



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

جامعة محمد البشير الإبراهيمي بـرج بوعـريـريـج

Université Mohamed El Bachir El Ibrahimi B.B.A.

كلية علوم الطبيعة والحياة وعلوم الارض والكون

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et des Sciences de la Terre et de
l'Univers

قسم العلوم البيولوجية

Département des Sciences Biologiques

Mémoire

En vue de l'obtention du Diplôme de Master
Domaine Des Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : phytopathologie

Thème

Evaluation de l'activité antioxydante et antifongique
d'une plante médicinale : *Pistacia lentiscus*

Présenté par :
ABBAS aida
MILOUDI salima

Devant le jury :

Président : M^{me} BELLOULA salima (MAB) (Univ B.B.Arréridj).

Encadrant : M^{me} FATMI wided (MCB) (Univ B.B.Arréridj).

Examineur : M^{elle} DEHIMI Khadidja (MAB) (Univ B.B.Arréridj).

Année universitaire : 2016/2017

Remerciement

Tout d'abord, grâce à **ALWWAHID** qui m'a créé, m'a protégé, qui est toujours avec moi et qu'il ne me laisse jamais seule. Louanges à **ALLAH**.

فَاللّٰهُمَّ لَكَ الْحَمْدُ كَمَا يَنْبَغِي لَجَلَالِ وَجْهِكَ وَ عَظِيمِ سُلْطَانِكَ

*Notre remerciement vont à nôtre encadreur **M^{me} fatmi wided** pour avoir accepté de diriger ce travail, qu'elle trouve ici, l'expression de nous profonde reconnaissance, nôtre immense gratitude et nous grand respect, pour tous ses efforts, son savoir, ses idées, sa confiance ses encouragements.*

*Nous sincères remerciements vont également à **M BELLOULA salima** et **M^{elle} DEHIMI Khadidja**, qui ont voulu examiner ce manuscrit et juger ce modeste travail.*

Nous 'aimerons remercier toutes les personnes ayant participés de près ou de loin à l'élaboration de ce mémoire et plus particulièrement :

Les ingénieures de laboratoire qu'ils aident, encouragent et orientent.

Le seul mot qui vient à la tête est :

Merci infiniment.

Recevez à travers ce travail l'expression de notre profonde gratitude.

Aidda et Salima

Dédicace

*Je dédie ce travail
Au nom d'ALLAH le Tout Miséricordieux, le très
miséricordieux.*

*Mon très cher père Taher
Exemple d'honnêteté de Sacrifice pour tout ce qu'il
m'a donné et que j'aurai tant aimé lui rendre,
toujours présent dans mon cœur et mon esprit repose
en paix.*

*Ma chère mère Zineb et Djawida
Symbole de tendresse et d'amour, pour m'encourager
et m'accompagner dans tout mon chemin.*

*A ma grande mère
Avec tous mon amour et appréciation.
A mon très cher Mari : Mr Mourad, reçois à travers
ce travail tout
Mon respect ma gratitude et ma profonde
reconnaissance.*

*Mes très chères sœurs Hanane lila chafia Nabila
Jawaheer samara Samira Kenza
Et ses enfants.*

*Mes très chers oncles Chlali Bilal Djalal Hichame
Khald*

Mes collègues de la spécialité phytopathologie

Et A tout qui me connaît



AIDDA

Dédicace

Un seul mot, usé, mais qui brille comme
une vieille pièce de monnaie : merci !

Car

La reconnaissance est la mémoire du cœur

Je dédie ce modeste travail à :

*La mémoire de mes chers Parents. Qu'ils
Reposent en paix.*

*Ma très chère sœur Leïla qui a cru en
moi et en mes capacités et qui m'a
énormément soutenu tout au long de mes
études.*

Ma cousine NORA

Tous mes proches

Mon binôme AIDDA et à toute sa famille

Tous mes enseignants

*Mes amies et a toutes personnes ayant
contribué de près ou de loin pour la
réalisation de ce mémoire.*



Salima

Résumé	
Liste des tableaux	
Liste des figures	
Liste des abréviations	
Introduction	01
PARTIE 01 : Etude bibliographique	
CHAPITRE I: Généralités sur la plante et métabolite secondaire	
1. Description botanique.....	03
2. Classification.....	04
3. Répartition géographique.....	04
4. Métabolites secondaires.....	05
4.1 Les composés phénoliques.....	05
a. Les acides phénoliques.....	06
b. Les flavonoïdes.....	06
c. Les tanins.....	06
• Les tanins hydrolysables.....	06
• Les tanins condensés.....	06
d. Les coumarines.....	07
e. Les anthocyanes.....	07
4.2. Les composés azotés (les alcaloïdes).....	07
• Alcaloïdes vrais.....	07
• Pseudo-alcaloïdes.....	07
• Proto-alcaloïdes.....	08
4.3. Les terpénoïdes (isoprénoïdes).....	08
5. Principaux métabolites secondaires isolés de l'espèce.....	08
Chapitre II : Propriétés biologiques de Pistacia	
1. Usage thérapeutique.....	10
2. Activités biologiques.....	11
2.1. Activité antibactérienne.....	11
2.2. Activité antifongique.....	11
2.3. Activité antioxydante.....	12
2.3.1. Le Stress Oxydatif et les Radicaux libres	12
a. Nature des radicaux libres	12
❖ Espèces réactives dérivées de l'oxygène (ERO).....	12
❖ Espèces réactives dérivées de l'azote (ERA)	12
b. Conséquences biochimiques du stress oxydantif.....	13

2.3.2. Les antioxydants	13
2.3.3. Activité antioxydante de pistacia	14

Chapitre III : les huiles essentielles

1. Définition.....	15
2. Localisation et répartition.....	15
3. Fonction.....	15
4. Procédés d'extraction.....	15
4.1. Par distillation à la vapeur d'eau Hydro-distillation.....	15
4.2. Entraînement à la vapeur d'eau.....	16
4.3. Hydro diffusion.....	16
5. Composition chimique.....	16
• Dérivés terpéniques.....	16
• Les monoterpènes (C 10).....	16
• Les sesquiterpènes (C 15).....	16
• Composés aromatiques.....	16
• Composés d'origines diverses.....	17

PARTIE 02 : Etude expérimentale

CHAPITRE I : Matériel et méthodes

1. Matériel.....	18
1.1. Matériel végétal.....	18
2. Méthodologie.....	18
2.1. Séchage de la plante.....	18
2.2. Broyage.....	18
I. Activité Antioxydante <i>in vitro</i> de la plante.....	18
1.1. Préparation del'extrait brut.....	18
1.2. Pouvoir antioxydant.....	19
1.2.1. Test du DPPH.....	19
A. Principe.....	19
B. Mode opératoire.....	20
1.2.2. Test de réduction du Fer : FRAP (<i>Ferricreducing antioxydant power</i>).....	20
A. Principe.....	20
B. Mode opératoire.....	21
II .Activité antifongique <i>in vitro</i> de la plante.....	21
2.1. Souche fongique.....	21
2.2. Extraction des huiles essentielles	22
• Conservation d'extrait.....	23
3.3. Évaluation de l'activité antifongique	23

2.3.1. Méthode de contact direct	23
• Principe.....	23
• Mode opératoire.....	23
a. Préparation des milieux de culture contenant différentes concentrations HE	23
b. Ensemencement et incubation des boites de pétri.....	24
c. Le pourcentage d'inhibition de la croissance mycélienne	26
d. Evaluation de la croissance mycélienne.....	26
e. Détermination de l'indice antifongique.....	27

Chapitre II: Résultats et discussion

I. Activité Antioxydante <i>in vitro</i> de la plante.....	28
1 .Rendement d'extraction.....	28
2. Pouvoir antioxydant.....	28
2.1. Piégeage du radical DPPH.....	28
2.2.Pouvoir réducteur (test FRAP).....	30
II. Activité Antifongique <i>in vitro</i> de la plante.....	32
1. Détermination du rendement d'extraction.....	32
2. Activités antifongiques.....	33
2.1. Evaluation de la croissance mycélienne.....	33
2.2. Vitesse de la croissance mycélienne.....	34
2.3. Indice antifongique (IA).....	34
Conclusion	36

Référence bibliographique

Annexes

Figure 01 : Arbuste de pistachier lentisque	03
Figure 02 : Feuille, fleur, graine du <i>Pistacia lentiscus</i>	03
Figure 03 : Distribution géographique de genre	05
Figure 04 : Structure de base des flavonoïdes.....	06
Figure 05 : structure de l'acide gallique (A) et ellagique (B)	06
Figure 06 : Structure des tanins condensés.....	07
Figure 07 : Structure de base des coumarines	07
Figure 08 : Structure de base des anthocyanes	07
Figure 09 : Exemples des classes des alcaloïdes	08
Figure 10 : Structure de la molécule d'isoprène	08
Figure 11 : Principales espèces réactives de l'oxygène.....	13
Figure 12 : Espèces Réactives Oxygénées et systèmes de protection antioxydant	14
Figure 13 : feuilles secs.....	18
Figure 14 : Poudre de plante.....	18
Figure 15 : Protocole de préparation des extraits méthanolique de la plante <i>pistacia lentiscus</i> .	19
Figure 16 : Forme libre et réduite du DPPH.....	19
Figure 17 : Dispositif d'extraction de type de Clevenger.....	21
Figure 18 : les flacons en verre teinté contenant des huiles essentielles.....	22
Figure 19 : la préparation de tween 3 % pour la dilution d'huile essentielle.....	23
Figure 20 : protocole expérimental de l'essai d'activité antifongique d'HS de FOC.....	24
Figure 21 : protocole expérimental de l'essai d'activité antifongique d'HS de FOC.	25
Figure 22 : Pourcentage d'inhibition du DPPH en fonction de différentes concentrations de l'extrait méthanolique de <i>P.lentiscus</i> . Chaque valeur représente la moyenne de 3 essais \pm écart-type	29

Figure 23 : Pourcentage d'inhibition du DPPH en fonction de différentes concentrations de l'acide ascorbique. Chaque valeur représente la moyenne de 3 essais \pm écart-type.	29
Figure 24 : IC50 de l'acide ascorbique et l'extrait méthanolique des feuilles de <i>P.lentiscus</i> .	30
Figure 25 : Pouvoir réducteur de l'acide ascorbique. Chaque valeur représente la moyenne de 3 essais \pm écart-type.	31
Figure 26 : Pouvoir réducteur de l'extrait méthanolique de <i>P.lentiscus</i> . Chaque valeur représente la moyenne de 3 essais \pm écart-type.	32
Figure 27 : L'effet des HES de <i>pistacia lentiscus</i> sur la croissance mycélienne de <i>F. oxysporum</i> en fonction du temps (jours). Chaque valeur représente la moyenne de 3 essais \pm écart-type.	33
Figure 28 : L'effet des HES de <i>pistacia lentiscus</i> sur la vitesse de croissance mycélienne de <i>F. oxysporum</i> en fonction du temps (jours). Chaque valeur représente la moyenne de 3 essais \pm écart-type.	34

Tableau 01	Classification des terpénoïdes.....08
Tableau 02	Les principales espèces réactives des l'oxygène.....12
Tableau 03	rendements, aspects et couleur de l'extrait méthanolique.....28
Tableau04	Caractéristique organoleptique d'huile essentielle de pistactia lentiscus...33
Tableau05	L'indice antifongique des différentes concentrations des HES vis-à-vis le <i>F.oxysporum</i>35

Liste des abréviations

A.ASC : acide ascorbique

BBA : Bordj Bou Arreridj.

CMI : concentration minimale inhibitrice.

DI : diamètre d'inhibition.

DPPH: 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl.

EBF : extrait brute de feuilles

EOA ou ERO ROS : d'espèces oxygénées activées (Reactive Oxygen Species).

FOC: *fusarium oxysporum f.sp.ciceri*.

FRAP: Ferricreducing antioxydant power

HD: hydro distillation.

HE: huile essentielle.

MeOH : méthanol

PDA : potato dextrose agar.

PPM: partie par million.

Rpm: rotation par minute

SOD : un système enzymatique antioxydant, la superoxyde dismutase.

TI : taux d'inhibition.

VitC : acide ascorbique

La valorisation de la filière des Plantes aromatiques et médicinales (PAM) est devenue indispensable dans un pays regorgeant d'une richesse très importante en flore.

Selon les statistiques de 2003 de l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS), 80% de la population mondiale a recours aux médecines traditionnelles pour satisfaire des besoins en soins de santé primaire. D'ailleurs la pharmacopée humaine est riche d'un répertoire de pas moins de 20000 espèces dont 50% est utilisée en industrie pharmaceutique (**Anonyme, 2011**). Les plantes renferment des composants chimiques qui se répartissent en des grands groupes: les protides, les glucides, les lipides et les acides nucléiques, d'une part, les pigments, les tanins, les polymères, les hormones et les essences végétales dites huiles essentielles d'autre part. Les premiers sont les constituants du métabolisme primaire, il existe en permanence au sein de la plante. Les autres proviennent du métabolisme secondaire et ne sont pas toujours présents chez les végétaux (**Bouamer et al., 2005**).

Un grand nombre de plante aromatiques, médicinales, des plantes épicées et autres, possèdent des propriétés biologiques très intéressantes, qui trouvant applications dans divers domaines à savoir en médecine, pharmacie, cosmétologie et l'agriculture (**Mohamedi, 2006**). Les plantes sont dites médicinales lorsque l'un de leurs organes possède des activités pharmacologiques pouvant conduire à des emplois thérapeutiques. 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 (**Benkhniue et al., 2011**).

Pistacia lentiscus occupe une place privilégiée dans la phytothérapie pour ses propriétés médicinales. Par ailleurs, la maîtrise des infections bactériennes devient complexe du fait que de nombreux microorganismes ont développé une résistance à la plupart des antibiotiques ce qui a constitué un problème de santé important à l'échelle mondiale. Cependant, il y a une préoccupation concernant les effets indésirables des molécules synthétiques destinées à la lutte contre le stress oxydant et les infections bactériennes et fongiques. Il semble donc important de trouver une alternative à l'utilisation des antioxydants synthétiques et des antibiotiques classiques. Les remèdes à base de plantes constituent une alternative dans les systèmes de soins primaires et donc, une voie prometteuse pour le développement des médicaments traditionnellement améliorés (**Benkhniue et al., 2011**).

C'est ainsi que nous nous sommes intéressés à entreprendre ce travail qui a pour objectif d'évaluer les activités antioxydante et antifongique des extraits de la partie aérienne de *Pistacia lentiscus*, une plante largement utilisée en médecine traditionnelle en Algérie.

Cette étude est subdivisée en deux parties essentielles, la première partie présente une synthèse bibliographique dans laquelle nous apportons un premier chapitre qui est consacré à l'étude de *Pistacia lentiscus*, un second chapitre traite les différentes propriétés biologiques de la plante, le troisième chapitre qui consiste à étudier les huiles essentielles.

La deuxième partie, expérimentale, répartie en deux chapitres dans ce mémoire, le premier chapitre décrit le matériel et les méthodes utilisés (extraction des extraits et de l'huile essentielle et évaluation de l'activité antioxydante et antifongique de la plante), le deuxième chapitre expose l'ensemble des résultats obtenus et leur discussion. Et enfin, nous nous finirons par une conclusion.

