a plus de 1000 structures des monoterpènes et 3000 sesquiterpènes [51].

9.2. Les composés phénoliques :

Les composés phénoliques ou polyphénols sont des métabolites secondaires caractérisés par la présence d'un cycle aromatique portant des groupements hydroxyles libres ou engagés avec un glucide. Ils sont présents dans toutes les parties des végétaux supérieurs (racines, tiges, feuilles, fleurs, pollens, fruits, graines et bois) et sont impliqués dans de nombreux processus physiologiques comme la croissance cellulaire, la rhizogenèse, la germination des graines ou la maturation des fruits [52].

Les composés phénoliques peuvent être regroupés en plusieurs classes qui se différencient d'abord par la complexité du squelette, ensuite par le degré de modification de ce squelette

(degré d'oxydation, d'hydroxylation et de méthylation, etc.). Enfin par les liaisons possibles de ces molécules de base avec d'autres molécules (glucides, lipides, protéines, ...etc.) [53].

Parmi les composés phénoliques, dont plus de 8000 sont connus, les flavonoides, les quinones phénoliques, les coumarines et d'autres classes existent en nombre considérable (Tableau 2)

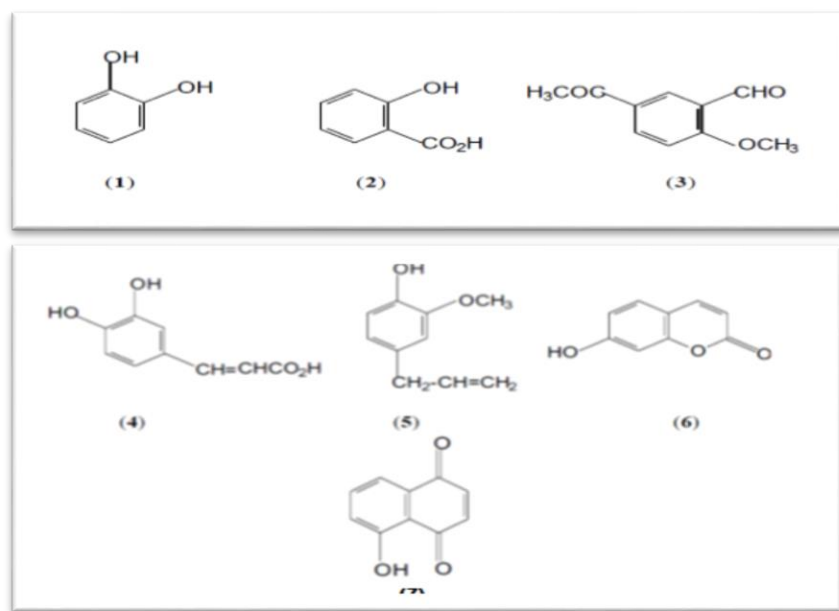


Figure 9 : Structures chimique de composés phénoliques.

Tableau 2 : Les principaux composés phénoliques

N° carbone	Squelette de base	Classe	Exemple
6	C ₆	Phénol simple	Catéchol (1)
7	C ₆ -C ₁	Acides phénoliques	Acide salicylique (2)
8	C ₆ -C ₂	Acétophénonnes	3-acétyl-6-méthoxybenzaldehyde(3)
9	C ₆ -C ₃	- Acide hydroxycinnamique - Phénylpropènes - Coumarines	- Acide caféique (4) - Eugénol (5) - Ombelliférone(6)
10	C ₆ -C ₄	Naphtoquinones	Juglone(7)

9.2.1. Flavonoïdes :

Les flavonoïdes sont des substances naturelles issues des plantes présentes dans tout le règne végétal. Ce sont des pigments responsables de la coloration des fleurs, des fruits et des feuilles. Ils sont universellement présents dans la cuticule foliaire et dans les cellules épidermiques des feuilles. Et sont susceptibles d'assurer la protection des tissus contre les effets nocifs du rayonnement UV.

Les flavonoïdes sont des dérivés du noyau Flavone ou 2-phényl-chrome portant des fonctions phénols libres, éthers ou glycosides.

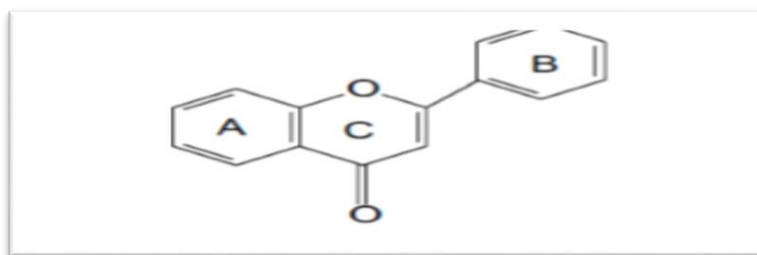
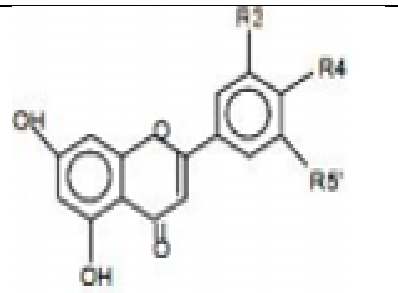
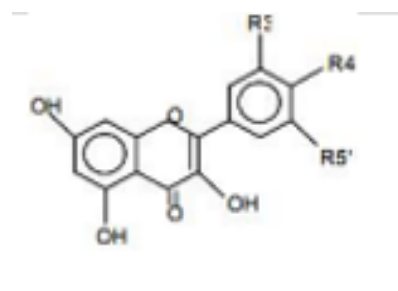
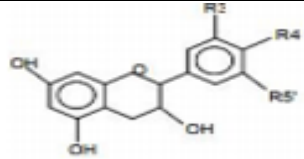
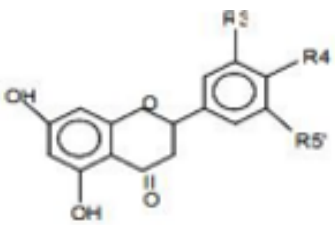
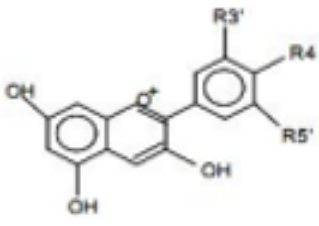
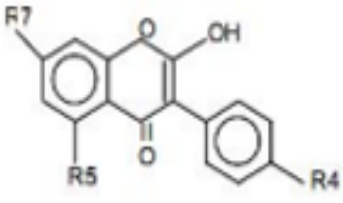


Figure 10 : Noyau flavone.

Tableau 3 : classification des flavonoïdes.

Classes	Structures chimiques	R3'	R4'	R5'	Exemples
Flavones		H	OH	H	Apigénine
		OH	OH	H	Lutéonine
		OH	OCH ₃	H	Déosmétine
Flavonols		H	OH	H	Kaempférol
		OH	OH	H	Quercétine
		OH	OH	OH	Myrecétine

Flavanols		OH	OH	H	Catéchine
Flavanones		H	OH	H	Naringénine
		OH	OH	H	Eriodictyol
Anthocyanidines		H	OH	H	Pelargonidine
		OH	OH	H	Cyanidine
		OH	OH	OH	Delphénidine
Isoflavones		R5	R7	R4'	
		OH	OH	OH	Genisteine
		H	O- GLU	OH	Daidzeine

9.2.2. Les tannins:

Ce sont des composés phénoliques complexes d'origine végétale, ayant une masse moléculaire comprise entre 500 et 3.000. En plus des réactions classiques des phénols, ils ont la propriété de précipiter les alcaloïdes, la gélatine et de rendre la peau imputrescible en se fixant sur les protéines. Il existe deux groupes de tanins différents par leur structure aussi bien que par leur origine biosynthétique :

- Les tanins hydrolysables.
- Les tanins condensés.

9.2.3. Les coumarines :

Sont des composés phénoliques ayant un squelette de base en C6-C3, généralement hydroxylés en position 7, en 6,7 et en 6,7 et 8.

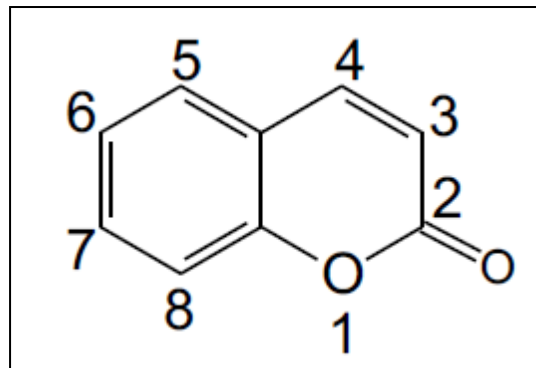


Figure 11 : Composé phénolique.

9.2.4. Les alcaloïdes :

Les alcaloïdes sont des composés azotés complexes, de nature basique, présentant généralement de puissants effets physiologiques. Ce sont pour la plupart des poisons végétaux très actifs, dotés d'une action spécifique.

Les alcaloïdes sont des hétérocycliques à caractère alcalin contenus essentiellement dans les plantes.

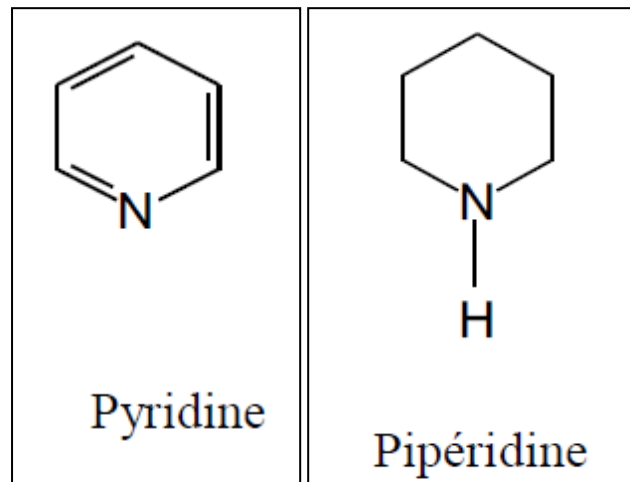


Figure 12 : Structure chimiques des alcaloïdes.

9.2.5. Les saponines :

Les saponosides sont une classe d'hétérosides très répandue chez les plantes et les animaux marins. Ce sont des glycosides stéroïdique ou triterpéniques qui ont les propriétés de former des solutions moussantes en présence d'eau et de précipiter le cholestérol.

a) Composés aromatiques :

Ces composés sont des dérivés du phénylpropane; il s'agit des noyaux aromatiques couplés de chaînes de 3 carbones (C3 -C3) donnant naissance à de nombreuses molécules chimiques voisines les unes les autres [53]. On trouve également dans les huiles essentielles des composés en C6-C1 comme la vanilline.

b) Composés d'origines diverses :

Les polyphénols naturels peuvent varier de molécules simples telles que l'acide phénolique à gros composés hautement polymérisés comme les tanins. Les formes conjuguées de polyphénols sont les plus courantes, où divers sucres, acides organiques et lipides (graisses) sont liées à la structure phénolique [54].

Il s'agit là de produits résultant de la transformation de molécules non volatiles:

- Composés issus de la dégradation d'acides gras.
- Composés issus de la dégradation des terpènes.
- Composés azotés ou soufrés [22].

9.2.6. Effets des composés phénoliques :

Il est actuellement admis que les polyphénols aident dans la prévention du cancer, la protection contre les maladies cardiaques et l'hypertension [54]. L'ingestion de ces polyphénols par l'intermédiaire des fruits et des légumes pourrait permettre à notre organisme de renforcer ses moyens de défense, grâce à leurs propriétés antioxydants, anti-inflammatoires, et anticancéreuses.

10. Activités biologiques des extraits des plantes :

Plusieurs études ont montré que les huiles essentielles sont dotées d'activités biologiques intéressantes.

- Activités Antioxydante des huiles essentielles :

Les huiles essentielles comme antioxydants sont très recherchées en détail pour étudier leur rôle protecteur vis-à-vis des lipides insaturés dans les cellules animales [51].

Elles montrent leurs actions comme des agents hépatoprotectives du vieillissement des mammifères. Dans le même contexte, Youdim et Deans [55] ont trouvé que le régime à base d'huile essentielle de thym et son composé majoritaire maintient des concentrations élevées en

acides poly-insaturés, en particulier les chaînes de C₂₀ et C₂₂ dans les fractions phospholipidiques du foie, le cerveau, le rein et le cœur.

En plus, les huiles essentielles possèdent des propriétés hypocholestérolémiantes en protégeant contre le cancer. Cet effet est expliqué par l'inhibition de l'activité de 3-hydroxy-3-méthylglutaryl coenzyme A (HMG-CO A) réductase qui est une enzyme hépatique régulateur de la synthèse du cholestérol [55].

Le bornéol, cinéol, citral, géraniol, menthone, menthol, fenchone, alcool fenchyl et linalone sont responsables à la suppression de l'activité hépatique de cette enzyme [55].

Dans la médecine traditionnelle de Mali, la population locale utilise l'écorce d'un arbre, *Pleposissuberosa* pour traiter des ulcères gastriques [56]. Les recherches ont montré que les terpénoïdes préviennent la formation des ulcères et diminuent sa sévérité. Ces substances sont capables par leur fraction lipophile de réagir avec les parties lipidiques des membranes cellulaires en stabilisant la fluidité de la membrane par la diminution de sa perméabilité. Grâce à leurs propriétés physico-chimiques et les configurations des molécules, elles peuvent influencer les enzymes, les transporteurs, les canaux ioniques et les récepteurs [51].

Il est suggéré que les huiles volatiles puissent jouer un rôle cytostatique pour les cellules tumorales. L'acide carnosique, camasol, l'acide carsolique, rosmarandiphénol et l'acide rosmarinique sont doués de cette activité [51].

