

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 Biotechnologie

Réf :.....

Mémoire

Présenté par

**Belhout Nadjette
Brahmi Sara**

Pour l'obtention du diplôme de

Master Académique/Professionnel

Filière : Biotechnologie microbienne

Spécialité : Biotechnologie microbienne

Thème

**Enrichissement de l'huile de lentisque :
étude de la stabilité oxydative et de l'activité antibactérienne**

Soutenu le : 02/07/2024

Devant le Jury composé de :

Mr Nabet. N

MCA

Président

Mme Kasmi souad

MCB

Encadrant

Mme Djouder .Z

MCB

Examinatrice

Année Universitaire : 2023/2024

REMERCIEMENT

Tout d'abord, nous tenons à remercier ALLAH le tout puissant pour nous avoir donné la foi et la force, d'avoir éclairé notre route et de nous guider dans le meilleur et bon chemin.

Nous souhaitons exprimer notre profonde gratitude envers notre directrice de mémoire, Madame Souad Kasmi. Son encadrement, sa patience et sa confiance tout au long de notre travail de recherche ont été d'une valeur inestimable. Ses conseils précieux, son expertise et son soutien constant ont été essentiels à la réussite de ce projet.

Nos remerciements vont également à l'ensemble des professeurs du département de biotechnologie de l'Université A.mira-bejaia, pour leur enseignement de qualité et les connaissances qu'ils n'ont transmises durant nos années d'études. Leur passion et leur dévouement pour la recherche nous ont inspiré et motivé à poursuivre nos propres questionnements scientifiques.

Nos remerciements et reconnaissances les plus distingués à la raffinerie d'huile de Cevital qui nous a facilité l'accès à tout ce dont on avait besoin dans notre étude.

Merci également aux membres du jury Mme Djouder Z, et Mr Nabet N, d'avoir accepté d'évaluer notre projet de fin d'étude. Leurs remarques et suggestions ont été précieuses et nous ont permis d'en améliorer la qualité de ce travail.

Enfin, Nous tenons à remercier toutes les personnes qui, de près ou de loin, ont contribué à la réalisation de ce mémoire. Que ce soit à travers des discussions enrichissantes, des conseils ou simplement par leur présence, leur contribution a été précieuse.

Ce mémoire est le fruit d'un travail collectif autant que personnel, et nous sommes profondément reconnaissants envers tous ceux qui nous ont accompagnés.

DÉDICACE

À mes plus grands soutiens et sources d'inspiration, je dédie ce travail avec tout mon amour et ma reconnaissance infinis.

À ma mère qui a toujours été mon port d'attachement et ma boussole, merci pour ton amour inconditionnel, ton dévouement et ton soutien inébranlable. Tu as été la lumière qui a éclairé mon chemin dans les moments sombres et tu as toujours cru en moi, même lorsque je doutais.

À mon père qui m'a appris l'importance du travail acharné, de la persévérance et de l'honnêteté, je suis reconnaissante pour tes conseils avisés et ton soutien sans faille. Tu m'as inspiré à viser plus haut et à poursuivre mes rêves. Je te suis infiniment reconnaissante pour ton soutien indéfectible, ta confiance en moi et ton amour.

À mon frère Badreddine ainsi qu'à mes sœurs adorées Sarah et Nesrine qui sont aussi mes meilleures amies, merci pour votre soutien constant, votre humour contagieux et votre présence réconfortante. Vous êtes ma source de joie et de bonheur, et je suis fière de vous avoir dans ma vie.

À mes neveux Mohammed et Zain qui ont rempli ma vie de tant de bonheur et de joie.

À mes très chères amies Zineb, Tarik, Sara, Chahinez, Rabah, Dalila qui ont été mes piliers dans les moments difficiles et mes partenaires de fête dans les moments de joie, merci pour votre amitié sincère, votre soutien sans faille et votre amour inconditionnel.

À toutes ma famille Belhout et Bedioune que dieu nous réunissent toujours

Enfin, à mon binôme Sara qui est devenue une amie très chère. Merci pour les magnifiques moments passés ensemble. Tu as été une source d'inspiration et de motivation pour moi tout au long de ce parcours.

NADJETTE.

DÉDICACE

Avec tous mes sentiments de respect , avec l'expérience de ma reconnaissance , je dédie ma remise de diplôme et ma joie à mon paradis , à la prunelle de mes yeux , à la source de ma joie et mon bonheur , ma lune et le fil d'espoir qui a allumer mon chemin, ma moitié maman .

À celui qui m'a fait une femme, mon précieux offre du dieu, mon support qui était toujours à mes côtés pour me soutenir et m'encourager, mon prince papa.

À mon frère Youba, mon pilier, pour l'amour et le soutien qu'il me réserve.

À ma grande sœur Ikram qui n'a pas cessée à me conseiller, encourager et soutenir tout au long de mes études.

À ma petite sœur Hadjer et mon adorable petit frère Saber, qui savent comment procurer la joie et le bonheur pour toute la famille.

À tous les membres de ma grande famille, mon oncle et ma tante ainsi que mes cousins et cousines.

À mes très chères amies Chahinez, Zineb, Sara, Rabah, Tarik, qui ont été mes repères constants, avec vous, chaque instant est un trésor de complicité et de rires partagés, votre soutien indéfectible illumine mes jours sombres, à vous, qui enrichissez ma vie de votre amitié sincère et chaleureuse merci et je vous aime énormément.

Enfin, à mon binôme Nadjette, qui est devenue une sœur et une collaboratrice talentueuse, merci pour notre collaboration fructueuse et notre amitié. Tu as été une source d'inspiration et de motivation pour moi tout au long de ce parcours.

SARA.

LISTE DES ABREVIATIONS

AG : Acides gras

BHT : Butyl-Hydroxy-Tolène.

CPG : Chromatographie en phase gazeuse

DMSO : Diméthyle Sulfo-oxyde.

ES : Extinction spécifique

IA : Indice d'acidité

IC₅₀ : Concentration inhibitrice de 50% de population

IP : Indice de Peroxyde.

KOH : hydroxyde de potassium.

meq O₂/kg : Milliéquivalent d'oxygène par kilogramme.

nm : nanomètre

N : Normalité

ppm : Partie par million.

R° : Radical libre

ROO°: Radical peroxyde

ROOH: Hydroperoxydes

TG: Triglycéride

TBHQ: Tertiary-butyl-hydro-quinone.

UV: Ultra-Violet

DO: Densité optique.

PPT: Polyphénols totaux.

Liste des tableaux

Tableau I : Classification botanique du <i>P.lentiscus</i>	3
Tableau II : Classification des polyphénols	5
Tableau III : Activités biologiques des polyphénols Sources des lipides	8
Tableau IV : Sources des lipides	11
Tableau V : Appareillages et produits chimiques utilisés	16
Tableau VI : Origine et type de souches testées.....	21
Tableau VII : Rendements de l'huile végétale et de l'extrait éthanolique obtenus à partir des fruits de <i>P. lentiscus</i>	23
Tableau VIII : Résultats du dosage des flavonoïdes et des phénols totaux.	24
Tableau VIII : Composition chimiques en acide gras de l'huile	25
Tableau X : IP de l'huile de lentisque, de l'huile enrichie avec les extraits éthanoliques ou de α -tocophérol, au cours de stockage.....	27
Tableau XI :IA de l'huile de lentisque, de l'huile enrichie avec les extraits éthanoliques ou de α -tocophérol, au cours de stockage.....	28
Tableau XII : ES K232 de l'huile de lentisque, de l'huile enrichie avec les extraits éthanoliques ou de α -tocophérol, au cours de stockage.....	29
Tableau XIII : ES K270 de l'huile de lentisque, de l'huile enrichie avec les extraits éthanoliques ou de α -tocophérol, au cours de stockage.....	30
Tableau XIV : Diamètre des zones d'inhibition en mm	31
Tableau XV : valeurs de la IC_{50} des extraits de <i>P.lentiscus</i>	34

