



Faculté des sciences
Département de chimie

THESE

Présentée pour obtenir le diplôme de **Doctorat** en Sciences
Option : chimie Analytique et Physique

THEME

ETUDE PHYSICO-CHIMIQUE ET CARACTERISATION DU FRUIT DE LA PLANTE LENTISQUE (*Pistacia Lentiscus L.*)

Par : Mr **Salah DJEDAIA**

Devant le jury :

Président :

Mr Fadhel ISMAIL Professeur Université Badji Mokhtar-Annaba

Directeur de thèse :

Mr Abdelkder MIZI M.C.A Université Badji Mokhtar-Annaba

Examineurs :

Mme Lobna FERCHICHI M.C.A Université Badji Mokhtar-Annaba

Mme Yamina BERREDGEM M.C.A Université Cherif Messaâdia –S-Ahras

Mr Zaiter LAHCENE Professeur Université Mentouri –Constantine

Mme Jamila-Kalthoum CHERIF Maître de Conférences Institut Préparatoire IPEIT- Tunisie

Invitée :

Malika TRABELSI AYADI Professeur Emérite Université Carthage FSB, Tunisie

Année universitaire 2016-2017

Résumé

Cette étude consiste en une contribution à la valorisation du *Pistacia Lentiscus L.*, très répandu dans l'Afrique du Nord et particulièrement en Algérie. Une étude ethnobotanique a été menée à l'aide de fiches questionnaires auprès de la population de cinq régions du nord Est: de l'Algérie. Cette enquête a concerné l'utilisation des différentes parties de la plantes (feuilles, fruits et racines) et de l'huile concrète en médecine traditionnelle algérienne. Ce travail s'est intéressé par la suite d'une part, à la caractérisation physicochimique (teneur en protéines, cellulose, minéraux...) et phytochimique (quantification des polyphénols totaux tanins flavonoïdes et l'évaluation de l'activité antioxydante) des fruits analysés. D'autre part nous sommes intéressés à l'extraction des huiles à partir des fruits et l'étude de leurs propriétés physico-chimiques. Enfin, des techniques spectroscopiques IR, FTIR et chromatographique CPG ont été utilisées pour identifier les acides gras de l'huile de lentisque.

Les résultats ont montré que *Pistacia Lentiscus L.* est couramment utilisé en thérapie traditionnelle. En effet, l'huile fixe de *Pistacia Lentiscus* est très utilisée pour soigner les brûlures (74%) puis la toux et le grippe (43%). Environ, 47% de la population utilise aussi les feuilles pour le traitement des affections gastro-intestinales et maux d'estomac. L'étude physicochimique et phytochimique ont montré la richesse du fruit de *Pistacia Leniscus L* en protéines (10,95%), en cellulose (22,70%) et en minéraux principalement Na ($92 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ MS) et Mn ($30,5 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ MS). De même il est clair que les fruits de *Pistacia Lentiscus* présentent de fortes teneurs en polyphénols ($154,34 \text{ mg EAG}\cdot\text{g}^{-1}\text{MS}$) en flavonoides ($75,2 \text{ mgEcat}\cdot\text{g}^{-1}$ MS), en tanins ($51,5 \text{ mg Ecat}\cdot\text{g}^{-1}\text{MS}$) et en vitamine E (6,6%). L'analyse des extraits huileux des fruits par les méthodes spectroscopiques et chromatographiques ont permis d'identifier plusieurs acides gras dont les acides palmitique, palmitoléique, oléique, linoléique et linoléinique qui sont les composés majoritaires. L'extrait méthanolique du lentisque a par ailleurs présenté un pouvoir antioxydant élevé via le radical DPPH ($\text{CI}_{50} = 14,75 \mu\text{g/mL}$).

Mots clés :

Pistacia lentiscus, huile végétale, acide gras, propriétés physicochimiques et phytochimiques composés phénoliques, activité antioxydante.

Abstract:

This study consists of a contribution to the valorization of *Pistacia Lentiscus L.*, very distributed in North Africa and particularly in Algeria. An ethnobotanical study was carried out based on interviews of the population from five different regions in north-east of Algeria. This investigation involved the use of the different plant parts (leaves, roots and fruits) and vegetable oil in Algerian traditional medicine. This work was interested subsequently to the physico-chemical characterization (protein, cellulose, mineral content...) and phytochemical composition (total polyphenols flavonoids, tannins and antioxidant activity) of *Pistacia* fruits. On the other hand, we are focused to the extraction of oils from *Pistacia* fruits and the study of their physico-chemical properties. Finally, spectroscopic IR, FTIR and chromatographic CPG techniques were used to identify fatty acids in *Pistacia* oil.

The results have shown that *Pistacia Lentiscus L.* is commonly used in traditional therapy. Indeed, the *Pistacia Lentiscus* oil is very used to treat burns (74%) then the cough and the flu (43%). Approximately, 47% of the population also uses the leaves for the treatment of gastrointestinal infections. The physicochemical and phytochemical studies showed the richness of *Pistacia Leniscus* fruit in proteins (10.95%), cellulose (22.70%) and in minerals mainly the most abundant element are Na (92 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ DM) and Mn (30.5 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ DM). It is also clear that *Pistacia Lentiscus* fruits have high levels of polyphenols (154.34 mg EAG.g⁻¹DM), flavonoids (75.2 mgEcat.g⁻¹ DM), tannins (51.5 mgEcat.g⁻¹DM) and vitamin E (6.6%). The analysis of *Pistacia* oil by spectroscopic and chromatographic methods made it possible to identify several fatty acids whose palmitic, palmitoleic, oleic, linoleic and linolenic acids are the most abundant compounds. The methanol extract of *Pistacia* has also exhibited a high antioxidant power via the DPPH radical ($\text{IC}_{50} = 14.75 \mu\text{g} / \text{mL}$).

Key words:

Pistacia lentiscus, Vegetable oil, fatty acids, physicochemical and phytochemical properties, phenolic compounds, antioxidant activity.

الخلاصة:

هذه الدراسة تشتمل على مساهمة تقييمية لنبته الضرو، المنتشر بكثرة في شمال إفريقيا و بالخصوص في الجزائر. قد أجريت دراسة حول نبات الضرو بواسطة بطاقات استفهامية بقرب خمسة مناطق شمال شرق مدينة القالة، هذا البحث اختص باستعمال مختلف أجزاء النباتات (ورق، ثمار و جذر) و كذلك الزيت الثابت في مجال الطب التقليدي. لقد إهتم هذا البحث من ناحية بوصف الخصائص الفيزيوكيميائية (نسبة البروتين، السيليلوز، المعادن) والدراسة الكيميائية لثمار النبات (تعيين كمية الفينولات الكلية، التانينات) الفلافونويدات و تقدير النشاطات الصادة للأكسدة باستعمال اختبار بالكاشف DPPH (ثنائي فينيل بيكريل هيدرازيل) من ناحية أخرى استخلاص الزيوت إنطلاقا من الثمار بواسطة مطيافية الأشعة ما تحت الحمراء (IR) و الأشعة ما تحت الحمراء بتحويل فورييه (FTIR) و كروماتوغرافيا الطور الغازي (CPG) من أجل معرفة الحموض الدسمة قد بينت النتائج بأن الضرو يستعمل باستمرار في معالجة بغض الأمراض حيث 47 % من مجموع السكان يستعملون الأوراق في معالجة الأمعاء و الام المعدة. أما لبزيت الثابت للضرو فإنه يستعمل بكثرة من أجل علاج الحروق المتسببة عن النار و الام المعدة (جروح) و الأمراض الجلدية و 2 % فقط من السكان يستعملون الجذور كتنقيع من أجل تخفيف الام المعدة. إن الدراسة الفيزيوكيميائية قد بينت بأن ثمار الضرو غنية جدا بالبروتينات (10.95%)، السيليلوز (22.70%) و بالمعادن و بالأخص عنصر $92 \mu\text{g/g Na}$ من المادة الجافة و عنصر $30.5 \mu\text{g/g Mn}$ من المادة الجافة. و أيضا فإن خلاصات ثمار الضرو غنية بالمركبات الفينولية (نسبة الفينولات: 154.34 ± 2.5 mg/g من المادة الجافة ، الفلافونويدات: 75.2 mg E cat/g من المادة الجافة، التانينات 51.5 mg E cat/g من المادة الجافة) و بالفيتامين 6.6 mg E في 100g من الزيت الثابت. الإختبار بثاني فينيل بيكريل هيدرازيل (DPPH) قد وضح نشاطا جيدا ضاد للأكسدة لهذا النبات.

الكلمات المفتاحية:

نبات الضرو (بستاسيا لنتسكوس)، الزيت النباتي، الخصائص الفيزيا كيميائية الفيتوكيميائية و ، الأحماض الدهنية، مركبات الفينول، النشاط المضادة للأكسدة.

Dédicace

Au nom d'ALLAH, le tout puissant, le clément, le très miséricordieux " Gloire à toi nous n'avons de savoir que ce que tu nous as appris, certes c'est toi l'omniscient, le sage " saint Coran. Sourate 2 - Verset 32, pour m'avoir donné la chance la volonté et le courage nécessaire pour mener ce travail à bout; je souhaite qu'il me montre d'autres jours meilleurs.

Je dédie ce travail à la mémoire de mes parents :

Zohra Bent boubaker

Et

Belhaj Ben khemiri

À ma famille et mes amis qui m'ont toujours soutenu et encouragé à suivre les chemins que je désirais.

Remerciements

*Les travaux exposés dans cette thèse ont été réalisés dans le laboratoire de LM2PM dirigé par Monsieur le Professeur **Mostefa Baccouche** en collaboration avec le laboratoire LACReSNE à la Faculté des Sciences de Bizerte dirigé par Madame le Professeur **Dalila Ben Hassen Chehimi**.*

*J'exprime tout particulièrement ma profonde gratitude et reconnaissance à Monsieur **Djilani Abdelwaheb** ; Professeur à l'université Badji Mokhtar-Annaba ; de m'avoir initié à la Chimie des Substances Naturelles et de m'avoir proposé ce sujet de thèse.*

*Je remercie vivement **Abdelkader Mizi** Maître de Conférences à l'université Badji Mokhtar-Annaba de m'avoir accepté dans son Laboratoire et de m'encadrer. Qu'il trouve ici l'expression de ma reconnaissance pour son encouragement.*

*Je remercie infiniment Monsieur **Fadhel Ismail** ; Professeur à l'université Badji Mokhtar-Annaba ; de m'avoir fait l'honneur de présider le jury chargé d'examiner ce travail.*

*J'exprime ma gratitude à Madame **Berredjem Yamina** Maître de Conférences à l'université Cherif Messaâdia- Souk-Ahras pour l'honneur qu'elle m'a fait d'avoir accepté de juger ce travail. Ses remarques et critiques ne peuvent être qu'enrichissantes et constructives.*

*Ma gratitude s'adresse à Monsieur **Zaiter Lahcene** Professeur à l'Université Mentouri –Constantine, pour avoir accepté de faire partie du jury et de juger ce travail.*

*Ma gratitude s'adresse également à Madame **Lobna Ferchichi**, Maître de Conférences à l'université Badji Mokhtar-Annaba, qui m'a fait l'honneur d'examiner ce travail.*

*Je remercie vivement Madame **Jamila-Khaltoum Cherif** Maître de Conférences à l'Institut Préparatoire aux Etudes d'Ingénieurs de Tunis IPEIT et chef de l'Unité de Chimie des Substances Naturelles au Laboratoire d'Application de la Chimie aux Ressources et Substances Naturelles et à l'Environnement (LACReSNE) à la faculté de Bizerte. Je tiens à lui exprimer toute ma gratitude pour l'intérêt et la confiance qu'elle m'a témoigné ainsi que pour sa disponibilité et ses conseils avisés.*

Je tiens à remercier vivement Madame Malika Trabelsi -Ayadi, Professeur Emérite à la Faculté des Sciences de Bizerte et fondatrice du laboratoire LACReSNE pour l'honneur qu'elle m'a fait en acceptant d'être membre de jury de cette thèse.

*Ma gratitude s'adresse également à Monsieur **Salah El-Kadiri** Professeur à l'Université d'Alep (Syrie) ; **Fadi Errouh, Hicham El- Agha** Maître Assistant à*

*l'Université d'Alep et les étudiantes **Batoul** et **Baraa** pour leurs aides précieuses et d'avoir mis à ma disposition l'équipement nécessaire pour l'analyse de mes échantillon.*

*Au sein du Laboratoire (LACReSNE) à la Faculté des Sciences de Bizerte-Tunisie, j'ai bénéficié de l'aide de nombreuses personnes qui, chacune à sa manière, a facilité mes démarches quotidiennes. Je tiens à remercier tous les membres encadreur, chercheurs, secrétaires et techniciens de LACReSNE. Je souhaite remercier particulièrement les doctorants, **Ahlem, Olfa, Hajer, Insaf et Ahmed**. Je remercie vivement les Docteurs : **Hédi Hammouda, Farouk Mraïhi et Mohamed Journi** pour leurs disponibilités et leur aide technique et qui avec leurs connaissances et leurs sérieux m'ont bien aidé à finaliser ce travail.*

*Ma gratitude s'adresse également aux membres du laboratoire Spectroscopie Moléculaire à la Faculté des Sciences de Tunis -Université d'El Manar (Tunis) dirigé par Monsieur le Professeur **Azzeddine Haloui** et particulièrement aux Docteurs **Youssef Arfaoui** Maître de Conférences et Madame **Abir Haloui** Maître Assistante d'avoir mis à ma disposition leurs laboratoires.*

*Je remercie tout particulièrement Monsieur **Abdessalem Ben Haaj Amara**; Doyen de la faculté des Sciences de Bizerte-Université de Carthage-Tunisie de m'avoir accueilli dans son établissement.*

J'adresse sincèrement mes remerciements à ceux qui ont contribué de près ou de loin à l'élaboration de ce modeste travail.

Merci à tous.

_ LISTE DES FIGURES _

Figure 1. Fleurs de pistachier lentisque.....	- 7 -
Figure 2. Feuilles de pistachier lentisque	- 8 -
Figure 3. Fruits de pistachier lentisque à différents stades de maturité	- 8 -
Figure 4. Distribution géographique de genre <i>Pistacia</i> dans le monde.....	- 9 -
Figure 5. Aire de répartition de <i>Pistacia lentiscus</i> L. autour du bassin Méditerranéen	- 9 -
Figure 6. Distribution géographique de <i>Pistacia</i> en nord Afrique (Algérie et Tunisie).	- 10 -
Figure 7. Structures de quelques phénols simples.....	- 15 -
Figure 8. Structure de base de quelques acides hydroxybenzoïques.....	- 17 -
Figure 9. Quelques acides hydroxycinnamiques.....	- 17 -
Figure 10. Squelette de base et nomenclature des flavonoïdes	- 18 -
Figure 11. Quelques composés phénoliques de la classe des flavonoïdes.	- 18 -
Figure 12. Structures de quelques composés des flavones.....	- 19 -
Figure 13. Système d'énumération et structures de quelques flavonols.	- 19 -
Figure 14. Structure de base de quelques flavanones.....	- 20 -
Figure 15. Structures des anthocyanidols et anthocyanes.	- 21 -
Figure 16. Transformation des anthocyanes en milieu aqueux fonction du pH.....	- 21 -
Figure 17. Structure de base et nomenclature des isomères de catéchines.	- 22 -
Figure 18. Structure de leucocyanidine.....	- 23 -
Figure 19. Structure de base des tanins hydrolysables.....	- 24 -
Figure 20. Structure chimique d'une unité monomérique (flavan-3-ol)	- 25 -
Figure 21. Structure de base des procyanidines oligomères de type B	- 25 -
Figure 22. Structure de base des procyanidines oligomères de type A.....	- 26 -
Figure 23. Quelques structures de coumarines.....	- 26 -
Figure 24. Dérivés hydroxyliques de la coumarine.....	- 27 -
Figure 25. Structure chimique de bergabtol	- 27 -
Figure 26. Formation des polyphénols à partir de l'acide shikimique.....	- 28 -
Figure 27. Mécanisme de synthèse de quelques composés phénoliques à partir de l'acide corchinique.....	- 29 -
Figure 28. Représentation d'un triglycéride issu de la condensation de trois acides gras C18 :1 et une molécule de glycérol.....	- 34 -
Figure 29. Structure générale d'un acide gras.....	- 35 -
Figure 30. Structure chimique de quelques acides gras saturés et poly-insaturés.....	- 36 -

Figure 31. Structure chimique de quelques acides gras oméga 3 et oméga 6	- 37 -
Figure 32. Principe du spectrophotomètre UV-visible monofaisceau	- 40 -
Figure 33. Schéma simplifié du chromatographe en phase gazeuse	- 41 -
Figure 34. Principe de l'analyse par Infra Rouge à Transformé de Fourier.....	- 42 -
Figure 35. Identification des constituants d'un mélange par RMN ¹³ C	- 43 -
Figure 36. Localisation géographique de la zone d'étude.....	- 52 -
Figure 37. Carte géographique (flore et faune) de la zone d'étude.....	- 53 -
Figure 38. Fruit noir de <i>Pistacia Lentiscus L.</i>	- 56 -
Figure 39. Protocole expérimental de dosage des polyphénols.....	- 66 -
Figure 40. Protocole expérimental de dosage des flavonoïdes totaux.	- 68 -
Figure 41. Protocole expérimental de dosage des anthocyanes.	- 69 -
Figure 42. Structure chimique du radical libre DPPH'	- 70 -
Figure 43. Montage d'extraction Liquide-Solide «Soxhlet» des huiles de lentisque.....	- 76 -
Figure 44. Utilisation des différents tissus du <i>Pistacia lentiscus</i> selon l'âge.....	- 95 -
Figure 45. Pourcentages d'utilisation des différents tissus du lentisque par les deux sexes-	96 -
Figure 46. Caractérisation de la matière végétale	- 101 -
Figure 47. Courbe d'étalonnage de l'acide gallique (solution méthanolique).	- 105 -
Figure 48. Courbe d'étalonnage de la catéchine (en solution méthanolique)	- 106 -
Figure 49. Evolution des spectres d'absorption de l'extrait.	- 110 -
Figure 50. Variation du % DPPH• restant en fonction du volume de l'extrait de <i>Pistacia</i> .-	111
-	
Figure 51. Courbe d'étalonnage de la vitamine E dans un milieu heptanique de FeCl ₃ ..	- 118 -
Figure 52. Chromatogrammes CPG de l'huile du <i>Pistacia Lentiscus</i>	- 120 -
Figure 53. Composition du spectre de l'huile pure à celui du méthyle oléate	- 122 -
Figure 54. Spectre IR de l'huile fixe de <i>Pistacia Lentiscus L</i> extraite par Soxhlet.	- 123 -
Figure 55. Caractéristiques des composés de référence méthyle oléate.....	- 125 -
Figure 56. Spectre IRFT du méthyle oléate et résultat du triage des pics.....	- 125 -
Figure 57. Spectre IRFT de l'huile pure de <i>Pistacia lentiscus</i> et esters méthyliques.....	- 126 -
Figure 58. Superposition des spectres UV/VIS à différentes concentrations 20 ; 5 ; 2,5 et 1,25g/L de l'huile de <i>Pistacia</i>	- 128 -
Figure 59. Spectre UV de l'huile fixe de <i>Pistacia Lentiscus L.</i>	- 129 -
Figure 60. Spectre UV des esters méthyliques de <i>Pistacia Lentiscus L.</i>	- 129 -

_ LISTE DES TABLEAUX _

Tableau 1. Classification botanique du *Pistacia Lentiscus L.* - 7 -

Tableau 2. Quantification des composés polyphénoliques totaux dans les extraits de *Pistacia Lentiscus L.*..... - 32 -

Tableau 3. Distribution des flavonoïdes examinés dans quatre espèces de *Pistacia* (Kawashty et al., 2000)..... - 33 -

Tableau 4. Caractéristiques spectrales des anthocyanes des fruits de *Pistacia Lentiscus* (Longo et al., 2007)..... - 34 -

Tableau 5. Acides gras les plus communs et leurs principales sources alimentaires. - 37 -

Tableau 6. Rendement de la teneur phénolique totale et les valeurs IC₅₀ de l'extrait méthanolique de *Pistacia Lentiscus L.*..... - 45 -

Tableau 7. Pouvoir réducteur et concentrations demi-inhibitoires (IC₅₀) de l'extrait de *Pistacia Lentiscus L.* (Atmani et al., 2009). - 45 -

Tableau 8. Récapitulatif des conditions de récolte..... - 56 -

Tableau 9. Paramètres instrumentaux de la SEA-F pour l'analyse du K et du Na. - 62 -

Tableau 10. Longueurs d'onde des raies analytiques des métaux étudiés. - 63 -

Tableau 11. Utilisation du *Pistacia lentiscus* par les habitants d'Oued El-Hout - 90 -

Tableau 12. Utilisation du *Pistacia lentiscus* par les habitants d'Oum-Theboul - 92 -

Tableau 13. Utilisation du *Pistacia lentiscus* par les habitants de Roum El-Souk - 93 -

Tableau 14. Utilisation du *Pistacia lentiscus* par les habitants d'El-Aioun..... - 94 -

Tableau 15. Utilisation du *Pistacia lentiscus* par les habitants de Bougous - 94 -

Tableau 16. Pourcentages d'utilisation des feuilles. - 97 -

Tableau 17. Pourcentages d'utilisation des huiles fixes de fruit. - 98 -

Tableau 18. Pourcentages d'utilisation des racines..... - 99 -

Tableau 19. Caractéristiques physicochimiques des fruits de *Pistacia Lentiscus*..... - 101 -

Tableau 20. Résultats des analyses du K et Na par SEA-F à double faisceaux et à étalon interne (µg/g M.S). - 103 -

Tableau 21. Analyse par SEA-ICP à balayage de quelques éléments métalliques dans le fruit de *Pistacia Lentiscus L.* (µg/g M.S). - 103 -

Tableau 22. Résultats des réactions de caractérisation dans le fruit *pistacia*..... - 104 -

Tableau 23. Teneurs en flavonoïdes totaux..... - 106 -

Tableau 24. Teneur en tanins dans les extraits du fruit du *Pistacia Lentiscus*..... - 107 -

Tableau 25. Teneurs en composés phénoliques de fruits de *Pistacia Lentiscus L.*..... - 108 -

Tableau 26. Pourcentages d'inhibition et DPPHrest. - 110 -

Tableau 27. Caractéristiques organoleptiques de l'huile du Lentisque - 114 -

Tableau 28. Caractéristiques physicochimiques de l'huile de lentisque ation - 115 -

Tableau 29. Couleurs complémentaires et couleur lovibond - 119 -

Tableau 30. Temps de rétention des constituants standards, des esters méthyliques et acides gras de l'huile de *Pistacia*. - 121 -

Tableau 31. Composition en acides gras d'huile de lentisque d'après Mezni et al. (2012). - 121 -

-

Tableau 32. Comparaison entre les nombres d'onde du méthyl oléate (IRFT) de l'huile (IRFT) et de l'huile (IR). - 126 -

Sommaire

Introduction générale.....	1
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	5
PARTIE I- ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE	
CHAPITRE I : DONNEES ESSENTIELLES SUR LE <i>PISTACIA LENTISCUS L</i>	
I-Classification de la plante (<i>Pistacia Lentiscus L.</i>)	6 -
I- 1-Aperçu sur la botanique de la plante <i>Pistacia</i>	6 -
I-2- Place dans la systématique	6 -
I-3- Morphologie de Lentisque pistachier	7 -
I- 3-1- Morphologie Florale	7 -
I-3-2- Feuilles	8 -
I- 3- 3- Graines (fruits)	8 -
I-4- Répartition géographique et exigences écologiques du pistachier	8 -
I- 5- Nomenclature	10 -
I-6- Utilisation du Lentisque en médecine et en pharmacologie	11 -
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	12 -
CHAPITRE II : DIVERSITE DE STRUCTURES CHIMIQUE DES PLANTES MEDICINALES: GENERALITES SUR LES METABOLITES SECONDAIRES	
II-1-Chimie des métabolites des plantes	14 -
II-1-1-Généralités sur les métabolites secondaires.....	14 -
II-1-2- Définition et classification des composés phénoliques	15 -
II-1-2-1-Définition	15 -
II-1-2-2- Classification et diversité des polyphénols	15 -
II-1-2-2-1 Phénols simples	16 -
II-1-2-2-2- Flavonoïdes: Composés en C ₆ -C ₃ -C ₆	17 -
II-1-2-2-3- Anthocyanes.....	20 -
II-1-2-2-4- Flavon-3-ols (Catéchines).....	21 -
II-1-2-2-5- Leucoanthocyanes.....	23 -
II-1-2-2-6- Composés polymériques (tanins).....	23 -
II-1-2-2-7- Coumarines	26 -
II-2- Biosynthèse des composés phénoliques.....	28 -
II-3- Extraction des composés phénoliques.....	29 -
II-3-1-Méthodes d'extractions conventionnelles.....	30 -

II-3-2-Méthodes d'extractions innovantes	- 30 -
II-4-Méthodes de caractérisation des polyphénols	- 30 -
II-4-1-Etudes quantitatives des composés phénoliques des fruits de lentisque : Dosages colorimétriques par spectrophotométrie (UV-visible)	- 31 -
II-4-2- Analyse structurale des composés phénoliques des fruits de lentisque	- 32 -
II-5- Présentation des huiles végétales	- 34 -
II-5-1- Composition chimique des huiles	- 34 -
II-5-2-Techniques d'extraction des huiles végétales.....	- 38 -
II-5-2-1-Méthodes physiques	- 38 -
II-5-2-2-Méthodes chimiques.....	- 39 -
II-5-3- Analyse des corps gras.....	- 39 -
II-5-3-1-Analyse par colorométrie UV-Visible.....	- 40 -
II-5-3-2-Analyse par Chromatographie en phase gazeuse (GC)	- 41 -
II-5-3-3-Analyse par spectroscopie Infra Rouge	- 41 -
II-5-3-4-Analyse par spectroscopie RMN	- 42 -
II-6-Activité antioxydante des végétaux	- 43 -
II-6-1-Méthodes d'évaluation de la capacité antioxydante	- 44 -
II-6-2- Pouvoir antioxydant de <i>Pistacia Lentiscus</i> L cultivés en Algérie	- 45 -
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	- 46 -

PARTIE II: ETUDE EXPERIMENTALE
CHAPITRE I: ENQUETE ETHNOBOTANIQUE

Introduction	- 52 -
II-1-Cadre géographique et socio-économique de la zone d'étude.....	- 52 -
II-2-Méthodologie d'étude	- 54 -
II-2-1-Déroulement des enquêtes	- 54 -

PARTIE II: ETUDE EXPERIMENTALE
CHAPITRE II: ETUDE PHYSICOCHIMIQUE ET PHYTOCHIMIQUE
DES FRUITS DU *PISTACIA LENTISCUS* L.

II-1- Matériel végétal.....	- 56 -
II-2-Etude Physicochimique.....	- 57 -
II-2-1-Caractérisation du matériel végétal	- 57 -
II-2-1-1- Détermination de la teneur en humidité	- 57 -
II-2-1-2- Matière sèche.....	- 57 -
II-2-1-3- Détermination de la teneur en cendres	- 57 -
II-2-2-Détermination de la teneur en protéine.....	- 58 -

II-2-3-Dosage de la cellulose	- 59 -
II-2-4- Analyse multi-élémentaire.....	- 60 -
II-2-4-1-Attaque acide	- 60 -
II-2-4-2-Dosage du Zinc par SAA à four de graphite	- 60 -
II-2-4-3-Dosage du K et du Na par SEA - flamme	- 61 -
II-2-4-4-Dosage du Ca, Mg, Fe, P, Mn et Cu par SEA-ICP	- 62 -
II-3-Etude Phytochimique	- 63 -
II-3-1-Mise en évidence des métabolites secondaires	- 64 -
II-3-1-1-Test des alcaloïdes.....	- 64 -
II-3-1-2- Test des flavonoïdes	- 64 -
II-3-1-3- Test des tanins	- 65 -
II-3-1-4-Test des coumarines	- 65 -
II-3-1-5- Composés réducteurs.....	- 65 -
II-3-2-Extraction et dosages des composés phénoliques.....	- 65 -
II-3-2-1- Polyphénols totaux	- 65 -
II-3-2-2- Flavonoïdes totaux	- 67 -
II-3-2-3-Tanins condensés.....	- 68 -
II-3-2-4- Anthocyanes totaux	- 69 -
II-4-Determination de l'activité antioxydante	- 70 -
II-4-1-Piégeage par le radical libre DPPH	- 70 -
II-4-1-1-Pincipe	- 70 -
II-4-1-2-Protocole expérimental.....	- 71 -
RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES	- 73 -

PARTIE II: ETUDE EXPERIMENTALE

CHAPITRE III: L'HUILE DU *PISTACIA* EXTRACTION ET ANALYSES QUALITATIVES ET QUANTITATIVES

III-1- Extraction des huiles de <i>pistacia</i>	- 75 -
III-1-1-Extraction par solvants organique (Soxhlet).....	- 75 -
III-1-2-Rendement en huile	- 76 -
III-3-Determination des indices caractéristiques de l'huile de <i>pistacia</i>	- 77 -
III-3-1-Détermination de l'indice de saponification	- 77 -
III-3-2-détermination de l'indice d'acide (I_A)	- 78 -
III-3-3-Détermination de l'indice d'ester (I_E)	- 78 -
III-3-4-Détermination de l'indice d'iode (I_i)	- 79 -

III-3-5-Détermination de l'indice de peroxyde	- 80 -
III-3-6-Détermination du teneur en insaponifiable	- 80 -
III-3-7-Détermination du point de fusion.....	- 81 -
III-3-8-Détermination du point de goutte.....	- 81 -
III-3-9-Détermination de l'indice de réfraction.....	- 82 -
III-3-10-Détermination de la couleur LOVIBOND	- 82 -
III-4-Dosage de la vitamine E	- 83 -
III-5 Analyses spectroscopiques et chromatographie des acides gras.....	- 84 -
II-5-1- Analyse par UV/visible.....	- 84 -
II-5-2 Analyse des acides gras par Chromatographie Gazeuse CPG	- 85 -
II-5-2- 1- Preparation des esters methilyques des acides gras.....	- 85 -
II-5-3 Analyse par CPG.....	- 85 -
II-5-3- Analyses spectroscopiques de l'huile de <i>Pistacia Lentiscus L.</i>	- 86 -
II-5-3- 1-Analyse de l'huile fixe de <i>Pistacia Lentiscus</i> par IR et FT/IR.....	- 86 -
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	- 87 -

PARTIE III: RÉSULTATS ET DISCUSSIONS
CHAPITRE I: ETUDE ETHNOBOTANIQUE

Introduction	- 89 -
III-Collecte des résultats.....	- 89 -
III-2-Facteurs influençant l'utilisation du lentisque	- 95 -
III-2-1-Utilisation du <i>Pistacia lentiscus</i> selon l'âge.....	- 95 -
III-2-2- Utilisation du <i>Pistacia lentiscus</i> selon le sexe.....	- 96 -
III-2-3-Utilisation du <i>Pistacia lentiscus</i> selon le niveau d'étude	- 96 -
III-3- Usage traditionnelle du <i>Pistacia lentiscus</i>	- 97 -
III-3-1- Feuilles	- 97 -
III-3-2- Huile fixe de fruits.....	- 98 -
III-3-3-Racines	- 99 -
Conclusion.....	- 99 -
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	- 100 -

PARTIE III: RÉSULTATS ET DISCUSSIONS
CHAPITRE II: ETUDE PHYSICOCHIMIQUE ET PHYTOCHIMIQUE

Introduction	- 101 -
II-1-Etude physicochimique	- 101 -
II-1-1-Characterisation du matériel végétal	- 101 -

II-1-2- Composition minérale.....	- 102 -
II-2-Etude phytochimique	- 103 -
II-2-1-Tests Phytochimiques	- 104 -
II-2-2-Quantification des composés phénoliques.....	- 105 -
II-2-2-1-Dosage des polyphénols totaux	- 105 -
II-2-2-2-Teneur en flavonoïdes	- 106 -
II-2-2-3- Teneur en tanins	- 107 -
II-2-2-4- Teneur en anthocyanes	- 108 -
II-3- Evaluation du pouvoir antiradicalaire par DPPH.....	- 108 -
Conclusion.....	- 111 -
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	- 112 -

PARTIE III: RÉSULTATS ET DISCUSSIONS

CHAPITRE III: ANALYSES QUANTITATIVE ET QUALITATIVE DES HUILES DE *PISTACIA*

Introduction	- 114 -
III-1-Propriétés organoleptique et physico-chimique de l'huile du lentisque.....	- 114 -
III-2- Quantification de la vitamine E dans l'huile du <i>Pistacia</i>	- 117 -
III-3- Couleur LOVIBOND	- 119 -
III-4- Composition chimique de l'huile de lentisque par CPG	- 119 -
III-5- Analyse de l'huile fixe de <i>Pistacia Lentiscus L.</i> par IR	- 123 -
III-6- Analyse de l'huile de <i>Pistacia Lentiscus L.</i> extraite du fruit par FT/IR.....	- 124 -
III-7- Analyse de l'huile de <i>Pistacia Lentiscus L.</i> par UV /VIS	- 127 -
RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES	- 130 -
Conclusion générale	- 131 -
Listes des annexes	- 134 -

INTRODUCTION GENERALE

Introduction générale

Les plantes ont existé sur la surface du globe terrestre depuis la vie sur terre, elles ont un rôle prépondérant dans l'évolution des sociétés humaines. Le végétal constitue la base de vie de l'être humain (Daaboul, 2004).

En effet, l'homme a toujours utilisé les plantes pour se soigner; c'est la phytothérapie qui désigne la médecine fondée sur les principes actifs extraits de plantes. Ce mot vient du grec "*phytos*" qui signifie plante et "*therapeuo*" qui signifie soigner. Au cours de l'histoire, presque tous les produits utilisés par l'Homme trouvent leur origine dans le végétal. L'homme a compté sur la plante pour assurer son alimentation et ses soins : «La nature est le médecin des malades», citation d'Hippocrate (460- 377 av. J.-C.) (Rodrigues E., 2007).

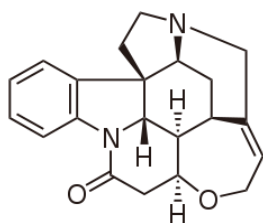
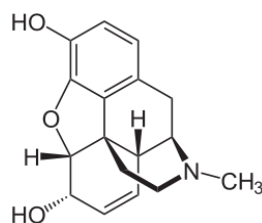
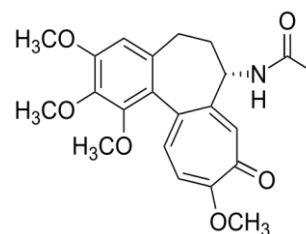
Dans l'Antiquité méditerranéenne, les plantes médicinales étaient utilisées sur tous les plans, même les plus élevés de la vie spirituelle, elles ont constitué le principal outil thérapeutique. Les connaissances médicales dans l'Égypte antique (2900 ans avant J.C.) bénéficiaient d'une excellente réputation, le meilleur renseignement pharmaceutique égyptien a été trouvé écrit sur les feuilles El-Bardi datant de 1500 ans avant J.C, il contenait plus de 700 produits de soin dont la plupart étaient extraits des plantes. La médecine chinoise s'était étendue durant de longs siècles et les premiers manuscrits de cette médecine datent de 1100 ans avant J.C (Zhonghua. 2014).

Les Grecs ont participé d'une manière évidente dans le développement de la médecine des plantes dans l'ancien monde Occidental. Le philosophe et savant Theophrastus (500 avant J.C) dans son livre « Histoire Des Plantes », a parlé de l'utilisation des plantes. Le savant Dioscorides (1100 JC) a inscrit durant ses promenades avec l'armée romaine, le mécanisme d'assemblage, de conservation et d'utilisation des herbes médicinales utilisées dans son temps.

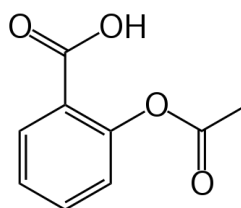
Le Monde Arabe a joué un rôle efficace dans la diffusion des connaissances des plantes médicinales de la Chine et de l'Inde vers les côtes occidentales de l'Afrique et de l'Espagne. Les musulmans ont été parmi les premiers ethnobotanistes (Malu et al., 1982).

Ce n'est qu'au VIII^{ème} siècle, avec le développement de la chimie analytique, qu'on est arrivé à connaître et isoler les principes actifs des plantes, ce qui a constitué le point de départ de ce qu'on appelle : la chimie des produits naturels médicinaux qui s'appuie sur une base scientifique (Ghyath Mosbah, 1999).

Ainsi des composés ont été isolés comme la strychnine, la morphine, la colchicine etc.

Strychnine C₂₁H₂₂N₂O₂Morphine C₁₇H₁₉NO₃Colchicine C₂₂H₂₅NO₆

Le monde végétal a apporté à l'industrie pharmaceutique la matière première à la fabrication d'une grande variété de médicaments. C'est en 1899 qu'on avait accompli l'industrie du médicament ayant la plus grande réputation et utilisation dans le monde qui est l'Aspirine. Cette molécule est présente à l'état naturel dans un certain nombre de plantes comme le saule (*Salix alba*), qui est à l'origine du nom acide acétylsalicylique, ou la reine-des-prés (*Filipendula ulmaria*), anciennement dénommée *Spiraea ulmaria*, ce qui est à l'origine du nom aspirine (Gaudillière JP., 2007).



Acide acétylsalicylique

Au XX^{ème} siècle (1983-1994), les médicaments dérivés des produits naturels ont atteint 41%. De nos jours, les plantes demeurent encore des sources importantes pour le traitement de différentes maladies.

Les chercheurs spécialisés dans la matière des produits naturels sont encore à la recherche de nouvelles molécules bioactives pour le traitement des maladies comme les maladies du cancer et infectieuses ou les atteintes microbiennes.

Parmi ces plantes médicinales différentes espèces du *Pistacia*, ont été considérées comme un bon remède pour le traitement des ulcères, l'hypertension, la toux, les maux de gorge, l'eczéma, les calculs rénaux et la jaunisse (Villar et al., 1987; Ali-Shtayeh et al., 2000; Gardeli et al., 2008).

Plusieurs travaux de recherche ont montré la richesse du *Pistacia Lentiscus L.* en molécules bioactives. Cette plante est une source de composés polyphénoliques dont nous citons le trans-resvératrol, les proanthocyanidines et une quantité remarquable de la daidzéine et la génistéine isoflavones (Gentile et al., 2007).

L'intérêt de cette étude a pour objectif la valorisation du *Pistacia Lentiscus* très répandu sur le tell algérien, pour cela nous avons envisagé la caractérisation physicochimique et phytochimique de ce fruit.

Pour atteindre cet objectif, ce travail s'organise en **trois parties** qui s'articulent autour de **cinq chapitres**.

La première partie de cette thèse rapporte en **deux chapitres** une étude bibliographique sur *Pistacia Lentiscus L.*

Le **premier chapitre** est une monographie de la plante. Cette étude permet de positionner ce fruit dans la systématique des familles. Quelques données pharmacologiques des fruits de lentisque sont passées en revue.

Le **deuxième chapitre** présente un aperçu de la diversité des structures et des fonctions pharmacologiques des métabolites secondaires des végétaux et du lentisque, leurs méthodes d'extraction et de quantification, leur aspect structural et biosynthétique.

La deuxième partie développe en **trois chapitres** les travaux expérimentaux menés au cours de cette thèse.

Le premier chapitre est consacré à une étude ethnobotanique. Une enquête ethnobotanique menée auprès des habitants de cinq régions du gouvernorat d'El-Tarf a été conduite dans le but de réunir toutes les informations sur la plante étudiée. Cette enquête a concerné les usages thérapeutiques pratiqués par la population locale dans les régions algériennes étudiées.

Le second chapitre est une contribution à la chimio-diversité du lentisque par l'étude des caractéristiques morphologiques, physicochimiques et phytochimique.

Cette étude a concerné

- une analyse quantitative des métaux par la spectrométrie d'absorption atomique à flamme (**SAA-F**) et par spectrométrie d'émission atomique à source de plasma inductive (**SEA-ICP**).

- Une analyse quantitative des polyphénols totaux, flavonoïdes, anthocyanes et tannins

- Une évaluation de l'activité antioxydante de la matrice végétale étudiée via le test de DPPH.

Le troisième chapitre est consacré à l'extraction et aux analyses qualitatives et quantitatives, des huiles extraites à partir des fruits de lentisque, par chromatographie en phase gazeuse **CPG**, spectroscopie Infra Rouge **IR**, spectroscopie infrarouge à transformée de fourrier, **IRTF (FT-IR)** et spectrophotométrie **UV-Vis**.

La troisième partie expose, interprète et discute, en **trois chapitres**, les résultats obtenus de l'étude ethnobotanique, l'étude physico-chimique et les analyses quantitatives et qualitatives des huiles de matrice étudié.

Ce manuscrit est clos par une **conclusion générale** résumant tous les résultats des travaux réalisés et dégage les principaux perspectives qui feront suite à ce travail.

Par souci de clarté on a rassemblé en **annexe** les préparations et caractérisations spécifiques.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Ali-Shtayeh M.S., Yaniv Z., & Mahajna J. (2000). Ethnobotanical survey in the Palestinian area: a classification of the healing potential of medicinal plants. *Journal of Ethnopharmacology*, 73(1), 221-232.
- Daaboul I. (2004). La chimie des produits naturels (partie théorique). Publications Université d'Alep, page 327.
- Dakak M., Massouh L. (1999). La toxicologie (partie théorique). Publications Université d'Alep, page 543.
- Gardeli C., Vassiliki P., Athanasios M., Kibouris T., & Komaitis M. (2008). Essential oil composition of *Pistacia lentiscus* L. and *Myrtus communis* L.: Evaluation of antioxidant capacity of methanolic extracts. *Food chemistry*, 107(3), 1120-1130.
- Gaudillière J.P. (2007). L'industrialisation du médicament: une histoire de pratiques entre sciences, techniques, droit et médecine. *Gesnerus*, 64, 93-108.
- Gentile C., Tesoriere L., Butera D., Fazzari M., Monastero M., Allegra M., & Livrea M.A. (2007). Antioxidant activity of Sicilian pistachio (*Pistacia vera* L. var. Bronte) nut extract and its bioactive components. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(3), 643-648.
- Ghyath Mosbah S. (1999). Principe de de biochimie. Université de Damas. Page 478.
- Malu A., Bahra M. (1982). La biochimie, publications de l'Université de Damas. Syrie.
- Rodrigues E. (2007). Plants of restricted use indicated by three cultures in Brazil (Caboclo-river dweller, Indian and Quilombola). *Journal of Ethnopharmacology*, 111(2), 295-302.
- Villar A., Sanz M.J., and Payo M. (1987). Hypotensive effect of *Pistacia lentiscus* L., "International Journal Crude Drug Research", 25, 1-3.

PARTIE I:
ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE I:
DONNEES ESSENTIELLES SUR
LE PISTACIA LENTISCUS L

I-Classification de la plante (*Pistacia Lentiscus* L.)

I- 1-Aperçu sur la botanique de la plante *Pistacia*

Le *Pistacia Lentiscus* est une espèce appartenant à la famille des Anacardiaceae qui regroupe des plantes dicotylédones. La composition de cette famille en genres et espèces diffère selon les auteurs. D'après Kokwaro (1986), elle compte 60 genres et 600 espèces alors que Pell (2004) indique que cette famille renferme 82 genres et plus de 700 espèces. D'après la littérature les genres les plus connues sont :

- Anacardium, avec l'anacardier qui fournit la noix de cajoux.
- Mangifera, avec le manguier qui produit des fruits comestibles ; les mangues.
- Pistacia, parfois considéré comme une famille à part, les pistacés genre auquel appartient le pistachier, arbre méditerranéen qui donne les pistaches
- Rhus, genre auquel appartiennent les Sumacs (Newaman et al., 2000).

Les espèces les plus importantes dans le monde du genre *Pistacia* d'après (Martini, 2003; Ibn Bitar, 1989; Ibn Sina, 1965) sont:

- *Pistacia atlantica*
- *Pistacia chinensis*
- *Pistacia lentiscus* L - Pistachier lentisque.
- *Pistacia Palaestina* - térébinthe de Palestine
- *Pistacia terebinthus* L - Pistachier térébinthe
- *Pistacia Vera* L - Pistachier vrai (qui donne les pistaches)
- *Pistacia Vulgaris* - Pistachier Vulgaris

En Algérie, le genre *Pistacia* est représenté par quatre espèces, en l'occurrence *Pistacia lentiscus*, *Pistacia terebinthus*, *Pistacia vera* et *Pistacia atlantica* (Quezel P. et Santa S., 1962).