Grâce à son activité antioxydante, le thym, l'origan, le marjolaine, la menthe verte, la lavande et le basilic sont utilisés dans l'industrie alimentaire afin de stabiliser certaines denrées alimentaires [55].

Il est reporté que l-cymène-2,3-diol, Thymol et carvacrol [55,56].

De thym possèdent des propriétés antioxydantes élevées. Cette puissance capacité est due à la présence des groupes phénoliques OH qui sont capables de donner l'hydrogène à des radicaux peroxyde durant le premier stade de l'oxydation des lipides.

Teissedre et Watrhouse [55]. Ont pu démontrer qu'il y a une corrélation élevée ($r=0.75$) entre les phénols des huiles essentielles et l'oxydation du LDL in vitro.

- **Activité antimicrobienne :**

Les huiles essentielles possèdent des propriétés antimicrobiennes intéressantes et luttent contre les maladies infectieuses d'origine bactérienne et fongique. L'activité antifongique des huiles essentielles peut être due à la présence des terpènes qui causent la rupture des membranes fongiques et inhibent le développement des champignons.

Les huiles essentielles permettent également la protection contre les champignons phytopathogènes et les microorganismes envahissant les denrées alimentaires.

- **Activité antiviral :**

Les huiles essentielles riches en phénols ont montré une activité antivirale contre certains virus notamment.

Les huiles essentielles des différentes familles botaniques présentent des actions antivirales, mais le degré d'efficacité varie selon la souche et la structure virale. C'est en raison de structures moléculaires particulières trouvés dans chaque type viral, que les huiles essentielles pénètrent dans les entités à des degrés divers [57].

Les recherches ont découvert qu'un certain nombre d'huiles essentielles ont une activité antivirale contre certaines souches virales de la grippe, les adénovirus, les souches de la fièvre glandulaire, de l'entérite virale, de l'entérocolite virale et le VIH-1 [58]. Des chercheurs ont montré que certains composés spécifiques des huiles essentielles, testés séparément, possèdent une activité antivirale remarquable. Il s'agit de l'acétate d'anéthole, carvone, bêta-caryophyllène, citral, eugénol, limonène, linalol et linalyle [59].

Les virus sont très sensibles aux molécules aromatiques et certaines infections virales graves peuvent montrer une grande amélioration par la phytothérapie [60]. La synergie entre les composés d'huile tels que cinéole-monoterpénoïde a été utilisée pour traiter des infections virales des voies respiratoires ; cétones et composés cryptones des huiles essentielles ont montré une capacité de lutte contre les virus nus [61].

Plusieurs méthodes d'action antivirales ont été proposées pour les huiles essentielles bien que pour leurs composés. Certaines huiles interfèrent avec la glycoprotéine de surface dans l'enveloppe virale, empêchant ainsi l'attachement du virus avec la cellule hôte. On croit que les autres huiles attaquent le virus dans la cellule hôte, possiblement au niveau de la membrane cellulaire [59].

11.Applications des HE :

Les HE des plantes sont largement utilisés en aromathérapie, en pharmacie, en parfumerie, en cosmétique et dans la conservation des aliments. Leur utilisation est liée à leurs larges spectres d'activités biologiques reconnues [62,63].

- **Applications en cosmétologie :**

L'utilisation des HEs dans la production des produits cosmétiques peut avoir plusieurs fins, comme un arôme agréable, assurant la protection contre les microorganismes et dans certains

cas, améliorent les propriétés dermato-cosmétiques et la préservation des produits cosmétiques [64]. Les problèmes de cheveux comme les pellicules et la dermatite séborrhéique causée par *Malasseziafurfur* pouvait être corrigée à l'aide d'huile de théier grâce à la présence de terpinen-4-ol qui s'est avéré efficace. L'ajout d'HE comme agents colorant ou odorant dans le produit cosmétique final est souvent déconseillée et considérée comme une perte potentielle en raison de leur volatilité et leur caractère lipophile [65].

- Applications en santé et soins :

Des HEs ont été utilisés depuis des siècles dans la guérison, la modification des humeurs et l'amélioration de la conscience [66]. Elle affecte l'état émotionnel, mental, spirituel et physique d'un être humain. Quelques études montrent que les composés aromatiques peuvent exercer des effets sur le cerveau, en particulier sur l'hypothalamus et le système limbique (le siège des émotions). Certaines HEs peuvent considérablement augmenter l'oxygénation et l'activité du cerveau, et inhiber la croissance bactérienne [67].

L'usage des HEs en médecine ne fut jamais abandonné malgré la découverte de processus de synthèse organique et la naissance de l'industrie pharmaceutique. Elles sont considérées comme un réservoir irremplaçable des principes actifs [68].

L'aromathérapie est une branche de la phytothérapie qui utilise les HE pour traiter un certain nombre de maladies. En effet, les HEs sont largement utilisés pour traiter certaines maladies internes et externes (infections d'origine bactérienne ou virale, troubles humoraux ou nerveux). En médecine dentaire, plusieurs HEs ont donné des résultats cliniques très satisfaisants dans la désinfection de la pulpe dentaire, ainsi que dans le traitement et la prévention des caries [56]. De même, des études très récentes ont montré que le géraniol a une action sur les cellules cancéreuses du colon [69], en plus de l'activité anti-inflammatoire, récemment mise en évidence par SIANI [70].

- Applications en industrie alimentaire :

Dans ces dernières années, une attention croissante est tirée vers l'exploration des ressources naturelles à cause de la demande élevée des aliments sans additifs chimiques synthétiques, les HE par leurs propriétés antimicrobiennes et antioxydantes sont considérées le leader pour répondre à cette tendance [71].

Les HEs peuvent servir d'additifs alimentaires ou d'agents de conservation qui soutiennent la production, la transformation et maintiennent les propriétés organoleptiques désirées. Elles peuvent assurer plusieurs fonctions dans l'industrie alimentaire tel que l'amélioration de la

valeur nutritive des aliments ; le maintien de la salubrité des aliments et l'appétibilité ; le contrôle d'acidité/alcalinité ; l'amélioration de la saveur et la couleur [72].

- Comme agent de conservation :

les huiles essentielles peuvent servir d'agents antimicrobiens ou d'antioxydants, comme agents antimicrobiens, elles empêchent la croissance des moisissures, levures et bactéries, comme agents antioxydants, elles empêchent les aliments de rancissement, brunissement et développement de black spots, par la suppression de la réaction qui se produit lorsque les aliments se combinent avec l'oxygène en présence de lumière, la chaleur et certains métaux afin de minimiser les dommages à certains acides aminés essentiels et la perte de certaines vitamines [67].

IV. Evaluation de l'activité antioxydant et antibactérienne des huiles essentielles

1. Evaluation de l'activité antioxydante :

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 [73].

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) [74].

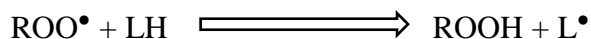
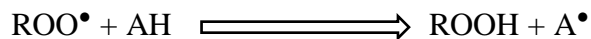
En ce qui concerne l'évaluation quantitative de l'activité antioxydante, beaucoup de méthodes peuvent être appliquées pour estimer directement l'activité antioxydante. La génération de radical libre est directement reliée avec l'oxydation dans les nourritures et les systèmes biologiques. Les méthodes principales comportent le balayage des radicaux de superoxyde (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) [74].

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, il n'existe pas de méthode unique qui permettrait de refléter le profil antioxydant d'un échantillon. C'est pourquoi, on effectue différents tests de mesure de pouvoir antioxydant [75].

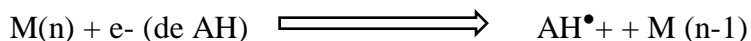
Les antioxydants peuvent réagir à différentes étapes du procédé d'oxydation et ils peuvent avoir plus d'un mécanisme d'action, ce qui ne facilite pas leur classification [76].

Selon Huang [77], 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, Hydrogen Atom 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 [78].

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 [73].

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) [74].

2. Evaluation de l'activité antibactérienne :

L'objectif principale de cette partie est la présentation de l'action antimicrobienne des huiles essentielles, des mécanismes d'action de ces composés sur les microorganismes et des certains facteurs déterminant cette activité. Les huiles essentielles ou les volatiles, sont des liquides aromatiques obtenues à partir de différentes parties de plante (fleurs, graines, feuilles, fruits, ...) le plus souvent par la méthode de hydrodistillation.

Les trapénoïdes et les phénylpropanoïdes constituent les composants actifs les plus importantes des huiles essentielles, dont les mono- et sesquiterpénoïdes forment la majeure partie.

Les huiles essentielles peuvent comporter plus de soixante composants différents dont le composant majeur peut constituer plus de 85% [79].

2.1. Le mode d'action antimicrobienne des huiles essentielles :

La variabilité des quantités et des profils des composants des HEs, il est probable que leur activité antimicrobienne ne soit pas attribuable à un mécanisme unique, mais à plusieurs sites d'action au niveau cellulaire [80]. De façon générale, il a été observé une diversité d'action toxique des HEs sur les bactéries comme la perturbation de la membrane cytoplasmique, la perturbation de la force motrice de proton, fuite d'électron et la coagulation du contenu protéique des cellules. Le mode d'action des HEs dépend en premier lieu du type et des caractéristiques des composants actifs, en particulier leur propriété hydrophobe qui leur permet de pénétrer dans la double couche phospholipidique de la membrane de la cellule bactérienne. Cela peut induire un changement de conformation de la membrane, une perturbation chémo-osmotique et une fuite d'ion (K^+) : ce mécanisme a été observé avec l'huile de l'arbre à thé sur les bactéries Gram+ (staphylococcus aureus) et Gram (E.coli) et levure (candida albicans) in vitro [81].

Certains composés phénoliques des HEs interfèrent avec les protéines de la membrane des micro-organismes comme l'enzyme ATP ase, soit par action directe sur la partie hydrophobe de la protéine, soit en interférant dans la translocation des protons dans la membrane prévenant la phosphorylation de l'ADP.

Les HEs peuvent inhiber la synthèse de DNA, RNA des protéines et des polysaccharides inhibition de la décarboxylation des acides aminés chez Entérobactérie.

Les études sur les mécanismes d'action de cette activité sont en nombre négligeable. Jusqu'à présent, il n'existe pas d'étude qui puisse nous donner une idée claire et précise sur le mode d'action des HEs. Etant donné la complexité de leur composition chimique, tout laisse à penser que ce mode d'action est assez complexe et difficile à cerner du point de vue moléculaire.

2.2. Huile essentielle comme agents antimicrobiens :

Les extraits aromatiques des plantes ont été utilisés dans différentes formulations, comme pour les médicaments et la parfumerie [82].

Les huiles essentielles ont été considérées comme les agents antimicrobiens les plus efficaces présents dans ces plantes. Les qualités antimicrobiennes des PAM sont connues depuis l'antiquité. Toutefois, il aura fallu attendre le début du 20^{ème} siècle pour que les scientifiques commencent à s'y intéresser. Ces propriétés antimicrobiennes sont dues à la fraction des HEs contenue dans les plantes. Il existe aujourd'hui approximativement 3000 huiles, dont environ sont réellement commercialisées, destinées principalement à l'industrie des arômes et des parfums. Mais la tendance actuelle des consommateurs à rechercher une alimentation plus naturelle, a entraîné un regain d'intérêt des scientifiques pour ces substances [83].

Depuis deux décennies, des études ont été menées sur le développement de nouvelles applications et l'exploitation des propriétés naturelles des HEs dans le domaine alimentaire. Les effets antimicrobiens de différentes espèces d'herbes et d'épices sont connus depuis longtemps et mis à profit pour augmenter la durée de vie des aliments.

Ainsi, les HEs, actuellement employées comme arômes alimentaires sont également connues pour posséder des activités antimicrobiennes et pourraient donc servir d'agents de conservations alimentaires, ou approuver comme additifs alimentaires par la Food and Drug Administration. Ils n'ont, par conséquent, pas besoin d'autorisation d'emploi dans les aliments ; cependant, des études préalables sont nécessaires afin de mieux cerner leur activité antimicrobienne. Les HEs ont un spectre d'action très large puisqu'elles inhibent aussi bien la croissance des bactéries que celle des moisissures et des levures. Leur activité antimicrobienne est principalement fonction de leur composition chimique, et en particulier de la nature de leurs composés volatils majeurs [84].

Elles agissent en empêchant la multiplication des bactéries, leur sporulation et la synthèse de leurs toxines. Pour les levures, elles agissent sur la biomasse et la production des pseudo-mycéliums alors qu'elles inhibent la germination des spores, l'élongation du mycélium, la sporulation et la production de toxines chez les moisissures.

1. Matériel végétal :

Pistacia lentiscus (Figure 13), est notre choix de plante comme sujet d'étude dans ce présent travail.

Ce choix est basé non seulement par les nombreuses utilisations traditionnelles qui en sont répertoriées, mais aussi par le fait qu'il s'agit d'une plante très abondante localement et relativement peu étudiée en Algérie.

Sur cette base, nous avons étudiée l'huile essentielle (HE) des feuilles de *Pistacia lentiscus* (Figure 14 et 15) qui ont été récoltés dans la région de RAMKA de la wilaya de RELIZANE (figure 16).