Liste des figures

Figure 1 : Différentes parties de plante <i>Pistacia lentiscus</i> : a. fleurs, b. feuilles, c. fruits, d. résine ou mastic	4
Figure 2: Les voies de synthèse des polyphénols	7
Figure 3 : Structure chimique des glycérides	9
Figure 4: oxydation d'un acide gras insaturé	13
Figure 5: Appareil soxhlet	17
Figure 6: Activité antibactérienne de l'huile des graines noires (a) et l'extrait éthanolique des grains noirs (b) de <i>P. lentiscus</i> contre, <i>E.coli</i> et <i>S.aureus</i> respectivement.....	32

Table des matières

Liste des abréviations	I
Liste des tableaux.....	II
Liste des figures	III

INTRODUCTION GENERALE.....1

Chapitre I : Molécules bioactives des plantes médicinales et l'oxydation des lipides

1. Classification botanique de P.lentiscus	3
2. Description botanique de P.lentiscus	3
3. Propriétés thérapeutiques de P.lentiscus	4
4. Polyphenols	4
4.1. Définition.....	4
4.2. Structure chimique et classification	5
4.3. Biosynthèse	7
4.4. Activité biologique	8
5. Huiles végétales.....	9
5.1. Définition et composition	9
5.2. Classification.....	9
6. Enrichissement des huiles végétales	10
6.1. Définition.....	10
6.2. Bienfaits d'enrichissement de l'huile.....	10
7. Lipides	11
7.1. Définition et structure.....	11
7.2. Sources des lipides.....	11
7.3. Oxydations lipidiques.....	11
7.3.1. Mécanismes généraux de l'oxydation des lipides	12
7.3.2. Conséquences de la peroxydation lipidique.....	15

CHAPITRE II: MATERIEL ET METHODES

1. Matériel chimique et appareillage	16
2. Préparation du matériel végétal.....	16
3. Extraction de l'huile de P. lentiscus par Soxhlet	17
4. Extraction des composés phénoliques par ultrasons.....	17
5. Dosage des composés phénoliques	18
5.1. Dosage des phénols totaux (PPT).....	18
5.2. Dosage des flavonoïdes.....	18

6.Enrichissement de l'huile de P.lentiscus	18
6.1.Analyse phytochimique et physico-chimiques	19
6.2. Détermination de la composition chimique de l'huile par chromatographie en phase gazeuse (CPG)	19
6.3.Analyse physico-chimiques	19
7.Etude de l'activité antibactérienne des extraits de P. lentiscus	21
7.1.Souches bactériennes	21
7.2.Revivification des souches	21
7.3 Préparation de la suspension bactérienne (inoculum)	21
7.4. Tests antibactériens	21
8. Analyse statistique	22

CHAPITRE III :RESULTAT ET DISCUSSION

1. Rendement d'extraction	23
2. Teneur en phénols totaux et en flavonoïdes	24
3. Composition chimiques en acide gras de l'huile	25
4. Analyse physicochimique	26
4.1.Indice de peroxyde	26
4.2.Indice d'acidité	28
4.3.Coefficient d'extinction 232 nm et 270nm	28
5. Activité antibactérienne	31
5.1. Effet antibactérien des extraits de P. lentiscus sur milieu solide	31
5.2. Effet antibactérien des extraits de P. lentiscus sur milieu liquide (IC₅₀)	33
CONCLUSION	35

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

ANNEXES

Résumé

INTRODUCTION GÉNÉRALE

Le marché mondial des oléagineux a connu un développement considérable au cours des dernière année à fin d'obtenir des huiles végétales dont la consommation ne cesse de croître **(Cuvelier et al., 2012)**.

Les huiles végétales jouent un rôle essentiel dans notre alimentation, elles assurent tout d'abord une fonction nutritionnelle en contribuant à l'apport d'énergie et en étant une source d'acide gras indispensables notamment l'acide linoléique et l'acide alpha linoléique, elles améliorent aussi la qualité organoleptique des produits, leurs apportent une texture onctueuse, un aspect brillant et une saveur spécifique **(Cuvelier et al., 2012)**. De plus des constituants mineurs tels que des pigments, des composés aromatiques, des hydrocarbures, des stérols des phénols et des vitamines sont présents dans les huiles végétales **(Lee et al., 2020)**. En outre, elles facilitent également l'absorption des vitamines liposolubles A, D, E et K dans l'intestin grêle **(Karunaratne et al., 2017)**. Ces propriétés jouent un rôle essentiel dans le métabolisme cellulaire humain car ils servent pour le stockage d'énergie et facilitent la division cellulaire pour la croissance **(Cisbani et al., 2021)**.

L'oxydation est l'un des principaux processus de la détérioration chimique qui se produit au cours de la vie des aliments **(Nogueira et al., 2019)**. Il est connu que les acides gras insaturés sont plus susceptibles à subir une oxydation que les acides gras saturés. L'oxydation des lipides peut avoir lieu lorsque des températures élevées sont appliquées, mais aussi à une température ambiante donnant naissance à des composés volatils **(Goicoechea et al., 2014)**. Ces composés volatils sont parfois toxique même responsables des maladies tel que le cancer **(Long et al., 2010)**. Aussi sur le côté alimentaire l'auto-oxydation lipidique favorise la détérioration et la réduction de la durée de conservation des huiles végétales entraînant ainsi des changement organoleptique de certains composés tel que les vitamines **(Milanez et al., 2014)**.

Pour une stabilité oxydative des huiles, les chercheurs ont opté pour l'ajout d'anti-oxydant naturel ou synthétique comme le butylhydroxytoluène (BHT) et butylhydroxyanisole (BHA), bien que leur sécurité soit parfois remise en question en raison de leurs effet potentiels sur la santé **(Szydłowska et al., 2018)**. En conséquence l'intérêt des industries alimentaires, pharmaceutiques et cosmétiques pour les antioxydants naturels tel que les polyphénols s'est accru **(Bakkalbasi et al., 2018)**. Les composés phénoliques est une classe de métabolites secondaires végétaux à haute activité biologique **(Martinez et al., 2022)**. En raison de la grande quantité de groupes hydroxyle phénoliques actifs dans les composés phénoliques, ils ont une forte capacité à éliminer les radicaux libres ainsi que diverses fonctions physiologiques et biochimiques, notamment anticancéreuses, anti tumorales, anti-âge et autres fonctions favorisant la santé **(Xiong et al., 2022)**. Cependant, ils ne peuvent pas être synthétisés dans le

corps humain et doivent être apportés par des sources externes (Tyagi et al., 2022). Par conséquent, les nouvelles technologies d'enrichissement, d'extraction et de détermination des composés phénoliques ont reçu une large attention.

Dans notre étude, nous nous sommes intéressés à l'enrichissement de l'huile végétale extraite des graines noires de *Pistacia lentiscus* par des antioxydants naturels de fruits rouges et noirs de la même plante afin d'évaluer sa stabilité oxydative d'une part et d'étudier son activité antibactérienne d'autre part.

Les travaux réalisés dans ce mémoire ont été présentés en trois chapitres :

- Chapitre I : Molécules bioactives des plantes médicinales et l'oxydation des lipides.
- Chapitre II : Matériel et méthodes employés pour effectuer cette étude.
- Chapitre III : Résultats et discussions .