I-2- Place dans la systématique

D'après Quézel et Santa (1963), la position des lentisques dans la systématique du règne végétal est donnée par l'arbre phylogénique représenté dans le tableau 1 (Cragg et al., 1997).

Tableau 1. Classification botanique du *Pistacia Lentiscus* L.

Règne	Plantae
Embranchement	Spermaphytes
Sous embranchement	Angiospermes
Classe	Dicotylédone
Sous classe	Dialypétales
Série	Diacifores
Ordre	Sapindale
Famille	Anacardiacées
Genre	Pistacia
Espèce	Lentiscus

I-3- Morphologie de Lentisque pistachier

Se sont les feuilles, les fleurs, les fruits et les graines qui distinguent les différents genre des anacardiacées.

I- 3-1- Morphologie Florale

Comme tous les autres pistachiers, l'arbre de lentisque est dioïque, ses fleurs rougeâtres se rassemblent sous forme de grappes sortantes sous l'aisselle des feuilles (Fig.1). Les fleurs males femelles sont apétales et sont quinquennales en étamines pressées au fond du périanthe, elles sont tri-stomates. Parfois on distingue, pour des pieds monoïques, que les fleurs males et femelles sont portées par des rameaux différents. La floraison de lentisque s'étend du mois de Mars jusqu'au mois de Mai (Lemaistre; 1959).



Figure 1. Fleurs de pistachier lentisque

I-3-2- Feuilles

Les feuilles sont caduques et imparipennées, elles possèdent trois ou quatre sépales, elles sont caractérisées par un ovaire avec un style court à trois stigmates. Elles présentent des formes elliptiques, lisses, d'une verdure belle et luisante (Fig.2) (Onay et al., 2000).



Figure 2. Feuilles de pistachier lentisque

I- 3- 3- Graines (fruits)

Les fruits de l'arbre de lentisque sont des drupes de petite taille d'environ cinq millimètres, globuleux qui renferment un seul noyau à une seule graine contenant une pulpe de bon goût et d'une odeur embaumée (Ait yousef, 2006). Les fruits présentent plusieurs couleurs aux différents stades de maturité en effet, ils sont de couleur verte, au début, puis se transforment en rouge à mi-maturité et à la maturité ils sont noirâtres (Fig.3).



Figure 3. Fruits de pistachier lentisque à différents stades de maturité

I-4- Répartition géographique et exigences écologiques du pistachier

Les espèces de cette famille sont des arbres, des arbustes résistant à la chaleur, au froid et à la salinité puisqu'elles existent en abondance sur les bords de la mer méditerranée (Boullard, 2001). On les rencontre surtout dans les régions tropicales à subtropicales et dans les régions tempérées de l'hémisphère Nord. Elles occupent une

aire de distribution tropicale ou subtropicale, qui compte quatre régions phytogéographiques : méditerranéenne, iranotouranienne, sino-japonaise et mexicaine (Fig.4) (Seigue, 1985) (Zohary, 1952 ; Kokwaro et Gillett, 1980).



Figure 4. Distribution géographique de genre *Pistacia* dans le monde.

Le pistachier est un arbrisseau qui préfère les sols siliceux et secs, il se développe aussi sur des sols calcaires. Ce genre paraît s'être étendu à l'origine aux régions forestières subtropicales de la zone méditerranéenne. Les espèces auraient subi plus tard une forte xerophitisation (Fig.5) (Seigue A., 1985).

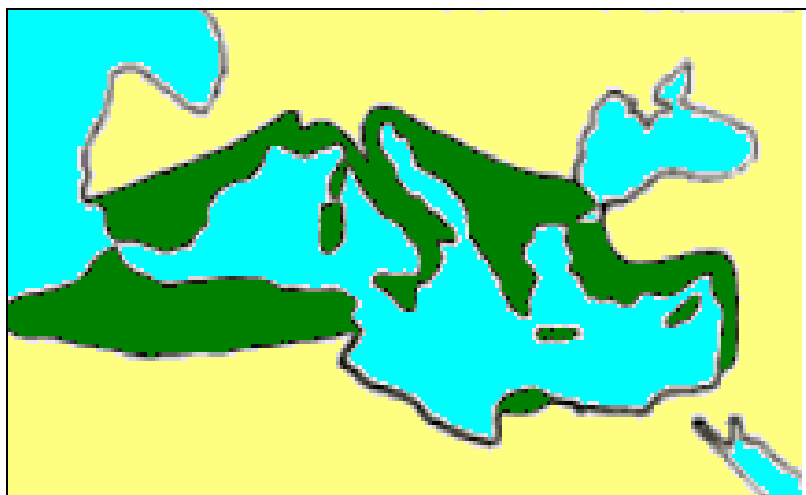


Figure 5. Aire de répartition de *Pistacia lentiscus L.* autour du bassin Méditerranéen

Le pistachier se disperse sur tout le tell Algérien et Tunisien, et existe avec densité dans les zones forestières et champêtres fraîches. Le lentisque préfère une ambiance climatique subhumide, semi-aride et chaude (Fig.6).

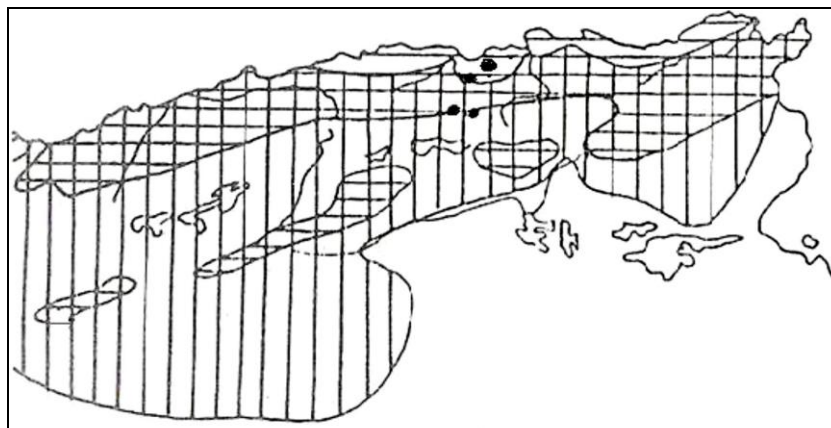


Figure 6. Distribution géographique de *Pistacia* en nord Afrique (Algérie et Tunisie).

Dans les zones humides, cette espèce est plus abondante dans les plaines que sur les hauteurs, contrairement aux zones semi-arides où elle pousse plutôt sur les hauteurs. Le lentisque assure la protection du sol contre l'érosion et crée les conditions favorables pour l'humification de la matière organique et l'enrichissement de ses propriétés biologiques (Correia et Diaz Barradas, 2000).

I- 5- Nomenclature

Cet arbre possède plusieurs noms qui diffèrent d'une société à une autre. Parmi ces noms on trouve le térébinthe oriental, le térébinthe de mastic, Addarou, Elgathoum. En amazigh on donne à cet arbre plusieurs noms: Tadist, Imtek, Meski et Itk. (Al-Assmai, 1908; Denis, 1982; Veissid, 1973).

Ibn El-Baitar dans son livre « traité des simples » ainsi qu'Ibn Sina donnent le nom d'Addarrou à cette plante. Diskordos la nomme Skhinos (Al Antaki 1952). D'autres populations donnent le nom d'Addarou aux fruits verts et le nom de khamkham aux feuilles du lentisque (Battendier.J.A., 1910). Tandis que les habitants des zones rurales aux environs de la région d'El Kala et ceux de la Tunisie donnent au fruit de lentisque le nom Gathoum.

Dans les pays du Cham et de la Turquie le fruit du lentisque de couleur rose clair est appelé pistache. Le lentisque yemenien est nommé Elkhamkham (Al Antaki 1952; Ibn Alljazzar, 1982; Al Razzi, 1955). En Grèce et en Egypte on lui donne le nom du mastic.

I-6- Utilisation du Lentisque en médecine et en pharmacologie

Les intérêts du lentisque sont nombreux, il est exploité pour la résine qu'il secrète dans ses tiges, ses feuilles, son bois et ses fruits pour des usages alimentaires, domestiques ou médicinaux.

En médecine, le mastic est utilisé comme antidiarrhéique pour les enfants, antiscorbutique ainsi que sous forme de cataplasme ou pour faire des fumigations et pour le traitement dentaire pour l'occlusion des dents cariées. La margarine de ses fruits est efficace pour chasser les gaz de l'hémoglobine.

Les feuilles sont utilisées comme anti-inflammatoire, antibactérien, antifongique, antipyrétique, hépatoprotective, expectorante et cicatrisant (Villar et al., 1987).

Egalement, les fruits mûrs du lentisque sont très efficaces pour le traitement des maladies de l'estomac et les infections respiratoires (Arab et al., 2014).

La gomme est utilisée pour la fabrication des parfums et l'huile essentielle est utilisée dans la fabrication du savon et la préparation des produits de beauté. Tandis que l'huile embaumée est utilisée à l'éclairage.

Références bibliographiques

- Aït youssef M. (2006). Plantes médicinales de cabylie. Paris, p 260-263.
- Al-Razi A.B. (1955). Alhaoui de médecine. Imprimerie du conseil de l'arrondissement des connaissances Othoman l'Inde.
- Al Antaki. (1952). Rappel aux savons billet préliminaire. Dar Al fikr. Le Caire, Egypte.
- Al Assmai. (1908). Livre des plantes et des arbres. Imprimerie catholique. Liban.
- Arab K., Bouchenak O., Yahiaoui K. (2014). Phytochemical study and evaluation of the antimicrobial and antioxidant activity of essential oils and phenolic compounds of pistacia lentiscus L. *Journal of Fundam Appl. Sci.* 6 (1), 77-9.
- Battendier J.A. (1910). Flore de l'Algérie, Librairie des Sciences Naturelles de Paris, France.
- Boullard B. (2001). *Plantes médicinales du monde: croyances et réalités*. De Boeck Secundair.
- Correia O., & Barradas M.D. (2000). Ecophysiological differences between male and female plants of *Pistacia lentiscus* L. *Plant Ecology*, 149(2), 131-142.
- Cragg G.M., Newman D.J., & Snader K.M. (1997). Natural products in drug discovery and development. *Journal of natural products*, 60(1), 52-60.
- Denis L. Bézanger-Beauquesne L., Pinkas M., Torck M. et Trotin F. (1982). Plantes médicinales des régions tempérées. *Journal d'agriculture traditionnelle et de botanique appliquée*, 29(1), 108-109.
- Ibn Aljazar. (1982). L'estomac ses maladies et ses traitement. Maison d'édition Rachid à Bagdad.
- Ibn Bitar. (1989). Les médicaments, explication du livre Diaciko Didos. La maison du Magreb islamique. Beyrouth
- Ibn Bitar. (1992). Regroupement des termes des médicaments et aliments. Maison d'édition scientifique. Beyrouth,
- Ibn Sina. (1965). La guérison. Comité générale des affaires des imprimeries elOumaouia. Egypte.

- Kokwaro J.O. (1986). "Anacardiaceae. In: Poihili, R.M. (Editor). *Flora of Tropical East Africa*. Rotterdam (Netherlands). p 59.
- Lemaistre J. (1959). Le Pistachier (Etude Bibliographique). *Fruits* 14, 57 – 77.
- Martini N.D. (2003). The isolation and characterisation of antibacterial compounds from *Combretum erythrophyllum* (Burch.) Sond (Doctoral dissertation).
- Newman D.J., Cragg G.M., & Snader K .M. (2000). The influence of natural products upon drug discovery. *Natural product reports*, 17(3), 215-234.
- Pell S.K. (2004). Molecular Systematics of the Cashew Family (Anacardiaceae), A (Dissertation, BS). *St. Andrews Presbyterian College*.
- Onay A., & Jeffree C.E. (2000). Somatic Embryogenesis in Pistachio (*Pistacia Vera* L.). In *Somatic embryogenesis in woody plants* (pp. 361-390). Springer Netherlands.
- Quezel P.S. (1963). Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales (No. 581.965 Q8).
- Veissid J. (1973). *Traité de médecine populaire*. Edité par Societe Parisienne d'Edition.

CHAPITRE II :
DIVERSITÉ DES STRUCTURES CHIMIQUES
DES PLANTES MEDICINALES

GENERALITES SUR LES METABOLITES
SECONDAIRES

II-1-Chimie des métabolites des plantes

Les végétaux sont de véritables usines capables de produire de nombreux métabolites qui présentent une grande diversité de structures chimiques en fonction de leur nature biochimique et de leur origine biosynthétique. Ils interviennent dans l'ensemble des réactions enzymatiques ou biochimiques ayant lieu dans l'organisme. Avec leurs diversités remarquables, les métabolites constituent une richesse largement exploitée dans les industries agroalimentaire, cosmétique et pharmaceutique. Parmi ces métabolites, on cite essentiellement les métabolites primaires et secondaires.

II-1-1-Généralités sur les métabolites secondaires

Les métabolites secondaires sont des molécules ayant une répartition limitée dans l'organisme des végétaux. Ils y jouent des rôles très importants, dont celui de moyen de défense contre les agressions externes. Les produits des métabolismes secondaires sont très nombreux, plus de 200.000 structures ont été identifiées. Ils sont d'une variété structurale extraordinaire mais en faible quantité.

Plusieurs composés, particulièrement les composés phénoliques, les alcaloïdes, les terpènes, les vitamines, les lignines..., appartenant aux métabolites secondaires sont considérés comme composés physiologiquement actifs. On peut citer comme exemple les Gibberelins qui sont considérés actifs pour le développement des plantes, les hypoquinones et les plastoquinones qui sont des composés jouant un rôle dans les phénomènes de respiration et de photosynthèse de la plante.

Parmi ces composés, certains déterminent la valeur nutritionnelle et les propriétés organoleptiques (goût et saveur); certains de ces produits sont utilisés dans les domaines industriel et médicinal.

Dans ce chapitre nous passerons en revue les différentes classes des composés phénoliques et nous nous intéressons principalement, à travers des exemples de molécules, aux polyphénols de lentisque qui constituent les catégories les plus importantes des métabolites secondaires. Nous présenterons aussi leurs aspects structuraux et biosynthétiques.

II-1-2- Définition et classification des composés phénoliques

II-1-2-1-Définition

De point de vue chimique, tout composé constitué par un ou plusieurs noyaux aromatiques substitués par au moins deux radicaux hydroxyles peut être classé comme polyphénol. Les composés phénoliques (polyphénols) sont des métabolites secondaires largement répandus dans le règne végétal. Ces composés sont reconnus pour leur forte bioactivité qui se traduit au niveau de l'organisme par une large gamme de propriétés biologiques, potentiellement intéressantes. Ils sont impliqués dans de nombreux processus physiologiques comme la croissance cellulaire, la rhizogenèse, la germination des graines ou la maturation des fruits. Ils jouent aussi un rôle essentiel dans la détermination des caractéristiques organoleptiques de la plante (Touafek, 2010 ; Kanoun, 2011).

Les composés phénoliques présentent beaucoup d'effets bénéfiques pour la santé principalement dûs à leurs propriétés antioxydantes, antimicrobiennes, anticancéreuses....

II-1-2-2- Classification et diversité des polyphénols

En s'inspirant des travaux de Ribéreau- Gayon (1968) on peut dire que les composés phénoliques présents dans le règne végétal présentent un classement qui se base d'après le squelette aromatique en trois familles : acides phénols, coumarines et flavonoïdes.

Les composés pyrocatechol, le résorcinol, l'hydroquinone sont les phénols secondaires les plus simples, tandis que le pyrogallol, le phloroglucinol, l'oxyhydroquinone sont les phénols tertiaires les plus simples (Fig.7).

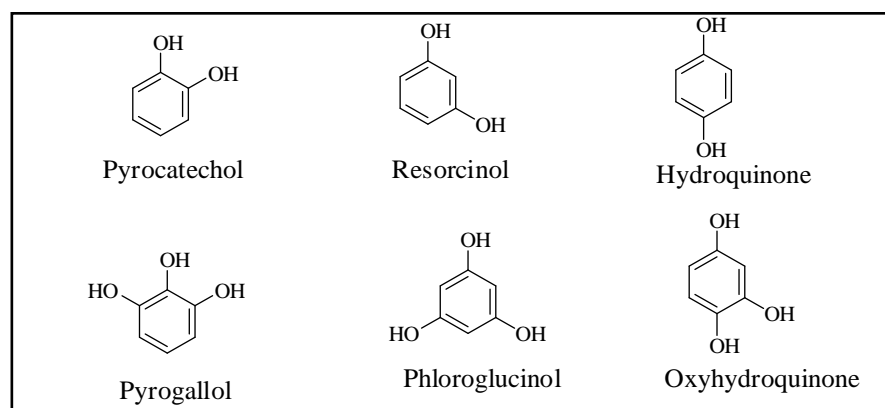


Figure 7. Structures de quelques phénols simples

Les composés phénoliques représentent une famille de molécules issue des métabolites secondaires. Ils ont tous en commun un noyau benzénique qui porte au moins un groupement hydroxyle qui peut être libre ou engagé dans une autre fonction. Les composés phénoliques sont primordiaux pour la vie de la plante, ils interviennent dans sa défense et sa coloration. Ils sont aussi bénéfiques pour l'homme grâce à leurs propriétés antioxydantes permettant de lutter contre plusieurs maladies. Les polyphénols sont présents dans presque toutes les plantes, mais leurs natures et teneurs varient largement d'une espèce à l'autre, et d'un tissu à un autre (Grolier et al., 2001). On peut répartir la grande catégorie des composés phénoliques naturels où leur nombre dépasse actuellement un millier, en trois ensembles principaux en se basant sur le squelette carbonique qui sont :

- Composés en C_6-C_1 où (C_6 représente le squelette carbonique du cycle phénolique et C_1 représente le regroupement latérale mono- carbone) (Cuvelier et al. 1992).
- Composés en C_6-C_3 où (C_6 est le squelette carbonique du cycle phénolique et C_3 est la chaîne latérale) (Ribéreau- Gayon, 1968).
- Composés en $C_6-C_3-C_6$ où C_6 est le squelette carbonique du cycle phénolique et C_3-C_6 est la chaîne latérale) (Bruneton, 1999).

II-1-2-2-1 Phénols simples

Les acides phénols sont les composés renfermant une ou plusieurs unités phénoliques sans d'autres fonctions. Ils font partie des formes les plus simples des composés phénoliques. On distingue deux principales classes d'acides phénoliques.

❖ Dérivés de l'acide hydroxybenzoïque (C_6-C_1)

Les composés en C_6-C_1 représentent la première famille des phénols simples se sont les dérivés de l'acide hydroxybenzoïque, citons ; p-hydroxybenzoïque acide ou P-hydroxy-acide benzoïque, l'acide protocatéchique, l'acide vanillique, l'acide gallique, l'acide sirengique (Fig.8). Les acides hydroxybenzoïques sont répandus largement dans les plantes et les végétaux.

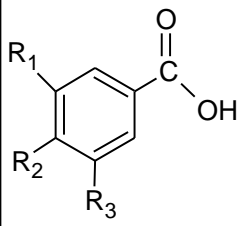
	Acide hydroxybenzoïque	R ₁	R ₂	R ₃
	Acide <i>para</i> -hydroxybenzoïque	H	OH	H
	Acide protocatéchique	OH	OH	H
	Acide vanillique	OCH ₃	OH	H
	Acide 3,5-dihydroxy-4 methoxybenzoïque	OH	OCH ₃	OH

Figure 8. Structure de base de quelques acides hydroxybenzoïques.

❖ Dérivés de l'acide hydroxycinnamique (C₆.C₃)

La structure des acides hydroxycinnamiques est de type C₆-C₃, un maillon propène étant fixé sur le noyau aromatique. De la même façon que pour les acides hydroxybenzoïques, on distingue plusieurs composés en fonction du schéma de substitution du noyau aromatique (Fig. 9).

Les acides hydroxycinnamiques les plus fréquents dans les plantes sont l'acide p-coumarique, l'acide caféique, l'acide férulique et l'acide sinapique.

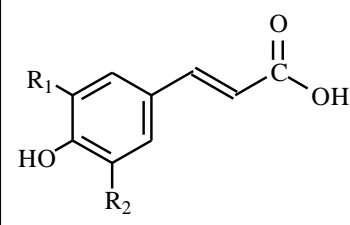
	Acide hydroxycinnamique	R ₁	R ₂
	Acide <i>para</i> -coumarique	H	H
	Acide caféique	OH	H
	Acide férulique	OCH ₃	H
	Acide sinapique	OCH ₃	OCH ₃

Figure 9. Quelques acides hydroxycinnamiques

L'acide chlorogénique est un acide-phénol, ester de l'acide caféique et de l'acide (L)-quinique est largement répandu dans les plantes et d'une façon spéciale, il se trouve en grande quantité dans les graines de tournesol, la pomme de terre et les grains de café (Ghyath, 1999).

II-1-2-2-2- Flavonoïdes: Composés en C₆-C₃-C₆

Cette famille est considérée parmi les ensembles des composés phénoliques les plus variés et les plus répandus. La structure de base des flavonoïdes est représentée

par la figure 10. Elle renferme deux noyaux et un cycle hétérogène portant de l'oxygène (cycle pyridinique) (Bruneton, 1999).

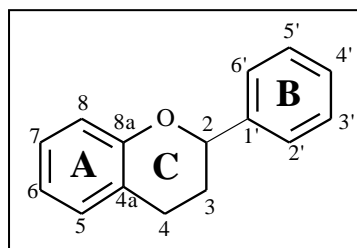


Figure 10. Squelette de base et nomenclature des flavonoïdes

A partir du degré d'oxydation ou de réduction de la partie hétérogène, il est possible de faire répartir les flavonoïdes en six classes phénoliques : flavanols, flavanones, flavones, flavonols, anthocyanes et isoflavonoïdes (Fig. 11) (De Rijke et al., 2006).

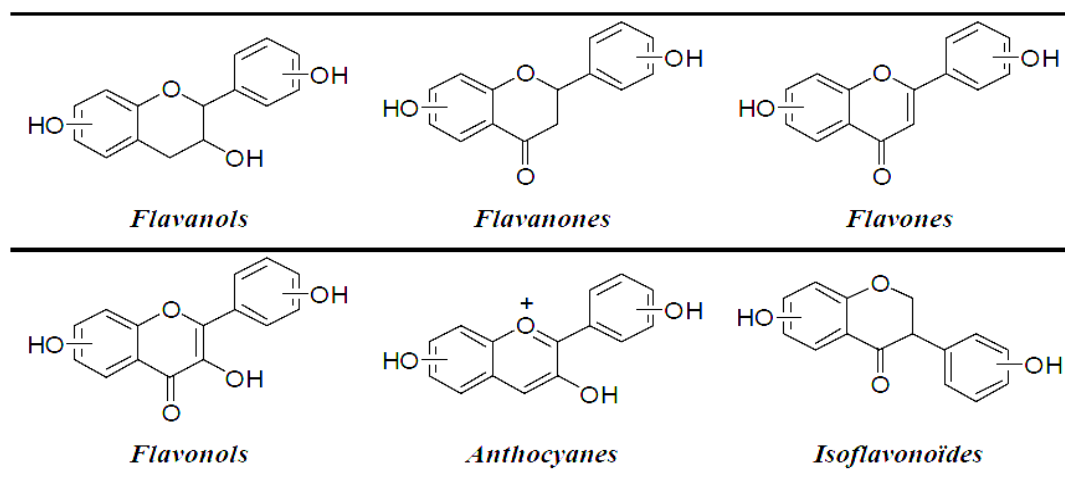


Figure 11. Quelques composés phénoliques de la classe des flavonoïdes.

Selon la structure du l'hétérocycle pyranique central, les flavonoïdes se répartissent en plusieurs classes de molécules dont les plus importantes représentées dans les substances naturelles sont les flavan-3-ols, les flavanones, les flavones, les flavonols et les dihydroflavonols. Ces diverses substances se rencontrent à la fois sous forme libre ou sous forme glycosylée. Les composés de chaque sous-classe se distinguent par le nombre, la position et la nature des substituants (groupements hydroxyles, méthoxyles et autres) sur les deux cycles aromatiques A et B et la chaîne en C3 intermédiaire (Kooter et al. 2002).

❖ Flavones

Les flavones ont une structure de base C₆-C₃-C₆. En position C₃ il ya apparition d'un hétérocycle porteur d'un groupement carbonyle et d'une insaturation. Ce sont des substances de couleur jaunâtre, d'habitude elles n'existent pas sous forme de glucoside et les aglycones les plus répandus sont l'apiginine lorsque R₂= R₃=H, la lytholine lorsque R₂= H, R₃=OH, la tricine lorsque R₂= R₃= OCH₃ (Fig.12).

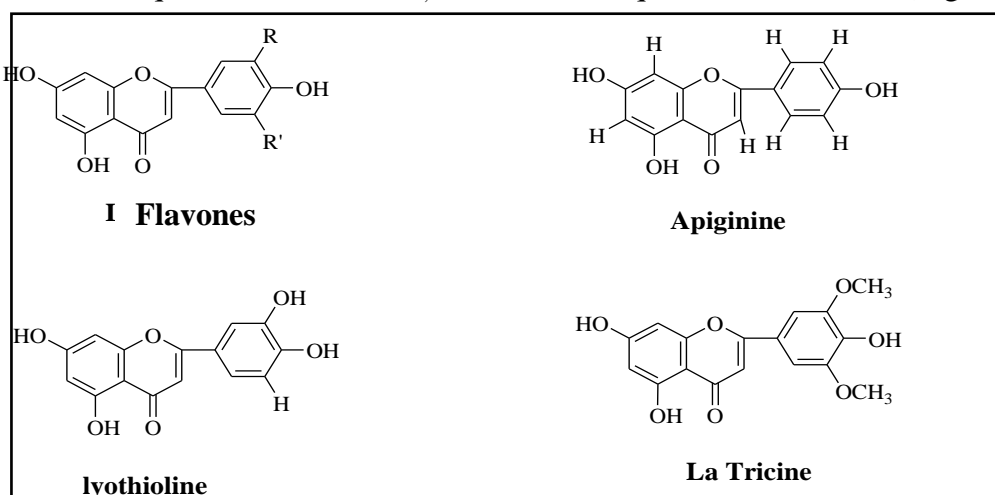


Figure 12. Structures de quelques composés des flavones.

❖ Flavonols

Les flavanones ont une structure similaire à celle des flavones mais ne possèdent pas d'insaturation au niveau de l'hétérocycle. Les flavonols sont aussi des substances de teinture jaune et sont largement répandus dans les plantes et forment un grand nombre de différentes sortes de glycosides et souvent des dérivées des aglucons suivants (Fig.13) (Shahidi et al., 2004).

Flavonol	R1	R2	R3
Kaempférol	H	H	H
Quercétol	OH	H	H
Hyperoside	OH	H	Gal
Isoquercitrine	OH	H	Glc
Quercitrine	OH	H	Rha
Rutine	OH	H	Glc-Rha
Reynoutrine	OH	H	Xyl
Isorhamnétol	OCH ₃	H	H

*Gal: galactose; Glc: glucose; Xyl: xylose
Rha: rhamnose; Ara: arabinose.*

Figure 13. Système d'énumération et structures de quelques flavonols.

Le composé 3-glucoside kaempférol nommé astragaline a été extrait des fleurs de l'astragalus, du châtaigne et des feuilles de thé ; tandis que la quercetrine 3-rhamnoside se trouve dans la sève de plusieurs sortes de baie, des feuilles du thé, dans les pommes, les raisins, le tabac La quercetrine 3-raminoglucoside nommée rutine est très répandue dans les plantes. Cette substance est utilisée largement en médecine comme fortifiant pour les vaisseaux capillaires (Marfak, 2003).

❖ Flavanones

Ces molécules sont caractérisées par l'absence de double liaison en 2, 3 et par la présence d'un centre d'asymétrie en position 2 dans le cycle C3 (Fig.14). Ce sont des substances cristallines sans couleur. On les rencontre dans plusieurs matrices végétales et particulièrement dans les fruits. (Portet, 2007).

La saveur amère de ces composés dépend de la structure de l'unité glucosidique. D'habitude les flavanones se trouvent sous forme de 7-mono ou diglycosido-aglucon, auxquels leurs appartiennent les trois types suivants :

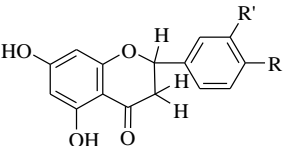
 <p style="text-align: center;">Flavanones</p>	Flavanones	R	R'
	Naringénine	OH	H
	Eriodictyol	OH	OH
	Hespérétine	OCH ₃	H

Figure 14. Structure de base de quelques flavanones.

II-1-2-2-3- Anthocyanes

Les anthocyanes (du grec anthos, fleur et Kuanos, bleu violet) : terme général regroupe les anthocyanidols et leurs dérivés glycosylés. Les anthocyanes sont des sels à même structures que les flavonoïdes porteurs d'une charge positive sur l'oxygène de l'hétérocycle C. La structure de base des anthocyanines est caractérisée par un noyau "flavylium" généralement glucosylé en position C3 (Heller, 1993). Ce sont les substances à teinture importante dans les plantes, elles se concentrent dans les fruits et les feuilles et donnent aux fleurs les différentes couleurs spectrales florales et même la couleur violette foncée (Portes, 2008).

En se basant sur la nature des radicaux R_1 et R_2 et R_3 on peut caractériser plusieurs composés. Tous les anthocyanines sont des glucosides ayant la formule générale représentée par la figure 15.

Le changement de la couleur de l'anthocyane est un effet du pH. En effet, une même anthocyane peut se présenter sous différentes couleurs allant du violet au rouge, par simple variation du pH (Mraïhi et al., 2014).

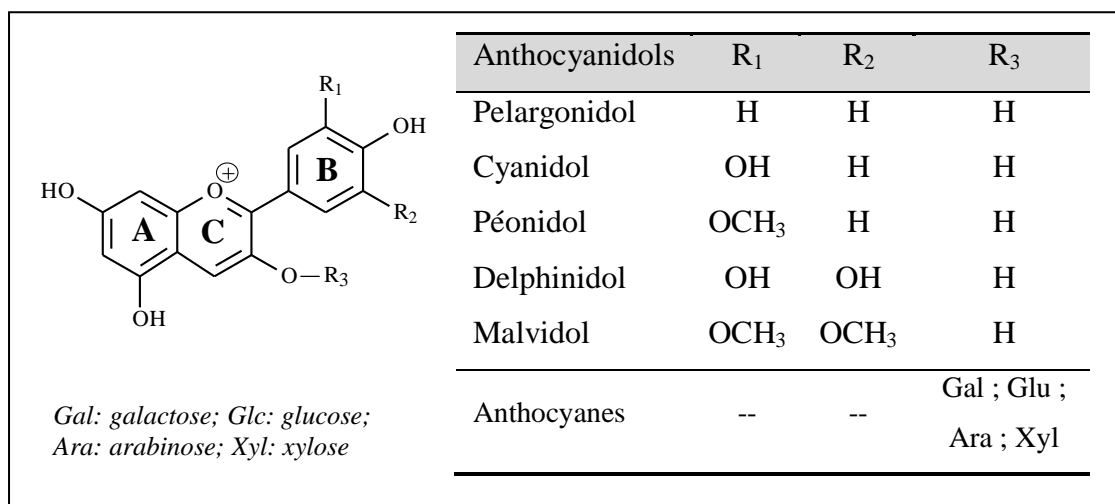


Figure 15. Structures des anthocyanidols et anthocyanes.

La transformation des anthocyanes en solution aqueuse en fonction du pH a fait l'objet de plusieurs études (Brouillard, 1986). Ces travaux confirment l'existence de quatre structures anthocyaniques en équilibre dans un milieu faiblement acide: le cation flavylum AH^+ (phénylbenzopyrolium) de couleur rouge, la base carbinol (B) ou pseudo-base incolore; la chalcone (C) bleu/ jaune et la base quinonique de couleur mauve (Fig. 16).

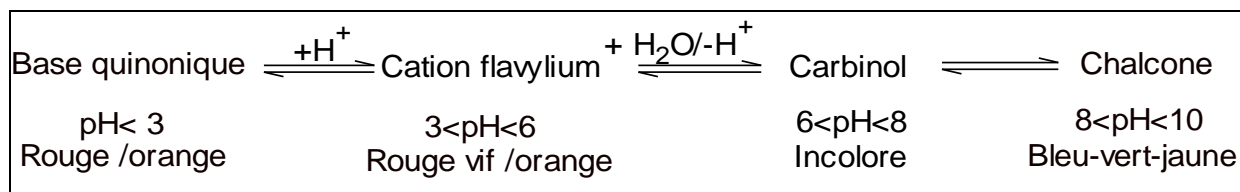


Figure 16. Transformation des anthocyanes en milieu aqueux fonction du pH

II-1-2-2-4- Flavon-3-ols (Catéchines)

Ce sont les ensembles les plus réducteurs parmi les composés flavonoidiques. Les catéchines ont été extraites pour la première fois de l'arbre catechu acacia, d'où dérive son nom. Les catéchines existent sous quatre formes d'isomères grâce à

l'existence de deux atomes de carbone asymétriques (Souquet et al. 1996). Les catéchines donnent avec l'acide gallique, des composés appelés gallates de catéchine et gallo-catéchine.

Les plus répandus dans les plantes sont les isomères optiques (+)-catéchine et (-)-Épicatéchine lorsque $R_2=R_3=H$ et d'une façon moindre on rencontre l'isomère (-) Epigallo-catéchine et (+) Gallo-catéchine, lorsque $R_3=OH$ et $R_2=H$ (Fig.17).

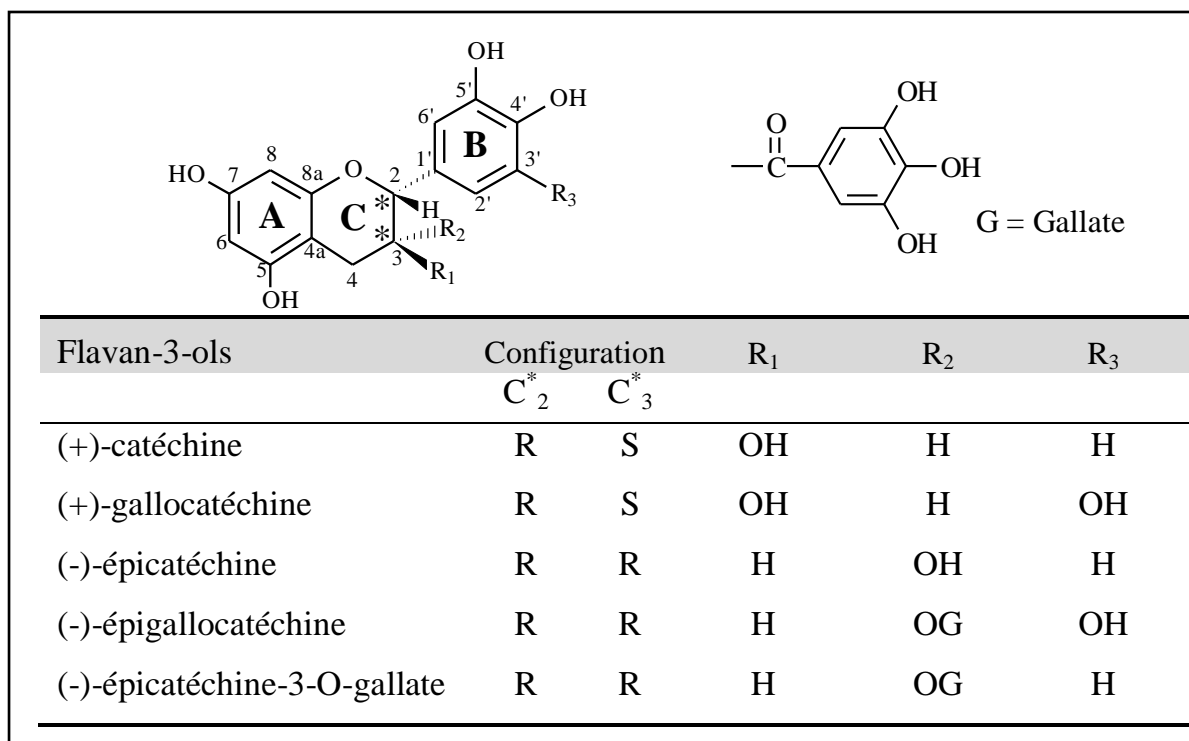


Figure 17. Structure de base et nomenclature des isomères de catéchines.

Les catéchines, sont des substances cristallines sans couleur, qui s'oxydent facilement, se polymérisent et sont largement répandues dans les plantes, surtout dans beaucoup de fruits, comme les pommes, les poires, les coings, les fraises sauvages, le raisin de l'ours, le chuingum, le raisin, les abricots, les pêches etc...

Les principales catéchines présentes dans l'alimentation sont la catéchine elle-même, l'épicatéchine, la gallocatéchine et les catéchines galloylées (par exemple l'épigallocatéchine gallate, ou EGCG, principale catéchine du thé vert).

Les catéchines ont une caractéristique spécifique à cause de la valeur élevée due à l'activité vitaminique P par rapport aux composés flavonoidiques qui augmentent l'élasticité des vaisseaux capillaires en rétablissant leur infiltration détruite.

Les transformations d'oxydation des catéchines jouent un rôle important dans la production du cacao et le raisin sec, et plus spécialement à la production du thé, vu que les produits de l'oxydation des catéchines ayant un goût faible et une couleur admirable.

II-1-2-2-5- Leucoanthocyanes

Les leucoanthocyanes ou flavane-3,4-diols sont des composés organiques incolores de la famille des flavonoïdes. Ces composés ont été étudiés pour la première fois en 1914. La leucocyanidine (Fig.18) est la plus rencontrée dans les plantes (Boudjellal, 2009).

En plus des leucoanthocyanines simples on rencontre dans certaines plantes (bois) des formes oligomériques (limitées) les plus complexes.

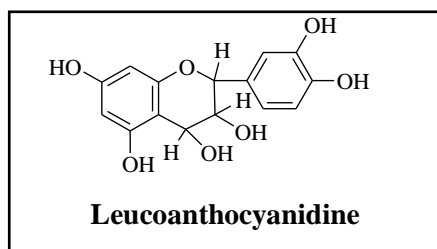


Figure 18. Structure de leucocyanidine.

II-1-2-2-6- Composés polymériques (tanins)

En plus des composés phénoliques unimoléculaires, les plantes renferment des isomères de nature phénolique comme les tanins, les lignines et les mélanines (Maamri, 2008).

Les tanins sont des polyphénols que l'on trouve dans de nombreux végétaux tels que les écorces d'arbre et les fruits (raisin, datte, café, cacao...). Leur structure complexe est formée d'unités répétitives monomériques qui varient par leurs centres asymétriques et leur degré d'oxydation.

Les tanins sont des substances capables de former plusieurs combinaisons stables avec les protéines et d'autres polymères végétaux tels que les polysaccharides du point de vue chimique. Les tanins sont des molécules phénoliques volumineuses. Les masses moléculaires des tanins actifs se situent entre six cent et trois mille cinq cent (Gauthuret, 1968).

Ils sont responsables de l'astringence qui est la capacité des tanins à former des complexes stables avec les protéines et les sucres. On distingue deux types de tanins : les tanins hydrolysables et les tanins condensés.

❖ Tanins hydrolysables

Les tanins hydrolysables sont des phénols liés à un résidu sucré par un lien ester (donc hydrolysable). Si le phénol est l'acide gallique, ce sont les gallitannins et s'il s'agit de l'acide hexa-hydroxy-diphénique, ce sont les ellagitannins (Fig. 19).

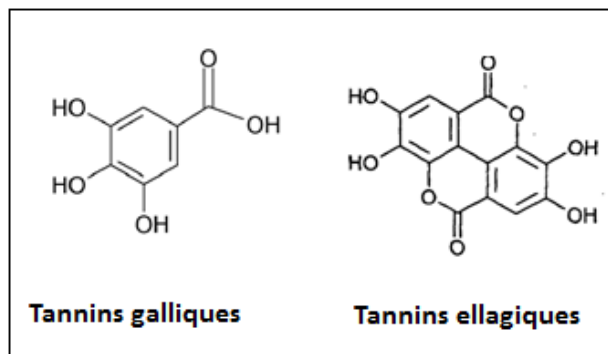


Figure 19. Structure de base des tanins hydrolysables

On rencontre ces tanins dans plusieurs matrices végétales comme les racines, tiges, feuilles ou fruits avant la maturité. Ces tanins en raison de leurs nombreux groupements OH se dissolvent plus ou moins (en fonction de leur poids moléculaire) dans l'eau (Haslam, 1998).

Les gallotannins (tanins galliques) par hydrolyse, libèrent l'ose et l'acide gallique alors que les ellagi-tannins, par hydrolyse, libèrent l'ose, l'acide HHDP (acide hexahydroxy diphénique) et différents dérivés (acide ellagique et acide chébulique):

❖ Tanins condensés

Dans la littérature, les tanins condensés peuvent être également nommés proanthocyanidines ou tanins catéchiques. Ces composés, qui correspondent à des polymères de flavan-3-ols, peuvent être répertoriés en différentes classes : les monomères, les dimères, les oligomères et les polymères. Ils diffèrent des tanins hydrolysables par une structure voisine à celle des flavonoïdes. En l'absence de partie osidique et non hydrolysables, en milieu acide fort et à chaud, ils se polymérisent en donnant des précipités insolubles rouges bruns appelés phlobaphènes.

Les monomères à l'origine des tanins condensés possèdent une structure 2-phénylchromane, plus couramment nommée unité flavane (Fig. 20), qui correspond à un squelette de quinze carbones organisés en C6-C3-C6.

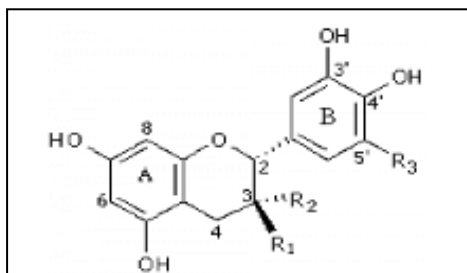


Figure 20. Structure chimique d'une unité monomérique (flavan-3-ol)

Les procyanidines dimères peuvent être classées en deux catégories : les procyanidines de type B et les procyanidines de type A.

Les procyanidines de type B résultent de la condensation de deux unités flavan-3-ols entre le carbone 4 de l'hétérocycle C de l'unité supérieure et le carbone 6 ou 8 du cycle phloroglucinol de l'unité inférieure. La liaison entre ces deux unités flavan-3-ols est nommée liaison interflavane (Fig.21) (Roux et Evelyn, 1958).

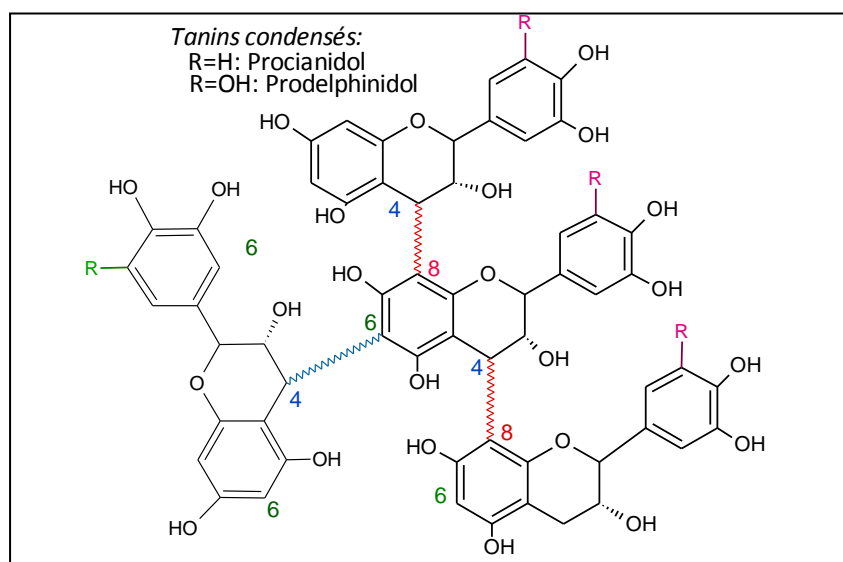


Figure 21. Structure de base des procyanidines oligomères de type B

Les procyanidines de type A possèdent, quant à elles, non seulement une liaison interflavane C4-C8 ou C4-C6 mais aussi une liaison de type éther entre les atomes de carbone 5 ou 7 de l'unité inférieure et l'atome de carbone 2 de l'unité supérieure (Figure 22) (Vivas et al., 1996).