1. Description botanique

Pistacia Lentiscus, Darou, appartenant à la famille de Anacardiaceae (**Leprieur,1860**), est un arbrisseau au vivace (figure1) de trois mètres de hauteur, ramifié, c'est parfois aussi un arbuste ne dépassant pas six mètres, à odeur de résine fortement âcre. *Pistacia lentiscus* est caractérisée par :

- **Ecorce**, Rougeâtre sur les jeunes branches et vire au gris avec le temps. Quand on incise l'écorce la plante laisse s'écouler une résine irritante non colorée à odeur forte.
 - **Branches tortueuses et pressées**, forment une masse serrée.
 - **Feuilles**, persistantes, composées, et possèdent un nombre pair de folioles (4 à 10) d'un vert sombre (figure 2), elliptiques, obtuses, luisantes en dessus, glabres, coriaces et dont le pétiole est bordé d'une aile verte. On trouve des pieds mâles et femelles distincts (espèce dioïque) qui fleurissent en grappes denses en mois de Mai.
 - **Fleurs**, unisexuées d'environ trois mm de large se présentent sous forme de grappe (figure 2), Elles apparaissent au printemps et sont très aromatiques, forment des racèmes de petite taille à l'aisselle des feuilles. On différencie les fleurs femelles des fleurs mâles grâce à leur couleur, vert jaunâtre pour les femelles et rouge foncé pour les mâles.
- Les fleurs mâles et femelles poussent sur des arbustes différents, les mâles ont 5 petits sépales dont émergent 5 étamines rougeâtres reposant sur un disque nectarifère. Les femelles, à 3 ou 4sépales à un ovaire supère avec un style court à 3 stigmates. Floraison de Mars à Mai.
- **Fruit**, une baie globuleuse de 2 à 3 mm (figure 2), monosperme, remplie par nucléole de la même forme; d'abord rouge, il devient brunâtre à sa maturité, qui est complète l'automne.
 - **Mastic**, si l'on incise le tronc de ce végétal, il s'en écoule un suc résineux nommé mastic qui, une fois distillé, fournit une essence employée en parfumerie (**Ait youssef, 2006**).



Figure 01 : Arbuste de pistachier lentisque.



Figure 02 : Feuille, fleur, graine du *Pistacia lentiscus* (Tela Botanica, 2011)

2. Classification

Règne	: PLANTAE
Embranchement	: TRACHEOBIONTA – plantes vasculaires
Super-division	: SPERMATOPHYTA – Les plantes de la graine
Division	: MAGNOLIOPHYTA – plantes fleuries
Classe	: MAGNOLIOPSIDA
Sous-classe	: ROSIDAE
Ordre	: SAPINDALES
Famille	: ANACARDIACEAE – La famille du sumac
Genre	: PISTACIA L. – pistache
Espèce	: <i>PISTACIA LENTISCUS L.</i>

Nom vernaculaire

Arabe :Edhrou

Espagnol : Lentisco

Le pistachier lentisque se dénomme en dialecte local dans la région de Jijel (Algérie) : *trooutroo*; et dans la kabylie (Algérie): *amadagh*, et le fruit se dénomme *tidekt* (El Hamrouni, 2001).

3. Répartition géographique

Le genre botanique Pistacia (les Pistachiers) regroupe 9 espèces d'arbustes. Que l'on trouve couramment en sites arides ; Asie et région méditerranéenne de l'Europe et d'Afrique (Figure 3), jusqu'aux Canaries (Bellakhdar, 2003). *Pistacia lentiscus* pousse à l'état sauvage dans la garrigue et sur les sols en friche. On le retrouve sur tout type du sol, dans l'Algérie

subhumide et semi-aride (**Smail-Saadoun, 2002**), plus précisément dans le bassin du Soummam en association avec le pin d'Alep, le chêne vert et le chêne liège (**Belhadj, 2000**).

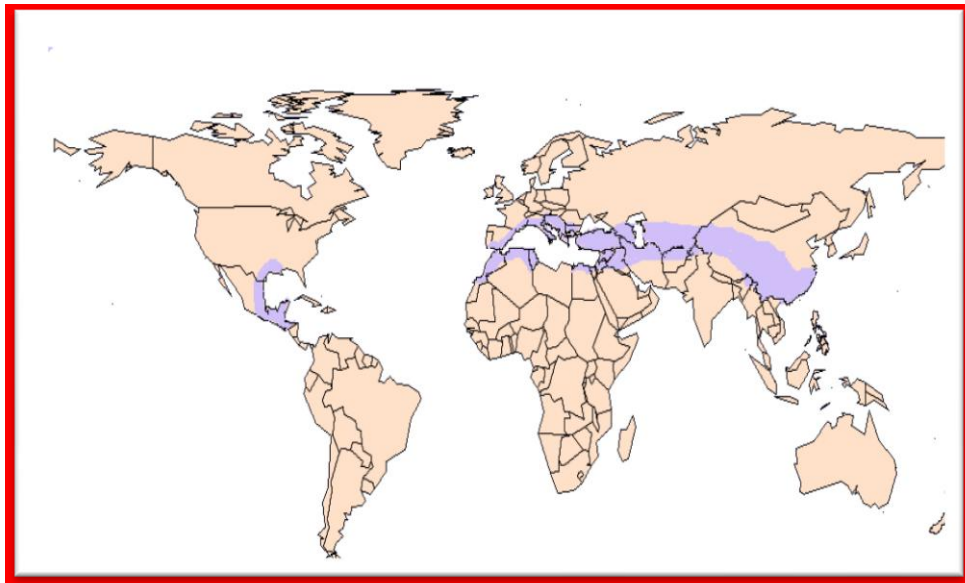


Figure 03: Distribution géographique de genre *pistacia*

(www.clarku.edu/departments/biology/biol110/Rachel/Shmook_webpage.ht)

4. Métabolites secondaires

Le terme métabolite secondaire est utilisé pour décrire une large gamme de composés chimiques dans les plantes (**Amlanetjyotisna, 2010**). Ils ont un rôle important dans les interactions de la plante avec son environnement tel que la protection contre les pathogènes, herbivores, et le stress abiotique (**Greathead, 2003**). Les métabolites secondaires sont divisés principalement en trois grandes familles : les composés phénoliques (polysphénols), les composés azotés (alcaloïdes) et les terpénoïdes (**Lutge et al., 2002**).

4.1. Les composés phénoliques

Les composés phénoliques présente une vaste classe de substance organique cyclique qui dérive du phénol C_6H_5OH (**Walton et Brown, 1999**). Sont présents dans toutes les parties des végétaux et sont impliqués dans de nombreux processus physiologiques comme la croissance cellulaire, ils sont largement utilisés en thérapeutique comme vasoconstrictrice, Anti-inflammatoire, inhibitrice enzymatiques, antioxydants et antimicrobiens (**Djemai, 2008**).

a. Les acides phénoliques

Ils appartiennent à deux groupes, les acides hydroxy benzoïques, dérivés de l'acide benzoïque, ont une structure de base de type C6-C1 et les acides hydroxy cinnamiques dont la structure de base (C6-C3) dérive de celle de l'acide cinnamique (**Vermerris et al., 2006**).

b. Les flavonoïdes

Sont des molécules considérées comme des pigments quasiment universels des végétaux, ils sont responsables de la coloration des fleurs, des fruits et parfois des feuilles. (**Djemai, 2008**). Ils sont constitués d'un cycle benzoïque présentant plusieurs groupements hydroxyles (figure 4) et pour cette raison ils sont nommés polyphénols. Ces groupements hydroxyles sont responsables de la fonction antioxydante des polyphénols (**Collin et Crouzet, 2011**).

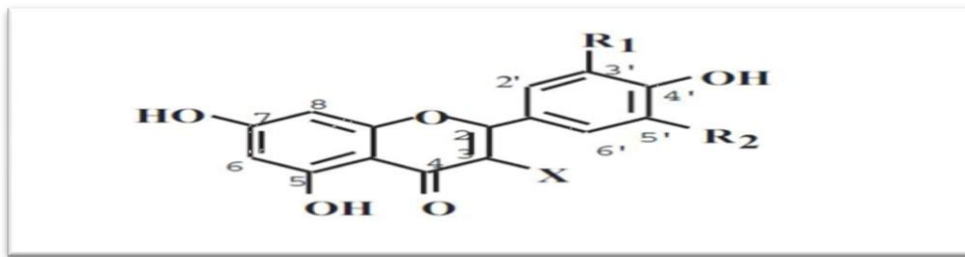


Figure 04 : Structure de base des flavonoïdes (**Lugasi et al., 2003**).

c. Les tanins

Sont dérivés en deux groupes principaux d'après leurs structures et leurs propriétés:

- **Les tanins hydrolysables**, qui sont des oligo ou des polyesters d'un sucre et d'un nombre variable d'acide phénol. Le sucre est généralement le D-glucose et l'acide phénol est soit l'acide gallique dans le cas des gallotannins, ou ellagique (figure 5) (**Cowan, 1999**).

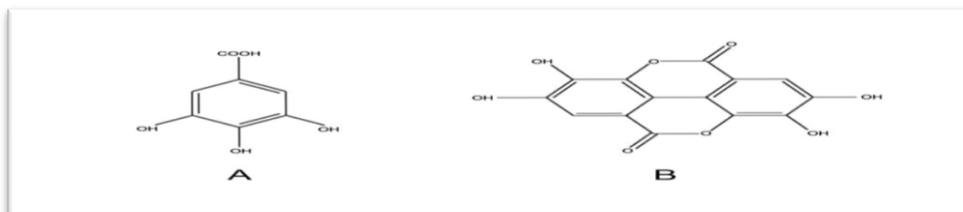


Figure 05: structure de l'acide gallique (A) et ellagique (B) (**Cowan, 1999**).

- **Les tanins condensés**, appelés aussi proanthocyanidine, sont largement répandus dans l'alimentation humaine. Ces tanins sont des oligomères ou polymères de flavan-3ols qui ont la propriété de libérer des anthocyanes en milieu acide à chaud par rupture de la liaison inter monomérique (figure 6) (**Guigniard, 1995**).

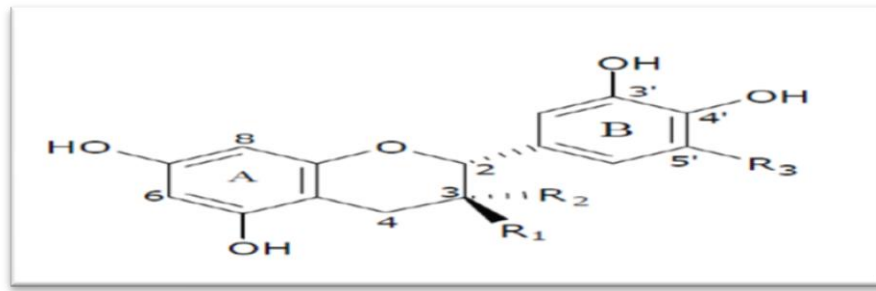


Figure 06: Structure des tanins condensés (Sarni et cheynier, 2006).

d. Les coumarines

Sont des composés aromatiques naturels (figure 7), largement distribués- dans le règne végétal, elles sont bénéfiques en cas d'affection cutanées (Gonzalez *et al.*, 2008).

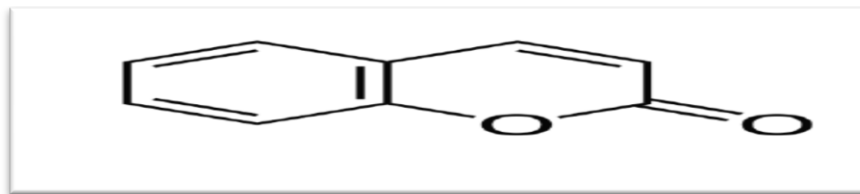


Figure 07: Structure de base des coumarines (Igor, 2002).

e. Les anthocyanes

Ce sont des pigments colorés responsables de la pigmentation des fleurs, des fruits et des grains (Samouelianet *al.*, 2003). Les anthocyanes possèdent une structure de base, le 2-phényl-1benzopyrylium (cation flavylum) constituée de trois cycles aromatiques, responsable du pouvoir absorbant (chromophore). Cette structure porte plusieurs fonctions hydroxyles dont l'une est glycosylée par des différents oses (glucose, galactose, rhamnose, arabinose), omigosides ou hétérosides (figure 8) (Samouelianet *al.*, 2009).

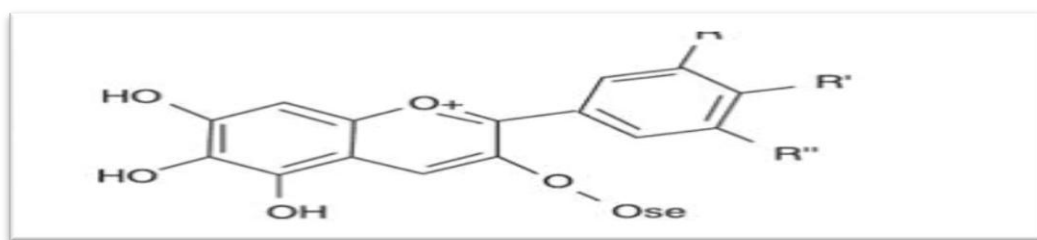


Figure 08 : Structure de base des anthocyanes (Samouelianet *al.*, 2009).

4.2. Les composés azotés (les alcaloïdes)

On distingue trois classes d'alcaloïdes.

- **Alcaloïdes vrais**, sont bio synthétiquement formés à partir d'un acide aminé et comporte un atome d'azote dans un système hétérocyclique, exemple hyoscyamine (figure 9).
- **Pseudo-alcaloïdes**, représentent le plus souvent toutes les caractéristiques des alcaloïdes vrais, mais ne sont pas dérivés des acides aminés, exemple : conine(figure 9).

• **Proto-alcaloïdes**, sont des amines simples dont l'azote n'est pas inclus dans le système hétérocyclique, exemple : cathionone (figure 9)(Bruneton, 1999).

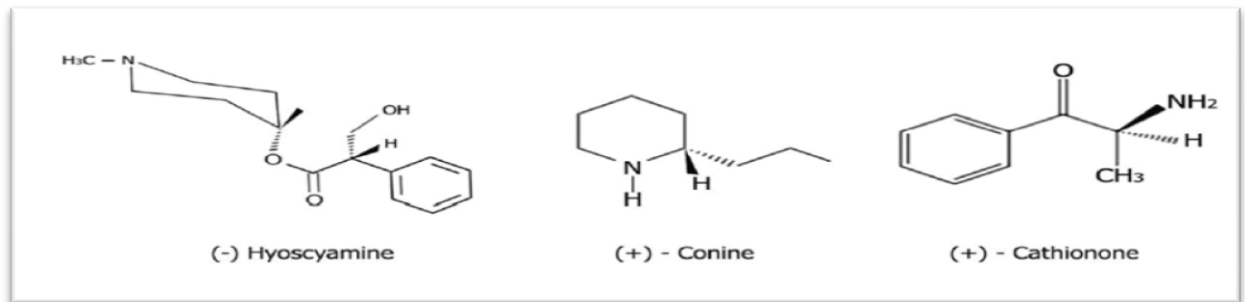


Figure 09 : Exemples des classes des alcaloïdes (Tadeusz, 2007).