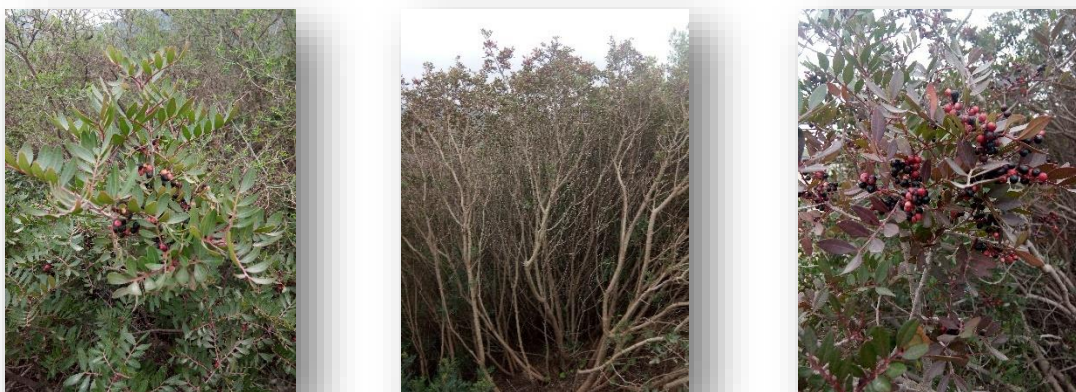


Figure 13 : présentation de *Pistacia lentiscus*



Figure 14 : les feuilles de *Pistacia lentiscus* avant séchage.



Figure 15 : les feuilles de *Pistacia lentiscus* après séchage.

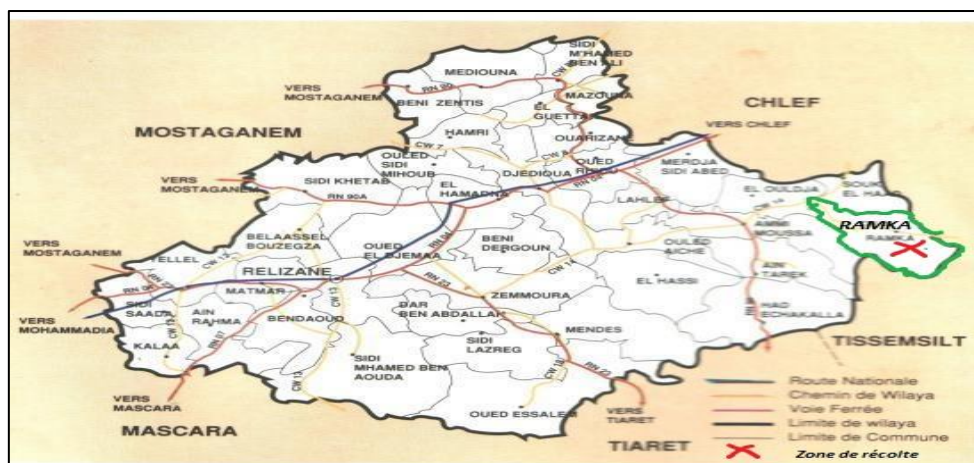


Figure 16 : Carte géographique de la région de RELIZANE (<https://www.google.dz>)

2. Période de la récolte du matériel végétal :

Au mois de, janvier et février 2018, la récolte du matériel végétal a été effectuée (les feuilles de *Pistacia lentiscus*).

3. Conservation du matériel végétal :

Une fois le tri du matériel végétal est terminé, notre plante est lavée soigneusement à l'eau froide puis séchée par la suite à l'ombre et à température ambiante dans un endroit aérée. Pour faciliter le séchage, les échantillons sont brassés chaque jour, surtout au début du celui-ci. L'étape de séchage séjourne environ de 15 à 20 jours, elle poursuit par l'étape de conservation dans des sacs en papier et transporté au laboratoire pédagogique de chimie de notre faculté, par la suite avant le broyage la plante est chauffé le dans l'étuve à température 60 °C pendant 24 h.

4. Méthode d'extraction de l'huile essentielle de *Pistacia lentiscus* :

L'extraction de l'HE de la *Pistacia lentiscus* a été effectuée par la technique d'hydrodistillation sur un appareil de type **Clevenger** (Figure 17). Au cours de chaque essai, 100 g de matière première a été traitée dans 1L d'eau distillé. La durée d'extraction est optimisée par une étude cinétique, elle est de l'ordre de 90 minutes. Auparavant, l'humidité des différents échantillons a été déterminée afin d'exprimer le rendement en HE (volume en ml) par rapport à 100 g de la matière sèche. L'HE a été stocké à 4 °C à l'obscurité en présence de sulfate de sodium anhydre.

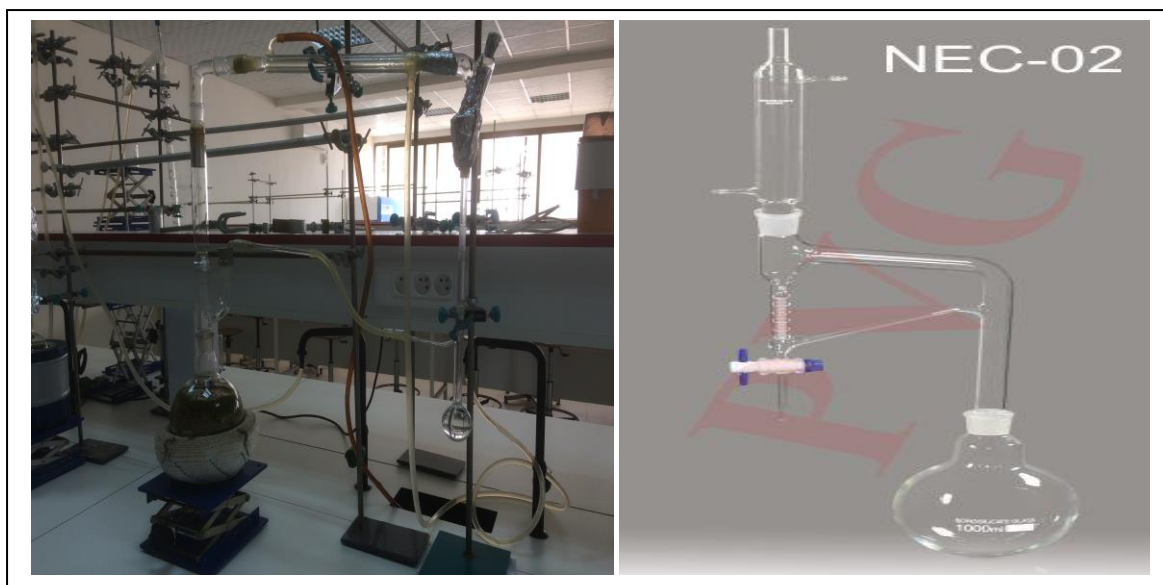


Figure 17 : Montage clevenger

5. Description de l'appareil de distillation :

Le montage Clevenger est désigné par le nom de son inventeur, **Joseph Franklin Clevenger**, qui l'a publié en 1928. Quelques modèles existent. Le plus commun (figure 17) est une pièce de verrerie modifiée, celle que l'on voit au-dessus du ballon. Le ballon, de taille variable, contient de l'eau que l'on fait bouillir et la plante à extraire. La vapeur monte dans le montage jusqu'à un condensateur (hors de la photo), et le condensat retombe dans la petite burette que l'on voit à droite. L'huile flotte sur l'eau, qui est pour sa part progressivement renvoyée dans le ballon chauffé par le conduit en diagonale. Après 2 h d'extraction, on peut mesurer directement dans la burette le volume d'huile recueilli.

6. La cinétique d'extraction :

La cinétique d'extraction de l'HE à partir des feuilles de *Pistacia lentiscus* est basée sur le contrôle du volume (ml) de l'extrait par rapport au temps (min), pour déterminer le temps maximal (t_{max}) nécessaire d'extraire la quantité maximale de l'huile.

7. Analyse de l'huile essentielle de *Pistacia lentiscus* :

7.1. Détermination de la matière sèche et de l'humidité

La matière sèche est déterminée selon la norme NFB51-004 à partir d'une masse E de matière végétale introduite dans un creuset taré, puis séché dans une étuve à 105 C° jusqu'à poids constant.

Après refroidissement le creuset est pesé. Le taux de matière sèche (MS%) est :

$$MS(\%) = S/E \times 100$$

S : Masse du creuset taré après dessiccation

E : Masse de la matière végétale

À partir du pourcentage de la matière sèche on peut calculer l'humidité en pourcentages H(%)

$$H(\%) = 100\% - MS\%$$

MS% : du pourcentage de la matière sèche

7.2. Calcul du rendement :

Le rendement en huile essentielle est défini comme étant le rapport entre la masse d'huile essentielle obtenue et la masse sèche du matériel végétal à traiter [85].

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

m: la masse de l'huile essentielle (g).

m₀: la masse du matériel végétal sec (g).

7.3. La densité :

La densité est calculée par le rapport de la masse d'un certain volume d'HE à 20 °C à la masse d'un volume égale d'eau distillé à 20 °C. Ceci est effectué à l'aide d'un pycnomètre de capacité de 5ml, on pèse successivement des volumes égaux d'huile essentielle 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 remplacent l'eau par l'huile essentielle. Et en appliquant la formule suivante :

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

m₀ : la masse (g) du pycnomètre vide.

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

m₂ : la masse (g) du pycnomètre rempli d'HE.

7.4. Indice de réfraction :

Les indices de réfraction sont mesurés à l'aide d'un refractomètre [86], à la température ambiante puis ramenés à 20°C par la formule :

$$N_{20} = N_t + 0,00045 (T - 20^\circ\text{C})$$

N_{20} : indice à 20°C,

N_t : indice à la température ambiante ou de mesure

T : température ambiante ou de mesure

8. Dosage des polyphénols totaux:

Les composés phénoliques ou polyphénols sont des métabolites secondaires caractérisés par la présence d'un cycle aromatique portant des groupements hydroxyles libres ou engagés avec un glucide. Ils sont présents dans toutes les parties des végétaux supérieurs (racines, tiges, feuilles, fleurs, pollens, fruits, graines et bois) et sont impliqués dans de nombreux processus physiologiques comme la croissance cellulaire, la germination des graines ou la maturation des fruits. Les plus représentés sont les anthocyanes, les flavonoïdes et les tannins.

La teneur en composés phénoliques de l'HE de *Pistacia lentiscus* est estimée par la méthode de Folin-Ciocalteu selon. [87]

La méthode se base sur la réduction en milieu alcalin de la mixture phosphotungstique (WO_4^{2-}) phosphomolybdique (MoO_4^{2-}) de réactif de Folin par les groupement oxydables des composés phénoliques, conduisant à la formation de produits de réduction de couleur bleu. Ces derniers présentent un maximum d'absorption à 765 nm dont l'intensité est proportionnelle à la quantité de polyphénols présents dans l'échantillon. [88]

Brièvement, 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 $\mu\text{g/ml}$) et est exprimée en

microgramme d'équivalent d'acide gallique par milligramme d'huile ($\mu\text{g Eq Acide gallique/mg d'huile}$).

9. Dosage des flavonoïdes :

La méthode du trichlorure d'aluminium [89] est utilisée pour quantifier les flavonoïdes dans l'huile de *Pistacia lentiscus*. 1 ml d'échantillon ou standard (préparés dans le méthanol) est ajouté à 1 ml de la solution d' AlCl_3 (2% dans le méthanol). Après 10 min 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 ($\mu\text{g Eq quercétine/mg d'huile}$).

10. Dosage des tannins :

Le dosage des tannins condensés dans l'huile fixe de *Pistacia lentiscus* est effectué selon la méthode de Broadhurst et Jones (1978), modifiée par Heimler 2006 [90]. 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 donne une absorbance à 500 nm.

à 400 μl de chaque extrait, sont ajoutés 3 ml d'une solution éthanolique à 4% de vanilline et 1.5 ml d'acide chlorhydrique concentré. Après 15min d'incubation, l'absorbance est lue à 500 nm. La concentration des tannins condensés est déduite à partir d'une gamme d'étalonnage établie avec la catéchine (0 - 300 $\mu\text{g/ml}$) et sont exprimées en milligramme d'équivalent catéchine par un gramme de plante sèche (mg ECat/g de plante sèche). Tous les essais sont reproduits au moins trois fois.

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 ($\mu\text{g Eq catéchine/mg d'huile}$).

11. Etude du pouvoir antioxydante de l'huile essentielle de *Pistacia lentiscus* :

De nombreuses méthodes sont utilisées pour l'évaluation de l'activité antioxydante des composés phénoliques purs ou des extraits. La plupart de ces méthodes sont basées sur la coloration ou la décoloration d'un réactif dans le milieu réactionnel [91]. Les extraits sont

utilisés pour évaluer leur pouvoir antioxydant par la méthode de piégeage du radical DPPH[•] (1,1-Diphényl-2-picrylhydrazyl).

Le DPPH[•] est un radical libre stable de couleur violacée qui donne une absorbance à 517nm. En présence de composés anti-radicalaires, le radical DPPH[•] est réduit et change de couleur en virant au jaune. Les absorbances mesurées à 517 nm servent à calculer le pourcentage d'inhibition du radical DPPH[•], qui est proportionnel au pouvoir antiradicalaire de l'échantillon (Figure 18) [92].