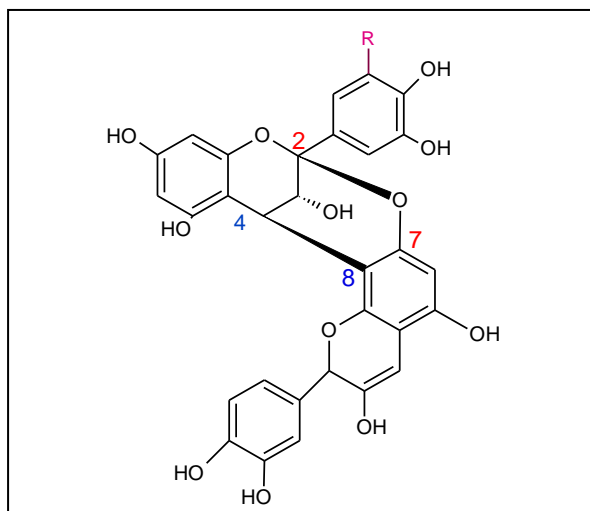


Figure 22. Structure de base des procyanidines oligomères de type A

II-1-2-2-7- Coumarines

Les coumarines sont des hétérocycles oxygénés ayant comme structure de base le benzo-2-pyrone (Fig.23).

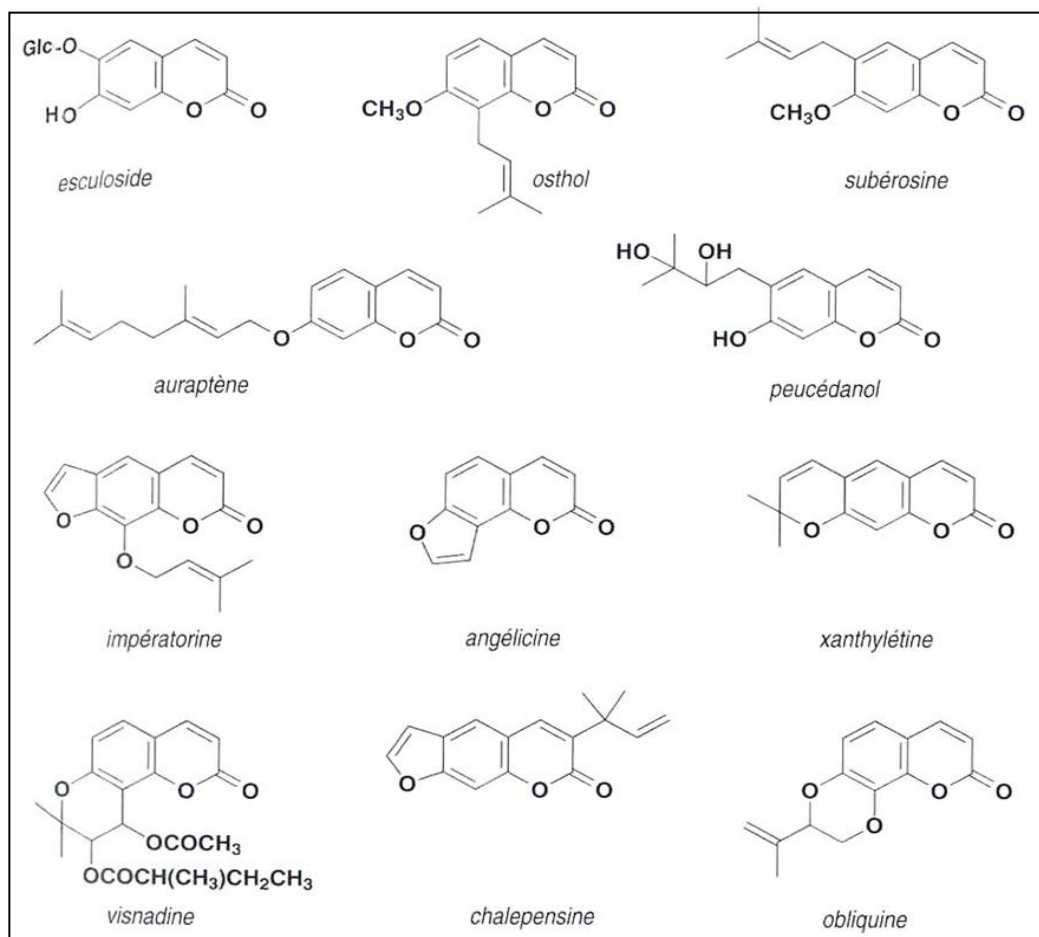


Figure 23. Quelques structures de coumarines

Historiquement le nom de coumarine vient de «cumaru» qui est le nom dans une langue amazonienne, de l'arbre de tonka (*dipteryx odorata willd, fabaceae*) dont les fèves contiennent 1 à 3% de coumarine. Elles sont présentes dans plusieurs plantes comme le mélilot, la sauge sclarée et la lavande (Hamimed, 2009), On la trouve aussi dans le miel, le thé vert (Lake, 1999). Les coumarines ont été isolés pour la première fois par Vogel en 1820 dans le *Coumarouna odorata* (Lacy et al., 2004).

La coumarine est une matière cristalline sans couleur, d'odeur embaumée semblable à l'odeur de l'herbe récemment coupée. La coumarine et les fleurs de Mililotus (renfermant la coumarine sous forme de glucoside) sont utilisées comme saveur d'arôme gouteux dans l'industrie de quelques types de tabac, elle trouve également une grande importance dans l'industrie de parfums (Mpondo et al., 2015). Souvent, on rencontre dans les plantes, les dérivés hydroxyliques de la coumarine comme l'esculetine et la scopolitine (Fig.24), qui existe dans ces plantes avec un pourcentage plus élevé que celui de la coumarine elle-même.

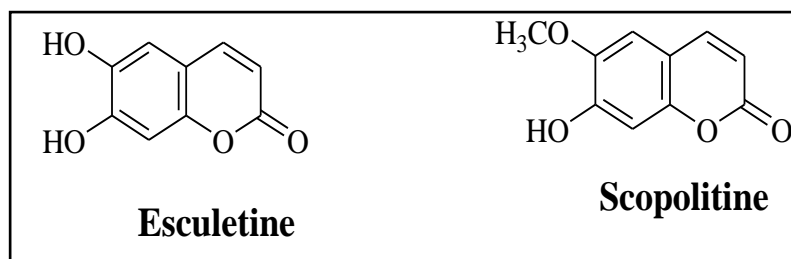


Figure 24. Dérivés hydroxyliques de la coumarine.

La scopolétine est présente sous forme de 7-glucoside esculetine dans les fruits de quelques types de châtaigne et utilisée en médecine comme substance pour fortifier les vaisseaux capillaires sanguins.

L'huile de l'épluchure de la bergamote est utilisée dans l'industrie du parfum (parfumerie industrielle) renferme le composé Furane coumarine nommé bergabtol (Fig.25).

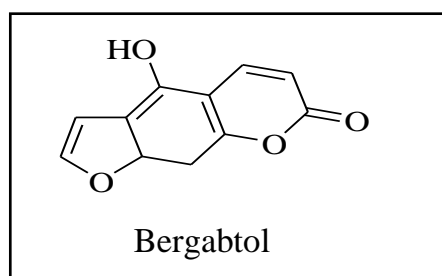


Figure 25. Structure chimique de bergabtol

II-2- Biosynthèse des composés phénoliques

Les composés phénoliques montrent une large variété de structure d'un simple cycle aromatique hydroxylé (acides phénoliques) aux polymères fortement complexes (Tanins). Leur formation dans les plantes a été toujours l'objet de plusieurs recherches (Bouilla et al., 1999; Dedien et al., 1991). Différentes étapes de la biosynthèse des polyphénols dans les plantes ont été prouvées.

Le réarrangement des composés phénoliques et ses produits intermédiaires se fait par un processus endogène (par les enzymes) au cours de la différenciation liée au développement par des facteurs exogènes (lumière, température).

Les études nous renseignent que la phénylalanine est un précurseur commun pour la formation de tous les composés phénoliques. La structure commune de ces composés résulte des acides hydroxycinnamiques en particulier leur Co-enzyme-A-esters. Il existe deux procédés de formation des composés phénoliques à l'heure actuelle, l'un à travers l'acide shikimique nommé procédé de l'acide shikimique (Fig.26). Et l'autre à travers l'acétate de malonate nommé procédé acétate de malonate (Fig.27).

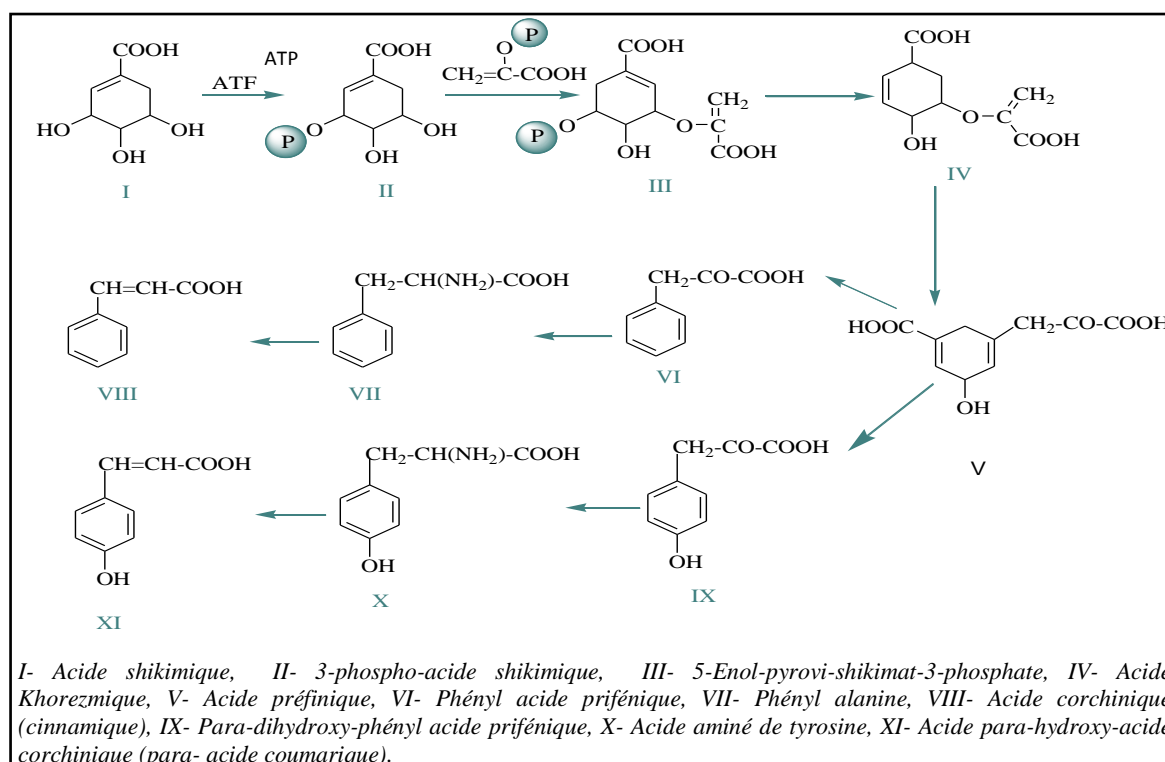


Figure 26. Formation des polyphénols à partir de l'acide shikimique

A partir de l'acide corchinique et avec les enzymes d'hydrolyses (d'hydroxylase acide corchinique), l'urine phénol oxydase et les enzymes transportantes les groupements de méthyl (catéchol méthyl transférase) se forment d'autres représentants à ce groupe, comme exemple, les composés phénoliques et aussi les coumarines (Fig.27).

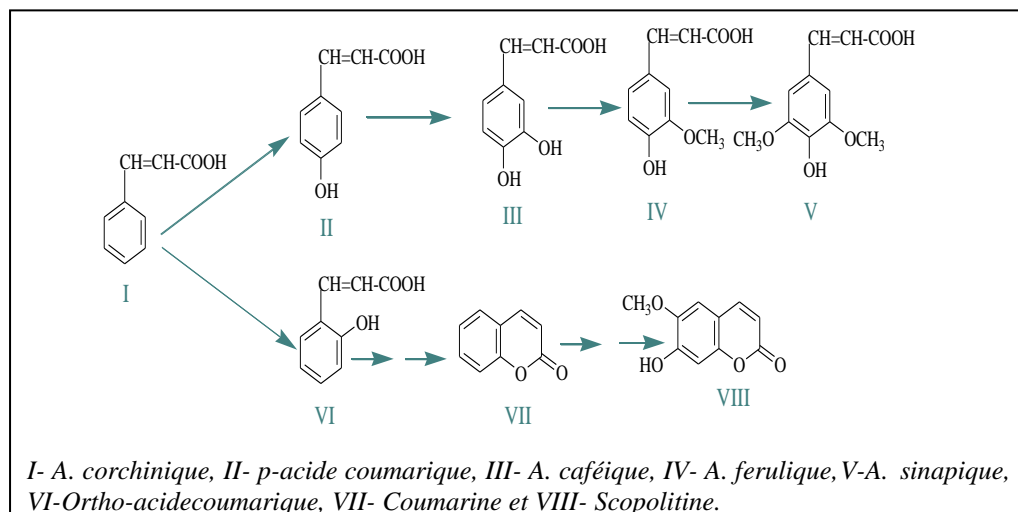


Figure 27. Mécanisme de synthèse de quelques composés phénoliques à partir de l'acide corchinique.

II-3- Extraction des composés phénoliques

L'extraction des principes actifs (polyphénols) à partir de la matière végétale, suscitent actuellement beaucoup d'intérêt grâce à leurs effets bénéfiques pour la santé humaine. L'extraction constitue une étape très importante dans l'isolement aussi bien que dans l'identification des composés phénoliques. En effet, plusieurs études ont montré l'influence de différentes conditions sur les rendements d'extraction (Bonnaillie et al., 2012).

La solubilité des composés phénoliques dépend de leurs natures ou de leurs propriétés physico-chimiques, qui varie d'un composé à un autre. Cependant, la technique, la polarité du solvant et la solubilité des composés phénoliques sont les majeurs facteurs. Par conséquent, il est très difficile de développer un procédé d'extraction approprié à l'extraction de tous les composés phénoliques d'une plante (Garcia-Salas et al., 2010).

L'extraction des polyphénols est généralement de type solide-liquide. Ces techniques d'extraction ne cessent de progresser. Actuellement, en plus des méthodes

conventionnelles on s'intéresse de plus en plus aux techniques d'extractions innovantes qui offrent de nombreux avantages en termes de gain de temps, de gain de solvant, d'augmentation du rendement d'extraction et de reproductibilité.

II-3-1-Méthodes d'extractions conventionnelles

La macération et la décoction et l'épuisement par les solvants à polarité croissante sont les techniques les plus utilisées depuis longtemps pour extraire les principes actifs à partir des matrices solides. Elle consiste à un contact direct et prolongé à froid ou à chaud entre la matrice et l'extracteur. Ce procédé est généralement long, fastidieux et nécessite de grandes quantités de solvants d'extractions (Vinatoru et al., 1997).

II-3-2-Méthodes d'extractions innovantes

Récemment plusieurs techniques d'extraction ont été utilisées à savoir l'extraction par micro-onde, par ultrason, en phase solide (solid-phase extraction, ou SPE), extraction liquide sous pression (PLE)... Les principes de ces techniques d'extraction sont d'apporter, très sélectivement, une grande quantité d'énergie à l'intérieur de la cellule végétale pour provoquer sa rupture sans dégrader les produits libérés (Sališová et al., 1997).

Ces méthodes présentent des avantages qui sont essentiellement un temps de traitement réduit, un bon rendement d'extraction à froid et d'éviter les chocs thermiques.

II-4-Méthodes de caractérisation des polyphénols

Nous donnerons dans cette partie un aperçu sur la diversité des structures et des fonctions des métabolites secondaires particulièrement des différents tissus du *Pistacia Lentiscus* cultivés dans certains pays. Ensuite, nous présentons les teneurs des composés phénoliques totaux qui ont été déterminés dans divers extraits.

Le screening phytochimique des différentes espèces de fruits de Lentisque est peu étudié, malgré l'existence de certaines études ethnobotaniques qui prouvent l'utilisation de ces fruits depuis longtemps dans plusieurs domaines de la médecine traditionnelle. Néanmoins, la littérature ne mentionne que quelques travaux réalisés sur ces matrices. Ce screening a également permis d'identifier quelques groupes

phytochimiques majoritaires qui peuvent jouer des rôles physiologiques multiples grâce à leurs propriétés antioxydantes, antimicrobiennes, anti-inflammatoires et anticancéreuses.

II-4-1-Etudes quantitatives des composés phénoliques des fruits de lentisque : Dosages colorimétriques par spectrophotométrie (UV-visible)

Les méthodes colorimétriques sont des techniques de dosage simples à mettre en œuvre et rapides, qui s'appliquent aussi bien à des résidus qu'à des extraits, elles permettent de doser de manière globale les polyphénols totaux en utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu (Singleton et Rossi, 1965). Les flavonoides totaux sont dosés par la méthode de trichlorure d'aluminium ($AlCl_3$) (Zhishen et al., 1999). De manière spécifique les acides phénols, les tanins et les anthocyanes sont dosés par plusieurs méthodes colorimétriques comme l'hydrolyse enzymatique ou l'hydrolyse acide n-butanol-HCl (Porter et al., 1985), la méthode au DMACA (Treutter, 1989 ; Mraïhi et al., 2014) et la réaction de thiolyse ou de phloroglucénolyse (Perret, 2001) et les anthocyanes par la méthode différentielle de pH (Giusti et al., 2001).

Les méthodes colorimétriques basées sur l'utilisation du spectrophotomètre UV-visible, ont été utilisées pour évaluer la quantité des composés phénoliques dans la matière végétale. La spectrométrie UV-visible permet d'identifier les groupements chromophores que contient un produit.

En effet l'absorbance à 280nm est caractéristique des électrons π des noyaux aromatiques des polyphénols, les flavanols monomères oligomères et polymères absorbent à 280 nm. Les flavonols absorbent de 350 à 360 nm, les anthocyanes absorbent dans le visible (rouge) aux longueurs d'onde variant de 520 à 530 nm.

D'après la bibliographie plusieurs méthodes colorimétriques et chromatographiques HPLC-UV-MS ont été utilisées pour déterminer les teneurs en composés phénoliques de différentes variétés de fruits du lentisque.

Nous résumons dans le tableau 2, les résultats de la littérature, des teneurs de différentes classes de métabolites secondaires identifiées et isolées des fruits analysés.

D'après les résultats de l'étude fournie par Hamad et ses collaborateurs, les tests colorimétriques du lentisque ont montré de fortes teneurs en composés phénoliques essentiellement en tanins condensés et en polyphénols totaux (Hamad et al., 2011).

Tableau 2. Quantification des composés polyphénoliques totaux dans les extraits de *Pistacia Lentiscus L.*

Solvants d'extraction	Phénols totaux (mg.Eq catéchine/ g d'extrait)	Flavonoïdes (Eq quercétine/ g d'extrait)	Tannins (mg.Eq acide tannique / g d'extrait)
Ethanol	136,25 ± 18,9	12,93 ± 1,69	909,4 ± 42,61
<u>Acétate d'éthyle</u>			
Fraction organique	75,01 ± 9,18	13,12 ± 0,12	632,1 ± 45,37
Fraction aqueuse	40,65 ± 11,39	18,45 ± 1,2	852,2 ± 41,14
<u>Hexane</u>			
Fraction organique	24,12 ± 8,3	10,06 ± 0,59	830,40 ± 62,19
Fraction aqueuse	452,95 ± 15,9	41,5 ± 0,91	773,9 ± 75,71
<u>Chloroforme</u>			
Fraction organique	47,49 ± 16,88	7,74 ± 0,25	579,1 ± 34,84
Fraction aqueuse	407,73 ± 1,53	44,25 ± 0,87	997,8 ± 39,08

II-4-2- Analyse structurale des composés phénoliques des fruits de lentisque

La diversité et la complexité des extraits des végétaux nécessite des techniques de séparation efficaces pour identifier les diverses molécules d'intérêt biologiques. Différentes techniques d'analyse s'offrent à l'expérimentateur pour une bonne compréhension de la phytochimie des végétaux, parmi les quelles nous citons la chromatographie liquide à haute performance (HPLC, High Performance Liquid Chromatography), la chromatographie en phase liquide ultra haute performance (UPLC, Ultra Performance Liquid Chromatography) et la chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectroscopie masse (GC-MS, Gas Chromatography-mass spectrometry).

L'identification des molécules actives serait plus facile en cas de couplage du système chromatographique (HPLC) à d'autres systèmes de détection (UV, MS ou RMN). Ces couplages permettent de regrouper toutes les données structurales des fractions similaires. Le développement de ces méthodologies rapides a permis l'analyse et l'identification simultanées des molécules issues de la matrice végétale. Marbry et ses collaborateurs décrivent, que les composés phénoliques ont un spectre d'absorption

spécifique. Il présente deux bandes caractéristiques dans l'UV-Visible : une bande I (noyau B) qui absorbe entre 310 et 520 nm et une bande II (noyau A) qui absorbe entre 240 et 300 nm. Ces bandes seront plus ou moins intenses et dépendent du nombre de doubles liaisons conjuguées des molécules. Il est ainsi facile de faire la différence entre des molécules aglycone à cycle C ouvert (chalcone et aurone) qui ont une bande II très réduite, et les autres molécules à cycle C fermé qui possèdent une bande II beaucoup plus intense.

L'étude phytochimique de certaines variétés de fruits du *Pistacia* a montré que ces fruits sont riches essentiellement en flavonoïdes, en anthocyanes et minoritairement en tanins (Atmani et al., 2009). En effet une étude réalisée en Egypte sur quatre espèces de *Pistacia* (*Atlantica*, *Chinensis*, *Khinjuk* et *Lentiscus*) a permis l'identification de certains flavonoïdes dans les feuilles et les rameaux (Kawashty et al., 2000). Neufs flavonoïdes ont été isolés et identifiés qui sont le kaempferol-3-glucoside (K-3-G), Quercetine-3-glucoside (Q-3-G), Quercetine-3-galactose (Q-3-Gal), Quercetine-3-rutinoside (Q-3-Rut), Quercetine-7-galactoside (Q-7-Gal), Apigénine-6,8-di-C-glucoside (vicénine²), Myricétine-3-glucoside (Myr-3-G), Myricétine-3-galactoside (Myr-3-Gal) et le Myricétine-3-rutoniside (Myr-3-Rut). Les composés flavonoïdiques identifiés sont consignés dans le tableau 3.

Tableau 3. Distribution des flavonoïdes examinés dans quatre espèces de *Pistacia* (Kawashty et al., 2000)

Espèce	Flavonoïdes identifiés
<i>P. Lentiscus</i>	(K-3-G), (Q-3-G), (Q-3-Rut), (Myr-3-G), Vicétine-2
<i>P. Khinjuk</i>	(Q-3-G), (Q-3-Rut), (Myr-3-G), (Myr-3-Gal), (Myr-3-Rut),
<i>P. Chinensis</i>	(K-3-G), (Q-3-G), Vicétine-2
<i>P. Atlantica</i>	(K-3-G), (Q-3-G), (Q-3-Gal), (Q-3-Rut), (Q-7-Gal) Vicétine-2,

Luiga et ses collaborateurs ont identifié, par chromatographie liquide HPLC-DAD-MS, à partir des extraits de fruits de lentisque cultivés en Italie trois pigments anthocyaniques à des concentrations différentes (Tab.4) (Longo et al., 2007). La cyanidine-3-O-glucoside était le pigment le plus abondant (3,8mg/100g), suivi par la

Delphinidine-3-O- glucoside (1,1mg/100g) et de la cyanidine-3-O-arabinoside (0,05mg/100g).

Tableau 4. Caractéristiques spectrales des anthocyanes des fruits de *Pistacia Lentiscus* (Longo et al., 2007).

TR (min)	λ_{\max} (nm)	M^+ (m/z)	$M^+ - X$ (m/z)	Anthocyanes
31,1	278, 526	465	303 ($M^+ - \text{glu}$)	Delphinidine-3-O-glucoside
33,5	280, 518	449	287 ($M^+ - \text{glu}$)	Cyanidine-3-O-glucoside
35,5	278, 522	419	287 ($M^+ - \text{ara}$)	Cyanidine-3-O-arabinoside

II-5- Présentation des huiles végétales

Les corps gras, également appelés lipides (du grec lipos, « gras »), sont des composés d'origine animale ou végétale constitués essentiellement de triglycérides, d'esters, d'acides gras et de glycérol. Ils sont insolubles dans l'eau mais solubles dans les solvants organiques (éther ou le benzène). Ils sont présents dans la plupart des organismes animaux marins ou terrestres et les végétaux en contiennent une grande variété dans leurs graines, feuilles, fleurs et fruits. Les corps gras alimentaires comprennent les huiles et les graisses d'origine végétale ou animale, les beurres et les margarines.

II-5-1- Composition chimique des huiles

Les huiles végétales sont des triglycérides (combinaison de trois acides gras et une molécule de glycérol, Figure 28), dont la composition dépend de la nature de la plante, de ses conditions de culture, du sol et de la saison (Karleskind, 1992).

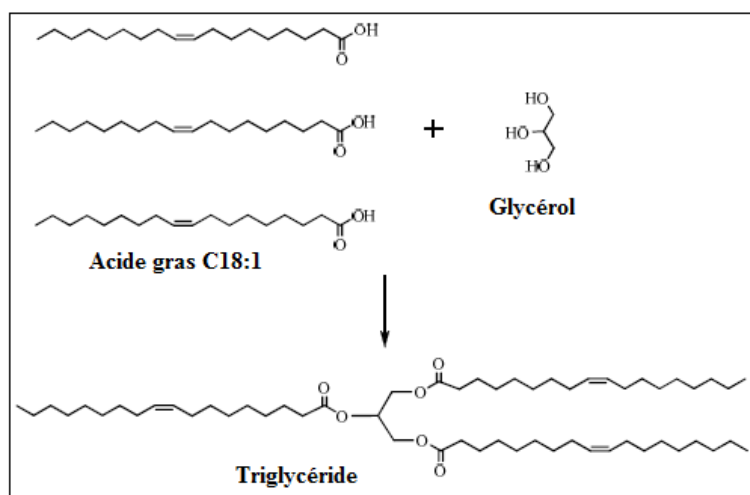


Figure 28. Représentation d'un triglycéride issu de la condensation de trois acides gras C18 :1 et une molécule de glycérol.

Le mot « huile » se rapporte aux triglycérides qui se trouvent dans leur état liquide à température ambiante. Les paramètres qui différencient les huiles et affectent leurs propriétés physiques et chimiques sont le nombre de carbones qui composent les acides gras, le degré d'insaturation et enfin, la stéréochimie des doubles liaisons (André E. 1963). Ces éléments peuvent être classés, par ordre décroissant en termes compositionnels, de la façon suivante : les triglycérides (ou triesters d'acides gras) suivis par les acides gras libres et finalement certains constituants mineurs.

➤ Acides gras

Les huiles sont très hétérogènes, en raison de la très grande variabilité d'acides gras possibles. Les structures des différentes catégories d'acides gras qui composent les triglycérides des huiles végétales sont présentés dans la figure 29. Tous les acides gras portent un groupement acide carboxylique (-COOH) relié à une chaîne hydrocarbonée plus ou moins longue 4 à 32 atomes de carbone (UPAC., 1978).

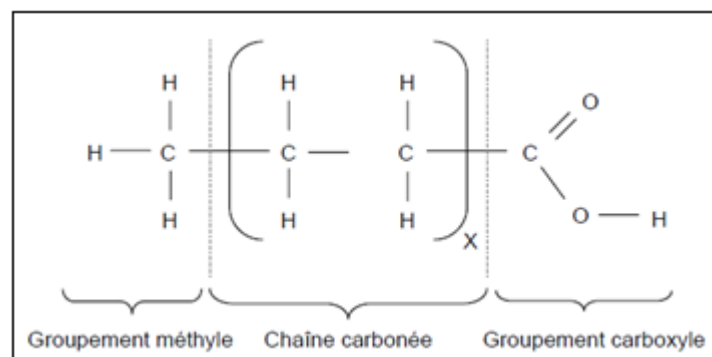


Figure 29. Structure générale d'un acide gras

Les acides gras sont subdivisés en deux groupes, ils sont dits « saturés » si tous les atomes de carbones de la chaîne sont reliés par des liaisons covalentes simples; parmi ces composés, on retrouve les acides palmitique (C16:0) et stéarique (C18:0) abondants dans les graisses animales. Lorsqu'une ou plusieurs doubles liaisons sont présentes sur la chaîne carbonée, les acides gras sont dits respectivement «monoinsaturés» ou «polyinsaturés» (Fig. 30).

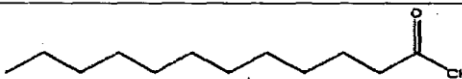
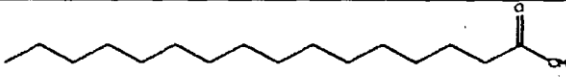
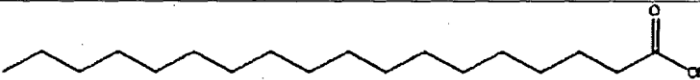
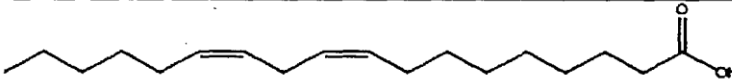

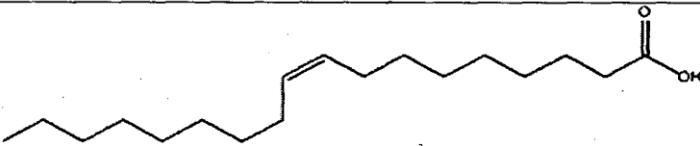
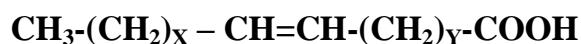
Acide gras	Formule
Acide laurique (12:0)	
Acide palmitique (16:0)	
Acide stéarique (18:0)	
Acide linoléique (18:2 Δ9,12)	
Acide linoléique (18:3 Δ9,12,15)	
Acide oléique (18:1 Δ9)	

Figure 30. Structure chimique de quelques acides gras saturés et poly-insaturés.

La première série a pour formule générale semi-développée :



Ou $X+Y = n - 4$

Avec $n =$ nombre de carbones.

L'acide oléique (C18:1), retrouvé en fortes proportions dans l'huile d'olive, est monoinsaturé, alors que l'acide linoléique (C18:2), contenu dans l'huile de tournesol, est dit polyinsaturé car il présente deux doubles liaisons (Cuvelier et al., 2004).

Les doubles liaisons peuvent exister sous deux formes différentes: *cis* et *trans*. Ces configurations ainsi que le nombre d'atomes de carbone et d'insaturations sur la chaîne confèrent aux molécules des propriétés physiques différentes (Chanforan, 2010; Akhisat et al., 1986 b).

Certains acides gras sont essentiels à l'être humain, qui est incapable de les synthétiser. Ils doivent donc être apportés par l'alimentation. Les deux acides gras indispensables au corps humain sont l'acide linoléique et l'acide linoléique (C18:3), qui sont les précurseurs des autres acides gras. Les dérivés obtenus à partir de ces deux acides constituent les omégas 3 (précurseur : l'acide linoléique) et oméga 6 (précurseur: acide linoléique) (Fig.31) (UPAC., 1978).

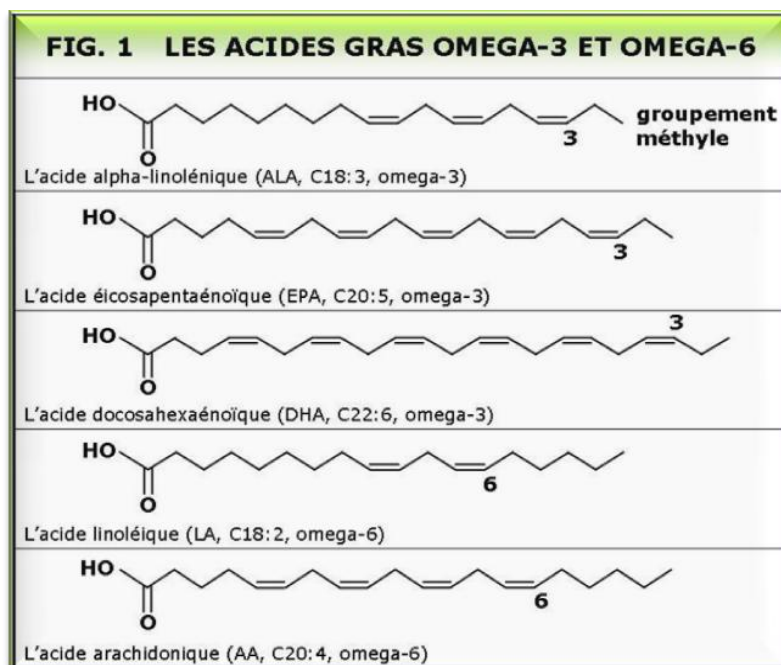


Figure 31. Structure chimique de quelques acides gras oméga 3 et oméga 6

Le Tableau 5, répertorie la structure et la composition des huiles végétales les plus abondantes, ainsi que leurs principales sources alimentaires.

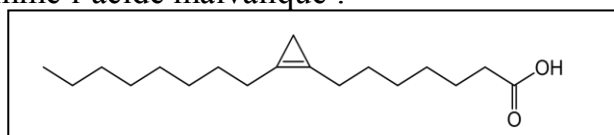
Tableau 5. Acides gras les plus communs et leurs principales sources alimentaires.

Structure	Nom commun	Principales sources alimentaires
12 :2	Laurique	Huile de coprah
14 :0	Myristique	Produits laitiers
16 :0	Palmitique	Huile de palme
16 :1	Palmitoléique	Huile de noix de macadamia
18 :0	Stéarique	Graisses animales
18 :1(n-9) ^a	Oléique	Huile d'olive, de pépin de raisin
18 :2(n-6)	Linoléique	Huile lin, de maïs
18 :3(n-3)	Linolénique	Huile de noix, de colza
20 :0	Arachidique	Huile d'arachide, germe de maïs
20 :4(n-6)	Arachidonique	Graisses animales
20 :5(n-3)	Eicosapentaénoïque	Huile de poissons
22 :6(n-3)	Docosahexaénoïque	Huile de poissons

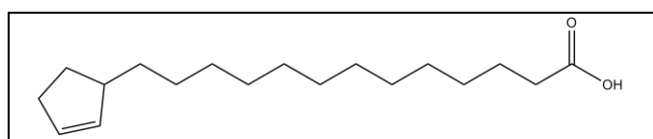
^a Le système de numérotation entre parenthèses identifie les doubles liaisons à partir de la fin de la chaîne située le plus loin de la fonction carboxyle (groupement méthyle terminal).

Les acides capriques, laurique et myristique sont les constituants principaux des huiles dites lauriques. L'acide palmitique est le constituant prédominant des huiles végétales. L'acide stéarique est présent dans les matières grasses d'origine animale et les suifs végétaux.

Dans les corps gras on rencontre des acides cycliques comme les acides cyclopropéniques comme l'acide malvalique :



qui sont les constituants principaux de graines non oléagineuses et ils sont présents également en quantités significatives dans quelques huiles et les acides cyclopenténiques comme l'acide chaulmoogrique, ou acide 2 cyclopentène-1 tridécanoïque dont la structure est la suivante :



Ils sont les constituants de l'huile de chaulmoogra, extraite des fruits d'arbre de la famille des hynrocarpus.

II-5-2-Techniques d'extraction des huiles végétales

Les huiles sont extraites de la matière végétale par plusieurs procédés. Le choix de la technique dépend de la localisation histologique de l'huile dans le végétal et de son utilisation dans les diverses industries. En effet plusieurs méthodes s'offrent à l'expérimentateur pour extraire les huiles de différentes matrices. Classiquement trois procédés sont utilisés pour extraire l'huile à partir des végétaux qui sont la pression unique ou double, l'extraction directe par solvants et le procédé mixte, couplant le pressage à une extraction par solvant sur le tourteau.

II-5-2-1-Méthodes physiques

➤ Extraction mécanique par pression

Aujourd'hui, l'extraction mécanique des graines est très utilisée. Elle est réalisée dans des presses à barreaux qui permettent l'extraction continue de l'huile. Ce type d'extraction est moins efficace que l'extraction au solvant mais nettement plus pure

puisqu'elle fait appel à une action mécanique et non à des solvants organiques issus des produits pétroliers. L'extraction par pression ne s'emploie que pour les matrices très riches en huiles. Les huiles ainsi extraites renferment une quantité d'eau dont il faut se débarrasser. Comme la méthode se fait à froid, les huiles ainsi obtenues sont généralement concrètes.

II-5-2-2-Méthodes chimiques

➤ Hydrodistillation ou l'entraînement à la vapeur

L'hydrodistillation est une voie de valorisation des ressources végétales aromatiques par l'extraction des huiles. L'avantage de cette technique réside dans le fait que la substance organique n'a pas besoin d'être chauffée jusqu'à sa température d'ébullition pour pouvoir être entraînée sous forme de vapeur, la pression partielle de cette dernière est inférieure à la pression atmosphérique et le complément de pression est fourni par la vapeur d'eau.

➤ Extraction par solvant

L'extraction directe des plantes par des solvants organiques entraîne divers constituants telles que les lipides, les pigments. L'extracteur de Soxhlet permet alors le traitement de solides (matériel végétal) avec des solvants en phase liquide ou partiellement vaporisés.

➤ Extraction par fluides supercritiques

Cette technique présente un grand avantage par rapport aux autres techniques d'extraction. L'extraction par les fluides supercritiques suscite actuellement beaucoup d'intérêt dans différents domaines industriel, pharmaceutique, chimie fine et agroalimentaire (Ziemons, 2006). En effet, elle permet l'extraction des produits à basse température et d'isoler des produits thermosensibles dans des conditions douces, ce qui ne dénature pas les qualités organoleptiques et les extraits actifs. L'extrait reste proche du naturel (Rout et al., 2007).

II-5-3- Analyse des corps gras

Les huiles végétales sont considérées comme une source primordiale de matières premières recherchées en cosmétique, en alimentaire et en pharmacie. Pour valoriser la fabrication des produits nouveaux et sous produits locaux à bases des huiles de graines

et vu l'émergence du secteur de la cosmétique issue d'unités semi-industrielles, l'étude des corps gras, (caractérisation et composition), occupera une place prépondérante dans la chimie analytique.

Les informations globales des huiles désirées concernent la longueur de chaîne carbonée, l'insaturation et la présence de fonctions secondaires qui peuvent être fournies par la détermination de certains indices comme celui de saponification, d'iode, d'hydroxyle, d'ester, etc. Ces caractéristiques sont suffisantes pour rendre compte de la nature des différents acides gras présents, de leurs proportions ; ce sont des caractéristiques d'identité du corps gras et permettant ainsi de juger de sa pureté et de son intérêt, tant sur le plan alimentaire qu'industriel.

Pour ce faire certaines méthodes analytiques et matériels sont nécessaires pour déterminer ces caractéristiques à savoir les techniques chromatographiques et spectrométriques (UV-VIS, CPG, RMN, IR/FT...) (Tomi et al., 1995).

II-5-3-1-Analyse par colorométrie UV-Visible

La spectroscopie d'absorption dans l'UV et le visible est la méthode la plus ancienne très commune dans les laboratoires. Elle est basée sur la propriété des molécules d'absorber des radiations lumineuses de longueur d'onde déterminée provoquant des transitions électroniques entre les différents niveaux d'énergie des molécules. Les spectres UV-Vis fournissent généralement peu de renseignements sur la structure moléculaire des composés comparés aux spectres IR. Néanmoins, on les utilise soit pour une confirmation soit pour une identification grâce aux règles empiriques. Loi d'absorption de la lumière est basée sur la loi de Beer-Lambert. Le principe de fonctionnement d'un spectrophotomètre UV-Vis est illustré dans la figure 32.

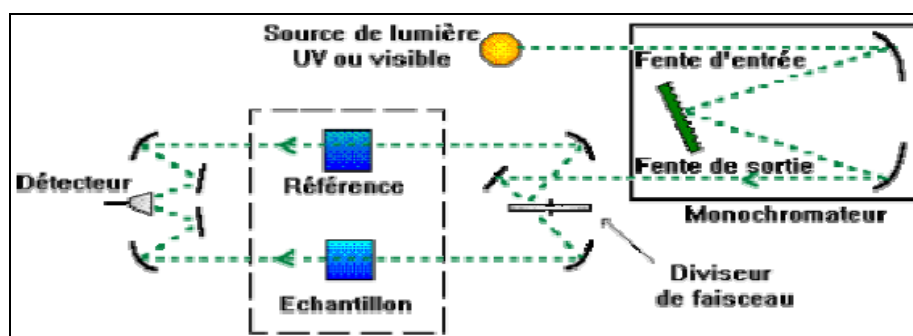


Figure 32. Principe du spectrophotomètre UV-visible monofaisceau

II-5-3-2-Analyse par Chromatographie en phase gazeuse (GC)

La chromatographie gazeuse est la technique la plus utilisée pour la détermination des composés volatiles thermiquement stables tels que les terpénoïdes, les acides gras et les phytostérols. Il existe différents types de détecteurs (FID, MS).

Le détecteur FID : Détecteur à Ionisation de flamme et le détecteur MS est le spectromètre de masse.

L'appareillage est constitué de trois modules: un injecteur, une colonne capillaire et un détecteur (Fig. 33). Elle est basée sur l'ionisation de molécules sous l'action d'une énergie élevée qui conduit à la rupture des liaisons interatomiques d'où l'apparition de fragments chargés caractérisés par des rapports m/z qui sont différents.

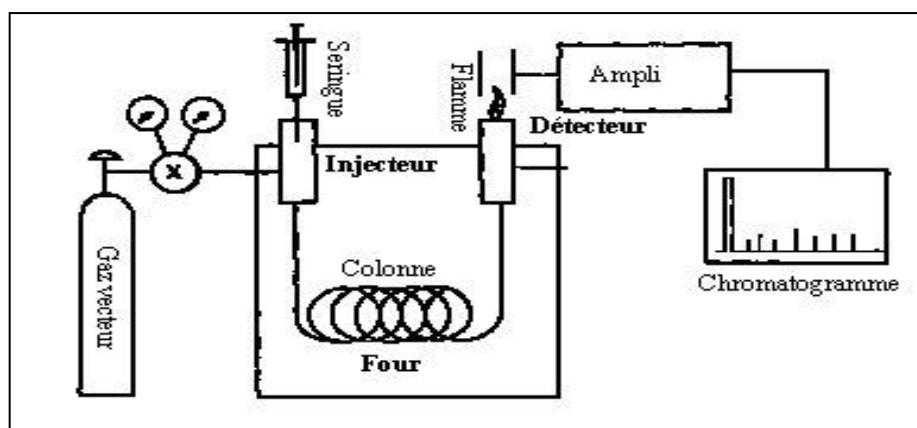


Figure 33. Schéma simplifié du chromatographe en phase gazeuse

II-5-3-3-Analyse par spectroscopie Infra Rouge

En complément de l'utilisation de la CPG-SM, un spectrophotomètre Infra Rouge et l'Infra Rouge à Transformé de Fourier peuvent être également utilisés. Les spectrophotomètres infrarouge de technologie plus avancées donnent des spectres par une méthode fondée sur l'interférométrie, comme sous l'appellation de spectroscopie infrarouge à transformée de fourrier, IRTF (FT-IR, pour Fourier Transform Infrared Spectroscopy). Les appareils comportent généralement un interféromètre de Michelson qui divise le rayonnement infrarouge d'une source en deux faisceaux à l'aide d'un miroir à 45° pour moitié argenté, qui revoie les deux faisceaux à angle droit l'un par rapport à l'autre (Fig.34). Si l'on introduit une substance dans l'un des deux faisceaux, on obtient un interférogramme contenant toutes les informations quand aux caractéristiques spectrales de l'échantillon (Stuart, 1996).

La spectroscopie infrarouge est basée sur l'absorption de radiations infrarouge par la molécule. Les longueurs d'onde absorbées s'étendent de 2.5μ à 25μ . Les énergies mises en jeu sont principalement des énergies de vibrations et de rotation (vibrations de déformation et les vibrations d'allongement ou de valence).

La spectroscopie infrarouge renseigne sur les fonctions chimiques présentes dans les molécules et permet également de différencier les isomères par l'examen de la partie de spectre dite « des empreintes digitales ». En effet, elle est particulièrement instructive en ce qui concerne la stéréochimie des molécules (stéréochimie des doubles liaisons ou dans certains cas, celle des jonctions de cycles).

L'analyse IRTF en mode ATR (Attenuated Total Reflectance) est un outil très intéressant qui permet de s'affranchir de la nécessité de fabriquer des pastilles KBr et qui offre la possibilité d'analyser uniquement la surface de l'échantillon en contact avec la cellule de mesure. En effet, l'ATR consiste à mettre en contact un échantillon (polymère, poudre, liquide...) avec la surface d'un prisme constitué d'un matériau d'indice de réfraction très élevé (cristaux en germanium d'indice de réfraction 4).