4.3. Les terpénoïdes (isoprénoïdes)

Sont des molécules de faible poids moléculaire, volatiles, dérivés de l'isoprène (C_5H_8)(figure 10), et entrant dans la composition des huiles essentielles (Yarnell, 2007). Leur classification est illustrée dans le tableau I(Garvey et Croteau, 1995).

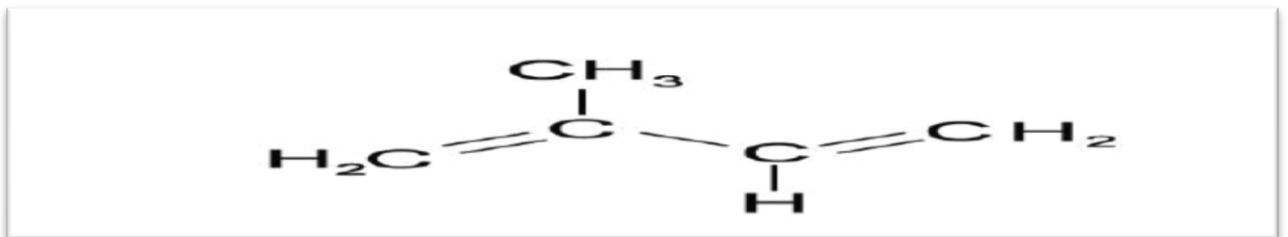


Figure 10 : Structure de la molécule d'isoprène (Loomis et Caroteau, 1980).

Tableau 01: Classification des terpénoïdes (Mc-Garvey et Croteau, 1995).

classes	Formule brute	N° d'isoprène
Monoterpènes	$C_{10}H_{16}$	2
Sesquiterpènes	$C_{15}H_{24}$	3
Diterpènes	$C_{20}H_{32}$	4
Sesterpènes	$C_{25}H_{40}$	5
Triterpènes	$C_{30}H_{48}$	6
Tétraterpènes	$C_{40}H_{64}$	8
Polyterpènes	$(C_5H_8)_n$	45-30000

5. Principaux métabolites secondaires isolés de l'espèce *pistacia lentiscus*

La plante est connue pour contenir une huile essentielle et fixe (Grosjean, 2007), une huile grasse (Charef et al., 2008), des tanins condensés et hydrolysables (Abbas, 2007), des

glycosides flavonoïques (**Vaya et Mahmood, 2006**), des anthocyanes (**Longo et al., 2007**), une résine « mastic dechio » (**Leonti et al., 2001**), et des triterpènes (**Atmani et al., 2002**).

De la résine extraite du tronc et des tiges de *Pistacia lentiscus* sont été isolé une huile essentielle, riche en monoterpènes en quantité majoritaire, des monoterpénols et des Sesquiterpènes en quantité moyenne, et des esters terpéniques en quantité mineure (**Grosjean, 2007**).

Des feuilles de *Pistacia lentiscus* sont été isolées des tanins proanthocyanidiques et galliques, Des glycosides flavonoïdes et des anthocyanes, et des dérivés à noyau gallique et quinique (**Longo et al., 2007**).

1. Usage thérapeutique

Les espèces du genre *Pistacia* occupent une place appréciable dans la médecine traditionnelle et pharmaceutique depuis l'antiquité. Elles attirent l'attention des chercheurs grâce à ces potentiels antioxydants et ces activités antimicrobienne et anti-inflammatoire (**Benhammou et al., 2008**).

P. lentiscus est connu pour ses propriétés médicinales. L'huile essentielle et la gomme de cette plante ont été largement utilisées comme aliment et boissons additifs par les médecines traditionnelles de la région méditerranéennes depuis les anciens temps comme les Grecs et les Egyptiens, sans aucune toxicité rapportée chez l'humain (**Ghalem et Mohamed, 2009**). L'usage de plantes, peut-être perçu comme une alternative aux médicaments conventionnels (**Boukeloua, 2009**). Elle possède de nombreuses propriétés biologiques, parmi lesquelles on cite les plus importantes :

- ✓ des racines séchées sont efficaces contre l'inflammation intestinale et d'estomac ainsi que dans le traitement de l'ulcère (**Ouelmouhoub, 2005**).
- ✓ La résine obtenue de *Pistacia lentiscus* est connue par son effet, analgésique, antibactérien, antifongique et antioxydant. le mastic est souvent cité comme un remède efficace contre certaines maladies telles que l'asthme, diarrhée, infections bactériennes, ulcères gastro-duodénaux et comme un agent antiseptique du système respiratoire. La résine a été traditionnellement considérée comme un agent anti cancéreux, en particulier contre les tumeurs du sein, du foie, de l'estomac, de la rate, et de l'utérus (**Assimopoulou et Papageorgiou, 2005**).
- ✓ La partie aérienne de *Pistacia lentiscus* est largement utilisée en médecine traditionnelle dans le traitement de l'hypertension artérielle grâce à ses propriétés diurétiques (**Baba Aissa, 2000**).
- ✓ La médecine traditionnelle algérienne utilise surtout l'huile grasse obtenue par expression des fruits de lentisque dans le traitement des petites blessures, brûlures légères et érythèmes.

L'huile est aussi employée par voie orale contre les problèmes respiratoires d'origine allergique et les ulcères de l'estomac. Ces usages sont surtout répandus à l'Est du pays (région d'El-Milia, Skikda, Guelma). En revanche, l'huile de lentisque est connue pour ses vertus thérapeutiques en ce qui concerne les problèmes lymphatiques et circulatoires. Des travaux précédents sur les huiles essentielles de *Pistacia lentiscus* révèlent la présence de certaines activités antimicrobienne, antioxydante, anti-inflammatoire (**Gardeli et al., 2008**).

2. Activités biologiques

2.1. Activité antibactérienne

Lorsque l'on parle d'activité antibactérienne, on distingue deux sortes d'effets :

- ❖ Une activité létale (bactéricide) : c'est la propriété de tuer les bactéries dans des conditions définies ;
- ❖ Une inhibition de la croissance (bactériostatique) : inhibition momentanée de la multiplication d'une population (**Hammer, 1999**).

L'activité antimicrobienne d'huiles et des extraits de plantes forme la base de beaucoup d'applications, y compris, la conservation des aliments (**Sagdic et al., 2002**). Les propriétés antibactériennes des extraits et de l'huile essentielle de feuilles de lentisque ont été évaluées *in vitro* par la méthode de diffusion sur gélose (ou méthode des disques) (**Collins et al., 2004**).

L'huile essentielle obtenue par hydrodistillation de feuilles de *Pistacia lentiscusa* été étudiée *in vitro* vis-à-vis de sept souches bactériennes :

- **Gram +** : *Bacillus cereus*, *S. aureus* ATCC 1894,
- **Gram-** : *Enterobacter cloacae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *P. aeruginosa* ATCC 1893, *Escherichia coli*, *Salmonella enteritidis*.

Les différents extraits aqueux ont une activité inhibitrice sur la croissance *in vitro* des souches bactériennes testées, l'huile essentielle est inefficace contre *Salmonella enteritidis* et *Escherichia coli* et peu actifs contre *Pseudomonas aeruginosa*. Les résultats montrent que l'huile est dotée d'une activité antibactérienne intermédiaire vis-à-vis de *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*. Les bactéries *Escherichia coli* et *Salmonella enteritidis* sont résistantes à l'action aussi bien des extraits aqueux que de l'huile (**Benhammou et al., 2008**). La sensibilité des bactéries Gram + aux extraits aqueux est attribuée à leur membrane. *Pistachier lentisque* a également montrée une activité antibactérienne contre *Helicobacter pylori* (**Huwez et al., 1998**).

2.2. Activité antifongique

L'huile essentielle a montré une activité inhibitrice de la croissance de *Rhizoctonia solani*, *Fusarium sambucinum* et *Candida albicans* et *Fusarium* plus importante que celle des *Penicillium* (**El Idrissi et al., 2016**).

2.3. Activité antioxydante

2.3.1. Le Stress Oxydatif et les Radicaux libres

Le « stress oxydatif métabolique » est défini comme un état tissulaire particulier qui perturbe l'homéostasie de nos cellules, qui se caractérise comme un déséquilibre entre les tissus qui génèrent des radicaux libres dérivés de l'oxygène et l'ensemble des réactions mises en jeu pour rétablir l'équilibre (Halliwell *et al.*, 2007 ;BENARIBA *et al.*, 2015).

Le stress oxydant est défini comme étant le résultat d'un déséquilibre entre la production de composés pro-oxydants et leur élimination (Zerargui, 2015).

Un radical libre est défini comme toute molécule possédant un ou plusieurs électrons non appariés. De par sa structure particulière il a tendance à attirer les électrons d'autres atomes et molécules pour gagner sa stabilité (Bouhajra K, 2011)

a. Nature des radicaux libres

❖ Espèces réactives dérivées de l'oxygène (ERO)

Les Espèces Réactives de l'Oxygène peuvent être produites dans n'importe quel type cellulaire, et ce même en conditions normales (Rutkowski *et al.*, 2007). Les ERO peuvent être radicalaires (radicaux libres de l'oxygène proprement dit) ou non-radicalaires (certains dérivés oxygénés réactifs ne possédant pas d'électron célibataire) **Tableau 02.**

Les différentes espèces réactives de l'oxygène sont le radical superoxyde, perhydroxyle, hydroxyle, peroxyde, alkoxyde (Gardes-Albert *et al.*, 2003).

Tableau 02 : Les principales espèces réactives des l'oxygène (Migdal ; 2011)

Espèces Radicalaires		Espèces Non Radicalaires	
Anion superoxyde	$O_2^{\cdot-}$	Peroxyde d'hydrogène	H_2O_2
Radical hydroxyle	HO^{\cdot}	Acide hypochloreux	$HOCl$
Monoxyde d'azote	$\cdot NO$	Peroxynitrite	$ONOO^{\cdot}$
Grande instabilité : stabilisation par réaction avec les constituants cellulaires.		Eléments de décomposition pour la détoxification par les systèmes de défense enzymatique.	

❖ Espèces réactives dérivées de l'azote (ERA)

Les Espèces Réactives de l'Azote (ERA) sont également possédant à la fois des capacités oxydantes et nitrifiantes (Bertrand, 2008).

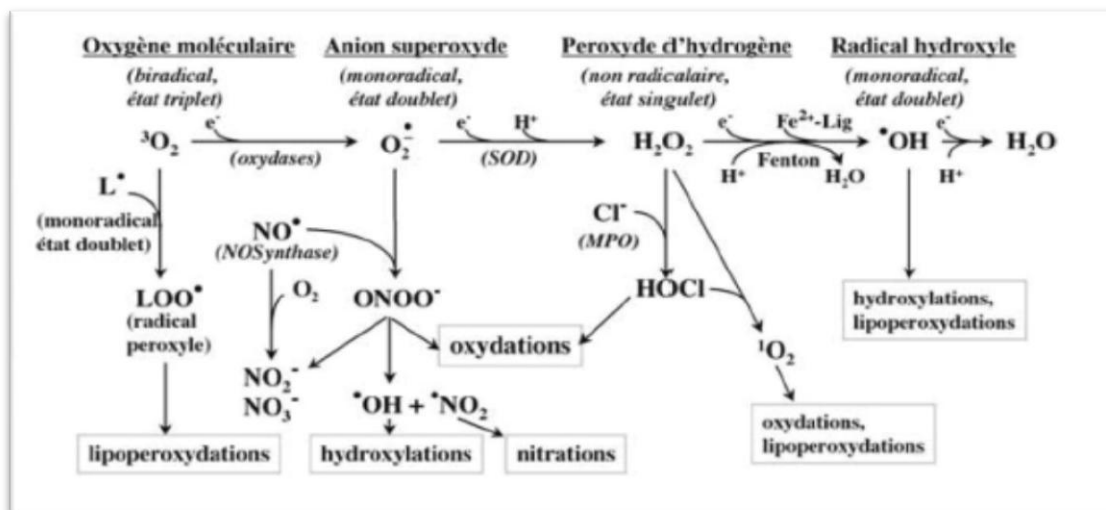


Figure 11: Principales espèces réactives de l'oxygène (Debydupont,G et al. 2002) .

b. Conséquences biochimiques du stress oxydant

Le stress oxydant est étroitement lié au vieillissement cellulaire et à de nombreuses pathologies (Halliwell et Gutteridge, 1984). Les Espèces Réactives de l'Oxygène réagissent avec de nombreuses molécules, ce qui entraîne certaines modifications de ces dernières. Elles perdent alors leur activité au sein de la cellule et cela a un impact sur le fonctionnement cellulaire physiologique (Guillouty, 2016).

2.3.2. Les antioxydants

Le radical libre arrache un électron à l'antioxydant et non pas aux constituants de nos cellules. Grâce à cette réaction, le radical libre devient stable. C'est un déchet sans danger qui sera éliminé naturellement par l'organisme. L'antioxydant, auquel il manque un électron, a l'avantage de ne pas se transformer en radical libre. IL est défini par Halliwell comme : « toute substance, qui en faible concentration par apport au substrat susceptible d'être oxydé, prévient ou ralentit l'oxydation de ce substrat » (Bouhadjra, 2011).

Pour se protéger des effets délétères des EOA, l'organisme dispose d'un ensemble complexe de défenses antioxydantes (Figure12). On distingue deux sources d'antioxydants : l'une est apportée par l'alimentation sous forme de fruits et légumes riches en vitamines C, E, caroténoïdes, ubiquinone, flavonoïdes, glutathion ou acide lipoïque; l'autre est endogène et se compose d'enzymes (superoxyde dismutase (SOD), glutathion peroxydase, catalase), de protéines (ferritine, transferrine, céruléoplasmine, albumine) et de systèmes de réparation des dommages oxydatifs comme les endonucléases (Halen et al., 2007).

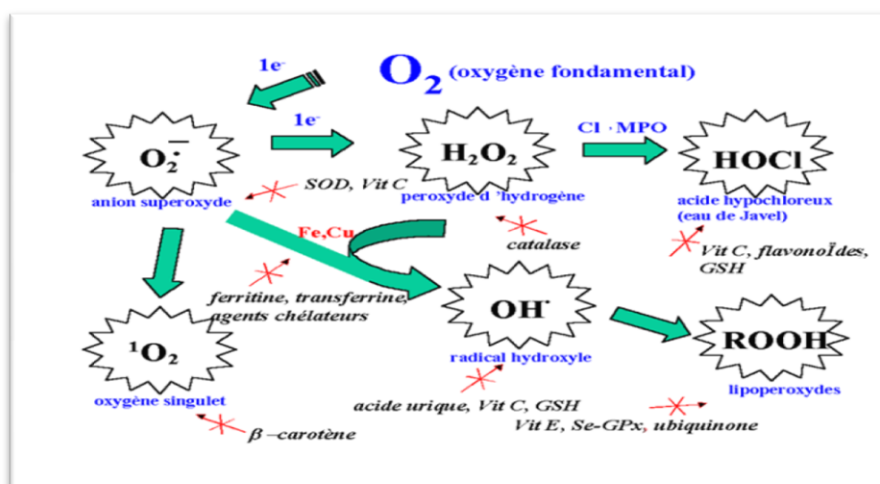


Figure 12 : Espèces Réactives Oxygénées et systèmes de protection antioxydant (**Benbrinis, 2012**).

