

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université A. MIRA – Bejaia

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département de Biologie Physico-Chimique

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Biochimie Fondamentale



Réf :.....

Mémoire de Fin de Cycle

En vue de l'obtention du diplôme

MASTER

Thème

**Etude physico-chimique et analytique de
l'huile végétale de *Pistacia lentiscus* :
Implications pour son activité biologique**

Présenté par :

MOUHOUBI Yassina & DERRADJI Chaima

Soutenu le : 01/ 07/ 2024

Devant le jury composé de :

M ^{me} AIT ALI D.	MCA	Présidente
Mr ATMANI D.	Professeur	Encadreur
M ^{me} MOULAOU K.	MCB	Examinatrice
M ^{me} KASMI S.	MCB	Co-encadrante

Année universitaire : 2023/ 2024

REMERCIEMENTS

Avant toute chose, nous remercions Dieu, le Tout-Puissant, pour nous avoir donné le courage, la patience, la volonté et la force nécessaires pour affronter toutes les difficultés et les obstacles qui se sont dressés sur notre chemin d'étude.

*Nous désirons exprimer notre profond remerciement et notre vive reconnaissance à notre directeur de mémoire, le Professeur **ATMANI Djebbar**, pour avoir encadré et dirigé ce travail avec une grande rigueur scientifique. Nous avons eu l'honneur et la chance de bénéficier de ses connaissances et compétences. Son sens élevé du devoir, sa disponibilité et sa rigueur scientifique imposent l'estime, le respect et la reconnaissance.*

*Nous tenons également à remercier tous les membres du jury, **Mme AIT ALI D.** et **Mme MOULAOUI K.** de l'Université de Bejaia, pour avoir accepté de juger ce travail.*

Recevez ici notre immense gratitude.

*Nous remercions également Madame **KASMI Souad** d'avoir accepté de nous accompagner durant ces quelques mois dans des circonstances particulières, pour sa disponibilité, ses conseils et tous les efforts qu'elle a fournis avec sympathie et gentillesse.*

Nous tenons à exprimer nos vifs remerciements à tous nos professeurs qui ont contribué à notre formation.

Nous adressons nos remerciements aux personnes qui nous ont aidés dans la réalisation de ce mémoire, et spécialement au personnel du laboratoire de génétique au sein de l'Université de Bejaia, au personnel du laboratoire de la raffinerie de Cevital et ceux du laboratoire agroalimentaire Idres.

À tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce mémoire, recevez notre profonde reconnaissance, On tient à vous dire.

Merci...

Phaima & Passina

Dédicace

Au nom d'Allah, celui sans qui rien ne peut se faire, le tout miséricordieux,

Je dédie ce mémoire :

*À la femme qui a fait de moi une fille ambitieuse et passionnée par les défis, mon premier modèle de qui j'ai appris la force, qui m'a toujours encouragé à atteindre mes objectifs, dont l'approbation crée mon succès, **ma mère "Salima"**, que Dieu prolonge ta vie avec santé.*

*À l'homme formidable qui a su faire ressortir le meilleur de moi, un homme qui m'a appris la vie dans sa plus belle forme, qui a donné tout ce qu'il pouvait sans jamais être avare, **mon père "Brahim"**, que Dieu te préserve comme notre protecteur.*

*À ma **princesse sœur "Amira"**, qui a toujours été à mes côtés, Ta présence illumine mes jours et ton amour me reconforte. Merci d'être une source inépuisable de soutien.*

*À **mon cher frère "Youcef"**, qui m'a toujours encouragé et aidé à réaliser ce que je veux,*

*À **mes grands-parents**, À toute **ma famille paternelle et maternelle.***

*À **ma binôme "Yassina"**, avec laquelle j'ai partagé beaucoup de joies et de difficultés au cours de notre travail.*

À tous ceux que j'aime et qui m'aiment.

Chaima.

Dédicace

Je dédie ce modeste travail avec sincérité et honneur :

*À la plus belle créature que Dieu a créée sur terre, **ma mère**, qui a toujours su me relever et m'aider à aller de l'avant, et qui n'a cessé de m'encourager et de prier pour moi. Tu es mon symbole de bonté, ma source de tendresse, et toute ma vie.*

*À **mon père**, qui n'a jamais cessé de déployer tous ses efforts afin de subvenir à mes besoins, de m'encourager et de m'aider à choisir le chemin de la réussite.*

Aucune dédicace ne saurait être assez éloquente pour exprimer ce que vous méritez pour tous les sacrifices que vous avez faits pour moi depuis ma naissance. Veuillez trouver ici le fruit de vos sacrifices ainsi que l'expression de ma profonde reconnaissance.

*À mon héros, la prunelle de mes yeux, mon frère **Djafar**. Aucun mot ne saurait décrire la place que tu occupes dans mon cœur. À celui que je considère comme un deuxième père, j'espère voir dans tes yeux la fierté que tu éprouves pour moi.*

*À vous, mes chers frères **Omar, Redouane et Menad**, vous êtes ma source de joie, de réussite et de fierté. Vous êtes bien plus que mes frères, votre présence est un précieux cadeau.*

Vous êtes la fierté de votre petite sœur.

*À ma sœur d'une autre mère, **Imen**, ma confidente de tous les instants. Je te remercie pour ta loyauté inconditionnelle et ta présence qui illumine ma vie.*

*À ma plus belle rencontre au sein de l'université, à mon rayon de soleil, **Rana**. Ton soutien inébranlable et ta patience infinie me donnent la force de surmonter tous les obstacles.*

*À ma binôme **Chaima**, grâce à ce présent travail, j'ai découvert une magnifique personne. Je te remercie pour ton soutien moral, ta patience et ta bonté.*

À mes amis qui m'ont tendu la main et su être l'oreille attentive.

À tous ceux qui, par un mot, m'ont donné la force de continuer...

Yassina.

Table des matières

Table des matières

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste des abréviations

Introduction générale..... 1

Chapitre I : Revue bibliographique

Partie 1. Etude caractéristique de *Pistacia lentiscus* 2

I.1.1. Généralités..... 2

I.1.2. Classification de la plante 2

I.1.3. Description de la plante..... 3

I.1.3.1. Feuilles 3

I.1.3.2. La résine..... 4

I.1.3.3. Fleurs..... 4

I.1.3.4. Fruits 4

I.1.4. Répartition géographique du pistachier..... 4

I.1.5. Composition chimique 5

I.1.5.1. Les feuilles..... 5

I.1.5.2. Les fruits..... 6

I.1.5.3. La résine..... 6

I.1.6. Utilisation traditionnelle et aspect pharmacologique de *Pistacia lentiscus* 6

I.1.6.1. Utilisation thérapeutique traditionnelle de *Pistacia lentiscus* 6

I.1.6.2. Propriétés biologiques et pharmacologiques..... 7

Partie 2. Huile de fruits de *Pistacia lentiscus* 8

I.2.1. Définition 8

I.2.2. Composition chimique..... 8

I.2.3. Les méthodes d'extraction de l'huile de *Pistacia lentiscus* 9

I.2.3.1. Méthodes traditionnelles d'extraction..... 9

I.2.3.2. Méthodes innovantes d'extraction 10

I.2.4. Les méthodes d'analyse de l'huile de *Pistacia lentiscus* 10

I.2.4.1. Chromatographie en phase gazeuse (CPG)..... 10

I.2.4.2. Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CPG/MS)..... 10

I.2.4.3. Chromatographie en phase liquide..... 11

Partie 3. Propriétés biologiques de l'huile de *Pistacia lentiscus* 11

I.3.1. Activité antibactérienne 11

I.3.2. Les méthodes d'étude de l'activité bactérienne..... 11

I.3.2.1. Technique en milieu solide (méthode de la diffusion en disque)..... 11

I.3.2.2. Méthode de dilution en milieu liquide	11
I.3.2.3. Méthode de diffusion en puits.....	12

Chapitre II : Matériels et méthodes

II.1. Matériels	13
II.1.1. Matériels chimiques et appareillages	13
II.1.2. Matériel végétal	14
II.1.2.1. Zone d'étude et période de récolte.....	14
II.1.2.2. Préparation du matériel végétal	14
II.2. Méthodes	15
II.2.1. Préparation de l'huile végétale du fruit de <i>Pistacia lentiscus</i>	15
II.2.1.1. Extraction par Soxhlet	15
II.2.1.2. Calcul du rendement d'extraction.....	16
II.2.2. Détermination des paramètres physico-chimiques	16
II.2.2.1. Détermination de l'indice d'acidité	16
II.2.2.2. Détermination de l'indice de peroxyde.....	17
II.2.2.3. Détermination de l'indice d'iode	18
II.2.2.4. Détermination de l'indice de réfraction	18
II.2.2.5. Détermination du taux de phosphore	19
II.2.2.6. Détermination de la couleur.....	20
II.2.2.7. Détermination de la chlorophylle.....	21
II.2.3. Analyse des acides gras par la chromatographie en phase gazeuse	21
II.2.3.1. Préparation des esters méthyliques des acides gras	22
II.2.3.2. Analyse par chromatographie en phase gazeuse (CPG)	22
II.2.4. Evaluation de l'activité antibactérienne	22
II.2.4.1. Souches bactériennes	22
II.2.4.2. Les milieux de culture.....	23
II.2.4.3. Préparation des cultures jeunes	23
II.2.4.4. Préparation de l'inoculum.....	23
II.2.4.5. Méthode de diffusion sur gélose Muller Hinton et Sabouraud.....	24
II.2.4.6. Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI) sur un milieu liquide	24
II.3. Analyses statistiques.....	25

Chapitre III : Résultats et discussion

III.1. Rendement de l'huile végétale	26
III.2. Propriétés organoleptiques et physico-chimiques de l'huile de lentisque.....	27
III.2.1. Indice d'acide	28

III.2.2. Indice de peroxyde.....	28
III.2.3. Indice d'iode	29
III.2.4. Indice de réfraction.....	29
III.2.5. Taux du phosphore	29
III.2.6. Couleur LOVIBOND	29
III.2.7. La chlorophylle.....	30
III.3. Composition chimique de l'huile des graines rouges de <i>Pistacia lentiscus</i> par chromatographie en phase gazeuse (CPG).....	30
III.4. Evaluation de l'activité antimicrobienne de l'huile végétale des graines rouges de <i>Pistacia lentiscus</i>	34
III.4.1. Etude qualitative de l'activité antimicrobienne de l'huile végétale de <i>Pistacia lentiscus</i>	34
III.4.2. Etude quantitative de l'activité antimicrobienne de l'extrait testé (CMI)	38
Conclusion générale	40
Références	41
Annexes	

Liste des figures

Liste des figures

N°	Titres	Pages
1	Arbuste de <i>Pistacia lentiscus L.</i>	2
2	Feuilles et fruits de <i>Pistacia lentiscus L.</i>	3
3	Résine et fleurs de <i>Pistacia lentiscus L.</i>	4
4	Répartition du genre <i>Pistacia.</i>	5
5	Photographie originale du fruit rouge de <i>Pistacia lentiscus L.</i>	14
6	Appareil Soxhlet	15
7	Photographie originale de l'huile des graines rouges de <i>P. lentiscus.</i>	27
8	Chromatogrammes CPG de l'huile du <i>Pistacia lentiscus.</i>	31
9	Teneur en AG dans l'huile des graines rouges de <i>Pistacia lentiscus.</i>	32
10	Effet de l'huile végétale de <i>Pistacia lentiscus</i> sur les souches bactériennes	36
11	Absence de zone d'inhibition	37

Liste des tableaux

Liste des tableaux

N°	Titres	Pages
I	Classification botanique de <i>Pistacia lentiscus</i>	3
II	Teneurs des phénols totaux, des flavonoïdes et des tanins condensés dans les extraits méthanoliques de différentes parties de <i>Pistacia lentiscus</i>	6
III	Activités biologiques et aspect pharmacologiques de <i>P. lentiscus</i>	7
IV	Les différentes structures de quelques composés de l'huile <i>Pistacia lentiscus</i> .	8
V	Récapitulatif des appareillages et des produits chimiques utilisés	13
VI	Récapitulatif des conditions de récolte	14
VII	Caractéristiques organoleptiques de l'huile du lentisque	27
VIII	La caractérisation physico-chimique de la matière grasse du lentisque	27
IX	Résultats de mesure des pigments de l'huile de <i>Pistacia lentiscus</i>	30
X	Temps de rétention des constituants standards, des acides gras de l'huile de <i>Pistacia</i> .	32
XI	Composition des acides gras des différentes régions	33
XII	L'échelle de mesure de l'activité antimicrobienne	34
XIII	Diamètres des zones d'inhibition (mm) de l'huile de graines rouges de <i>P. lentiscus</i> vis-à-vis de quelques souches microbiennes	35
XIV	CMI de l'extrait huile végétale de <i>P. lentiscus</i>	38

Liste des abréviations

Liste des abréviations

AFNOR: Association Française de Normalisation.

AOCS: Société Américaine des Chimistes des Huiles.

ATCC: Collection de Culture de Type Américain.

CMI: Concentration Minimale Inhibitrice.

COI: Conseil Oléicole International.

CPG: Chromatographie en Phase Gazeuse.

DMSO: Diméthyle sulfoxyde.

DZI: Diamètre de Zone d’Inhibition.

FID: Détecteur à Ionisation de Flamme.

GC-MS: Couplage chromatographie en phase Gazeuse-Spectrométrie de Masse.

HEs: Huiles Essentielles

HPLC: Chromatographie Liquide Haute Performance.

HVs: Huiles Végétales.

ISO: Organisation International de normalisation .

IUPAC: Union Internationale de Chimie Pure et Appliquée.

P. Lentiscus: *Pistacia lentiscus*.

SFE: Extraction par Fluide Supercritique.

SFEP: Extraction par Fluide Supercritique assisté par Pressage.

Introduction

Introduction générale

En raison de sa vaste superficie et de la diversité de ses écosystèmes, l'Algérie recèle une richesse floristique remarquable, estimée à environ 4000 taxons. A l'instar des autres pays du Maghreb, l'Algérie fait partie des nations méditerranéennes possédant une longue tradition médicale et un savoir-faire en phytothérapie, transmis de génération en génération. Toutefois avec l'essor de l'industrie pharmaceutique, il est crucial de soutenir et préserver ce précieux savoir. Conscient de cette nécessité, diverses études ethnobotaniques axées sur la médecine traditionnelle ont été menées dans la région méditerranéenne (Merve et Ayla, 2016).

Parmi les plantes médicinales que compte la flore algérienne, figure *Pistacia lentiscus* L, connu sous le nom Tidekt ou Drou en Algérie, et nommée par les anglophone «Mastic tree» ou «Lentisc» (Charef, 2011). C'est une plante originaire du bassin méditerranéen appartenant à la famille des "Anacardiaceae". Cette plante possède des propriétés dans le traitement de différentes maladies (Amara et al., 2019). Plusieurs études ont signalé que l'huile des parties aériennes de *Pistacia lentiscus* L, possède des propriétés antifongiques et antibactériennes appréciables (Bammou et al., 2015).

Ses considérations ainsi que la rareté des travaux sur l'huile végétale des fruits rouges de *P. lentiscus* en Algérie, nous ont amené à envisager des possibilités de valorisation de cette plante aromatique, ainsi que d'établir une approche entre ses paramètres physico-chimique et son profil chromatographique avec son pouvoir antimicrobien.

Le présent travail comporte deux parties distinctes :

- Une partie bibliographique consacrée à une synthèse des connaissances concernant *P. lentiscus* L, ainsi que les différents volets de cette étude.
- Une partie expérimentale qui est subdivisée en deux chapitres :
 - Le premier chapitre présente les méthodes et les techniques utilisées pour la réalisation de ce travail.
 - Le deuxième chapitre est consacré à la présentation des résultats obtenus ainsi que leurs discussions.

Enfin, la conclusion générale met en évidence les principaux résultats obtenus ainsi que les perspectives issues de notre présente étude.

*Chapitre I : Revue
bibliographique*

Chapitre I : Revue bibliographique

Partie 1. Etude caractéristique de *Pistacia lentiscus*

I.1.1. Généralités

Pistacia lentiscus, communément appelée pistachier lentisque, est un arbrisseau ramifié de trois mètres de hauteur. Il est doté d'une odeur de résine fortement âcre (Amara et al., 2019) ses feuilles coriaces sont d'un vert vif intense et disposées d'une manière verticilles sur les tiges. Il se distingue des autres pistachiers par des feuilles composées paripennées qui se terminent par une paire de foliole, tandis que celles des autres pistachiers se terminent par une seule foliole (Bammou et al., 2015).

Le pistachier lentisque est une espèce de la famille des *Anacardiaceae*, ce dernier est dioïque (présence des fleurs mâle et femelle), ses fleurs sont regroupées en grappes de couleur rougeâtre et très aromatiques. La floraison du lentisque s'étend du mois de Mars jusqu'au mois de Mai. Le fruit du pistachier se présente sous la forme d'une baie globuleuse de 2 à 3 mm, monosperme, initialement rouge puis noir à maturité (Amara et al., 2019).



Figure (1): Arbuste de *Pistacia lentiscus* L (Belfadel, 2009).

I.1.2. Classification de la plante

Pistacia lentiscus appartient à la famille des Anacardiaceae (Milia et al., 2021). Le tableau ci-dessous représente la classification systématique de *Pistacia lentiscus* (Nahida et al., 2012).