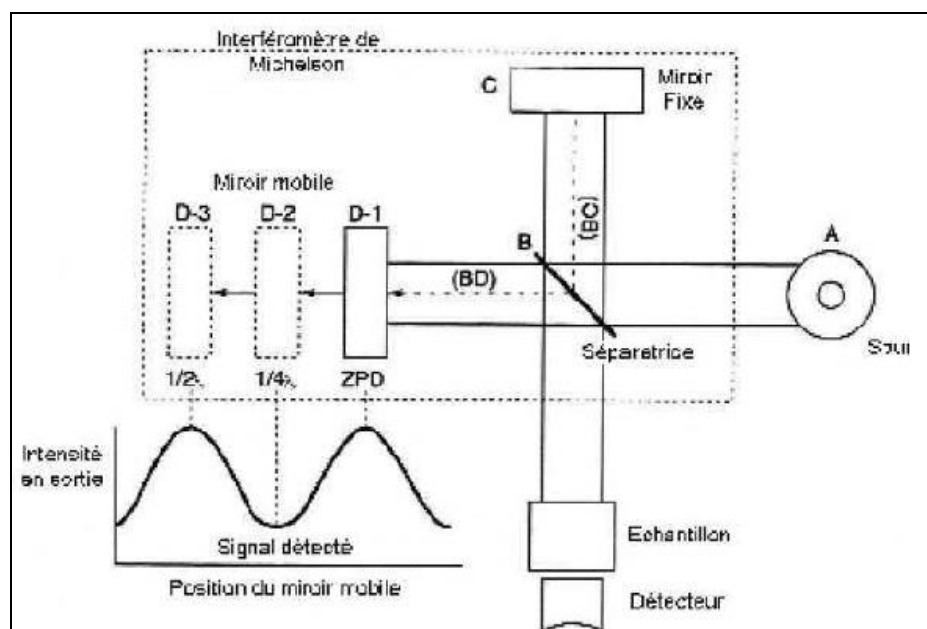


Figure 34. Principe de l'analyse par Infra Rouge à Transformé de Fourier

II-5-3-4-Analyse par spectroscopie RMN

L'identification des constituants d'un mélange par RMN ^{13}C est réalisée par comparaison des déplacements chimiques des carbones du mélange avec ceux des

composés de référence contenus dans une ou plusieurs bibliothèques de spectres (Fig.35).

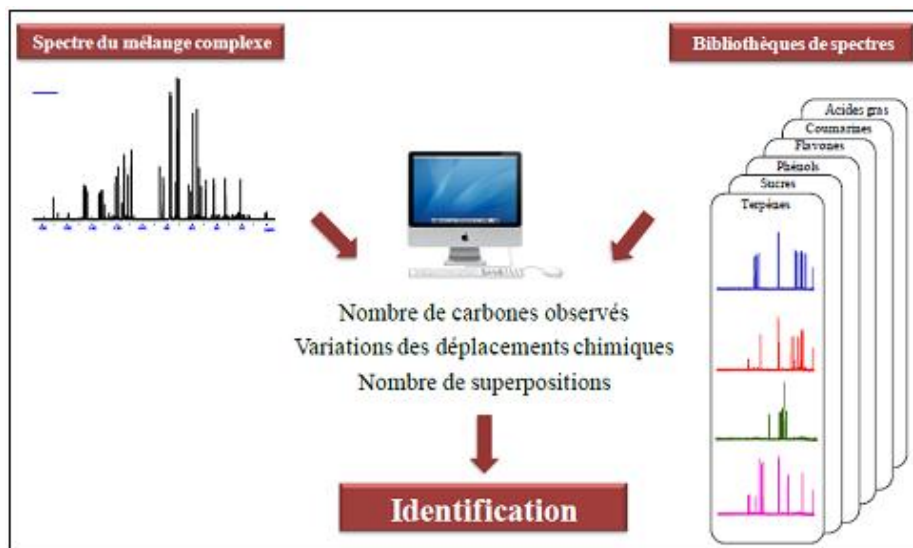


Figure 35. Identification des constituants d'un mélange par RMN¹³C

Avec cette méthode, les composés ne sont pas préalablement purifiés, contrairement aux précédentes techniques de couplage entre un chromatographe et un spectromètre. Pour identifier un composé au sein d'un mélange, il faut donc être à même de pouvoir observer les signaux qui lui appartiennent et de les individualiser, puis d'attribuer les déplacements chimiques à une molécule donnée. Pour cela, les conditions expérimentales d'enregistrement des spectres doivent être optimisées et standardisées de façon à permettre une bonne reproductibilité des résultats obtenus.

II-6-Activité antioxydante des végétaux

L'intérêt porté aux antioxydants naturels en relation avec leurs propriétés thérapeutiques, a augmenté considérablement dès que les premiers travaux annoncent le fort pouvoir antioxydant, anti-inflammatoire, anti-allergique, antivirale, antimicrobienne...des molécules bioactives issues des différents organes des plantes (tiges, écorces, racines, feuilles, fleurs, graines et fruits).

Les travaux scientifiques actuels ont permis de confirmer que les polyphénols sont absorbés à travers les barrières intestinales et parviennent au niveau des tissus cibles, où ils peuvent exercer des effets protecteurs contre le stress oxydant qui développe divers pathologies (maladies cardiovasculaires, cancers, maladies neuro - dégénératives ...) (Moudir N. 2004).

Toutefois, l'évaluation des propriétés phytothérapeutiques comme l'activité antioxydante demeure une tâche très intéressante et utile en particulier pour les plantes à utilisation rare ou mal connues.

Compte tenu de la complexité des processus d'oxydation et la nature diversifiée des antioxydants, il n'y a pas une méthode quantitative universelle bien précise pour la mesure de l'activité antioxydante. Pour cette raison nous combinons les réponses de différents tests complémentaires pour avoir une indication sur la capacité antioxydante des échantillons testés.

II-6-1-Méthodes d'évaluation de la capacité antioxydante

La littérature mentionne plusieurs méthodes de l'évaluation, *in vitro* et *in vivo*, de l'activité antioxydante par piégeage de différents radicaux libres. Nous citons les méthodes les plus utilisées comme le test ORAC (Oxygen Radical Absorbance Capacity), le test TRAP (Total Radical-Trapping Antioxidant Parameter) pour les radicaux peroxydes ROO^\bullet et les méthodes utilisant les radicaux libres : La méthode de FRAP (Ferric ion Reducing Antioxidant Parameter) qui réduit les ions ferriques (Benzie et Strain., 1996), les radicaux ABTS^{++} [sel d'ammonium de l'acide 2,2'-azinobis-3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique] $^{++}$ (Re et al., 1999) et le radical libre DPPH^\bullet [1,1-diphényl-2-picrylhydrazyle] qui est recommandé pour les composés contenant les groupes SH^- , NH^- et OH^- (Salah et al., 1995; Sharma Om et Bhat., 2009).

D'autres méthodes sont moins fréquemment utilisées dans la littérature comme celle utilisant le β -carotène comme indicateur d'oxydation. Dans ce test l'activité antiradicalaire des extraits est déterminée en mesurant l'inhibition de la dégradation oxydatif du β -carotène (Kartal et al., 2007).

Les tests le plus couramment utilisés pour évaluer l'activité antioxydante des plantes sont ceux qui mettent en jeu les radicaux de substitution : DPPH^\bullet [1,1-diphényl-2-picrylhydrazyle] $^\bullet$, ou l' ABTS^{++} [sel d'ammonium de l'acide 2,2'-azinobis-(3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique)] $^{++}$.

La méthode utilisant le radical DPPH^\bullet est basée sur un suivi spectrophotométrique de la réduction de ce radical par l'extrait (Masuda et al., 1999), ce qui correspond à la mesure de l'aptitude de réduction des antioxydants envers le radical DPPH^\bullet .

Les activités de piégeage des radicaux libres des échantillons exprimées en pourcentage d'inhibition en DPPH sont calculées selon la relation suivante :

$$\% \text{ Inhibition} = \frac{(A_B - A_A)}{A_B} \times 100 \quad (1)$$

A_A : absorbance de contrôle

A_B : absorbance de l'échantillon testé.

La détermination de la (IC_{50}), c'est-à-dire la concentration en antioxydant nécessaire pour inhiber 50 % des radicaux DPPH[•] en solution, nous renseigne sur la capacité de ces antioxydants à piéger des radicaux libres.

II-6-2- Pouvoir antioxydant de *Pistacia Lentiscus L* cultivés en Algérie

Les travaux d'Atman et ses collaborateurs sur l'extrait méthanolique de *Pistacia Lentiscus L* montrent, à travers des valeurs IC_{50} , une bonne activité antioxydante. Les résultats de cette étude sont consignés dans le tableau 6 (Atmani et al., 2009).

Tableau 6. Rendement de la teneur phénolique totale et les valeurs IC_{50} de l'extrait méthanolique de *Pistacia Lentiscus L*.

Saison	Rendement	Phénols totaux mg /g acide gallique	IC_{50} (mg/L)
Février	45,2 ± 1,2 ^(a)	483 ± 2,7	11,0 ± 0,45
Mai	61,1 ± 0,6	588 ± 32,7	5,09±0,10
Aout	60,1 ± 1,0	581 ± 14,0	7,07 ± 0,36

^(a): Ecart-type (n=3)

Une autre étude a mis en évidence l'influence du pouvoir antioxydant par les teneurs et la nature des polyphénols ainsi que celle du solvant d'extraction. Les pouvoirs réducteurs de l'extrait ($\mu\text{g/mL}$) pour ceux de l'extrait aqueux issus de l'hexane et le chloroforme et pour ceux des standards le BHA (butylate hydroxy Anizol) et l' α -tocophérol, ainsi que les concentrations demi-inhibitaires (IC_{50}) de ces extraits sont représentés dans le tableau 7.

Tableau 7. Pouvoir réducteur et concentrations demi-inhibitaires (IC_{50}) de l'extrait de *Pistacia Lentiscus L*. (Atmani et al., 2009).

Extrait	Pouvoir réducteur ($\mu\text{g/ml}$)	IC_{50}
Extrait aqueux issu de l'hexane	0,91± 0,03	50,03
Extrait aqueux issu de chloroforme	0,99 ± 0 ,01	50,10
BHA standard	0,68± 0,06	71,2
l' α -tocophérol	0,23±0,01	226,4

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Akihisa T., Ghosh P., Thakur S., Rosentein F.U., & Matsumoto T. (1986). Sterol compositions of seeds and mature plants of family Cucurbitaceae. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 63(5), 653-658.
- Akhisa T., Shimzu N., Tamura T., Matsumoto T. (1986). *Journal of Lipids*, 491-493.
- André E. (1963). Initiation à l'étude des corps gras. In : Edit d'enseignement supérieur, 37-55.
- Atmani D., Chaher N., Berboucha M., Ayouni K., Lounis H., & Boudaoud H. (2009). Antioxidant capacity and phenol content of selected Algerian medicinal plants. *Food Chemistry*, 112(2), 303-309.
- Benzie I.F., & Strain J.J. (1996). The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": the FRAP assay. *Analytical biochemistry*, 239(1), 70-76.
- Bonnaillie C., Salacs M., Vassiliova E., & Saykova I. (2012). Etude de l'extraction de composés phénoliques à partir de pellicules d'arachide (*Arachis hypogaea* L.).
- Boudjellal K. (2009). Etude de l'activité biologique des extraits du fruit de l'*Elaeagnus angustifolia* L (Doctoral dissertation, Université de Batna 2).
- Bougandoura N. (2011). Pouvoir antioxydant et antimicrobien des extraits d'espèces végétales *Saturejacalaminthasspnepta* (nabta) et *Ajugaiva* L.(chendgoura) de l'ouest d'Algérie.
- Bouilla F., Mayen M., Merida J., & Medina M. (1999). *Food chemistry*, 66 -99.
- Brouillard R., 1986. The flavonoids Advances. *Research science*, 525-538.
- Bruneton J. (1999). Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales (3e édition) Tec & Doc Lavoisier.
- Chanforan C. (2010, September). Stabilité de microconstituants de la tomate (composés phénoliques, caroténoïdes, vitamines C et E) au cours des procédés de transformation: études en systèmes modèles, mise au point d'un modèle stoechiocinétique et validation pour l'étape unitaire de préparation de sauce tomate. Avignon.

- Cuvelier M.E., Richard H., & Berset C. (1992). Comparison of the antioxidative activity of some acid-phenols: structure-activity relationship. *Bioscience, biotechnology, and biochemistry*, 56(2), 324-325.
- Cuvelier C., Cabaraux J.F., Dufrasne I., Hornick J.L., & Istasse L. (2004). Acides gras: nomenclature et sources alimentaires. In *Annales de Médecine Vétérinaire* (Vol. 148, No. 3, pp. 133-140). Annales Medecine Veterinaire.
- Da Silva J.M.R., Darmon N., Fernandez Y., & Mitjavila S. (1991). Oxygen free radical scavenger capacity in aqueous models of different procyanidins from grape seeds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 39(9), 1549-1552.
- De Rijke E., Out P., Niessen W.M., Ariese F., Gooijer C., & Udo A.T. (2006). Analytical separation and detection methods for flavonoids. *Journal of Chromatography A*, 1112(1), 31-63.
- Dedien F., Puig P., Sathon P. (1991). *Analysis Magazine*, 19 (10).
- Garcia-Salas P., Morales-Soto A., Segura-Carretero A., & Fernández-Gutiérrez A. (2010). Phenolic-compound-extraction systems for fruit and vegetable samples. *Molecules*, 15(12), 8813-8826.
- Gardeli C., Vassiliki P., Athanasios M., Kibouris T., & Komaitis M. (2008). Essential oil composition of *Pistacia lentiscus* L. and *Myrtus communis* L.: Evaluation of antioxidant capacity of methanolic extracts. *Food chemistry*, 107(3), 1120-1130.
- Gauthuret R.J. (1968). Les composés phénoliques des végétaux. Université de Bordeaux. PP .7-12-34-87-133.
- Ghyath Mosbah S. (1999). Principe de de biochimie, Université de Damas, Syrie.P 478.
- Giusti M.M., & Wrolstad R.E. (2001). Characterization and measurement of anthocyanins by UV-visible spectroscopy. *Current protocols in food analytical chemistry*.
- Grolier P., Borel P., Scalbert A., & Remesy C. (2001). Les phytomicronutriments. Basdevant A., Laville M., Lerebours E, *Traité de nutrition clinique de l'adulte*, Éd. Flammarion, Paris, France.
- Hamimed S. (2009). Caractérisation chimique des principes à effet antidermatophyte des racines d'*Anacyclus pyrethrum* L.

- Haslam E. (1998). Practical polyphenolics: from structure to molecular recognition and physiological action. Cambridge University Press.
- Heller W., & Forkmann G. (1993). The flavonoids advances in research since 1986.
- Hromadkova Z., Kováčiková J., & Ebringerová A. (1999). Study of the classical and ultrasound-assisted extraction of the corn cob xylan. *Industrial Crops and Products*, 9(2), 101-109.
- Jokić S., Velić D., Bilić M., Bucić-Kojić A., Planinić M., & Tomas S. (2010). Modelling of the process of solid-liquid extraction of total polyphenols from soybeans. *Czech Journal of Food Sciences*, 28(3), 206-212.
- Kanoun K. (2011). Contribution à l'étude phytochimique et activité antioxydante des extraits de *Myrtus communis* L.(Rayhane) de la région de Tlemcen (Honaine).
- Kartal N., Sokmen M., Tepe B., Daferera D., Polissiou M., & Sokmen A. (2007). Investigation of the antioxidant properties of *Ferula orientalis* L. using a suitable extraction procedure. *Food Chemistry*, 100(2), 584-589.
- Kawashty S.A., Mosharafa S.A.M., El-Gibali M., & Saleh N.A.M. (2000). The flavonoids of four *Pistacia* species in Egypt. *Biochemical Systematics and Ecology*, 28(9), 915-917.
- Kooter I.M., Steiner R.A., Dijkstra B.W., Van Noort P.I., Egmond M.R., & Huber M. (2002). EPR characterization of the mononuclear Cu-containing *Aspergillus japonicus* quercetin 2, 3-dioxygenase reveals dramatic changes upon anaerobic binding of substrates. *The FEBS Journal*, 269(12), 2971-2979.
- Lacy A., & O'kenney R. (2004). Studies on coumarins and coumarin-related compounds to determine their therapeutic role in the treatment of cancer. *Current pharmaceutical design*, 10(30), 3797-3811.
- Lake B. (1999). Synthesis & pharmacological investigation of 4-hydroxy coumarin derivatives & shown as anti-coagulant. *Food Chem Tox*, 37, 423-453.
- Lhuillier A. (2007). *Contribution à l'étude phytochimique de quatre plantes malgaches: Agauria salicifolia* Hook. f ex Oliver, *Agauria polyphylla* Baker (Ericaceae), *Tambourissa trichophylla* Baker (Monimiaceae) et *Embelia concinna* Baker (Myrsinaceae) (Doctoral dissertation, Institut National Polytechnique de Toulouse).

- Longo L., Scardino A., Vasapollo G., & Blando F. (2007). Anthocyanins from *Eugenia myrtifolia* Sims. *Innovative food science & emerging technologies*, 8(3), 329-332.
- Longo 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 & emerging technologies*, 8(3), 360-364.
- Maamri S. (2008). Etude de *pistacia atlantica* de deux régions de sud Algérien: dosage des lipides, dosage des polyphénols, essais antileishmaniens (Doctoral dissertation).
- Marfak A. (2003). Radiolyse gamma des flavonoïdes, Etude de leur réactivité avec les radicaux issus des alcools: formation de depsides (Doctoral dissertation, thèse de doctorat, Limoges).
- Masuda T., Yonemori S., Oyama Y., Takeda Y., Tanaka T., Andoh T., ... & Nakata M. (1999). Evaluation of the antioxidant activity of environmental plants: activity of the leaf extracts from seashore plants. *Journal of Agricultural and Food chemistry*, 47(4), 1749-1754.
- Moudir N. (2004). Les polyphenols de la propolis Algérienne. Mémoire de Magister de l'université Mohamed Boudiaf, M'sila. 33-34.
- Mpondo E.M., Yinyang J., & Dibong S.D. (2015). Valorisation des plantes médicinales à coumarines des marchés de Douala Est (Cameroun). *Journal of Applied Biosciences*, 85(1), 7804-7823.
- Mraihi F., Sidaoui F., Hidalgo M., de Pascual-Teresa S., & Trabelsi-Ayadi M and Chérif J. K. (2014). The 4-dimethylaminocinnamaldehyde flavanols quantification assays in Tunisian *Crataegus monogyna* and their HPLC-MS profiling. *Tunis. J. Med. Plants Nat. Prod.* 12: 39-45.
- Mraihi F., Hidalgo M., de Pascual-T.S., Trabelsi-Ayadi, M., & Chérif J.K. (2015). Wild grown red and yellow hawthorn fruits from Tunisia as source of antioxidants. *Arabian Journal of Chemistry*, 8(4) 570-578.
- Nicoue E.E., Savard S., & Belkacemi K. (2007). Anthocyanins in wild blueberries of Quebec: extraction and identification. *Journal of agricultural and food chemistry*, 55(14), 5626-5635.

- Perret C. (2001). *Analyse de tannins inhibiteurs de la stilbène oxydase produite par Botrytis cinerea Pers.: Fr* (Doctoral dissertation, Université de Neuchâtel).
- Portet B. (2007). *Recherche bioguidée de molécules antipaludiques d'une plante guyanaise: Piper hostmannianum var. berbicense* (Doctoral dissertation, Université de Toulouse, Université Toulouse III-Paul Sabatier).
- Porter L.J., Hrstich L.N., & Chan B.G. (1985). The conversion of procyanidins and prodelphinidins to cyanidin and delphinidin. *Phytochemistry*, 25(1), 223-230.
- Portes E. (2008). *Synthèse et études de tétrahydrocurcuminoïdes: propriétés photochimiques et antioxydantes: applications à la préservation de matériaux d'origine naturelle* (Doctoral dissertation, Bordeaux 1).
- Re Pellegrini N., Proteggente A., Pannala A., Yang M., & Rice-Evans C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radic Biol Med.* 26:1231-7.
- Ribéreau-Gayon P., & Sartore F. (1986). Les composés phénoliques des végétaux. Dunod, Paris. p 202.
- Rout P.K., Naik S.N., Rao Y.R., Jadeja G., & Maheshwari R.C. (2007). Extraction and composition of volatiles from *Zanthoxylum rhesa*: Comparison of subcritical CO₂ and traditional processes. *The Journal of supercritical fluids*, 42(3), 334-341.
- Roux D.G., & Evelyn S.R. (1958). Condensed tannins. 2. Biogenesis of condensed tannins based on leucoanthocyanins. *Biochemical Journal*, 70(2), 344.
- Salah N., Miller N.J., Paganga G., Tijburg L., Bolwell G.P., & Riceevans C. (1995). Polyphenolic flavanols as scavengers of aqueous phase radicals and as chain-breaking antioxidants. *Archives of biochemistry and biophysics*, 322(2), 339-346.
- Sališová M., Toma Š., & Mason T.J. (1997). Comparison of conventional and ultrasonically assisted extractions of pharmaceutically active compounds from *Salvia officinalis*. *Ultrasonics Sonochemistry*, 4(2), 131-134.
- Sharma O.P., & Bhat T.K. (2009). DPPH antioxidant assay revisited. *Food chemistry*, 113(4), 1202-1205.
- Shahidi F., & Naczk M. (2004). Biosynthesis, classification and nomenclature of phenolics in food and nutraceuticals. In: *Phenolics in food and nutraceuticals*.

- Singleton V.L., & Rossi J.A. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American journal of Enology and Viticulture*, 16(3), 144-158.
- Souquet J.M., Cheynier V., Brossaud F., & Moutounet M. (1996). Polymeric proanthocyanidins from grape skins. *Phytochemistry*, 43(2), 509-512.
- Treutter D. (1989). Chemical reaction detection of catechins and proanthocyanidins with 4-dimethylaminocinnamaldehyde. *Journal of Chromatography A*, 467, 185-193.
- Tomás-Barberán F.A., Ferreres F., & Gil M.I. (2000). Antioxidant phenolic metabolites from fruit and vegetables and changes during postharvest storage and processing. *Studies in natural products chemistry*, 23, 739-795.
- Tomi F., & Casanova J. (2006, February). ¹³C NMR as a tool for identification of individual components of essential oils from labiatae-a review. In *I International Symposium on the Labiatae: Advances in Production, Biotechnology and Utilisation 723* (pp. 185-192).
- Touafek O. (2010). Etude phytochimique de plantes médicinales du Nord et du Sud algériens.
- Vivas N., Glories Y., Pianet I., Barbe B., & Laguerre M. (1996). A complete structural and conformational investigation of procyanidin A2 dimer. *Tetrahedron letters*, 37(12), 2015-2018.
- Vinatoru M., Toma M., Radu O., Filip P.I., Lazurca D., & Mason T.J. (1997). The use of ultrasound for the extraction of bioactive principles from plant materials. *Ultrasonics sonochemistry*, 4(2), 135-139.
- Zhishen J., Mengcheng T., & Jianming W. (1999). The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. *Food chemistry*, 64(4), 555-559.
- Ziemons E. (2006). *Etude en temps réel du processus d'extraction de la tagitinine C en fonction des caractéristiques physico-chimiques du CO2 supercritique à l'aide de fibres optiques couplant un spectrophotomètre IRTF à un extracteur à fluide supercritique* (Doctoral dissertation, Université de Liège, Liège, Belgique).

PARTIE II:
ETUDE EXPERIMENTALE

CHAPITRE I:
ENQUETE ETHNOBOTANIQUE

Introduction

Depuis longtemps, nos ancêtres ont utilisé les végétaux pour soulager leurs douleurs, guérir leurs maux et panser leurs blessures. De génération à autre, ils ont transmis leur savoir et leurs expériences simples. Actuellement, malgré le progrès de la pharmacologie, l'usage thérapeutique des plantes médicinales est très présent dans certains pays du monde et surtout les pays en voie de développement, en l'absence d'un système médical moderne. En effet, il existe environ 500.000 espèces de plantes sur terre, dont la majorité possède des propriétés médicinales.

L'Algérie, par la richesse et la diversité de l'origine de sa flore, constitue un véritable réservoir phytogénétique, dont plusieurs espèces et sous espèces de plantes médicinales, et qui lui permet d'occuper une place privilégiée parmi les pays méditerranéens qui ont une longue tradition médicale et un savoir-faire traditionnel à base de plantes médicinales.

C'est dans cette optique qu'une étude ethnobotanique est réalisée dans le cercle du gouvernorat d'El-Tarf ayant pour but de contribuer à la connaissance de lentisque pistachier et de réunir le maximum d'informations concernant les usages thérapeutiques pratiqués par la population locale.

II-1-Cadre géographique et socio-économique de la zone d'étude

La commune d'El Kala, (anciennement La Calle) (Fig.36), est située au nord-est du gouvernorat d'El Tarf et à l'est d'Annaba. Elle est proche de la frontière algéro-tunisienne et ayant les coordonnées géographiques suivants: Latitude: 36°53'44" Nord; Longitude: 8°26'35" Est et l'altitude par rapport au niveau de la mer est de 21 m.



Figure 36. Localisation géographique de la zone d'étude

Elle est limitée au Nord par la mer Méditerranée, à l'Est par la République Tunisienne, à l'Ouest par la Wilaya de Annaba et au sud par les gouvernorats de Guelma et Souk-Ahras. La wilaya s'étend sur une superficie de 2891,65 km² et abrite une population de 366.950 habitants. La flore d'El Kala compte plus de 840 espèces qui représentent le tiers de la flore algérienne. Elle est riche et diversifiée et se caractérise par un taux particulièrement élevé d'espèces endémiques rares et très rares. El Tarf présente un climat du type subhumide et humide chaud au nord, et humide doux à humide frais au sud la pluviométrie varie entre 900 à 1200 mm/an. La zone d'étude est constituée de deux ensembles nettement différenciés du Nord au Sud. La zone des plaines au Nord, se caractérise surtout par des plaines et des piémonts, des dunes littorales et des étendues lacustres et marécageuses. Cette zone s'étale sur 1259 km² soit 43 % du territoire et abrite près 68 % de la population. Elle renferme cinq zones d'expansion touristique, un littoral de 90 km de long et quatre lacs (Lac des Oiseaux, Lac Mellah, Lac Oubeira et Lac Tonga) (Fig.37).

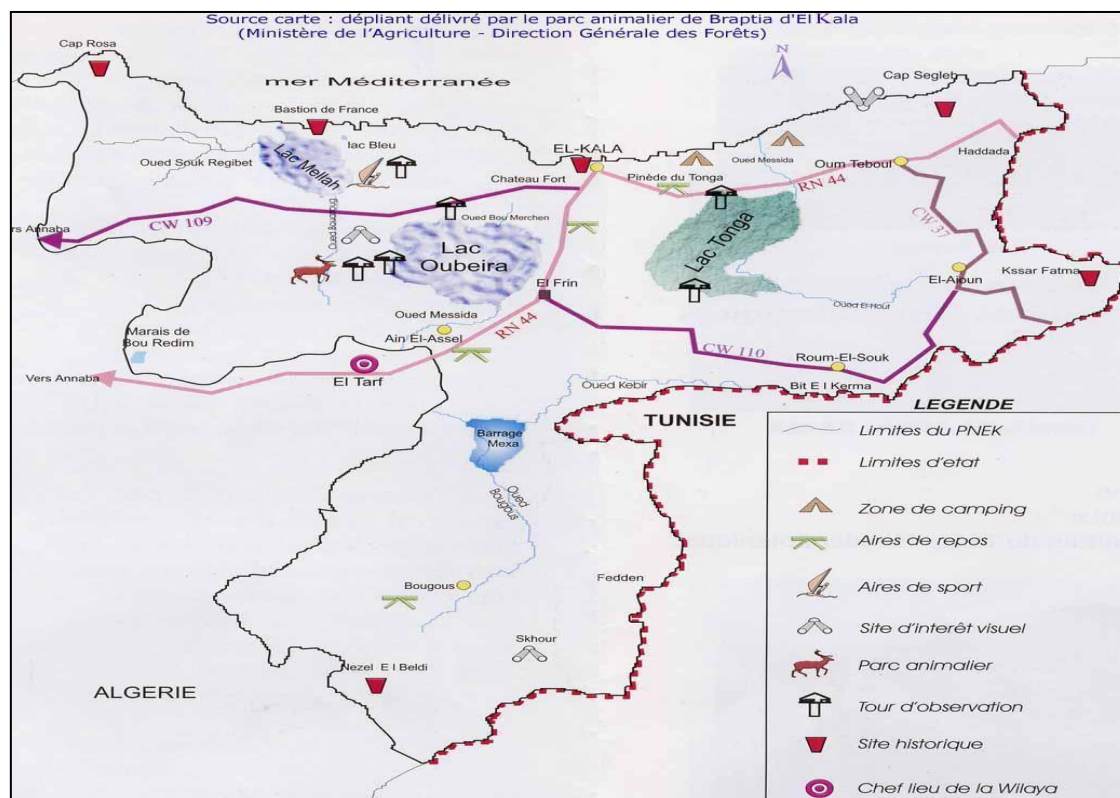


Figure 37. Carte géographique (flore et faune) de la zone d'étude

La zone montagneuse, au Sud, est constituée d'un ensemble collinaire et montagneux et d'une couverture forestière très dense. Cette zone s'étale sur 1632 km²

soit 57 % du territoire et abrite près 32 % de la population. La superficie forestière existante est de l'ordre de 167.687 hectares, le relief de cette zone est très accidenté (pente > 12 %). La diversification du sol de la zone a contribué à l'apparition d'une multitude d'espèces végétales notamment: le pin maritime, le chêne liège, le pin d'Alep, le chêne zen, les oliviers sauvages, les frênes, ainsi que les lentisques pistachiers.

L'agriculture et la pêche sont appelées à assurer pour longtemps la fonction de moteur du développement économique de la région. Par ailleurs, El kala, avantagée par sa position géographique, a des potentialités très importantes en matière d'eau d'irrigation, car elle est longée par plusieurs Oueds et lacs. Ainsi, le contexte géographique, historique, économique et humain a fait d'El Kala un point de passage et de concentration. La région dispose de potentialités économiques très diversifiées qui contribuent remarquablement à son développement socio-économique.

La population d'El Kala est dichotomisée en urbains et ruraux. L'urbanisation touche la majorité. Les urbains sont constitués principalement par une population en quête de travail en provenance de différentes régions du pays.

II-2-Méthodologie d'étude

Cette enquête a été réalisée dans cinq régions du nord ouest de l'Algérie à l'alentour d'El Kala : Oued -El-Hout, Oum-Theboul, Roum El-Souk, El-Aioun et Bougous.

Le choix de ces cinq zones d'étude est basé sur deux facteurs :

- les lentisques pistachiers sont très répons dans ces régions.
- les lentisques pistachiers jouent un rôle important dans la vie socioéconomique des habitants de ces zones et possèdent une place importante en médecine traditionnelle

II-2-1-Déroulement des enquêtes

Pour connaître les usages de *Pistacia Lentiscus L.* en médecine traditionnelle, des visites ont été effectuées (au cours du mois de Novembre 2009) dans les régions d'El-Kala, El-Tarf, Bouhadjar,

L'enquête établie avec les habitants, a été rendue facile par notre bonne connaissance des régions d'étude. Lors de chaque entretien nous avons collecté toutes les informations sur la plante et ses vertus médicinales. Les questions posées s'enchaînent en fonction des informations apportées par l'interviewé et ont intéressé l'utilisation de la plante (feuille, huile de fruit, racine) et aussi à l'utilisation de l'huile extraite par les méthodes classiques et traditionnelles. Le temps consacré à chaque entrevue était d'environ de un quart à une demi heure.

Les entretiens menés ont concerné plusieurs personnes de différents âges et des deux sexes : masculin et féminin. Les personnes auditionnées ont un niveau de scolarisation analphabète avec 30%, primaire 35%, secondaire 25% et universitaire 10%.

Cette enquête ethnobotanique épidémiologique constitue une source d'information précieuse, pouvant servir de base pour des études scientifiques ultérieures afin de valoriser cette plante à visée thérapeutique, constituant une richesse inestimable encore peu exploitée.

CHAPITRE II :
ETUDE PHYSICOCHIMIQUE ET
PHYTOCHIMIQUE
DES FRUITS
DU LENTISQUE (PISTACIA LENTISCUS L.)

II-1- Matériel végétal

Les fruits sujet du présent travail, *Pistacia Lentiscus* (Figure 38), ont été récoltés à maturité en Novembre 2008 au Nord algérien du gouvernorat d'El Taref.



Figure 38. Fruit noir de *Pistacia Lentiscus L.*

Les conditions de récolte des fruits du *pistacia lentiscus* sont réunies dans le tableau 8.

Tableau 8. Récapitulatif des conditions de récolte

Nom Botanique	Date de récolte	Lieu	Organes	Stade de maturation	Saison	Milieu végétatif
<i>Pistacia lentiscus</i>	Nov 2009	Oued Elhout	fruits entiers	Fruits murs	Saison des pluies	Forêt

Nov : Novembre

Immédiatement après la récolte, les fruits sont lavés pour les débarrasser des organismes potentiellement responsables de leur détérioration et de leur qualité. Ensuite, la pulpe du fruit est plongée dans l'azote liquide pour une stabilité chimique et biologique, cette cryogénéation est nécessaire pour la conservation de la matière végétale pour barrer les enzymes responsables de la dégradation des composés fragiles.

Le broyage du matériel végétal est effectué manuellement au pilon dans un mortier et tamisée à l'aide d'un passoire jusqu'à l'obtention d'une poudre fine de l'ordre 160 μ m. La poudre est conservée à -10°C jusqu'à analyse.

II-2-Etude physicochimique

II-2-1-Caractérisation du matériel végétal

Les propriétés physicochimiques des fruits ont intéressé les teneurs en humidité, matière organique et sèche, l'analyse multi-élémentaire, teneur en protéine, acidité titrable...

La détermination des caractéristiques physicochimiques est réalisée suivant les Normes Afnor normalisées (AFNOR, 1984).

II-2-1-1- Détermination de la teneur en humidité

Le principe de la détermination de l'humidité du fruit est la différence de masse avant et après séchage du matériel végétal à une température de 100-105 °C dans une étuve jusqu'à l'obtention d'un poids constant. La teneur de l'humidité est donnée par la relation suivante (Eq.1).

$$\text{(\% Humidité)} = \frac{\text{masse de l'échantillon avant séchage} - \text{masse après chauffage}}{\text{masse de l'échantillon avant séchage}} \times 100 \quad (1)$$

II-2-1-2- Matière sèche

La matière sèche est déterminée à partir de la méthode AOAC, 22026. C'est la différence entre le pourcentage total et le pourcentage en humidité. Le pourcentage de la matière sèche (%MS) est déterminé par la relation suivante (Eq.2).

$$\text{MS (\%)} = 100\% - \text{H\%} = \frac{M_2}{M_1} \times 100 \quad (2)$$

II-2-1-3- Détermination de la teneur en cendres

Le pourcentage en cendre des fruits est déterminé selon la Norme (DIN EN ISO 6245 norm 2003). La teneur en matière minérale d'une substance alimentaire est conventionnellement le résidu de la substance après calcination de la matière sèche. Elle est obtenue par incinération de l'échantillon sec à 500-600°C, dans un four à moufle (MERAUEUS type MR.170) durant 2 à 3h. L'échantillon devient gris blanchâtre (cendres), après stabilisation de la température pendant une heure. Le pourcentage de la matière sèche (%MS) est déterminé par la relation suivante (Eq.3):

$$\% \text{ du cendre} = \frac{\text{masse de la capsule avec cendre} - \text{masse de la capsule vide}}{\text{masse du fruit séché}} \quad (3)$$

II-2-2-Détermination de la teneur en protéine

Principe

Les protéines totales sont dosées par la méthode Kjeldhal (KjeltecTM 2200, FOSS). En se basant sur la Norme DIN EN ISO 5983-1 (2005), la détermination de la teneur en protéine par la méthode de kjeldhal se fait en deux étapes (Bradstreet, 1965) : L'azote organique présent dans la matière végétale est transformé en sulfate d'ammonium par minéralisation à haute température en milieu acide et en présence d'un catalyseur. Les vapeurs d'ammoniac obtenues par action de l'acide sur l'ammonium, sont ensuite récupérées et titrées par une base. L'équivalence est atteinte au virage de la solution du bleu au violet.

Protocole expérimental

- *Digestion*

Environ 5g de fruit sont introduits dans un tube de digestion auxquels l'on ajoute 40 mL d'acide H₂SO₄ concentré, 5g de K₂SO₄, 40 ml de H₂O et quelques grains de pierre ponce. L'échantillon est porté, pendant 30 minutes à une température de 420°C. Après refroidissement du tube de digestion et stabilisation de sa température à 25°C, 120 mL d'eau distillée et 60 mL de NaOH (10M) sont ajoutés au contenu du tube à digestion tout en agitant. L'ammoniac cicule par un réfrigérant qui va entrainer son retour sous forme liquide dans une fiole conique contenant 30 mL d'acide borique à 4%. Le contenu de la fiole sera titré à l'aide d'une solution d'acide chlorhydrique standard à 0,05 N.

- *Dosage de l'ammoniac*

22 mL d'eau distillée et 2 mL de soude (lessive de soude 37 %) sont ajoutés à chaque tube (y compris l'essai) pour déplacer le sulfate d'ammonium, le tube du Matras est rebouché rapidement pour éviter toutes pertes de NH₃. L'extrémité du réfrigérant est trempé dans un volume de 22 mL d'acide chlorhydrique (1M), où l'ammoniac sera barboté. Le volume recueilli dans le bécher, sera ensuite dosé par la soude (8M) tout en ajoutant quelques gouttes de rouge de méthyle comme indicateur

coloré. Les pourcentages d'azote et en protéine sont donnés par les relations suivantes (Eq. 4,5):

$$\% \text{ d'azote} = \frac{Va.Ca.A_N \times 100}{m(g) \text{ de l'échantillon}} \quad (4)$$

Va : volume de l'acide utilisé pour le titrage de l'échantillon.

Ca : concentration de l'acidité utilisée pour le titrage.100

A_N : masse atomique de l'azote (*A_N* = 14g / mole)

m(g) : masse en gramme de l'échantillon.

Va = 124 ml = 0,124 l

% en azote = 1,74

$$\% \text{ protéine} = \frac{Va.Ca.A_N \times 6,25 \times 100}{m(g) \text{ de l'échantillon}} \quad (5)$$

(6.25 : facteur de Kjeldahl).

II-2-3-Dosage de la cellulose

Principe

Le dosage de la cellulose est pris de la littérature en se basant sur la méthode de Weende (AFNOR V O3-040). Les matières cellulosiques correspondent au résidu organique insoluble obtenu après attaque acide (H₂SO₄, 0,26 N) et alcaline (NaOH 0,31N) du tourteau finement broyé. Pour l'évaluation de la cellulose notre échantillon a subi une délipidation par l'hexane.

Protocole expérimental

➤ *Délipidation*

Environ, 5g de de fruit séché sont introduits dans une cartouche en cellulose d'un soxhlet tout en introduisant 200mL d'hexane dans un ballon. Puis le système est porté à ébullition (60°C). Plusieurs cycles de siphonages sont faits jusqu'à l'extraction totale de la matière grasse. Le résidu contenant dans la cartouche est ensuite séché à l'étuve durant 30 mn à 103°C pour l'élimination de l'hexane et de toute trace d'humidité.

➤ *Hydrolyse acide de l'échantillon puis hydrolyse alcaline*

L'échantillon délipidé est introduit dans 100mL d'une solution de H₂SO₄ à 0,26 N, puis porté à l'ébullition pendant ½ h. le mélange est filtré, le résidu est lavé avec l'eau distillée. Le résidu ainsi obtenu est traité de nouveau par 100mL d'une solution de NaOH à 0,31N et est porté à l'ébullition pendant ½ h. Les substances non dissoutes

sont séparées par filtration sur buchner et lavées à l'eau distillée, séchées dans un dessiccateur et pesées. La teneur en cellulose brute est déterminée suite à l'incinération du résidu.

II-2-4- Analyse multi-élémentaire

Il existe une large gamme de méthodes et de technologies d'analyse des métaux dans les fruits et légumes. Dans ce travail, le dosage des métaux a été effectué, selon la norme NF EN ISO 15587-1, par Spectroscopie d'Absorption Atomique (AAS) avec une source d'atomisation (four à graphite) et la spectroscopie d'émission atomique (SEA) à flamme et la spectroscopie à source de plasma inductive (SEA-ICP).

II-2-4-1-Attaque acide

Les cendres obtenues après incinération de la matière sèche ont été traitées par 3 mL d'acide sulfurique concentré (H_2SO_4) dans un bain marie bouillant jusqu'à dissolution des cendres. Les solutions obtenues sont chauffées pendant 2 heures sur une plaque chauffante à 200 °C jusqu'à évaporation totale de l'acide. Les résidus ainsi obtenus ont été incinérés pour la deuxième fois (1h à 500°C), puis 10 mL d'eau distillée y sont ajoutées. Après une agitation vigoureuse, on obtient une solution claire et limpide qui sera ensuite filtrée. Les solutions sont ajustées avec de l'eau distillée jusqu'à 50 mL. La composition minérale des fruits est déterminée par injection directe des solutions dans le système spectrométrique d'Absorption Atomique approprié. En effet, le zinc est dosé par SAA à four de graphite, le potassium et le sodium sont dosés par SEA - flamme alors que les éléments Ca, Mg, Fe, P, Mn et Cu sont dosés par SEA-ICP (Anar, 1974; Analytical Methods Committee, 1987; Haswell, 1991).

II-2-4-2-Dosage du Zinc par SAA à four de graphite

➤ Préparation des solutions étalons

2g de chlorure de zinc sont introduit dans un bécher contenant 100 mL d'acide chlorhydrique (3N). Suite à une agitation jusqu'à dissolution totale, la solution est diluée et ajusté jusqu'au trait de jauge d'une fiole de 1000 mL. La solution mère est de concentration 1 mg/mL de Zinc. Une série de dilution de la solution mère est préparée

pour obtenir 5 solutions étalons (S_0 , S_1 , S_2 , S_3 et S_4) de concentrations 10^{-3} , 2.10^{-3} , 3.10^{-3} , 4.10^{-3} et 5.10^{-3} $\mu\text{g/mL}$ respectivement.

➤ **Préparation de l'échantillon**

L'extrait de fruit obtenu précédemment suite à la minéralisation de l'échantillon par voie sèche ainsi que les 5 solutions étalons sont injectés dans les mêmes conditions à un système spectrométrique d'Absorption Atomique SAA à four de graphite à une longueur d'onde caractéristique du zinc situé à $\lambda=214,3\text{nm}$ (Perez-Jonran et al., 1998).

II-2-4-3-Dosage du K et du Na par SEA - flamme

La quantification du potassium ainsi que le sodium dans la matrice végétale étudiée est déterminée par spectroscopie d'émission atomique à flamme (SEA-F). Cette méthode est essentiellement utilisée pour l'analyse des métaux en «mode émission». La flamme servant dans ce cas de source de rayonnement. La SEA-F peut s'avérer plus sensible que les autres techniques (Bouman's, 1987; Thomson et al., 1989).

➤ **Minéralisation de l'échantillon (par voie humide)**

L'échantillon est soumis à une attaque acide, sans perte de l'élément à doser. De nombreuses substances inorganiques peuvent être dissoutes par l'acide chlorhydrique, l'acide nitrique ou l'eau régale (mélange d'acide chlorhydrique et d'acide nitrique dans le rapport (3:1) (Haswell, 1991).

On introduit 1 g du cendre des fruits obtenu après incinération dans une fiole jaugée de 50 mL et on ajoute 3 mL d'eau distillée afin d'obtenir une pâte. Ensuite, 7,5 mL d'acide chlorhydrique et 2,5 mL d'acide nitrique sont ajoutés. Le mélange est porté à une agitation rigoureuse puis ajusté avec de l'eau distillé jusqu'au trait de jauge.

➤ **Préparation des solutions étalons (sodium, potassium et lithium)**

Environ 2,5 g de chlorure de sodium pur sont dissout dans un litre d'eau distillée dans une fiole jaugée. A partir de la solution mère une série de dilution est préparée afin d'obtenir 4 solutions de concentrations 1, 2, 5 et $10\mu\text{g.mL}^{-1}$ respectivement. De même une solution mère de potassium est préparée on dissolvant 1,9 g de chlorure de potassium pur (KCl) dans un litre d'eau distillée. A partir de cette solution 4 autres

solutions filles sont préparées à des concentrations 2, 5, 10 et 20 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ d'ions potassium. Finalement environ 5,3 g de carbonate de lithium ont servi pour la préparation d'une solution mère contenant 1 mg de Li/mL. De même cette solution servira pour obtenir 4 solutions filles de concentrations connues.