Pour finir, la conclusion de ce travail met en avant les principaux résultats obtenus.

Chapitre I

*Molécules bioactives des plantes médicinales
et l'oxydation des lipides.*

Molécules bioactives des plantes médicinales et l'oxydation des lipides.

Le monde naturel produit en permanence des composés et des substances bioactives qui contiennent des propriétés médicinales ainsi que des applications technologiques intéressantes ; bien qu'il existe des substances naturelles présentes dans les plantes, les animaux, les micro-organismes et les minéraux, la grande majorité provient des plantes (Gurib et al., 2006).

1 .Classification botanique de *P .lentiscus*

Pistacia lentiscus un arbuste à feuilles persistantes, appartient à la famille des Anacardiacées (Tableau I), est largement distribué dans la région méditerranéenne.

Tableau I: Classification botanique du *P. lentiscus* (Nahida et al., 2012).

Règne	Plante
Division	Magnoliophyta
Ordre	Spindales
Famille	Anacardiacées
Genre	Pistacia
Espèce	<i>Pistacia lentiscus</i>

2.Description botanique de *P. lentiscus*

P.lentiscus se présente sous forme d'individus mâles et femelles distincts, mesurant de 1 à 5 mètres de haut (Bammou et al., 2015). Les feuilles de cet arbuste sont d'un vert foncé avec une odeur distinctive. Les fruits sont des baies rougeâtres à noires à maturité (figure 4). Les fleurs, sont unisexuées et d'environ 3 mm de large, se présentent en grappes et dégagent un arôme très prononcé. Les mâles se distinguent par leur teinte rouge foncé tandis que les femelles affichent un vert jaunâtre, leur floraison s'étend de Mars à Mai (Aissi et al., 2016 ; Harrat, 2020). Elle est placée parmi les plantes qui tolèrent plus de sécheresse par rapport aux autres plantes persistantes, comme elle supporte aussi des taux élevés de salinité (Ait Said et al., 2011).

3. Propriétés thérapeutiques de *P. lentiscus*

Cette plante est connue traditionnellement pour ses effets bénéfiques contre les ulcères, l'hypertension, la toux, les maux de gorge, les brûlures, l'eczéma, les maux de dos (Amara et al., 2019).



Figure 1 : Différentes parties de *Pistacia lentiscus* : **a.** fleurs, **b.** feuilles, **c.** fruits, **d.** résine ou mastic (Chaabani, 2020).

4. Polyphénols

Les plantes synthétisent une large gamme de composés organiques, traditionnellement divisés en métabolites primaires et secondaires (Crozier et al., 2008). Le premier concerne des processus importants et fondamentaux chez les plantes, où l'on distingue les glucides, les lipides et les protéines (Joset et Joset-Tse, 2016). Le métabolisme secondaire des plantes constitue un réservoir important de diversité chimique naturelle, contenant une large gamme de composés. Ils sont arbitrairement divisés en trois catégories de base : les composés phénoliques, les alcaloïdes et les terpénoïdes (Lattanzio et al., 2006).

4.1. Définition

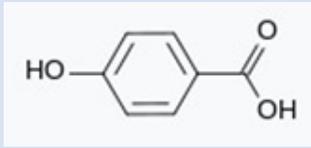
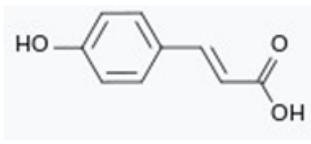
Les polyphénols présentent une classe des métabolites secondaires végétaux les plus connus (Li et al., 2014). Ce sont des grosses molécules, d'un poids moléculaire d'environ 800 daltons, qui leur permettent de traverser la membrane cellulaire, par laquelle ces polyphénols atteignent l'espace dans les sites intracellulaires (Singla et al., 2019). Ils ont été largement étudiés

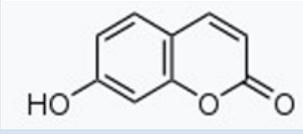
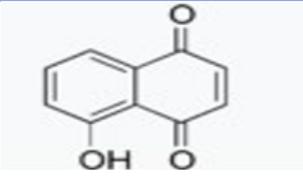
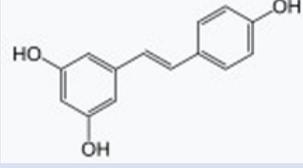
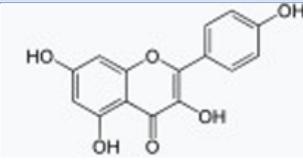
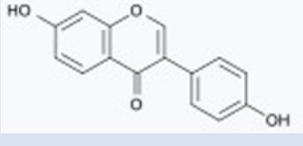
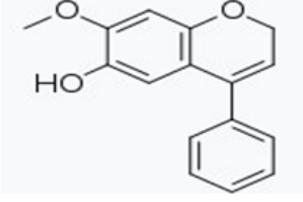
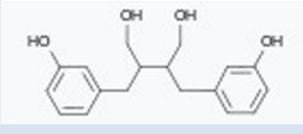
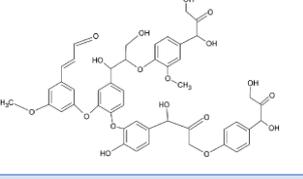
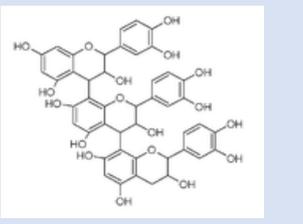
au cours des 40 dernières années ; plus de 10 000 composés phénoliques ont été identifiés dans diverses espèces végétales en raison de leur large spectre d'effets bénéfiques potentiels sur la santé humaine, améliorant la qualité et prolongeant la durée de vie (Li et al., 2014). Ils ont une importance physiologique et morphologique considérable chez les végétaux. Ils jouent un rôle important dans leur croissance, reproduction, pigmentation et dans leur mécanisme de défense contre les rayonnements ultraviolets et les agents pathogènes (Hu et al., 2016).

4.2. Structure chimique et classification

Il existe une grande diversité structurelle chimique parmi les polyphénols, mais leur caractéristique commune est la présence de plus d'un groupe hydroxyle phénolique attaché à un ou plusieurs cycles aromatiques. Selon le nombre d'anneaux phénoliques et les éléments structurels qui relient ces anneaux, les phénols sont subdivisés en plusieurs classes (tableau II). La classification de base comprendrait cinq classes polyphénoliques principales : les acides phénoliques, flavonoïdes ; stilbènes, les tanins condensés et autres (Lesjak et al., 2022).

Tableau II : Classification des polyphénols (Bruneton J. 1999 ; Cheynier et al., 2006).

Squelette carboné	Classe	Exemple	Structure	Origine
C ₆	Phénols simples	Hydroquinone		Busserole
C ₆ -C ₁	Acides hydroxybenzoïques	Acide parahydroxybenzoïque		Epices, fraises
C ₆ -C ₃	Acides hydroxycinamiques	Acide paracoumarique		Tomates, ail

	Coumarines	Ombelliférone		Carottes, coriandre
C_6-C_4	Naphtoquinones	Juglon		Noyer
$C_6-C_2-C_6$	Stilbénoides	Trans-resvératrols		Raisin
$C_6-C_3-C_6$	Flavonoïdes	Kaempférol		Fraises
	Isoflavonoïdes	Daidzéine		Graines de soja
	Anthocyanes	Dalphinol		Dalbergia sissou; petits fruits rouges
$(C_6-C_3)_2$	Lignanes	Entérodiol		Bactéries intestinales, lin
$(C_6-C_3)_n$	Lignines			Bois, fruits à noyau
$(C_6-C_3-C_6)_n$	Tanins condensés	Procyanidine		Raisins, Kaki

4.3. Biosynthèse

Il existe deux voies de synthèse pour les polyphénols. La voie des polyacétates intervient pour des composés comprenant un noyau aromatique préalablement synthétisé par la voie shikimate. Cette dernière occupe une place centrale dans la biosynthèse des polyphénols, étant à l'origine de nombreux acides phénoliques comme l'acide gallique (Tsao, 2010) (Figure 2).