Tableau (I): Classification botanique de *Pistacia lentiscus* L.

Règne	<i>Plantae</i>
Division	<i>Magnoliophyta</i>
Ordre	<i>Sapindales</i>
Famille	<i>Anacardiaceae</i>
Genre	<i>Pistacia</i>
Espèce	<i>Pistacia lentiscus</i>
Nom binomial	<i>Pistacia lentiscus</i> L

Le genre *Pistacia lentiscus* se divise en 11 espèces qui sont : *Pistacia mexicana* HBK, *Pistacia texana* Swingle, *Pistacia lentiscus* L (mastic tree), *Pistacia saporte* Burbar, *Pistacia weinmannifolia* Poisson, *Pistacia atlantica* Desf, *Pistacia chenensis* Bge, *Pistacia khinjuk* Stocks, *Pistacia palaestina* Bois, *Pistacia terebinthus* L et *Pistacia vera* L (Milia et al., 2021).

I.1.3. Description de la plante

C'est une espèce qui se caractérise par :

I.1.3.1. Feuilles

Les feuilles de *Pistacia lentiscus* sont vivaces et comportent 4 à 10 folioles plutôt étroites, coriaces, composées, elliptiques et lisses de couleur verte. Les feuilles de *Pistacia lentiscus* ont une durée de vie de 2 ans (Onay et Jeffrey, 2000).



Figure (2): Feuilles et fruits de *Pistacia lentiscus* L (Milia et al., 2021).

I.1.3.2. La résine

La résine connue sous le nom de mastique est une substance résineuse de couleur jaune et claire à l'état frais. Elle est constituée de larmes globuleuses de 4 à 8 mm. La résine a une forte odeur aromatique et un goût agréable. Elle est récoltée comme épice et, lorsqu'elle sèche, elle devient une gomme blanche. Généralement, la production est d'environ 4 à 5 kg par arbuste (Nahida et al., 2012).

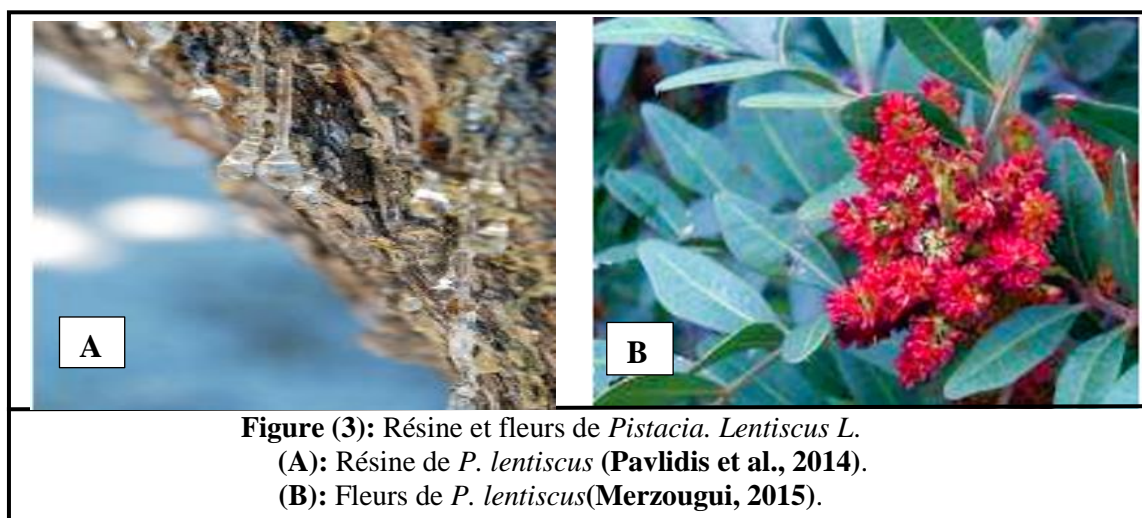


Figure (3): Résine et fleurs de *Pistacia. Lentiscus L.*
(A): Résine de *P. lentiscus* (Pavlidis et al., 2014).
(B): Fleurs de *P. lentiscus*(Merzougui, 2015).

I.1.3.3. Fleurs

Les fleurs sont strictement unisexes et sont regroupées en panicules sur les branches de la végétation précédente. Les fleurs mâles (8 à 10 par inflorescence) ont 1 à 2 lobes de périanthe et 8 à 10 étamines avec des anthères rouge foncé. Les fleurs femelles (4 à 20 par inflorescence) sont verdâtres et possèdent 2 bractéoles, 2 à 5 lobes de périanthe et un ovaire uniloculaire. La période de floraison se situe entre mars et avril (Figure 4), (Zaouli et al., 2018).

I.1.3.4. Fruits

Les fruits contiennent généralement une seule graine. Ce sont des drupes de 4 à 6 mm, d'abord vertes, puis rouges, et devenant noir brillant à pleine maturation (Figure 2), (Zaouli et al., 2018).

I.1.4. Répartition géographique du pistachier

D'après Bellakhdar, (2003) *Pistacia lentiscus* constitue un élément prépondérant de la végétation des maquis méditerranéens, incluant le nord de l'Afrique de l'Est, l'île de Madère, ainsi que les régions arides d'Asie et du pourtour méditerranéen de l'Europe et de l'Afrique, jusqu'aux îles Canaries.

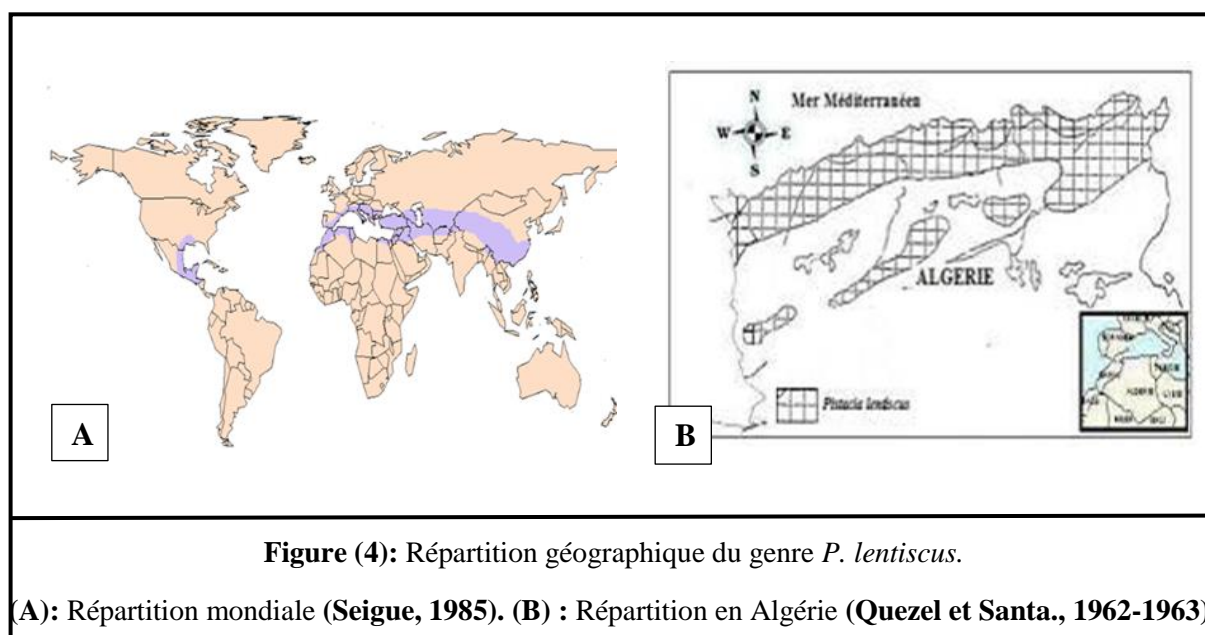


Figure (4): Répartition géographique du genre *P. lentiscus*.

(A): Répartition mondiale (Seigue, 1985). **(B) :** Répartition en Algérie (Quezel et Santa., 1962-1963).

En Algérie, *Pistacia lentiscus* se trouve dispersé le long du littoral et prospère dans divers habitats, le long d'un gradient climatique variant en fonction des conditions climatiques. Il forme fréquemment des associations avec le pin d'Alep, le chêne vert et le chêne liège, et est présent sur divers types de sols dans les régions subhumides et semi-arides d'Algérie (Ait Saïd, 2011).

I.1.5. Composition chimique

Les diverses parties de *Pistacia lentiscus* sont largement utilisées en médecine traditionnelle et ont été l'objet de plusieurs études phytochimiques pour but d'identifier les composés actifs.

I.1.5.1. Les feuilles

La caractérisation détaillée de l'extrait aqueux de feuilles a révélé la présence de plus de 12 composés qui ont été isolés à partir des extraits méthanoliques. Les composés obtenus comprenaient : acide phénolique, tanins, flavonoïdes, terpènes, acide shikimique, β -D-glucopyranoside et le composé le plus intéressant était le 2-hydroxy 1-8 cinéole (Anagnostou et al., 2023).

L'huile essentielle des feuilles est caractérisée par le β -caryophyllène (31,38%), le gémacrène (12,05%) et le γ -cadinène (6,48%). (Nahida et al., 2012), ainsi que la présence de stérols, des triterpènes et des saponosides (Bammou et al., 2015).

I.1.5.2. Les Fruits

Les études menées par **Longo et al. (2007)** ont déterminé que les fruits de *Pistacia lentiscus* contiennent 5,4 mg/ml d'anthocyanines, principalement du cyanidine 3-O-glucoside à 70%, puis de la delphinidine 3-O-glucoside à 20%, et du cyanidine 3-O-arabinoside à 10%. Selon **Mehenni et al. (2016)**, la composition chimique des fruits de *Pistacia lentiscus* est caractérisée par la présence d'acide gallique, de la catéchine, de l'acide 3,4-dihydroxyhydrocinnamique, de l'acide benzoïque, de l'acide salicylique et de la lutéoline.

I.1.5.3. La résine

Selon **Anagnostou et al. (2023)**, la résine la plus produite commercialement et ayant une grande valeur provient de l'arbuste *Pistacia lentiscus*. L'étude chimique de la résine a révélé sa complexité avec 28 composants, la plupart de ces composés sont des monoterpènes oxygénés et 3 composés sont des produits naturels non monoterpéniques ; 15 composés parmi ces 28 n'ont jamais été rapportés comme composants de l'huile ou de la résine. L'analyse par GC-MS a révélé les principaux composés suivants : l' α -pinène, le β -pinène, le limonène, le terpène-4-ol et le terpinéol-7 (**Nahida et al., 2012**).

Tableau (II): Teneurs des phénols totaux, des flavonoïdes et des tanins condensés dans les extraits méthanoliques de différentes parties de *Pistacia lentiscus* (**Zitouni et al., 2016**).

Différents parties	Phénols totaux (mg GAE/g DM) a	Tanins condensés (mg CE/g DM)b	Flavonoïdes (mg CE/g DM) b
Feuilles	216.289 ± 20.62	121.515 ± 9.171	19.162 ± 0.436
Fruits	103.342 ± 2.317	7.893 ± 0.481	4.6960.329

I.1.6. Utilisation traditionnelle et aspect pharmacologique de *Pistacia lentiscus*

La plante, *Pistacia lentiscus*, traditionnellement reconnue pour ses vertus médicinales dans la région méditerranéenne, est utilisée depuis des siècles. Elle a fait l'objet de nombreuses études en tant que ressource pour la fabrication de produits cosmétiques, alimentaires et comme additifs (**Tilkat et al., 2023**).

I.1.6.1. Utilisation thérapeutique traditionnelle de *Pistacia lentiscus*

Pistacia lentiscus est utilisée dans le traitement de l'eczéma, la paralysie, la diarrhée, les infections de la gorge, les lithiases rénales, la jaunisse, l'asthme et les douleurs abdominales (**Duru et al., 2003b**). En plus d'être employée pour soigner le diabète, l'hypertension, la toux

et les maladies cardiaques (Milia et al., 2021), la résine est utilisée comme chewing-gum contre la sécheresse des lèvres, divers troubles gastriques et agit comme antiseptique pour les voies respiratoires (Duru et al., 2003b).

I.1.6.2. Propriétés biologiques et pharmacologiques

Plusieurs recherches pharmacologiques ont montré que les différents composés de *Pistacia lentiscus* possèdent une variété d'activités biologiques qui sont illustrées dans le tableau suivant :

Tableau (III): Activités biologiques et aspect pharmacologiques de *P. lentiscus*.

Activités biologiques	Partie de la plante	Extrait/composés	Références
Anti-inflammatoire	Fruits	Huile végétale	Milia et al., 2021
Anticancéreuse	Feuilles	Extrait hydroalcoolique	Remila et al., 2015
Anti-oxydante	Feuilles et fruits	Extraits méthanol, éthanol, hexane et acétate d'éthyle	Bouyahya et al., 2019
Antimicrobienne	Feuilles	Extraits aqueux	Anagnostou et al., 2023
	Fruits	Extrait phénolique Huile végétale	Mezni et al., 2015
Antidiabétique	Feuilles	Extrait éthanolique, fractions aqueuses et organiques	Mehenni et al., 2016
Antifongique/ Antiparasitaire	Feuilles	Huile essentielle	Bouyahya et al., 2019
Anti-hypercholestérolémie	Fruits	Huile végétale	Djerrou., 2014
Anti-ulcère	Fruits	Huile végétale	Amara et al., 2019

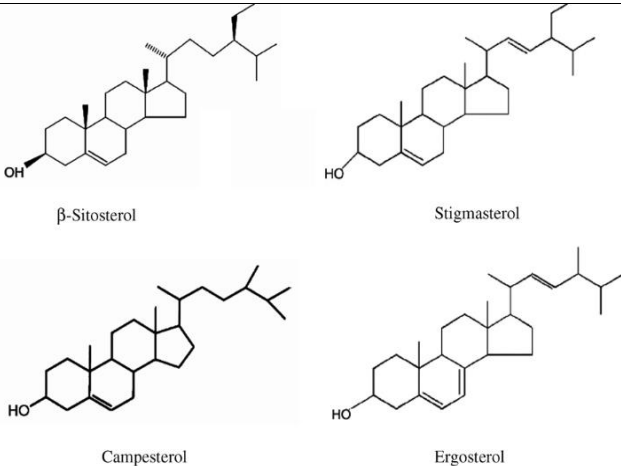
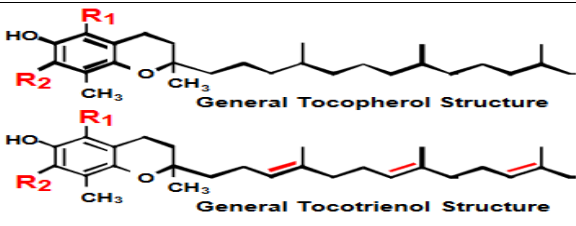
Partie 2 : Huile de fruits de *Pistacia lentiscus*

I.2.1. Définition

L'huile de *Pistacia lentiscus* a une couleur jaune vert récupérée par décantation L'huile est liquide à une température optimale entre 32 et 34°C, mais en dessous de cette température, une matière blanche se forme, ce qui indique sa solidification (Djerrou et al., 2010).

I.2.2. Composition chimique

Tableau (IV): les différentes structures de quelques composés de l'huile *Pistacia lentiscus*.

Composé	Structure	Référence
Acide gras	$\begin{array}{c} \text{CH}_3 \\ \\ \text{CH}_3 - \text{CH} - \text{CH}_2 - \text{COOH} \end{array}$	(Cuvelier et al., 2004)
Phytostérols	 <p style="text-align: center;">β-Sitosterol Stigmasterol</p> <p style="text-align: center;">Campesterol Ergosterol</p>	(Fernandes et al., 2007)
Tocophérols	 <p style="text-align: center;">General Tocopherol Structure</p> <p style="text-align: center;">General Tocotrienol Structure</p>	(DellaPenna, 2005)
Acide oléique (C18 :1n-9)	$\text{H}_3\text{C} - \text{C} - \text{C} - \text{C} - \text{C} - \text{C} = \text{C} - \text{C} - \text{C} - \text{C} - \text{C} - \text{C} - \text{COOH}$	(Colette et Monnier, 2011)
Acide palmitique (C16 :0)	<p style="text-align: center;">Acide gras saturé</p> $\text{H}_3\text{C} - \text{C} - \text{C} - \text{C} - \text{C} - \text{C} - \text{C} - \text{C} - \text{C} - \text{C} - \text{C} - \text{C} - \text{C} - \text{C} - \text{C} - \text{COOH}$ <p style="text-align: center;">$\text{CH}_3 - (\text{CH}_2)_n - \text{COOH}$</p>	(Colette et Monnier, 2011)

Les substances saponifiables de l'huile de *P. lentiscus*, constituées majoritairement par des acides gras, représentent 26,42% des acides gras monoinsaturés et 21,18% des acides gras saturés. Elle est riche en acides oléique et palmitique, ainsi qu'en d'autres constituants insaponifiables tels que les tocophérols, les phytostérols et des composés phénoliques. (Dhifi et al., 2013).

I.2.3. Les méthodes d'extraction de l'huile de *Pistacia lentiscus*

Les méthodes d'extraction des huiles végétales peuvent être classées en deux catégories : Les méthodes classiques (traditionnelles) et les méthodes innovantes.

I.2.3.1. Méthodes traditionnelles d'extraction

Ces méthodes d'extraction sont basées sur la libération des molécules volatiles de la plante par la vapeur d'eau.