2.3.3. Activité antioxydante de pistacia

Les polyphénols sont des molécules organiques hydrosolubles largement retrouvées dans notre plante. Ils sont issus du métabolisme secondaire de la plante. Ils sont principalement synthétisés par la voie du shikimate. Cette voie métabolique est présente uniquement chez les bactéries, champignons et les plantes. C'est pourquoi l'alimentation apporte des acides aminés essentiels non synthétisés par le corps humain (**Hoffmann, 2003**).

Ce sont d'excellents piègeurs des EOA et de très bons chélateurs des métaux de transition comme le fer et le cuivre (**Guillouty, 2016**).

Respectivement ces activités biologiques intéressantes peuvent expliquer que, depuis 2014, le Pistachier lentisque fait partie de la liste des plantes utilisables dans les compléments alimentaires en France et au sein de la communauté européenne (Arrêté du JORF du 24 juin 2014). Comme il constitue une matière végétale naturelle, disponible à faible coût, il serait dès lors judicieux de tester son potentiel comme agent de conservation (**Debbabi et al., 2017**).

1. Définition

L'huile essentielle est le parfum des plantes aromatiques. Elle s'appelle aussi l'essence ou l'huile volatile qui est un produit de composition généralement assez complexe renfermant les principes volatiles contenus dans les végétaux et plus ou moins modifiés au cours de la préparation (Bruneton, 1999).

2. Localisation et répartition

Les huiles essentielles se forment dans le cytosol des cellules où, soient elles se rassemblent en gouttelettes comme la plupart des substances lipophiles, soit s'accumulent dans les vacuoles des cellules épidermiques ou des cellules du mésophylle de nombreux pétales (Gerhard, 1993). D'autres structures histologiques spécialisées souvent localisées sur ou à proximité de la surface de la plante sont impliquées dans l'accumulation des huiles volatiles. Ces structures regroupent les poils et les canaux secteurs et les poches sécrétrices (Bruneton, 1999).

3. Fonction

Le rôle des terpénoïdes des huiles essentielles demeure le plus souvent obscur. Cependant, à l'appui des expérimentations, certains auteurs remarquent que certains d'entre eux ont un rôle écologique soit dans le domaine des interactions végétales (agent allélopathiques, notamment des inhibiteurs de germination) que dans celui des interactions végétal-animal ; protection contre les prédateurs de la plante (insectes, champignons) et attraction des pollinisateurs.

Pour quelques auteurs, ils pourraient constituer des supports à une « communication » et ce d'autant mieux que leur variété structurale autorise le transfert de « messages biologiques » sélectifs (Bruneton, 1999).

4. Procédés d'extraction

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

4.1. Par distillation à la vapeur d'eau (Hydro-distillation)

Elle consiste à immerger directement le matériel végétal à traiter dans un alambic rempli d'eau qui est ensuite portée à ébullition. Les vapeurs hétérogènes sont condensées sur une surface froide et l'huile essentielle se sépare par différence de densité (Bruneton, 1999).

4.2. Entraînement à la vapeur d'eau

Le matériel végétal n'est pas en contact avec l'eau, la vapeur d'eau est injectée au travers de la masse végétale disposée sur une grille perforée au-dessus de la base de l'alambic. La vapeur pénètre les tissus de la plante et vaporise toutes les substances volatiles en éclatant les cellules (**Bdaiche, 1979**).

4.3. Hydrodiffusion

Elle consiste à pulser de la vapeur d'eau à très faible pression (< 0.1 Bar) à travers la masse végétale, du haut vers le bas (**Buchbauer, 2000 in Lahlou, 2004**).

5. Composition chimique

Les constituants des huiles essentielles appartiennent à deux grands groupes, les terpénoïdes d'une part et les composés aromatiques dérivés du phénylpropane, beaucoup moins fréquents d'autre part. Elles peuvent également renfermer divers produits issus de processus dégradatifs mettant en jeu des constituants non volatils (**Bruneton, 1999**).

- **Dérivés terpéniques**

Les terpènes les plus volatils dont la masse moléculaire n'est pas trop élevée sont les mono- et sesquiterpènes qui sont des hydrocarbures avec une formule générale $(C_5H_8)_n$ (**Svoboda et al., 1999**).

- **Les monoterpènes (C 10)** sont issus du couplage de deux unités « isopréniques », ils peuvent être acycliques (myrcène, ocimène), monocycliques (α - et γ -terpinène, p-cymène) ou bicycliques (pinène, camphène, sabinène). Ils constituent parfois plus de 90% de l'huile essentielle.

- **Les sesquiterpènes (C 15)** dont les variations structurales sont de même nature que les monoterpènes, carbures, alcools et cétones étant les plus fréquents.

L'allongement de la chaîne farnésyldiphosphate (FPP) accroît le nombre des cyclisations possibles, d'où la très grande variété des structures connues (**Bruneton, 1999**).

- **Composés aromatiques**

Ces composés sont des dérivés du phénylpropane; il s'agit des noyaux aromatiques couplés de chaînes de 3 carbones (C3-C3) donnant naissance à de nombreuses molécules chimiques voisines les unes des autres (**Anton et Wichtel, 1999**).

On trouve également dans les huiles essentielles des composés en C6-C1 comme la vanilline.

- **Composés d'origines diverses**

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

- ✓ Composés issus de la dégradation d'acides gras;
- ✓ Composés issus de la dégradation des terpènes;
- ✓ Composés azotés ou soufrés (**Bruneton, 1999**).

1. Matériel

1.1. Matériel végétal

La plante *pistacia lentiscusa* était récoltée le mois de Février 2017 de la région EL M'hir, Wilaya de Bordj Bou Arreridj, Algérie.

2. Méthodologie

2.1. Séchage de la plante

Les feuilles de la plante ont été séchées à l'air libre, à l'abri de la chaleur et de la lumière pendant trois semaines (figure 13).

2.2. Broyage

Une fois séchée le matériel végétal a été broyée dans un broyeur électrique jusqu'à l'obtention d'une poudre (figure 14), puis conservé dans des flacons, en verre hermétiquement fermés à l'abri de la lumière, de l'humidité et de la chaleur jusqu'à son utilisation.



Figure 13: feuilles séchées.



Figure 14 : Poudre de plante.

I. Activité Antioxydante *in vitro* de la plante

1.1. Préparation de l'extrait brut

L'extrait méthanolique de la partie aérienne de *pistacia lentiscus* est préparé par macération selon la méthode de Motamed et Naghibi (2010). 100 g de poudre de plante a été mise à macérer pendant 72h dans 250ml de méthanol absolu sous agitation magnétique pendant 30 minutes, puis, a été filtré sur papier Wattman. L'extrait récupéré par filtration est soumis à une évaporation du méthanol sous pression réduite à 40°C dans un rota vapeur. La solution obtenue est séchée pour obtenir une poudre brun foncée. Le résidu sec pesé est conservé à 4°C jusqu'à son utilisation (figure15) (Falleh *et al.*, 2008).

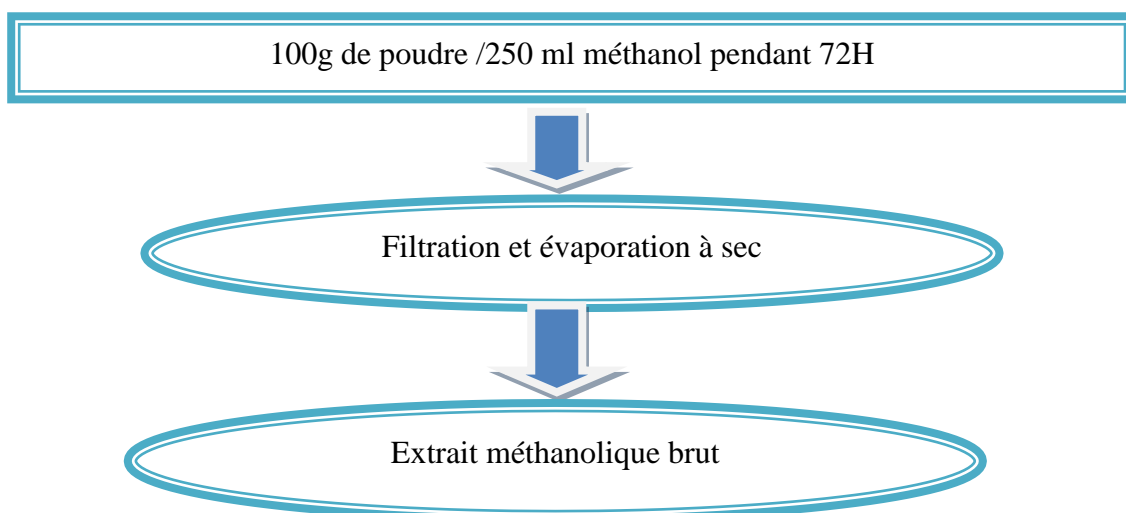


Figure 15: Protocole de préparation de l'extrait méthanolique de la plante *pistacia lentiscus*. (Motamed et Naghibi ; 2010).

Le rendement est la quantité d'extraction obtenue à partir d'une matière végétale, en extrait brut sec méthanolique est exprimé en % par rapport à la matière sèche initialement utilisée (Bssaibiset *al.*, 2009). Le rendement est calculé par la formule suivante :

$$\text{Rdt (\%)} = \frac{M}{M_0} \times 100 \quad \text{où :}$$

R (%) : Rendement exprimé en %.

M: Masse en gramme de l'extrait sec résultant.

M₀: Masse en gramme du matériel végétal à traiter.

1.2. Pouvoir antioxydant

Le pouvoir antioxydant de l'extrait méthanolique a été évalué *in vitro* en utilisant deux tests, le test du DPPH[•], le test de réduction du Fer : FRAP.

1.2.1. Test du DPPH

A. Principe

Le DPPH est un radical libre stable de couleur violacée qui absorbe à 517 nm. En présence des composés anti-radicalaires, le radical DPPH est réduit et change de couleur en virant au jaune. Le DPPH réagit avec un antioxydant par arrachement d'un hydrogène, il se forme alors le 2,2-diphénylhydrazine DPPH-H (figure16).

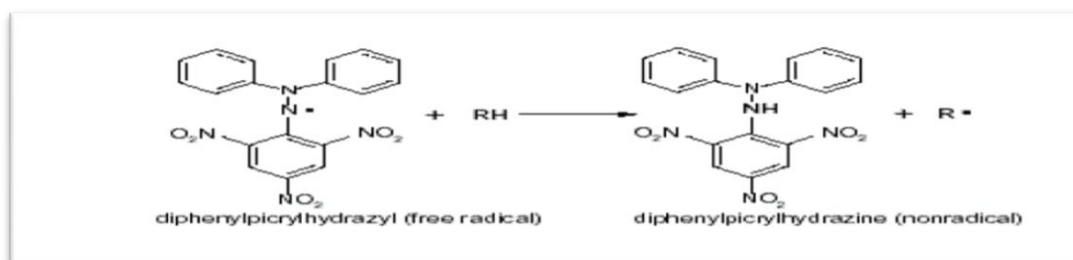


Figure 16 : Forme libre et réduite du DPPH (Brand-williams et *al.*,1995).

B. Mode opératoire

La solution DPPH est préparée par solubilisation de 0.025 mg de DPPH dans 1 ml dans du méthanol. Un volume de 1.5ml des solutions de l'extrait ou de standard (acide ascorbique) de différentes concentrations (30-200 µg/ml pour l'extrait et 0.5-8 µg/ml pour l'aide ascorbique) sont mélangés avec 50 µl de la solution méthanolique de DPPH. Après 30 minutes d'incubation à l'obscurité et à température ambiante, l'absorbance du milieu réactionnel est mesurée à 517 nm.

Le contrôle négatif est réalisé en remplaçant l'échantillon par le méthanol, le blanc contient le méthanol et l'échantillon.

Les résultats sont exprimés en pourcentage d'inhibition de DPPH[•], ce pourcentage est calculé selon la formule suivante :

$$I\% = ((Ac - At) / Ac) * 100$$

Ac : absorbance du contrôle négatif.

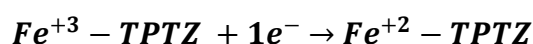
At : absorbance de l'extrait testé.

La valeur IC50 est la concentration de l'échantillon qui assure la réduction de 50% de l'activité du DPPH à été déterminée graphiquement (**Samarth et al., 2008**). Elle a été exprimée en µg/ml et comparée avec celui de l'acide ascorbique.

1.2.2. Test de réduction du Fer : FRAP (*Ferricreducing antioxydant power*)

A. Principe

Le pouvoir réducteur d'un extrait est associé à son pouvoir antioxydant. L'activité réductrice du fer de notre extrait est déterminée selon la méthode décrite par **Pan et al., 2008**, basée sur la réaction chimique de réduction du Fe⁺³ présent dans le complexe K₃Fe(CN)₆ en Fe⁺². La réaction est révélée par le virement de couleur jaune du fer ferrique (Fe⁺³) en couleur bleu-vert du fer ferreux (Fe⁺²). Cette capacité réductrice peut servir comme un indicateur significatif de l'activité antioxydante potentielle d'un composé. L'absorbance du milieu réactionnel est déterminée à 700nm. (figure 17), selon la réaction suivante :



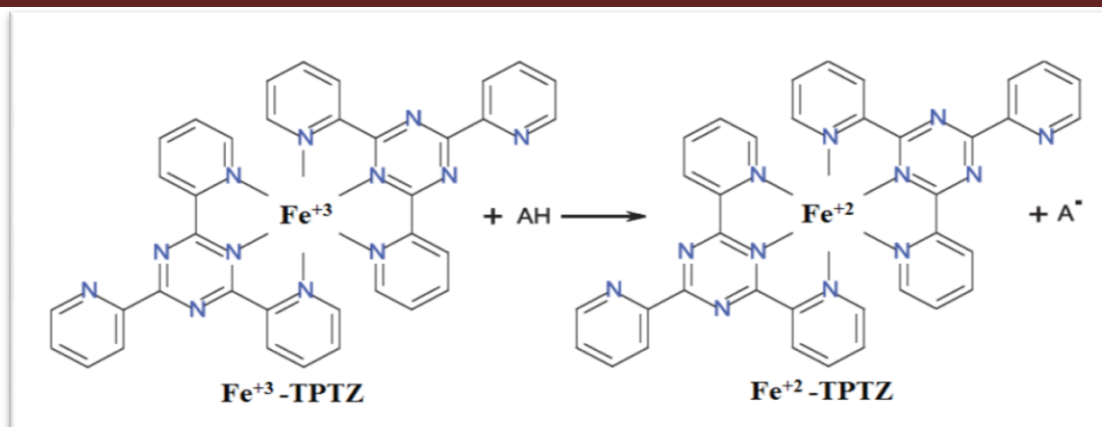


Figure 17 : Réduction du complexe Fe³⁺-TPTZ en Fe²⁺-TPTZ par un antioxydant (Toure, 2015).