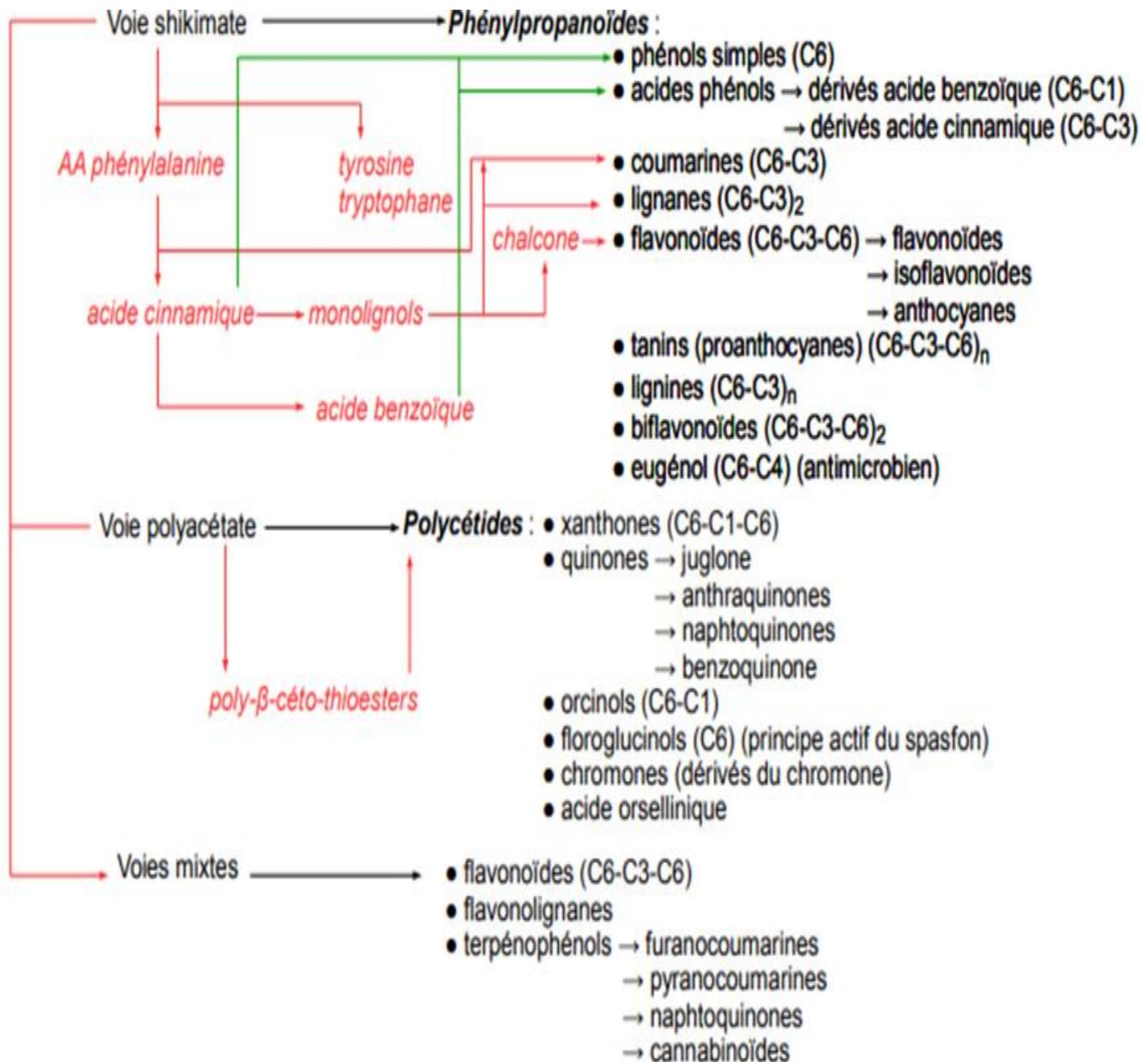


Figure 2 : Les voies de synthèse des polyphénols (Elie, 2022).

4.4 Activité biologiques

Les polyphénols sont efficaces dans le prétraitement et la prévention de nombreuses maladies chroniques (tableau III), notamment les maladies dégénératives, le diabète de type 2, le cancer, les maladies inflammatoires, les maladies cardiovasculaires (MCV), les maladies immunitaires et d'autres maladies neurodégénératives (Behl et al., 2020) . Ces polyphénols présentent un large éventail d'actions antimicrobiennes, antibactériennes, antioxydantes et virucides (Rasouli et al., 2017).

Tableau III: Activités biologiques des polyphénols.

Polyphénols impliqués	Maladies	Références
Acides phénols	-Anticancéreux, cardio protecteur -Anti-inflammatoire -Anti-hypertensive, antioxydant	(Aqeel et al., 2019) (Yu et al., 2022) (Afnan et al., 2022)
Flavonoïdes	-Antioxydant, antivirale Antiinflammatoire, antifongique -Anticancéreuse, antibactérienne	(Ullah et al., 2020) (Chen et al., 2023)
Lignanes	-Anti-inflammatoires [dépression, cardiovasculaires, antimicrobiens] -Antioxydant [cancer du sein, cancer de la prostate].	(Jang et al., 2022)
Lignines	-Infections microbiens et virales -Troubles métaboliques, cancer	(kim et al., 2021) (Zongo et al., 2022)
Tanins	-Maladies respiratoires - Antiviral -Antioxydant, anticancéreux	(Rajasekaran et al., 2021) (Amarowicz et al., 2024) (Baer et al., 2020)
Catéchines	-Cancer, maladie cardiovasculaires Antiinflammatoire, neurodégénérative (Alzheimer)	(isemura.M , 2019) (Wen et al., 2022)
Anthocyanes	-Anti-cancéreux, antidiabétique, cardiovasculaires- Hépathoprotection	(Camara et al., 2022) (Mohammed et al., 2022)

5. Huiles végétales

5.1. Définition et composition

La production mondiale annuelle des huiles végétales augmente chaque année pour répondre à la demande croissante de ressources écologiques et renouvelables. Les huiles végétales sont des ressources renouvelables produites en masse, principalement dérivées des graines d'une grande variété de plantes. Le terme décrit les triglycérides d'acides gras liquides à température et pression ambiantes. L'huile végétale est composée de deux éléments constitutifs simples qui sont le glycérol et les acides gras, d'après le Manuel des huiles et graisses végétales (Alender et al., 2007). Il existe un seul type de glycérol mais les acides gras peuvent varier considérablement dans leur structure. Le glycérol est constitué de trois groupes alcooliques où les acides gras peuvent être fixés et les produits résultants sont appelés monoglycérides (un acide gras) (a), diglycérides (deux acides gras) (b) ou triglycérides (trois acides gras) (c) (figure 3). La qualité et la stabilité de l'huile végétale sont des facteurs principaux pour être acceptée sur le marché (Dutton, 1995).