Finalement toutes les solutions incluant les étalons et la solution des cendres des fruits sont injectées simultanément à un système spectromètre d'émission atomique de flamme. Les paramètres instrumentaux du spectromètre d'émission atomique de flamme (SEA-F) sont regroupés dans le tableau 9.

Tableau 9. Paramètres instrumentaux de la SEA-F pour l'analyse du K et du Na.

Elément	K	Na
$\lambda(\text{nm})$	766,5	589,0
Courant de la lampe (mA)	10	12
Nature de la flamme	Air - C_2H_2	Air - C_2H_2
Type de brûleur	standard	standard

II-2-4-4-Dosage du Ca, Mg, Fe, P, Mn et Cu par SEA-ICP

1 g de cendre obtenu après incénération est dissout dans 50 mL d'eau distillée et 30 mL d'acide nitrique concentré. Suite à une agitation rigoureuse du mélange et jusqu'à dissolution totale, le contenu est déplacé dans une fiole jaugée de 1L qui sera ajuster jusqu'au trait de jauge avec de l'eau distillée. Quelques mL de cette solution, la solution des standards et les étalons internes, à base de sel de lithium (Li_2CO_3), sont analysées par un système SEA-ICP «JOBIN YVON» à balayage et à mesures simultanées.

La solution des standards est SPEX QC-19, contenant 100 ppm de chacun des métaux suivants : Ca, Mg, Fe, P, Mn, et Cu. Le domaine de linéarité est de 1 à 1000 $\mu\text{g}/\text{mL}$, la puissance du générateur et le débit de la nébulisation est de 3 Bars et 0,45 L/mn, respectivement. La vitesse de la pompe est 22 rpm et la puissance du générateur est de 40,68 mHz. Les longueurs d'onde des raies analytiques des éléments étudiés sont réunies dans le tableau 10.

Tableau 10. Longueurs d'onde des raies analytiques des métaux étudiés.

Eléments	Longueur d'onde (λ nm)
Ca	422,7
Mg	285,2
Fe	248,3
P	213,6
Mn	279,5
Cu	324,8

II-3-Etude phytochimique

Outre la richesse de l'huile du *Pistacia Lentiscus* en métabolites primaires, en minéraux, en acides gras... d'autres questions se posent y a-t-il d'autres composés (métabolites secondaires) à effets bénéfiques pour la santé. Il serait alors primordial de poursuivre les investigations sur cette matrice en se focalisant sur la quantification et des métabolites secondaires (antioxydants : bio-molécules) qui interviennent dans plusieurs réactions enzymatiques ou biochimiques ou processus physiologique ayant lieu dans l'organisme.

Les antioxydants constituent une richesse largement exploitée dans les industries agroalimentaire, cosmétique et pharmaceutique. L'intérêt porté aux antioxydants naturels, en relation avec leurs propriétés thérapeutiques, a augmenté considérablement dès que les premiers travaux annoncent le fort pouvoir antioxydant des molécules bioactives issues des différents organes des plantes (tiges, écorces, racines, feuilles, fleurs, graines et fruits). Toutefois, l'évaluation des propriétés phytothérapeutiques comme l'activité antioxydante demeure une tâche très intéressante et utile en particulier pour les plantes d'une utilisation rare ou moins fréquentes ou non connues.

Parmi les métabolites secondaires, on cite essentiellement les coumarines, les alcaloïdes, les acides phénoliques, les tannins, les lignanes, les terpènes, les flavonoïdes, les caroténoïdes

Actuellement, grâce aux développements des méthodes d'extraction, de dosage et des techniques de quantification, une meilleure connaissance de la composition des végétaux est devenue possible.

Dans ce contexte nous exposons dans la première partie de ce chapitre les conditions expérimentales et les techniques utilisées lors de l'extraction et de dosage des polyphénols, flavonoïdes, anthocyanes, tannins, alcaloïdes...dans l'huile des fruits du *Pistacia Lentiscus*. La deuxième partie tente à établir la relation entre la teneur en antioxydant et l'activité antioxydante par piégeage du radical DPPH.

II-3-1-Mise en évidence des métabolites secondaires

La poudre de fruit de *Pistacia Lentiscus L* est soumise à un ensemble de tests phytochimiques de mise en évidence de quelques métabolites secondaires dont leur présence s'avère très importante.

II-3-1-1-Test des alcaloïdes

5 g de la poudre de fruit de *pistacia Lentiscus L* sont macérés par 25 ml d'acide chlorydrique HCl dilué (0.5%). Après filtration on ajoute de l'hydroxyde d'ammonium pour rendre le mélange basique. Deux extractions successives liquide-liquide du mélange par 20 ml de chloroforme ont été menées puis la phase organique est concentrée à vide sous pression. Le résidu obtenu est dissout par 1 ml de HCl dilué 0.5 % au quel on ajoute quelques gouttes du réactif de Mayer. La présence ou l'absence des alcaloïdes dans la matrice étudiée est donné par la formation d'un précipité blanc.

II-3-1-2- Test des flavonoïdes

Environ, 5 g de la poudre de fruit du lentisque sont extraits par 75 mL de HCl dilué à 0.5 % pendant 24 heures. A 10 ml du filtrat, on ajoute de l'hydroxyde d'ammonium pour le rendre basique. L'apparition de la couleur jaune claire renseigne sur la présence des flavonoïdes dans les poudres de fruits de *Pistacia*.

II-3-1-3- Test des tanins

5 g de la poudre de fruit du lentisque sont extraits avec une solution aqueuse de méthanol à 25%, après filtration, on ajoute au filtrat 5 gouttes de chlorure ferrique. L'apparition de la coloration verte indique la présence des tanins.

II-3-1-4-Test des coumarines

2 g d'échantillon sec sont dissouts dans 30 ml d'eau chaude. Après filtration, on ajoute 1 ml d'hydroxyde ammonium à 30%, puis on préleve 1 ml du filtrat que l'on étale sur un papier wattan qui sera visualiser sous loupe U.V à 366 nm. L'observation d'une fluorescence interne est un test positif sur la présence des coumarines.

II-3-1-5- Composés réducteurs

La présence des composés réducteurs est prouvée par le même test. 50 ml du filtrat obtenu précédement que l'on ajoute à 100 ml de réactif de Fehling. La présence d'un précipité rouge brique indique un test positif.

II-3-2-Extraction et dosages des composés phénoliques

Dans ce travail, nous nous intéressons aux composés phénoliques des différents organes d'olive et en particulier aux Ortho-di-diphénols. Ces derniers sont les plus actifs antioxydants parmi les composés phénoliques d'olive.

II-3-2-1- Polyphénols totaux

Protocole expérimental

- ***Extraction***

L'extraction des polyphénols totaux des fruits du *Pistacia Lentiscus* a été prise de la littérature. Nous avons suivi la méthode, en y apportant quelques modifications. La figure 40 présente le protocole détaillé de l'extraction des polyphénols totaux des poudres de fruits.

En raison de la forte teneur lipidique notre échantillon a subi une délipidation. Environ 100g de matière sèche sont extraits par 60 ml d'éther de pétrole dans un bain ultrason pendant 20 minutes. Après filtration, le résudus est extrait une deuxième fois par 70ml de méthanol. De même, le solvant est concentré sous vide à 40°C et le

résidus récupéré est redissout dans le méthanol. Les deux résidus sont rassemblés et ils servent au dosage colorimétrique des polyphénols totaux.

- **Dosage**

La quantification des polyphénols totaux est déterminée en adoptant la méthode de Singleton et Rossi (1965) (Fig.39). Les résidus secs obtenus précédemment par le protocole d'extraction des polyphénols sont dissouts dans des volumes de méthanol connus afin d'obtenir des solutions méthanoliques de concentration $1\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$. Les extraits méthanoliques préparés sont destinés pour l'analyse chromatographique ainsi que pour le dosage colorimétrique des polyphénols totaux.

Brièvement, 1 mL de chaque solution des extraits méthanoliques des fruits sont ajoutés à 1 mL du réactif de Folin Ciocalteu (dilué 10 fois par du méthanol). Après un repos de 5 minutes, 1 mL de Na_2CO_3 ($75\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$) est ajouté. Après une agitation rigoureuse au vortex, les extraits sont laissés 15 minutes dans un bain à 40°C . Après incubation à l'obscurité pendant 30 min, la mesure de l'absorbance à l'aide d'un spectrophotomètre UV (T60U) est effectuée à 765 nm.

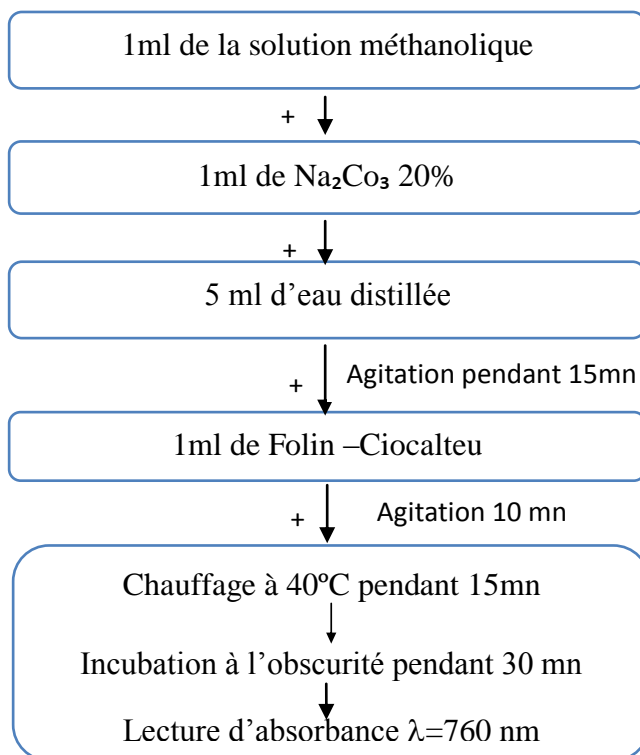


Figure 39. Protocole expérimental de dosage des polyphénols.

La concentration en polyphénols totaux est calculée à partir de l'équation de régression de la gamme d'étalonnage établie avec l'acide gallique ($10-150 \mu\text{g.mL}^{-1}$) où le méthanol est le blanc.

Les résultats sont exprimés en milligramme d'équivalent d'acide gallique par un gramme de matière sèche ($\text{mg EAG.g}^{-1}\text{MS}$). Toutes les mesures ont été effectuées en triplicatas.

II-3-2-2- Flavonoïdes totaux

Principe

Les flavonoïdes contenus dans les extraits méthanoliques de *Pistacia Lentiscus* L.(fruit) sont estimés par la méthode décrite par Zhishen et al (2009). Le principe est basé sur la formation des complexes flavonoïdes-chlorure d'aluminium (Djeridan et al. 2006). L'intensité de la couleur est proportionnelle à la concentration des flavonoïdes. Les complexes produits sont de couleur jaune et absorbent dans le visible à 415 nm.

L'évaluation quantitative des flavonoïdes dans les différentes fractions est réalisée selon la méthode du trichlorure d'aluminium (AlCl_3) citée par Lamaison et Carnat, (1991) avec quelques modifications apportées par Bahorun et al., (1996).

Protocole expérimental

À 1 g de résidus obtenu précédemment est ajouté 1mL de méthanol. Pour chaque extrait méthanolique de fruit préparé nous avons préparé un tube contenant 125 μl de l'extrait méthanolique qu'on ajoute 1,50 mL à une solution méthanolique d' AlCl_3 , $6\text{H}_2\text{O}$ (2%) aux quels nous ajoutons 0,75 mL d'une solution de nitrate de sodium à 5%. Parallèlement, à un tube témoin contenant 1,5 mL d'une solution méthanolique d' AlCl_3 , $6\text{H}_2\text{O}$ (2%) sont ajoutés 1,5 mL d'une solution méthanolique de catéchine utilisée comme standard. L'absorbance est lue à 430 nm après une incubation pendant 10 min à l'obscurité et à la température ambiante. Une gamme étalon est établie avec la catéchine ($10-400 \mu\text{g.mL}^{-1}$) (Fig.40).

La concentration des fruits du *Pistacia* en flavonoïdes est déduite à partir de la courbe d'étalonnage de la catéchine. Les teneurs sont exprimées en milligramme d'équivalent de catéchine par gramme de matière sèche (mg catéchine/g MS).

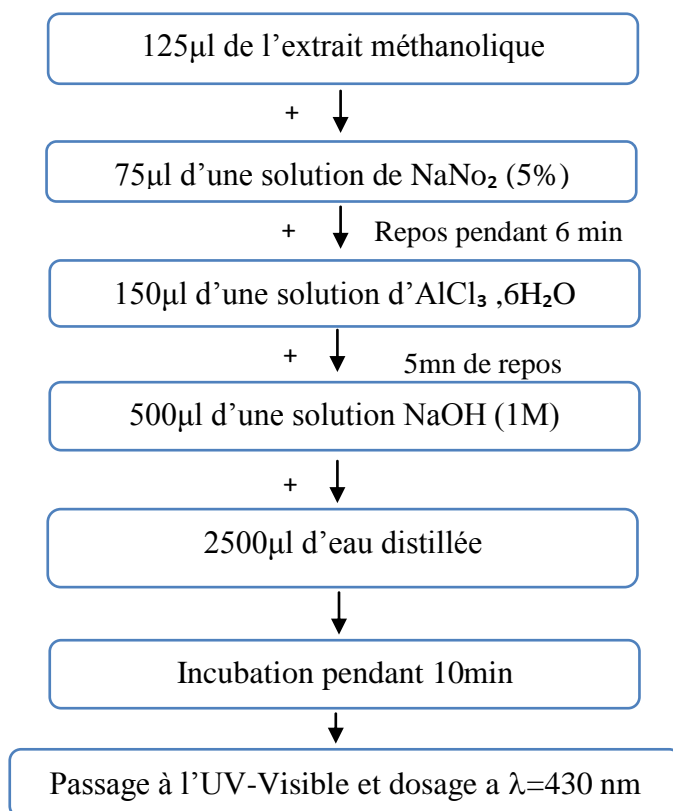


Figure 40. Protocole expérimental de dosage des flavonoïdes totaux.

II-3-2-3-Tanins condensés

Principe

En présence d'acide chlorhydrique concentré, les tanins condensés se dépolymérisent et par réaction avec la vanilline, ils se transforment en anthocyanidols de couleur rouge spécifique dont l'intensité est mesurée par spectroscopie UV-Visible à 500nm.

Protocole expérimental

Un prélèvement de 0,5g de fruits de *Pistacia Lentiscus L.* auquel on ajoute 10mL de méthanol. Le mélange est agité pendant 30min et mis à l'obscurité pendant 24 heures. Le mélange a subi une filtration sur papier filtre de type wattan. Une prise de 50µl de l'extrait est mélangée avec 3ml de vanilline à 4%, puis 1,5ml de HCl concentré sont additionnés. Après 15min de repos, l'absorbance est mesuré à 500 nm.

La teneur en tanins est exprimée en équivalent de Catéchine par gramme d'échantillon à partir de la courbe d'étalonnage d'une série de dilution d'une solution mère de catéchine qui sert comme standard.

II-3-2-4- Anthocyanes totaux

Principe

La détermination de la teneur en anthocyanes pour les extraits de *Pistacia Lentiscus L.* est mesurée par voie spectrophotométrique suivant la méthode d'AFNOR Swain et Hillis (1959) en effectuant les mesures à deux longueurs d'ondes différentes, $\lambda_1=525\text{nm}$ et à $\lambda_2=595\text{nm}$.

Protocole expérimental

Environ 5 grammes de poudre et 9 ml d'une solution d'éthanol dans l'eau à 80%(v/v) sont mélangés à l'aide d'un agitateur magnétique pendant 2 heures et on laisse reposer à 5°C pendant une nuit. À température ambiante, on filtre et on ajuste le volume à 10 ml avec l'éthanol à 80%(v/v). Le dosage est effectué sur un prélèvement de 10 ml de l'extrait alcoolique additionné à 0,02 ml d'acide chlorhydrique à 37% (Fig.41).

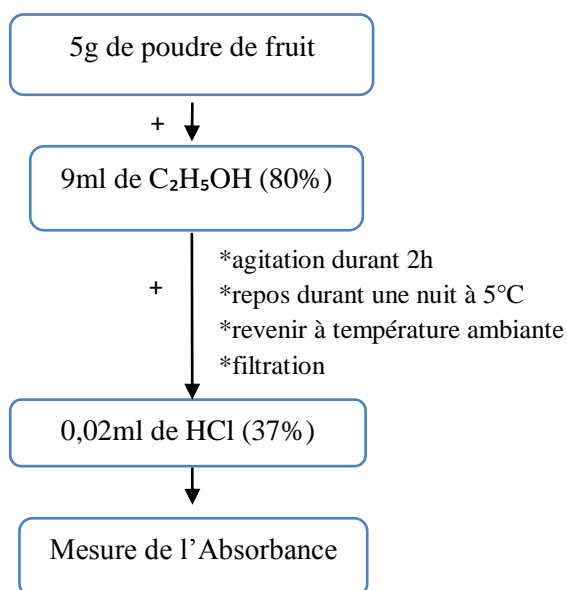


Figure 41. Protocole expérimental de dosage des anthocyanes.

La mesure des absorbances est faite à l'aide d'un spectrophotomètre à 525nm et 595nm. La teneur en anthocyane est déterminée selon la relation suivante (Eq.6):

$$\text{TA (mg/100g)} = \frac{A \times 10^4 \times n}{850} \quad (6)$$

A : est la différence d'absorbance de la solution lue à 525nm et à 595nm.

850 : est le coefficient du cyanidol glucoside selon BUCKMIRE.

n : est le coefficient de dilution qui est égal à 2 ($n = 2$).

et par conséquent :

$$\text{TA (mg/100g)} = \frac{A \times 10^4 \times n}{850} = 23,5A \quad (7)$$

II-4-Determination de l'activite antioxydante

II-4-1-Piégeage par le radical libre DPPH

II-4-1-1-Pincipe

Le 1,1-diphényl -2-picrylhydrazyle (DPPH) (Fig.42) est défini comme un radical libre stable en vertu de la délocalisation de l'électron disponible, ce qui donne la couleur violette profonde, caractérisée par une absorption à 517nm. Le DPPH possède un électron non apparié sur un atome du pont d'azote. Du fait de cette délocalisation, les radicaux ne forment pas de dimères (Popovici et al., 2009). Il réagit avec des groupements amines, des phénols et des acides (Blois, 1958 ; Brand Williams et al., 1995).

En présence de composés anti radicalaires, le radical DPPH est réduit et change la couleur de violette en virant au jaune. Les absorbances mesurées à 517nm servent à calculer le pourcentage d'inhibition du radical DPPH.

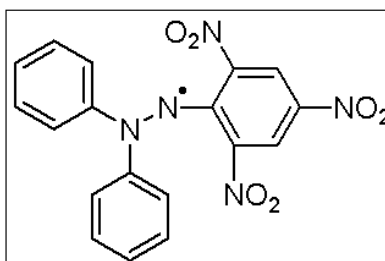
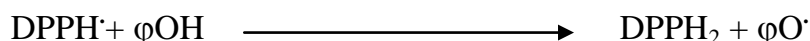
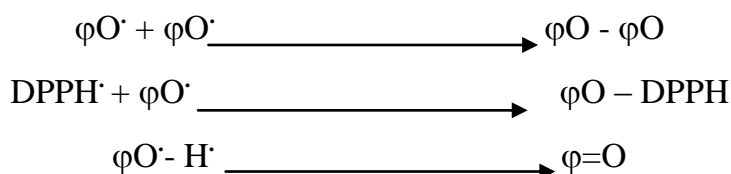


Figure 42. Structure chimique du radical libre DPPH[•]

Dans le cas des composés phénoliques (φ -OH), le mécanisme principal d'action est le piégeage des radicaux libres par le transfert de l'atome H sur le DPPH (Molyneux, 2004).



Alors plusieurs voies réactionnelles sont alors possibles.



II-4-1-2-Protocole expérimental

• Préparation de la solution DPPH•

On dissout 0,7 à 0,8mg de DPPH• dans 20ml de méthanol, pour obtenir une solution de concentration environ 10^{-4}M ($1,013 \cdot 10^{-4}\text{mol/L}$). La solution préparée est rapidement conservée à $+4^\circ\text{C}$ à l'abri de la lumière.

Pour déterminer la concentration analytique de la solution mère de DPPH, 1 ml de la solution de DPPH est placé dans une cuve en quartz, le maximum d'absorbance est mesuré à $\lambda = 515 \text{ nm}$. La concentration analytique de cette solution est déterminée selon la loi du Beer Lambert (Eq.8):

$$\boxed{[\text{DPPH}]_t = \frac{A_t^{515}}{l \times \varepsilon^{515}}} \quad (8)$$

Avec : $[\text{DPPH}]_t$: concentration en mol L^{-1} du radical DPPH• dans le méthanol à un instant t .

ε^{515} : coefficient d'absorption molaire à $515 \text{ nm} = 12\,500 \text{ mol L}^{-1} \text{ cm}^{-1}$

l : trajet optique en cm

Abs_t^{515} : Absorbance de la solution de DPPH à 515 nm

• Mise en évidence de l'activité antiradicalaire

A une prise d'essai de 2 mL de solution méthanolique DPPH, on procède à des ajouts de $10 \mu\text{L}$ de l'extrait méthanolique des fruits de *Pistacia* étudié. Après agitation et établissement de l'état stationnaire, l'absorbance est lue à une longueur d'onde $\lambda=515\text{nm}$.

• **Détermination du pourcentage d'inhibition du DPPH** •

A une prise d'essai de 2 mL de la solution mère de DPPH (C₁₈H₁₂N₅O₆) Sigma, pureté 90%), est ajouté un volume V de l'échantillon dissout dans le méthanol (Fluka, Riedel de Haen) (extraits méthanolique des fruits de lentisque étudiés).

Le mélange est rapidement agité puis la mesure de l'absorbance à $\lambda = 515$ nm est effectuée par Spectrophotométrie : UV-visible (SHIMADZU 1605) avec une cuve en quartz (HELLMA, de trajet optique $l = 1$ cm). L'absorbance est lue lorsque le mélange atteint un état d'équilibre dynamique. L'expérience est répétée pour des volumes croissants d'échantillons (2V, 3V...).

Le pourcentage d'inhibition du radical DPPH par l'antioxydant peut être calculé selon la formule accordée à Yen et ses collaborateurs (Yen et Duth, 1994) (Eq.9).

$$\% I = ((A_0 - A_t)/A_0) \times 100 \quad (9)$$

%I : pourcentage d'inhibition du radical DPPH par l'antioxydant

A₀ : L'absorbance de la solution mère de DPPH sans antioxydants à t = 0 min

A_t : L'absorbance à l'établissement de l'équilibre de la solution de DPPH[•] après addition d'un volume d'antioxydant

• **Détermination du pourcentage de DPPH[•] restant**

Le pourcentage de DPPH[•] restant après la réaction radicalaire conduite avec un volume d'antioxydant est déterminé par l'expression suivante (Eq. 10):

$$\% \text{ DPPH}_{\text{res}}^{\bullet} = (A_{\infty}/A_0) \times 100 \quad (10)$$

Avec : *A₀ : L'absorbance finale d'une solution témoin de DPPH[•]*

A_∞ : L'absorbance d'un témoin de DPPH[•] en présence d'un volume V d'antioxydant.

En représentant la courbe de pourcentage de DPPH[•]_{rest} en fonction du volume ajouté d'antioxydant, nous pouvons déterminer le V₅₀ de chaque échantillon (Volume nécessaire pour inhiber 50% du radical DPPH[•]). Toutes les séries d'expériences ont été reproduites trois fois. La couleur passe progressivement du violet au jaune, ceci s'explique par le passage du DPPH[•] au DPPH-H, ce qui prouve une activité anti-radicalaire pour l'échantillon étudié.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Bahorun T., Gressier B., Trotin F., Brunet C., Dine T., Luyckx M., Vasseur J., Cazin M., Cazin J.C. and Pinkas M. (1996). Oxygen species scavenging activity of phenolic extracts from hawthorn fresh plant organs and pharmaceutical preparations. *Arznei. Forschung*; 46: 1086-1089.
- Blois M.S. (1958). Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature*, 181(4617), 1199-1200.
- Brand-Williams W., Cuvelier M.E., & Berset C.L.W.T. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT-Food science and Technology*, 28(1), 25-30.
- DIN EN ISO 6245. (2003). Determination of ash. German Institute for Standardization e.v., Berlin: Beuth Verlag GmbH.
- DIN EN ISO 5983-1. (2005). Feed - determination of nitrogen content and Calculation of crude protein content – part 1: Kjeldahl method.
- Djeridane A., Yousfi M., Nadjemi B., Boutassouna D., Stocker P., & Vidal N. (2006). Antioxidant activity of some Algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds. *Food chemistry*, 97(4), 654-660.
- Huang D., Ou B., & Prior R.L. (2005). The chemistry behind antioxidant capacity assays. *Journal of agricultural and food chemistry*, 53(6), 1841-1856.
- Lamaison J. L., and Carnat A., (1991). “Teneurs en principaux flavono ? des des fleurs et des feuilles de *Crataegus monogyna* Jacq. et de *Crataegus laevigata* (Poiret) DC. En fonction de la période de végétation,” *Plantes Médicinales et Phytothérapie*, vol. 25, no. 1, pp. 12–16,.
- Ma J.F., Ryan P.R., & Delhaize E. (2001). Aluminium tolerance in plants and the complexing role of organic acids. *Trends in plant science*, 6(6), 273-278.
- Molyneux P. (2004). The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarinn J. Sci. Technol*, 26(2), 211-219.
- Popovici C., Saykova I., & Tylkowski B. (2010). Evaluation de l'activité antioxydant des composés phénoliques par la réactivité avec le radical libre DPPH.

- Singleton V.L., & Rossi J.A. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American journal of Enology and Viticulture*, 16(3), 144-158.
- Swain T., & Hillis W.E. (1959). The phenolic constituents of *Prunus domestica*. I.— The quantitative analysis of phenolic constituents. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 10(1), 63-68.
- Yen G.C., & Duh P.D. (1994). Scavenging effect of methanolic extracts of peanut hulls on free-radical and active-oxygen species. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 42(3), 629-632.
- Zeghad N. (2008). Etude du contenu polyphénolique de deux plantes médicinales d'intérêt économique (*Thymus vulgaris*, *Rosmarinus officinalis*) et évaluation de leur activité antibactérienne, Université Mentouri Constantine.
- Zhishen J., Mengcheng T., & Jianming W. (1999). The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. *Food chemistry*, 64(4), 555-559.

CHAPITRE III :
L' HUILE DU FRUIT DE PISTACIA
EXTRACTION ET ANALYSES
QUALITATIVES ET QUANTITATIVES

III-1- Extraction des huiles de *pistacia*

II-1-1-Extraction par solvants organique (Soxhlet)

La méthode d'extraction et la nature des solvants sont étroitement liées à la qualité et la quantité de l'huile. Pour extraire les huiles à partir d'un échantillon humide il est conseillé d'utiliser des mélanges de solvants polaires et hydrophiles par contre l'extraction des huiles à partir d'échantillons secs sont favorisés en utilisant les solvants apolaires comme l'éther de pétrole (Kim et al., 2002; Nickavar et al, 2003).. L'extraction liquide –solide par Soxhlet par les deux systèmes de solvants permet un excellent rendement.

Principe

L'extraction par Soxhlet est une méthode simple, classique de type solide-liquide et convenable permettant de répéter infiniment le cycle d'extraction avec un solvant jusqu'à l'épuisement complet du soluté dans la matrice végétale. Les avantages du Soxhlet sont plusieurs comme le contact rapide de l'échantillon avec le solvant, ce qui aide à déplacer l'équilibre de transfert vers le solvant. De même cette méthode ne nécessite pas de filtration après extraction. Le Soxhlet est indépendant de la matrice végétale à extraire.

Le montage d'extraction Liquide-Solide «Soxhlet» utilisé pour extraire les huiles apartir des fruits de Lentisque dans ce travail est constitué de trois parties essentielles comme le montre le schéma de la figure 43.

Un système de chauffage constitué du chauffe ballon et du ballon contenant le solvant et la matrice végétale ensemble. Le système de refroidissement sert a condensé le solvant évaporé contenant les huiles. Enfin, l'extracteur qui est un tube en verre fermé contenant la cartouche en cellulose qui contient a son tour le condensat, d'un tube siphon et d'un tube de distillation.

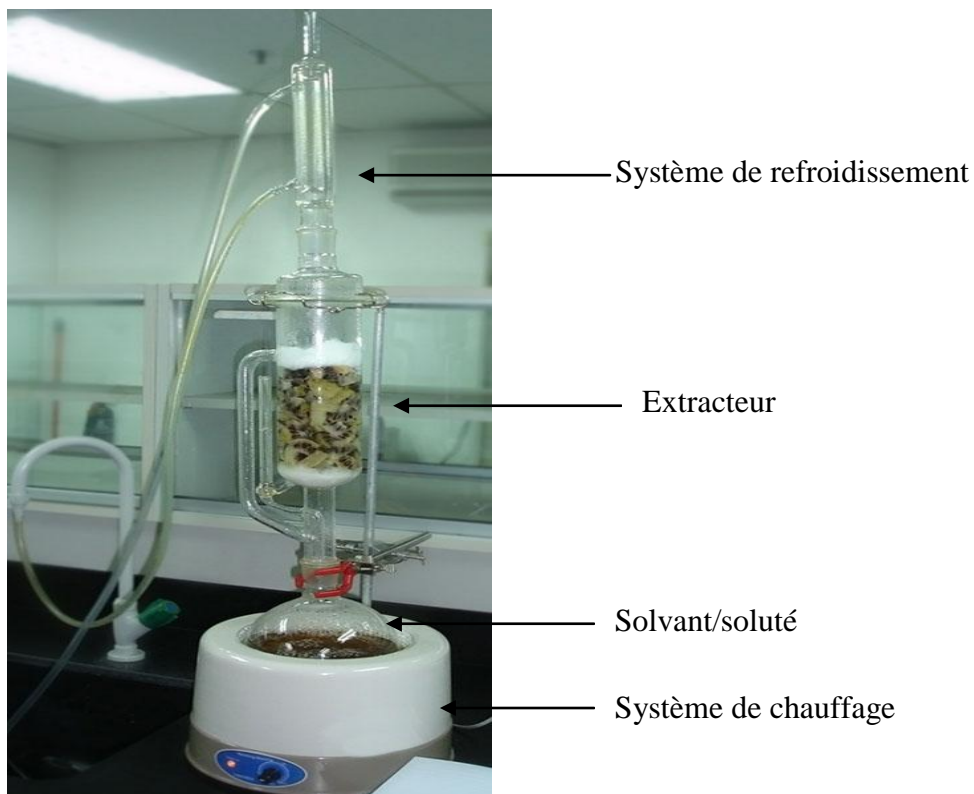


Figure 43. Montage d'extraction Liquide-Solide «Soxhlet» des huiles de lentisque

Protocole expérimental

Environ 10g des poudres de graines du lentisque pistachier moulues à l'aide d'un broyeur moulinex, sont introduites dans la cartouche en cellulose qui sera insérée dans l'extracteur au dessus duquel est placé un réfrigérant servant à liquéfier les vapeurs du solvant. 120 mL de méthanol sont introduits dans le ballon puis chauffés pour démarrer l'extraction. Après chauffage le solvant est évaporé puis condensé au niveau du réfrigérant, ils sont recueillis dans l'extracteur, cependant l'écoulement du contenu du cartouche se fait à partir du siphon dans le ballon et le cycle commence de nouveau. L'extraction est arrêtée lorsque le liquide entourant la cartouche devient clair, cette couleur indiquant que le solvant n'extrait plus rien du solide. Le temps de traitement est souvent plus de 6 heures.

III-1-2-Rendement en huile

L'huile brute du *Pistacia* ainsi obtenue est concentrée sous pression réduite par évaporateur rotatif afin d'éliminer les traces de solvant. L'extrait huileux obtenu est séché par le sulfate de sodium anhydre.

Le rendement des huiles est déterminé par rapport à la matière sèche et exprimé en pourcentage il est égal au rapport de la masse de l'huile extraite par la masse de la matière végétale (Eq.11).

$$R = \frac{m}{m_s} \times 100 \quad (11)$$

R : Rendement d'huile en %

m : masse de l'huile en g

m_s : masse de la matière végétale sèche

III-3-Determination des indices caracteristiques de l'huile de *pistacia*

Actuellement, les huiles font l'objet d'un engouement de la part du public. Cependant la toxicité potentielle de certaines huiles plaide en faveur d'un encadrement spécifique de l'utilisation de ces produits en cosmétique ou en alimentation. L'objectif de cette partie est de souligner l'importance des critères de qualité de l'huile de *Pistacia lentiscus* en vue de contribuer à l'évaluation du risque éventuel pour la sécurité des consommateurs des produits cosmétiques contenant l'huile de lentisque.

III-3-1-Détermination de l'indice de saponification

L'indice de saponification d'une substance est le nombre de milligrammes de KOH nécessaire pour saponifier un gramme de cette substance (IUPAC, 1987).

Protocole expérimental

Environ 1 g d'huile pesé dans un erlenmeyer que l'on ajoute à 10 ml de potasse alcoolique à 0,1N. On ferme le récipient avec un bouchon muni d'un long tube de verre et l'on chauffe sur un bain marie pendant une demi-heure. On le laisse ensuite refroidir et on l'ajoute 1 ml d'eau distillée. Si le mélange est trouble c'est qu'il y a excès d'ester non saponifié (l'ester est en effet soluble dans l'alcool mais insoluble dans l'eau). On refait le même protocole jusqu'à ce que le mélange devient clair et limpide suite aux ajouts de l'eau distillée. Un dosage à blanc dans les mêmes conditions opératoires est réalisé en utilisant les mêmes réactifs.

Dont le but de déterminer l'indice de saponification, aux mélanges contenant l'huile et le blanc on ajoute 3 gouttes de phénolphtaléine comme indicateur coloré et

ensuite ils seront titrés par une solution HCl à 0,1N. L'indice de saponification est donné par la relation suivante (Eq.12).

$$IS = \frac{M \times V_{PE} \times (1 - (V \div V_0))}{M_e} \quad (12)$$

Avec : M : masse molaire de KOH

V_{PE} : volume de la solution de KOH (10 ml)

V : volume de la solution d'acide chlorhydrique pour neutraliser KOH restant

V_0 : volume d'acide pour neutraliser le KOH du témoin

M_e : masse de l'échantillon

III-3-2-détermination de l'indice d'acide (I_A)

L'indice d'acide est le nombre de milligrammes d'hydroxyde de potassium nécessaire pour neutraliser l'acidité libre contenue dans un gramme de substance (AFNOR T 60 204, 1999).

Protocole expérimental

Une masse de 0,5 g de l'huile est introduite dans un ballon de 100 mL, et dissoute dans 20 mL d'éthanol à 95% (v/v) fraîchement neutralisé par une solution d'hydroxyde de potassium (0,1M) en présence de phénolphtaléine comme indicateur coloré. Un dosage à blanc dans les mêmes conditions opératoires est réalisé en utilisant les mêmes réactifs.

L'indice d'acidité (IA) exprimé en pourcentage d'acide libre est calculé à partir de relation suivante (Eq. 13):

$$IA = \frac{M \times N \times (V - V_0)}{M_e} \quad (13)$$

Avec : M : masse molaire de KOH

N : normalité de KOH à 0.1N

V : volume de la solution de KOH pour la prise d'essai (0,4ml)

V_0 : volume de la solution de KOH utilisé pour le témoin (0,2ml)

M_e : masse de l'échantillon

III-3-3-Détermination de l'indice d'ester (I_E)

L'indice d'ester d'une substance est le nombre de milligramme d'hydroxyde de potassium (KOH) nécessaire pour saponifier l'ester contenu dans un gramme de cette substance (AFNOR. NF T 75 104, 1999). L'indice d'ester est la différence entre l'indice de saponification et l'indice d'acide (Eq.14).

$$I_E = I_S - I_A \quad (14)$$

III-3-4-Détermination de l'indice d'iode (Ii)

L'indice d'iode est le nombre de grammes d'halogène, exprimé en iode, fixé par 100 grammes de produits dans les conditions données. (IUPAC, 1987). La méthode de Wijs a été retenue par AFNOR pour la détermination de l'indice d'iode dans les corps gras.

Protocole expérimental

La préparation de la solution d'iode 0,1N appelé réactif de HANUS est obtenue par dissolution de 19g ICl dans un litre d'acide acétique cristallisable et de tétrachlorure de carbone (70:30). Puis on ajoute 3mg de cristaux diode et on détermine la teneur de l'iode libre contenu dans cette solution d'iode. Cette solution servira pour la détermination de l'indice d'iode.

On pèse dans deux nacelles deux prises d'essais de masses 0,4g de l'huile fixe de fruits de *Pistacia*. Chaque prise d'essai est introduite dans un erlenmeyer que l'on ajoute 15 ml de CCl₄ dans chacun des 2 récipients et dans un troisième récipient servant comme témoin. A près dissolution des deux prises d'essais, 25 ml d'une solution ICl, sont ajoutés à tous les réceptiers que l'on agite soigneusement et on les garde à l'obscurité à 20°C pendant 90 minutes.

Au bout de ce temps, l'on ajoute 20ml de solution aqueuse de KI (10%) et 150 ml d'eau distillée. Les mélanges sont titrés par une solution de Na₂S₂O₃ (0,1N). Lorsque la coloration de la solution s'est atténuée jusqu'à être jaune claire, 1ml de dispersion aqueuse d'empois d'amidon sera ajouté et la solution devient alors noirâtre. L'on écoule goutte à goutte de la solution de Na₂S₂O₃ jusqu' au virage brusque du bleu à l'incolore, cela indique la fin de la réaction. L'indice d'iode est donné par la relation suivante (Eq. 15).

$$I = \frac{(V_0 - V) \times 12.69 \times N}{P} \quad (15)$$

Avec: V_0 : volume de thiosulfate de sodium pour titrer le témoin

V : volume de thiosulfate pour l'essai

N : normalité de thiosulfate de sodium

p : masse de la prise essai.

III-3-5-Détermination de l'indice de peroxyde

L'indice de peroxyde est le nombre de milligramme équivalent d'oxygène dans 1 Kg de corps gras (IUPAC, 1987).

Protocole expérimental

On introduit 10 mg de l'échantillon dans un bécher et on ajoute 0,5 ml de la solution KI saturée et 20 ml du mélange (CH₃COOH/CHCl₃ 3/2 (V/V)). On agite le mélange rigoureusement pendant 1 mn, puis on le laisse reposer pendant 5 mn à l'obscurité. Au bout de ce temps on ajoute un peu d'empois d'amidon et 60 ml d'eau distillée. Le mélange réactionnel est ensuite titré par une solution de thiosulfate de sodium à 0,01 N jusqu'à décoloration du noir clair à blanc neige. Un dosage à blanc est effectué dans les mêmes conditions opératoires. L'indice de peroxyde exprimé en (méq d'O₂/kg) est donné par la formule suivante (Eq.16):

$$I_p = (V - V') * 5 \quad (16)$$

Avec: *V*: volume, en ml, de thiosulfate

V': volume, en ml, de thiosulfate de l'essai à blanc

III-3-6-Détermination du teneur en insaponifiable

Principe

L'insaponifiable d'un corps gras est l'ensemble des composés extractibles par les solvants apolaires (hexane, éther éthylique) après traitement par une solution alcoolique de potasse.

Protocole expérimental

On prélève 5g de l'échantillon d'huile que l'on introduit dans un erlenmeyer de 250 ml contenant 50ml de KOH, après chauffage à 60°C durant une heure, 100 ml du mélange (50ml éthanol + 50 ml d'hexane), sont ajoutés. Deux phases sont alors obtenues l'une organique et l'autre aqueuse.

A la phase aqueuse, on ajoute une solution de HCl (30%) en testant chaque fois avec papier ruban de pH, jusqu'à atteindre la valeur de pH égal à 1.

Puis une extraction liquide-liquide avec 50 ml l'hexane fournit 2 phases organique et aqueuse. La phase organique est lavée à l'eau distillée goutte à goutte jusqu'à atteindre un pH neutre égal à 7 puis séchée et filtrée.

On ajoute à la solution, une pincée de sulfate de sodium anhydre pour éliminer les traces d'eau. Après une filtration le solvant est éliminé sous pression réduite au rotavap à température 30°C d'où l'obtention d'un résidu insaponifiable. Le calcul du pourcentage de l'insaponifiable est donné par la relation suivante (Eq.17).

$$\% \text{ Insaponifiable} = \frac{M_1}{M_2} \times 100 \quad (17)$$

Avec: M_1 : masse de l'insaponifiable
 M_2 : masse de la prise d'essai

III-3-7-Détermination du point de fusion

La détermination précise du point de fusion d'un corps permettra souvent d'identifier ce corps ou d'avoir une idée de son degré de pureté (les impuretés abaissent le point de fusion). Le point de fusion de la matière grasse est mesuré selon le protocole fourni par la norme AOCS opérant en tube capillaire fermé, immergé dans un bain d'eau, le point de fusion est la température à laquelle le corps gras glisse dans le tube (AOCS, 1989).

Protocole expérimental

On introduit au fond du tube capillaire une petite quantité d'huile, et à l'aide d'un anneau élastique on fixe le tube capillaire le long du thermomètre, de manière que la partie contenant la substance soit au niveau du réservoir de mercure du thermomètre. On introduit l'ensemble dans le large tube à essais contenant de l'eau. Le réservoir du thermomètre doit plonger entièrement dans l'eau mais à 1,5 cm au dessus du fond du tube. Avec une flamme, on chauffe le tube à essais contenant de l'eau tout en surveillant attentivement ce qui se passe dans le tube capillaire. Il suffit alors de noter la température qui est naturellement la température de fusion.

III-3-8-Détermination du point de goutte

Le point de goutte est la température à laquelle la première goutte de graisse fondante tombe du récipient.

Protocole expérimental

On remplit le récipient à cellule photoélectrique de modèle Mettler Toledo, (Max 400°C, Max 20°C/mn/DP70), avec de l'huile qui sera chauffé à un taux de 1°C/mn. La première goutte d'huile qui s'échappe par l'ouverture située au bas du récipient est détectée par la cellule photoélectrique et déclenche l'enregistrement de la température correspondante.

III-3-9-Détermination de l'indice de réfraction

L'indice de réfraction dépend de plusieurs facteurs à savoir la composition chimique du corps gras et de la température. Il est lié à l'insaturation et influencé par nombreux autres facteurs : acidité, degré de dilution, oxydation, polymérisation, existence de fonction secondaire sur les molécules et l'indice de réfraction croit avec l'insaturation ou la présence de fonctions secondaires sur les chaînes grasses.

La détermination de l'indice de réfraction de l'huile de lentisque est déterminé sur un réfractomètre de type ABBE (AFNOR, 1984 ; IUPAC, 1987). C'est une méthode rapide et simple pour suivre les opérations d'hydrogénation ou de fractionnement.

III-3-10-Détermination de la couleur LOVIBOND

Cette technique permet une évaluation des pigments qui sont responsables de la couleur d'huile. Le LOVIBOND est constitué par trois séries de verres jaunes, rouge, bleu. Chaque verre porte l'indication de son nombre d'unités LOVIBOND et ces indications sont additives (AOCS, 1989).

La détermination de la couleur de l'échantillon analysé est obtenue par comparaison entre la couleur de l'échantillon placé dans la cuve avec celle des verres à l'aide d'un monoculaire. Par superposition des verres des séries jaune, rouge, bleu nous obtenons une égalité des séries jaune, rouge, bleu dans le monoculaire, la couleur de l'échantillon doit correspondre au moins à l'une des couleurs prédéfinies.

III-4-Dosage de la vitamine E

La vitamine E est un anti-oxydant puissant, elle est exclusivement présente dans plusieurs huiles. La méthode utilisée pour doser la vitamine E consiste à l'extraire grâce à un solvant organique et à la doser selon la méthode de Rougereau au spectrophotomètre à 510nm (Rougereau, 1981).

Protocole expérimental

On introduit dans un ballon de 250 ml 6 g d'huile de *Pistacia* et 100 ml d'une solution méthanolique d'acide ascorbique préparée comme suit (0,5 g d'acide ascorbique + 4 ml d'eau + 20 ml d'éthanol + 76 ml de méthanol). Le mélange est porté à l'ébullition dans un bain marie pendant 20 mn. Au bout de ce temps 15 ml d'une solution de KOH à 70% sont ajoutés puis on remet au bain marie pendant 40 mn.