➤ Pression à froid

Cette méthode d'extraction est une technique simple pour obtenir des huiles essentielles (HEs) et des huiles végétales (HVs) à partir des plantes ou des fruits sans chaleur. Le principe de cette méthode consiste à faire éclater la surface des fruits pour faciliter l'extraction de l'huile, qui s'écoule vers l'extérieur grâce à des différences de pression. Cette huile est ensuite collectée avec un courant d'eau et séparée de l'eau par centrifugation. Après séchage avec du sulfate de sodium anhydre, l'huile est conservée à 4°C (Ferhat et al., 2007).

➤ Extraction par solvant organique sur appareillage Soxhlet

L'extraction par Soxhlet est une technique traditionnelle largement utilisée pour extraire divers composés volatils en huiles à partir d'échantillons solides. Introduite au XIXe siècle par le baron Von Soxhlet, cette méthode porte son nom. Elle consiste à mettre l'échantillon en contact avec différents solvants organiques tels que l'hexane, l'acétone et le méthanol (Bhagravi et al., 2018).

➤ Hydrodistillation

L'hydrodistillation est une méthode principale pour obtenir des huiles essentielles (HEs). Cette technique est utilisée à grande échelle pour des raisons économiques. Le principe de cette technique est de broyer le fruit, de le mélanger avec de l'eau distillée, puis de le

soumettre à l'extraction pendant 30 à 240 minutes. Enfin, l'huile est séparée et séchée avec du Na₂SO₄. (Dao et al., 2020).

I.2.3.2. Méthodes innovantes d'extraction

Ces méthodes sont utilisées en raison de leurs avantages, qui sont la diminution du temps d'extraction, un meilleur rendement et des caractéristiques plus propres. Parmi ces méthodes : la distillation accélérée par micro-ondes, l'extraction par fluide supercritique (SFE), ainsi que l'extraction de fluide supercritique assistée par pressage (SFEP), qui ressemble à la méthode SFE et la pression à froid (Johner, 2018).

I.2.4. Les méthodes d'analyse de l'huile de *Pistacia lentiscus*

Diverses méthodes permettent d'extraire les acides gras à partir de matrices lipidiques complexes, comme les triglycérides ou les phospholipides.

I.2.4.1. Chromatographie en phase gazeuse (CPG)

La technique de chromatographie en phase gazeuse est une méthode pour la détermination des acides gras d'un échantillon, en utilisant un appareil spécifique équipé d'un détecteur à ionisation de flamme (FID). Pour identifier les acides gras, un mélange d'alcane de C₆ à C₂₈ est injecté, afin d'identifier les différents AG présent dans l'échantillon. L'analyse quantitative est basée sur la mesure de l'aire des pics chromatographiques, qui est proportionnelle à la masse de chaque soluté détecté. La transformation des acides gras en esters méthyliques est la technique la plus utilisée pour l'analyse des lipides via la chromatographie en phase gazeuse (Kord et al., 2021).

I.2.4.2. Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CPG/MS)

Des extraits de plantes ont été analysés avec un appareil CPG-MS, utilisant de l'hélium comme gaz et une colonne spéciale pour séparer les substances. Les températures pour l'injection et l'analyse étaient contrôlées et la détection des masses se faisait dans une plage définie. Pour identifier les composés, leurs spectres ont été comparés à une base de données, et seuls ceux avec une correspondance supérieure à 90% ont été considérés (Bontzolis et al., 2024).

I.2.4.3. Chromatographie en phase liquide

Le développement de la chromatographie liquide haute performance (HPLC) est dû à son efficacité et la rapidité de séparation des molécules en général, et des peptides en particulier. L'HPLC est une technique utilisée pour la caractérisation structurale des peptides et des protéines (Mant et al., 2007).

Partie 3. Propriétés biologiques de l'huile de *Pistacia lentiscus*

I.3.1. Activité antibactérienne

Depuis l'antiquité, les extraits aromatiques des plantes, comme les huiles essentielles ont été utilisés en médecine pour leurs propriétés antibactériennes. Les plantes aromatiques et médicinales sont reconnues depuis longtemps pour leur qualité microbiologique. Cependant, c'est en 1881 que Delacroix a réalisé la première mise en évidence de l'activité antibactérienne des huiles essentiels (Boyle, 1995).

Cette activité est par ailleurs variable d'une huile essentielle à l'autre ainsi que d'une souche bactérienne à une autre. Les huiles essentielles peuvent exercer une action bactéricide, entraînant la destruction des bactéries, ou une action bactériostatique en inhibant leur croissance et multiplication et ceci en fonction de leur composition chimique (Ouss, 2009).

I.3.2. Les méthodes d'étude de l'activité bactérienne

L'étude de l'activité antibactérienne des substances est essentielle pour identifier de nouveaux agents thérapeutiques contre les infections bactériennes. Voici les méthodes les plus courantes utilisées pour évaluer l'activité antibactérienne

I.3.2.1. Technique en milieu solide (méthode de la diffusion en disque)

Cette méthode consiste à diffuser un agent antibactérien à partir d'un disque imprégné, placé sur un milieu de culture agar préalablementensemencé avec des bactéries. Après incubation, le diamètre de la zone d'inhibition formée autour du disque est mesuré. Cette mesure permet d'évaluer l'efficacité de l'agent antibactérien (Alawa et al., 2003).

I.3.2.2. Méthode de dilution en milieu liquide

Cette technique est utilisée pour déterminer la concentration minimale inhibitrice (CMI), qui correspond à la plus faible concentration d'un agent antibactérien nécessaire pour empêcher la croissance visible d'une souche bactérienne. Il est important de noter que la CMI ne représente pas toujours une valeur absolue (Bendahou et al., 2008).

I.3.2.3. Méthode de diffusion en puits

La méthode des puits est utilisée pour évaluer l'activité antibactérienne d'une substance en l'introduisant dans des puits créés dans un milieu gélosé ensemencé de bactéries. La substance se diffuse dans l'agar, et si elle est efficace, elle inhibe la croissance bactérienne autour des puits. Les zones d'inhibition sont ensuite mesurées pour évaluer l'efficacité de l'agent testé (Bouyahya et al., 2017).

Objectif de l'étude

L'objectif de cette étude était de caractériser l'huile végétale des graines rouges de *Pistacia lentiscus L.*, en réalisant des analyses de ses paramètres physicochimiques et de sa composition en acides gras par chromatographie en phase gazeuse (CPG), ainsi qu'en évaluant son activité antimicrobienne, afin d'établir une corrélation potentielle entre les propriétés physicochimiques, la composition en acides gras et l'efficacité antimicrobienne de cette huile.

Chapitre II
Matériels et méthodes

Chapitre II : Matériels et méthodes

Le travail effectué a pour finalité l'étude des activités biologiques de l'huile de *Pistacia lentiscus*. L'étude s'est concentrée sur trois aspects principaux : analyse physico-chimique, analyse par chromatographie en phase gazeuse (CPG), et évaluation de l'activité antimicrobienne contre des souches bactériennes et fongiques.

II.1. Matériels

II.1.1. Matériels chimiques et appareillages

Dans cette étude, un ensemble d'appareillages et de produits chimiques ont été utilisés, ces éléments sont résumés dans le tableau suivant :

Tableau (V): Récapitulatif des appareillages et des produits chimiques utilisés.

Appareillages	Produits chimiques
<ul style="list-style-type: none"> • Balance électrique • Broyeur • Soxhlet • Evaporateur rotatif (Rotavapor) • Vortex • Spectrophotomètre • Colorimètre LOVIBOND • Refractomètre • Etuve • Incubateur • Chromatographie en phase gazeuse (CPG) • Autoclave 	<ul style="list-style-type: none"> • Hexane • Ethanol • Phénolphtaléine • Hydroxyde de sodium (NaOH) • Oxyde de zinc • Molybdate de sodium • Sulfate d'hydrazine • Hydroxyde de potassium (Koh) • Iodure de potassium (KI) • Chloroforme • Empois d'amidon à 1 % • Acide chlorhydrique (HCl) • Mueller Hinton (bouillon) • Mueller Hinton (gélose) • Sabouraud gélose • Sabouraud bouillon • Antifongique (Flucanazole) • Amphotéricine B, Gentamicine • Diméthyle Sulfoxyde (DMSO) • Eau physiologique

II.1.2. Matériel végétal

II.1.2.1. Zone d'étude et période de récolte

Le choix de *Pistacia lentiscus L.*, comme sujet d'étude dans notre recherche a été motivé par ses nombreuses utilisations traditionnelles et sa disponibilité abondante en Algérie. Les fruits ont été récoltés pendant le mois de Novembre 2023 dans la région Tizi Neftah, province d'Amizour, wilaya de Bejaïa, Algérie.



Figure (5): Photographie original du fruit rouge de *Pistacia Lentiscus L.*

Les conditions de récolte des fruits du *Pistacia lentiscus L.*, sont réunies dans le tableau ci-dessous :

Tableau (VI): Récapitulatif des conditions de récolte.

Nom Botanique	Date de récolte	Lieu	Organe	Stade de maturation	saison	Milieu végétatif
<i>Pistacia lentiscus</i>	Novembre 2023	Tizi Neftah	Fruit entier	Fruits non mûrs	saison des pluies	forêt

II.1.2.2. Préparation du matériel végétal

Les graines rouges fraîchement récoltées de *P. lentiscus*, ont été lavées et nettoyées puis séchées naturellement à l'air libre, puis dans une étuve à 40°C. Ensuite, le broyage du matériel végétal d'une quantité de 1160g a été effectué à l'aide d'un broyeur électrique jusqu'à l'obtention d'une pâte. Cette dernière a été placée dans des récipients en verre et stockée au frais à 4°C jusqu'à utilisation.

II.2. Méthodes

II.2.1. Préparation de l'huile végétale du fruit de *Pistacia lentiscus*

L'huile végétale des fruits de *Pistacia lentiscus* L. a été obtenue en utilisant la méthode du Soxhlet (extraction solide-liquide). Pour ce faire, un solvant organique "Hexane" a été utilisé pour extraire l'huile à partir de la pâte obtenue.

II.2.1.1. Extraction par Soxhlet

L'extraction par Soxhlet est l'une des techniques les plus utilisées pour la séparation d'une large gamme de composés volatils jusqu'aux huiles à partir d'échantillons solides (Bhargavi et al., 2018). Cette technique consiste à épuiser la matière végétale à l'aide d'un solvant organique, afin de libérer les composés non volatils présents dans les structures vacuolaires par rupture du tissu végétal et par diffusion.

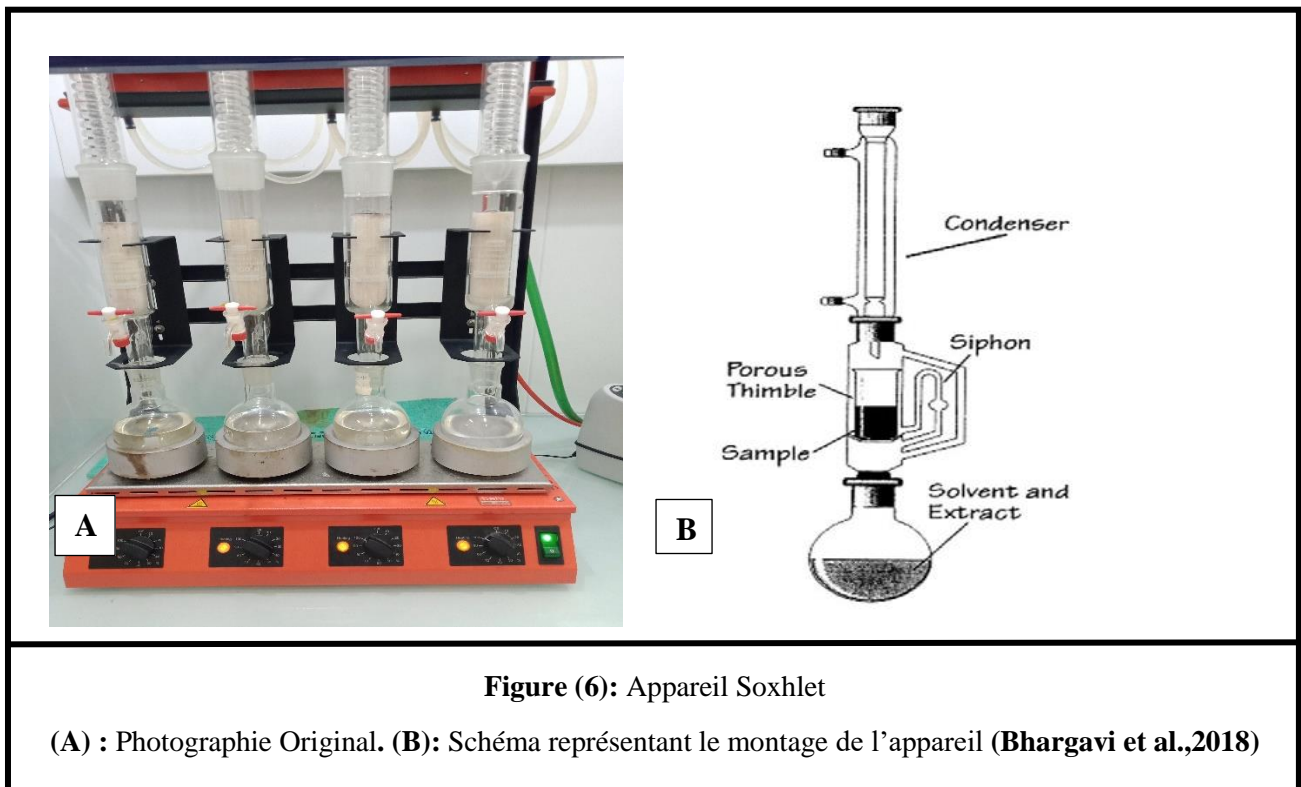


Figure (6): Appareil Soxhlet

(A) : Photographie Original. (B): Schéma représentant le montage de l'appareil (Bhargavi et al., 2018)

Mode opératoire

Dans cette étude, une masse de 45g de pâte des fruits rouges de *Pistacia lentiscus*, a été placée dans une cartouche en cellulose, puis dans le réservoir du Soxhlet. Le ballon a ensuite été rempli avec 180 ml d'hexane. À l'aide d'un chauffe-ballon à 100°C, le solvant a été porté à ébullition puis réduit à une température de 70°C. Le solvant a été condensé par le réfrigérant puis s'est écoulé dans le réservoir où se trouvait la cartouche, solubilisant ainsi la substance à

extraire. Le réservoir a été rempli progressivement et dès qu'il a atteint le niveau du coude, il s'est vidé automatiquement. Le solvant et la substance à extraire ont alors été transportés dans le ballon. Cette opération a été répétée jusqu'à ce que le solvant obtenu soit incolore. Après l'extraction, le solvant riche en substances extraites a été évaporé à sec sous une pression réduite à l'aide d'un évaporateur rotatif (Rotavapor). L'extrait non volatil ainsi récupéré a ensuite été pesé et conservé à 4-6°C jusqu'à son utilisation (**Bontzolis et al., 2024**)

II.2.1.2. Calcul du rendement d'extraction

Le taux d'extraction de l'huile de *P. Lentiscus* a été calculé grâce à l'équation suivante

$$\text{Le rendement (\%)} = [(P1-P0) / E] \times 100$$

Où

P0 : Poids du flacon vide (g).

P1 : Poids du flacon après évaporation du solvant (g).

E : Poids de l'échantillon (pâte) (g).

II.2.2. Détermination des paramètres physico-chimiques

Dans cette section, nous avons exploré les paramètres physico-chimiques de l'huile de *Pistacia lentiscus*. Ces paramètres jouent un rôle essentiel dans la caractérisation et l'évaluation de la qualité de l'huile, qui est largement utilisée dans diverses applications industrielles. Les analyses des paramètres physicochimiques ont été réalisées au laboratoire de la raffinerie du complexe Cevital, en se basant sur des normes qui ont été déterminées par plusieurs organisations internationales (**ISO** : International standard organisation, **AOCS** : American Oil Chemists' Society), offrant ainsi des données fiables et significatives pour notre étude. Les paramètres étudiés comprennent l'acidité, l'indice peroxyde, le taux du phosphore, la couleur, la chlorophylle et l'indice de réfraction. Cette étude a été complétée par une chromatographie en phase gazeuse pour identifier les différents composants volatils de cette huile.

II.2.2.1. Détermination de l'indice d'acidité

➤ Définition

L'acidité d'une huile est conventionnellement indiquée en pourcentage d'acides gras oléique et palmitique qui sont les principaux constituants lipidiques.

➤ **Principe**

Cette méthode consiste en une neutralisation des acides gras par une base (solution NaOH) en présence de phénolphtaléine comme indicateur.



➤ **Mode opératoire**

Une quantité de 100 ml de solution d'alcool a été neutralisée (éthanol) et quelques gouttes de l'indicateur phénolphtaléine ont été introduites dans un erlenmeyer. Une neutralisation a été réalisée à base de NaOH jusqu'à l'observation d'un virage de couleur (rose). Une quantité de 10g d'huile a été ajoutée à la solution précédente, suivie d'une titration avec le NaOH. Le volume de NaOH utilisé pour la titration a été noté (**ISO3960, 2007**).