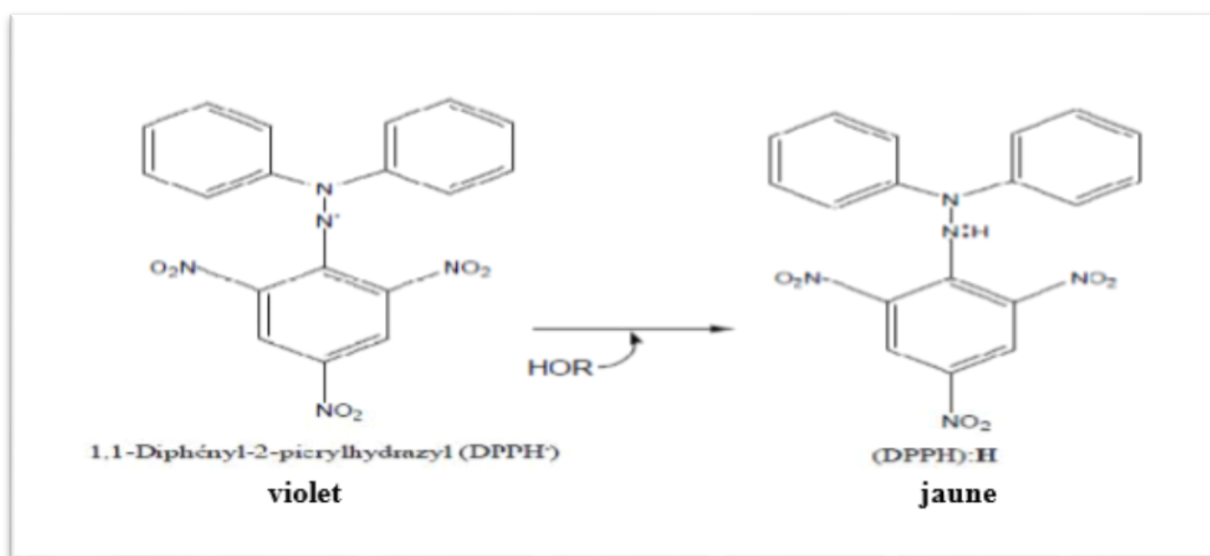


Figure 18 : Réaction d'un donneur d'hydrogène (antioxydant) avec le radical DPPH[•]

11.1. Test du DPPH[•] sur CCM d'huile essentielle du *Pistacia lentiscus*

Pour mettre en évidence l'activité antioxydante des HE, nous avons effectué le test DPPH sur chromatographie sur couche mince (CCM) selon la méthode de Bektas [93].

Le principe du test se résume en réduction du radical 2,2-diphényle 1-picrylhydrazyle (DPPH[•]) par les substances anti-radicalaires qui sont dans notre cas les huiles essentielles. Une dilution de 1:1 de chaque HE est préparée dans le méthanol. Après dilution, un volume de 15 µl de l'huile est déposé sur une plaque CCM (MERCK : TLC silicagel 60 F254 glass plate) en plus d'une solution témoin de vitamine C à 2mg/ml. La phase mobile est composée de méthanol et l'eau à un ratio de (1:1). La révélation est effectuée par pulvérisation d'une solution 0.016 % de DPPH[•] dans le méthanol suivie d'une incubation à une température ambiante pendant 30 min. Le blanchissement de la couleur du DPPH[•] par des spots jaunes, sur fond violé, est l'indication d'une activité antioxydante.

11.2. Test du DPPH^{*} par spectro photométrique d'huile du *Pistacia lentiscus* :

Le principe du test se résume en la capacité des huiles à réduire le radical libre DPPH^{*} (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) de couleur violette foncée, qui se transforme en coloration jaunâtre (après réduction). Cette décoloration est mesurable par spectrophotométrie [94].

Le test de DPPH est réalisé en suivant la méthode décrite par [93]. Où 50µl de chacune des solutions méthanoliques des HE testées à différentes concentrations (0.9, 1.8, 2.7, 3.6, 4.5, 5.4, 6.3, 7.0, 8.1, 9.0 mg/ml) sont mélangées avec 5ml d'une solution méthanolique de DPPH (0.004%). Après une période d'incubation de 30 min à une température ambiante a l'obscurité, l'absorbance est lue à 517nm.

11.3. Détermination du pourcentage d'inhibition :

Selon SHARIFIFAR [95], l'inhibition du radical libre de DPPH^{*} en pourcentage (I%) est calculée de la manière suivante :

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

A_{blanc} : Absorbance du blanc (DPPH dans le méthanol)

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

Les concentrations en HE 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% [95].

12. Activité antibactérienne des HE :

12.1. Matériel biologique :

Notre travail a été effectué au sein du laboratoire des microbiologie, des aliments fonctionnels et de la santé (LMBAFS) de la faculté des sciences exacte et informatique, l'université Abdelhamid Ibn Badis à Mostaganem. Les méthodes utilisées pour étudier l'interaction entre les HEs 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.

12.2. Origine des souches microbiennes :

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

Tableau 4 : 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>Candida albicans</i>	ATCC10231
<i>Aspergillus niger</i>	ATCC 106406

12.3. Milieux de culture :

Nous avons utilisé les milieux de culture suivants :

- Gélose Nutritive pour la conservation des souches bactériennes.
- Bouillon Nutritif pour l'enrichissement de l'inoculum.
- Gélose de Mueller Hinton pour l'étude de la sensibilité des souches bactériennes aux différents extraits.

➤ Milieu de bouillon nutritif :

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

Tableau 5 : composition de bouillon nutritif. (g/l)

Peptone	10
Extrait de viande	5
Chlorure de sodium	5

➤ Milieu de Mueller Hinton :

Milieu non sélectif pour l'étude de la sensibilité ou la résistance des germes pathogènes envers les antibiotiques et les sulfamides. Il constitue également un excellent milieu de base pour la fabrication de géloses au sang.

Tableau 6 : composition de Muller Hinton (g/l)

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

12.4. Réactivation de souches pathogènes :

Les souches bactériennes choisies ont été revivifiées et repiquées dans la gélose nutritive, puis incubées à des températures optimales de développements (37°C) pendant 18 heures pour l'obtention d'une culture jeune. Par la suite, des suspensions troubles de ces souches seront réalisées en prélevant 3 à 5 colonies bien isolées et identiques. On les dépose dans 5 ml d'eau physiologique stérile puis on agite au vortex. Les concentrations bactériennes de l'inoculum sont évaluées par turbidité et sont exprimées par la mesure de la densité optique (DO à 625 nm) sur un spectrophotomètre. Une DO de 0.08 à 0.1 correspond à une concentration de 10^8 UFC/ml [96-100].

12.5. Test de l'aromatogramme (méthode des disques) :

Pour réaliser le test de l'aromatogramme, nous avons réalisé par les étapes suivantes :

- Une suspension de chaque germe est préparée dans l'eau physiologique stérile et ajustée à environ 10^8 UFC/ml.
- Chaque souche estensemencée par inondation sur des boîtes de pétri contenant le milieu Muller–Hinton. La surface des milieux est ensuite séchée sous hotte à flux laminaire en laissant le couvercle des boîtes de pétri légèrement ouvert.
- Dépôt de disques (papier Whatman stériles de 0.6 cm de diamètre) préalablement imprégnés de 15 μ l d'HE à la surface du milieu Muller–Hinton (MH) contenant une souche donnée [93,101].
- Enfin, les boîtes sont incubées à 37°C pendant 18 à 24 heures [102].

La figure 19 représente les étapes du test de l'aromatogramme

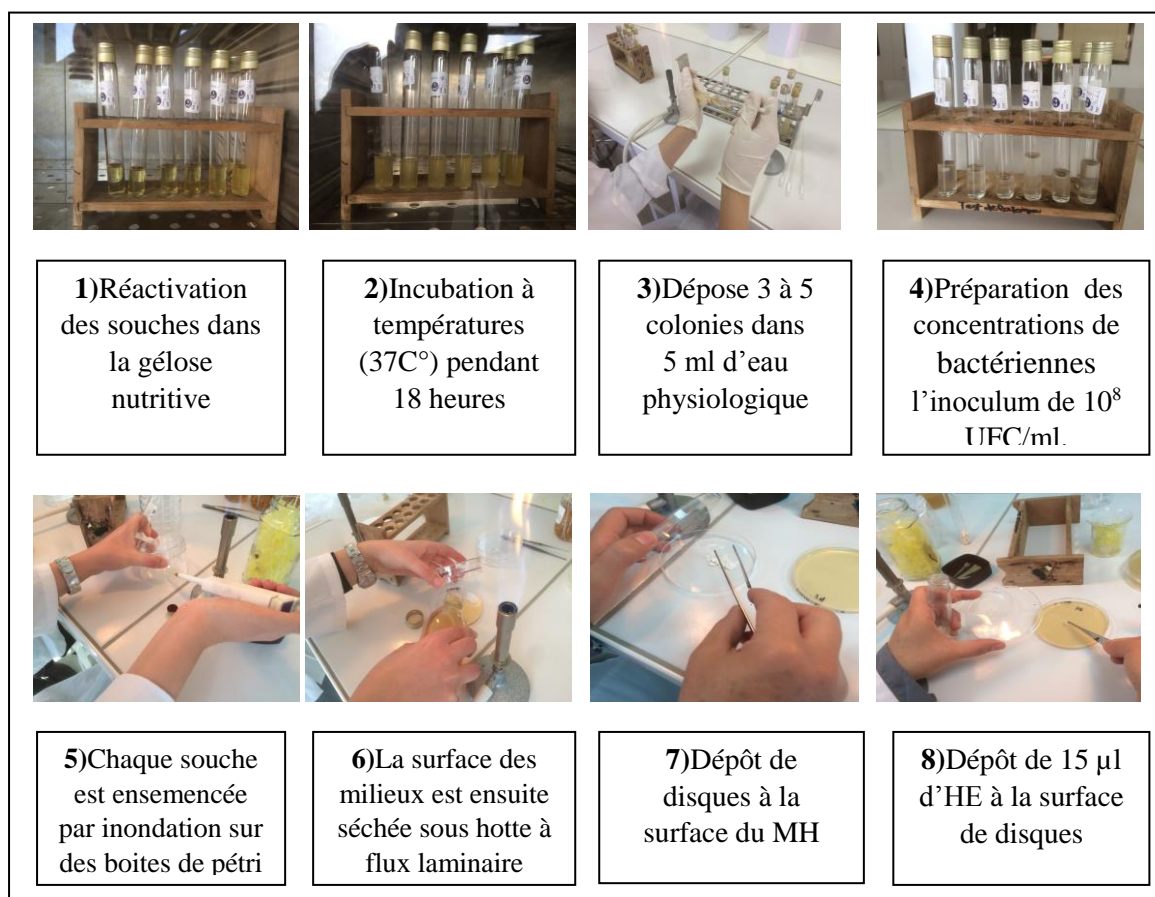


Figure 19 : Test de l'aromatogramme (méthode des disques)

Les résultats sont évalués par la mesure de diamètre de la zone d'inhibition en mm. La sensibilité ou la résistance des souches est exprimée en suivant les fourchettes des diamètres données par BELAICHE [59].

12.6. 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.

La détermination de la CMI a été réalisée par la Méthode de micro dilution sur milieu liquide selon CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute 2008) (figure 20).

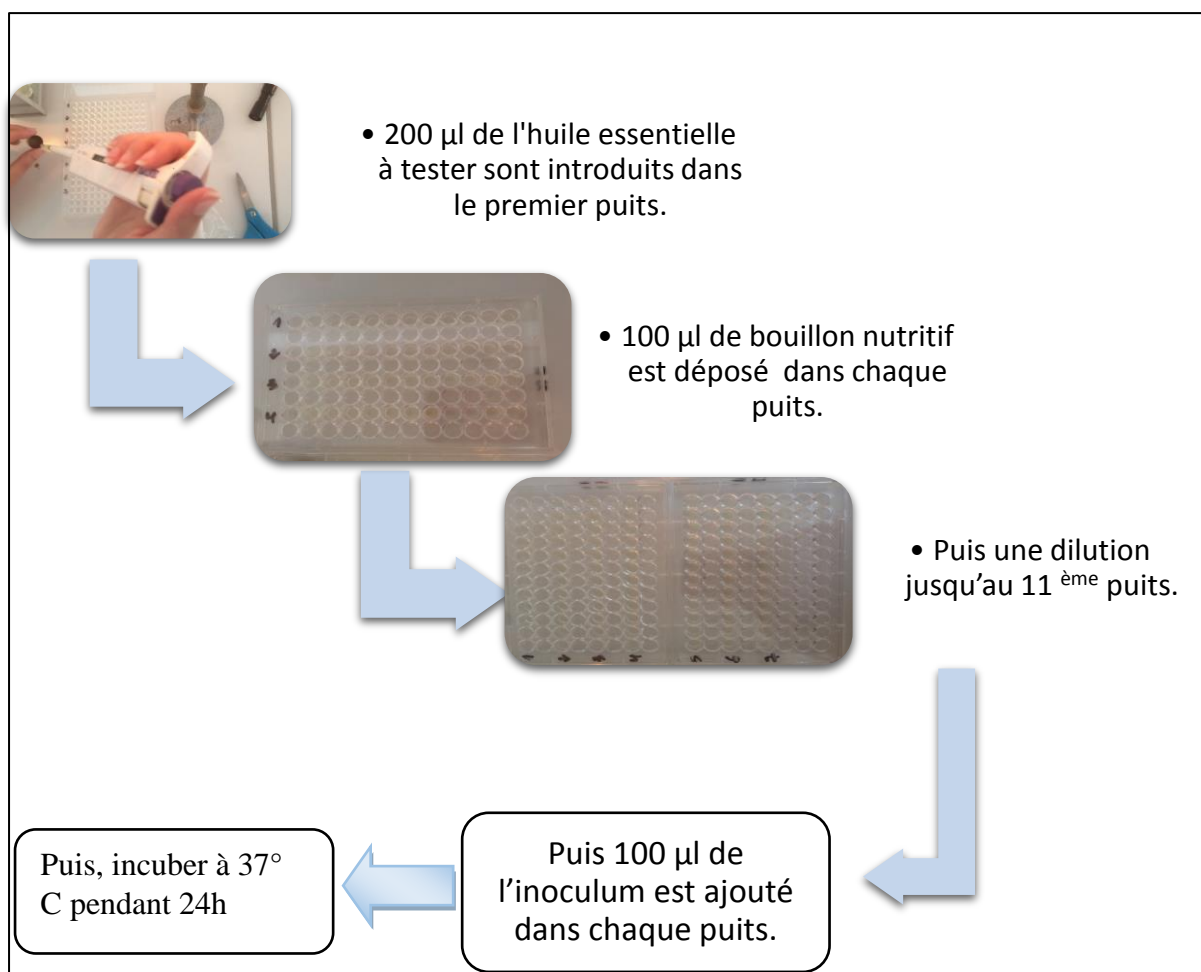


Figure 20: la méthode de micro dilution

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 1/2 entre chaque puits. Le dernier puits représente le témoin négatif : 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.