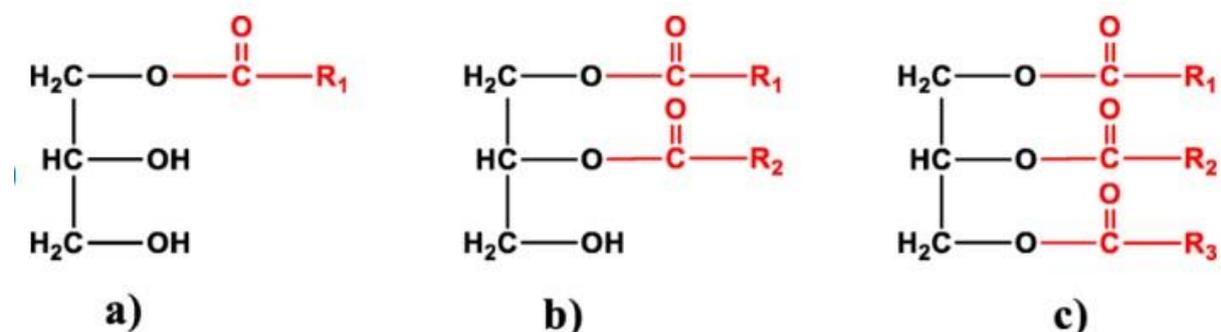


Figure 3 : Structure chimique des glycérides (Brännström et al., 2018).

5.2. Classification

D'après Guichard (1967), et selon l'utilisation finale des huiles, on distingue :

- **Huiles officinales**

Ces huiles sont destinées à des fins thérapeutiques ou cosmétiques et sont obtenues uniquement par pression à froid. Elles sont des huiles vierges obtenues lors de la première pression.

- **Huiles alimentaires**

Il s'agit d'huiles destinées à être utilisées par l'industrie alimentaire, dérivées du pressage de graines oléagineuses à froid ou à chaud. Ils peuvent être soumis à des procédés de raffinage

afin de les débarrasser des pigments, des substances aromatiques, sans goût ainsi que d'autres contaminants.

- **Huiles industrielle**

Cela revient à des huiles de qualité inférieure utilisées par divers secteurs industriels comme les peintures, les lubrifiants, les détergents et les biocarburants. Ils sont généralement extraits au moyen d'un solvant hexane.

6. Enrichissement des huiles végétales

6.1 Définition

L'enrichissement ou l'aromatisation d'huiles végétales comestibles commerciales avec des composés bioactifs d'origine végétale ou d'autres matières végétales ont été réalisés avec succès ces dernières années pour améliorer leurs valeurs nutritionnelles et leurs qualités organoleptiques, prolonger la durée de conservation, prévenir ou retarder les processus d'oxydation (**Gramza et al., 2011**). L'enrichissement est assuré par différents procédés :

- **Enrichissement par infusion**

Une technique traditionnelle de macération pour enrichir l'huile implique la dissociation de matériaux naturels contenant des antioxydants et des composés aromatiques tels que les herbes, les épices et les fruits (**Baiano et al., 2009**). Dans la phase huileuse, ce qui nécessite une durée prolongée et une température ambiante importante (**Caponio et al., 2016**).

- **Enrichissement par ultrasons**

La méthode a été développée par **Japón-Luján et De Castro (2008)**. La sonication a été appliquée pour améliorer l'extraction de produits naturels à partir de matières végétales, principalement par le biais du phénomène de cavitation. L'effet mécanique de la sonication devrait accélérer la libération de composés bioactifs en perturbant la paroi cellulaire (**Achat et al., 2012**).

- **Enrichissement par micro-ondes**

Une technique accélératrice qui utilise les micro-ondes pour faciliter le transfert des composés bioactifs dans l'huile, stimulant ainsi le rendement tout en réduisant la demande en solvant et le temps de traitement (**Malheiro et al., 2012**).

6.2. Bienfaits d'enrichissement de l'huile

L'avancement des huiles fonctionnelles peut contribuer à la prévention des maladies chroniques et à l'amélioration de la qualité de vie. Leur haute teneur en antioxydants, tels que les polyphénols et d'autres composants, offre des bénéfices préventifs et thérapeutiques contre

les maladies cardiovasculaires, les cancers, le diabète, les troubles neurodégénératifs, l'inflammation, le vieillissement et l'obésité (**Wahrburg et al., 2002**).

7. Lipides

7.1. Définition et structure

Les lipides constituent un groupe varié de substances insolubles dans l'eau, mais solubles dans les solvants organiques tels que l'alcool chaud, l'ester, le chloroforme et le benzène. L'acide gras est la structure de base qui est composée d'une chaîne hydrocarbonée de diverses longueurs terminée par un radical acide (COOH). En effet, l'immense majorité des graisses alimentaires se présente sous forme de glycérides (glycérol esters et acides gras) qui sont les principaux vecteurs des acides gras. Les autres lipides sont des molécules plus complexes : phospholipides, cholestérol, sphingolipides et cérides (**Jacotot et al., 2003**).

7.2. Sources des lipides

Selon **Belbaki (2021)**, l'origine des lipides, les corps gras recouvrent les huiles et graisses d'origine végétale ou animale (**tableau IV**).

Les huiles sont différenciées des graisses par leur point de fusion. Ces derniers sont des corps gras liquides à une température de 15°C. Tandis que les graisses sont plus ou moins solides ou concrètes à cette température.

Tableau IV : Sources des lipides (Belbaki, 2021).

Végétales	Animales
<ul style="list-style-type: none">- huiles végétales fluides : huiles d'arachides, de colza, de germe de maïs, de tournesol, de soja, d'olive, de noix, de pépins de raisin- huiles végétales concrètes (ou graisses) : coprah (provenant de la noix de coco), huiles de palme et de palmiste	<ul style="list-style-type: none">- huiles et graisses d'origine animale terrestre : suif (graisse de bœuf et de mouton), huile de cheval, graisse d'oie- huiles et graisses marines : baleine, cachalot, poissons (sardines, hareng, morue...)- corps gras élaborés : beurres, margarines

7.3. Oxydations lipidiques

L'oxydation des lipides est le principal processus responsable de la détérioration de la qualité des aliments en réduisant la durée de conservation conduisant au rancissement (**Lúcia et al., 2020**). Cette action se produit entre l'acide gras et l'oxygène afin de former des hydroperoxydes. Les hydroperoxydes issus de la dégradation des chaînes d'acides gras, des

polymères et des dimères forment des sous-produits tels que: époxydes, alcools, aldéhydes et cétones. Ces derniers interagissent négativement avec les protéines, les sucres, les pigments et même les vitamines ce qui conduit à affecté la couleur, la texture, la valeur nutritionnelle, le goût et l'arôme (Lima *et al.*, 2013).

7.3.1. Mécanismes généraux de l'oxydation des lipides

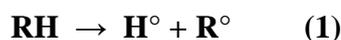
D'après Eymard (2003), l'oxydation des lipides peut résulter de plusieurs voies réactionnelles en fonction du milieu et des agents initiateurs :

- l'auto-oxydation catalysée par la température, les ions métalliques, les radicaux libres ;
- la photo-oxydation, initiée par la lumière en présence de photosensibilisateurs ;
- l'oxydation enzymatique initiée par la lipoxygénase.

A. Auto-oxydation

L'oxydation des lipides est une réaction auto catalytique. Il s'agit d'une série de réactions radicalaires se déroulant en trois étapes (**figure 4**). Une première réaction qui génère un radical libre par élimination d'un hydrogène de l'acide (initiation). Ensuite, les réactions se produisent en séquence pour produire plusieurs radicaux libres (propagation) qui se réunissent pour former des composés non radicalaires (terminaison). Le mécanisme réactionnel de l'oxydation des lipides est résumé en trois étapes (**Bolland et Gee, 1946**).