Le taux d'acidité de l'huile a été déterminé selon la formule suivante

$$\text{A}\% = \frac{\text{M.V.}}{\text{P.10}}$$

Où

A% : Acidité exprimée en pourcentage.

M : Masse molaire d'acide oléique (282 g/mol).

N : Normalité de NaOH (0,1N).

V : Volume de NaOH nécessaire au titrage (ml).

P : Poids de la prise d'essai (g).

II.2.2.2. Détermination de l'indice de peroxyde

➤ **Définition**

L'indice de peroxyde est la quantité d'oxygène actif, exprimée en milliéquivalent, contenu dans 1g de corps gras et oxydant l'iode de potassium avec libération d'iode.

➤ **Principe**

Le principe fondamental de cette méthode consiste à traiter un échantillon d'huile avec une solution d'iodure de potassium (KI) dans de l'acide acétique et du chloroforme. L'iode libéré est ensuite titré à l'aide d'une solution de thiosulfate de sodium, en présence d'empois d'amidon comme indicateur coloré, selon la réaction suivante :



➤ **Mode opératoire**

Dans un flacon Erlenmeyer, 5g d'huile, 12ml de chloroforme et 18ml d'acide acétique ont été combinés avec du KI saturé (0.5g). Après 1 minute d'agitation et 5 minutes de repos, 75 ml d'eau distillée ainsi que quelques gouttes d'empois d'amidon ont été additionnées au mélange précédent. Après homogénéisation de ce dernier, une titration à base de thiosulfate de sodium ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$) (0,01 N) a été effectuée, jusqu'à ce que la solution devienne transparente. Parallèlement, un essai à blanc (sans huile) a été effectué (ISO3960, 2007).

➤ **La valeur de l'indice de peroxyde a été calculée selon la formule suivante**

$$\text{IP} = \text{V} \cdot 2$$

Où

IP : indice peroxyde en (mEq O₂/kg).

V : Volume de la solution de thiosulfate de sodium utilisé pour le titrage (ml).

II.2.2.3. Détermination de l'indice d'iode

➤ **Définition**

L'indice d'iode est le nombre de grammes d'halogène, exprimé en iode, absorbé par 100 grammes de produit dans des conditions spécifiques (IUPAC, 1987). La méthode de Wijs a été adoptée par l'AFNOR pour déterminer l'indice d'iode dans les corps gras (**méthode interne**).

II.2.2.4. Détermination de l'indice de réfraction

➤ **Définition**

L'indice de réfraction est défini comme une mesure de la déviation de la lumière lorsqu'elle traverse un milieu transparent par rapport à sa trajectoire dans le vide, indiquant ainsi la vitesse de la lumière dans ce milieu comparée à sa vitesse dans le vide. Il est lié à l'insaturation et influencé par de nombreux autres facteurs : acidité, degré de dilution, oxydation, polymérisation, existence de fonction secondaire sur les molécules. Ainsi, l'indice de réfraction augmente avec l'insaturation ou la présence de fonctions secondaires sur les chaînes grasses.

➤ **Principe**

La détermination de l'indice de réfraction de l'huile de lentisque a été effectuée sur un réfractomètre de type ABBE.

➤ **Mode opératoire**

A l'aide d'une pipette pasteur, une goutte de l'huile (0.5ml) de lentisque a été déposée sur le prisme du refractomètre, suivie d'une observation de la ligne de séparation lumière/huile. La lecture de l'indice de réfraction a été faite sur l'échelle du refractomètre (AOCS, 2017).

II.2.2.5. Détermination du taux de phosphore

➤ **Définition**

Exprimé en parties par million (ppm) de phosphore, le dosage colorimétrique du phosphomolybdate (colorimétrie bleue) est la méthode la plus fiable qui convient particulièrement au dosage des phosphores dans les huiles.

➤ **Principe**

L'huile et les phosphatides qu'elle contient ont été calcinées en présence d'oxyde de zinc ; cela aboutit à la transformation du phosphore organique en phosphore minérale (phosphate de zinc). Un dosage spectrophotométrique (colorimétrie bleue) a été réalisé dans le visible du nouveau complexe formé (phosphomolybdate) suite à l'addition du molybdate.

➤ **Mode opératoire**

Une quantité de 3 g d'huile dans une capsule en platine a été additionnée à 0.5 g d'oxyde de zinc. La capsule a été ensuite mise dans un four à moufle à 600°C pour calcination pendant 2 heures. Après refroidissement, 5ml de HCL concentré et 5ml d'eau distillée ont été ajoutés, suivi d'un chauffage jusqu'à ébullition. Après refroidissement, la solution a été filtrée dans une fiole de 100ml et neutralisée par addition goutte à goutte de KOH à 50 % jusqu'à apparition d'un trouble.

Pour neutraliser la solution, quelques gouttes de la solution de HCL ont été ajoutées, et complétée jusqu'à 100 ml avec de l'eau distillée. Dans une fiole de 50ml, 10ml de cette solution ont été pipetées, en y ajoutant 8ml de sulfate d'hydrazine, 2ml de molybdate de sodium et complétée à nouveau avec de l'eau distillée jusqu'à 50ml. La fiole contenant la solution a été mise dans un bain marie bouillant pendant 15min. Après refroidissement, l'absorbance a été calculée à 650 nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV-VIS EVOLUTION 300 (AOCS 1992).

La teneur en phosphore est donnée par la formule suivante :

$$Y = 5.6977x + 0.0014$$

$$\text{Taux du phosphore} = \frac{x}{m} \times 10000$$

Où

Y : absorbance de l'échantillon à 650nm.

X : le taux du phosphore.

m : la masse de la pesé (3g).

II.2.2.6. Détermination de la couleur

➤ Définition

La couleur joue un rôle important dans l'évaluation de la qualité d'un aliment. En effet, elle est liée aux principaux constituants qui sont déterminés à leur maximum d'absorption. Les chlorophylles et les caroténoïdes sont les principaux pigments rencontrés dans l'huile de *Pistacia lentiscus*.

➤ Principe

La détermination de la couleur de l'échantillon analysé a été réalisée à l'aide d'un colorimètre automatique « LOVIBOND série RYBN », constitué de quatre séries de lames colorées ; rouge, jaune, bleu et neutre. Ce dispositif implique une comparaison entre la couleur de la lumière transmise à travers une couche de graisse liquide et celle de la lumière provenant de la même source, transmise à travers les lames colorées standardisées.

➤ Mode opératoire

Une cuve en verre de LOVIBOND a été remplie par un échantillon d'huile (1 pouce pour l'huile brut, 2,54cm), puis placée dans le colorimètre. La couleur de l'échantillon a été déterminée par comparaison avec les lames de couleurs standard (**ISO 15305, 1998**). Les résultats ont été exprimés en termes de nombre d'unité jaune, rouge, bleu et neutre nécessaire pour obtenir la couleur correspondante.

II.2.2.7. Détermination de la chlorophylle

➤ **Définition**

Cette méthode a été utilisée pour déterminer la teneur en pigments chlorophylliens (principalement la pheophytine A) dans l'huile végétale, elle est exprimée en mg de pheophytine dans 1kg d'huile "mg/kg (ppm)".

➤ **Principe**

La teneur en chlorophylle a été déterminée à l'aide d'un dosage spectrométrique, en mesurant l'absorbance de la lumière par un échantillon contenant de la chlorophylle à des longueurs d'onde spécifiques.

➤ **Mode opératoire**

Un essai à blanc a été effectué en remplissant la cuve en quartz avec du tétrachlorure de carbone CCl₄ (témoin) et la lecture de l'absorbance du blanc à 420nm. Après rinçage de la cuve, elle a été remplie avec l'huile de *Pistacia lentiscus*. Les absorbances de l'huile par rapport au tétrachlorure de carbone ont été mesurées à 630 nm, 670 nm et 710 nm (AOCS, 1989).

La teneur en chlorophylle exprimée en ppm est donnée par la formule suivante :

$$\text{Chlorophylle (ppm)} = \frac{[A_{670} - (A_{630} + A_{710})/2]}{0,0964 \times L}$$

Où

A : Désigne l'absorbance à la longueur d'onde indiquée.

L : La longueur de la cuve en centimètre (1 cm).

II.2.3. Analyse des acides gras par la chromatographie en phase gazeuse

La teneur en acides gras de l'huile extraite des fruits de *P. lentiscus* a été analysée par chromatographie en phase gazeuse (CPG).

II.2.3.1. Préparation des esters méthyliques des acides gras

Pour la préparation des esters méthyliques d'acides gras, une masse de 0,5 g d'huile extraite de *Pistacia L.* a été mélangée avec 5 ml d'hexane et 0,5 ml d'hydroxyde de potassium (KOH) méthanolique. Après avoir agité vigoureusement pendant 2 minutes et laissé reposer, la phase supérieure contenant les esters méthyliques a été décantée.

À la fin, pour préparer l'échantillon à injecter dans le chromatographe, un mélange de quelques gouttes des esters méthyliques et 1 ml d'hexane a été préparé, afin d'analyser les esters méthyliques obtenus par injection d'un microlitre de ces esters dans une colonne de chromatographie en phase gazeuse de type « 6890 Network GC system » (**Méthode Interne**).

II.2.3.2. Analyse par chromatographie en phase gazeuse (CPG)

Le processus est comme suit : le mélange a été vaporisé à l'entrée de la colonne, qui renferme une substance active solide ou liquide appelée la phase stationnaire, puis il a été transporté à travers celle-ci à l'aide d'un gaz vecteur qui est l'azote. Les différentes molécules du mélange ont été séparées et sont sorties de la colonne les unes après les autres après un certain laps de temps (temps de rétention) qui dépend de l'affinité de la phase stationnaire avec les molécules. Lorsque les molécules ont traversé le FID (DéTECTEUR à Ionisation de Flamme), elles ont subi une ionisation, ce qui a provoqué entre les électrodes un courant électrique qui a ensuite été amplifié. À noter qu'un étalon de 37 acides gras a été injecté au départ, ce qui va définir le temps de rétention de chaque acide gras.

II.2.4. Evaluation de l'activité antibactérienne

Cette section de l'étude s'est concentrée sur l'évaluation de l'activité antibactérienne de l'huile végétale de *Pistacia lentiscus*, sur quatre souches différentes : *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas aeruginosa* et l'activité antifongique sur *Candida albicans*. Les tests (menés au laboratoire agroalimentaire Idres), visaient à explorer les capacités de cette huile à inhiber la croissance de ces micro-organismes, ouvrant ainsi la voie à de potentiels nouveaux agents antibactériens d'origine naturelle.

II.2.4.1. Souches bactériennes

Les souches microbiennes, mises à notre disposition par le laboratoire agroalimentaire Idres (Bejaia), sont de référence ATCC (American Type Culture Collection).

➤ **Bactéries à Gram négatif**

Pseudomonas aeruginosa : souche de référence (ATCC 9027).

➤ **Bactérie à Gram positif**

Staphylococcus aureus : souche de référence (ATCC 6538).

Bacillus subtilis : souche de référence (ATCC 6633).

➤ **Souche fongique**

Candida albicans : souche de référence (ATCC 10231).

II.2.4.2. Les milieux de culture

Les milieux de culture utilisés pour évaluer l'activité antibactérienne sont :

- Gélose nutritive pour préparer les cultures jeunes.
- Gélose Muller Hinton pour l'isolement et l'enrichissement de *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus* et *Pseudomonas aeruginosa*.
- Gélose Sabouraud pour l'isolement et l'enrichissement de *Candida albicans*.
- Bouillon Muller Hinton pour la CMI.

II.2.4.3. Préparation des cultures jeunes

Des colonies bien isolées des cultures pures ont été prélevées à l'aide d'une anse de platine, puis elles ont été mises dans 10 ml d'eau physiologique stérile à 0.9% de sel NaCl. Ensuite, les suspensions bactériennes ont été bien homogénéisées à l'aide d'un vortex. Par la suite, les souches bactériennes ont étéensemencées à partir de la suspension sur des boîtes de pétris contenant de la gélose nutritive, suivi d'une incubation à 37C° pendant 24 h afin d'obtenir des cultures jeunes (Haddouchi et al., 2016).

II.2.4.4. Préparation de l'inoculum

Des colonies isolées, prélevées d'une culture jeune, ont été suspendues dans 9 ml d'eau physiologique et homogénéisées soigneusement. La densité optique de cette suspension a ensuite été ajustée à une valeur de 0,8 McFarland (DO = 0,08 à 0,1) à l'aide d'un spectrophotomètre réglé à une longueur d'onde de 625 nm pour les bactéries. Pour les souches fongiques, la densité a été ajustée à une valeur de 0,15 McFarland (DO = 0,12 à 0,15) à 530 nm. L'inoculum peut être ajusté soit en additionnant de la culture bactérienne s'il est faible ou de l'eau distillée s'il est trop fort (Haddouchi et al., 2016).

II.2.4.5. Méthode de diffusion sur gélose Muller Hinton et Sabouraud

Pour étudier l'activité antibactérienne de l'huile de *Pistacia lentiscus L.*, la méthode de diffusion sur puits a été choisie.

➤ Mode opératoire

Dans cette méthode, un volume de 100 µl de suspension bactérienne a été déposé à la surface des milieux gélosés : Muller Hinton pour les bactéries et Sabouraud pour les champignons, puis ils ont été ensemencés à l'aide d'une pipette Pasteur. Des puits ont ensuite été créés dans la gélose. Un volume de 100 µl d'extrait, de DMSO et d'antibiotiques a été déposé dans chaque puits. Les boîtes ont été maintenues à 4°C pendant 1 heure afin de permettre la diffusion de l'huile, puis elles ont été incubées à 37°C pendant 24 heures pour les souches bactériennes et à 22°C pendant 5 jours pour les souches fongiques. La lecture des résultats a été effectuée par la mesure du diamètre de la zone d'inhibition en mm (**Bouyahya et al., 2017**).

Les antibiotiques utilisés dans cette étude sont la Gentamicine et l'Amphotéricine B pour les souches bactériennes, et le Fluconazole pour les souches fongiques.

II.2.4.6. Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI) sur un milieu liquide

Pour déterminer la CMI des bactéries, la méthode de micro-dilution en bouillon a été utilisée. Tous les tests ont été réalisés dans le milieu de bouillon Mueller-Hinton. La CMI est définie comme la plus faible concentration de l'extrait à laquelle aucune croissance visible du micro-organisme n'est observée (**Haddouchi et al., 2016**).

➤ Mode opératoire

Dans une microplaque de microtitration à 96 puits, 100 µl de milieu de culture ont été ajoutés à tous les puits. Ensuite, 50 µl de l'extrait ont été ajoutés dans les trois premiers puits et des dilutions en série ont été effectuées pour obtenir les concentrations suivantes : 32 mg/ml, 16 mg/ml, 8 mg/ml, 4 mg/ml, 2 mg/ml, 1 mg/ml, 0,5 mg/ml et 0,25 mg/ml. Pour le contrôle négatif, 50 µl de DMSO ont été ajoutés dans les trois puits suivants. Pour le blanc, 50 µl de l'extrait (l'huile) ont été ajoutés. Enfin, 50 µl de la suspension bactérienne ont été ajoutés aux puits, à l'exception de ceux du blanc de l'extrait. Les microplaques ont été incubées à 37 °C pendant 24 heures pour les bactéries.

Le pourcentage d'inhibition de la croissance bactérienne a été calculé selon l'équation suivante :

$$\% \text{ d'inhibition} = [(\text{Abs contrôle} - (\text{Abs échantillon} - \text{Abs blanc}) / \text{Abs contrôle}] \times 100$$

II.3. Analyses statistiques

Trois essais ont été effectués pour les tests. Les résultats sont présentés sous forme de moyenne \pm écart-type. Le programme Microsoft Office Excel 2016 a été utilisé pour calculer les moyennes et les écart-types ainsi que pour réaliser le diagramme circulaire.

Chapitre III
Résultats et discussion

Chapitre III : Résultats et discussion

Dans cette partie, les différents résultats des analyses quantitatives et qualitatives de l'huile extraite à partir des fruits rouges de *Pistacia lentiscus* ont été présentés.

L'étude analytique de l'huile végétale de *Pistacia lentiscus* a concerné, d'une part par les caractéristiques organoleptiques, à savoir l'aspect et la couleur, et, d'autre part, par les caractéristiques chimiques comme l'acidité, l'indice peroxyde, le taux du phosphore, la chlorophylle, l'indice de réfraction et l'indice d'iode. Le deuxième volet concerne l'analyse par chromatographie en phase gazeuse (CPG).

III.1. Rendement de l'huile végétale

L'extraction présente l'étape clé avant toute analyse quantitative ou qualitative. Dans cette étude l'extraction de l'huile végétale de *Pistacia lentiscus* a été effectuée par la méthode d'épuisement par Soxhlet. Cette dernière est la plus efficace en termes de rendement (**Danlami et al., 2015**). Pour ce faire, un solvant organique a été utilisé : l'hexane et, ceci par épuisement de la matière végétale pour libérer les composés non volatils présents dans les structures vacuolaires par rupture du tissu végétal (**Bhargavi et al., 2018**). Le choix du solvant organique s'est porté sur l'hexane, qui est un solvant non polaire ce qui le rend particulièrement efficace pour dissoudre les composés lipidiques non polaires présents dans l'huile de lentisque, permettant ainsi une extraction plus complète et efficace de l'huile (**Danlami et al., 2015**).