B. Mode opératoire

Un volume de 1ml de l'échantillon à différentes concentrations (0.1-1mg/ml) est mélangé avec 2.5 ml d'une solution tampon phosphate 0.2 M (pH = 6.6) et 2.5 ml d'une solution de K₃Fe(CN)₆ à 1%. Le tout est incubé à 50°C pendant 20 minutes, puis refroidi à la température ambiante. Ensuite, 2.5 ml d'acide trichloracétique à 10 % sont ajoutés pour arrêter la réaction. Après, centrifugation des tubes à 3000 rpm pendant 10 minutes, 2.5 ml du surnageant sont ajoutés à 2.5 ml d'eau distillée et 500µl d'une solution de (FeCl₃, 6H₂O) à 0.1%. La lecture des absorbances se fait contre un blanc à 700 nm.

L'acide ascorbique est utilisé comme contrôles positifs dans les mêmes conditions expérimentales.

Pour explorer les résultats obtenus, on a tracé le graphe des absorbances obtenues en fonction des différentes concentrations utilisées. L'augmentation de l'absorbance correspond à une augmentation du pouvoir réducteur des fractions testées.

II. Activité antifongique *in vitro* de la plante

2.1. Souche fongique

Le matériel fongique a été représenté par un isolat de *Fusarium oxysporum* sp. *ciceri* (FOC) ; agent responsable du flétrissement vasculaire du pois chiche. Cet isolat est originaire de la région de Sidi Bel Abbas (Algérie), a été isolé à partir des tiges de pois chiche présentant les symptômes de la maladie. La souche a été fournie gracieusement par le laboratoire de phytopathologie, Université de Bordj Bou Arréridj.

2.2. Extraction des huiles essentielles

Actuellement, il existe de nombreuses méthodes d'extraction des composés volatils basées, les unes sur l'entraînement à la vapeur d'eau, les autres sur l'extraction par les solvants organiques.

En effet, le choix de la méthode la mieux adaptée se fait en fonction de la nature de la matière végétale à traiter, des caractéristiques physico-chimiques de l'essence à extraire, de l'usage de l'extrait et l'arôme du départ au cours de l'extraction (Si moussa *et al.*, 2009).

L'extraction des huiles essentielles a été effectuée par hydro-distillation selon le protocole décrit par (Boukhatemet *et al.*, 2010), dans un appareil de type Clevenger, trois distillations ont été réalisées par ébullition, pendant 3h, de 200 g de la matière végétale avec un litre de l'eau distillée dans un ballon de 2 litre surmonté d'une colonne de 60 cm de longueur reliée à un réfrigérant. L'huile essentielle obtenue est conservée à l'obscurité au réfrigérateur à 4°C (Si moussa *et al.*, 2009). A cause de leur évaporation rapide, leur sensibilité à l'air et à la lumière ; les huiles essentielles doivent être conservées en flacons opaques et étanche c'est-à-dire fermés hermétiquement (figure 18) (Afnor, 2000).

Selon la norme AFNOR, (1986), le rendement en huile essentielle (RHE), est défini comme étant le rapport entre la masse de l'huile essentielle obtenue après extraction et la masse de la matière végétale utilisée.

Le rendement est exprimé en pourcentage (%) et calculé par la formule suivante :

$$RHE (\%) = \frac{mh}{mv} \times 100$$

RHE = rendement en huile essentielle en %.

Mh = masse d'huiles essentielles récupérées en gramme (g).

mv = masse d'essai du matériel végétal en gramme (g) (Selvakumar *et al.*, 2012)

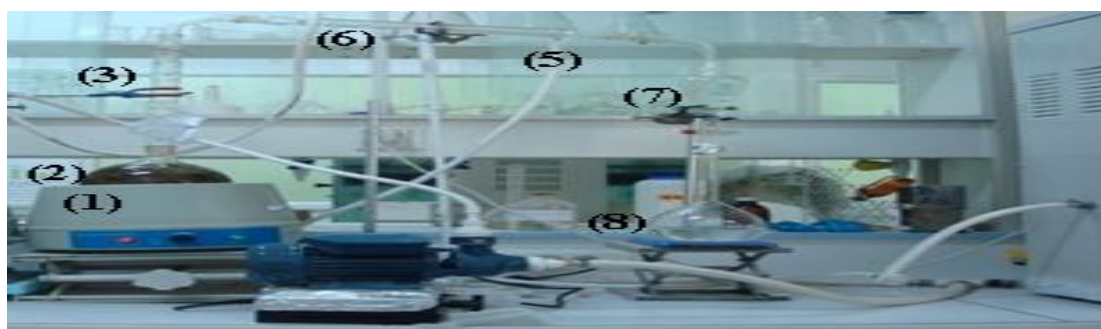


Figure 18: Dispositif d'extraction de type de Clevenger, (1928) modifié.

1-Chauffe ballon. 2-Eau + biomasse végétale. 3-Colonne. 4-Thermomètre.

5-Eau de refroidissement. 6-Réfrigérant. 7- Huiles essentielles 8 -Hydrolat.

◆ Conservation d'extrait

Très volatiles par nature, les HE peuvent rapidement perdre leurs propriétés très vite elles commencent à vieillir généralement au bout de 6 mois, au mieux elles peuvent conserver leurs propriétés thérapeutiques pendant environ trois ans. Pour cela, elles doivent être impérativement gardées à l'abri de la lumière et de chaleur, et contenues dans des flacons en verre (figure 19).



Figure 19: les flacons en verre teinté contenant des huiles essentielles.

2.3. Évaluation de l'activité antifongique**2.3.1. Méthode de contact direct****A. Principe**

L'huile essentielle à tester est incorporée à des concentrations variables dans le milieu de culture (PDA). Après solidification, le milieu estensemencé et incubé.

Les résultats donnent le CMI qui est définie comme étant la plus faible concentration pour laquelle nous n'observons pas de croissance à l'œil nu (**Tantaoui et al., 1992 ; fandohan,2004**).

B. Mode opératoire**a. Préparation des milieux de culture contenant différentes concentrations d'huiles essentielles**

Compte tenu de non miscibilité des huiles à l'eau et par conséquent au milieu de culture, une mise en émulsion de ces huiles a été réalisée par le tween 80 (3%) (figure 20) afin d'obtenir dans le milieu une répartition homogène des composés à l'état dispersé (**Belabidet al.,2010**).

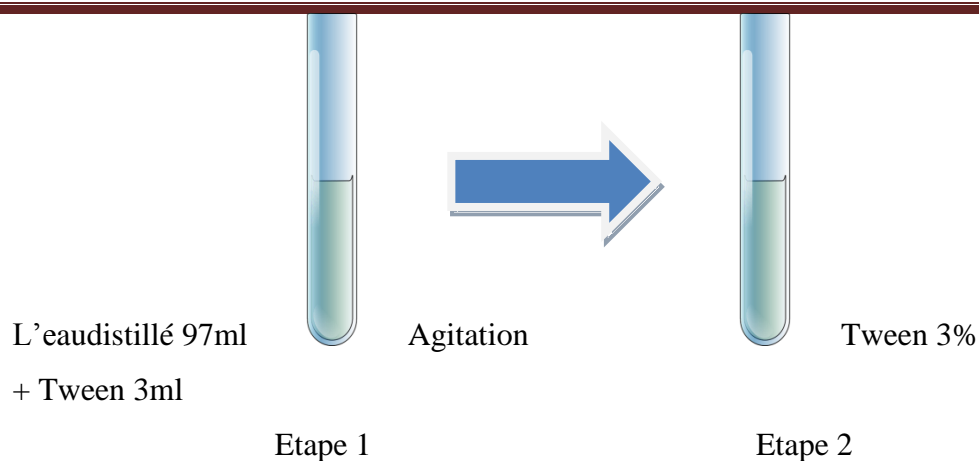


Figure 20 : La préparation de tween 3 % pour la dilution d'huile essentielle.

Les milieux de différentes concentrations de 0.01-1% en huile essentielle avec le tween 80 (figure20), sont incorporés dans le milieu de culture PDA (Potato Dextrose Agar) après autoclavage à 121°C pendant 30 min.

Ces concentrations sont préparées de la façon suivante :

- **Milieu 1 :** (témoin) : 50ml PDA+ sans HE ;
- **Milieu 2:**48ml PDA+500 µl HE+1.5ml tween 80 ;
- **Milieu 3:** 48.250ml PDA+250 µl HE+1.5ml tween 80 ;
- **Milieu 4:** 48.375ml PDA+125 µl HE +1.5ml tween 80 ;
- **Milieu 5:**48.475mlPDA+25 µl HE+1.5ml tween 80 ;
- **Milieu 6:**48.495mlPDA+5 µl HE +1.5ml tween 80.

b. Ensemencement et incubation des boîtes de pétri

Le mélange de chaque milieu, est coulé dans des boîtes de pétri de 90mm de diamètre (figure 21).A l'aide d'un embout stérile, nous découpons un fragment de culture fongique d'environ 0.6 cm de diamètre à partir d'un tapis mycélien âgée de 7 jour, est déposé au centre de la boîte de pétri (figure)Nous opérons de la même façon pour chaque concentration d'huile essentielle, les boîtes de pétri sont ensuite fermées hermétiquement par le para film et incubées à 25°C pendant 7 jours (figure21).Pour chaque concentration 4 répétitions sont préparées, afin de minimiser l'erreur expérimentale(Belabid et al.,2010).

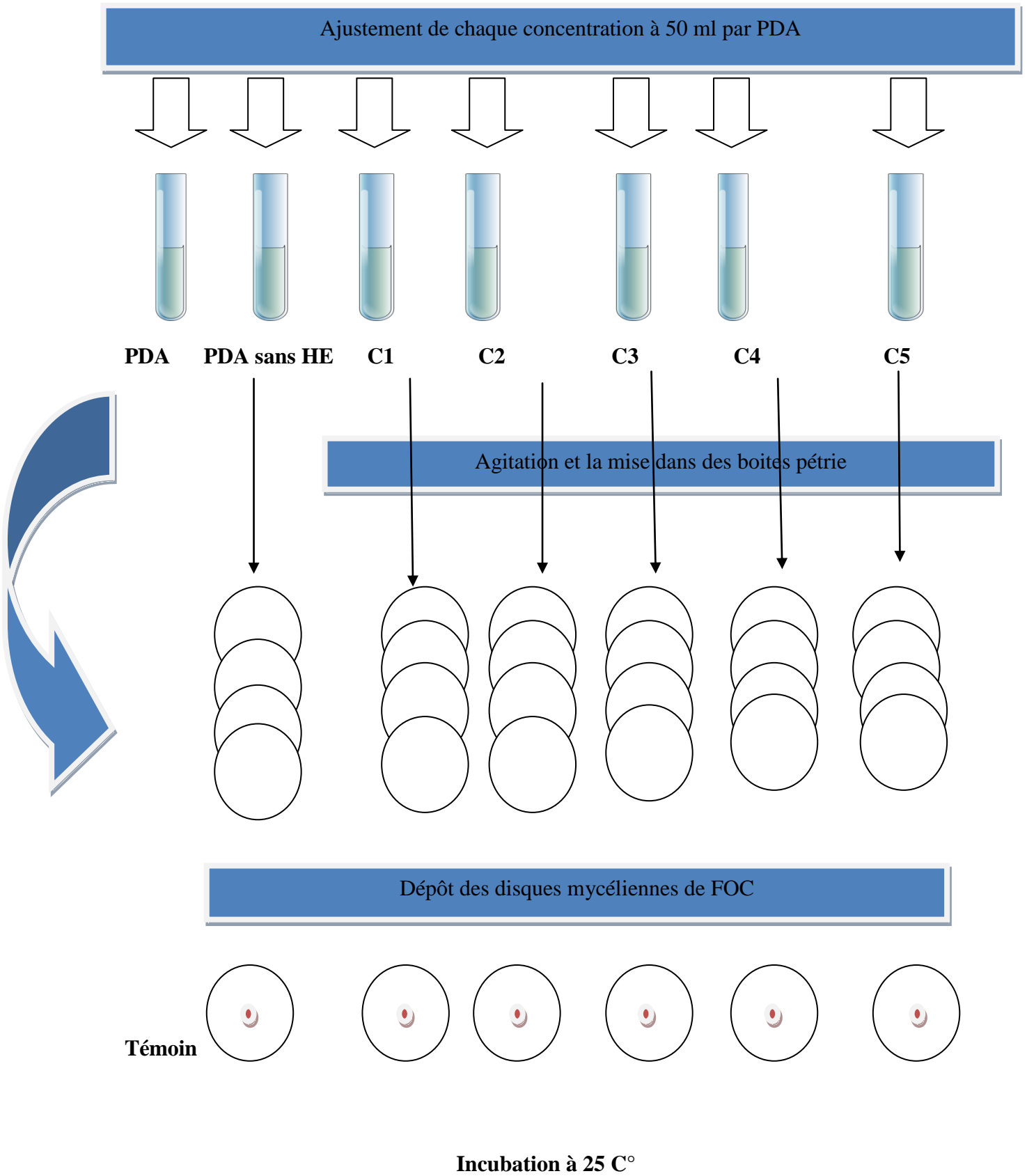


Figure 21: protocole expérimental de l'essai d'activité antifongique d'HS de FOC.

c. Le pourcentage d'inhibition de la croissance mycélienne

Après incubation à 25± 2°C pendant 7 jours la croissance mycélienne a été estimée quotidiennement après 48h en calculant la moyenne des deux diamètres mesurés sur les deux axes perpendiculaires tracés au revers des boîtes de culture en tenant compte de la croissance de témoin. Les champignons qui ne se sont pas développés ont été cultivés sur milieu PDA sans huile pendant deux semaines de but de vérifier si l'absence de développement est liée à un effet fongistatique ou fongicide des huiles. Le pourcentage d'inhibition I (%) a été déterminé par rapport au témoin et calculé selon la formule de **(Leroux et Credet, 1978)**.

$$I(\%) = [1 - (Da / Db)] \times 100$$

I (%) : Taux d'inhibition exprimé en pourcentage

Da: Croissance mycélienne moyenne dans le milieu en présence de l'huile

Db: Croissance mycélienne moyenne dans le milieu sans huile (témoin).

L'huile essentielle est dite :

- Très active lorsqu'elle possède une inhibition comprise entre 75 et 100 % ; la souche fongique est dite très sensible ;
- Active lorsqu'elle possède une inhibition comprise entre 50 et 75 % ; la souche fongique est dite sensible ;
- Moyennement active lorsqu'elle possède une inhibition comprise entre 25 et 50 % ; la souche fongique est dite limitée ;
- Peu ou pas active lorsqu'elle possède une inhibition comprise entre 0 et 25 % ; la souche fongique est dite peu sensible ou résistante ;

d. Evaluation de la croissance mycélienne

La croissance mycélienne a été évaluée toutes les 24 heures en mesurant la moyenne de trois diamètres perpendiculaires passant par le milieu de la rondelle.

Cette lecture est toujours réalisée en comparaison avec les cultures témoins qu'ils sont démarrés le même jour et dans les mêmes conditions.