Deux extractions liquide-liquide successives du mélange avec 120 ml d'éther éthylique ont été effectuées dans une ampoule à décanter pour aboutir à deux phases organique et aqueuse.

La phase étherée est ensuite séchée par une quantité de Na_2SO_4 puis filtrée, le solvant est éliminé sous pression réduite. Le résidu est récupéré dans le n-heptane puis concentré jusqu'à l'obtention d'un volume de 1 ml auquel est ajouté 1 ml d'une solution de FeCl_3 dans l'éthanol (0,2%), puis elle est agitée jusqu'à l'apparition d'une couleur rouge prouvant l'existence de la vitamine E dans l'huile de fruit de *Pistacia Lentiscus*.

L'extrait de *Pistacia* finalement obtenu et en présence de 1 ml de n-heptane, 1 ml d'orthophénantroline et 1 ml de FeCl_3 , sont chauffés et transférés dans une fiole jaugée de 50 ml ou elle sera ajustée par l'heptane jusqu'au trait de jauge.

Une solution mère de la vitamine E de concentration 0,1mg/ml est préparée à partir de (0,1g) de vitamine E et 100 ml d'heptane et 20 ml de la solution orthophénantroline. Après agitation 5 ml de la solution FeCl_3 (0,2%) sont ajoutés puis chauffés et finalement ajustés par l'heptane jusqu'au trait de jauge d'une fiole de capacité 1000 ml, pour la dissolution totale. Puis on transfère le contenu du bécher dans un erlenmeyer de capacité 1000 ml et on complète à l'heptane jusqu'au trait de 1000 ml.

Une série de dilution de la vitamine a été préparée pour obtenir 5 solutions de concentrations 4.10^{-3} , 8.10^{-3} , 12.10^{-3} , 16.10^{-3} et 2.10^{-2} mg/ml.

La teneur en vitamine E dans l'huile de lentisque est déterminée par mesure de l'absorbance de l'extrait et le blanc (solution de réactif + heptane) à la longueur d'onde caractéristique $\lambda_{\max} = 510$ nm.

III-5 Analyses spectroscopiques et chromatographie des acides gras

Les résultats de l'étude des propriétés physicochimiques de (indices de qualité) de l'huile du lentisque ont fournis plusieurs informations intéressantes mais restent insuffisantes pour mieux comprendre l'efficacité thérapeutique du *Pistacia Lentiscus L.* Pour cela, nous voulons apporter d'autres informations sur la composition de l'huile et la diversité de structures chimique (qualité). Il serait alors intéressant de poursuivre les investigations sur ce fruit (huile) en se focalisant sur la quantification et l'identification des composés pour mieux les valoriser. Pour ce faire une étude analytique des huiles du pistachier par les techniques spectroscopiques et chromatographiques a été menée. Ces techniques permettent d'identifier les acides gras présents dans les extraits huileux des fruits de *Pistacia*.

II-5-1- Analyse par UV/visible

L'absorption par une espèce chimique donnée est fortement tributaire de la présence d'un chromophore ; c.à.d un groupe fonctionnel auquel on attribue un spectre d'absorption caractéristique dans les régions visibles ou UV. Ces chromophores comportent généralement des liaisons doubles ou triples, parmi lesquelles celles des groupes C=C, C≡C, nitro ou nitroso, azo, carbonyle ou thiocarbonyle. Un chromophore est conjugué avec d'autres groupes analogues ou différents, d'où l'apparition d'une nouvelle bande d'absorption de grande longueur d'onde.

Le spectrophotomètre UV-Visible utilisé est un Lambda 16 de Perkin Elmer double faisceau équipé d'une lampe deutérium et d'une lampe tungstène. Après avoir rempli deux cuves par n-hexane comme référence et l'huile dissoute dans l'hexane respectivement et les introduire dans le système UV –VIS, le mode scan (A-Z) est démarré pour éliminer le spectre de l'étalon et stabiliser la ligne de base.

Les spectres d'absorption ont été réalisés entre 200 et 800 nm sur les huiles de lentisque purs dissoutes dans le n-hexane pour des trajets optiques de 1 mm. La vitesse de balayage en longueur d'onde est de $60 \text{ nm}\cdot\text{min}^{-1}$ et la référence est une cuve vide.

II-5-2 Analyse des acides gras par Chromatographie à Phase Gazeuse (CPG)

La composition en acides gras de l'huile des fruits de lentisque est déterminée par chromatographie en phase gazeuse.

II-5-2- 1- Préparation des esters méthyliques des acides gras

L'analyse des esters méthyliques est menée suite à une transestérification à froid au moyen d'une solution méthanolique d'hydroxyde de sodium pour la préparation des esters méthyliques d'acide gras. (Méthode ISO 5509 : 2000, méthode IUPAC 2.301).

Dans une éprouvette à bouchon vissant de 5 ml, on pèse 0,1 g de l'échantillon d'huile extraite récemment au soxhlet. On ajoute 2 ml d'heptane et on agite. 0,2 ml de la solution méthanolique de sodium à 2N sont ajoutés au mélange. Suite à une agitation rigoureuse pendant 2min et après repos on décante la phase supérieure qui contient les esters méthyliques.

En parallèle on prépare un mélange de standards contenant 0,1 g de chacun des acides gras suivants : Acide palmitique, palmitoléique, oléique, linoléique, linoléinique et érucique dissouts dans 100ml d'heptane et un mélange détalons internes contenant 5 μ l du mélange de standards ainsi préparé et 0,1 g de palmitoléate de méthyle

La solution d'heptane contenant les esters méthyliques, la solution des standards ainsi que la solution des étalons internes sont prêtes à l'injection dans le chromatographe.

II-5-3 Analyse par chromatographie à phase gazeuse (CPG)

La composition et l'identification des acides gras contenus dans l'huile de *pistacia lentiscus* ont été réalisées à l'aide d'un chromatographe Perkin Elmer Autosystem GC, équipé de deux détecteurs à ionisation de flamme (FID) permettant la détection des composés, d'un injecteur diviseur et de deux colonnes (60 m x 0,22 mm

d.i.; épaisseur du film : 0,25 μm) respectivement polaire (Rtx-Wax, polyéthylène glycol) et apolaire (Rtx-1, polydiméthyl-siloxane).

Le gaz vecteur est l'hélium (1ml/min) avec une pression en tête de colonne de 25 psi. La température de l'injecteur est de 250°C et celle du détecteur de 280°C. La programmation de la température consiste en une élévation de 60 à 230°C, à 2°C/mm, puis en un palier de 45 mm à 230°C. L'injection se fait par mode split avec un rapport de division de 1/50. Le volume d'injection est de 0,2 μl . Pour chacun des composés, les indices de rétention polaires et apolaires sont calculés à partir des temps de rétention d'une gamme d'étalons.

II-5-3- Analyses spectroscopiques de l'huile de *Pistacia Lentiscus L.*

En complément de l'utilisation de la chromatographie CPG, un spectrophotomètre Infra Rouge et l'Infra Rouge à Transformé de Fourier sont également utilisés pour assurer plus de détails sur la composition de l'huile des fruits du *Pistacia Lentiscus*. Les spectrophotomètres infrarouge donnent des spectres par une méthode fondée sur l'interférométrie, comme sous l'appellation de spectroscopie infrarouge à transformée de fourrier, IRTF (FT-IR).

II-5-3- 1-Analyse de l'huile fixe de *Pistacia Lentiscus* par IR et FT/IR

Les analyses spectroscopiques des huiles des fruits du *Pistacia* ont été menées par un système spectroscopique (IR 200 FT – IR, marque Nicolet) en utilisant le bromure de potassium. Quelques gouttes d'huile de fruits du *Pistacia Lentiscus* sont déposées dans des cellules pour les liquides qui sont à leur tour introduites dans l'appareil. Les plaques sont transparentes à la lumière infrarouge et n'introduisent pas donc de bandes supplémentaires dans le spectre. Cependant, comme de nombreux sels sont très solubles dans l'eau, les échantillons et agents de lavage doivent être anhydres.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- AFNOR. (1984). Détermination de l'indice de réfraction NFT 60 212.
- AFNOR. (1999). Huiles essentielles - détermination de l'indice d'ester NFT 75 104.
- AFNOR. (1999). Huiles essentielles - détermination de l'indice d'acide NFT 60 204.
- Analytical Methods Committee. (1987). Recommendations for the definition, estimation and use of the detection limit. *Analyst*, 112(2), 199-204.
- Anar. (1974). Safety practices for atomic absorption spectrophotometers, International Laboratory, 63.
- AOCS Norme. (1989). Color wesson method Cc 13- 45.
- AOCS Norme. (1989). Melting point (capillary tube method) Cc 1-25.
- Bradstreet K.B. (1965). The Kjeldahl Method for Organic Nitrogen. New York and London.: Academic Press.
- Bouman's P.W.G.M. (1987). Inductively coupled plasma emission spectrometry, Parts 1 and 2, John Wiley, New York.
- Christie W.W. (1988). Equivalent chain-lengths of methyl ester derivatives of fatty acids on gas chromatography A reappraisal. *Journal of Chromatography A*, 447, 305-314.
- Griffiths P.R., & De Haseth J.A. (2007). *Fourier transform infrared spectrometry* (Vol. 171). John Wiley & Sons.
- Haswell S. (1991). Atomic absorption spectrometry, Elsevier, New York. (ed).
- Henneberg w, Stohmann F., Beiträge zur begründung einer rationellen fütterung der Wiederkäuer, a vol Brunswick, 1860- 1865, Schwetske, U, Sohn, éditeur.
- IUPAC. (1987). Determination of refractive index. German Institute for Standardization e.v., Berlin: Beuth Verlag GmbH. 2, 102.
- IUPAC. (1987). Standard methods for the analysis of oils, fats and derivatives.
- ISO. (1983): détermination de l'indice de réfraction 6 320.
- Kim N.S., & Lee D.S. (2002). Comparison of different extraction methods for the analysis of fragrances from *Lavandula* species by gas chromatography–mass spectrometry. *Journal of Chromatography a*, 982(1), 31-47.

- Lima J.F., Delerue-Matos C., & Vaz M.C. (1999). Flow-injection analysis of Kjeldahl nitrogen in milk and dairy products by potentiometric detection. *Analytica chimica acta*, 385(1), 437-441.
- Monseigny A. , Vigneron P.Y., levacq M., & Zwobada F. (1979). Rev. Fse Corps Gras , 26, 107.
- McWilliam I.G. (1983). The origin of the flame ionization detector. *Chromatographia*, 17(5), 241-243.
- Nickavar B., Mojab F., Javidnia K., & Amoli M.A.R. (2003). Chemical composition of the fixed and volatile oils of *Nigella sativa* L. from Iran. *Zeitschrift für Naturforschung C*, 58(9-10), 629-631.
- Perez-Jonran M.Y., Soldevila J., Salvador A., Pastor A., & De la Guardia M. (1998). *J. Anal. At. Spectrom.*, 13, 33.
- Peyronel D., Artaud J., Iatrides M.C., Rancurel P., & Chevalier J.L. (1984). Fatty acid and squalene compositions of mediterranean *Centrophorus* SPP egg and liver oils in relation to age. *Lipids*, 19(9), 643-648.
- Rougereau A. (1981). Techniques d'analyses et de contrôle de qualité dans l'industrie agro-alimentaire. Tech-doc. Lavoisier tr, 246-252.
- Stuart B. (1996). Modern infrared spectroscopy analytical chemistry by open learning, ACOLE-Wiley, Chichester.
- Thomson M. & Walsh J.N. (1989). A handbook of inductively coupled plasma spectrometry, 2nd edn, Blackie, Glasgow.

PARTIE III:
RÉSULTATS ET DISCUSSIONS

CHAPITRE I :
ETUDE ETHNOBOTANIQUE

Introduction

Nous exposons et discutons dans cette partie l'ensemble des résultats obtenus au cours de l'enquête ethnobotanique conduite dans cinq régions du Nord Est de l'Algérie (Oued -El-Hout, Oum-Theboul, Roum El-Souk, El-Aioun et Bougous).

La connaissance des propriétés et usages des plantes médicinales sont généralement acquises suite à une longue expérience transmise oralement d'une génération à une autre. Actuellement la connaissance de l'utilisation des plantes médicinales est en danger parce qu'elle n'est pas bien conservée.

III-1 Collecte des résultats

Nous savons que la plupart des habitants des zones rurales de l'Afrique du nord comptent beaucoup sur les plantes médicinales et aromatiques pour traiter leurs problèmes de santé et les utilisent en cosmétologie, en parfumerie et dans l'industrie alimentaire. Même dans les zones urbaines, les habitants se tournent vers de plantes médicinales pour se guérir. Pistacia l'une des plantes médicinales la plus utilisées en Algérie

L'enquête ethnobotanique a été basée sur une série de questions à l'aide d'une fiche questionnaire remplie par interrogation orale soumise aux habitants des cinq régions citées. L'entretien individuel a été effectué afin d'accueillir le maximum des informations sur les applications thérapeutiques et traditionnelles des différents tissus de *Pistacia lentiscus* (tige, feuille, racine, fruits) et de l'huile fixe extraite et des fruits

L'ensemble des résultats de l'enquête est répertorié dans les tableaux (11, 12, 13, 14 et 15) selon les pratiques thérapeutiques, l'utilisation des plantes ainsi que le traitement des maladies.

Tableau 11. Utilisation du *Pistacia lentiscus* par les habitants d'Oued El-Hout

Région Oued El-Hout			
Sexe et âge	Utilisation des différents tissus de la plante		
	Feuille	Fruit/huile	Racine
Masculin 48 ans	<ul style="list-style-type: none"> • Brûlures d'estomac • Pansement gastrique • Abscès de la gencive 	Brûlure Toux	-
Masculin 54 ans	<ul style="list-style-type: none"> • Maux d'estomac 	<ul style="list-style-type: none"> • Brûlure • Toux 	-
Masculin 55 ans *	<ul style="list-style-type: none"> • Maux d'estomac 	<ul style="list-style-type: none"> • Brûlure • Toux 	-
Masculin 58 ans *	<ul style="list-style-type: none"> • Colite • Pansement pour l'estomac 	<ul style="list-style-type: none"> • Contre la constipation • Brûlure 	-
Masculin 60 ans *	<ul style="list-style-type: none"> • Maux d'estomac • Infections du gros intestin 	<ul style="list-style-type: none"> • cicatrisante • Brûlure • Toux • Exéma 	-
Masculin 64 ans	-	<ul style="list-style-type: none"> • Brûlure • Soins des plaies • Toux 	-
Masculin 66 ans	-	<ul style="list-style-type: none"> • Brûlure 	-
Masculin 67 ans *	<ul style="list-style-type: none"> • Maux d'estomac 	<ul style="list-style-type: none"> • Brûlure • Maux d'estomac 	-
Masculin 68 ans *	-	-	-
Masculin 70 ans	cœur de la feuille : <ul style="list-style-type: none"> • Soins des plaies • Ecorchure • coupures cutanées 	<ul style="list-style-type: none"> • Brûlure (cicatrisante) 	-
Masculin 78 ans	-	<ul style="list-style-type: none"> • Calme la toux • Massage relaxant 	-
Masculin 83 ans *	<ul style="list-style-type: none"> • Maux d'estomac 	<ul style="list-style-type: none"> • Brûlure (cicatrisante) • Maux d'estomac • Calme la toux 	-
Masculin 84 ans *	<ul style="list-style-type: none"> • Tisane pour son action digestive et drainante au niveau de l'estomac 	<ul style="list-style-type: none"> • Brûlure (cicatrisante) • Maux d'estomac 	-
Masculin 87 ans *	-	<ul style="list-style-type: none"> • Brûlure 	-
Féminin 49 ans	<ul style="list-style-type: none"> • Maux d'estomac 	<ul style="list-style-type: none"> • Brûlure • Purifie la poitrine : 	

		<ul style="list-style-type: none"> • Débarrasser des substances qui irritent les voies respiratoires • Nettoie les voies pulmonaires • Réchauffe le corps 	–
Féminin 55 ans *	• Maux d'estomac	<ul style="list-style-type: none"> • Brûlure • Calme la toux 	–
Féminin 59 ans	-	<ul style="list-style-type: none"> • Bronchite • Maux de tête 	–
Féminin 60 ans *	<ul style="list-style-type: none"> • Maux d'estomac • Maux d'intestins 	<ul style="list-style-type: none"> • Brûlure (cicatrisante) • Calme la toux • Réduire le taux de cholestérol 	–
Féminin 66 ans *	<ul style="list-style-type: none"> • Maux d'intestins • douleurs abdominales 	<ul style="list-style-type: none"> • Savon pour l'exéma • Brûlure (cicatrisante) • Calme la toux 	–
Féminin 67 ans	• Maux d'estomac	<ul style="list-style-type: none"> • Brûlure (cicatrisante) • Calme la toux • Maux de tête 	• Colite
Féminin 80 ans *	<ul style="list-style-type: none"> • Maux d'estomac • Douleurs abdominales • Colite (même pour les animaux). 	• Calme la toux	–
Féminin 84 ans *	• Pansement gastrique	<ul style="list-style-type: none"> Brûlure (cicatrisante) Calme la toux Maux de gorge 	Tisane (Réchauffe le corps)

Tableau 12. Utilisation du *Pistacia lentiscus* par les habitants d'Oum-Theboul

Région Oum-Theboul			
Sexe et âge	Utilisation des différents tissus de la plante		
	Feuille	Fruit/huile	Racine
Masculin 38 ans	-	<ul style="list-style-type: none"> • Brûlure (cicatrisante) • Inflammations de la gorge • Toux 	-
Masculin 64 ans *	• Pansement pour l'estomac	<ul style="list-style-type: none"> • Brûlure (cicatrisante) • Nourriture 	-
Masculin 68 ans *	-	<ul style="list-style-type: none"> • Torsion • Massage relaxant • Nourrit les cheveux • Brûlure (cicatrisante) • Fortifie l'os 	-
Féminin 50 ans *	-	<ul style="list-style-type: none"> • Médicament 	-
Féminin 62 ans *	• Maux d'estomac et d'intestins	<ul style="list-style-type: none"> • Brûlure (cicatrisante) • Calme la toux 	-
Féminin 70 ans *	• Pansement pour l'estomac	<ul style="list-style-type: none"> • Maux de gorge • Brûlure • Toux 	-

Tableau 13. Utilisation du *Pistacia lentiscus* par les habitants de Roum El-Souk

Région Roum El-Souk			
Sexe et âge	Utilisation des différents tissus de la plante		
	Feuille	Fruit/huile	Racine
Masculin 50 ans	-	• Réchauffer le corps	-
Masculin 55 ans*	-	• Maux de gorge	-
Masculin 60 ans	-	-	-
Masculin 65 ans*	• Maux d'estomac	• Brûlure (cicatrisante)	-
Masculin 70 ans	-	-	-
Masculin 74 ans*	• Pansement pour l'estomac	• Brûlure • Cicatrisante	-
Féminin 57 ans *	• Maux d'estomac • Maux d'intestin • Colite d'estomac	• Brûlure • Cicatrisante • Brûlure • Maux d'estomac • Pansement pour l'estomac	-
Féminin 62 ans *	• Maux d'estomac • Pansement pour l'estomac et les intestins	• brûlure d'estomac	-
Féminin 70 ans	-	• Brûlure (cicatrisante)	-
Féminin 75 ans *	• Maux d'estomac • Pansement pour l'estomac et les intestins	• Brûlure • Effet cicatrisant	-

Tableau 14. Utilisation du *Pistacia lentiscus* par les habitants d'El-Aioun

Région El-Aioun			
Sexe et âge	Utilisation des différents tissus de la plante		
	Feuille	Fruit/huile	Racine
Masculin 41 ans	• Colite	• Brûlure (cicatrisante)	-
Masculin 47 ans*	-	• Brûlure (cicatrisante)	-
Masculin 50 ans	• Maux d'estomac	• Calme la toux • Brûlure (cicatrisante)	-
Masculin 65 ans*	-	• Brûlure (cicatrisante)	-
Masculin 78 ans*	• Pour soigner la constipation des animaux	• Brûlure	-
Féminin 49 ans	• Cendre des feuilles : Effet cicatrisant • Maux d'estomac	• Brûlure • Effet cicatrisant	-
Féminin 69 ans *	-	• Hémorroïdes	-

Tableau 15. Utilisation du *Pistacia lentiscus* par les habitants de Bougous

Région De Bougous			
Sexe et âge	Partie de la plante utilisée		
	Feuille	Fruit/huile	Racine
Masculin 50 ans	• Plaies • Maux d'estomac	• Brûlure • Cicatrisante • Calme la toux	-
Masculin 63 ans*	• L'érythème chez les bébés	• Huile + mûrier utilisé comme cicatrisante	-
Masculin 64 ans	• Blessures • Maux d'estomac	• Brûlure • cicatrisante • Toux	-
Masculin 67 ans*	-	• Toux • cicatrisante • Brûlure	-
Féminin 48 ans	-	• Brûlure • Toux	-
Féminin 68 ans *	• Cicatrisante (blessure suite à une circoncision)	• Brûlure • Toux	-

Avec: - : aucune information

* : individu analphabète

L'analyse des données de l'enquête présentées dans 5 tableaux nous permettent de déduire que l'utilisation des différents tissus (feuilles, fruits et racines) et huile du lentisque par les habitants des cinq régions étudiées dépend de l'âge, du sexe et du niveau d'étude de l'utilisateur.

III-2-Facteurs influençant l'utilisation du lentisque

III-2-1-Utilisation du *Pistacia lentiscus* selon l'âge

L'utilisation du *Pistacia lentiscus* par les habitants des cinq régions qui se trouvent au voisinage d'El Kala intéressent principalement les gens aux deux tranches d'âge entre 38 et 60 ans et supérieure à 60 ans. Dans l'histogramme de la figure 48 sont représentées les pourcentages d'utilisation des feuilles, fruits et racines par les trois tranches d'âges 18-37, 38-60 et >60 ans.

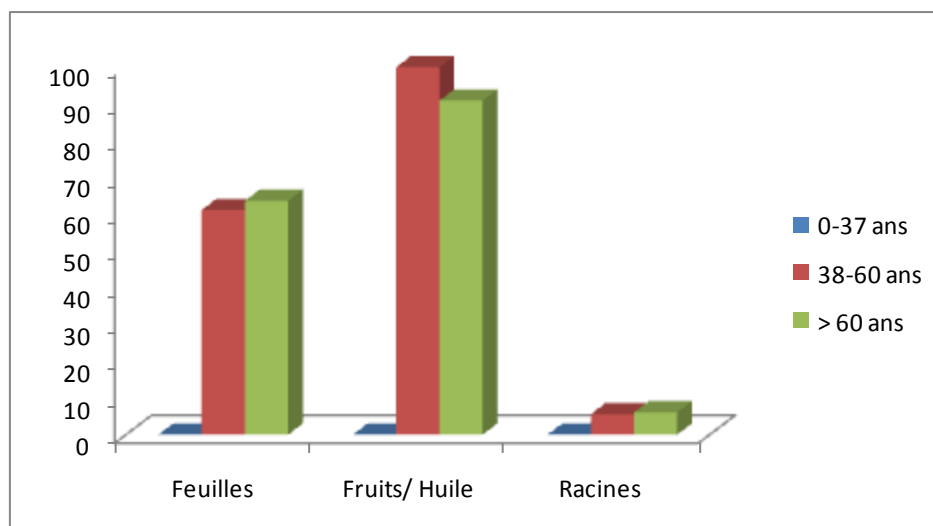


Figure 44. Utilisation des différents tissus du *Pistacia lentiscus* selon l'âge

Les résultats montrent que quelque soit la tranche d'âge et le sexe (39-60 et >60 ans) les huiles des fruits présentent le centre d'intérêt des habitants des régions étudiées. De nombreuses vertus thérapeutiques sont attribuées à l'huile de *Pistacia*. Notons que 100% de personnes âgées de 38-60 ans et 90% des dont l'âge dépasse 60 ans utilisent cette huile.

Dans cette enquête les habitants ayant l'âge de 18 à 37 ans n'ont pas d'informations sur l'utilisation des plantes médicinales et particulièrement le *pistacia*. Les jeunes ont tendance à ne plus croire en cette médecine traditionnelle.

III-2-2- Utilisation du *Pistacia lentiscus* selon le sexe

L'utilisation des plantes médicinales varie selon le sexe. En effet toutes les femmes auditionnées ont répondu positivement à l'utilisation des feuilles et des huiles. Seulement quelques unes utilisent les racines avec un pourcentage faible. Elles ont attribué plusieurs effets bénéfiques principalement aux huiles pour leurs utilisations comme remède oral ou à usage externe. Par contre 5,88% des hommes n'ont aucune idée sur l'utilisation d'aucuns tissus du lentisque comme remède.

Ces résultats sont en accord avec les travaux de Mehdioui & Kahouadji (2007) qui ont montré que les femmes sont plus détentrices du savoir phytothérapeutique traditionnel.

III-2-3-Utilisation du *Pistacia lentiscus* selon le niveau d'étude

Dans les cinq régions étudiées, la grande majorité (60,78%) des utilisateurs du lentisque comme plantes médicinales sont analphabètes. Ce pourcentage relativement élevé, est en corrélation directe avec le niveau d'études de la population locale.

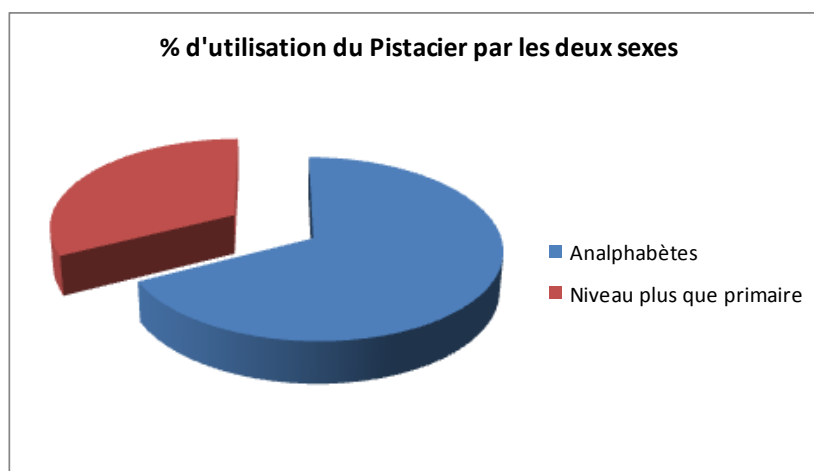


Figure 45. Pourcentages d'utilisation des différents tissus du lentisque par les deux sexes

III-3- Usage traditionnelle du *Pistacia lentiscus*

III-3-1- Feuilles

Le tableau 16 résume l'utilisation en médecine traditionnelle des feuilles de *Pistacia Lentiscus L* pour guérir certaines maladies.

Tableau 16. Pourcentages d'utilisation des feuilles.

Maladies	Pourcentage
Maux d'estomac	47,06
Colite d'estomac	11,76
Maux d'intestins	15,68
Plaies cicatrisant	17,64
Douleur et gonflement de la gencive	1,96
Ceux n'ayant aucune idée	37,45

D'après ce tableau nous pouvons déduire que les feuilles sont utilisées particulièrement comme remède de l'appareil digestif et principalement les maux d'estomac 47,06 %. Les feuilles servent pour le traitement des maux d'estomac (rendre épaisses les parois internes de l'estomac). Certaines personnes auditionnées ont mentionnés l'utilisation des feuilles pour soigner la colite des animaux (bovins, ovins et caprins).

17,64% de personnes emploient les feuilles comme cicatrisant pour soigner les plaies et les blessures. Le mode opératoire utilisé est de bruler les feuilles et les branches en les rendant sous forme de carbone pulvérisé puis la poudre obtenue est placée sur la plaie. Cette poudre est aussi utilisée pour traiter l'érythème chez les bébés.

1,98% des personnes auditionnées utilisent les feuilles pour traiter l'inflammation de la gencive en mâchant les feuilles récentes.

Nous remarquons un pourcentage important soit de 37,45% n'ayant aucune idée sur l'utilisation de la feuille dans le domaine médicinale.

III-3-2- Huile fixe de fruits

L'huile fixe des fruits du lentisque a montré un large domaine d'utilisation. En effet, environ une dizaine de pathologies est traité par l'huile fixe. Les résultats de l'enquête ethnobotanique sur l'huile des fruits sont consignés dans le tableau 17

Tableau 17. Pourcentages d'utilisation des huiles fixes de fruit.

Pathologies traitées	Pourcentage (%)
Brûlures	74,50
Maladie Toux et poitrine	43,14
Maladie tube diges Maux d'estomac, intestin	10,00
Maux de tête	6,00
Plaies et ecorure Décicatrisant	10,00
Excéma et gale	2,00
Infection de la gorge	6,00
Constipation	4,00
varices torsion (Massage)	6,00
Hémorroïdes	2,00
Aucune idée	8,00

Cette enquête a permis de repertorier un certain nombre de maladies traitées par l'huile fixe de *Pistacia Lentiscus*. Elle est principalement utilisée pour traiter les brûlures (74,50%) et les maladies des voies respiratoires principalement la toux sèche et les états de grippe (43,14%). Elle est très efficace pour les maux d'estomac et de l'ulcère (10%). Elle a aussi une propriété décicatrisante (10%), en étalant de l'huile sur la cicatrice à plusieurs reprises. Cette huile est aussi utilisée dans le domaine dermatologiques l'exéma et la gale (2%). Par ailleurs, 8% de la population auditionnée n'ont aucune idée sur l'utilisation de l'huile fixe de Lentisque Pistachier dans le domaine médicinal traditionnel.

III-3-3-Racines

On constate que seulement 2% de la population a une idée sur l'utilisation de la racine dans le domaine médicinale (Tab.18).

Tableau 18. Pourcentages d'utilisation des racines.

Maladie	Pourcentage
Pour colite de l'estomac (tisane)	2%
Aucune idée	98%

Conclusion

L'étude ethnobotanique menée auprès de la population des cinq régions au voisinage d'El Kala (Oued -El-Hout, Oum-Theboul, Roum El-Souk, El-Aioun et Bougous) nous a permis de dévoiler le large éventail de l'utilisation des feuilles et des l'huile des fruits du *Pistacia lentiscus*. Les feuilles sont utilisées dans le traitement de pathologies, notamment celles du tube digestif. Cette utilisation peut être expliquée par le fait qu'elles sont le siège de la photosynthèse et parfois du stockage des métabolites secondaires responsables des propriétés biologiques et antioxydantes de la plante (Bigendako-Polygenis and Lejoly, 1990).

Cette enquête nous a permis de répertorier un certain nombre de maladies traitées par *Pistacia lentiscus* L.

Il s'agit essentiellement d'affections du tube digestif (estomac, intestins...) de maladies dermatologiques (eczéma, plaies...) et bucodentaires (maladies de gencives).

Les résultats obtenus constituent une source d'informations très précieuse sur les fruits de pistacia pour les régions étudiées et pour la flore médicinale algérienne. Ils pourraient être une base de données pour les recherches ultérieures dans les domaines de la phytochimie et de la pharmacologie et dans le but de chercher de nouvelles molécules naturelles ayant des activités biologiques intéressantes.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Bigendako-Polygenis M.J., & Lejoly J. (1990). La pharmacopée traditionnelle au Burundi. *Pesticides et médicaments en santé animale. Pres Univ Namur*, 425-42.

PARTIE III :
RESULTATS ET DISCUSSIONS

CHAPITRE II :
ETUDE PHYSICOCHEMIE ET
PHYTOCHEMIE

Introduction

Nous exposons et discutons dans cette partie l'ensemble des résultats obtenus concernant les caractéristiques physico-chimiques et phytochimiques des fruits de lentisque afin d'évaluer ses activités biologiques déjà mentionnées dans l'enquête ethnobotanique; ces résultats pourraient être favorisés en recherche pharmacologique.

II-1-Etude physicochimique

II-1-1-Caractérisation du matériel végétal

Les résultats de l'analyse physico-chimique des fruits de *Pistacia Lentiscus* sont consignés dans le tableau 19 et représentés par la figure 46.

Tableau 19. Caractéristiques physicochimiques des fruits de *Pistacia Lentiscus*

Paramètres	Résultats
% Eau	9,95
% Matière organique	86,3
%Cendre	3,75
Matière grasse (Extraite à EP 40-60°)	64,50
% Protéines (Nx 6,25)	10,90
% Cellulose	22,70

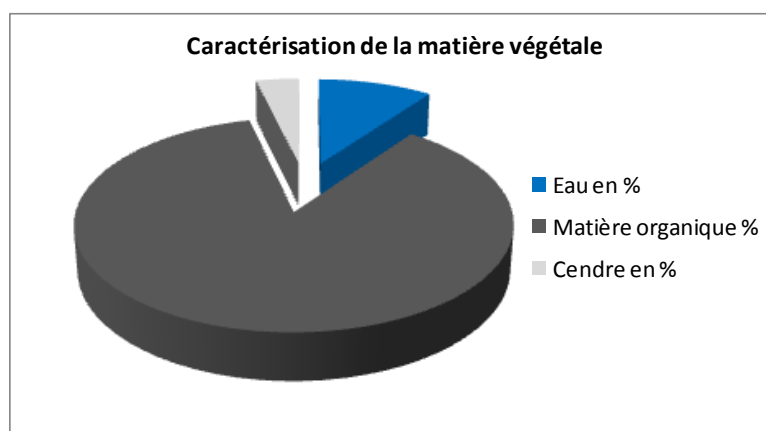


Figure 46. Caractérisation de la matière végétale

Lorsqu' un échantillon végétal est placé dans une étuve maintenue à 105°C pendant 24 heures, toute l'eau (H₂O) s'évapore et le résidu sec s'appelle la matière sèche (MS). La matière sèche contient de la matière organique et de la matière inorganique

ou minérale. Une plante contient généralement de 70 à 80% d'eau (c'est-à-dire, 20 à 30% de MS). Chez les plantes, le contenu minéral varie de moins de 1% à plus de 12%. D'après le tableau 19, nous constatons une teneur en eau faible, une teneur en cendre de l'ordre de 3,75%, et une forte teneur en matière grasse soit de 64,50 % qui est peut être due à la présence de triglycérides di-insaturés.

L'azote représente environ 2% de la matière sèche des végétaux, il entre dans la composition des protéines, acides nucléiques, coenzymes, phytohormones, métabolites secondaires. La faible teneur en protéines nous renseigne sur les faibles taux d'acides aminés présents dans les fruits.

La composition en cellulose (22,70) est très proche de celle trouvée par Mebirouk et al (2014) soit de (25,17) pour les feuilles de *Pistacia lentiscus* de la zone humide du nord-est algérien.

La cellulose n'est pas digérée par l'homme mais elle est utile au bon fonctionnement des intestins sous forme de fibres végétales. Ce qui explique ce que nous avons constaté dans les résultats de l'enquête ethnobotanique (chapitre 1) de cette partie que le *P. lentiscus* est consommé principalement pour le traitement des maladies de l'appareil digestif

II-1-2- Composition minérale

Quand on parle de la teneur en éléments minéraux d'une plante, il s'agit de la totalité des éléments présents, dosés après destruction complète de la matière organique. Les minéraux sont souvent classifiés en deux classes: les macro-minéraux (Calcium, Phosphore, Sodium, Magnésium, Potassium, Chlore, Soufre) et les microminéraux (Iode Cuivre, Fer, Cobalt Manganèse, Molybdène, Zinc et Sélénium.

L'analyse multi-élémentaire des fruits du lentisque a permis de déterminer les teneurs en Na et K ($\mu\text{g/g M.S}$) par SEA-F à double faisceaux (Tab. 20).

La quantification des autres métaux comme le Ca, Mg, Fe, Zn, P, Mn et Cu dans le fruit de *Pistacia Lentiscus* est déterminée par SEA-ICP. Les résultats sont regroupés dans le Tableau 21.

Tableau 20. Résultats des analyses du K et Na par SEA-F à double faisceaux et à étalon interne ($\mu\text{g/g M.S}$).

Element	K	Na
Teneur en ($\mu\text{g/g M.S}$)	8,081	92

Tableau 21. Analyse par SEA-ICP à balayage de quelques éléments métalliques dans le fruit de *Pistacia Lentiscus L.* ($\mu\text{g/g M.S}$).

Element	Ca	Mg	Fe	Zn	P	Mn	Cu
Teneur en ($\mu\text{g/g M.S}$)	2,283	1,301	17,3	15,4	10,359	30,5	12,3

Les résultats obtenus montrent que les fruits de *Pistacia Lentiscus L* sont riches particulièrement en fer ($17,3 \mu\text{g/g M.S}$), phosphore ($10,3 \mu\text{g/g M.S}$) et manganèse ($30,5 \mu\text{g/g M.S}$) Ces éléments protecteurs interviennent dans différents processus métaboliques et affectent la synthèse de diverses hormones. Nous observons aussi que l'élément Na possède la quantité la plus élevée ($92 \mu\text{g/g}$). Par contre le Mg et le Ca n'existe qu'à des quantités très basses par rapport aux autres éléments.

Selon [Kegley & Spears \(1994\)](#), la concentration en éléments minéraux des plantes varie fortement avec le type de sol, le climat et le stade de la maturité.

Ces éléments sont des nutriments dont l'organisme a besoin chaque jour en quantité importante (plusieurs centaines de milligrammes).

Le magnésium aide à lutter contre le stress, le calcium aurait un rôle protecteur du système cardiovasculaire. Quant à l'influx nerveux, il provient des variations de la concentration de certains ions comme les ions sodium, potassium...

Les oligoéléments sont également indispensables, mais en plus faible quantité (mille fois moins). Le fer intervient dans le transport de l'oxygène par le sang.

La richesse de cette plante particulièrement en sodium, potassium, fer et phosphore joue un rôle important et bénéfique pour la santé qui peut expliquer son utilisation thérapeutique

II-2-Etude phytochimique

Dans cette partie du chapitre nous présentons et discutons les résultats de la quantification des teneurs des différentes classes de polyphénols. La quantification par

spectrophotométrie (UV-visible) des principes actifs à partir des matrices végétales, suscitent beaucoup d'intérêt puisque les teneurs en ces molécules permettent de renseigner sur leurs pouvoirs antioxydant.

II-2-1-Tests Phytochimiques

Les tests phytochimiques consistent à détecter les classes de métabolites secondaires existants dans la pulpe mure de *Pistacia Lentiscus L.* par des réactions qualitatives de caractérisation. Ces réactions sont basées sur la précipitation ou la coloration par des réactifs spécifiques à chaque classe de composés. La coloration observée est provoquée par l'utilisation d'un réactif approprié est due généralement à la formation d'une conjugaison ou d'une instauration dans les molécules présentes dans l'extrait du végétal étudié. Les résultats des tests sont regroupés dans le tableau 22.

Tableau 22. Résultats des réactions de caractérisation dans le fruit *pistacia*.

Classes recherchées	Extrait
Alcaloïdes	-
Flavonoïdes	+
Tanins	++
Coumarines	-
Composés réducteurs	++

Avec : ++ Réaction moyennement positive

+ Réaction faiblement positive

- Réaction négative

Le screening phytochimique a permis de mettre en évidence la présence de composés phénoliques et des composés réducteurs dans les extraits des fruits *Pistacia Lentiscus*. De fortes teneurs en tanins et composés réducteurs ont été révélées, les flavonoïdes sont présents en quantités plus faibles. En revanche nous remarquons que les coumarines et les alcaloïdes sont absents dans les fruits du *Pistacia Lentiscus L.*

Cette étude a mis en évidence la présence de plusieurs composés chimiques réputées avoir des activités biologiques intéressantes et absence de composés

potentiellement dangereux tel que les alcaloïdes et les coumarines. Ces résultats sont en faveur de l'utilisation de cette plante dans le domaine médical.

II-2-2-Quantification des composés phénoliques

II-2-2-1-Dosage des polyphénols totaux

Le dosage des polyphénols totaux a été réalisé selon la méthode Folin-ciocalton en utilisant l'acide gallique comme standard, la teneur en composés phénoliques des extraits a été calculée à partir de la courbe d'étalonnage d'acide gallique (Fig. 47) et exprimée en milligramme d'équivalent d'acide gallique par g de la matière sèche (mg EAG/g. mg).

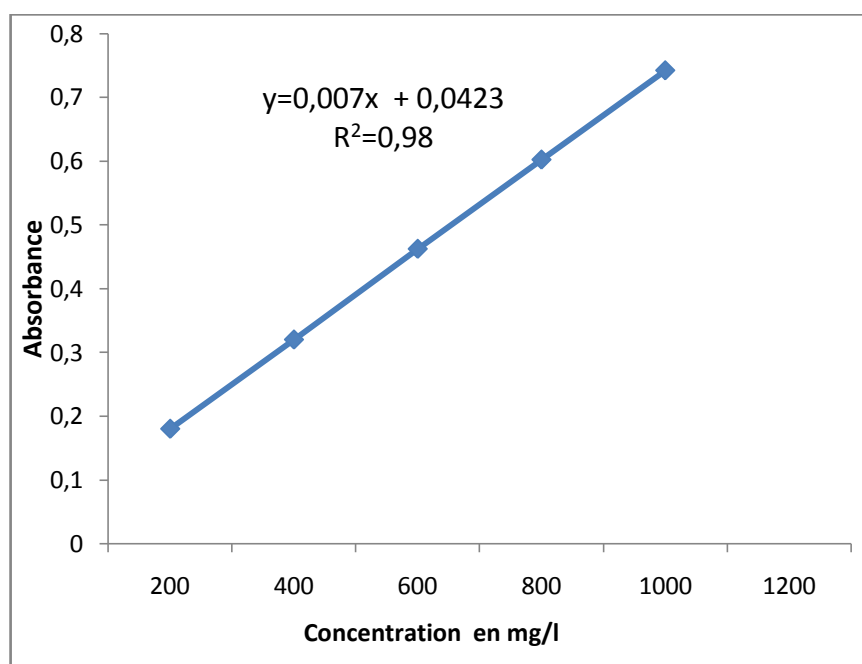


Figure 47. Courbe d'étalonnage de l'acide gallique (solution méthanolique).

Apartir de l'équation de régression $y = 0,007x + 0,0423$, du courbe de calibration de l'acide gallique, on calcule la concentration en polyphénols totaux des extraits du fruit de *Pistacia Lentiscus*.

Les résultats montrent une teneur moyenne en polyphénols totaux de $154,3466 \pm 2,5$ mg AG/g de matière sèche. Cette valeur est en accord avec la teneur obtenue par Piluzza G et al (2011) soit de 147.68 mg AG/g de matière sèche.

Les travaux de Rached (2009) réalisés sur les feuilles du *Pistacia Lentiscus L* montrent une variabilité des TP avec la date de récolte de la plante. Les valeurs varient entre 365,50 et 344,62 mg g⁻¹.

D'autres études (Bozorgi et al, 2013) réalisées sur cinq variétés *Pistacia* (*P. vera*, *P. atlantica*, *P. terebinthus*, *P. khinjuk*, and *P. lentiscus*) ont montré la richesse de cette plante en composés phénoliques.

II-2-2-2-Teneur en flavonoïdes

La teneur en flavonoïdes des extraits du fruit a été déterminée à partir de la courbe d'étalonnage de la catéchine (Fig. 48).

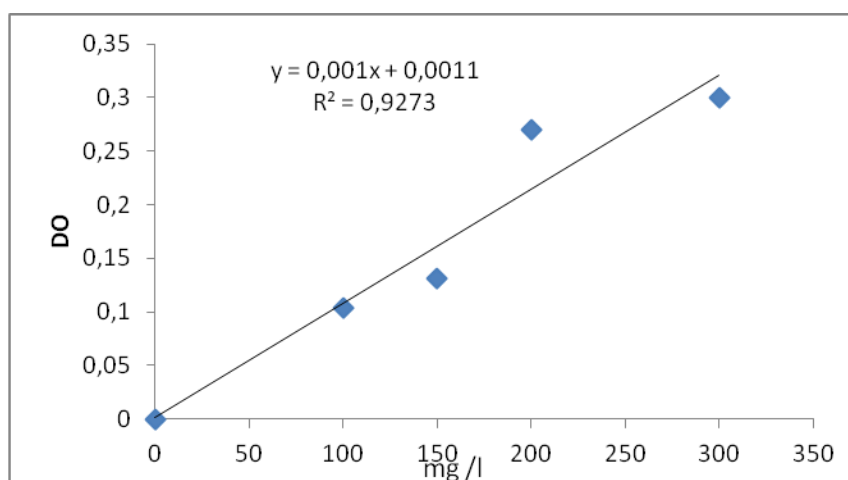


Figure 48. Courbe d'étalonnage de la catéchine (en solution méthanolique)

Les teneurs en flavonoïdes totaux dans les fruits du lentisque sont exprimées en milligramme d'équivalent de catéchine par gramme de la matière sèche (Tab.23).