RESULTATS ET DISCUSION :

1. Optimisation de la cinétique d'extraction :

Le contrôle de la cinétique d'extraction de l'huile essentielle à partir des feuilles de *Pistacia lentiscus* par hydrodistillation sur un appareil de type Clevenger, est représenté sur la (figure 21), le volume d'huile essentielle en ml par rapport du temps d'extraction en minutes.

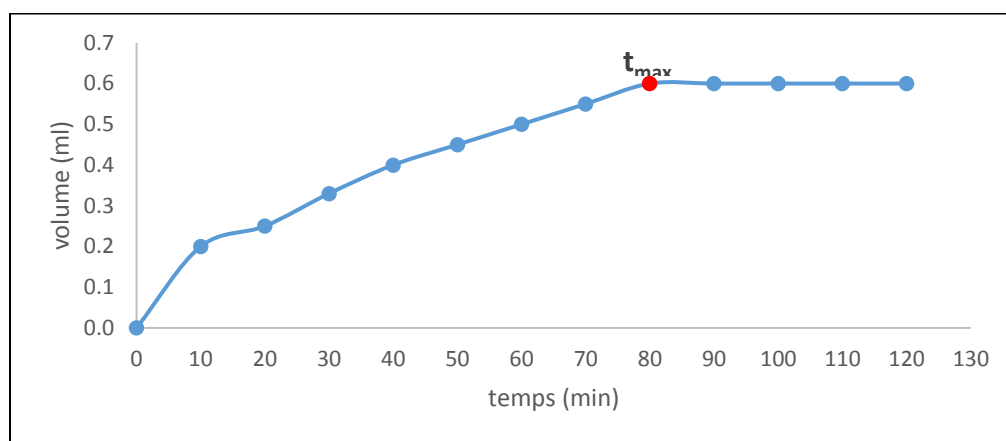


Figure 21 : la cinétique d'extraction

Ceci nous permis de déterminer le temps nécessaire d'extraire le maximum de l'huile t_{max} qui est de 80 min pour chaque opération.

2. Détermination de la teneur en eau

Les végétaux sont riches en eau, les analyses de nos échantillons (les feuilles de *Pistacia lentiscus*) ont révélé un taux d'humidité d'environ 41% cela signifié que environs la moitié du poids de la plante fraîche est constituée d'eau.

Nous constatons selon (figure22) que *Pistacia lentiscus* comprend des proportions approximativement équivalentes en matière sèche et eau.

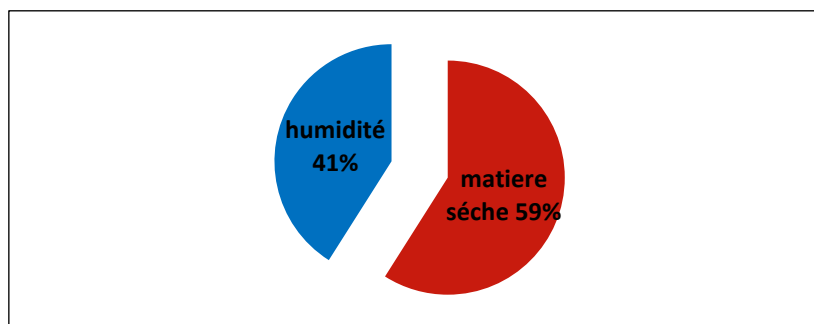


Figure 22 : Taux d'humidité des feuilles *Pestacia lentiscus*.

3. Détermination du rendement :

Le rendement moyen d'H E pour 100 g de matière végétale est de 0,45%. L'huile essentielle obtenue (figure 23) présente un aspect liquide et limpide, elle est de couleur jaune dégageant une odeur aromatique, très puissante et pénétrante, Nos résultats sont proche à ceux obtenu par **Ferradji, (2011) [38]** qui étaient un rendement en huile de l'ordre de 0.16%, 0,14- 0,17% du poids des feuilles de *Pistacia lentiscus* L. respectivement. Ces quantités sont très faibles par rapport à celles décrites dans la littérature **Hamdan, et al.,(2004) [36]** il est de l'ordre 1.26%.

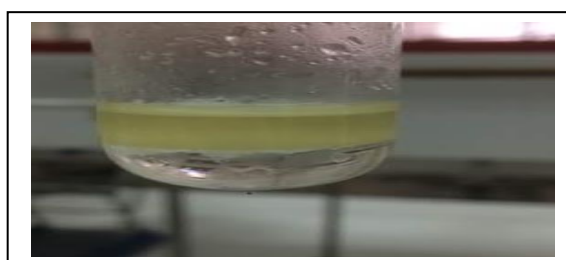


Figure 23 :l'huile essentielle de *pistatia lentiscus*

4. Détermination de la densité :

La détermination de la densité d'une huile essentielle nous renseigne sur sa pureté. Elle est en fonction de la composition chimique des huiles. Dans notre étude,nous avons déterminé ce critère de pureté à la température 20 °C, chez toutes les huiles extraites.

Les résultats révèlent que les valeurs moyennes des densités varient de 0,8003 g/ml est inférieur de celle de l'eau 0,998.

La comparaison des densités de nos huiles avec d'autres résultats d'étude des différentes régions en Algérie, montre qu'elles sont très proches.

5. Détermination de l'indice de réfraction :

Quant aux indices de réfraction des HEs, ils ont été calculés et ramenés à 20°C à l'aide d'un réfractomètre est : $N_t = 1,4828$

Les résultats, montrent que les indices de réfraction des l'huiles possèdent des valeurs très proches les unes des autres et cela quelque soit l'espèce étudiée. Et est supérieures à l'indice de réfraction de l'eau qui est de 1,3356.

6. Analyse de l'Huile fixe de *Pistacia lentiscus*

Les analyses quantitatives des polyphénols, des flavonoïdes 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 équivalent de quercétine et en µg de catéchine par mg de l'huile végétale de *Pistacia lentiscus*. (figures 24, 25 et 26).

6.1. Dosage des polyphénols totaux

La figure 24 représente la courbe d'étalonnage d'acide gallique en µg en fonction de l'Absorbance.

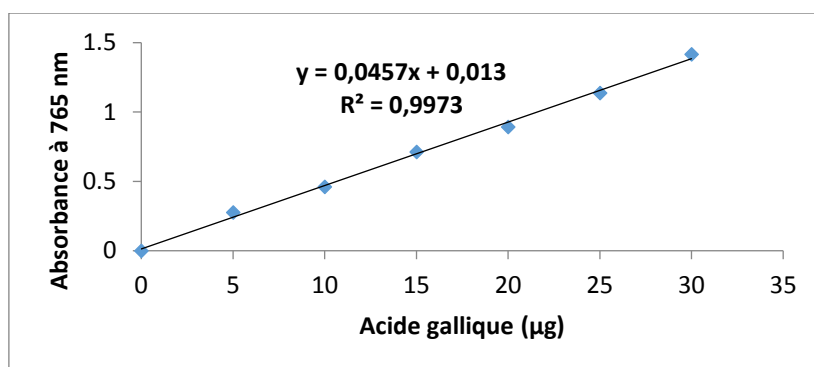


Figure 24 : Courbe d'étalonnage des composés phénoliques totaux

D'après les résultats obtenus, on remarque que la teneur de l'huile essentiel des feuilles de *Pistacia lentiscus* en polyphénols est 44,463 µgEq AG/mg de l'huile de *Pistacia lentiscus*.

Ebrahimzadeh et al., (2008) [103] montrent que les extraits des feuilles de *Pistacia lentiscus*. exhibent 57 mg/ml en polyphénols. Le même auteur signale que les teneurs en flavonoïdes (8.21 mg Eq Q/ g) ont été trouvées avec l'extrait hydroalcoolique des feuilles de *Pistacia lentiscus*.

Boizot, N, (2006) [80] indique que la teneur en polyphénols totaux et flavonoïdes dans l'extrait aqueux des feuilles de *Pistacia lentiscus*, à différent saisons, prélèvement en juin (2007) est de l'ordre 349.843mg/g pour les polyphénols et la teneur en flavonoïdes est 54.244 mg/g, prélèvement en novembre (2007) teneur en polyphénols totaux et en flavonoïdes égalent 348.539mg/g en mois Janvier (2008) la teneur en polyphénols totaux égale 365.502mg/g et 58.2.99 mg/g pour les flavonoïdes, prélèvement d'Avril (2008) la teneur en polyphénols est de l'ordre 344.62 mg/g et 58.414 mg/g pour les flavonoïdes.

6.2. Dosage des flavonoïdes

Le dosage des flavonoïdes est contrôlé par la courbe d'étalonnage du quercétine (figure 25)

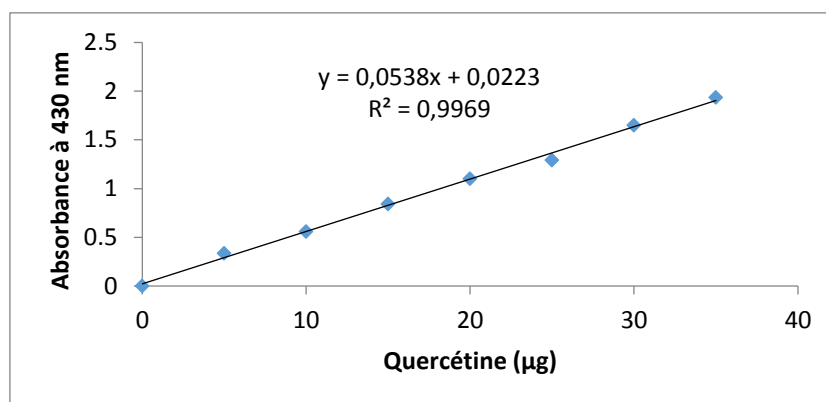


Figure 25 : courbe d'étalonnage des flavonoïdes totaux

La détermination quantitative des flavonoïdes totaux par la méthode du trichlorure d'aluminium révèle que la teneur de l'huile essentiel des feuilles de *Pistacia lentiscus* flavonoïdes est 20,105 µg Eq Q/mg de l'huile de *Pistacia lentiscus*.

Cos, P (1998) [16] affirmées que les flavonoïdes des extraits des feuilles de *Pistacia lentiscus*. Sont concentrés principalement au niveau de la phase aqueuse du chloroforme avec 270,10 mg /g d'extrait. Ceci est peut être dû à la présence d'une fraction osidique qui rend ces flavonoïdes très solubles dans l'eau. Ces auteurs notent que les extraits organiques de chloroforme et acétate d'éthyle des feuilles de *Pistacia lentiscus*, sont riches en phénols totaux et flavonoïdes.

Atmani et al., (2009) [104] indique que les feuilles de *Pistacia lentiscus*, récolté du Bejaia. Sont plus riches en phénols totaux (136.25 mg Eq AG / g d'extrait) Alors que ont trouvé une faible teneur en flavonoïdes (12.93 mg Eq quercétine/ g d'huile essentielle

6.3. Dosage des tannins

Pour quantifier la quantité des tannins en utilise la courbe d'étalonnage de quaticine (µg) en fonction de l'Absorbance (figure 26).

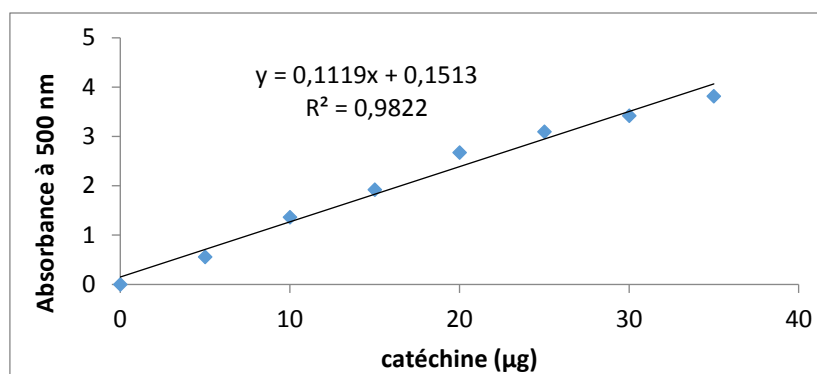


Figure 26 :courbe d'étalonnage des tannins

la teneur d'HE des feuilles de *Pistacia lentiscus* en Tannin est de 14,179 qui est faible comparant a la teneur des flavonoïdes qui.

Bampouli et al., (2015) ont montré aussi que le contenu total des composés phénoliques pour les feuilles fraîches de *Pistacia lentiscus*, variait de 147,99 à 314,88 mg Eq AG/g d'extrait sec, tandis que pour ceux séchées la valeur variait de 125,33 à 269,70 mg Eq AG /g d'extrait sec, ce résultat est relativement très élevé.

7. Effet scavenger du radical DPPH•

Dans ce test les antioxydants réduisent le diphénylpicryl-hydrayl ayant une couleur violette en un composé jaune, le diphénylpicryl-hydrazine, dont l'intensité de la couleur est inversement proportionnelle à la capacité des antioxydants présents dans le milieu à donner des protons.

7.1. Résultats de tests DPPH• par CCM :

Le test qualitatif de DDPH• de l'HE des feuilles de *Pistacia lentiscus* par chromatographie sur couche mince (figure 27).