Toute pousse même légère de champignon sera considérée comme action négative c'est à dire que l'huile essentielle en question n'est pas inhibitrice vis-à-vis de la croissance fongique.

e. Détermination de l'indice antifongique

Après l'incubation en tenant compte de la croissance de témoin, on calcule l'indice antifongique qui est déterminé par la formule.

$$\mathbf{IA = (1-Da/Db) \times 100 \text{ (CHANG } et \text{ al.,1999)}}$$

Da: diamètre de la zone de croissance de l'essai. (cm)

Db: diamètre de la zone de croissance du témoin. (cm)

- **Analyse statistique des résultats**

Les résultats ont été présentés sous forme des moyennes avec leur écart-type, (moyenne \pm écart-type), les moyennes sont comparées par un test T de student grâce au logiciel Excel (version 2010).

I. Activité Antioxydante *in vitro* de la plante

1. Rendement d'extraction

La première quantification à faire est celle du rendement de l'extrait brut des feuilles de *Pistacia lentiscus* préparé dans le méthanol obtenu par la technique de macération.

Les résultats de rendement de l'extrait brut des feuilles à partir de 100 g de matière végétale de *Pistacia lentiscus* en utilisant la méthode de macération, a permis d'obtenir un résidu sec brut de couleur verte foncée avec un rendement de 16.29 % (tableau 03)

Tableau 03: rendements, aspects et couleur de l'extrait méthanolique.

Extrait MeOH	Rendement	Aspect	Couleur
Feuilles	16.29%	pâteux	vert foncé

Le rendement obtenu (16.29%) est supérieur à celui trouvé par (**Benrokia et Aouar, 2015**) qui a été estimé à 12.5%.Le rendement d'extraction n'est que relatif, il semble être lié à différents facteurs intrinsèques tel que les propriétés génétiques des plants et extrinsèques tels que l'origine géographique, les conditions et la durée de stockage du matériel végétal et aux conditions dans lesquelles l'extraction a été effectuée (**Debbabi et al., 2017**)

2. Pouvoir antioxydant

2.1. Piégeage du radical DPPH

L'inhibition de radical DPPH est exprimée en IC50. Ce paramètre est défini comme étant la concentration efficace de l'extrait capable de piéger 50 % des radicaux DPPH dans le mélange réactionnel, où l'activité la plus forte correspond à l'IC50 la plus faible.

L'activité anti-radicalaire de l'extrait méthanolique obtenu à partir des feuilles de *P.lentiscus* (figure 22) a été faite en comparaison avec celle de l'acide ascorbique (figure 23)

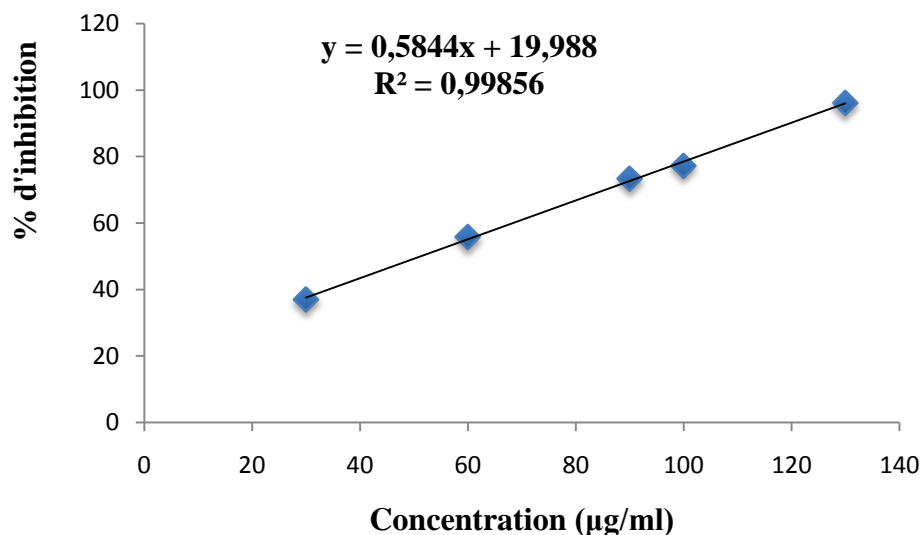


Figure 22: Pourcentage d'inhibition du DPPH en fonction de différentes concentrations de l'extrait méthanolique de *P.lentiscus*. Chaque valeur représente la moyenne de 3 essais \pm écart-type.

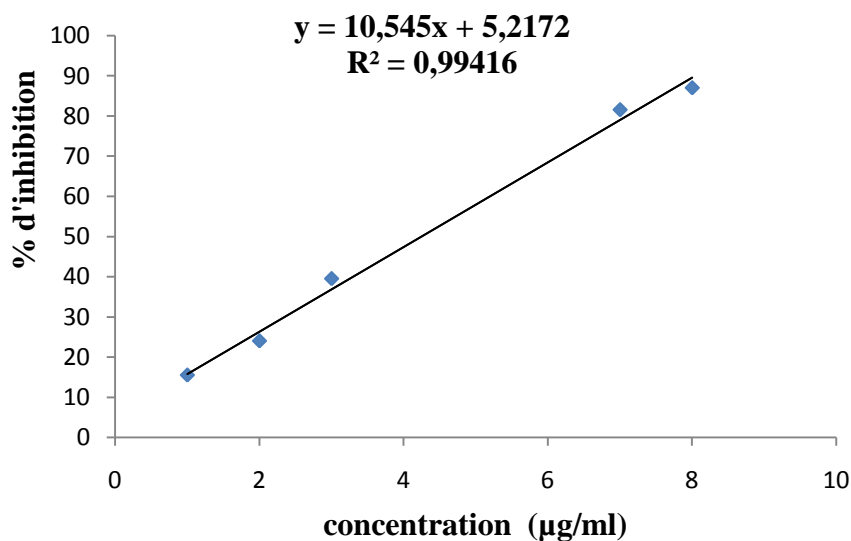


Figure 23: Pourcentage d'inhibition du DPPH en fonction de différentes concentrations de l'acide ascorbique. Chaque valeur représente la moyenne de 3 essais \pm écart-type.

L'activité anti-radical des feuilles de Pistacia est importante ; pour l'inhibition de 37 % du radical DPPH nécessite 30 µg/ml et 130 µg/ml pour inhiber 96 % des radicaux libre de DPPH, On a déterminé l'IC50 à partir des courbes tracées .

Selon les résultats enregistrés, l'extrait méthanolique des feuilles de *P.lentiscus* exerce un pouvoir antioxydant moins important avec IC50 de 51.40µg/ml en comparaison avec le pouvoir antioxydant de standard (IC50 de 4.25µg/ml) (figure 24).

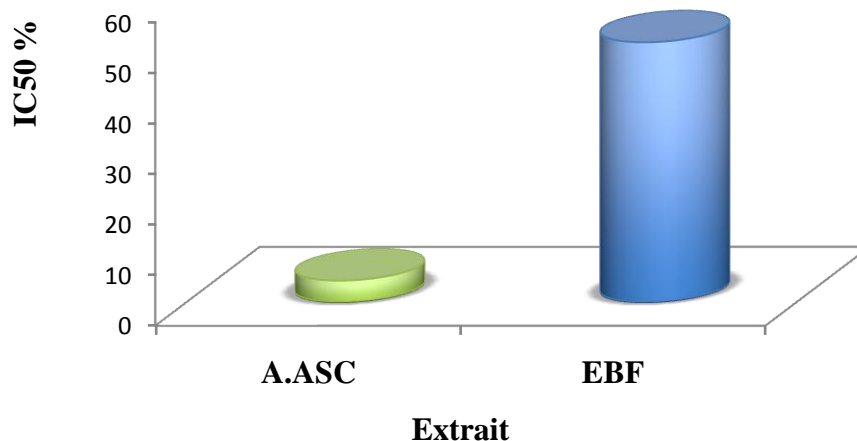


Figure 24 : IC50 de l'acide ascorbique et l'extrait méthanolique des feuilles de *P.lentiscus*.

IC50 est relativement faible que celle d'acide ascorbique. Il a été démontré que les molécules antioxydants telles que l'acide ascorbique, tocophérol, flavonoïdes et les tanins réduisent et décolorent le DPPH en raison de leur capacité à céder l'hydrogène(Bougandouraet *al.*,2012).Ce pouvoir antioxydant est probablement dû aux composés phénoliques présents dans les feuilles de *Pistacia lentiscus*, et qui sont connus comme substances antioxydants ayant la capacité de piéger les espèces radicalaires et les formes réactives de l'oxygène(Kelly et *al.*, 2002).

2.2. Pouvoir réducteur (test FRAP)

Le pouvoir réducteur de l'extrait brut des feuilles de *Pistacia lentiscus* est mesuré par la réduction directe de (Fe^{+3} -TPTZ) en une forme ferreuse (Fe^{+2} -TPTZ) qui est déterminée par la détection spectrophotométrique à 700 nm.

Les résultats montrent que l'extrait méthanolique de *Pistacia lentiscus* possède un pouvoir réducteur remarquable, concentration-dépendante, tandis que l'acide ascorbique montre une activité réductrice maximale à 50 µg/ml (figure 25).

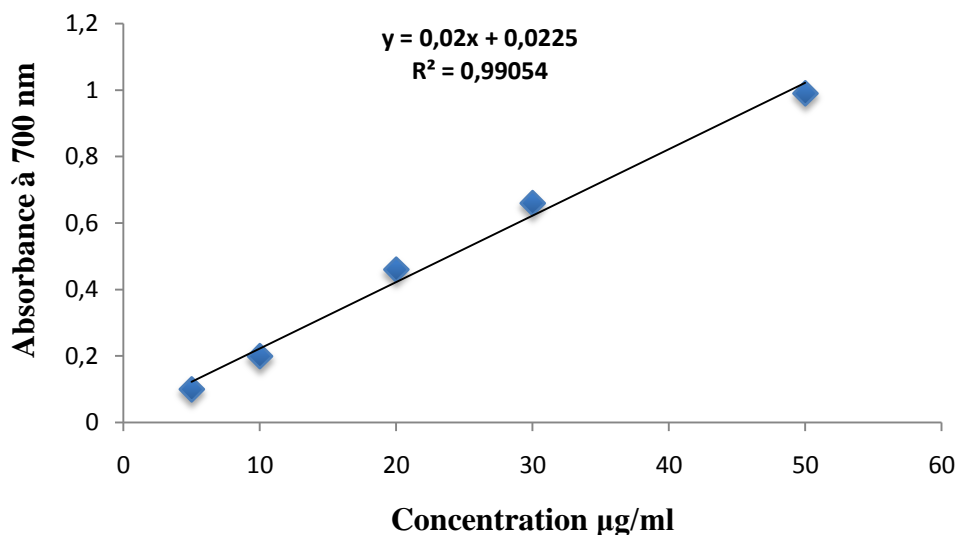


Figure 25: Pouvoir réducteur de l'acide ascorbique. Chaque valeur représente la moyenne de 3 essais \pm écart-type.

Le pouvoir réducteur de l'extrait de la plante augmente avec l'augmentation de la concentration (figure 25).

L'activité plus ou moins importante de l'extrait méthanolique des feuilles de *Pistacia* due à la présence de composés chélateurs dans l'extrait. En effet, les tanins présents dans les feuilles de *Pistacia lentiscus* sont caractérisés par leur action chélatrice, ces composés ont déjà prouvés leurs pouvoir chélateur envers les métaux, et leurs effets protecteurs contre la peroxydation est lié a la capacité de fixer le fer.

D'autre part, le pouvoir réducteur de l'extrait méthanolique est peut être dû à la présence de groupement hydroxyle dans les composés phénoliques qui peuvent servir comme donneur d'électron (**Bougandoura et Bendimerad, 2013**).

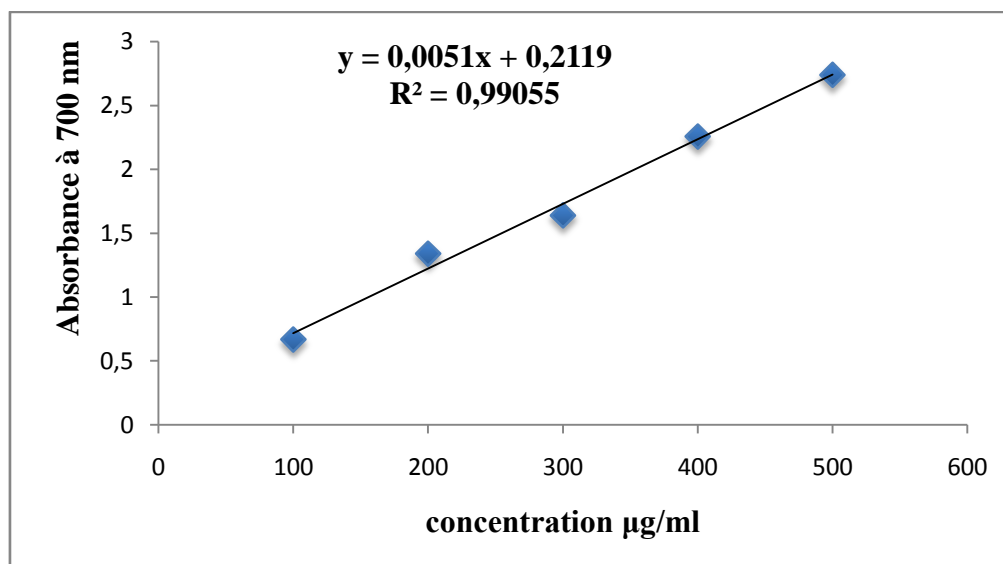


Figure 26: Pouvoir réducteur de l'extrait méthanolique de *P.lentiscus*. Chaque valeur représente la moyenne de 3 essais \pm écart-type.

II. Activité Antifongique *in vitro* de la plante

1. Détermination du rendement d'extraction

La première quantification à faire est celle du rendement en huile essentielle obtenue par la technique d'hydrodistillation normé pour l'extraction des huiles essentielles (Marie, 2005).

Le rendement en huile essentielle de la plante, a été calculé en fonction de la matière végétale sèche de la partie aérienne de la plante. La plante *pistacia lentiscus* a fourni un taux d'environ 0.45 %, les résultats obtenus de nos HES sont en accord avec ceux de **Klibet et al. (2015)**, et supérieurs à ceux trouvés à Ghazaouet par **Panizzi et al. (1993)**, qui ont été estimé à 0.07 %.

Divers facteurs tels que l'espèce, la période de récolte, l'âge de la plante, la partie soumise à la distillation et la technique d'extraction peuvent influencer le rendement (**Zrira et Benjilali, 1991; Zrira et Benjilali, 1992**).

Les paramètres organoleptiques de notre huile essentielle obtenue sont résumés dans le tableau suivant :

Tableau 04 : Caractéristiques organoleptiques d'huile essentielle de *pistacia lentiscus*.

Origine de l'huile essentielle	couleur	odeur	aspect	rendement
Feuilles de <i>Pistacia lentiscus</i>	Jaune foncé	Forte odeur	liquide	0.45 %

2. Activités antifongiques

2.1. Evaluation de la croissance mycélienne

Face aux problèmes d'altération des légumes par les moisissures, beaucoup de travaux ont été menés sur le pouvoir antifongique des produits naturels extraits des plantes. Lors de cette étude, l'activité antifongique des HES de *pistacia lentiscus* vis-à-vis la souche fongique *Fusarium oxysporum* sp. *ciceris* par la méthode de contact direct a été recherchée *in vitro*. Trois répétitions ont été effectuées à des temps différents. En absence des HES les résultats obtenus montrent que la croissance mycélienne de *Fusarium oxysporum* est variée entre 0 et 8 cm, Par contre en présence des HES, leur effet sur la croissance mycélienne des deux souches est dose dépendant.