Tableau 23. Teneurs en flavonoïdes totaux.

Essais	Absorbance (Abs)	Teneur (mgEcat/g MS)	Teneur moyenne (mgEcat/g MS)
1	0,08416	74,60	
2	0,08255	74,80	75,28±1,01
3	0,08391	76,44	

Les résultats montrent une teneur moyenne en flavonoïdes 75,28±0,23 mgEcat/gMS. Cette teneur permet d'expliquer l'utilisation de cette plante en médecine traditionnelle. En effet, les flavonoïdes sont largement connus par leurs activités

antivirales, antispasmodiques, antitumorales, anti agrégation plaquettaires, antiallergiques, hypocholestérolémiantes, antiinflammatoires, anti-hypertensives et antimicrobiennes (Das et al., 1994; Formica et Regelson, 1995; Kim et al., 2004).

II-2-2-3- Teneur en tanins

Les teneurs en tanins condensés dans les extraits du fruit du *Pistacia Lentiscus*, en triplicata, figurent dans le tableau 24.

Tableau 24. Teneur en tanins dans les extraits du fruit du *Pistacia Lentiscus*.

Essai	Absorbance (Abs)	Teneur (mgEcat/g MS)	Teneur moyenne (mgEcat/gMS)
1	0,0564	50,29	
2	0,0591	52,79	51,54± 1,25
3	0,0578	51,54	

Les tanins sont présents dans les fruits avec une teneur moyenne de 51,54± 1,25 mgEcat/gMS ce qui traduit sa richesse en ces composés. Plusieurs travaux de recherche ont constaté que les différents tissus de cet arbuste sont riches en tanins et ils ont noté une grande variation de la teneur en tanins. Nous citons à titre d'exemple les travaux de Mebirouk et al (2014) qui révèlent une teneur en tanins totaux de 74,62 g équivalent acide tannique/kg MS.

Kumar et Vaithyanathan (1990) rapportent des effets bénéfiques des tanins condensés dans les aliments des ruminants (< 50 g/Kg MS) du fait qu'ils favorisent l'absorption des acides aminés dans l'intestin grêle en les protégeant des effets du suc gastrique, ce qui explique l'utilisation des feuilles de cette plante pour traiter les problèmes gastriques chez les animaux.

Les tanins sont des substances anti-nutritionnelles qui sont impliquées dans les mécanismes de défense de la plante. Leur présence peut aussi traduire une réponse à un stress (rareté des pluies, qualité du sol...) défavorable qui est associé à une augmentation du niveau de tanins. C'est la raison pour laquelle nous constatons une grande variabilité des teneurs en tanins dans les fruits et feuilles du *Pistacia Lentiscus* selon la localisation géographique et l'année de récolte.

II-2-2-4- Teneur en anthocyanes

La teneur en anthocyanes dans les fruits a été déterminée selon la norme AFNOR, utilisant la relation suivante (Eq. 18):

$$TA \text{ (mg/100g)} = A \cdot 10^{-4} \cdot n / 850 \quad (18)$$

A : différence d'absorbance de la solution lue à 525 nm et à 595 nm

850 : coefficient cyanidol glucoside selon BUCKMIRE

n : coefficient de dilution qui est égal 2

Les anthocyanes sont présents dans le fruit *Pistacia Lentiscus* avec une quantité moyenne $TA_{\text{moy}} = 7,684 \pm 1,5 \text{ mg/100g}$.

Les Anthocyanes forment une classe des phytoconstituents principale responsable de différentes couleurs des plantes (Patel, 2013). Ils sont connus aussi par leurs effets préventifs contre le cancer (Wang, 2008).

Les anthocyanes améliorent l'élasticité et la densité de la peau. Les anthocyanes évitent aussi les rougeurs en renforçant la résistance des petits vaisseaux sanguins de l'épiderme. Les anthocyanes améliorent la vision nocturne et l'acuité visuelle (Wang, 2008).

Le tableau 25 résume les teneurs en polyphénols totaux (mgEAG/gMS), flavonoides (mg E cat/g MS) anthocyanes (mg/100g MS) et en acides phénoliques (mgEAG/gMS).

Tableau 25. Teneurs en composés phénoliques de fruits de *Pistacia Lentiscus L*

TP	TF	TA	TA	T _{ac} Ph
154,34±2,50	75,28±0,23	51,54±1,25	7,68±1,50	27,44±1,09

TP teneur en polyphénols totaux mg AG/g de matière sèche

TF teneur en flavonoides mg E cat/g MS

TA teneur en tannins mg E cat/g MS

TA teneur en anthocyanes mg/100g MS

Tac Ph teneur en acides phénols

II-3- Evaluation du pouvoir antiradicalaire par dpph

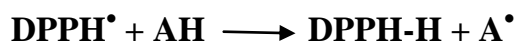
L'évaluation du pouvoir anti-radicalaire de l'extrait de fruit de *Pistacia Lentiscus L.* a été déterminé par deux méthodes : soit en déterminant le pourcentage d'inhibition du radical **DPPH[•]**, soit en mesurant le volume **V₅₀** qui correspond au volume efficace d'un extrait de concentration inconnue nécessaire pour inhiber 50%

des radicaux **DPPH[•]**. Ce **V₅₀** est déterminé à partir des courbes représentant la variation du **DPPH[•]** restant en fonction du volume d'extrait ajouté ce qui permet de déduire le **IC₅₀**.

Nous avons suivi par spectrophotomètre la disparition du radical **DPPH[•]** entre 400 et 750 nm en fonction du volume ajouté de l'extrait méthanolique du fruit.

Le maximum d'absorbance du DPPH dans le méthanol se situe à 517nm avec $\epsilon^{515} = 12500 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$.

Nous constatons que l'absorbance de la solution de DPPH[•] (C=1,013.10⁻⁴ M) diminue au fur et à mesure que nous ajoutons les extraits méthanoliques du fruit (Fig. 49). La couleur passe progressivement du violet au jaune : ceci s'explique par le passage du DPPH[•] au DPPH-H. En effet, lorsqu'une solution de DPPH est mélangée avec une substance qui peut donner un atome d'hydrogène, cela donne lieu à la forme réduite DPPH-H avec une perte de la couleur violette.



La décoloration sera directement proportionnelle au nombre de protons captés et peut être suivie par la lecture de l'absorbance du milieu réactionnel à 517 nm. Elle permet d'évaluer le taux de réduction du DPPH et fournit donc un moyen pratique pour mesurer le pouvoir antioxydant des extraits étudiés

L'évolution des spectres d'absorption de l'extrait de *Pistacia Lentiscus* est représentée dans la figure 49.

Le tableau 26 représente les pourcentages d'inhibition et du DPPH restant.

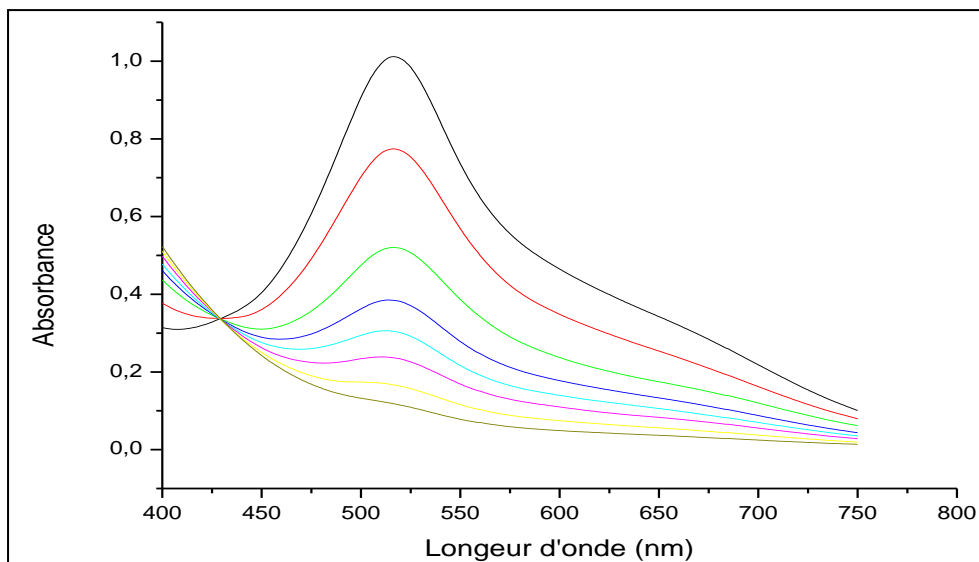


Figure 49. Evolution des spectres d'absorption de l'extrait.

Tableau 26. Pourcentages d'inhibition et DPPHrest.

Solutions	Absorbance	% inhibition	% DPPHrest
DPPH	$A_0 = 1,0089$		
DPPH +5 μl	$A_t = 0,8512$	15,56	84,438
DPPH +5 μl	$A_t = 0,719$	28,734	71,65
DPPH +5 μl	$A_t = 0,5192$	48,538	51,462
DPPH +5 μl	$A_t = 0,3224$	62,097	37,903
DPPH +5 μl	$A_t = 0,3021$	70,056	29,943
DPPH +5 μl	$A_t = 0,2344$	76,766	23,239
DPPH +5 μl	$A_t = 0,1645$	83,695	16,805
DPPH +5 μl	$A_t = 0,1157$	88,532	11,468
DPPH +5 μl	$A_t = 0,0826$	91,80	8,19

La courbe (Fig. 50) représentant la variation du % DPPH• restant en fonction du volume de l'extrait des fruits de Pistacia permet de déduire le V_{50} et le IC_{50} .

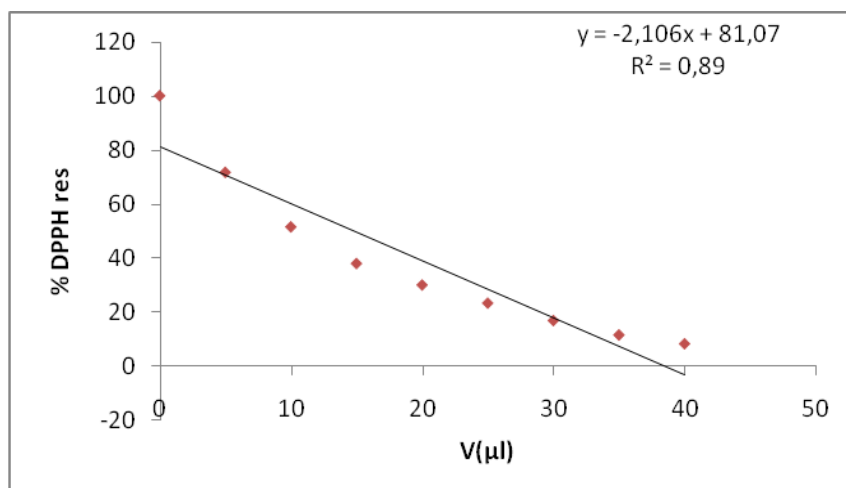


Figure 50. Variation du % DPPH• restant en fonction du volume de l'extrait de *Pistacia*

Avec

$$V_{50} = 14,75 \mu\text{l}$$

La concentration inhibitrice IC_{50} correspondant au volume V_{50} (14,75 μl) mentionné ci-dessus, est de $14,75 \cdot 10^{-3}$ mg/l.

Le résultat obtenu par ce test montre que l'extrait méthanolique des fruits présente un effet antioxydant remarquable vis à vis du radical DPPH. Ce pouvoir anti-oxydant peut être attribué aux composés phénoliques présents dans les fruits de *Pistacia lentiscus*, et qui sont connus comme substances antioxydantes ayant la capacité de piéger les espèces radicalaires et les formes réactives de l'oxygène (Kelly et al., 2002). Les travaux de longo et ses collaborateurs (2008) ont montré que les anthocyanines présentes dans les fruits de *Pistacia lentiscus* piègent à 92 % le radical DPPH• pour une concentration de 0,005 mg/ml.

Conclusion

La quantification par spectrophotométrie (UV-visible) des principes actifs à partir des matrices végétales, suscite beaucoup d'intérêt puisque les teneurs en ces molécules permettent de renseigner sur leurs pouvoirs antioxydants. Les teneurs des polyphénols dépendent de plusieurs paramètres tels que le tissu analysé, l'espèce étudiée et les conditions des méthodes d'extractions.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Bozorgi M., Memariani Z., Mobli M., Salehi Surmaghi M. H., Shams-Ardekani M. R., & Rahimi R. (2013). Five Pistacia species (*P. vera*, *P. atlantica*, *P. terebinthus*, *P. khinjuk*, and *P. lentiscus*): a review of their traditional uses, phytochemistry, and pharmacology. *The Scientific World Journal*.
- Cushnie T. T., & Lamb A.J. (2005). Antimicrobial activity of flavonoids. *International journal of antimicrobial agents*, 26(5), 343-356.
- Das A., Wang J. H., & Lien E.J. (1994). Carcinogenicity, mutagenicity and cancer preventing activities of flavonoids: a structure-system-activity relationship (SSAR) analysis. In *Progress in Drug Research/Fortschritte der Arzneimittelforschung/Progrès des recherches pharmaceutiques* (pp. 133-166). Birkhäuser Basel.
- Formica J.V., & Regelson W. (1995). Review of the biology of quercetin and related bioflavonoids. *Food and chemical toxicology*, 33(12), 1061-1080.
- Heim K.E., Tagliaferro A.R., & Bobilya D.J. (2002). Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity relationships. *The Journal of nutritional biochemistry*, 13(10), 572-584.
- Kegley E.B., and Spears J.W., (1994). Bioavailability of feed-grade copper sources (oxide, sulfate, or lysine) in growing cattle, *J. Anim. Sci.*, 72 (10) : 2728-2734
- Kim H.P., Son K.H., Chang H.W., & Kang S.S. (2004). Anti-inflammatory plant flavonoids and cellular action mechanisms. *Journal of pharmacological sciences*, 96(3), 229-245.
- Longo L., Platini F., Scardino A., Alabiso O., Vasapollo G., & Tessitore L. (2008). Autophagy inhibition enhances anthocyanin-induced apoptosis in hepatocellular carcinoma. *Molecular cancer therapeutics*, 7(8), 2476-2485.
- Mebirouk-Boudechiche L., Cherif M., Boudechiche L., & Sammar F. (2014). Teneurs en composés primaires et secondaires des feuilles d'arbustes fourragers de la région humide d'Algérie. *Revue Méd. Vét*, 165, 11-12.
- Patel K., Jain A., & Patel D.K. (2013). Medicinal significance, pharmacological activities, and analytical aspects of anthocyanidins 'delphinidin': A concise report. *Journal of Acute Disease*, 2(3), 169-178.

- Piluzza G., & Bullitta S. (2011). Correlations between phenolic content and antioxidant properties in twenty-four plant species of traditional ethnoveterinary use in the Mediterranean area. *Pharmaceutical biology*, 49(3), 240-247.
- Rached W. (2009). Evaluation du potentiel antioxydant de plantes médicinales et analyse phytochimique. Thèse de l'Université d'Oran –es-sania.
- Spear J.W. (1994). Mineral in forages. In: Forage quality, Evaluation and utilization. Faher J.R. (Eds.), National Conference on Forage Quality, Lincoln. 281- 317.
- Wang L.S., & Stoner G.D. (2008). Anthocyanins and their role in cancer prevention. *Cancer letters*, 269(2), 281-290.

PARTIE III:
RESULTATS ET DISCUSSIONS- ANALYSES
QUANTITATIVE ET QUALITATIVE DES
HUILES DE PISTACIA

Introduction

Dans cette partie, nous présentons et discutons les différents résultats des analyses quantitatives et qualitatives des huiles extraites à partir de des fruits du *Pistacia Lentiscus* par soxhlet.

L'étude analytique de l'huile du *Pistacia Lentiscus* a concerné d'une part les caractéristiques organoleptiques, à savoir l'aspect et la couleur de loviband, d'autre part les caractéristiques chimiques comme la densité, le point de fusion, le point de goutte et la mesure des indices de qualité. Le troisième volet concerne le profil chromatographique en acides gras et vitaminiques.

III-1-Propriétés organoleptiques et physico-chimiques de l'huile du lentisque

Les propriétés organoleptiques constituent un moyen de vérification et de contrôle de la qualité de l'huile. A l'issue de l'extraction par soxhlet, l'huile du *Pistacia Lentiscus* obtenue est visqueuse de couleur jaune et dont l'odeur est herbacée et épicée. Les paramètres organoleptiques des huiles analysés sont en accord avec ceux des normes AFNOR. Les résultats de caractérisation organoleptique sont rapportés dans le tableau 27.

Tableau 27. Caractéristiques organoleptiques de l'huile du Lentisque

Caractéristiques organoleptiques de l'huile du Lentisque	
Aspect	Visqueux
Couleur	Jaune
Odeur	Odeur fraîche et herbacée épicée

La caractérisation physico-chimique de la matière grasse du lentisque est résumée dans le tableau 28. Les fruits du lentisque sont riches en huile avec un rendement élevé soit de 64,5%. Cette matrice est considérée comme l'un des végétaux riches en huile tel que l'olivier, le tournesol, le palmier à huile...

Tableau 28. Caractéristiques physicochimiques de l'huile de lentisque ation

Paramètres	Résultats
Rendement %	64,5
n_D^{40}	1,4395
Indice d'iode (Wijs)	69,64
Indice acide mg KOH/g norme AOCS	2,345
Indice de peroxyde mg/kg	4,2
Point de fusion °c	2,7
Point de goutte °c	23,4
Indice saponification mgKOH/g norme T 60206	192,67
% insaponifiable m/m	0,75

- **Indice de réfraction et indice d'iode**

L'indice de réfraction dépend, comme la densité, de la composition chimique de l'huile et de la température. Il croît avec l'insaturation et la présence sur les chaînes grasses de fonctions secondaires. D'après le tableau 28, l'indice de réfraction de l'huile de lentisque est de 1,4395 qui est proche de celui d'argan connu par sa large utilisation dans l'industrie cosmétique. Cet indice est proche de celui mesuré par Boukeloua Ahmed (2009) sur l'huile du lentisque du tell algérien soit de 1,468. Ces valeurs sont proches de celles rapportées par Karleskind A. (1992), concernant les huiles d'olive, de palme, et d'avocat, qui sont respectivement (1,468-1,470) et (1,453-1,458) et (1,465-1,474). L'indice de réfraction renseigne la longueur moyenne des chaînes d'acides gras puisque il croît avec l'insaturation et la longueur des chaînes d'acides gras.

Le degré d'insaturation global d'une huile végétale est déterminé en mesurant son indice d'iode. Plus celui-ci est élevé, plus l'huile contient des AG insaturés. L'indice d'iode de l'huile du *Pistacia* est de l'ordre 70 g d'iode/100g d'huile cette valeur est presque deux fois supérieure à celle obtenue par Bouteldj et Kadjoudj (2013) (43,79 et 44,76 g d'iode/100g d'huile).

L'indice d'iode de l'huile du lentisque obtenue permet de classer cette huile en huiles non siccatives comme les huiles d'olive, d'arachide et d'amande avec un indice $I_i < 100$ fixée par la norme du Codex Alimentarius.

Ces deux indices, indice de réfraction et d'iode sont d'importants critères d'identification des huiles. Selon Wolff J. P. (1968). Il existe un rapport étroit entre l'indice d'iode et l'indice de réfraction. Pour une huile ni oxydée ni polymérisée, les deux indices varient dans le même sens. Cela permet de classer les huiles en huiles non siccatives ($I_i < 100$ et $1,467 < IR < 1,472$), en huiles semi-siccatives ($100 < I_i < 130$ et $1,470 < IR < 1,478$) et en huiles siccatives ($I_i > 130$ et $1,481 < IR < 1,482$).

• **Indice d'acide et Indice de peroxyde**

L'indice d'acide qui mesure la quantité d'acides gras libres résultant des réactions hydrolytiques des triglycérides et l'indice de peroxyde sont deux critères de qualité permettant de rendre compte de l'état de conservation d'une huile.

L'huile du lentisque présente un faible indice d'acide soit de 2,345 mg KOH/g d'huile. Charef et ses collaborateurs en 2008 reportent des valeurs d'acide de l'huile de lentisque cultivé en Algérie deux fois plus grande soit de 5,891 à 6,203 mg KOH/g d'huile. Un indice d'acide élevé peut être attribué à une mauvaise conservation des fruits.

La valeur trouvée dans cette étude est inférieure à celle de plusieurs huiles végétales comme l'huile de sésame ($IA = 2,60$), d'arachide ($IA = 3,05$), de palmiste ($IA = 4,49$) et l'huile de palme ($IA = 29,17$).

Les résultats obtenus pour la teneur en peroxyde sont représentés dans le tableau 28. L'indice de peroxyde est une grandeur qui permet d'apprécier le degré d'oxydation d'une huile. La valeur de l'indice de peroxyde obtenue pour l'huile analysée (4,2 mg/kg d'huile) est inférieure aux normes du codex alimentarius qui fixe la valeur inférieure à 10 mEq de peroxydes/kg d'huile.

La bibliographie mentionne que l'indice de peroxyde (IP) de certaines huiles végétales oscillent entre 10,96 et 18,7 méq O₂ actif / kg d'huile.

• Point de goutte et point de fusion

En examinant le tableau 28 l'huile du lentisque qui présente un point de goutte 23,4°C proche de la température ambiante, une telle valeur obéie aux normes de l'AACS (American Oil Chemists' Society) qui exige la fusion de l'échantillon à des températures inférieures à l'ambiante.

L'huile du lentisque présente un point de fusion faible soit de 2,7 degrés valeur plus faible que plusieurs huiles végétales comme l'huile d'arachide 3°C, huile d'olive 5-7°C, huile de coco 23°C.... Le point de fusion d'un corps représente la température à laquelle coexistent son état solide et son état liquide. Lorsqu'une substance solide est chauffée, elle augmente de température jusqu'à atteindre le point de fusion. Une fois au point de fusion, la température reste constante tant que la substance n'est pas passée entièrement sous phase liquide.

• Indice de saponification et pourcentage en insaponifiable

L'huile du *Pistacia Lentiscus* présente un indice de saponification de 192, 67 mgKOH/g d'huile valeur légèrement inférieure à celle trouvée par Boukeloua et ses collaborateurs qui mentionnent que l'huile du lentisque cultivée en Algérie présente un indice de saponification compris entre 197,75 à 213,45 mgKOH/g d'huile Bouteldj et Kadjoudj (2013). Par contre Charef et al (2008) ont révélé un faible indice par rapport à celui de la présente étude en effet l'huile extraite à partir des fruits noirs de *Pistacia lentiscus* présente un indice de $147,8 \pm 0,2$ mgKOH/g d'huile tandis que pour les fruits rouge, cet indice est de $154,6 \pm 0,1$ mgKOH/g d'huile.

La variation de l'indice de saponification peut être due aux facteurs pseudoclimatiques et le stade de maturité. Mais généralement cet indice est comparable avec les indices d'autres huiles végétales comme l'huile d'olive, de palme et d'avocat qui ont respectivement des indices de saponification de 184 à 196, de 190 à 205 et de 177 à 198 mgKOH/g d'huile (Karleskind A., 1992).

III-2- Quantification de la vitamine E dans l'huile du *Pistacia*

La teneur en vitamine E dans la fraction lipidique des fruits de *Pistacia Lentiscus* est déterminée colorométriquement dans la région du visible entre 400 – 700

nm pour les substances colorées tout en utilisant une courbe d'étalonnage d'une solution mère de l' α -tocophérol comme standard de concentration initiale de 210^{-2} mg/ml les mesures sont effectuées à $\lambda_{\max} = 510$ nm (Fig.51).

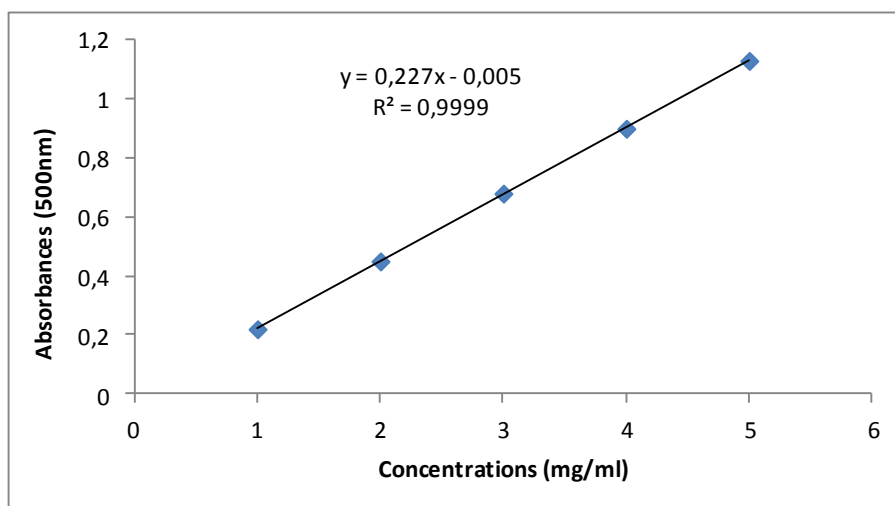


Figure 51. Courbe d'étalonnage de la vitamine E dans un milieu heptanique de FeCl_3 .

A partir de la relation $y=0,227x-0,005$ du courbe de calibration du tocophérol $\text{Abs}=f(C)$ est déduite la concentration en vitamine E dans l'huile du lentisque soit de 6,6mg/100g d'huile. Cette concentration s'avère importante par comparaison avec l'huile de *R. heudelotii* ayant une teneur basse soit 0,39 mg/g d'huile.

La vitamine E (α -tocophérol) assure les propriétés vitaminiques et antioxydantes des huiles. Le rôle important et la fonction la plus universellement reconnue de la vitamine E est sa fonction antioxydante qui protège les acides gras polyinsaturés, mais également les protéines membranaires (en particulier leurs fonctions thiols). Contre l'oxydation par les radicaux libres.

D'autre part, la teneur trouvée en vitamine E dans l'échantillon s'avère faible en comparaison avec d'autres huiles végétales à savoir l'huile de tournesol qui présente une concentration de 94 mg par 100g, l'huile brute de soja renferme une teneur comprise entre 80 et 167 mg par 100 g.

III-3- Couleur LOVIBOND

Le colorimètre visuel permet la mesure des huiles végétales selon les unités Lovibond. La couleur est déterminée en comparant la lumière transmise à travers l'échantillon et celle transmise à travers les standards de couleur Lovibond, une série de verres colorés calibrés dans lequel chacune des couleurs de base rouge, jaune, bleu en partant de teintes très pales jusqu'à des teintes très sombres. Les huiles sont mesurées soit par la lumière transmise quand elles sont en fusion, soit par la lumière réfléchie quand elles sont à l'état solide. Les résultats de mesure sur l'huile de *Pistacia lentiscus* pour l'évaluation de la quantité des pigments, donnés par l'équation 19, sont consignés dans le tableau 29.

$$C = 70,7j + 1,7r + 0,3b \quad (19)$$

Tableau 29. Couleurs complémentaires et couleur lovibond

Couleurs complémentaire	Longueurs d'onde (nm)	Couleur lovibond
Jaune	345-480	Bleu= 0,3
Rouge	490-500	Rouge=1,7
Bleu	580-595	Jaune=70,7

Avec *j*: jaune ; *r*: rouge et *b*: bleu

Les longueurs d'ondes sont transformées en unités LOVIBOND. Nous observons dans le cas de l'huile de *Pistacia Lentiscus* que la couleur dominante est la couleur jaune et que l'origine de l'huile est due à l'abondance des caroténoïdes. Cette teneur se trouve dans les normes ce qui confirme la fidélité de la méthode d'analyse.

III-4- Composition chimique de l'huile de lentisque par CPG

Les acides gras sont considérés comme un code génétique des huiles, ce sont les constituants majoritaires de ces dernières avec lesquels on peut identifier leurs natures. L'analyse des résultats des esters méthyliques relatifs aux acides gras de l'huile de lentisque étudié montre la présence de cinq acides gras (Tab.31).

Les acides gras figurant dans les chromatogrammes des figures 52 sont identifiés à partir de la comparaison des temps de rétention et des caractéristiques des acides avec ceux des standards et des esters méthyliniques.

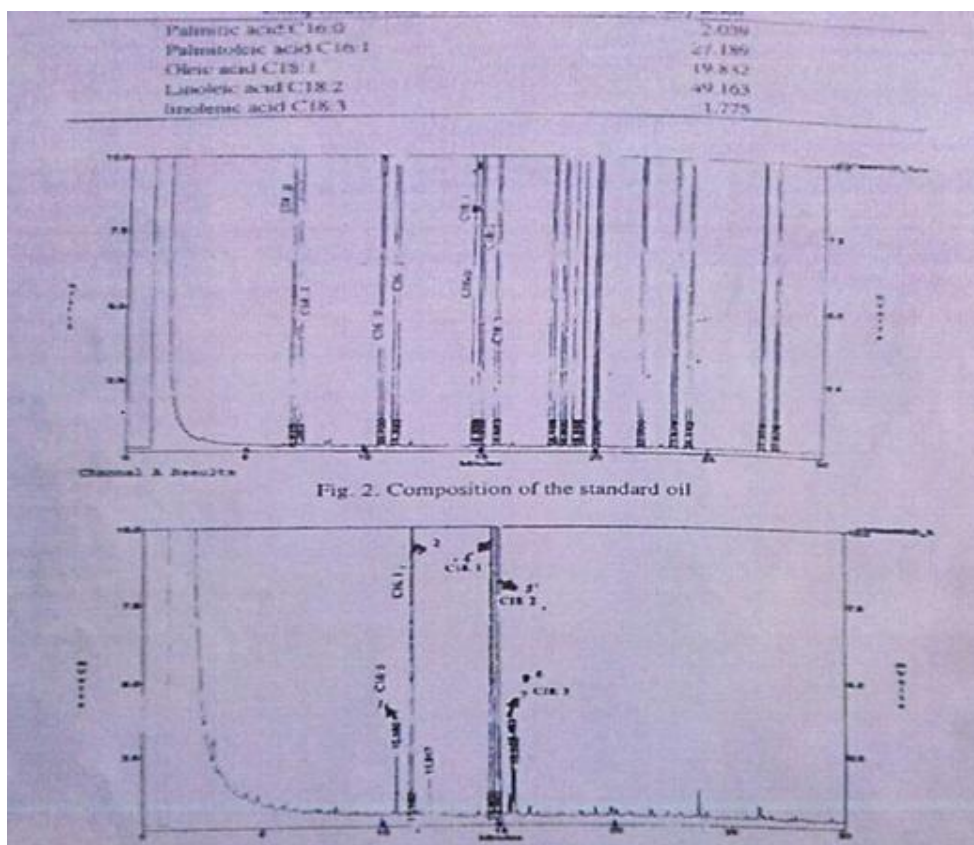


Figure 52. Chromatogrammes CPG de l'huile du *Pistacia Lentiscus*

L'analyse chromatographique par CPG-FID des esters méthyliques obtenus par trans-estérification directe permet de classer cette huile caractère insaturé. Nous constatons une prédominance des acides gras insaturés.

Au total, cinq acides gras (Tab. 30) ont été identifiés dans l'huile du lentisque; dont un acide est à caractère saturé : (acide palmitique) et quatre acides gras sont insaturés à savoir les acides: acide palmitoléique, linoléique ($\omega 6$), oléique et linolenolique ($\omega 9$).

Tableau 30. Temps de rétention des constituants standards, des esters méthyliques et acides gras de l'huile de *Pistacia*.

PI	standards T_R (min)	Esters T_R (min)	Acide gras identifié	(%)
1	10,70	10,55	A. palmitique C16 :0	2,039
2	11,33	11,33	A. palmitoléique C16 :1	27,189
3	14,66	14,39	A. oléique C18 :1	19,832
4	15,03	15,01	A. linoléique C18 :2 (ω 6)	49,163
5	15,33	15,50	A. linoléolique (ω 9)	1,775

T_R : temps de rétention.

Cette composition est conforme aux résultats donnés par d'autres travaux (Kallihecka, 1995 ; Eugene, 1995), mais une variabilité est notée dans les pourcentages. En effet, Charef et al. (2008) ont montré que l'huile extraite de fruits du *Pistacia lentiscus* d'Algérie, de la région de Skikda, est composée de trois acides gras dominants et qui sont palmitiques 16,3%, oléiques 55,3% et linoléique 17,6%. L'huile contient une quantité appréciable d'acides gras insaturés 78,8% la fraction non saponifiable contient des tocophérols, des stérols et des composants phénoliques

La valeur élevée de l'acide palmitoléique qui est de l'ordre 27,1 est une exception par rapport à l'huile de soja et d'olive que l'on retrouve soit à l'état de trace ou à très faible teneur. D'après l'étude de Mezni et al. (2012), la composition en acide gras (Tab.53) de l'huile des fruits mûrs de *Pistacia* cultivés à Nefza et Bizerte (Tunisie) a donné une composition différente de celle de la présente étude.

Tableau 31. Composition en acides gras d'huile de lentisque d'après Mezni et al. (2012)

Région	Nefza	Bizerte
Acides gras	Composition (%)	
Oléique (C18 :1)	54,45±2,11	54,45±3,08
Palmitique (C16 :0)	26,94±0,8	27,79±0,8
Linoléique (C18 :2)	16,03±1,50	15,49±3,10
Palmitoléique (C16 :1)	1,41±0,08	0,66±0,34
Stéarique (C18 :0)	1,15±0,10	1,60±0,50
% A.G.Saturé	28,09	29,39
% A.G.Insaturé	71,89	71,52
Saturé / insaturé	0,39	0,41

En comparant les résultats de la composition en acide gras de l'huile investiguée avec ceux collectés par Unciani (1992) et en raison de son contenu en acides gras insaturé (oléique, linoléique) et d'acides gras saturés, nous pouvons affirmer que notre huile est de bonne qualité nutritive et médicinale

L'utilisation thérapeutique de cette huile par la population algérienne peut être expliquée par sa teneur élevée en acide linoléique. Cet acide gras polyinsaturé est le précurseur de la famille de l'acide gras oméga 3 connu pour leur grand intérêt dans la prévention des maladies cardio-vasculaires

L'utilisation des indices de KOVATS mesurés sur les colonnes polaires et apolaires présente une meilleure information concernant les acides gras car les temps de rétention ne sont pas significatifs, ce qui nous a ramené à opter vers la méthode technique NEAT utilisant comme étalon méthyle oléate. Les résultats sont des deux échantillons (huile pure et étalon interne) ainsi que leurs superpositions sont donnés par la figure 53.

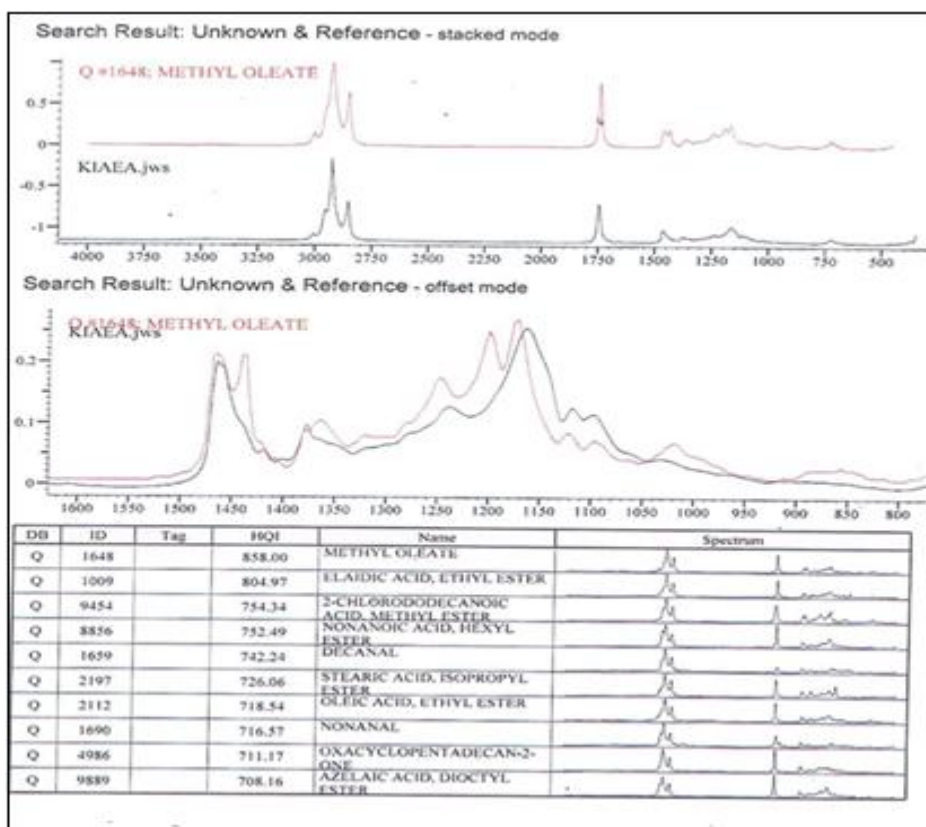


Figure 53. Composition du spectre de l'huile pure à celui du méthyle oléate

En examinant les chromatogrammes de la figure 53, dix composés ont été identifiés répartis en acides gras, aldéhydes, terpenoïdes et esters. Les composés majeurs sont les acides gras comme l'acide élaidique, acide stéarique, acide nonanoïque, acide oléique, chlorododécanoïque, acide azélaïque, méthyle oléate, decanal, nonanal et l'oxacyclopentadécane -2- one.

III-5- Analyse de l'huile fixe de *Pistacia Lentiscus L.* par IR

Les résultats de l'analyse de l'huile du lentisque par infrarouge sont consignés dans le spectre de la figure 54.

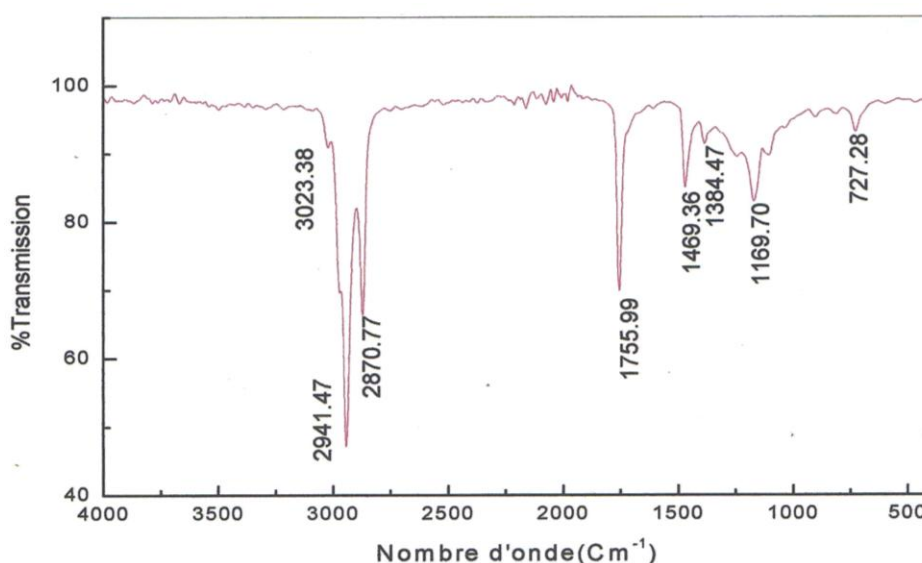


Figure 54. Spectre IR de l'huile fixe de *Pistacia Lentiscus L* extraite par Soxhlet.

L'analyse du spectre permet d'identifier des hydrocarbures aliphatiques, oléfines, et des composés aliphatiques carbonates d'esters

▪ Hydrocarbures aliphatiques

Les deux pics situés à $2941,47 \text{ cm}^{-1}$ et $2870,77 \text{ cm}^{-1}$ caractérisent les hydrocarbures aliphatiques. L'élongation de la liaison C-H à forte intensité présente deux autres pics l'un situé à $1469,36$ pour l'élongation C-H à forte intensité le second est situé à $1384,47 \text{ cm}^{-1}$ exprimant la déformation de la liaison C-H dans CH_2 et CH_3 . Le pic situé à $727,28 \text{ cm}^{-1}$ à intensité moyenne définit l'élongation de la liaison C-H.

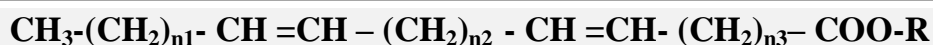
- **Oléfines**

Elles sont caractérisées par un pic à faible intensité situé à $3023,38 \text{ cm}^{-1}$ correspond à l'élongation de la liaison $=\text{C-H}$ dans $(\text{R CH} = \text{CH R})$. et un deuxième pic, à faible intensité situé à 1660 cm^{-1} , correspond à l'élongation de liaison $\text{C}=\text{C}$ ($\text{cis} - \text{RCH}=\text{CHR}$).

- **Aliphatiques carbonates esters**

Ils sont caractérisés par deux pics : un pic situé à $1755,99 \text{ cm}^{-1}$ pour l'élongation de la liaison $\text{C}=\text{O}$ à forte intensité dans (R COOR) , le second pic situé à 1300 cm^{-1} pour l'élongation de liaison C-O à forte intensité dans (R COOR) .

D'après les données ci-dessus, on prévoit que quelques constituants de l'huile de *Pistacia Lentiscus L.* ont pour formule brute :



III-6- Analyse de l'huile de *Pistacia Lentiscus L.* extraite du fruit par FT/IR

Pour plus d'informations sur la composition de l'huile étudiée une deuxième technique d'analyse de l'huile de *Pistacia Lentiscus* a été menée qui couple l'infrarouge avec la transformée de Fourier (Eq. 20,21).

Les deux équations suivantes en cosinus sont essentielles, elles permettent de relier l'intensité $I(\delta)$ de la radiation arrivant au détecteur à la densité spectrale de puissance $B(\nu)$, pour un nombre d'onde ν .

$$B(\nu) = \int_{-\infty}^{+\infty} I(\delta) \cos 2\pi \nu \delta \, d\delta \quad (20)$$

$$I(\delta) = \int_0^{\infty} B(\nu) \cos 2\pi \nu \delta \, d\nu \quad (21)$$

La première de ces deux équations exprime les variations de la densité spectrale de puissance en fonction de la différence de chemins optiques δ . la seconde relie les variations d'intensité au nombre d'onde ν . Ces deux équations peuvent être interconverties par une transformation de Fourier. L'obtention d'un spectre infrarouge à partir de l'interférogramme est en réalité une opération très complexe. Le spectre de

l'huile du lentisque est analysé en se basant sur celui de l'étalon le méthyle oléate qui est représenté par la figure 55.

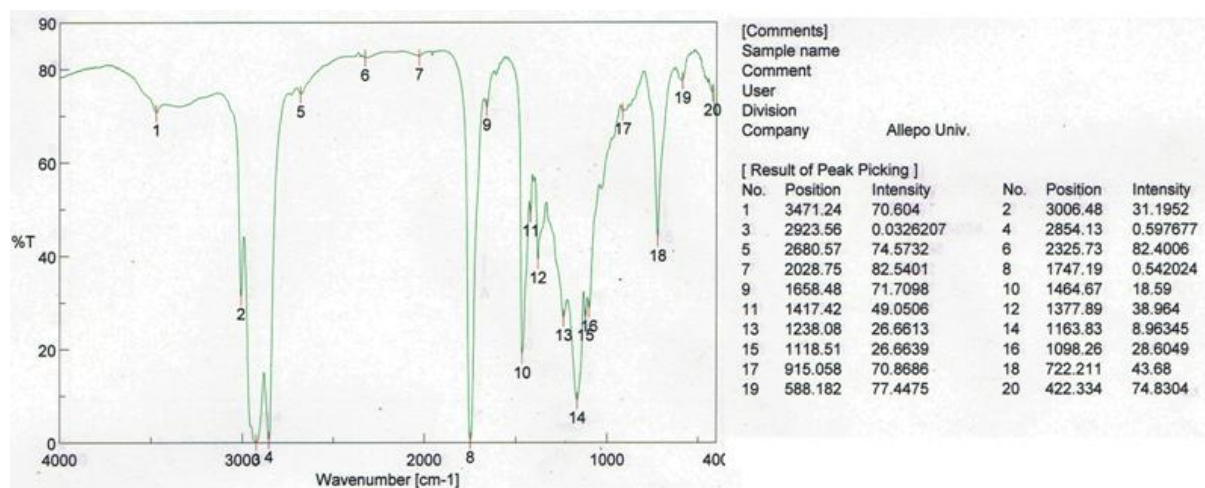


Figure 55. Caractéristiques des composés de référence méthyle oléate.

La figure 56 illustre le spectre de l'huile de *Pistacia lentiscus* ainsi que les vibrations tandis que la figure 57 présente la superposition des deux spectres FTIR de l'huile et de l'étalon le méthyle oléate.