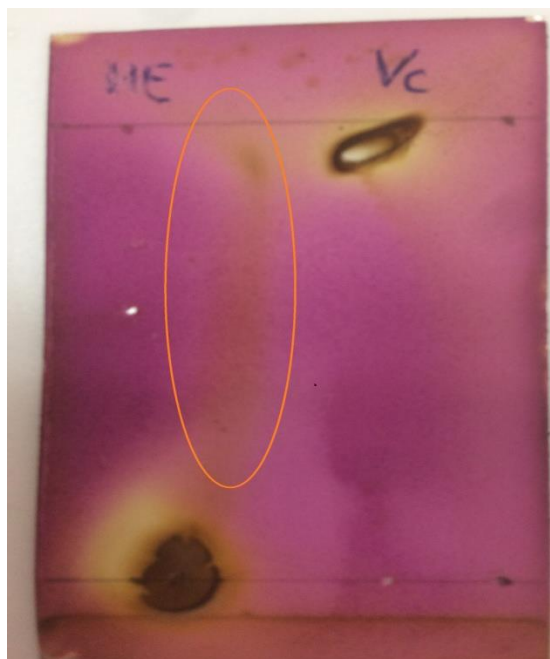


Figure 27 : test DPPH sur CCM

Cette méthode est basé sur l'observation de décoloration du radicale libre du violet vers lejaune, en utilise la vitamine C qui est un antioxydant fort comme contrôle positive. D'apprêtes résultats on n'observe que notre huile à une activité antioxydant.

7.2. Test du DPPH' par spectrophotométrique d'huile du *Pistacia lentiscus*

Le pouvoir antioxydant de l'huile essentielle des feuilles de *Pstacia lentiscus* a été réalisé par le test de piégeage du radical libre radical DPPH• qui est largement utilisé pour examiner la capacité des composés d'agir en tant que piégeurs des radicaux ou donateurs d'hydrogène pour évaluer l'activité antioxydante.

L'étude de la variation de l'activité antiradicalaire en fonction de la concentration de l'huile (figure 28) permet de déterminer la concentration qui correspond à 50% d'inhibition (IC50) qui est égale à 1,961 (µg/ml).

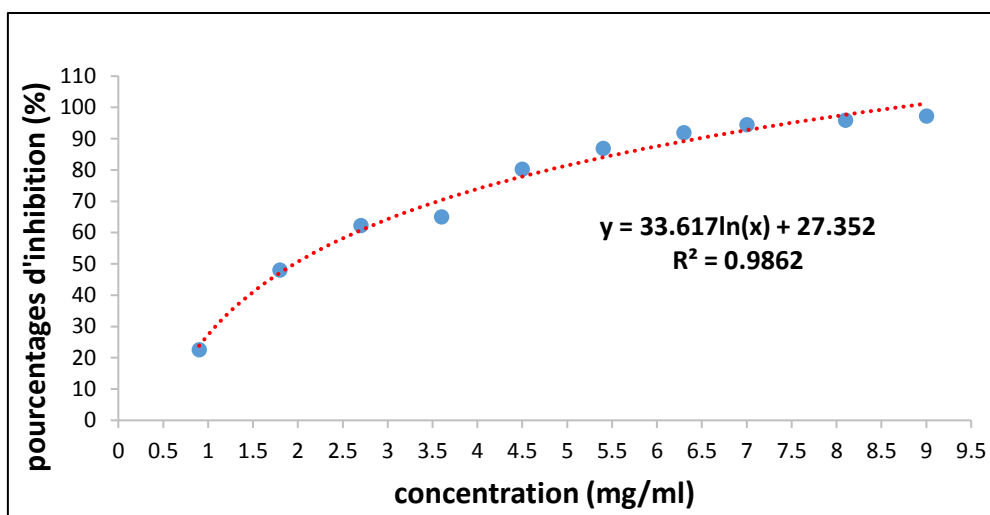


Figure 28 : Activité antiradicalaire de l'huile de *Pistacia lentiscu* vis-à-vis le radical DPPH•.

On constate également que l'activité de l'Acide gallique a un pouvoir antioxydant le plus élevé de l'ordre 1,093 µg/ml comparable à celui de nos extraits et l'huile essentielle.

Au vu des résultats obtenus, 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 97.3%, ce qui montre que l'huile de *Pistacia lentiscus* est active vis-à-vis le DPPH•.

Comparativement à la littérature, nos résultats sont plus élevés par rapport à l'étude réalisée par **Benhammou et al ., (2006)** ont montré que l'huile essentielle des feuilles *Pistacia lentiscus* (Station de Ain Fezza) est parvenue une valeur d'IC₅₀ est de l'ordre 15,63 mg/g.

Rached, (2009) indique l'Activité antioxydants de l'extrait aqueux des feuilles de *Pistacia lentiscus*. à différentes saisons. Prélèvement en juin (2007) est de l'ordre l'IC₅₀=4,472 µg /ml, prélèvement en novembre (2007) IC₅₀ égale 5,4 µg/ml, Janvier (2008) IC₅₀ de l'ordre 4,035 µg/ml. En mois d'avril l'IC₅₀ enregistré 5,626 µg/ml.

Selon **Chaher. N, et al ., (2006) [28]** Pour les huiles essentielles de feuilles l'IC₅₀ est de 0,253 ± 0,131%.

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

Cette partie de notre travail vise à évaluer l'effet antibactérien de l'huile essentielle de *Pistacia lentiscus*, c'est pour cette raison nous avons opté la méthode des disques, c'est une méthode qualitative de diffusion sur gélose, en mesurant les diamètres des zones d'inhibition de la croissance microbienne ceci est représenté sur la Figure 29.

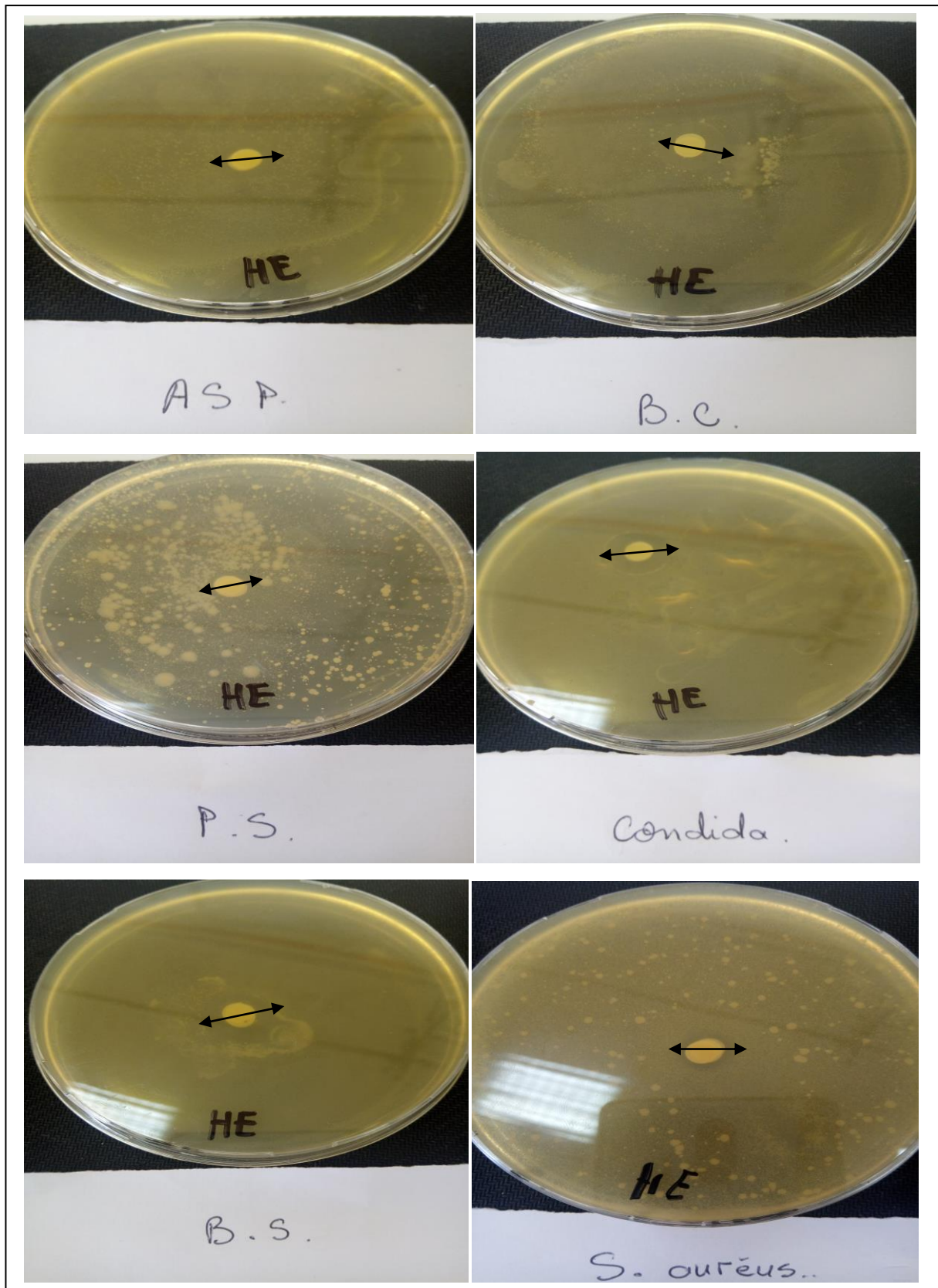


Figure 29 : Zones d'inhibitions de la croissance microbienne obtenue.

S.aurés: *Staphylococcus aureus*

E.coli: *Escherichia coli*

PS: *Pseudomonas aeruginosa*

BC: *Bacillus cereus*

BS: *Bacillus subtilis*

condida: *Condidaalbicans*

Asp: *Aspergillus niger*

Pour l'évaluation de l'effet antimicrobien, les diamètres mesurés des zones d'inhibition de la croissance microbienne obtenus sont représenté sur le tableau 7 et figure 30

Tableau 7 : Diamètres des zones d'inhibition de la croissance microbienne obtenus

Souche	E. Coli	S.Aurés	B.S	P.S	A.S.P	B.C	Condida
Diamètre (mm)	10	12	26	9	14	14	15

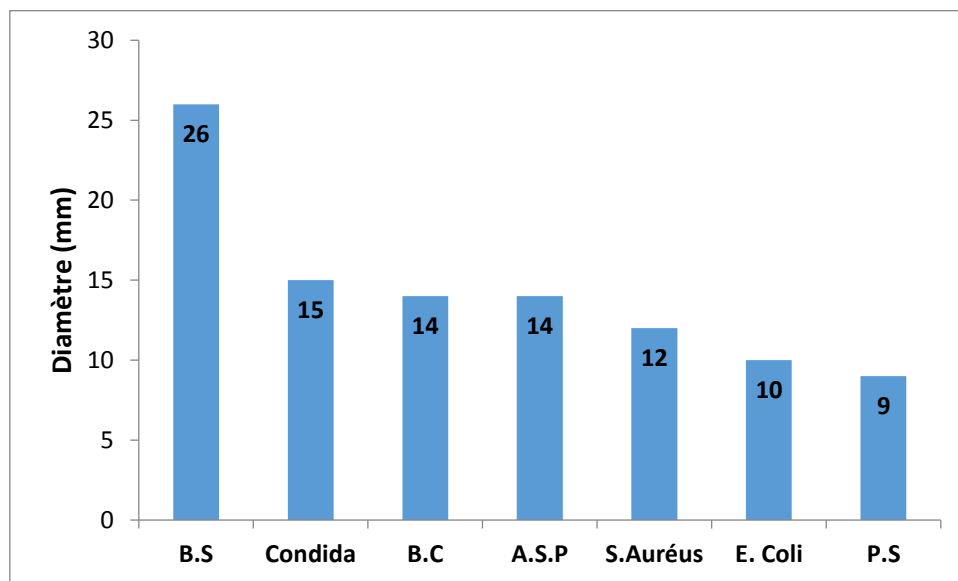


Figure 30 : Diamètres des zones d'inhibition de la croissance microbienne

On remarque que l'huile essentielle de *Pistacia lentiscus* a une activité bactéricide importante sur toutes les souches bactériennes dont les zones d'inhibition varient de : 26mm dans le cas de *Bacillus subtilis*, 15 mm pour *Condida albicans*, 14 mm pour *Aspergillus niger* et *Bacillus cereus*, 12 mm pour *Staphylococcus aureus*, 10 mm pour *Escherichia coli* et 9 mm pour *Pseudomonas aeruginosa*.

Tahiri (2008) a montré que les feuilles de *Pistacia lentiscus* (extrait Ethanolique, Éthyle acétate, Chloroforme, Hexane, Aqueux de l'hexane) ont un effet antimicrobien remarquable sur *Salmonella enteritidis* avec des zones d'inhibition 8,6, 16,5, 14,6 ,4,7 et 13,8 respectivement à 5 µg/ml).

L'activité antibactérienne de l'huile essentielle de *Pistacia lentiscus* peut être attribuée à la composition chimique de la plante. En effet, dans la première partie de notre travail nous avons mis en évidence la richesse de cette plantes en polyphénols totaux, flavonoïdes et tannins.

9. La concentration minimale inhibitrice (CMI)

D'après les zones d'inhibition, générées par l'huile essentielle de *Pistacia lentiscus*, Le potentiel inhibiteur de l'huile est testé par détermination de la CMI (figure 31).