A différentes concentrations de (0.01 % à 1 %) des HES la croissance mycélienne de la souche étudiée a été inhibée et le maximum d'inhibition (100 %) a été obtenu avec la concentration 1 % (figure 27).

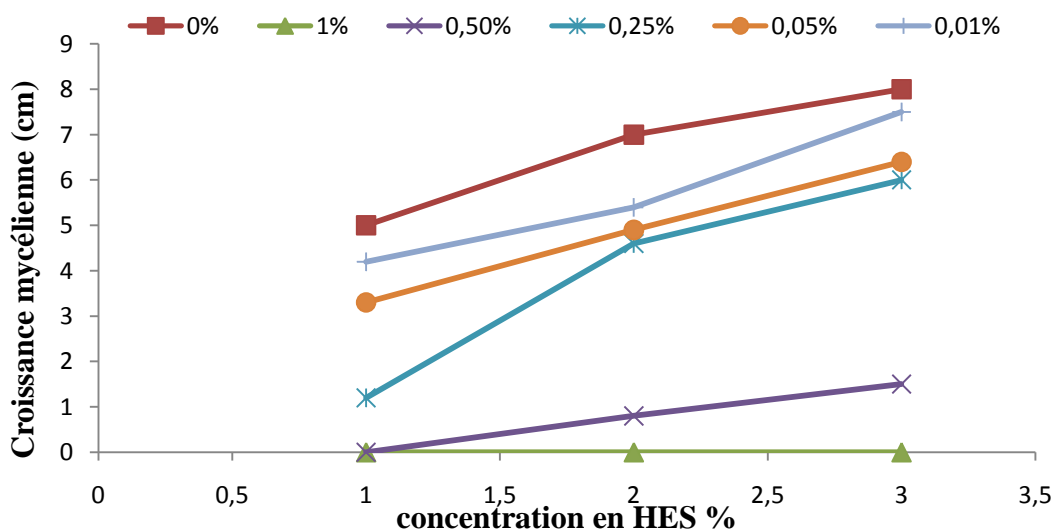


Figure 27: L'effet des HES de *pistacia lentiscus* sur la croissance mycélienne de *F. oxysporum* en fonction du temps (jours). Chaque valeur représente la moyenne de 3 essais \pm écart-type.

2.2. Vitesse de la croissance mycélienne

Les résultats montrent que la vitesse de la croissance mycélienne décroît par l'augmentation de la concentration d'huile essentielle du *pistacia lentiscus*.

La plus haute vitesse de croissance mycélienne est enregistrée à 0.01% avec une vitesse de 1.2 cm/h puis la vitesse décroît jusqu'à l'inhibition totale (0cm/h) pour la concentration 1% d'huile essentielle (figure 28).

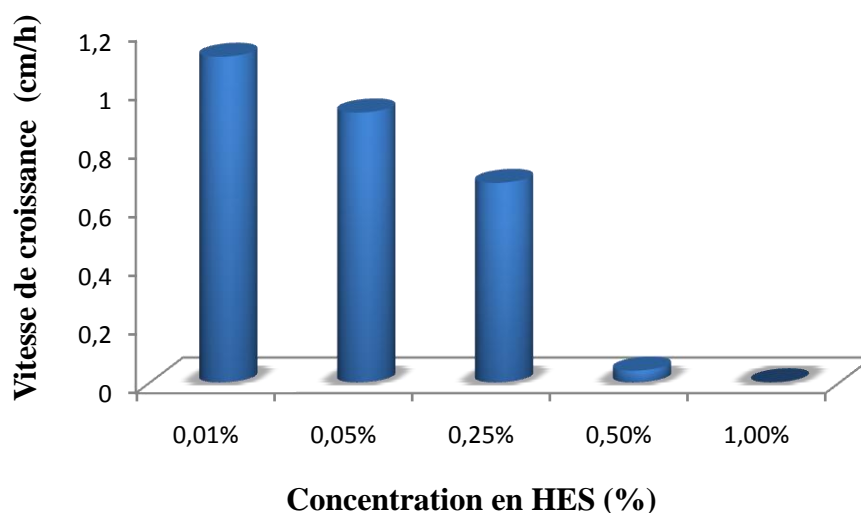


Figure 28: L'effet des HES de *pistacia lentiscus* sur la vitesse de croissance mycélienne de *F. oxysporum* en fonction du temps, Chaque valeur représente la moyenne de 3 essais \pm écart-type.

2.3. Indice antifongique (IA)

D'après nos résultats, on remarque que toutes les concentrations des huiles essentielles de *pistacia lentiscus* appliquées, ont empêché partiellement (0.01 % à 0.5 %) ou complètement (1 %), la croissance de la souche fongique testée (tableau 06).

L'indice antifongique est directement proportionnel avec l'augmentation de la concentration des HES, elle est stable à la concentration 1 % avec un pourcentage d'inhibition de 100 % et entre 100 % et 81.25 % pour la concentration 0.5 %. La diminution de l'IA est remarquable à la concentration 0.01% avec un pourcentage d'inhibition de 16 % jusqu'à 6.25% après 168H.

Tableau 05:L'indice antifongique des différentes concentrations des HES vis-à-vis le *F. oxysporum*.

IA %	48 H	96H	168H
1%	100%	100%	100%
0.5%	100%	88.57%	81.25%
0.25%	76%	34.28%	25%
0.05%	34%	30%	20%
0.01%	16%	22.85%	6.25%

L'huile essentielle de pistacia a exercé une importante activité inhibitrice vis-à-vis la moisissure *Fusarium oxysporum*, les diamètres, la vitesse et l'indice antifongique de la croissance de mycélium dépende de la concentration d'huile essentielle avec CMI de 1%.

L'huiles essentielles peuvent être utiles en tant qu'agents antifongiques parce qu'elles affectent plusieurs cibles simultanément et il n'y a aucun rapport de résistance ou d'adaptation des microorganismes à cause de la diversité des composés chimiques (**Bakkali et al., 2008**). L'activité antifongique est due probablement au type et à la structure moléculaire des composants actifs présents dans les HES, tel que les terpènes qui affectent non seulement la perméabilité mais aussi d'autres fonctions dans les membranes cellulaires (**Omidbeygi et al. 2007**).

L'activité antifongique des huiles essentielles, peut être expliquée par l'effet synergique entre leurs différents composés. En effet, les composés majoritaires sont souvent responsables de l'activité antifongique de cette huile essentielle (**Giordani et al., 2008**).

Les concentrations des huiles essentielles de *pistacia lentiscus* appliquées, ont empêché partiellement (0.01 % à 0.5 %) ou complètement (1 %), la croissance de la souche fongique testée. Ces résultats sont comparables à ceux d'Uribe **et al. (1985)**, qui ont montré que les faibles concentrations en huile essentielle de certains citrus ont un effet inhibiteur partiel du fait que la respiration est inhibée et la perméabilité des cellules altérée tandis que des fortes concentrations en huile essentielle provoquent des dommages membranaires sévères et une perte d'homéostasie d'où la mort cellulaire ou l'inhibition totale.

Beaucoup de chercheurs s'intéressent aux plantes médicinales pour leur richesse en antioxydants naturels à savoir les polyphénols, les flavonoïdes, les tannins, etc. qui possèdent des activités antioxydantes et antimicrobiennes. De ce fait plusieurs recherches ont été focalisées sur les huiles essentielles extraites des plantes aromatiques.

Il s'agit d'extraits bruts contenant un grand nombre de composés différents. Il est donc très probable qu'ils contiennent des composés qui, une fois purifiés, peuvent présenter une activité comparable à celle de l'acide ascorbique. Cependant, cette activité est différente selon le degré de solubilité des composés secondaires de *Pistacia lentiscus*. Des recherches complémentaires sont nécessaires pour déjà identifier, isoler et purifier ces constituants. Pour comprendre les mécanismes moléculaires et cellulaires de ces effets. Ces études doivent être aussi orientées vers la détermination des composés actifs de *Pistacia lentiscus* et l'évaluation de leur effet sur les signalisations impliqués dans le processus inflammatoire, ainsi que les enzymes impliquées dans la production des espèces oxygénées réactives et aqueux ont une activité antioxydante vis-à-vis le radical DPPH.

Nous avons constaté que la méthode de contact direct nous a permis de mettre en évidence le pouvoir antifongique d'huile essentielle du *Pistacia lentiscus* vis-à-vis de la souche *Fusarium oxysporum* f.sp. *ciceri* (phytopathogène). Nos résultats indiquent que l'huile essentielle du *pistacia lentiscus* montre une bonne activité antifongique. Il n'en demeure pas moins que cette étude doit être reconduite sur plusieurs années afin de vérifier les caractères phénotypiques des différentes populations du pistachier d'une part et d'autre part, confirmer les propriétés de l'activité antimicrobienne de ces huiles.

A

- ✓ Abbas M., Boudriche D. (2007) Identification et Extraction des Molécules Bioactives de *Pistacia lentiscus L.* et Détermination de Quelques Effets Pharmacologiques, Centre de recherche et de développement, Saidal, Alger
- ✓ Afnor.(2000).Huiles essentielles .echantillonnage et méthodes d'analyse monographies relatives aux huiles essentielles (tome 2).
- ✓ Aït youssef, M. (2006). Plantes médicinales de cabylie, Paris, pp : 260-262.
- ✓ Amlan, K., & Jyotisna, P. S. (2010). A new perspective on the use of plant secondary
- ✓ ANONYME., 2011. Les plantes aromatiques et médicinales. Ces plantes odorantes qui soulagent la douleur , p46.
- ✓ Anton, R et Wichtel, M. Plantes thérapeutiques: traditions, pratiques officinales, science et thérapeutique. 3^{ème} édition, Ed. Françaises. Strasbourg. 1999.
- ✓ Atmani D.,Chaher N., Berboucha M., Ayouni K., Lounis H., Boudaoud H., Debbache N.,et Atmani D., (2009)Antioxydant Capacity and Phenol Content of SelecteAlgerian Medicinal Plants, *J.Elsevier, Food Chemistry 112 / 303–309.*

B

- ✓ Baba Aissa F. (2000) Encyclopedie des plantes utiles.Flore d'Algérie et du Maghreb, substances végétales d'Afrique d'Orient et d'Occident. Ed. Librairie moderne Rouiba. 46p
- ✓ Belabid L., Fortaz Z., Dalli D., Khiare D. et Amdjad, D., (2000),Flétrissement et pourriture racinaire de la lentille dans le Nord Ouest Algérien. Cahiers Agricultures.9:515-8.
- ✓ Bdaiche,P.Traite de phytothérapie et d'aromathérapie.TOME I.MMaloine, Parie.1979.
- ✓ Belhadj S. Les pistacheraies algériennes : Etat actuel et dégradation. 11^{ème} Colloque du GREMPA sur le pistachier et l'amandier. Zaragoza: CIHE.AM-IAMZ, p. 107-109, 2001.
- ✓ Belhadj, S., 2000. Les pistacheraies algériennes: Etat actuel et dégradation, Centre Universitaire de Djelfa, Algérie, p 108.
- ✓ Ben brinis S., 2012- Evaluation des activités antioxydants et antibactérienne des extraits de Santolina chamaecyparissus .Mag. Université Ferhat Abbas-Setif.P62.
- ✓ BENKHNIGUE L., LAHCEN Z., MOHAMED F., HOUDA E., ATMANE R., ALLAL D. 2011. Etude ethnobotanique des plantes médicinales dans la région de Mechraâ Bel Ksiri (Région du Gharb du Maroc). Barcelona. Acta Bot. Borc , 53 :pp191-216.
- ✓ Bouamer A., Belllaghit M., Moulay O, 2005. Etude comparative entre les huiles essentielles de la menthe verte (*Mentha spicata L*) et de la menthe poivrée (*Mentha piperita L*) dans la région de Ouargla. Etude supérieures en biologie université université de Kasdi Merbah Ouargla , p41.
- ✓ .Benhammou N, Bekkara FA, Panovska TK (2008). Antioxidant and antimicrobial activities of the *Pistacia lentiscus* and *Pistacia atlantica* extracts. African Journal of Pharmacy and Pharmacology, 2(2): 22-28.
- ✓ Bougandoura Nabila, Nassima Bendimerad, (2013)Evaluation de l'activité antioxydante des extraits aqueux et méthanolique de *Satureja calamintha ssp.Nepeta (L.)* Briq. Nature & Technologie. Université Abou Bakr Belkaid.
- ✓ Bouhajra K.,(2011) étude de l'effet des antioxydants naturels et de synthèse sur la stabilité oxydative de l'huile d'olive vierge, thèse pour l'obtention du diplôme de magister, Université Mouloud Mammeri, Tizi-Ouzou.
- ✓ Boukeloua Ahmed.(2009). caracterisation botanique et chimique et evaluation pharmaco-toxicologique d'une preparation topique a base d'huile de *pistacia lentiscus l.* these vue l'obtention du diplôme de magister en biologie. universite mentouri – Constantine.

- ✓ Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E., Berset, C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Food. Sci. Technol*, 28 : 25–30.
- ✓ Bruneton J (1993). Pharmacognosie : phytchimie, plantes médicinales. Technique et documentation. Lavoisier 2ème édition; 268-277.
- ✓ Bruneton, J. Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes médicinales, 3^e édition. Paris:

C

- ✓ 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
- ✓ Collin, S., & Crouzet, J. (2011). Polyphénols et procédés. *Edition Lavoisier TEC & DOC*, p 5 ,13 , 16 , 235.
- ✓ Cowan MM (1999). Plant Products as antimicrobial Agents. *Clin. Microbiol Re* ; 12(4) : 564-582.

D

- ✓ Debbabi H , Nemri K,Riahi H(2017). Effets antimicrobiens des extraits foliaires de *Pistacia lentiscus* L. dans des escalopes de dinde. *Journal of new sciences. Volume 40(1)*.
- ✓ Debydupont, G., Deby, C. AND Lamy, M. (2002). Données actuelles sur la toxicité de l’oxygène : Current data on the toxicity of oxygen. *Réanimation*, 11(1), pp.28-39.
- ✓ Djemai Z (2008). Etude de l’activité biologique des extraits du fruit de *Zizyphus lotus* L, mémoire magister, Université -El Hadj Lakhder –Batna.

E

- ✓ El Hamrouni A. (2001). Projet de conservation des Zones Humides Littorales et des et des Ecosystèmes côtiers du Cap-Bon.
- ✓ El Idrissi M., Barbouchi M, Choukrad MB, Louzi L (2016).Chemical composition and antimicrobial activity of essential oils isolated from leaves and twigs of *Pistacia lentiscus* L. Growing wild in Morocco. *World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 5(4): 516-524.

F

- ✓ Falleh H., Ksouri R., Chaieb K., Karray-Bouraoui N., Trabelsi N., Boulaaba M., Abdelly C. ; 2008.Phenolic composition of *Cynara cardunculus* L. organs, and their biological activities.*Compte Rendu de Biologie*, 331, 372-379.