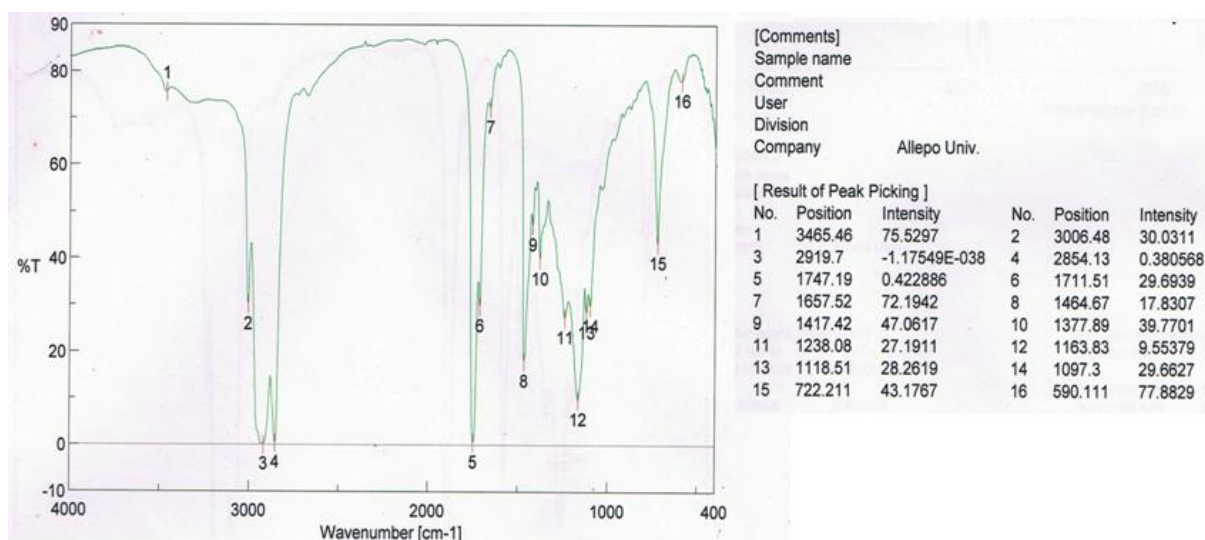


Figure 56. Spectre IRFT du méthyle oléate et résultat du triage des pics.

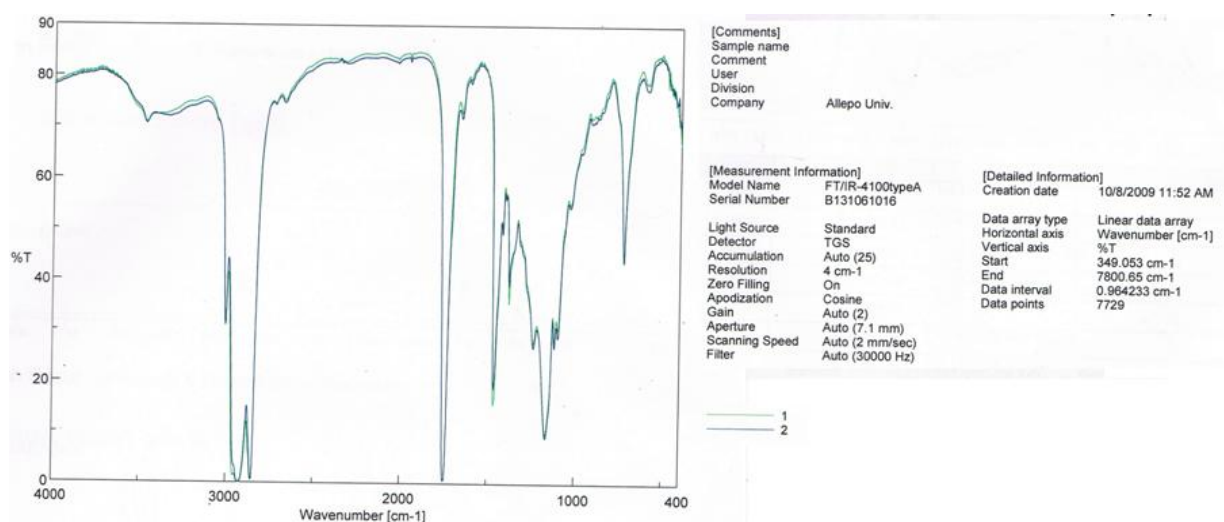


Figure 57. Spectre IRFT de l'huile pure de *Pistacia lentiscus* et esters méthyliques.

L'étude spectrale de l'huile analysée par FTIR montre les différentes caractéristiques et les élongations des bandes d'absorption des différents groupes fonctionnels des constituants de l'huile de Lentisque (Tab.32).

Tableau 32. Comparaison entre les nombres d'onde du méthyl oléate (IRFT) de l'huile (IRFT) et de l'huile (IR).

Méthyl oléate		Huile (IRFT)		Huile (IR)		Groupes fonctionnels
$\tilde{\nu}$ (IRFT (cm ⁻¹))		$\tilde{\nu}$ (cm ⁻¹)		$\tilde{\nu}$ (cm ⁻¹)		
3006,48	C - H	3006,48	C - H	3023,38	C - H	alcanes (R-H)
1658,75	C = C	1657,52	C = C	1660	C = C	RCH = CHR
1747,19	C = O	1747,70	C = O	1755,99	C = O	
1238,08	C - O	1238,08	C - O	1300	C - O	RCOOR
2923,36	C - H	2919,70	C - H	2941,47	C - H	R - H
2854,13	C - H	2854,13	C - H	2870,77	C - H	R - H
1464,47	C - H	1464,67	C - H	1469,36	C - H	R - H
1377,89	C - H	1377,89	C - H	1384,47	C - H	-CH ₃ , -CH ₂
722,211	C - H	722,211	C - H	727,28	C - H	R - H

On constate sur le spectre de l'huile donné par IR/TF, un pic situé à 1711,51 cm⁻¹ pour l'élongation de la liaison C=O à forte intensité dans (R-CO-R[□]), un pic situé

à $1711,51 \text{ cm}^{-1}$ à forte intensité dans (RCHO), le pic situé à $590,11$ de liaison C-Cl dans (R-CHCl-COO-R).

En se basant sur ces données nous constatons que l'huile de *Pistacia Lentiscus L.* extraite du fruit renferme des cétones, des aldéhydes, des chlorures et des esters.

III-7- Analyse de l'huile de *Pistacia Lentiscus L.* par UV /VIS

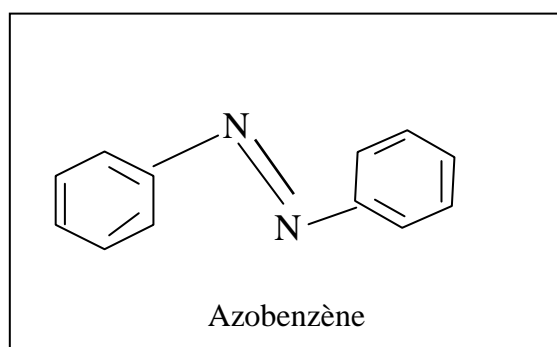
L'analyse spectrale dans la région visible englobe la limitation des composés colorés ou incolores qu'on peut les transformer en composés colorés par réaction chimique ou les rendre colorés par addition de réactifs qui forment avec ces composés des complexes colorés. Dans la région visible, l'absorbance du rayonnement lumineux est située dans la région des longueurs d'onde de 400-800 nm.

Tandis que l'analyse spectrale dans la région UV, renferme tous les composés colorés et non colorés qui possèdent une absorbance dans la région des longueurs d'onde pour les rayonnements UV situés entre 185-400 nm.

A partir de ces longueurs d'onde pour des concentrations différentes (Fig.59, 60 et 61) on peut déduire les chromophores correspondant à ces longueurs d'onde caractéristiques de l'absorption électronique moléculaire.

Les longueurs d'onde 315 nm, 316 nm et 317 nm correspondent à un chromophore constitué par la molécule conjuguée entière.

Nous avons utilisé comme référence l'azobenzène qui a une absorbance correspondant à une longueur d'onde $\lambda = 315 \text{ nm}$. Le doublet électronique de l'azote participe en fait à la conjugaison (R-N=N-R)



- La longueur d'onde 226 nm correspond à des esters et acides (R-COO-R, RCOOH)

- La longueur d'onde 217 nm correspond à des alcènes (bande intense 3,14 245) met en jeu le système à deux doubles liaisons conjuguées dans son entier (R-C=C-C=C-R)
- La longueur d'onde 211 nm correspond à des aldéhydes et cétones (R-CHO, R-CO-R).

Donc, on peut prévoir que l'huile extraite du fruit de *Pistacia Lentiscus L.* est constituée de molécules renfermant les fonctions (ester, acides, cétones, aldéhydes et alcènes conjuguées).

La superposition des spectres à différents concentrations 20 ; 5 ; 2,5 et 1,25g/L de l'huile de *Pistacia* est donnée dans la figure 59 et celle de l'huile fixe de *Pistacia Lentiscus L* est donnée par figure 60 tandis que le spectre des esters méthyliques est donnée par la Figure 61. Ces spectres permettent d'identifier des fonctions diverses : hydrocarbures, alcools, aldéhydes, cétones et esters dans l'huile fixe de *Pistacia*. Ces composés mineurs ne représentent que l'insaponifiable des l'huiles fixes extraites de la graine oléagineuse.

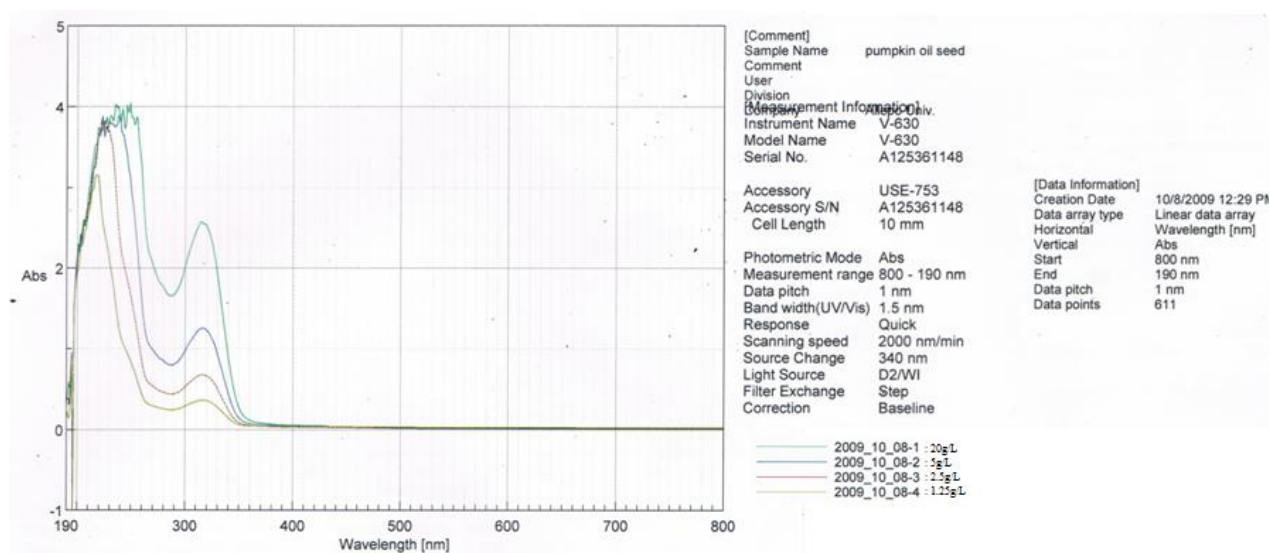


Figure 58. Superposition des spectres UV/VIS à différents concentrations 20 ; 5 ; 2,5 et 1,25g/L de l'huile de *Pistacia*.

Les résultats des analyses montrent que l'huile du fruit du *Pistacia* contient un taux important d'acides gras insaturés. Selon la classification des huiles végétales

alimentaires en acides gras insaturés, nous pouvons classer l'huile de *Pistacia* parmi les huiles végétales de type oléo- linoléique.

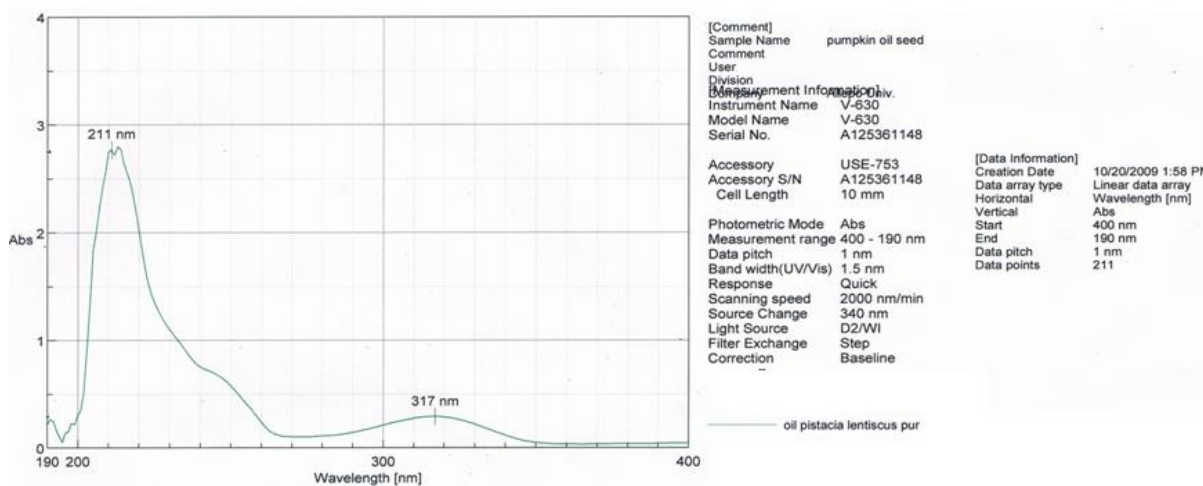


Figure 59. Spectre UV de l'huile fixe de *Pistacia Lentiscus L.*

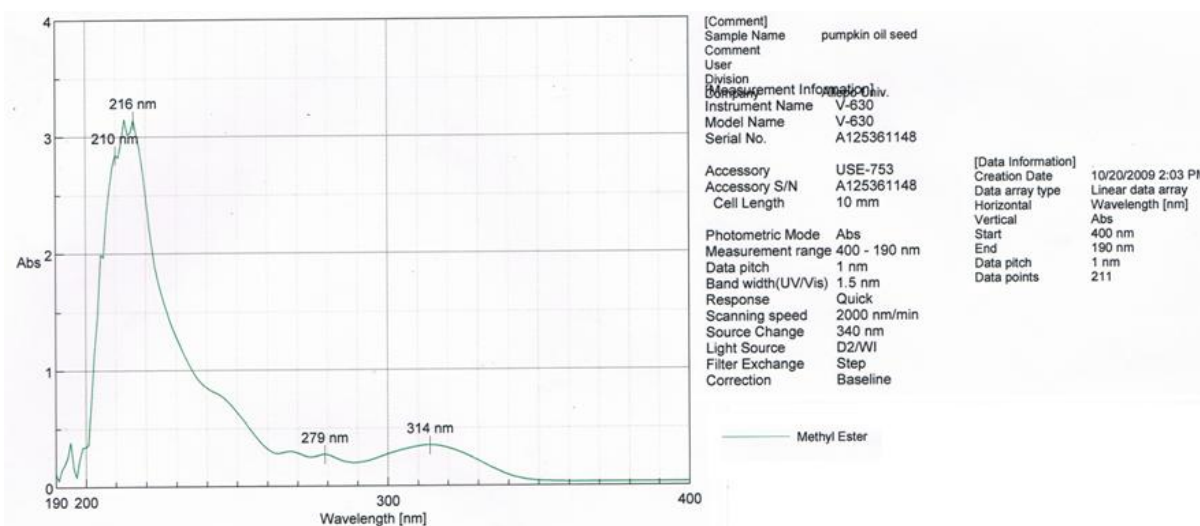


Figure 60. Spectre UV des esters méthyliques de *Pistacia Lentiscus L.*

Les composés identifiés ci-dessus possèdent des fonctions diverses : hydrocarbures, alcools, aldéhydes, cétones et esters. Ces composés mineurs ne représentent que l'insaponifiable des l'huiles fixes extraites de la graine oléagineuse. Ces composés jouent un grand rôle dans l'arôme de l'huile vierge et contribuent au plan analytique à l'établissement d'un diagnostic de pureté ou qualité de l'huile.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Baxter M.J., Crews H.M., Dennis M.J., Goodbal J., & Anderson D. (1998). *Journal of Food chemistry*. 60, 443.
- Bouteldj F. et Kadjoudj Z. (2013). Etude des paramètres physicochimiques de l'huile de fruits de pistachier lentisque: *Pistacia lentiscus* L.(Drou) de Mila et de Jijel. Mémoire de fin d'étude en vue de l'obtention du diplôme d'ingénieur d'Etat en Nutrition et en Technologies Agro-Alimentaires, I.N.A.T.A.A. Université Constantine1, 68 p
- Charef M., Yousfi M., Saidi M., Stocker P., (2008). Determination of the Fatty Acid Composition of Acorn (*Quercus*), *Pistacia lentiscus* Seeds Growing in Algeria, Springerlink.
- Eugene U. (1995). Nouveau dictionnaire des huiles végétales composition en acide gras. Edition Lavoisier TEC DOC, Lavoisier. 441 - 443.
- Kallihecka S., Arvanitoyannis I.S., Kefalas P., EL-Zajouli A., Soufleros E., & Psarra E. (2001). *Food chemistry*. 73, 501.
- Karleskind A. (1992). Manuel des corps gras Vol 1 et 2 Lavoisier Ed Paris et tec et doc.
- Mezni F., Maaroufi A., Msallem M., Boussaid M., Khouja M.L., & Khaldi A. (2012). Fatty acid composition, antioxidant and antibacterial activities of *Pistacia lentiscus* L. fruit oils. *Journal of Medicinal Plants Research*, 6(39), 5266-5271.
- Ucciani E. (1992). Nouveau dictionnaire des huiles végétales composition en acides gras Lavoisier Paris-Londres New York. 11.
- Wolff J.P., (1968). Manuel d'analyse des corps gras, Paris

CONCLUSION GÉNÉRALE

Conclusion générale

Les plantes sont et restent une source inépuisable de composés à structures complexes auxquels sont attribués de nombreuses propriétés thérapeutiques

Le présent mémoire de thèse représente une contribution à la connaissance du fruit *Pistacia lentiscus* L par une étude ethnobotanique, physico-chimiques phytochimiques et l'évaluation de l'activité antioxydante par le test du piégeage par le radical DPPH, en se basant sur des techniques analytiques CPG, IR et UV.

L'étude ethnobotanique menée auprès de la population de cinq régions du nord Est: de l'Algérie : El-Hout, Oum-Theboul, Roum El-Souk, El-Aioun et région de Bougous, a concerné l'usage de la plante (fruit ; feuille, racine et huile fixe) dans le domaine médicinale. Cette enquête nous a permis de répertorier un certain nombre de maladies traitées par *Pistacia lentiscus* L. Il s'agit essentiellement d'affections du tube digestif (estomac, intestins,...) des maladies dermatologiques (eczéma, plaies ...) et buccodentaires (maladies de gencives).

Cette enquête a permis de collecter le maximum d'information concernant les usages thérapeutiques traditionnels locaux de cette plante, de dévoiler le large éventail de l'utilisation en thérapie de son feuillage et de l'huile des ses fruits. Les résultats montrent que 47% de la population utilise les feuilles pour le traitement des affections gastro-intestinales et maux d'estomac. L'huile fixe de *Pistacia Lentiscus* est très utilisée pour soigner les brûlures, maux d'estomac les maladies de la peau, les ulcères et les abcès. Seulement 2% de la population utilise les racines comme tisane pour apaiser les maux de l'estomac.

Nous avons constaté que la méthode d'extraction d'huile traditionnelle et les moyens utilisés ne sont pas en faveur d'un bon rendement en huile. En effet en appliquant cette méthode une quantité considérable d'huile peut se perdre.

Ces résultats peuvent être considérés comme une source d'information pour les recherches scientifiques dans le domaine de la phyto-chimie et de la pharmacologie.

L'étude physico-chimique a été consacrée à la caractérisation du fruit (teneur en eau, cendre, matière grasse, protéines totales et cellulose brut. Les résultats montrent des teneurs en eau de 9,95% et en cendres de 3,75%. Cette étude a montré la richesse

du fruit de *Pistacia Lentiscus L.* en protéines (10,95%), cellulose (22,70) utile au bon fonctionnement des intestins sous forme de fibres végétale et en minéraux (K, Na, Ca, Fe, Mg, Zn et Cu). Le sodium présente la teneur la plus élevée (Na : 92 µg/g M.S), le Mn vient en seconde position avec une teneur de 30,5 µg/g M.S. Pour les oligo-éléments (Fe, Zn, Mn et Cu), le fer présente la teneur la plus élevées (17.3 µg/g M.S), le phosphore (10,3 µg/g M.S) et le manganèse (30,5 µg/g M.S). Ces éléments protecteurs interviennent dans différents processus métaboliques et affectent la synthèse de diverses hormones.

Ces résultats valorisent cette plante et mettent en avant sa capacité bénéfique pour la santé humaine et peuvent expliquer son utilisation en médecine traditionnelle.

L'étude phytochimique des extraits du fruit de *Pistacia Lentiscus L.* met en évidence sa richesse en antioxydants composés bénéfiques pour la santé humaine. Les polyphénols totaux sont présents avec des teneurs de 154,35 ±2,5 mg EAG/g, les flavonoides présentent des teneurs de 75,2 mg Eq cat/g de MS ; les tanins enregistrent des teneurs de 51,5 mg Eq cat/g MS), les anthocynes qui caractérisent la couleur du fruit montrent une teneur de 7,684 mg/100g.

La richesse des fruits de *Pistacia Lentiscus* en composés phénoliques permet d'expliquer l'utilisation de cette plante en médecine traditionnelle. En effet, ces composés sont largement connus par leurs activités antivirales, antispasmodiques, antitumorales, anti agrégation plaquettaires, antiallergiques, hypocholestérolémiantes, anti-inflammatoires, anti-hypertensives et antimicrobiennes

L'analyse des extraits huileux des fruits par les méthodes spectroscopiques et chromatographiques ont permis d'identifier cinq acides gras (Acide palmitique ; Acide palmitoléique ; Acide oléique; Acide linoléique ; Acide linoléique).

Mis-à-part l'acide oléique (mono-insaturé) et l'acide palmitique (saturé), l'huile de lentisque contient un taux élevé un acide gras di-insaturé considéré comme source nutritionnelle très importante,

L'utilisation thérapeutique de cette huile par la population algérienne peut être expliquée par sa teneur élevée en acide linoléique. Cet acide gras polyinsaturé est le

précurseur de la famille de l'acide gras oméga 3 connu pour son grand intérêt dans la prévention des maladies cardio-vasculaires.

En perspectives nous envisagerons les études suivantes:

- 1- Approfondir l'étude sur les extraits huileux du *Pistacia Lentiscus* à travers l'analyse qualitative des constituants de la fraction insaponifiable du fruit.
- 2- Mettre en évidence les potentielles activités biologiques tout en déterminant avec précision les molécules présentes et responsables de ces activités.
- 3- Une amélioration des méthodes d'extraction en utilisant l'extraction par CO₂ supercritique qui est une méthode respectueuse de l'environnement et qui permet d'obtenir des extraits « propres » sans traces de solvants dont leurs utilisation dans les domaines médicinales, pharmaceutiques et cosmétiques ne présentent pas de risques.

ANNEXE

Listes des annexes**Teneurs des acides phénols totaux :**

$$T_{AC\cdot phénols} = T_{phénols} - \sum T_{fla} + T_{ta} + T_{ant}$$

$$T_{AC\cdot phénols} = 154,3466 - 126,8968 = 27,4498 \text{ mgEAG/g .MS}$$

$$\Delta T_{ac. phénols} = 2,5 - \sum 0,23 + 1,25 + 0,015 = 1.$$

Couleur LOVIBOND :

Elle est exprimée par l'équation suivante :

$$\text{Couleur (C)} = XJ + YR + ZB$$

J : jaune, R : rouge, B : bleu

$$X: 52, \quad Y: 5, \quad Z: 0.$$

Indice d'acide (I_A) :**Calcul :**

Pour la prise d'essai : volume de la solution KOH = 0,4 ml

Pour le témoin : volume de la solution KOH = 0,2 ml

Volume de la solution KOH neutralisant l'acide libre = V_b

$$V_B = 0,4 - 0,2 = 0,2 \text{ ml}$$

Masse molaire (M) de KOH = 56 g

Normalité (N) de KOH = 0,1

Masse (m) de KOH = 5,6 g/ litre

Masse (m) de KOH dans 0,2 ml = $1,12 \times 10^{-3} \text{ g} = 1,12 \text{ mg}$ et par conséquent : $I_A = 2,24 \text{ mg/g d'huile}$

On a effectué 3 essais :

$$I_{A1} = 2,24 \text{ mg KOH /g d'huile}$$

$$I_{A2} = 2,016 \text{ mg KOH /g d'huile}$$

$$I_{A3} = 2,779 \text{ mg KOH /g d'huile}$$

Donc l'indice d'acide (I_A) = $\frac{IA1 + IA2 + IA3}{3} = 2,345 \text{ mg } \frac{KOH}{g} \text{ d'huile}$

Indice de Saponification :

- Dosage de la prise d'essai : le volume de la solution HCl (V_a) qui a neutralisé le KOH restant (qui n'a pas saponifié l'ester) = 24,5 ml
- Dosage du témoin avec HCl : le volume de la solution qui a neutralisé le KOH est 37 ml d'acide.

Donc le volume de la solution de KOH n'ayant servi à saponifier l'ester est égale à V.

$$V = \frac{10 \times 24,5}{37} = 6,62 \text{ ml}$$

Il s'ensuit que les 0,98 g de substance ont été saponifiés par V' de solution KOH.

$$V' = 10 - 6,62 = 3,38 \text{ ml de solution KOH (1N)}$$

Et par suite ; la masse (m) de KOH contenue dans 3,38 ml

$$m = \frac{56 \text{ g} \times 3,38}{1000} = 0,18928 \text{ g} = 189,28 \text{ mg}$$

Comme la prise d'essai était de 0,98 g il aurait fallu pour 1 g

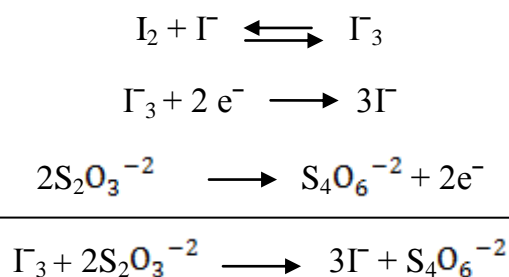
$$\frac{189,28 \times 1}{0,98} = 193 \text{ mg de KOH/g d'huile}$$

Et finalement l'indice de saponification I_s a pour valeur :

$$I_s = 193 \text{ mg KOH /g d'huile.}$$

La Teneur d'iode :

La teneur d'iode, on la calcule en se basant sur les réactions d'oxydoréductions suivantes :



Selon cette réaction on constate qu'une mole d'iode réagit avec deux moles d'ions thiosulfate.

Donc, on doit diluer la solution ICl à l'aide du mélange acide acétique cristallisable – tétrachlorure de carbone (70 : 30 en volume) de façon que 5 ml de la solution d'iode finale correspondent sensiblement à 10 ml de $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ (0,1 N).

Enfin, la normalité de la solution d'iode ($N_i = 0,1$).

Titration de l'ammoniaque par une solution titrée d'acide chlorhydrique 0,05 N :

En présence d'un acide comme l'acide chlorhydrique ($\text{H}_3\text{O}^+ \text{Cl}^-$), le borate agira comme une base dans un rapport stœchiométrique de 1 pour 1.



Calculs :

Pour l'acide chlorhydrique on sait qu'une mole d'acide réagit avec une mole d'ammoniaque donc on obtient l'égalité suivante :

1 mole d'acide = 1 mole d'ammoniaque = 1 mole d'azote (réaction 4) selon la formule :

$$n = c \cdot v$$

n : nombre de mole

c : concentration (M/L)

v : volume (L)

Donc :

Le nombre de moles d'azote (n_N) = $c_a v_a$

c_a : concentration de l'acide (HCl)

v_a : Volume de l'acide versé à l'équivalence.

La masse d'azote (m_N) :

Elle est donnée par la formule suivante :

$$m_N = C_a \cdot V_a \cdot M$$

$$m_N = 0,05 \times 0,124 \times 14 = 0,087 \text{ g}$$

$$\% \text{ en azote} = \frac{0,087}{5} \times 100 = 1,74$$

$$\% \text{ en protéine} = 1,74 \times 6,25 \approx 10,90.$$

II.II.2 Produits, solvant et standard

H₂SO₄ (99 %, d= 1,15, marque prolabo), K₂SO₄(marque prolabo), Acide bourique (marque prolabo), acide chlorhydrique (99 %, d= 1,19, marque prolabo), n-hexane (marque PRS cheminova), NaOH (marque PRS cheminova). Acide chlorhydrique et l'acide nitrique (tous deux de qualité pour spectroscopie).Chlorure de sodium (NaCl) et chlorure de potassium (KCl) de prolabo.Carbonate de lithium (Fluka).Monochlorure d'iode (ICl) sous forme de cristaux.Acide acétique cristallisable (CH₃COOH).Tétrachlorure de carbone (CCl₄).Cristaux d'iode (I₂).Solution d'iodure de potassium (KI) (100g/l).Solution de thiosulfate de sodium (Na₂S₂O₃).Empois d'amidon (10g/l). Heptane (Fluka, pureté 99%, chemika 51750).Solution de FeCl₃ (0,2%) dans l'éthanol (Fluka).Solution d'orthophénantroléine (0,5%) dans l'éthanol.Ether de pétrole (product of Stinnes Chemicals-Deutschland).Ruban pH.Na₂SO₄ (cristaux).Solution méthanol ascorbique (Janssen.B 2440 Geel Belgium).Méthanol (R.P.Normapur Prolabo 99,8%). Solution KOH (70%).Solution d'éther éthylique (Prolabo).n-heptane (FLUKA, pureté 99%).Solution de FeCl₃ (0,2% dans l'éthanol). Methanol (Janssen. B. 2440. Geel Belgium 99, 5% v/v). Heptanes pour chromatographie. Réactif de Folin-Ciocalteu (Fluka). (Na₂CO₃, Prolabo). Vitamine E,acide palmitique, acide palmitoléique, acide oléique, acide linoléique, acide linoléique, acide érucique et palmitoléate de méthyle.

II.II.3 Matériel

Balance analytique (marque OHAUS), plaque chauffante (marque STUART),étuve (marque MEMMERT).Centrifugeuse(MPW). Agitateur magnétique (Bioblock Scientific 64725). Montagesoxhlet. Spectromètre d'absorption atomique à four de graphite de type GF 90 produit par Thermo-Unicam Cambridge, GB.Spectrophotomètre UV-Visible (Labomed). Spectromètre d'émission atomique de flamme à double faisceau modèle 1100 B et HGA 700 de chez PERKIN ELMER. Spectrophotomètre Model V -630, N°= de série A 125 361 148.Verrerie de laboratoire.

Appareil de CPG : équipé d'un détecteur à ionisation de flamme et d'un intégrateur numérique type PACKARD 429. Micro- seringue : pour l'injection des échantillons. Colonne capillaire : DB 1701(Chromaptic) de longueur 30m et de diamètre 0,25mm.

Physico-Chemical and Biochemical Properties of Oil Extracted from *Pistacia lentiscus*

ABDELKADER MECI^{*} and SALAH DJEDAIA

Laboratory of The Phytochemistry Department of Chemistry,
University of Badji Mokhtar B.P. 12, Annaba 23000, Algeria
E-mail: meci_abdelkader@yahoo.fr

A physico-chemical study and biochemical properties of the oil extracted from *Pistacia lentiscus* is presented. This shrub of Mediterranean the maquis type is established in the area El Kala. The extracted oil was carried out by two modes of extraction, the parameters of the fat content are given. According to the results this oil is comparable with the olive-tree, it is composed by unsaturated fatty acids and a rather low content of vitamin E of the order 6.6 mg/100 g.

Key Words: Oil, Extraction, Acid fat, *Pistacia lentiscus*.

INTRODUCTION

The fruit of the *Pistacia lentiscus* is a shrub of mediterranean the maquis type. Its presence is marked in the wet stage, sub-humid is strongly answered in the area of El Kala. The fat content is consumed by the local populations after a technological treatment not including understanding hydrogenation. The oil extracted the fruit of the *Pistacia lentiscus* is of an interest paramount in the Algerian campaigns. It is used in traditional medicine with knowing the treatment of asthma, however its use remains empirical and did not have to our knowledge is the subject of detailed work. In this article we present the parameters physico-chemical on the fruit, its content of vitamine E we analyze the fat content and we determine his composition in fatty acid.

EXPERIMENTAL

The fresh fruit are collected in the area El Kala in the Algerian east are dried with the sun for their conservation.

Separation pulpe-seed: Realized by a sifting (sieve of the domestic type) of the fruit while rubbing with the hand to collect the maximum of pulp, the second sifting is carried out after passage to the drying oven with 80 °C for one 0.5 h duration. The total lipids are extracted on the one hand with a mixture CH₂OH/CH₂Cl (1/2) according to the method of Floch *et al.*¹, in addition using oil ether (40-60 °C) using an extractor with the Soxhlet. The cachterization of the fat content is made according to Wolff². The cellulose is proportioned according to the method

of Weende after-degreasing of the fruit. The proportioning of nitrogen is carried out by the method Kjeldhal. Concerning the biogenic salts one made a delipidation by a double extraction then one proportioned using a spectrophotometer of atomic absorption Perkin-Elmer, on the other hand, for phosphorus it was determined by a visible spectrophotometer UV on a spectrophotometer Shimadzu UV 2000 (Tables 1-3), the proportioning of methyl esters is carried out by gas chromatography after transesterification of oil by methanol in the presence of soude⁹.

TABLE-1
CHARACTERIZATION OF THE FRUIT

Parameters	Results
Water (%)	9.95
Ashes (%)	3.75
Fat content (extracted with the petroleum ether 40-60°C) (%)	64.50
Total proteins (N x 6.25) (%)	10.90
Cellulose (% the gross product)	22.70

TABLE-2
CHARACTERIZATION OF THE MINERALS ELEMENTS ($\mu\text{g/g MS}$)

Elements	K [*]	Ca	Mg	Fe	Zn ^{**}	Na [*]	P	Mn	Cu
Results	8.081	2.283	1.301	173	15.4	92	10.359	30.5	12.3

*By emission of the flame. **By absorption with the furnace of graphite.

TABLE-3
DETERMINATION OF THE PHYSICO-CHEMICAL PARAMETERS OF GREASE

Parameters	Results		
Point fusion (°C)	27		
Note of drop (°C)	23.4		
η^{sp}	1.3095		
Index saponification (mg KOH/g) (TG206 standard)	192.87		
Iodine index (wt/s)	68.64		
Acid value (AOCS) (mg KOH/g of oil)	2.345		
Colour band	Blue	Red	Yellow
	0.3	1.7	70.7
% Insaponifiable (m/m) (Method hexane)	0.75		
Vitamin E (mg/100 g)	6.6		

The methyl esters are identified by comparison of the retention time. The percentage of fatty acid is calculated by the internal normalization method using methyl palmitoleate as internal standard.

The proportioning of the vitamin E was carried out by known method⁹. According to the experimental protocol (Fig. 1), the extract is recovered in *n*-heptane is concentrated in a drying oven up to 1 mL, and then added 1 mL of ferric chloride. The reading is carried out with the spectrophotometer with a wavelength 510 nm.

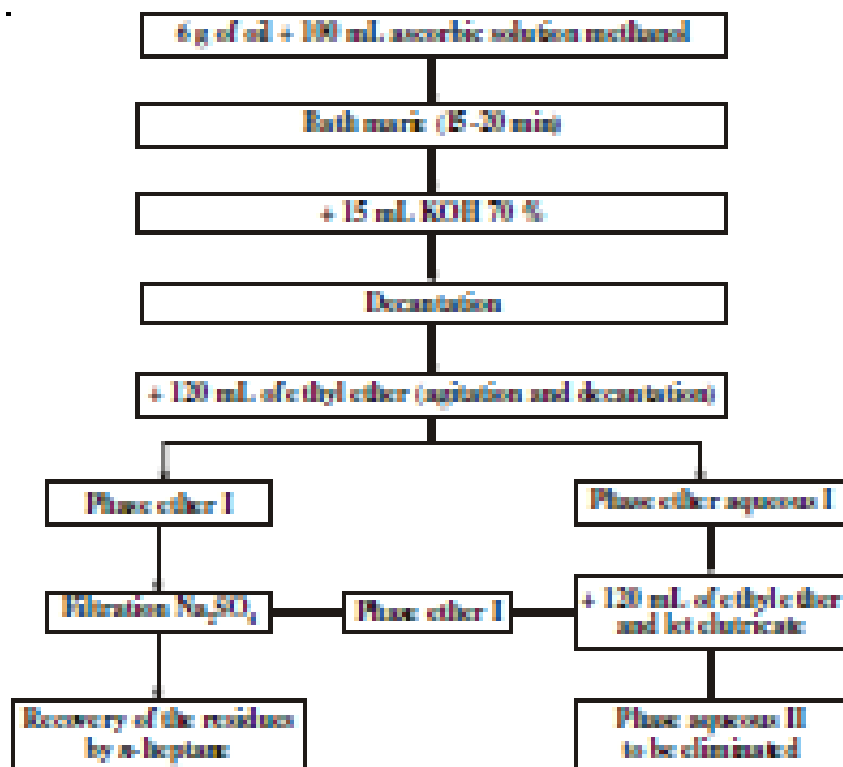


Fig. 1. Extraction of the vitamin E.

RESULTS AND DISCUSSION

While following the mode of extraction recommended by Floch *et al.*¹ on five tests we obtained a yield 64.7 %. While by using the Soxhlet extraction an average result of 64.5 % was obtained. It is noted that no significant difference between these two methods. The characteristics and the chemical composition of the olive *Pistacia lentiscus* are comparable with that of the olive tree². The low value on the acid value shows that the fruit of *Pistacia lentiscus* did not undergo oxidized and hydrolytic deterioration during storage. The survey of the composition in fatty acid of oil extracted of *Pistacia lentiscus* (Table-4 and Fig. 2 and 3) shows that these results have some differences meadows. However, in absence of the pinoleic acid and the presence of high concentration of the oleic acid at the French species. On the other hand, the characterization of Algerian species showed a high concentration upto 18:2. This oil shows a high rate 16:1 contrary to other oils present in trace or in small quantity. Gas chromatography analysis revealed that this oil does not contain erucic acid (considered to be undesirable because of its pathological effect on the cardiac muscle)⁷. Thus, present oil is acceptable from toxic point of view and can be consumed without any risk. This assumption is in agreement with the use of this oil in the Algerian campaigns. Indeed, this oil is remarkable by its high percentage of required linoleic acid for various industrial applications.

TABLE-4
COMPOSITION OF THE OIL OF *Pistacia lentiscus*

Composition fatty acids % in relation of the fatty acids	
Palmitic acid C16:0	2.039
Palmitoleic acid C16:1	27.189
Oleic acid C18:1	19.812
Linoleic acid C18:2	40.163
Linolenic acid C18:3	1.775

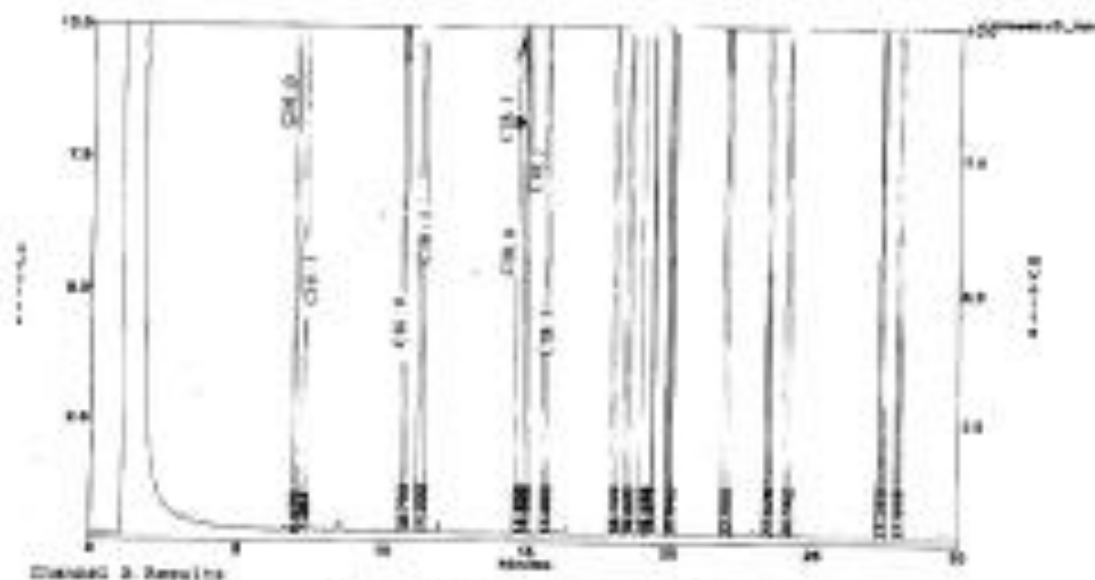


Fig. 2. Composition of the standard oil

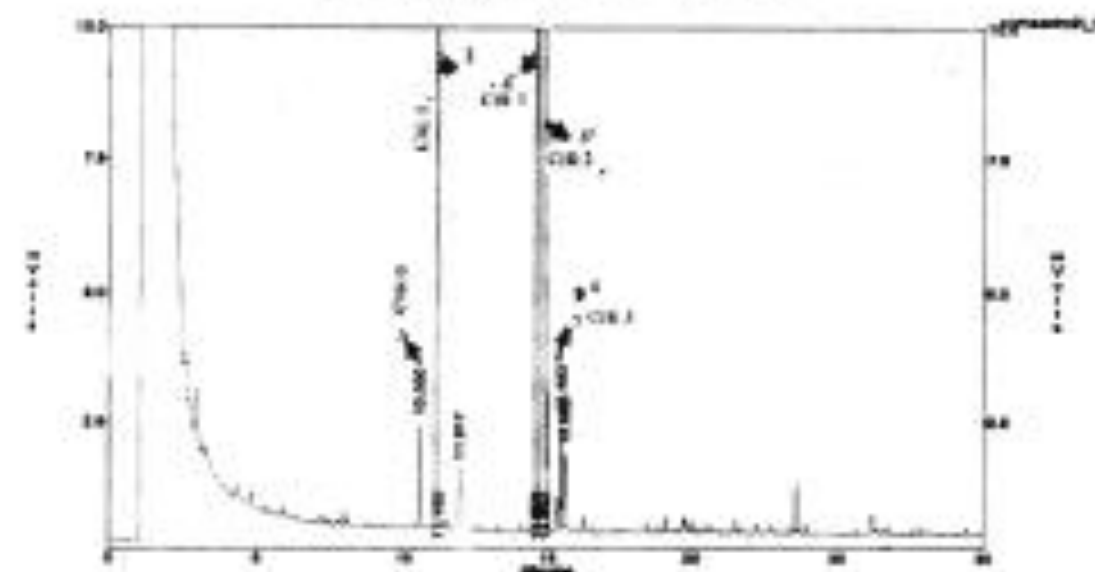


Fig. 3. Methyl esters of the fatty acids of the oil *Pistacia lentiscus*
1 = Palmitic acid, 2 = Palmitoleic acid, 4 = Oleic acid, 5 = Linoleic acid
6 = Linolenic acid

REFERENCES

1. J. Flecht, M. Lecoq and G.H.S. Sturley, *J. Biol. Chem.*, **226**, 497 (1957).
2. J.P. Wolf, *Handbook of Analysis of the Greasy Substance*, Aronlay Ed., Paris (1968).
3. A. Karlenkind, *Handbook of Analysis of the Greasy Substance*, Lavoisier Ed., Paris.
4. B. Kivcak and S. Akay, *Fitoterapia*, **76**, 62 (2005).
5. U. Eugens, *New Dictionary of Vegetable Oils Composition in Fatty Acid*, Lavoisier Ed., (1995).
6. M.N. Krishna Murthy, S. Rajalakshmi, T. Mallika, S. Vithalak, K.N. Anikath, Nasirullah, K.V. Nagaraja and D.P. Kapur, *J. Food Sci Technol*, **20**, 32 (1983).

(Received: 27 March 2009;

Accepted: 12 September 2009)

AJC-7882