Un rendement de 3.05% a été obtenu. Ce rendement est inférieur à celui de l'huile végétale des fruits rouges de *Pistacia lentiscus* enregistré par **Charef et al. (2008)** qui est de 11.7%, dans la région de Tipaza. Par ailleurs, l'espèce *Atlantica* récolté dans la région de Laghouat a présenté un rendement de 7% (**Guenane et al., 2015**). A titre comparatif, les fruits noirs de *Pistacia lentiscus* ont exhibé un rendement de 32.8%.

D'après **Arab et al. (2014)**, le rendement d'extraction peut dépendre de plusieurs facteurs. Il varie en fonction de l'origine de la plante, la nature des parties utilisées, la taille des particules, le nombre d'extractions, la période de récolte et la méthode d'extraction. Comme rapporté par **Brahmi et al. (2020)**, la différence de rendement en huile de lentisque peut s'expliquer par la maturité des graines utilisées ; en effet, la quantité d'huile augmente au cours de la maturation des graines, comme rapporté par **Charef et al. (2008)** (11,70% pour les fruits rouges et 32,8% pour les fruits noirs).

III.2. Propriétés organoleptiques et physico-chimiques de l'huile de 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 de *Pistacia lentiscus* obtenue était visqueuse de couleur jaune verdâtre (Figure 10), avec une odeur forte, herbacée et fraîche. Les paramètres organoleptiques de l'huile analysée sont en accord avec ceux des normes AFNOR. Les résultats de caractérisation organoleptique sont rapportés dans le tableau (VII).



Figure (7): Photographie originale de l'huile des graines rouges de *P. lentiscus*.

Tableau (VII): Caractéristiques organoleptiques de l'huile du lentisque.

Caractéristiques organoleptiques de l'huile du lentisque	
Aspect	Visqueux
Couleur	Jaune verdâtre
Odeur	forte, herbacée et fraîche

- La caractérisation physico-chimique de la matière grasse du lentisque est résumée dans le tableau (VIII) :

Tableau (VIII): La caractérisation physico-chimique de la matière grasse du lentisque.

Paramètres	Résultats	AFNOR
Indice d'acide (mg KOH/g d'huile)	04.72	2
Indice de peroxyde (mg/kg)	00.60	<10
Indice d'iode	70.00	70-90
Indice de réfraction	01.41	< 1,46
Taux du phosphore(ppm)	48.26	<10

D'après les résultats obtenus, il est à noter que les paramètres physico-chimiques de l'huile végétale des fruits rouges de *Pistacia lentiscus* sont conformes aux normes.

III.2.1. Indice d'acide

L'acidité libre permet de contrôler le niveau de dégradation hydrolytique, enzymatique ou chimique, des chaînes d'acides gras des triglycérides (**Abaza et al., 2002**).

L'huile des baies rouges de lentisque présente un indice d'acide de 4.72 mg KOH/g d'huile. **Charef et al. (2008)** ont rapporté des valeurs d'acides de l'huile de graines rouges de *P. lentiscus* cultivées à Tipaza cinq fois plus grandes, soit 24 mg KOH/g d'huile, tandis que **Boukeloua et al. (2012)** ont trouvé un indice d'acides de 2.27 mg KOH/g d'huile pour les graines noires cultivées dans la région de Skikda, ce qui est inférieur à celui des graines rouges. D'après ces résultats, un indice d'acides élevé peut être attribué à une mauvaise conservation des fruits, donc l'huile des graines rouges de *P. lentiscus* analysée est bien conservée parce qu'elle présente une acidité de 4.72 mg KOH/g d'huile.

III.2.2. Indice de peroxyde

L'indice de peroxyde mesure le degré de peroxydation des matières grasses après une exposition à l'air, ce qui entraîne la formation de peroxyde à partir des acides gras insaturés (**Djerrou, 2014**). Il est influencé par les conditions de conservation et les méthodes d'extraction. Cet indice est d'une sensibilité satisfaisante pour évaluer les premières étapes de la détérioration oxydative.

L'oxydation d'une huile commence après la cueillette des fruits et se poursuit durant leur stockage et traitement. Les corps gras peuvent s'oxyder en présence d'oxygène et de facteurs physico-chimiques (température élevée, eau, enzymes, traces de métaux...). Cet indice permet d'évaluer la teneur de l'huile en produits d'oxydation primaire (**Marmesat et al., 2009**).

La valeur de l'indice de peroxyde obtenue pour l'huile analysée est 0.6 mEq O₂/Kg. Cette valeur est en dessous du maximum 10 mEq O₂/Kg, fixée par le Codex Alimentarius. Le résultat de la présente étude est inférieur à celui trouvé par **Djerrou, (2014)** dans la région de Tamalous, Algérie, avec une valeur de 10 mEq O₂/Kg, et à celui trouvé par **Boukeloua et al. (2012)**, dans la région de Skikda avec une valeur de 1.12 mEq O₂/Kg. L'huile de graines rouges de *Pistacia lentiscus* a montré un indice de peroxyde acceptable, ce qui signifie une faible tendance au rancissement et une bonne stabilité oxydative.

III.2.3. Indice d'iode

Le degré d'insaturation globale d'une huile végétale est déterminé en mesurant son indice d'iode. Plus celui-ci est élevé, plus cette huile contient des AG insaturés (**Djerrou, 2014**). L'indice d'iode de l'huile des graines rouges de *Pistacia lentiscus* est de l'ordre 70 g d'iode/ 100 g d'huile. Cette valeur est proche de celle trouvée dans la région de Skikda par **Boulekoua et al. (2012)** qui est d'une valeur de 87.38 g d'iode/ 100 g d'huile, tandis qu'elle est inférieure à celle trouvée dans l'huile du pistachier de Tipaza qui est de 109 g d'iode/ 100g d'huile pour les graines rouges et de 87.3 g d'iode/ 100g d'huile pour les graines noires (**Charef et al., 2008**). Ce résultat qui est inférieur aux résultats antérieurs, reflète l'oxydation de doubles liaisons insaturées de cette huile (**Djerrou, 2014**).

III.2.4. Indice de réfraction

L'indice de réfraction dépend de la composition chimique de l'huile et de la température. Il croît avec l'insaturation et la présence de fonctions secondaires sur les chaînes d'acides gras (**Djedaia, 2017**). L'indice de réfraction mesuré pour l'échantillon d'huile de graines rouges de *P. lentiscus* est de 1.41, en accord avec les valeurs rapportées par **Boukeloua et al. (2012)** (1.465) et celle de **Djerrou, (2014)** (1.466). L'indice de réfraction varie essentiellement en fonction de la teneur en monoterpènes et en dérivés oxygénés. Une forte teneur en monoterpènes donnera un indice de réfraction élevé. Plus l'indice de réfraction est faible, plus l'huile est de bonne qualité (**Boukhatem et al., 2010**).

III.2.5. Taux du phosphore

Selon American Oil Chemist' Society (1992), le taux du phosphore dans une huile est déterminé à partir d'un dosage colorimétrique des phosphomolybdate. La teneur en phosphore dans l'huile des graines rouges de *Pistacia lentiscus* étudiée, est 48.26 ppm. Cette valeur est inférieure à celle trouvée par **Motri et al. (2017)** qui est égal à 860.77 ppm. La teneur en phosphore dans les huiles bruts varie en fonction de la nature des graines, l'origine géographique de la zone de récolte, le moment de récolte ainsi que les conditions climatiques (**Motri et al., 2017**).

III.2.6. Couleur LOVIBOND

Le colorimètre visuel est utilisé pour mesurer la couleur des huiles végétales en unités LOVIBOND. Cette mesure a été effectuée en comparant la lumière transmise à travers l'échantillon à celle transmise à travers les standards de couleur LOVIBOND, qui sont des verres colorés calibrés. Ce standard couvre les couleurs de base rouge, jaune et bleu, allant des

teintes très pâles à très sombres (Djedaia, 2017). Les résultats de mesure sur l'huile de *Pistacia lentiscus* pour l'évaluation de la quantité des pigments sont consignés dans le tableau (IX) :

Tableau (IX): Résultats de mesure des pigments de l'huile de *Pistacia lentiscus*.

Couleur complémentaire	Longueur d'onde (nm)	Couleur LOVIBOND
Bleu	345-480	jaune = 1,1
Rouge	490-500	rouge = 0,0
Jaune	580-595	bleu = 2,5

Il est observé dans le cas de l'huile des graines rouges de *Pistacia lentiscus* que la couleur dominante est la couleur bleue, et que l'origine de l'huile est due à l'abondance de la chlorophylle.

III.2.7. La chlorophylle

La chlorophylle est un paramètre de qualité important, parce qu'elle se corrèle avec la couleur, qui est un attribut de base pour la qualité d'une huile. Sa grandeur dépend de différents facteurs tels que la maturité du fruit, les conditions climatiques, le type de sol et procédure d'extraction (El Harfi et al., 2015).

D'après les résultats obtenus, l'huile a donné une teneur de 72 ppm, qui est relativement supérieure à celle rapportée par Merzougui, (2015) dans la région d'El Kala, qui est d'une valeur de 9.04 ppm. Cette teneur en chlorophylle pour l'huile des graines rouges de *Pistacia lentiscus* est légèrement inférieur à celle de l'huile d'olive espagnole obtenu par Salvador el al. (2001), qui est égale à 80 ppm. Cette valeur trouvée s'explique par le fait que les graines utilisées sont des graines rouges immature, ce qui confirme l'étude menée par El Harfi et al. (2015).

III.3. Composition chimique de l'huile des graines rouges de *Pistacia lentiscus* par chromatographie en phase gazeuse (CPG)

Les acides gras sont considérés comme un code génétique des huiles, ce sont les constituants majoritaires de ces derniers avec lesquels on peut identifier leur nature (Olivier, 2003). L'analyse des résultats des esters méthyliques relatifs aux acides gras de l'huile des graines rouges de *Pistacia lentiscus*, sont présentés dans le tableau X. Les acides gras figurant

dans les chromatogrammes (Figure 8), sont identifiés à partir de la comparaison des temps de rétention et des caractéristiques des acides avec ceux des standards et des esters méthyliques.

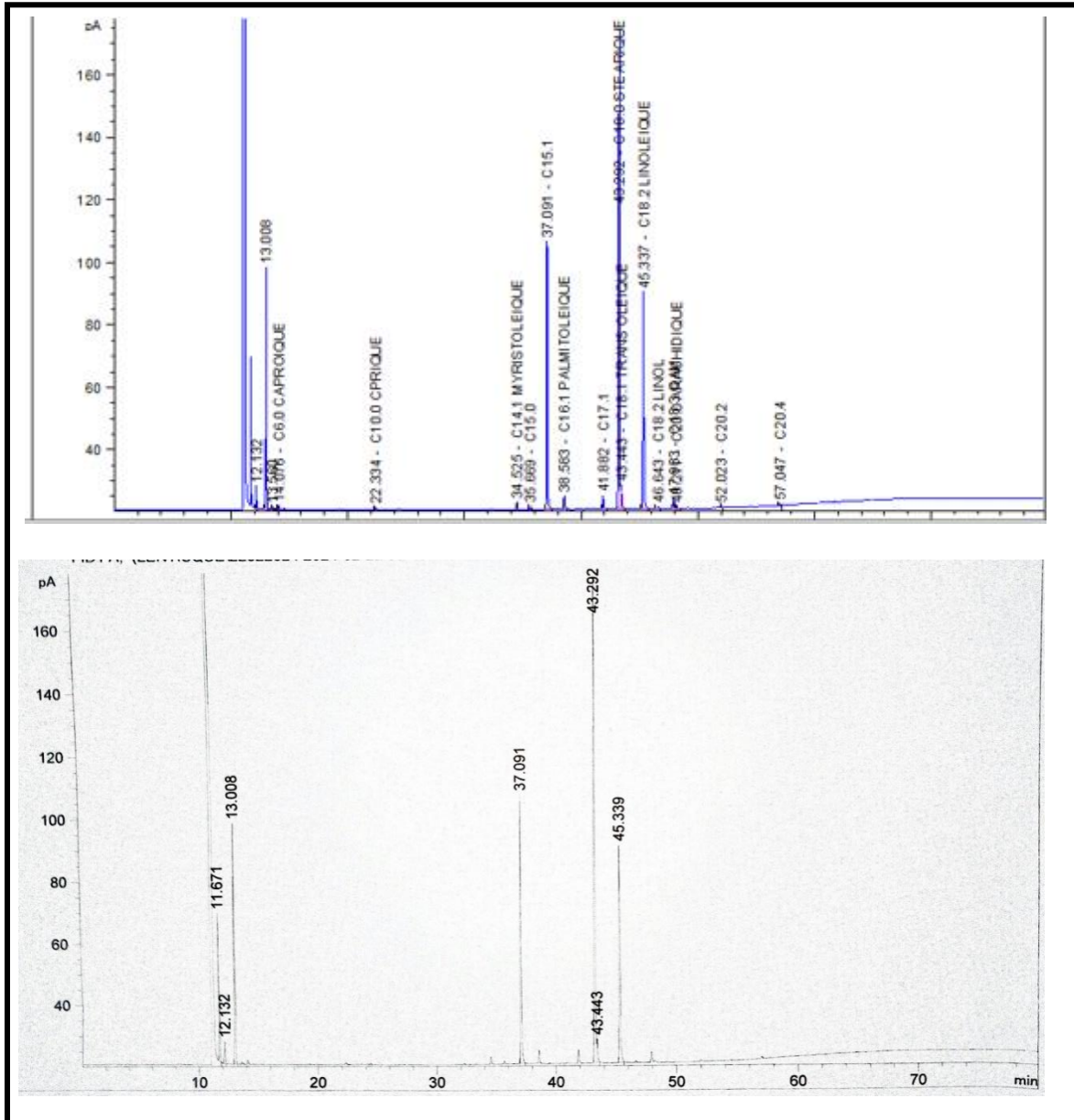


Figure (8): Chromatogrammes CPG de l'huile du *Pistacia Lentiscus*.

L'analyse chromatographique par CPG-FID des esters méthyliques obtenu par transestérification directe, permet de classer cette huile à caractère insaturé, puisque nous constatons une prédominance des acides gras insaturés.

Au total, six acides gras (Tableau X) ont été trouvés dans l'huile des graines rouges de *P. lentiscus*, dont trois acides gras non-identifiés, et trois acides gras identifiés. Un acide à caractère saturé ; acide palmitique, et deux acides insaturés ; l'acide oléique (C18 :1), et l'acide

linoléique (C18 :2). L'acide oléique C18 :1 a été déterminé comme étant l'acide gras principal de l'huile des graines rouges de *Pistacia lentiscus*, avec un taux de 40.651%.

Tableau (X): Temps de rétention des constituants standards, des acides gras de l'huile de *Pistacia lentiscus*.

Pique	Temps de rétention	Acides gras	%
1	11.671	Non-identifié	06.209
2	12.132	Non-identifié	01.230
3	13.008	Non-identifié	13.672
4	37.091	A. palmitique C16 :0	19.688
5	43.292	A. Oléique C18 :1	40.651
6	45.339	Linoléique C18 :2	18.550
AG saturés %		19.688	
AG insaturés %		59.201	

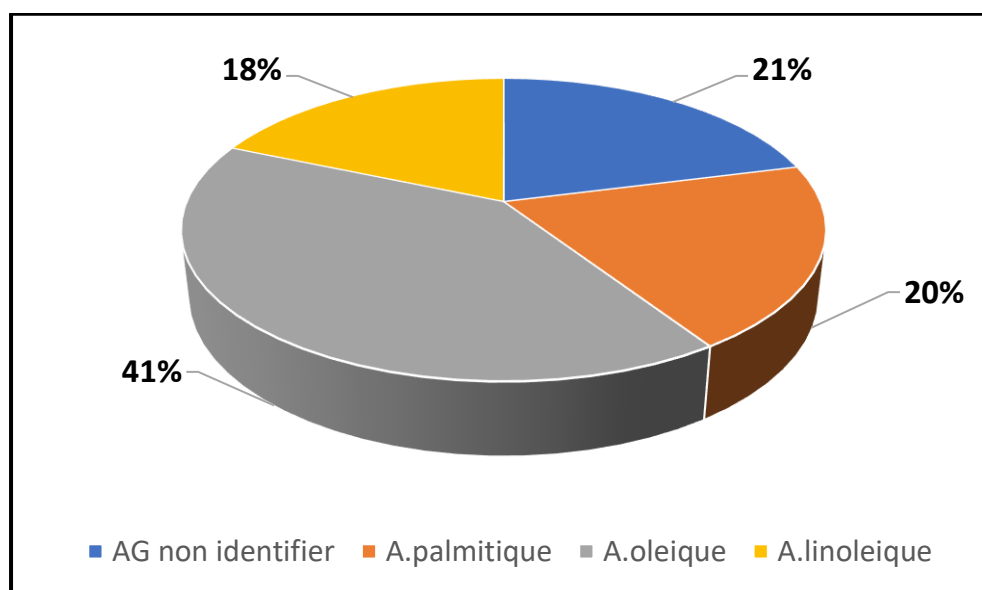


Figure (9): Teneur en AG dans l'huile des graines rouges de *Pistacia lentiscus*.

D'après les résultats obtenus, les trois premiers acides gras n'ont pas été identifiés. Ces derniers ne figurent pas dans les acides gras contenus dans l'étalon certifié introduit dans la chromatographie en phase gazeuse, ainsi que dans la littérature. La teneur de cette huile en acides gras non-identifiés est de 21.11%.