- **Initiation** : En présence d'un initiateur (I), les lipides insaturés (RH) perdent un atome d'hydrogène pour former un radical libre de lipide (R°) (radical, lipoxyle).



Ce mode d'initiation, favorisé par une élévation de température, peut être produit par des radiations ionisantes, des générateurs chimiques, des systèmes enzymatiques ou chimiques produisant des espèces activées de l'oxygène, ou de traces métalliques.

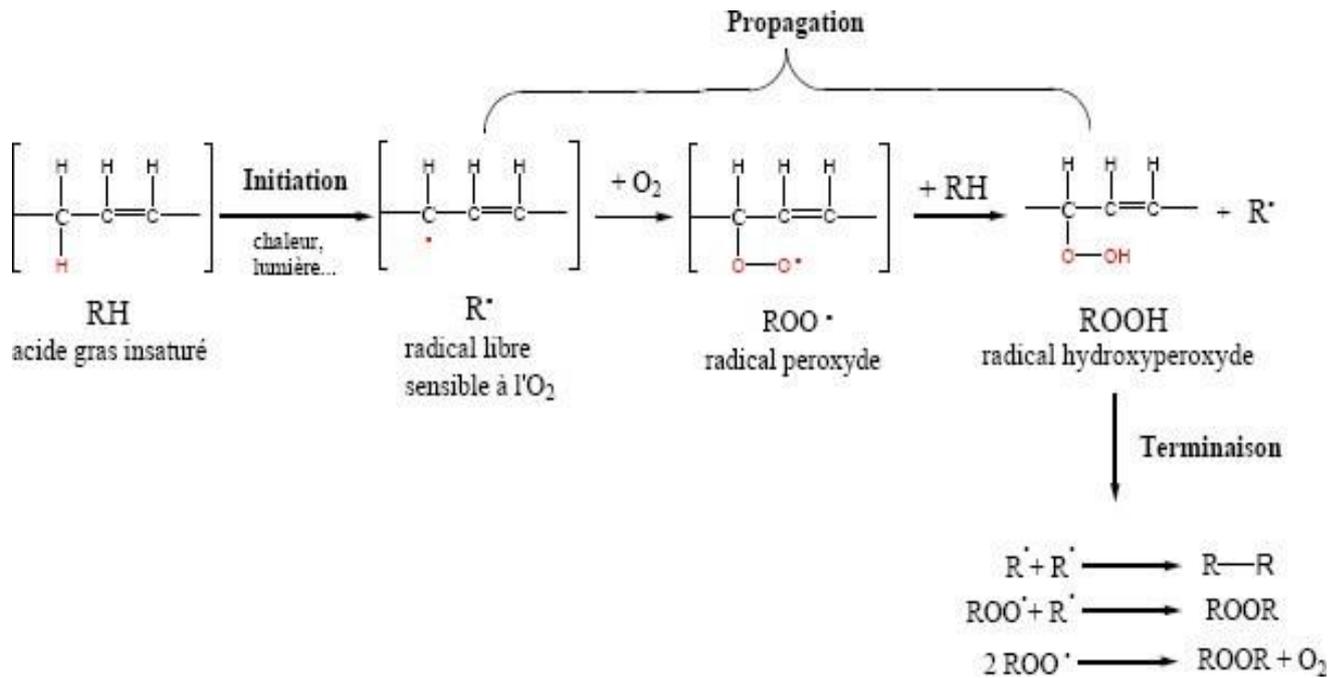


Figure 4 : oxydation d'un acide gras insaturé (Moll et Moll, 1998)

- **Propagation :** les radicaux libres formés fixent l'oxygène moléculaire et forment des radicaux libres pyroxyles instables (2) qui peuvent réagir avec une nouvelle molécule d'acide gras pour former des hydroperoxydes (3).

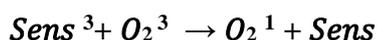


- **Terminaison :** les radicaux formés réagissent entre eux pour conduire à un produit qui est stable.

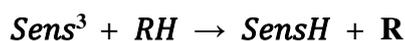


B. Photo-oxydation

La photo-oxydation est un processus de dégradation des lipides provoqué par des photosensibilisateurs comme les hémoprotéines, la riboflavine ou d'autres pigments d'alimentation. Quand elles sont soumises à la radiation et à l'oxygène, ces dernières accélèrent la conversion de l'oxygène moléculaire triplet $^3\text{O}_2$ en oxygène singulet $^1\text{O}_2$ qui est une forme très réactive de l'oxygène (**Shahidi et al., 2010**). L'oxygène singulet ainsi formé peut attaquer directement les acides gras insaturés présents dans les chaînes lipidiques. Par conséquent, des hydroperoxydes se forment, entraînant une dégradation oxydative des lipides (**Frankel, 2012**). Deux mécanismes principaux régulent la fonction des photosensibilisateurs : Dans le premier, les molécules photosensibilisateurs réagissent avec l'oxygène triplet lorsqu'elles sont à l'état excité, transférant leur énergie pour former de l'oxygène singulet. L'oxygène singulet s'avère très réactif et attaque les acides gras insaturés conduisant à la formation des hydroperoxydes (**Frankel, 2012**).



Dans un deuxième mécanisme, la molécule photosensible dans son état de sortie agit comme l'initiateur des radicaux libres et arrache un atome d'hydrogène de l'acide gras insaturé pour former un radical libre capable de réagir avec une molécule d'oxygène présente dans son état fondamental (**Frankel, 2012**).



C. Oxydation enzymatique

Un autre type d'oxydation des lipides toujours observé dans les lipides d'origine végétale est médiée par des enzymes. Afin de décomposer les acides gras insaturés par la digestion, ce processus est appelé oxydation enzymatique des acides gras insaturés. Deux enzymes principales sont impliquées : la lipoxygénase et la cyclooxygénase. La lipoxygénase catalyse l'ajout d'une molécule d'oxygène sur une molécule d'acide gras insaturé, produisant ainsi des hydroperoxydes (**Pereira et al., 2003**). La cyclooxygénase est une lipoxygénase qui catalyse l'ajout de deux molécules d'oxygène à un acide gras insaturé conduisant à la formation spécifique d'hydroperoxydes. L'oxydation enzymatique des lipides peut se produire même à basse température. Lorsqu'ils sont stockés à l'état congelé, l'activité enzymatique est ralentie. À une température aussi basse que $-40\text{ }^\circ\text{C}$, l'oxydation enzymatique des lipides est totalement

stoppée. Cependant, une fois la décongélation commencée et les températures comprises entre 0 °C et 4 °C, cette activité enzymatique redémarre progressivement (**Ibourahema et al., 2011**).

7.3.2. Conséquences de la peroxydation lipidique

D'après **Cillard et al., (2006)** et **Catala, (2012)**, des effets négatifs de la peroxydation lipidique sont observés à la fois sur les aliments et sur les organismes vivants :

- Dans les aliments, elle entraîne le rancissement et la dégradation des lipides, causant des altérations qualitatives, nutritionnelles et potentiellement toxiques.
- Modification des composés riches en acides gras polyinsaturés (AGPI) tels que les corps gras alimentaires et les cosmétiques, entraînant des altérations organoleptiques telles que la rancidité, l'acidité et la modification de la couleur avec l'apparition de brunissements.
- Au niveau cellulaire et tissulaire, la peroxydation lipidique peut endommager les membranes cellulaires, en modifiant leur perméabilité, fluidité, l'activité des enzymes ainsi que les récepteurs membranaires.
- Les produits de décomposition des peroxydes lipidiques, comme les aldéhydes, peuvent également causer des dommages aux protéines ainsi que les acides nucléiques.
- La peroxydation des lipoprotéines comme les LDL contribue au développement de maladies cardiovasculaires. Chez les patients hémodialysés, le stress oxydatif lié à la peroxydation lipidique est un marqueur important des risques cardiovasculaires.