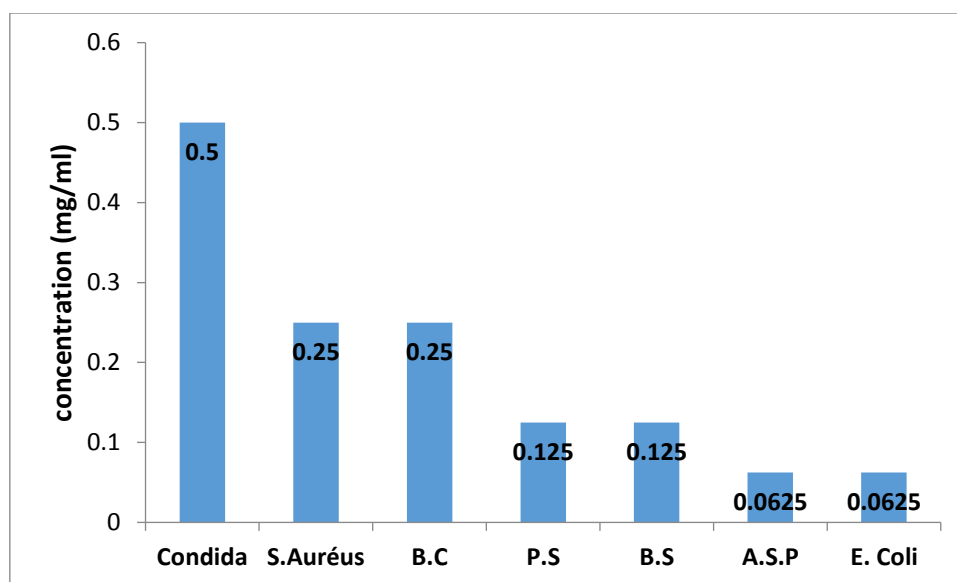


Figure 31 : histogramme des résultats de CMI

La bactérie *Escherichia coli* et *Aspergillus niger* a une faible CMI qui est égale 0,06 mg/ml par rapport au *Condida albicans* qui a une grande valeur de CMI qui est égale 0,5 mg/ml.

Conclusion

Conclusion

Les plantes médicinales restent toujours la source fiable des principes actifs connus par leurs propriétés thérapeutiques. L'objectif primordial assigné à ce travail est contribution à l'étude de l'huile essentielle de la plante *Pistacia lentiscus* ;et voir ses activités chimiques et biologique.

L'extraction par hydrodistillation sur un appareil de type clevenger des feuilles de *Pistacia lentiscus* récoltés dans la région du RAMKA de la wilaya de RELIZANE. Nous donne

- un rendement en huile essentielle de 0,054 %
- une densité de 0,80
- un indice de réfraction de $N_t = 1,4828$.
- l'huile de *Pistacia lentiscus* possède une teneur considérable en polyphénols (44,463 μg équivalent d'acide gallique /mg d'huile), les tannins (14,179 μg équivalent de catéchine/mg d'huile) et les flavonoïdes (20,105 μg équivalent de quercétine/mg d'huile).
- L'Etude du pouvoir antioxydant de notre huile essentielle est effectué par le test DPPH sur chromatographie sur couche mince (CCM) et la méthode de Test du DPPH' par spectrophotométrie qui permet de déterminer la concentration d'inhibition 50% (IC50) qui est égale à 1,961 ($\mu\text{g}/\text{ml}$), et un pourcentage de l'activité antiradicalaire atteint jusqu'à 97,3%.
- l'huile essentielle de *Pistacia lentiscus* a une activité bactéricide importante D'après les zones d'inhibition on remarque que les diamètres des zones d'inhibition varient de : 26mm dans le cas de *Bacillus subtilis*, 15 mm pour *Condidaalbicans*, 14 mm pour *Aspergillus niger* et *Bacillus cereus*, 12 mm pour *Staphylococcus aureus*, 10 mm pour *Escherichia coli* et 9 mm pour *Pseudomonas aeruginosa* qui est prouvé par la méthode des disques.

REFERANCES BIBLIOGRAPHIES :

- [1] GOEB Ph. (1999), Aromathérapie pratique et familiale. Ed. MDB.
- [2] TCHAMDJA K.M.(1995), Etude de performance d'un extracteur artisanal pour la production d'essence de citronnelle. Mémoire d'ingénieur des travaux biologiques, ESTBA, UB, 95 p.
- [3] NICOLAS V. (1991), Huiles essentielles: Production mondiale, échanges internationaux et évaluation des prix. 10^{ième} journée internationale des huiles essentielles. Actes, RavistaitalianaEppos ; numéro spécial 02/1992 : 534-539.
- [4] MISHARA A.K. & DUBEY N.K. (1994), Evaluation of some essential oils for their toxicity against fungi causing deterioration of stored food commodities. Appl. Environ. Microbiol. 60(4):1101-1105.
- [5] Mokkadem, A. (1999). Cause de Dégradation des plantes médicinales et aromatiques d'Algérie. Vie et Nature , 7, pp. 24–26.
- [6] Delazar,A. ;Reid,R.G. ;Sarker,S.D. GC-MS analysis of the essential oil from the oleoresin of Pistaciaatianiica var. Mutica. Chemistry of NaluralCompouds, Vol.40, No. 1, 2004.
- [7] De Pooter, H.L; Schamp, N.M; Aboutabl, E.A; El Tohaniy, S.F; Doss, S.L. Essential oils from the leaves ofthreePisiacia species grown in Egypt. Flavour and Fragrance Journal, Vol. 6, 229-232. 1991
- [8] Duru, M.E.; Cakir, A.; Kordali, S.; Zengin, H.; Harmandar, M.; Izumi, S.; Hirata, T. Chemical composition and antifimgalpropeitiesofessential oils ofthreePisiacia species. Filoterapia, 74: 170-176. 2003.
- [9] Iserin, P. (2001). Encyclopédie des Plantes Médicinales, Identification, Préparation, Soins. 2^{ième} édition Ed Larousse/VUEF. p13-16, 250, 291-296.
- [10] Boukeloua, A. (2009). Caracterisation botanique et chimique et évaluation pharmacotoxicologique d'une préparation topique à base d'huile de Pistacialentiscus L.

(anacardiaceae). Mémoire en vue de l'obtention du diplôme de Magistère, Université Mentouri Constantine.

[11] Bardeau F. (2009). Découvrir les bienfaits et les vertus d'une médecine ancestrale. Edit. Fermand Lanore, 315p.

[12] Mohammedi Z. (2006). Etude du pouvoir antimicrobien et antioxydant des huiles essentielles et flavonoïdes de quelques plantes de la région de Tlemcen. Mémoire de magistère, Univ. Tlemcen, 105p.

[13] Lafranchi, F.D.E., Bui, T.M. (1998). L'oléastre et le lentisque, plantes oléagineuses sauvages dans l'économie néolithique en Corse et en Sardaigne. Sardinian and Aegean Chronology: Towards the Resolution of Relative and Absolute Dating in the Mediterranean. Studies in Sardinian Archaeology.

[14] Julien, K. (2013). Les huiles végétales c'est malin. Leduc.s Éditions, 22 août 2013 - 256 pages. p.13, 19, 20, 21, 35.

[15] Nakayama, T. (1994). Suppression of hydroperoxyde-induced cytotoxicity by polyphenols. Cancer Research, 54: 1991-1993.

[16] Cos, P., Ying, L., Calomme, M., Hu, J. P., Cimangma, K., Poel, B.V., Pieters, L., Vlietinck, A. J. and Berghe, D.V. (1998). Structure-activity relationship and classification of flavonoids as inhibitors of xanthine oxidase and superoxide scavengers. J of National Product, 61:71-76.

[17] Macheix, J., Fleriet, A., & Christian, A. (2005). Les composés phénoliques des végétaux : un exemple de métabolites secondaire d'importance économique. Lausanne, Suisse: Les éditions PPTUR.

[18] Cotelle, N., Bernier, J-L., Catteau, J-P., Gaydou E., and Wallet, J .C. (1994). Activité biologique de 24 flavones : inhibition de la xantine oxydase et capture de radicaux libres. Edition INRA, p: 395-396.

[19] Bors, W., Michel, C., and Stettmaier, K. (1997). Antioxidant effects of flavonoids. British Library, 6: 399-402.

- [20] Gramza, A., and Korczak, J. (2005). Tea constituents (*Camellia sinensis* L.) as antioxidants in lipid systems. *Food Science and Technology*, 16: 351-358.
- [21] Siddhuraju, P. (2006). Antioxidant activity of polyphenolic compounds extracted from defatted raw and dry heated *Tamarindusindica* seed coat. *LWT*, 40: 982-990.
- [22] Bruneton, J. *Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes médicinales*, 3^e édition. Paris: Editions médicales internationales, éditions Toc & Doc Lavoisier, 1120p. 1999.
- [23] Skerget, M., Kotnik, P., Hadolin, M., RiznerHras, A., Simonic, M. and Knez, Z. (2005). Phenols, proanthocyanidins, flavones and flavonols in some plant materials and their antioxidant activities. *Food Chemistry*, 89: 191-198.
- [24] Brasseur. J. *Pharm. Belg.* (1989), 44(6), 403-410.
- [25] Ghedira, K. (2005). Les flavonoides : structure, propriétés biologiques, rôle prophylactique et emplois en thérapeutique. *Phytothérapie*, 4 : 162-169.
- [26] Kähköen, M. P., Hopia, A. I., Vuorela, H. J., Rauha, J., Pihlaja, K., Kujala, T. S. and Heinonen, M. (1999). Antioxidant activity of plant extracts containing phenolic compounds. *J of Agricultural Food Chemistry*, 47: 3954-3962.
- [27] Scalbert, A., Morand, C., Manach, C., and Remesy, C. (2002). Absorption and metabolism of polyphenols in the gut and impact on health. *Biomed. Pharmacother.* 56:276-282.
- [28] Chaher. N, (2006). Activités antioxydant et anti-radicalaire des extraits de deux plantes médicinales « *Pistacialentiscus* et *Fraxinusangustifolia* ». Mémoire présenté en vue de l'obtention du diplôme de Magister En Biochimie et Biophysique moléculaire: Techniques d'Investigations Biophysiques, Université A.MIRA de Bejaia.
- [29] lauk,L. ; Ragusa,S. ;Rapisarda, A., Franco, S., Nicolosi, V.M. In vitro antimicrobial activity of °islacialentiscusL.extracts: Preliminarv report. *Journal of Chemotherapy*, Vol.8, n.3, p.207209, 1996.
- [30] Garnier, G., Bézanger-Beauquesne, L. and Debraux, G. (1961). *Ressources médicinales de la flore française*. Edition, Vigot FrèresEditeurs, p: 665-666.

- [31] Cheraft, N. (2011). Activité biologique in vitro des extraits de *Pistacia lentiscus* contre les radicaux ABTS^{•+}, O₂^{•-} et •NO et caractérisation des fractions actives, Mémoire présenté en vue de l'obtention du diplôme de Magister En Biologie Option : Biochimie Appliquée aux Substances Végétales Bioactives.
- [32] Quezel, P.; Santa, S. Nouvelle flore de L'Algérie et des régions désertiques méridionales. Editions du Centre National de la recherche scientifique. Tome 11, 1963.
- [33] Belfadel, F.Z. (2009). Huile de fruits de *Pistacia lentiscus* Caractéristiques physicochimiques et effets biologiques (Effet cicatrisant chez le rat). Université de Constantine faculté des sciences exacte département de chimie
- [34] Magiatis, P.; Melliou, E.; Skaltsounid, A.L.; Chinou, I.S.; Mitaku, S. Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oils of *Pistacia lentiscus* var. *chia*. *Plant Med*, 65. 1999.
- [35] Kordali, S.; Cakir, A.; Zengin, I.L.; Duru, M.E. Antifungal activities of the leaves of three *Pistacia* species grown in Turkey. *Fitoterapia*, 74: 164-167. 2003.
- [36] Hamdan, I.I. ; Afifi, F.U. Studies on the in vitro and in vivo hypoglycemic activities of some medicinal plants used in treatment of diabetes in Jordanian traditional medicine. *Journal of Ethnopharmacology*. 93:117-121. 2004.
- [37] Villar, A., Sanz, M.J., Payo, M. (1987). Hypotensive effect of *Pistacia lentiscus* L. *Int J Crude Drug Res* 25, 1-3. <http://phytotherapie-tp1s.e-monsite.com/pages/les>. Consulté le: 13/06/2014.
- [38] Ferradji, A. (2011). Activités antioxydante et anti-inflammatoire des extraits alcoolique et aqueux des feuilles et des baies *Pistacia lentiscus*, Mémoire Présenté Pour l'obtention du Diplôme de Magister en biochimie Sétif.
- [39] Hamad, H., Hasan, I., Habib, H., Mariam, H., Gonaid and Mojahidul. (2011).
- [40] Luigia, L., Scardino, A., Vasapollo, G. (2007). Identification and quantification of anthocyanins in the berries of *Pistacia lentiscus* L., *Phillyrea latifolia* L. and *Rubia peregrina* L. *Innovative Food Science And Emerging Technologies*, 8 (3), 360- 364.
- [41] Castola, V ; Bighelli, A ; Casanova, J. Intraspecific chemical variability of the essential oil of *Pistacia lentiscus* L. from Corsica & Biochemical Systematics and Ecology 28: 79-88. 2000

- [42] Romani, P., Pinelli, C., Galardi, N., Mulinacci, M and Tattini. (2002). Identification and quantification of galloyl derivatives, flavonoid glycosides and anthocyanins in leaves of *Pistacia Lentiscus* L. *Phytochem Anal.* 13(2), 79-86.
- [43] Grant, S., Joseph, J., Brophy, V.S., and Hobbs. (1990). Volatile Components of the Fruit of *Pistacia Lentiscus*. *J of Food Science*, 55 (5), 1325–1326.
- [44] Congiu, R., Falconieri, D., Bruno, M., Piras, A., Silvia, P. (2002). Extraction and isolation of *Pistacia lentiscus* L. Essential oil by supercritical CO₂. *Flavour and Fragrance J*,17(4), 239–244.
- [45] Leprieur, M. (1860). *J de médecine, chirurgie et de pharmacie*, 3éme volume, Publié par la société de science médicale et naturelle de bruscelles, p. 614 -615.
- [46] Trabelsi, H., Olfa, A., Cherif, F., Sakouhi, P.V., Justin, R., Nathalie, B., and Paul, M. (2011). Total lipid content, fatty acids and 4- desmethylsterols accumulation in developing fruit of *Pistacia lentiscus* L. growing wild in Tunisia. *Food Chemistry*. Epub.
- [47] Gerhard, R. *Métabolisme des végétaux. Physiologie et biochimie*. Edilion française. Presses polytechnique et universitaires romandes. 1993.
- [48] Belaiche, P. (1979). *Traite de phytothérapie et d'aromathérapie, L'Aromatogramme*. Paris: Malonie, 204 p.
- [49] Lahlou, M. Methods to study flic phytochernistiy and bioactivity of essential oils. *Phytotherapy Research Phytother. Res.* 18, 435-448. 2004.
- [50] Blois, M.S. (1958). Antioxydant determination by the use of stable free radical, *Nature*, 181.
- [51] Molyneux, P; (2004). The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxydant activity, *Song Klama Karin J.Sci. Technol*, 26 (2): 211-219.
- [52] Bauer, K., Garbe, D., & Suburg, H. (2001). *Common Fragrance and Flavor Materials: Preparation, Properties and Uses*., Weinheim: Wiley-VCH, 293 pp.
- [53] Anton, R et Wichtel, M. *Plantes thérapeutiques: traditions, pratiques officinales, science et thérapeutique*. 3éme édition, Ed. Françaises. Strasbourg. 1999.
- [54] Bouchet, N., Barrier, L., & Fauconneau, B. (1998). Radical scavenging activity and antioxydant property of tannins from *Guierasenegalensis* (Combretaceae). *Phytotherapyresearch* , 12, pp. 159-162.