Les trois derniers acides gras identifiés dans le tableau sont conformes aux résultats rapportés dans d'autres travaux (Charef et al., 2008 ; Belyagoubi-Benhammou et al., 2018), mais une variabilité est notée dans les pourcentages. En effet Charef et al. (2008) ont montré que l'huile extraite des fruits rouges de *Pistacia lentiscus* de la région de Tipaza est composée de trois acides gras dominants : l'acide palmitique (16.3%), l'acide oléique (53.5%) et l'acide linoléique (28.5%).

D'autre part, les acides gras contenus dans l'huile des graines noires de *Pistacia lentiscus* identifiés par Belyagoubi-Benhammou et al. (2018) dans la région de Ain Kebira, ont montré des résultats semblables aux nôtres avec une légère différence dans les pourcentages. L'acide gras dominant est l'acide oléique avec un pourcentage de 50.02%, suivi par l'acide palmitique avec 24.83% et en dernier l'acide linoléique avec 17.24%, avec des traces des acides stéarique et palmitoléique. Nous noterons que l'huile des fruits rouges de *Pistacia lentiscus* de la présente étude se situe dans l'intervalle des normes COI.

Tableau (XI) : Composition des acides gras de l'huile de *P. lentiscus* de différentes régions.

Région	Tizi Neftah	Tipaza (Charef et al., 2008)	Ain Kebira (Belyagoubi-Benhammou et al., 2018)	Huile d'olive (COI), 2013
Acides gras	Compositions (%)			
C16 :0	19.688	16.3	24.83	[7.5 20]
C18 :1	40.651	53.5	50.02	[55 83]
C18 :2	18.550	28.5	17.24	[3.5 21]

Les résultats de cette étude ont montré que l'huile des fruits rouges de *Pistacia lentiscus* est riche en acides gras insaturés représentant plus de 59% de la composition totale en acides gras. Ce qui indique que cette huile peut être considérée comme une huile grasse monoinsaturée, car elle est riche en acides oléiques (Trabelsi et al., 2012 ; Djerrou, 2014).

III.4. Evaluation de l'activité antimicrobienne de l'huile végétale des graines rouges de *Pistacia lentiscus*

L'huile végétale des graines rouges de *Pistacia lentiscus*, a montré des résultats lors des analyses qualitatives et quantitatives effectuées. Pour appuyer ces derniers, une mise en évidence de son pouvoir antimicrobien a été effectuée.

III.4.1. Etude qualitative de l'activité antimicrobienne de l'huile végétale de *Pistacia lentiscus*

La méthode des puits est la technique utilisée pour déterminer l'activité antimicrobienne de l'huile végétale de *Pistacia lentiscus*. Dans ce travail, trois souches bactériennes (*Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*) et une espèce fongique (*Candida albicans*), à l'origine de plusieurs infections, ont été utilisées pour tester les activités antimicrobiennes de cette huile. Le principe consiste à ensemercer une boîte de milieu gélosé par un germe-test, et l'amener au contact de la substance à tester au niveau des puits préalablement creuser. Après une mise à l'étuve pendant 24h pour les souches bactériennes, et 5 jours pour la souche fongique. L'action de l'huile a été déterminer par le diamètre d'inhibition qui apparait clair autour des puits (Bouyahya et al., 2017).

La zone d'inhibition mesurée en millimètres, y compris le diamètre du puit, a été utilisée comme critère pour évaluer l'activité antimicrobienne. L'échelle de mesure de l'activité antimicrobienne mise au point par Bouyahya et al. (2017), répartissant les diamètres d'inhibition en trois classes, a été utilisée.

Tableau (XII): L'échelle de mesure de l'activité antimicrobienne (Bouyahya et al., 2017).

Inhibition	Activité antibactérienne
D≤12mm	Faible
12mm<D<20mm	Moyenne
D≥20mm	Forte

Pour l'évaluation de son potentiel antimicrobien, l'huile a été testée contre quatre souches microbiennes de référence, car chacune d'elles possède des structures cellulaires et un métabolisme particulier (Djahra, 2014). Les résultats des tests qualitatifs de l'activité antimicrobienne de l'huile végétale sont regroupés dans le tableau (XIII).

Tableau(XIII) : Diamètres des zones d'inhibition (mm) de l'huile de graines rouges de *P. lentiscus* vis-à-vis de quelques souches microbiennes.

Souches	Gram	Contrôle négatif (DMSO)	Contrôle positif		DZI (mm) Huile <i>P. lentiscus</i>
			Anti 1	Anti 2	
<i>Staphylococcus aureus</i>	Positif	0.0	35±1mm	0.0mm	18 ± 0.5
<i>Bacillus subtilis</i>	Positif	0.0	40±1.2mm	0.0mm	0.0 ± 0.0
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Négatif	0.0	37±0.9mm	0.0mm	13 ± 0.2
<i>Candida albicans</i>	/	0.0	Anti 3 : 25±0.5mm		0.0 ± 0.0

Anti 1 : antibiotique Gentamicine. **Anti 2 :** antibiotique Amphotéricine B **Anti 3 :** antibiotique Fluconazole. **DZI :** diamètre des zones d'inhibition (mm).

L'absence de la croissance microbienne se traduit par un halo translucide autour du puit dont le diamètre mesuré a été exprimé en millimètre. L'huile végétale de graines rouges de *Pistacia lentiscus* a montré une activité inhibitrice modérée vis-à-vis de deux souches bactériennes, *Pseudomonas aeruginosa* (Gram-) et *Staphylococcus aureus* (Gram+), avec des diamètres de zone d'inhibition allant de 13± 0.2 mm, jusqu'à 18±0.05mm pour une dose de 100µl par puit. Pour l'antibiotique amphotéricine, aucune zone d'inhibition n'a été observée vis-à-vis des deux souches bactériennes testées, indiquant une absence d'efficacité. De même, le DMSO n'a montré aucune inhibition. En revanche, l'antibiotique gentamicine a montré des résultats positifs, avec des zones d'inhibition bien définies, démontrant ainsi son activités anti bactérienne contre ces mêmes souches (Tableau XIII).

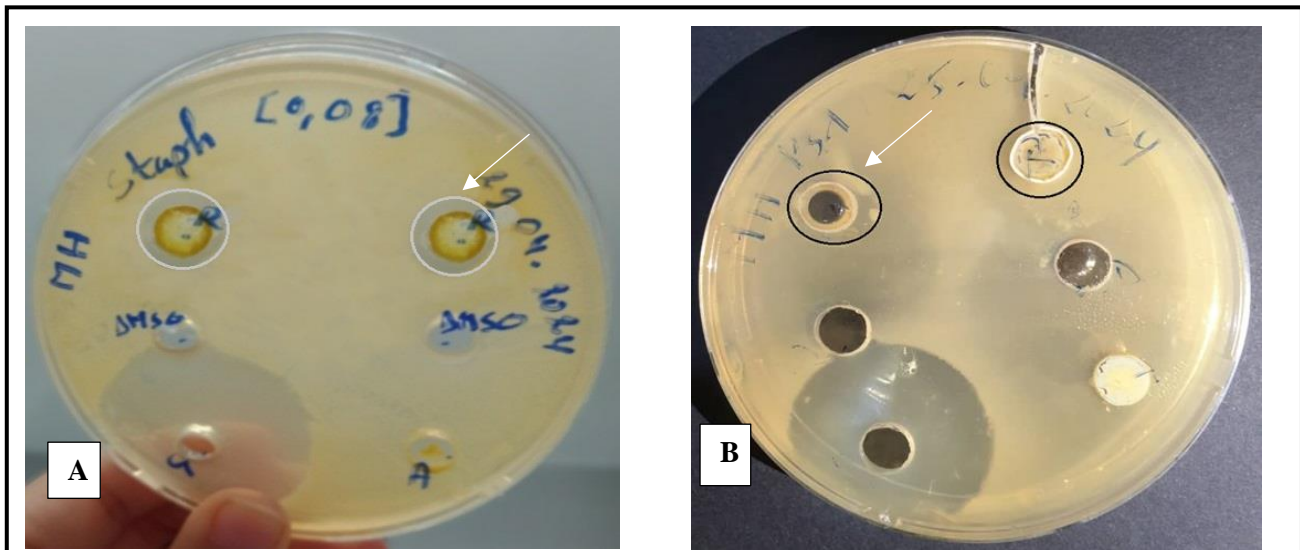


Figure (10) : Effet de l'huile végétale de *Pistacia lentiscus* sur les souches bactériennes.

(A) : Effet de l'huile végétale de *Pistacia lentiscus* sur *Staphylococcus aureus*.

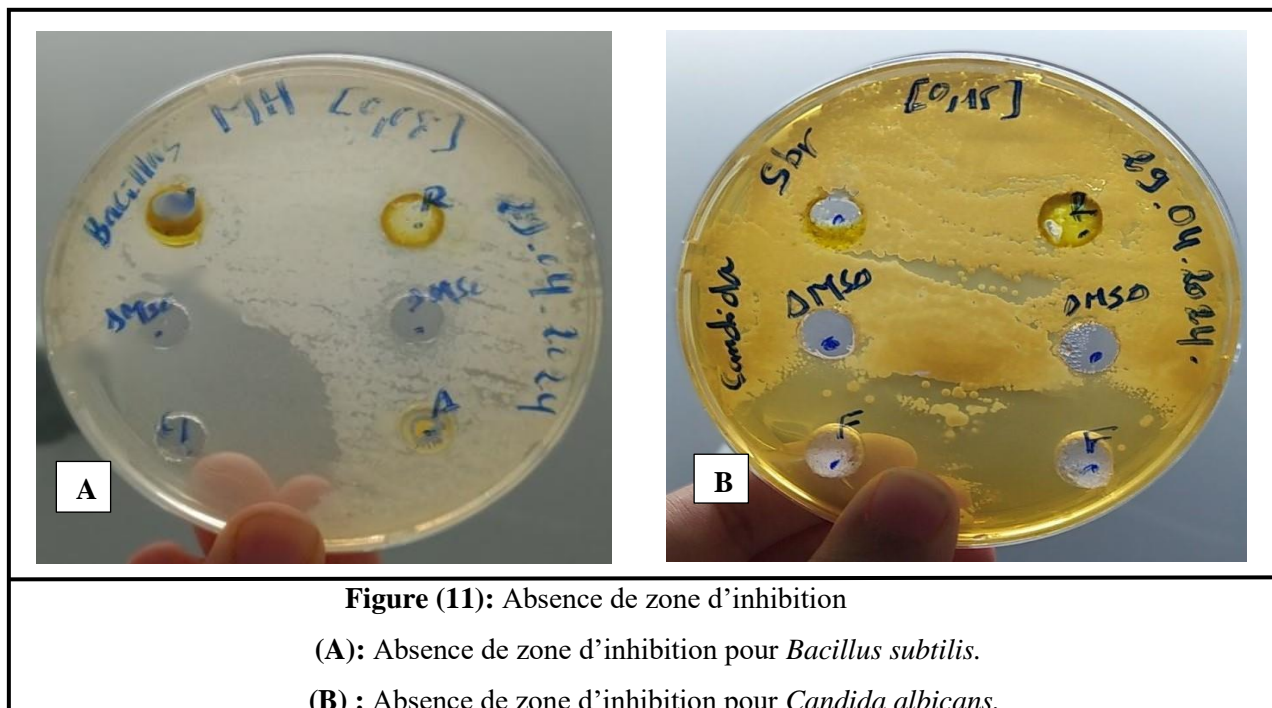
(B) : Effet de l'huile végétale de *Pistacia lentiscus* sur *Pseudomonas aeruginosa*.

Ces deux souches bactériennes se sont révélées sensibles à l'extrait testé (Figures 13 et 14). Les résultats obtenus sont en accord avec ceux rapportés par **Amara et al. (2019)**, pour l'huile essentiel de *P. lentiscus*, qui ont obtenu des zones d'inhibition de 48mm et 16mm pour *Pseudomonas aeruginosa* (Gram-) et *Staphylococcus aureus*(Gram+), respectivement. Aussi, l'étude menée par **Djebbari et al. (2021)** a révélé une simple activité inhibitrice pour l'huile végétale de *Pistacia lentiscus* vis-à-vis des souches bactériennes avec une zone d'inhibition de 5 mm pour *Staphylococcus aureus* (Gram+) et 4 mm pour *Pseudomonas aeruginosa* (Gram-).

Par ailleurs, les résultats présentés dans les figures (15) et (16) ont révélé une absence d'activités inhibitrices pour l'huile de graines rouges de *P. lentiscus* vis-à-vis de la souche bactérienne *Bacillus subtilis* (Gram+), ainsi que pour la souche fongique *Candida albicans*. En ce qui concerne la souche bactérienne *Bacillus subtilis*, l'antibiotique gentamicine a montré une inhibition significative, contrairement à l'amphotéricine et au DMSO qui n'ont montré aucune activité inhibitrice.

En ce qui concerne la souche fongique *candida albicans*, une zone d'inhibition notable a été observée avec l'antibiotique fluconazole, tandis que le DMSO n'a également montré aucune activité inhibitrice.

D'autre part, l'étude menée par **Amara et al. (2019)** a montré l'efficacité potentielle de l'extrait de graines de *Pistacia lentiscus*, avec une zone d'inhibition de 22 mm pour *Bacillus subtilis* (Gram+) et 64 mm pour *Candida albicans*.



Cela peut s'expliquer soit par l'absence des molécules fortement antimicrobiennes ou la faible capacité des composés antibactériens, présents dans l'extrait, à diffuser de manière uniforme à travers l'agar soit par les différents paramètres qui influencent l'extraction (**Rauha et al., 2000**).

La force et le spectre de l'activité antimicrobienne varie entre le type de Gram des bactéries testées et les organes de la plante étudiée. Les bactéries Gram positives ont une plus forte sensibilité que les bactéries Gram négatives. Cette plus forte sensibilité est dû à la différence de composition de la paroi cellulaire. En effet, la paroi cellulaire des bactéries à Gram+ est constituée par une seule couche, alors que celle des bactéries à Gram– est constituée de plusieurs couches, et à cause de cette structure ces bactéries présentent une résistance (**Amara et al., 2019**). Les résultats obtenus dans cette étude sont en concordance avec les observations précédentes.

L'huile végétale des graines rouges de *P. lentiscus* étudiée a montré une acidité qui est de 4.72, ainsi qu'un indice d'iode d'une valeur de 70, ce qui révèle la présence d'acide gras

volatils dans cette huile. Ce qui a été prouvées par une chromatographie en phase gazeuse, et qui a révélé la présence des acides gras insaturés ; C18 :1 et C18 :2.

Dans ce contexte, l'étude menée par **Trabelsi et al. (2012)** a reporté que les acides gras linoléique et oléique, qui sont les constituants majoritaires de l'huile de *Pistacia lentiscus*, ont des propriétés antibactériennes potentielles, qui sont attribués aux longues chaines d'acides gras insaturés (**Mezni et al. 2014**) ce qui a été prouvé dans cette étude par les différents tests effectués.

III.4.2. Etude quantitative de l'activité antimicrobienne de l'extrait testé (CMI)

Afin de compléter ce présent travail et de déterminer l'efficacité de l'extrait, une détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI) de l'huile végétale des graines rouges de *Pistacia lentiscus* a été réalisée. Ces concentrations ont été mesurées dans le but de définir les frontières de l'acceptabilité sensorielle et de l'efficacité antibactérienne des huiles. Les résultats des CMI de l'extrait de l'huile végétale de *P. lentiscus* vis-à-vis des souches bactériennes testées sont indiquées dans le tableau (XIV).

Tableau (XIV): CMI de l'extrait huile végétale de *P. lentiscus*.

Souches bactériennes	Gram	CMI (mg/ml)
<i>Staphylococcus aureus</i>	+	8
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-	/

Les valeurs des concentrations minimales inhibitrices ont été déterminées dans une large gamme de concentration allant de 0.25 à 32 mg/ml. Pour l'extrait testé qui est l'huile végétale des graines rouges de *Pistacia lentiscus*, une CMI de 8 mg/ml a été trouvée vis-à-vis de *Staphylococcus aureus*, tandis que pour la souche *Pseudomonas aeruginosa* aucune CMI n'a été déterminée. En faisant une comparaison avec les résultats trouvés dans la littérature, **Amara et al. (2019)** ont trouvé pour l'huile essentielle des fruits de *Pistacia lentiscus* une CMI de 0.25 mg/ml vis-à-vis de *Staphylococcus aureus* et une CMI non-déterminée vis-à-vis de *Pseudomonas aeruginosa*.

En comparant les résultats qualitatifs (diamètres des zones d'inhibition) et quantitatifs (CMI) de l'activité antimicrobienne de l'extrait testé, il est intéressant de noter que les souches montrant les plus grandes zones d'inhibition par la méthode de diffusion ne sont pas toujours celles qui présentent les valeurs de CMI les plus basses. En effet, le diamètre de la zone

d'inhibition de la croissance peut être influencé par la volatilité et la solubilité de l'extrait ainsi que par la portée de diffusion dans l'agar (**Mezni et al., 2014**).

D'après **Chekoual et al. (2015)**, la variation de l'activité antimicrobienne d'une huile est régie par la composition chimique de l'huile qui est déterminée par le génotype de la plante est relativement influencée par d'autres facteurs comme l'origine géographique et environnementale.