Chapitre II

MATERIEL ET METHODES

Matériel et Méthodes

1. Matériel chimique et appareillage

Dans cette étude, un ensemble d'appareillages et de produits chimiques ont été utilisés et qui sont résumés dans le **tableau V**.

Tableau V : Appareillages et produits chimiques utilisés.

Appareillage	Produits chimiques
- Spectrophotomètre (SPECORD 50)	- Hexane (Sigma-aldich)
- Balance de précision (RADWAG)	- Ethanol (Honeywell)
- Bain marie (Memmert)	- Methanol (BIOCHEM Chimopharma)
- Vortex (Neuation)	- Diméthyles sulfoxydes (DMSO) (BIOCHEM Chemopharma)
- Etuve (Ecocell)	- Muller Hinton (bouillon)
- Autoclave (Nuve)	- Muller Hinton (gélose)
- Rotavapeur (Heidolph)	- Augmentin (30µg)
- Sonicateur (Raypa)	- Folin Ciocolteu (BIOCHEM Chemopharma)
- Soxhlet (Barnstead Electrothermal)	-Carbonate de sodium (BIOCHEM Chemopharma)
- Microplaque (VELP)	- Acide gallique (SIGMA-ALDRICH, China)
- Lecteurs de microplaques ELISA	- Quercétine (SIGMA-ALDRICH, China)

2. Préparation du matériel végétal

- **Récolte**

Dans notre étude, nous avons utilisé des fruits noirs et rouges de *P. lentiscus* récoltés au niveau de la forêt de Tizi Neftah, située dans la province d'Amizour, wilaya de Bejaia, Algérie, en novembre 2023.

- **Séchage et broyage**

La préparation de l'échantillon de fruit de *P. lentiscus* revêt une importance vitale pour garantir des analyses fiables. Après avoir été séché à l'air libre puis dans une étuve à 40°C pendant 48 heures, les échantillons ont été broyés à l'aide d'un broyeur électrique jusqu'à obtenir une pâte. Cette dernière a été ensuite conservée au frais à 4°C jusqu'à son utilisation.

3. Extraction de l'huile de *P. lentiscus* par Soxhlet

Une masse de 30 g des graines noires ou rouges a été soumise à une extraction entre 4 à 6h dans un extracteur de type Soxhlet, en utilisant 180 ml d'hexane comme solvant d'extraction. Lorsque tout le solvant s'est évaporé à 40 °C au moyen d'un évaporateur rotatif sous pression réduite, l'huile restante a été stockée à - 4 °C pour une utilisation ultérieure (Aissat *et al.*, 2022).



Figure 5: Extraction de l'huile de *P. lentiscus* par Soxhlet

4. Extraction des composés phénoliques par ultrasons

Pour extraire les polyphénols de la poudre dilipidée (poudre résiduelle après extraction de l'huile végétale) des graines noires et rouges de *P. lentiscus* le protocole d'Aissat *et al.* (2022) a été suivi, avec quelques modifications. Une masse de 150 g de la poudre ont été mélangées avec 600 ml d'éthanol 96% sous agitation. Une extraction de ce mélange, par ultrasons, a été réalisée à température ambiante pendant 30 minutes. Le macérât a été filtré sous vide. Le filtrat a ensuite été évaporé à 40°C en utilisant un évaporateur rotatif. Le résidu sec résultant a été récupéré, réfrigéré et stocké à l'obscurité.

Le rendement d'extraction, de l'huile et de l'extrait éthanolique de *P. lentiscus*, a été calculé par la formule suivante

$$\text{Rendement (\%)} = [(P_1 / P_0)] \times 100,$$

avec :

P₁: Poids de l'extrait après l'élimination du solvant

P₀: Poids de la poudre avant extraction

5. Dosage des composés phénoliques

5.1. Dosage des phénols totaux (PPT)

Ce dosage est fondé sur la quantification de la concentration totale de groupements hydroxyles présents dans l'extrait. Le réactif de Folin-Ciocalteu consiste en une solution jaune, acide, contenant un complexe polymérique d'ions (hétéropolyacides). En milieu alcalin, le réactif de Folin-Ciocalteu oxyde les phénols en ions phénolates est réduit partiellement ses hétéropolyacides d'où la formation d'un complexe bleu (Pérez et al., 2023).

Dans cette étude, un volume de 5 µl d'extrait filtré a été mélangé avec 60 µl d'une solution de carbonate de sodium à 7,5% (p/v) et 15 µl de réactif de Folin-Ciocalteu. Ensuite, 200 µl d'eau distillée ont été ajoutés et les solutions ont été homogénéisées. Les échantillons ont été chauffés à 60 °C pendant 5 minutes puis refroidis à température ambiante. Enfin, l'absorbance a été mesurée à 700 nm à l'aide d'un lecteur de microplaques spectrophotométrique. Une courbe de calibration a été réalisée à partir d'une solution standard d'acide gallique et le blanc a été préparé avec de l'eau distillée. Le contenu total en composés phénoliques a été exprimé en milligrammes équivalents d'acide gallique par gramme de matière sèche (mg EAG/g MS) (Mussato et al., 2011).

5.2. Dosage des flavonoïdes

L'estimation de la teneur en flavonoïdes totaux contenus dans les extraits de fruit de *P. lentiscus* a été réalisée par la méthode de trichlorure d'aluminium AlCl₃ de Djerdane et al. (2006). Les flavonoïdes ont une capacité à former un complexe avec le chlorure d'aluminium qui donne à la solution une coloration jaunâtre.

Dans cette étude, un volume de 100µl d'extrait a été additionné à 100µl de chlorure d'aluminium, le mélange a été incubé pendant 15 min à température ambiante et à l'obscurité. L'absorbance a été lue à 430 nm contre un blanc contenant le méthanol. Les concentrations des flavonoïdes ont été déduites à partir de la courbe d'étalonnage établie avec la quercétine. Les résultats sont exprimés en milligrammes équivalents de quercétine par gramme de matière sèche (mg EQ / g MS).

6. Enrichissement de l'huile de *P.lentiscus*

La procédure d'enrichissement de l'huile de *P. lentiscus* a été réalisée suivant la méthode décrite par Bouaziz et al. (2008).

Dans cette étude, une quantité de 10 mg d'extrait de graines rouges et noires a été pesée, puis dissoute dans 2000 µl d'éthanol. Le mélange a été agité aux ultrasons pendant 30 minutes pour

assurer la dissolution complète de l'extrait dans l'éthanol. Une fois le mélange prêt, une quantité a été prélevée et ajoutée à 10 g d'huile (1ppm). Après l'ajout de l'extrait, les huiles ont été agitées aux ultrasons pendant 30 minutes pour garantir la dissolution totale des extraits dans l'huile. Un enrichissement de notre huile avec un antioxydant synthétique, α -tocophérols, a été préparé dans les mêmes conditions.

6.1. Analyse phytochimique et physico-chimiques

Afin d'établir une analyse phytochimique par chromatographie en phase gazeuse (CPG), ainsi qu'une évaluation physicochimique par la mesure de l'indice d'acide (exprimé en pourcentage d'acide oléique), l'indice de peroxyde (PV) (exprimé en milliéquivalents d'oxygène actif par kg d'huile), et les coefficients d'extinction K 270 et K 232 au bout de 30 jours de stockage (J0 ,J7 ,J14 ,J21 ,J30) , un stage pratique a été réalisé au niveau de l'unité industrielle Cévital de Bejaïa.