- [55] Lee, K. W.; Everts, H.; Beynen, A- C. Essential oils in Broder nutrition. International Journal of Pouliry Science, 3(12):738-72, 2004.
- [56] Cowan, M. M. Plant products as antimicrobial agents. ClinicaMicrobiology Reviews. Vol. 12, No. 4, p.564-582, 1999.
- [57] Davidson, P. M., Sofos, J. N., & Branen, A. L. (2005). Antimicrobials in Food (éd. Third Edition). Boca Raton: CRC Press, 429p.
- [58] Schnitzler, P., Schon, K., & Reichling, J. (2001). Antiviral activity of Australian tea tree oil and eucalyptus oil against herpes simplex virus in cell culture. Pharmazie , 56, pp. 343–347.
- [59] Belaiche, P. Traité de phytothérapie et d'aromathérapie. TOME I. M Maloine, Paris. 1979.
- [60] CARSON C.F., HAMMER K.A. et RILEY T.V., (1995). Broth microdilution method for determining the suceptibility of Escherichia coli and Staphylococcus aureus to the essential oil of Melaleuca alternafolia (tea tre oil). Microbios, 82: 181
- [61] Parejo I; Viladomat F; Bastida J; Rosas-Romero A; Flerlage N; Burillo J; Codina C. (2002). Comparison between the radical scavenging activity and antioxidant activity of six distilled and nondistilled Mediterranean herbs and aromatic plants. J Agric Food Chem; 50: 6882–90.
- [62] Schelz, S., Hohmann, J., & Molnar, J. (2010). Recent advances in research of antimicrobial effects of essential oils and plant derived compounds on bacteria. Ethnomedicine: A Source of Complementary Therapeutics , pp. 179-201 ISBN: 978-81-308-0390-6 .
- [63] Amarti, F., Satrani, B., Ghanmi, M., Farah, A., Aafi, A., Aarab, L., et al. (2010). Composition chimique et activité antimicrobienne des huiles essentielles de Thymus algeriensis Boiss. & Reut. et Thymus ciliatus (Desf.) Benth. du Maroc. Biotechnol. Agron. Soc. Environ , 14 (1), pp. 141-148.
- [64] Manou, L., Bouillard, L., Devleeschouwer, M. J., & Barel, A. O. (1998). Evaluation of the preservative properties of Thymus vulgaris essential oil in topically applied formulations under a challenge test. J. Appl. Microbiol. , 84, pp. 368-376.
- [65] McLaughlin, J. L., Rogers, L. L., & Anderson, J. E. (1998). The use of biological assays to evaluate botanicals. Drug Information Journal , 32, pp. 513-524.

- [66] Wagner, J., Wagner, M. L., & Hening, W. A. (1998). Beyond benzodiazepines: alternative pharmacologic agents for the treatment of insomnia. *Ann Pharmacother.* , 32 (6), pp. 680-91
- [67] Okoh, O. O. (2010). Chemical transformations and phytochemical studies of bioactive components from extracts of *rosmarinus officinalis* L. A thesis submitted in fulfillment of the requirements for the degree of Doctor of Philosophy , 198pp. Faculty of Science and Agriculture at the University of Fort Hare.
- [68] Ouraïni, D., Agoumi, A., Alaoui, M. I., Alaoui, K., Cherrah, Y., Benlemlih, M., et al. (2005). Approche thérapeutique des dermatophyties par les huiles essentielles de plantes aromatiques marocaines. *Phytothérapie* , 1, pp. 3-12
- [69] Carnesecchi, S., Schneider, Y., Ceraline, J., Duranton, B., Gosse, F., Seiler, N., et al. (2001). Geraniol, a Component of plant essential oils, inhibits growth and polyamine biosynthesis in human colon cancer cells. *J. Phamacol. Exp. Ther.* , 298 (1), pp. 197- 200.
- [70] Siani, A. C., Ramos, M. S., Menezes-de-Lima, O. J., Ribeiro-dos-Santos, R., Fernadez-Ferreira, E., Soares, R. O., et al. (1999). Evaluation of anti-inflammatory-related activity of essential oils from the leaves and resin of species of *Protium*. *Journal of Ethnopharmacology* , 66 (1), pp. 57-69.
- [71] Wang, J., Zhao, J., Liu, H., Zhou, L., Liu, Z., Wang, J., et al. (2010). Chemical Analysis and Biological Activity of the Essential Oils of Two Valerianaceous Species from China: *Nardostachys chinensis* and *Valeriana officinalis*. *Molecules* , 15, pp. 6411-6422.
- [72] Foulk, J. A., Akin, D. E., Dodd, R., & McAlister III, D. D. (2002). Flax Fiber: Potential for a New Crop in the Southeast. Dans J. Janick, & A. Whipkey, *Trends in new crops and new uses* (pp. 361-370). Alexandria, VA: ASHS Press.
- [73] Li, H.B., Cheng, K.W., Wong, C.C., Fan, K.W., Chen, F., Jiang, Y. (2007). Evaluation of antioxidant capacity and total phenolic content of different fractions of selected microalgae. *Food chemistry.* 102: 771-776.
- [74] Maamri, S. (2008). Etude de *Pistacia atlantica* de deux régions de sud algérien : Dosage des lipides, dosage des polyphénols, essais antileishmaniens. Mémoire en vue de l'obtention de diplôme de Magister en biochimie et microbiologie appliqués, p 26.

- [75] Belkheiri, N. (2010). Dérivés phénoliques et activités antiathérogènes. Thèse en vue de l'obtention du Doctorat de l'université de Toulouse, p 113.
- [76] Frankel, E. N; Meyer. A. S. (2000). "The problems of using one-dimensional methods to evaluate multidimensional food and biological antioxidants", *Journal of Science and Food Agriculture*, 80: 1925-1941.
- [77] Huang, D; Ou, B; Prior, R.L. (2005). "The Chemistry behind Antioxidant Capacity Assays", *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53 (6): 1841-1856.
- [78] Diouf, P.-N; Merlin, A; and Perrin, D. (2006). Antioxidant properties of wood extracts and colour stability of woods. *Annals of Forest Science*, 63: 525-534.
- [79] Bauer, Bauer, K.,D.Garbe, and H.Surburg, 2001. *Common Fragrance and Flavoure Materials,Preparation, Properties and Uses.*, Ed.Wiley-Weinheim.
- [80] Boizot, N., & Charpentier, J. (2006). Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier. *Le Cahier des Techniques de l'INRA* , pp. 79-82.
- [81] Carson CF, Mee BJ, & Riley TV. (2002). Mechanism of action of *Melaleuca alternifolia*(tea tree) oil on *Staphylococcus aureus*determined par time-kill, lysis, leakage and salt tolerance assays and electron microscopy. *Antimicrob. Agents Chemother.*
- [82] Heath,H.B, 1981.*Source book flavour*. Elservier 1st edition. London, P 151-172
- [83] Essawi, T., & Srour, M. (2000). Screening of some Palestinian medicinal plants for antibacterial activity. *Journal of Ethnopharmacology* , 70, pp. 343-349.
- [84] Sipaliene A., venskutonis ;P.R.,Baranauskiene, R. et Sarkinas, A.,, 2006. Antimicrobial activity of commerical samples of thyme and majoral oils, *Journal of Essential oil. Reserch*, Vol 18 P698-703
- [85] Carré,P.*Précis de technologie et de chimie industrielle*. E1. Ballière J.B. et fils,T3, 1953.
- [86] AFNOR. (1989). "Les huiles essentielles": 3ème Recueil des normes françaises.
- [87] Li, P ;Anu, H ; Jari, S ; Teijo, Y ; Heikki, V ; (1999). TLC method for evaluation of free radical scavenging activity of rapeseed meal by video scanning technology , *Chemistry and Nutrition*, 10 : 123-187.

- [88] Georgé, S., Brat, P., Alter, P., Amiot, J.M. (2005). Rapid determination of polyphénols and vitamin C in plant-derived products. *J of Agricultural and Food Chemistry*. 53: 1370-1373.
- [89] Bahorun, T., Gressier, B., Trotin, F., Brunete, C., Dine, T., Vasseur, J., Gazin, J.C., Pinkas, M., Luycky, M., Gazin, M. (1996). Oxygen species scavenging activity of phenolic extracts from hawthorn fresh plant organs and pharmaceutical preparations. *Arzneimittel-Forschung*. 46: 1086-1089.
- [90] Bourel C., 1993. Analyse chimique, activités biologiques et antioxydantes d'extraits de plantes aromatiques sélectionnées. Thèse de l'institut national polytechnique de Toulouse.
- [91] Hayashi, K., & Hayashi, T. (1994). Virucidal effects of the steam distillate from *Houttuyniacordata* and its components on HSV-1, influenza virus and HIV. *Planta Medica* , 61, pp. 237–241.
- [92] Remesy C., Manach C., Demigne C., Texier O, Regeat F. “ intérêt nutritionnel des flavonoides”. *Med. Nut.* 1991.
- [93] Bektas, T., Dimitra, D., Atalay, S., Munevver, S., & Moschos, P. (2005). Antimicrobial and antioxidant activities of essential oil and various extracts of *Salvia tomentosa* Miller. *Food Chemistry* , 90, pp. 333-340. Modifiée
- [94] Brand-Willims, W; Cuvelier, M. E; Berset, C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity, *Lebensmittel-Wissenschaft und technologie*, 28 : 25-30.
- [95] Sharififar, F., Mozaffarian, V., & Moradkhani, S. (2007). Comparison of antioxidant and free radical scavenging activities of the essential oils from flowers and fruits of *Otostegiapersia*. *Boiss. Pak. J. Biol. Sci* , 10, pp. 3895-3899
- [96] Athamena, S., Chalghem, I., Kassah-Laouar, A., Laroui, S., & Khebri, S. (2010). Activité anti-oxydante et antimicrobienne d'extraits de *Cuminumcyminum* L. *Lebanese Science Journal* , 11 (1), pp. 69-81
- [97] Karatas, H., & Ertekin, S. (2010). Antimicrobial activities of the essential oils of four *Salvia* species from Turkey. *Journal of Medicinal Plants Research* , 4 (12), pp. 1238-1240.

- [98] Sarac, N., &Ugur, A. (2007). Antimicrobial activities and usage in folkloric medicine of some Lamiaceae species growing in Mugla, Turkey. *EurAsian Journal of BioSciences* , 4, pp. 28-37.
- [99] Yen Tan, T., &Siew Yong Ng, L. (2006). Comparison of three standardized disc susceptibility testing methods for colistin. *Journal of AntimicrobialChemotherapy* , 58, pp. 864–867.
- [100] Rahal, K., Belouni, R., Benslimani, A., TaliMaamar, H., Missoum, M., Aboun, A., et al. (2005). Standardisation de l'antibiogramme en médecine vétérinaire à l'échelle nationale selon les recommandations de l'OMS. Fascicule de recommandations , 3ème Edition. Alger, Algérie: Ministère de l'agriculture nationale
- [101] Mustafa, K., &Bektas, T. (2008). Chemical composition, antioxydant and antimicrobial properties of essential oils of three *Salvia* species from Turkish flora. *Bioressourcetechnology* , 99, pp. 40964104.
- [102] Franzin, L., Pennazio, M., Cabadi, D., Paolo Rossini, F., &Gioannini, P. (2000). Clarithromycin and amoxicillin susceptibility of *Helicobacter pylori* strains isolated from adult patients with gastric or duodenal ulcer in Italy. *Curr. Microbiol* , 40, pp. 96 – 100.
- [103] Ebrahimzadeh M. A Hosseinimehr S. J., Hamidinia A. and Jafari M.(2008), ANTIOXIDANT AND FREE RADICAL SCAVENGING ACTIVITY OF FEIJOA SELLOWIANA FRUITS PEEL AND LEAVES, *Pharmacologyonline* 1: 7-14 (2008)
- [104] Dina Atmani¹ , M. Begoña Ruiz-Larrea² , José Ignacio Ruiz-Sanz² , Leandro J. Lizcano² , Fadil Bakkali² and Djebbar Atmani¹ , Antioxidant potential, cytotoxic activity and phenolic content of *Clematis flammula* leaf extracts, *Journal of Medicinal Plants Research*, February, 2009 Vol. 5(4), pp. 589-598, 18

PARTIE 1 :
ETUDE
BIBLIOGRAPHIE

PARTIE 2 :
MATERIELS ET
METHODES

PARTIE 3 :
RESULTATS ET
DISCUSSIONS

***CONCLUSION
GENERALE***