Conclusion

Conclusion générale

La présente étude tente de contribuer à la valorisation du *Pistacia lentiscus* L, qui est une plante utilisée en médecine traditionnelle pour ses vertus thérapeutiques, en établissant une relation entre sa composition chimique en acides gras ainsi que les normes de ses paramètres physico-chimiques et leur relation avec son pouvoir antimicrobien.

La détermination des caractéristiques physico-chimiques de l'huile végétale des fruits rouges de *P. lentiscus*, a révélé qu'elles sont conformes aux normes établis par les différentes pharmacopées et qu'elles sont proches des résultats de certains travaux antérieurs. Ainsi, ces caractéristiques nous renseignent sur la pureté de cette huile et sur la quantité des acides gras libres présents. L'huile végétale des graines rouges de *Pistacia lentiscus* a révélé qu'elle est composée essentiellement de l'acide oléique 41%, suivi par l'acide linoléique (18%) et l'acide palmitique (20%), en plus d'un taux assez important d'acides gras non-identifiés (21%).

Ces résultats ont attribué à l'huile végétale de *P. lentiscus* un pouvoir antibactérien. En effet, une activité antibactérienne de cette huile a été obtenue vis-à-vis de deux souches ; *Staphylococcus aureus* (Gram+) avec un diamètre d'inhibition de 18mm et *Pseudomonas aeruginosa* (Gram-) avec un diamètre d'inhibition de 13mm. La mise en évidence de la résistance des souches bactériennes testées à travers la détermination des CMI a révélé un niveau de sensibilité très hétérogène d'une souche à une autre vis-à-vis de l'huile testé. A l'issue de cette étude, nous pouvons conclure que l'activité biologique (antibactérienne) de l'huile végétale de graines rouges de *Pistacia lentiscus* est étroitement liée à ses propriétés qualitative et quantitatives trouver dans cette étude.

En perspective, il est souhaitable d'identifier le reste des acides gras qui n'ont pas pu être identifiés dans cette présente étude tout en testant d'autres activités biologiques et en élargissant la gamme des souches microbienne.

Références

A

Abaza L., Ben Temime S., Msallem, M., Daoud D., Zarrouk, M. and Cherif A. (2003). Etude comparative de la lipogenèse chez quelques variétés d'olivier cultivées en Tunisie. *Rivista Italiana delle Sostanze Grasse*, 80(5) :297-306.

Ait Said S. (2011). Stratégie adaptative de deux espèces du genre Pistacia (*P. lentiscus* L. ETP. atlantica Desf.) aux conditions d'altitude, des alinités et d'aridités: approche morpho-anatomique, phytochimique et ecophysiologique. P15.

Alawa C. B. I., Adamu A. M., Gefu J. O., Ajanusi O. J., Abdu P. A., Chiezey N. P., Aawa J.N. and Bowman D. D. (2003). In vitro screening of two Nigerian medicinal plants (*Vernonia amygdalina* and *Annona senegalensis*) for anthelmintic activity. *Veterinary parasitology*, 113(1) :73-81.

Amara N., Benrima A., Anba C. and Belkhir H. (2019). Activité antimicrobienne de l'huile essentielle des fruits du Pistachier lentisque (*Pistacia lentiscus* L.). *Revue Agrobiologia*, 9(2) :1669-1676.

Anagnostou C., Beteinakis S., Papachristodoulou A., Pachi V.K., Dionysopoulou M., Dimou S., Diallinas G., Skaltsounis L.A. and Halabalaki M. (2023). Phytochemical investigation of *Pistacia lentiscus* L. var. Chia leaves : A byproduct with antimicrobial potential. *Fitoterapia*.170 :105648.

Arab K., Bouchenak O. and Yahiaoui K. (2014). Etude phytochimique et évaluation de l'activité antimicrobienne et antioxydante de l'huile essentielle et des composés phénoliques du pistachier lentisque (*Pistacia lentiscus* L.). *Journal of Fundamental and Applied Sciences*, 6(1) : 79-93.

B

Bammou M., Daoudi A., Slimani I., Najem M., Bouiamrine E., Ibijbijen J. and Nassiri L.(2015). Valorisation du lentisque « *Pistacia lentiscus* L » Etude ethnobotanique, screening phytochimique et pouvoir antibactérien, *Journal of applied Biosciences*,86 : 7966-7975.

Becker K., Heilmann C. and Peters G. (2014). Coagulase-negative staphylococci. *Clinical Microbiology Review*, 27(4):870-926.

Bellakhdar J. (2003). Le Maghreb à travers ses plantes : plantes, productions végétales et traditions au Maghreb. Eds. Le fenec.

Belyagoubi L., Belyagoubi-Benhammou N., Atik-Bekkara F. and Coustard J.M. (2016). Effects of extraction solvents on phenolic content and antioxidant properties of *Pistacia atlantica* Desf fruits from Algeria. *International Food Research Journal*, 23(3) : 948-953.

Belyagoubi-Benhammou N., Belyagoubi L., El Zerey-Belaskri A., Zitouni A., Ghembaza N., Benhassaini H., Atik-Bekkara A., Piras A and Rosa A. (2018). Fatty acid composition and antioxidant activity of *Pistacia lentiscus* L. fruit fatty oil from Algeria. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 12 : 1408-1412.

- Bendahou M., Muselli A., Gringnon-Dubois M., Benyoucef M., Desjobert J.M., Bernardini A.F., and Costa J. (2008).** Antimicrobial activity and chemical composition of origanum glandulosum Desf. essential oil and extract obtained by microwave extraction : comparison with hydrodistillation. *Food chemistry*, 106(1) :132-139.
- Benhammou N., Bekkara F. A. and Panovska T. K. (2008).** Antioxidant and antimicrobial activities of the Pistacia lentiscus and Pistacia atlantica extracts. *African journal of pharmacy and pharmacology*, 2(2) :022-028.
- Bhargavi G., Nageswara Rao P. and Renganathan S. (2018, March).** Review on the Extraction Methods of Crude oil from all Generation Biofuels in last few Decades. In *IOP conference series : materials science and engineering*, 330 :012024.
- Bontzolis C. D., Dimitrellou D., Plioni I., Kandylis P., Soupioni M., Koutinas A. A. and Kanellaki M. (2024).** Effect of solvents on aniseed aerial plant extraction using soxhlet and ultrasound methods, regarding antimicrobial activity and total phenolic content. *Food Chemistry Advances*, 4 :100609.
- Boukeloua A., Belkhiri A., Djerrou Z., Bahri L., Boulebda N. and Pacha Y. H. (2012).** Acute toxicity of Opuntia ficus indica and Pistacia lentiscus seed oils in mice. *African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines*, 9(4) :607-611.
- Boukhatem M. N., Hamaidi M. S., Saidi F. and Hakim Y. (2010).** Extraction, composition et propriétés physico-chimiques de l'huile essentielle du Géranium Rosat (Pelargonium graveolens L.) cultivé dans la plaine de Mitidja (Algérie). *Nature & Technology*, (3), 37.
- Boulebdia N., Belkhiri A., Belfadel F., Bensegueni A. and Bahri L. (2009).** Dermal wound healing effect of Pistacia lentiscus fruit's fatty oil. *Pharmacognosy Research*, 1(2).
- Boumaza S. (2019).** Etude des caractéristiques des bactéries du genre Bacillus. *Journal of Microbiologie studies*, 45(2) :123-135.
- Bouras M., Boutefnouch Abbaci N. and Bennadja S. (2019).** Antibacterial Activity of Essential Oil and Aqueous Extract of Eucalyptus globulus Against Methicillin Resistance Staphylococcus aureus and Methicillin Sensitive Staphylococcus aureus. *International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research*, 8(10) : 1717-1721.
- Bouyahya A., Abrini J., Bakri Y. and Dakka, N. (2017).** Screening phytochimique et évaluation de l'activité antioxydante et antibactérienne des extraits d'Origanum compactum. *Phytothérapie*, 15(6) : 379.
- Bouyahya A., Assemian I. C. C., Mouzount H., Bourais I., Et-Touys A., Fellah H., Benjouad A., Dakka N and Bakri, Y. (2019).** Could volatile compounds from leaves and fruits of Pistacia lentiscus constitute a novel source of anticancer, antioxidant, antiparasitic and antibacterial drugs ? *Industrial crops and products*, 128 : 62-69.
- Boyle, W. (1955).** Spices and essential oils as preservatives. *The American Perfumer and Essential Oil Review*, 66(1) : 25-28.

Brahmi F., Haddad S., Bouamara K., Yalaoui-Guellal D., Prost-Camus E., De Barros JPP, Prost, M., Atanasov A. G., Madani K., Boulekbache-Makhlouf L. and Lizard G. (2020). Comparaison de la composition chimique et des activités biologiques des huiles de graines algériennes de *Pistacia lentiscus* L., *Opuntia ficus indica* (L.) mill. et *Argania spinosa* L. Skeels. *Cultures et produits industriel*, 151, 112456.

Brahmi F., Khodir M., Mohamed C. and Pierre D. (2017). Chemical composition and biological activities of *Mentha* species. *Aromatic and medicinal plants-Back to nature*, 10 :47-79.

C

Charef M. (2011). Contribution à l'étude de la composition chimique et étude des propriétés phytochimiques et nutritionnelles des lipides des fruits de *Pistacia lentiscus* et du *Quercus*. These de doctorat. Université Kasdi Merbah Ouargla. 137 P.

Charef M., Yousfi M., Saidi M. and Stocker P. (2008). Determination of the fatty acid composition of acorn (*Quercus*), *Pistacia lentiscus* seeds growing in Algeria. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 85 :921-924.

Chekoual L., Benmahjoub M., Fazouane F., Benhamou A. and Ait Kassik. (2015). Optimisation de l'effet de séchage par énergie renouvelable solaire sur l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle de *Pistacia lentiscus* L.

Colette C. and Monnier L. (2011). Acides gras : classification, fonction et équilibre entre les différentes familles : Fatty acids: Classification, function and balance between the different families. *Médecine des maladies Métaboliques*, 5(3) :237-245.

Cuvelier C., Cabaraux J. F., Dufrasne I., Hornick J. L. and Istasse L. (2004). Acides gras : nomenclature et sources alimentaires. In *Annales de Médecine Vétérinaire* (148) : 3. Annales Medecine Veterinaire, Liege, Belgium.

D

Danlami J. M., Arsad A., Ahmad Zaini M. A. and Sulaiman H. (2014). A comparative study of various oil extraction techniques from plants. *Reviews in Chemical Engineering*, 30(6) : 605-626.

Dao T. P., Tran T. H., Nhan N. P. T., Quyen N. T. C., Tien L. X., Anh T. T., Quan N H Nguyen Anh and Linh H. T. K. (2020). Optimization of essential oil yield from Vietnamese green pepper (*Piper nigrum*) using hydro-distillation method. In *IOP Conference Series : Materials Science and Engineering*, 736(2) : 022039.

DellaPenna D. (2005). A decade of progress in understanding vitamin E synthesis in plants. *Journal of plant physiology*, 162(7) : 729-737.

Djahra A, B. (2014) Etude phytochimique et activité antimicrobienne, antioxydants, antihépatotoxique du marrube blanc ou *Marrubium vulgare* L. Thèse de doctorat de biologie végétale. Université Badji mokhtar-ANNABA.Algérie, 15p.

Djebari S., Wrona M., Boudria A., Salafranca J., Nerin C., Bedjaoui K. and Madani K. (2021). Study of bioactive volatile compounds from different parts of *Pistacia lentiscus* L. extracts and their antioxidant and antibacterial activities for new active packaging application. *Food Control*, 120 :107514.

Djedaia M. S. (2017). Etude physico-chimique et caractérisation du fruit de la plante lentisque (*Pistacia Lentiscus* L.). Université Badji Mokhtar-Annaba.

Djerrou J., Maameri Z., Hamdo-Pacha Y., Serakta M., Riachi F., Djaalab H. and Boukeloua A. (2010). Effect of virgin fatty oil of *Pistacia lentiscus* on experimental burn wound's healing in rabbits. *African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines*, 7(3).

Djerrou Z. (2014). Anti-hypercholesterolemic effect of *Pistacia lentiscus* fatty oil in egg yolk-fed rabbits : A comparative study with simvastatin. *Chinese Journal of Natural Medicines*, 12(8) : 561-566.

Dhifi K., Jelali N., Chaabani, Beji M., Fatnassi, S., Omri, S. et Maif, W. (2013). Chemical composition of Lentisk (*Pistacia lentiscus* L.) seed oil. *African Journal of Agricultural Research*, 8 (16):1395-1400.

Duru M. E., Cakir A., Kordali S., Zengin H., Harmandar M., Izumi S. and Hirata T. (2003). Chemical composition and antifungal properties of essential oils of three *Pistacia* species. *Fitoterapia*, 74(1) :170-176.

E

El harefi M., A. Nabloussi H., Riziki H., Latrache S., Ennahli . and H. Hanine. (2015). Biochemical assessment of the genetic diversity among thirteen moroccan genotypes of sesame (*Sesamum indicum*). *International Journal of Development Research*, 5 : 4010-4020.

F

Ferhat M. A., Meklati B. Y. and Chemat F. (2007). Comparison of different isolation methods of essential oil from Citrus fruits: cold pressing, hydrodistillation and microwave 'dry' distillation. *Flavour and fragrance journal*, 22(6) :494-504.

Fernandes P. and Cabral J. M. S. (2007). Phytosterols: applications and recovery methods. *Bioresource technology*, 98(12) :2335-2350.

G

Guenane H., Bombarda I., OuldElhadj M. D. and Yousfi M. (2015). Effect of maturation degree on composition of fatty acids and tocopherols of fruit oil from *Pistacia atlantica* growing wild in Algeria. *Natural Product Communications*, 10(10) :1934578-1501001023.

H

Haddouchi F., Zerhouni K., Sidi-Yekhelef A. and Chaouche T. M. (2016). Évaluation de l'activité antimicrobienne de différents extraits d'*Helichrysum stoechas* subsp. *rupestre*. *Bulletin de la Société Royale des Sciences de liège*, 85 :152-159.

J

Johner J. C. F., Hatami T. and Meireles M. A. A. (2018). Developing a supercritical fluid extraction method assisted by cold pressing : a novel extraction technique with promising performance applied to pequi (*Caryocar brasiliense*). *The journal of supercritical fluids*, 137, 34-39.

K

Kord A., Benfares R., Benrabah S. and Kherrarba M. (2021). Analyse par CPG des acides gras des algues marines *Cystoseira sauvageauana* et *Laurencia pinnatifida*.

L

Longo L., Scardino A. and Vasapollo G. (2007). Identification and quantification of anthocyanins in the berries of *Pistacia lentiscus* L., *Phillyrea latifolia* L. and *Rubia peregrina* L. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 8(3) :360-364.

M

Mant C. T., Chen Y., Yan Z., Popa T. V., Kovacs J. M., Mills J. B., P. Tripet B. and Hodges R. S. (2007). HPLC analysis and purification of peptides. *Peptide characterization and application protocols*, 3-55.

Marmesat S., Morales, A., Velasco J., Ruiz Méndez M. and Dobarganes M. C. (2009). Relationship between changes in peroxide value and conjugated dienes during oxidation of sunflower oils with different degree of unsaturation.

Mehenni C., Atmani-Kilani D., Dumarçay S., Perrin D., Gérardin P. et Atmani D. (2016). Hepatoprotective and antidiabetic effects of Pistacia lentiscus leaf and fruit extracts. *Journal of Food and Drug Analysis*, 24(3) :653-669.

Merve U. and Ayla K. (2016). Ethnobotanical research of medicinal plants in Mihalgazi (Eskişehir, Turkey), *Pharmaceutical Biology*, 54(12): 2922-2932.

Merzougui. (2015). Caractérisation physicochimique et biochimique d'un extrait de Pistacia Lentiscus et détermination de ses effets sur certains paramètres biologiques. Thèse de doctorat 3ème cycle. Univ. Badji Mokhtar. Annaba. 136p.

Mezni F., Labidi A., Msallem M., Boussaid M., Khouja M.L. and Khaldi A.(2014). Influence of harvest date on fatty acid composition and antioxidant activity of Pistacia lentiscus L. edible oils.J. Mater. *Environ Science*, 5 (6) : 1703-1708.

Mezni, F., Aouadhi, C., Khouja, M. L., Khaldi, A. and Maaroufi, A. (2015). In vitro antimicrobial activity of Pistacia lentiscus L. edible oil and phenolic extract. *Natural product research*, 29(6) : 565-570.

Miara, MD, Bendif, H., Hammou, MA et Teixidor-Toneu, I. (2018). Enquête ethnobotanique sur les plantes médicinales utilisées par les peuples nomades de la steppe algérienne. *Journal d'ethnopharmacologie*, 219, 248-256.

Milia E., Bullitta S.M., Mastandrea G., Szotáková B., Schoubben A., Langhansová L., Quartu M., Bortone A. and Eick S. (2021). Leaves and Fruits Preparations of Pistacia lentiscus L. : A Review on the Ethnopharmacological Uses and Implications in Inflammation and Infection. *Antibiotics*,10(4) : 425-425.

Motri S., Hsan S. T., Rahali S., and Grayaa, S. (2017). Comparative study of degumming processes (with water and enzymatic) of soybean oil Etude comparative de procédés de dégommage (à l'eau et enzymatique) de l'huile de soja. *International Journal of Applied Research and Technology*, 1-6.