G

- ✓ Gardeli, C., Vassiliki,P., Athanasios, M., Theodosios, T. (2008). Essential oil composition of *Pistacia lentiscus* L. and *Myrtus communis* L.: Evaluation of antioxidant capacity of methanolic extracts. *Food Chemistry*, 107: 1120–1130
- ✓ Gardes-Albert, M., Bonnefont-Rousselot, d., Abedinzadeh, Z., JORE, D. (2003) Espèces réactives de l’oxygène : Comment l’oxygène peut-il devenir toxique ? L’actualité chimique, n°277-278, p 57-64.
- ✓ Gonzalez- Tejero MR, Casares-Porcel M, Sanchez-Rojas CP (2008). Medicinal plants in the mediterranean area : synthesis of the project Rubia. *J. Ethnopharmacol*, 116: 341-57.
- ✓ Greathead, H. (2003). Plants and plant extracts for improving animal productivity. *Proceedings of The Nutrition Society*, 62, 279 – 290.
- ✓ Grosjean N., (2007)L’Aromathérapie, édition Eyrolles, p 163
- ✓ Guignard, J. L. (1996). Abrégé de biochimie végétale. Edition Masson, Paris, p 160.

Références bibliographiques

- ✓ Guillouty Amandine, Plantes médicinales et antioxydants, thèse, pour le diplôme d'état de docteur en pharmacie, 9 décembre 2016. Université Toulouse III Paul Sabatier

H

- ✓ Halen G.J., Pincemail J., Defraigne J.O., Charlier C., Chapelle J.P. (2007). Le stress oxydant. *Rev Med Liege; Belgique* 62 : 10 : 628-638
- ✓ Halliwell B. & Gutteridge J. M. (2007). *Free Radicals in Biology and Medicine*, Oxford University press.
- ✓ Halliwell B. (1999). How to characterize a biological antioxidant. *Free Radic Res Commun*, 9, 1-32.
- ✓ Hammer, K.A. Carson, C.F.; Riley, T.V. (1999). Antimicrobial activity of essential oils and other plant extracts. *Journal of Applied Microbiology*, 86: 985-990.
- ✓ Hoffmann L. (2003). Etude du métabolisme des phénylpropanoïdes; analyse de l'interaction de la caféoyl-coenzyme A 3-O-méthyltransférase (CCoAOMT) avec son substrat et caractérisation fonctionnelle d'une nouvelle acyltransférase, l'Hydroxycinnamoyl-CoA.
- ✓ Huwez, F.U. et al (1998). Mastic gum kills *Helicobacter pylori*. *N Eng J Med* 339 : 194-196.

I

- ✓ Igor Passi LB (2002). Etude des activités biologiques de Fagaranthoxyloïdes, Lam (Rutaceae). Thèse de pharmacie, Bamako, P133.

K

- ✓ Kelly E Heim, Anthony R Tagliaferro and Dennis J Bobilya (2002). Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity relationships. *Journal of Nutritional Biochemistry*, 13, 572-584.

L

- ✓ Lahlou, M. (2004). Méthodes d'étude de l'activité phytochimique et bioactivité d'essences végétales. *Phytotherapy Research* 18, 435-448.
- ✓ Leonti M., Casu L., Sanna F., Bonsegno L., (2001) A Comparison of Medicinal Plant Use in Sardinia and Sicily, *De Materia Medica* 72, 09122, Italy
- ✓ Leprieur, M., 1860. *Journal de médecine, chirurgie et de pharmacie*, 3^{ème} volume, Publié par la société de science médicale et naturelle de Bruxelles, p. 614-615.
- ✓ Longo, L., Scardino, A., Vasapollo, G. (2007). Identification and quantification of anthocyanins in the berries of *Pistacia lentiscus* L., *Phillyrea latifolia* L. and *Rubia perigrina* L. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 8: 360-364.
- ✓ Loomis D, Croteau R (1980). Biochemistry of terpenoids : A comprehensive Treatise. In: P. K. Stumpf and E. E. Conn (eds.). *The Biochemistry of plants. Lipids : Structure and Function* ; 4 : 364-410. Academic Press, San Francisco.
- ✓ Lugasi A, Hovari J, Sagi K, Biro L (2003). The role of antioxidant phytonutrients in the prevention of diseases. *Acta. biologica. szegediensis* ; 47(1-4) : 119-125.
- ✓ Lutge U, Kluge M, Bauer G (2002). *Botanique 3^{ème} Ed : Technique et documentation*. Lavoisier. Paris: 211.

M

- ✓ Marone, P., Bono, L., Leone, E., Bona, S., Carretto, E., Perversi, L., (2001). Bactericidal activity of *Pistacia lentiscus* mastic gum against *Helicobacter pylori*. *Journal of Chemotherapy* 13, 611-614.
- ✓ McGarvey DJ, Croteau R (1995). Terpenoid metabolism. *Plant Cell* ; 7 : 1015-1026. Sarni- Manchachado, Cheynier V (2006). *Les polyphénols en agroalimentaire*, Lavoisier, Editions Tec & Doc, 398.
- ✓ Migdal, Cand Serres, M. (2011). *Reactive oxygen species and oxidative stress : Med sci (Paris)* 27(4)

:405-412.

- ✓ Mohammadi Z. (2006). Etude du pouvoir antimicrobien et antioxydant des huiles essentielles et flavonoïdes de quelques plantes de la région de Tlemcen. Mémoire de magistère, Univ. Tlemcen, 105p

N

- ✓ Naghibi F., Mosaddegh M., Motamed S-M, Ghorbani A. ,(2005) Labiatae Family in folk Medicine in Iran: from Ethnobotany to Pharmacology. Iranian Journal of Pharmaceutical Research, 2, 63-79.

O

- ✓ Ouelmouhoub, S., 2005. Gestion multi-usage et conservation du patrimoine forestier: cas des subéraies du Parc National d'El Kala (Algérie).

P

- ✓ Pan, Y., Wang, K., Huang, S., Wang, H., Mu, X., He, C., Ji, X., Zhang, J., Huang, F., Antioxydant activity of microwave-assisted extract of longan (*Dimocarpus Longan* Lour.) peel, *Food Chemistry*, 2008, Vol.106; pp 1264-1270.
- ✓ Panizzi L., Flamini G., Gioni P .L. Moreli I. (1993). Composition and antimicrobial properties of essential oils of four mediterranean Lamiaceae. *Journal of Ethnopharmacology*. 39, 167-170
- ✓ Paraschos, S., Magiatis, P., Mitaku, S., Petraki, K., Kaliaropoulos, A., Maragoudakis, P., Mentis, A., Sgouras, D., Skaltsounis, A.L., 2007. In vitro and in vivo activity of chios mastic gum extracts and constituents against *Helicobacter pylori*. *Antimicrob. Agents Chemother* 51, 551-559.

R

- ✓ Rutkowski M., Grzegorzczak K., Gendek E., Kędziora J. (2007). Laboratory convenient modification of Bessey method for vitamin A determination in blood plasma. *J. Physiol. Pharm.* 57 (Suppl. 2), 221.

S

- ✓ Sagdic O, Kuscu A, Ozcan M, Ozcelik S (2002). Effects of Turkish spice extracts at various concentrations on the growth of *Escherichia coli* O157:H7. *Food Microbiol.* 19:473-480.
- ✓ Samouelian, F., Gaudin, V., & Boccara, M. (2009). Génétique moléculaire des plantes. Edition Quae, p 21, 22. Sanchez-moreno, C. methods used to evaluate the free radical scavenging activity in foods and biological systems. *international journal of foods science and technology*, 2002, vol.8 ,n°3, pp.121-137.
- ✓ Sarni-Manchado P, Cheynier V. (2005) Les polyphénols en agroalimentaire, Ed. Lavoisier (Tec & Doc), Paris, 300-398.
- ✓ Selvakumar P ; Edhaya Naveena .B et Prakash D.S .(2012) .studies on the antidandruff activity of the essential oil of *coleus amboinicus* and *eucalyptus globules*, *asian pacific journal of tropical biomedicine* s715-s719.
- ✓ Si moussa L., Belabid L., et Meddah B. (2009). Effet des extraits de dix plantes médicinales sur *Fusarium oxysporum*. f. sp. *Lentis* agent de flétrissement vasculaire de la lentille. *Revue des substances naturelles et Innovation thérapeutiques*.
- ✓ Smail-Saadoun, N., 2002. Types stomatiques du genre *Pistacia*: *Pistacia atlantica* Desf. ssp. *atlantica* et *Pistacia lentiscus* L. p369.
- ✓ Svoboda, K.P.; Hampson, J.B. Bioactivity of essential oils of selected temperate aromatic plants: antibacterial, antioxydant, antiinflammatory and other related pharmacological activities. *Plant Biology Department, SAC Auchincruive, Ayr, Scotland, UK., KA6 5HW.* 1999.

T

- ✓ Tadeusz Aniszewski (2007). Alkaloids – secrets of life, Alkaloid chemistry, Biological significance, Applications and Ecological Role, Elsevier.
- ✓ Tela Botanica., (2011)- *Pistacia lentiscus*. Base de Données Nomenclaturale de la Flore de France par Benoît Bock. BDNFF v4.02 <http://www.tela-botanica.org>.
- ✓ Toure D, 2015. Etudes Chimique Et Biologique Des Huiles Essentielles De Quatre Plantes Aromatiques Médicinales De Côte D'ivoire.Thèse pour le Docteur EnBiochimie., Université Félix HOUPHOUËT- BOIGNY. P: 20, 21.

V

- ✓ Vaya J, Mahmood S., (2006) Flavonoid Content in leaf Extracts of The fig (*Ficus carica* L.), Carob (*Ceratonia siliqua* L.) and Pistachio (*Pistacia lentiscus* L.), *Biofactors*.;28(3-4):169-75. PubMed PMID: 17473377
- ✓ Vermerris W, Nicholson R (2006). *Phenolic Compound Biochemistry*. USA: Springer. Nueva York, EEUU; 3(16): 151-153.

W

- ✓ Walton N.J. et Brown D.E.; 1999; *Chemical from Plants: Perspectives on plantsecondary products*; ed: world scientific; p: 1-14.

Y

- ✓ Yarnell E (2007). *Plant chemistry in veterinary medicine: Medicinal constituents and their mechanisms of action*. In: *veterinary herbal medicine*, ed. Mosby Elsevier, St Louis: 159-182.
- ✓ Yoshikawa T., Yamamoto Y., Naito Y., Toyokuni S.(2000). *Free radical in chemistry, biology and medicine*. Ed. Oica International, London, pp: 31-42.

Z

- ✓ Zerargui Fatima.(2015) . *Activité antioxydante des extraits de racines Tamus communis L. et caractérisation des substances bioactives*, thèse pour l'obtention du diplôme Doctorat en Sciences, Université Ferhat Abbas Sétif 1.

Site web

(www.clarku.edu/departments/biology/biol110/Rachel/Shmook_webpage.ht).

Annexe 01 :



Autoclave

Annexe 02 :



Autoclavage des milieux de culture

Annexe 03 :



Des boîtes pétries incubées dans l'étuve

Annexe 04 :



Etuve

Annexe 05 :



Balance analytique

Annexe 06 :



Bain marie

Annexe 07 :



Plaque chauffante

Annexe 08 :

Méthods de préparation de milieu e culture PDA :

- 200 g pomme de terre (PDT).
- 500 ml eau distillé.
- 20 g d'agar agar.
- 20 g de glucose.

* Laver le 200g de PDT et poser dans un bicher ;

* Ajouter l'eau distillée (500 ml) et faire bouillir sur une plaque chauffante ;

* Filtre le l'eau après 20 min de bouillir et poser ure un agitateur ;

* Ajouter l'agar et le glucose et l'eau distillé jusqu'à litre et Lecce le bien bouillir.

في إطار اكتشاف مواد جديدة مضادة للأكسدة من المصادر الطبيعية للنباتات الطبية الجزائرية في البحر الأبيض المتوسط، اهتمنا بتقييم الخصائص المضادة للأكسدة لمستخلص نبات الضرو باستخدام طريقتين قوة ارجاع وتثبيط الحديد وتثبيط جذر DPPH. أظهرت النتائج القدرة الارتجاعية للحديد وتثبيط جذر DPPH أن مستخلص الميثانول لهذه النبتة لها نشاط معتبر لكن أقل من حمض الاسكوربيك وبالتالي قد يكون هذا المستخلص بديلا لبعض الإضافات الاصطناعية. تم استخلاص هذا الزيت عن طريق التقطير بالبخار واختبار نشاطها المضاد للسلالة الفطرية (*Fusarium oxysporum*f.sp.ciceri). أظهرت النتائج بان زيوت الطيارة المستخلصة من الجزء الهوائي لنبات الضرو تملك نشاط قوي ضد السلالة الفطرية حيث أن نسبة التثبيط وصلت إلى 100 % عند التركيز 500 ميكرو لتر والذي يمثل التركيز التثبيطي الأدنى. الكلمات المفتاحية: نبات الضرو ، الزيت العطري ، النشاط المضادة للفطريات، نشاط مضاد للأكسدة.

Résumé

Dans le cadre de la valorisation des plantes médicinales de la flore algérienne et méditerranéenne, on s'est intéressé à l'étude d'une espèce, *pistacia lentiscus*. Le but de cette étude est d'évaluer l'activité antioxydante et antifongique des extraits issus de l'espèce *Pistacia lentiscus*, la méthode de la réduction du fer et celle du piégeage du radical libre DPPH a montré que l'extrait méthanolique possède une activité antioxydante modérée. Cet extrait pourra donc constituer une alternative à certains additifs synthétiques. Cette activité reste néanmoins nettement inférieure à celle de l'acide ascorbique.

L'extraction d'huile essentielle de la partie aérienne de *pistacia lentiscus*, a été réalisée par la méthode d'hydro distillation. Le test d'activité antifongique Les résultats montrent que l'huile essentielle du *pistacia lentiscus* possède une forte activité antifongique avec un indice d'inhibition de 100 % pour une concentration de 1% qui représente le CMI.

Mots clés: *Pistacia lentiscus*, DPPH, huile essentielle, activité antifongique, activité antioxydant.

Summary

Investigation of the species *pistacia lentiscus* was conducted within the general framework of valorization of the medicinal plants of the Algerian and Mediterranean flora. The aim of this study is to evaluate the antioxidant activity and antifungal activity of the extracts from the species *Pistacia lentiscus* the method of the reduction of iron and that of the trapping of the free radical DPPH showed that the methanol extract has a moderate antioxidant activity. This extract may therefore constitute an alternative to certain synthetic additives. This activity is nevertheless clearly lower than that of ascorbic acid.

The extraction of essential oil from the aerial part of *pistacia lentiscus* was carried out by the hydro distillation method. The antifungal activity test (*Fusarium oxysporum*.sp.ciceri) The results show that the essential oil of *pistacia lentiscus* has a strong antifungal activity that it reach a 100% inhibition index with the concentration of 1% that represents the MIC.

Key words: *Pistacia lentiscus*, DPPH, Essential oil, antifungal activity, antioxidant activity.