N

Nahida, Ansari, S.H. et Siddiqui, A.N. (2012) Pistacia lentiscus : a review on phytochemistry and pharmacological properties. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences* ,4 : 16-20.

O

Ollivier D. (2003). Recherche d'adultération dans les huiles végétales : application à la qualité des huiles vierges et notamment de l'huile d'olive. *Oléagineux, Corps gras, Lipides*, 10(4) :315-320.

Onay A. and Jeffree C.E. (2000). Somatic Embryogenesis in Pistachio (*Pistacia vera* L.). *Somatic Embryogenesis in Woody Plants* ,6(1) : 361-390.

Ouss L. and Golse B. (2009). *Vers une neuropsychanalyse?*. Odile Jacob.

P

Pavlidis G., Mouroutsos S. et Sevetlidis V. (2014). Tri par couleur efficace du mastiha de Chios. Dans *les actes de la conférence internationale de l'IEEE 2014 sur les systèmes et techniques d'imagerie(IST)*, 386-391 IEEE.

Q

Quezel P. and Santa S. (1962)."Nouvelle Flore d'Algérie et des Régions Désertiques Méridionales", Tome I, Centre Nationale de la Recherche Scientifique, 611 p.

R

Rauha J. P., Remes S., Heinonen M., Hopia A., Kähkönen M., Kujala T., Pihlaja K., Vuorela H. and Vuorela P. (2000). Antimicrobial effects of Finnish plant extracts containing flavonoids and other phenolic compounds. *International journal of food microbiology*, 56(1) : 3-12.

Remila S., Atmani-Kilani D., Delemasure S., Connat J. L., Azib L., Richard T. and Atmani D. (2015). Antioxidant, cytoprotective, anti-inflammatory and anticancer activities of Pistacia lentiscus (Anacardiaceae) leaf and fruit extracts. *European Journal of Integrative Medicine*, 7(3) :274-286.

Richard C. and Warnock D.W. (2012). Fungal infection: Diagnosis and management (4th edition).

S

Salvador M. D., Aranda F. and Fregapane G. (2001). Influence of fruit ripening on 'Cornicabra' virgin olive oil quality a study of four successive crop seasons. *Food Chemistry*, 73(1) :45-53.

Seigue, A , (1985). La Forêt Circum Méditerranéenne et Ses Problèmes. Edit. Maison Neuve et Larose.Paris. 138 p.

T

Tilkat E., Süzerer V., Asan H. S., Ertaş A., Yilmaz M. A., Demir E., hoser A. and Onay A. (2023).Enhanced production of anticancer triterpenoids in optimized Pistacia lentiscus L. callus cultures via methyl jasmonate and silver nitrate elicitation. *South African Journal of Botany*, 163, 65-74.

Trabelsi H., Sakouhi F., Renaud J., Villeneuve P., Khouja M. L., Mayer P. and Boukhchina S. (2012). Fatty acids, 4-desmethylsterols, and triterpene alcohols from Tunisian lentisc (Pistacia lentiscus) fruits. *European journal of lipid science and technology*, 114(8) : 968-973.

Z

Zaouali Y., Bel Hadj Yahya I., Jaouadi R., Messaoud C., Boussaid M. (2018). Sex-related differences in essential oil composition, phenol contents and antioxidant activity of aerial parts in *Pistacia lentiscus* L. during seasons. *Industrial Crops and Products*, 121 : 151-159.

Zitouni A., Belyagoubi B. N., Ghembaza N., Toul F. and Atik B. F. (2016). Assessment of phytochemical composition and antioxidant properties of extracts from the leaf, stem, fruit and root of *Pistacia lentiscus* L. *International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research*. 8 : 627-633.

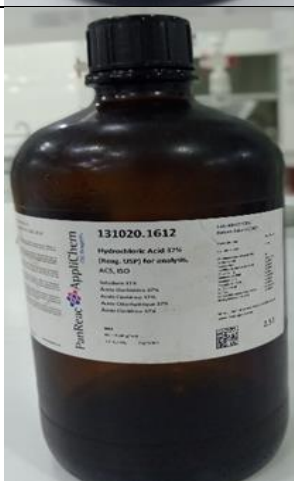
Annexes

Annexe 1 : Réactifs chimiques utilisés.

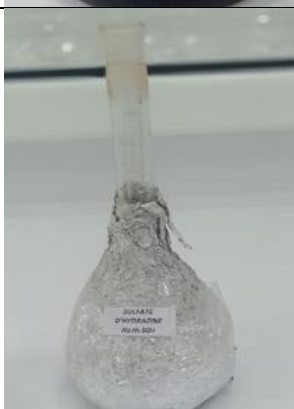
	<p>Hexane 99%</p>
	<p>Iodure de potassium (KI)</p>
	<p>Hydroxyde de sodium</p>
	<p>Phénolphtaléine à 1% (1 gr de phénol phtaléine dans 100 ml d'alcool éthylique à 96° (neutraliser et distillé) et agiter jusqu' à dissolution.</p>



Chloroforme




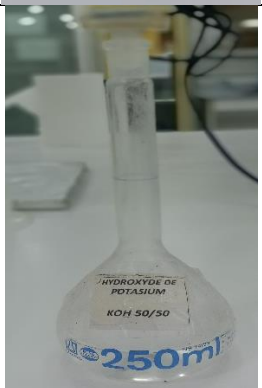
Acide chlorhydrique à 1N (Solution de H Cl à 1 N à partir de H Cl à 37,5 % : Prendre sous haute 81,72 ml de H Cl et verser rapidement dans 400 ou 500 ml d'eau distillé et ajuster au trait de jauge à 1000 ml)




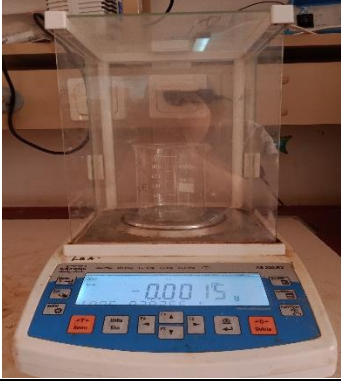
Sulfate d'hydrazine à 0,015% dans l'eau distillée.



Molybdate de sodium (Dissoudre 1,25 gr de Molybdate dans l'eau distillée + 14 ml H₂ SO₄ (d = 1,83) ajuster à 50 ml d'eau distillée.

	<p>Empois d'amidon à 1% (1 gr d'amidon dans 100 ml d'eau distillé).</p>
	<p>Hydroxyde de potassium à 1N (Solution alcoolique de K OH à 1 N à partir de K OH à 85% : 66 gr de K OH dans 1000 ml d'eau distillé)</p>

Annexe 2 : Appareils utilisés.

	<p>Broyeur électrique</p>
	<p>Balance électrique</p>



Appareil Soxhlet



Evaporateur rotatif (Rotavapor)



Vortex



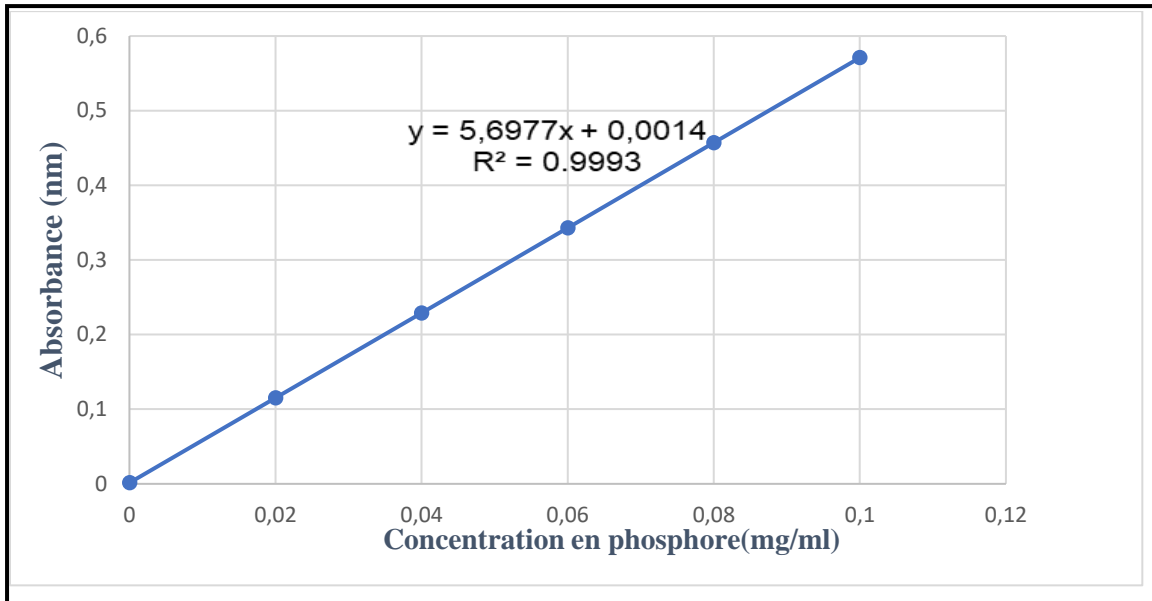
Colorimètre LOVIBOND



Spectrophotomètre

	<p align="center">Four à moufle Nabertherm</p>
	<p align="center">Autoclave</p>
	<p align="center">Etuve réglée</p>
	<p>Chromatographe Agilent Technologies</p> <ul style="list-style-type: none"> -Injecteur : Split -Détecteur : FID (détecteur à ionisation de flamme) -Gaz vecteur : Azote -Colonne capillaire DB-23 Agilent 122-2362 :(60 m de longueur ; 0,25 mm de diamètre et 0,25 µm d'épaisseur). -Température :(injecteur : 270°C, détecteur : 230°C, four : 190°C) ; -Volume injecté : 1 µl -Pressions : 0,6 bar pour l'azote ; 1,5 bar pour l'air, 0,8 bar pour l'hydrogène ; -Debits: N2 (Gaz make up) : 45 ml /min ;H2 : 1ml / min ; l'air : 450 ml/min;

Annexe 3 : courbe d'étalonnage du phosphore (Cevital, 2024).



Annexe 4 : Préparation des milieux de culture

➤ **Gélose Mueller Hinton**

Compositions	Quantité
Mueller Hinton	38 g
Eau distillée	1 L

pH= 7,4 (±0,2) à 37°C.

Protocole : Suspendre 38g de la poudre dans un litre d'eau distillée ensuite chauffer sous agitation Jusqu'à ébullition pour la dissolution totale du milieu et stériliser par autoclavage à 121°C pendant 15 min.

➤ **Bouillon Mueller Hinton**

Compositions	Quantité
Mueller Hinton	23 g
Eau distillée	1 L

Protocole : Suspendre 23 g de la poudre dans un litre d'eau distillée, ensuite stériliser par autoclavage à 121°C pendant 15 min.





➤ **Gélose Sabouraud**

Compositions	Quantité
Sabouraud	45g
Eau distillée	1L

pH=5,8 (±0,2) à 37°C.

Protocole : Suspendre 45 g de la poudre dans un litre d'eau distillée ensuite chauffer sous agitation jusqu'à ébullition pour la dissolution totale du milieu et stériliser par autoclavage à 121°C pendant 15 min

Annexe 5 : souches microbiennes utilisées.

	Bactérie Gram+ : <i>Bacillus subtilis</i>
	Bactérie Gram+ : <i>Staphylococcus aureus</i>
	Bactérie Gram - : <i>Pseudomonas aerogenosa</i>
	Souche fongique : <i>Candida albicans</i>

Annexe 06 : Description des souches microbiennes étudiées.

Nom de la bactérie	Famille taxonomique	Caractéristique physiologique	Références
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Pseudomonadaceae</i>	Bactérie en forme de bacille (Gram-)	Bouras M,2019
<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Bacillaceae</i>	Bactérie en forme de bacille (Gram+)	Boumaza S, 2019
<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Staphylococcaceae</i>	Cocci (sphérique), disposition en grappes (Gram+)	Becker et al., 2014
<i>Candida albicans</i>	Règne <i>Fungi</i>	Levure polymorphe : forme levure, pseudohyphes et hyphes	(Richard et Warnock, 2012)

Annexe 07 : Antibiotique utilisés.

	Amphotéricine B
	Gentamicine
	Fluconazole

Résumé

Pistacia lentiscus L est une plante médicinale aromatique qui fait partie de la famille des anacardiacees qui poussent sur le long du bassin méditerranéen. Cette étude consiste en une contribution à la valorisation de l'huile végétale des fruits rouges de *P. lentiscus* en mettant en évidence ses caractéristiques physico-chimique, sa composition en acides gras par CPG, ainsi que l'évaluation de son pouvoir antimicrobien. Les résultats ont montré que les principales caractéristiques physico-chimiques de l'huile de *P. lentiscus*, l'acidité (4.72 mg KOH/g), l'indice d'iode (70), l'indice de peroxyde (0.60mg/kg), l'indice de réfraction (1.141), le taux du phosphore (48.26ppm), la couleur et la chlorophylle (72ppm) sont dans les normes. L'huile est constituée principalement d'acides gras insaturée ; acide oléique (41%), acide linoléique (18%) et un acide gras à caractère saturé ; acide palmitique (20%), avec une proportion notable d'acides gras non identifiés (21%). Concernant l'étude biologique, antimicrobienne, l'extrait a montré des résultats satisfaisant vis-à-vis de deux souches, *Pseudomonas aeruginosa* avec une DZI de 13±0.2mm et *Staphylococcus aureus* avec une DZI de 18±0.5mm et une CMI 8mg/ml. A l'issue de cette étude, l'activité biologique (antibactérienne) de l'huile végétale de graines rouges de *Pistacia lentiscus* est étroitement liée à ses propriétés qualitatives et quantitatives.

Mots clés

Pistacia lentiscus, huile végétale, acide gras, propriétés physicochimiques, activité antimicrobienne.

Abstract

Pistacia lentiscus L is an aromatic medicinal plant belonging to the Anacardiaceae family, growing across the Mediterranean basin. This study contributes to the valorization of the vegetable oil extracted from *P. lentiscus* red fruits by highlighting its physicochemical characteristics, fatty acid composition via GC analysis, and evaluating its antimicrobial potential. The results showed that the main physicochemical characteristics of *P. lentiscus* oil, mainly acidity (4.72 mg KOH/g), iodine value (70), peroxide value (0.60 mg/kg), refractive index (1.141), phosphorus content (48.26 ppm), color and chlorophyll (72 ppm) are within the norms. The oil mainly consists of unsaturated fatty acids: oleic acid (41%), linoleic acid (18%), and a saturated fatty acid: palmitic acid (20%), with a notable proportion of unidentified fatty acids (21%). Regarding the biological study, the antimicrobial activity of the extract (100µl) showed satisfactory results against two strains; *Pseudomonas aeruginosa* with an inhibition zone diameter (IZD) of 13±0.2mm and *Staphylococcus aureus* with an IZD of 18±0.5mm and a minimum inhibitory concentration (MIC) of 8mg/ml. At the end of this study, the biological activity (antibacterial) of the vegetable oil from red seeds of *Pistacia lentiscus* is closely linked to its qualitative and quantitative properties.

Key words

Pistacia lentiscus, vegetable oil, fatty acids, physicochemical properties, antimicrobial activity.

ملخص

الضرو هو نبات طبي عطري. وهو جزء من عائلة انكاردياسي التي تنمو على طول حوض البحر الأبيض المتوسط. تتكون هذه الدراسة من المساهمة في تمييز الزيت النباتي المستخرج من الثمار الحمراء لنبات الضرو من خلال تسليط الضوء على خصائصه الفيزيائية والكيميائية، تكوين الأحماض الدهنية بواسطة الكروماتوغرافي بالغاز ، وكذلك تقييم تأثيره المضاد للميكروبات. أظهرت النتائج أن الخصائص الفيزيائية والكيميائية الرئيسية لزيت الضرو: الحموضة (4.72 ملجم /كOH/جم)، مؤشر اليود (70)، مؤشر البيروكسيد (0.60 ملجم / كجم)، معامل الانكسار (1.141)، مستوى الفوسفور (48.26 جزء في المليون).، اللون والكلوروفيل (72 جزء في المليون) تتوافق مع المعايير. يتكون الزيت أساساً من أحماض دهنية غير مشبعة؛ حمض الأوليك (41%)، اللينوليك (18%) والأحماض الدهنية المشبعة؛ حمض البالمتيك (20%)، مع نسبة ملحوظة من الأحماض الدهنية غير المحددة (21%). وفيما يتعلق بالدراسة البيولوجية؛ أظهر المستخلص المضاد للميكروبات بجرعات 100 ميكرو لتر نتائج مرضية ضد سلالتين؛ الزائفة الزنجارية مع منطقة التثبيط 13 ± 0.2 ملم والمكورات العنقودية الذهبية مع منطقة التثبيط 18 ± 0.5 ملم وتركيز المثبط الأدنى 8 ملغ/مل.

في نهاية هذه الدراسة، يرتبط النشاط البيولوجي (المضاد للبكتيريا) للزيت النباتي المستخرج من البذور الحمراء لنبات الضرو ارتباطاً وثيقاً بخصائصه النوعية والكمية.

كلمات مفتاحية

الضرو، زيت نباتي، حمض دهني، الخصائص الفيزيائية، الكيميائية والنشاط المضاد للميكروبات.