6.2. Détermination de la composition chimique de l'huile par chromatographie en phase gazeuse (CPG)

La chromatographie en phase gazeuse (CPG) est une technique largement utilisée en chimie analytique pour séparer les substances volatiles d'un mélange. Dans cette méthode, un courant gazeux est introduit dans une colonne contenant une phase stationnaire spécifique. Lorsque le mélange est injecté dans la colonne, les différents composés interagissent avec la phase stationnaire et la phase mobile de manière différenciée. Cette interaction entraîne des vitesses de déplacement distinctes pour chaque substance à travers la colonne, ce qui se traduit par des temps de rétention différents à la sortie de la colonne. Ces temps de rétention sont enregistrés par un détecteur, produisant ainsi un chromatogramme (Leppert, 2022).

Dans cette étude, 0,5 g d'échantillon [huile, huile enrichie avec l'extrait graines rouges ou noires (H+GR, H+GN), et huile enrichi avec α tocophérols] ont été mélangé avec 5 ml d'hexane et 0,5 ml de méthyl KOH puis ce mélange a été injecté pour l'analyse.

6.3. Analyse physico-chimiques

A. Indice de peroxyde

L'indice de peroxyde (IP) des graisses et des huiles est une mesure de l'oxydation primaire résultant de réactions impliquant l'hydroxyle et l'oxygène moléculaire pour produire des hydroperoxydes et des peroxydes (Ottaway, 2021).

Les valeurs de peroxyde ont été mesurées à l'aide de la méthode Cd-8b de l'American Oil Chemists Society. Pour ce faire, environ 2g d'échantillon [huile, huile enrichi avec l'extrait des graines rouges ou noires (H+GR, H+GN), ou l'huile enrichi avec α Tocophérols] ont été placés dans un récipient de réaction. Après, 25 ml d'un mélange contenant de l'acide acétique et du chloroforme

(10ml/15ml) ont été introduits en plus, suivis par le dosage de 1 ml d'une solution saturée d'iodure de potassium. Après l'avoir bien agiter, le flacon a été incubé pendant 15 min à l'abri de la lumière. Enfin, l'ajout de 75 ml d'eau distillée au mélange a été réalisé suivi d'un titrage avec du thiosulfate de sodium. La formule suivante a été utilisée pour le calcul des indices de peroxyde :

$$\text{Indice de peroxyde} = (V - V') \times N \times 1000 / m \text{ (meq d'O}_2\text{/Kg)}$$

V : Le volume de la solution de thiosulfate de sodium utilisé pour la prise d'essai.

V': Le volume de la solution de thiosulfate de sodium utilisé pour l'essai à blanc.

N : La normalité de la solution de thiosulfate de sodium utilisé.

m : La masse de la prise d'essai en grammes.

B. Acidité libre

L'acidité d'une huile alimentaire est associée à la présence d'acides gras libres issus de la décomposition des triglycérides. C'est un indicateur de qualité qui renseigne sur la fraîcheur et la conservation de l'huile (**Kanji, 2001**). Il est défini comme le poids d'hydroxyde de potassium (KOH) en milligrammes nécessaire pour neutraliser les acides organiques présents dans 1 gramme de graisse (**Gjoshevskaja et al., 2022**).

Dans un Erlenmeyer contenant 70 ml d'éthanol neutralisé en coloration rose avec NaOH (0,1 N), 2 g d'échantillon [huile, huile enrichi avec l'extrait des graines rouges ou noires (H+GR, H+GN), ou l'huile enrichi avec α Tocophérols] ont été versés, chauffés et agités avant de titrer avec NaOH (1N) en présence de phénolphtaléine pour produire une couleur rose qui a duré 10 secondes. La formule suivante a été utilisée pour le calcul de l'acidité (%) :

$$\text{Acidité} : N \times V \times 282 / 10 P \text{ (\%)}$$

N : Normalité de Na OH (1N).

V: Volume dépensé pour le titrage .

P: Prise d'essai en gramme .

C. Coefficients d'extinction spécifique

Le K232 est une mesure de l'auto-oxydation des huiles tandis que le K270 mesure quant à lui la présence de diènes et triènes conjugués. De ce fait, plus les valeurs de la première grandeur sont élevées, plus l'huile est peroxydée ; de même, plus le K₂₇₀ est élevé plus ces valeurs évoquent la richesse en produits secondaires de l'oxydation donc sa capacité réduite pour la conservation (**Atifi et al., 2017**). De plus, on utilise ces critères pour savoir si une huile est pure ou non (**Öğütçü et al., 2008**).

Dans cette étude, les coefficients d'extinction K232 et K270 de notre huile, huile enrichi avec l'extrait des graines rouges ou noires (H+GR, H+GN), ou l'huile enrichi avec α Tocophérols, ont

été mesurés en utilisant la spectroscopie UV-Visible à des longueurs d'ondes de 232 et 270 nm, respectivement.

7. Etude de l'activité antibactérienne des extraits de *P. lentiscus*

7.1. Souches bactériennes

Les bactéries expérimentées pour tester l'activité antibactérienne des extraits de *P. lentiscus*, ainsi que leurs références sont résumées dans le tableau VI.

Tableau VI : Souches bactériennes testées.

Souches	Références	Gram
<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 6314	Positif
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC 6633	Négatif
<i>Escherichia coli</i>	ATCC 29522	Négatif

7.2. Revivification des souches

Les souches bactériennes ont été cultivées sur des boîtes de Pétri contenant de la gélose Muller Hinton (MH) suivie d'une incubation de 24h à 37°C, afin d'avoir une culture jeune et fraîche.

7.3 Préparation de la suspension bactérienne (inoculum)

Quelques colonies de souche cible ont été prélevées à partir des boîtes précédemment incubées, puis ces colonies ont été diluées dans un tube à essai contenant 4 ml d'eau physiologique stériles. Après homogénéisation par vortex. L'absorbance de la suspension bactérienne préparée a été lue à une longueur d'onde de 625 nm par un spectrophotomètres UV, soit une DO de [0.08 à 0.10], ce qui correspond à $1-2 \times 10^8$ UFC/ml (Yala et al., 2016).

7.4. Tests antibactériens

A. Test de diffusion sur milieu solide

Des disques en papier stériles de 9mm de diamètres ont été déposés sur un milieu gélosé MH, préalablement ensemencé par écouvillonnage. Par la suite, un volume de 30µl d'extraits [extrait éthanolique des graines noires (EGN) ou extrait éthanolique des graines rouges (EGR)], de l'huile ou de l'huile enrichie avec l'extrait des graines rouges ou noires (HGR, HGN), ou de DMSO 40% (contrôle négatif), ou de l'antibiotique de référence Augmentin 30 ug (contrôle positif) ont été déposés sur chaque disque. Les boîtes de Pétrie ont été incubées 2h à 4°C puis à 37°C pendant 24h. L'activité antibactérienne est obtenue en mesurant le diamètre des zones d'inhibitions autour des disques. Selon Bakli et al.,(2020), les résultats sont exprimés selon la sensibilité des souches vis-

à-vis des substances testées : extrêmement sensible : $\varnothing \geq 20$ mm; très sensible : ($15 < \varnothing < 19$ mm); sensible : ($09 < \varnothing < 14$ mm); résistante : ($\varnothing \leq 08$ mm).

B. Test de micro-dilution sur milieu liquide

Des dilutions en série ont été effectuées, pour avoir des concentrations de (100 mg/ml, 50 mg/ml, 25 mg/ml, 12,5 mg/ml ; 6,25 mg/ml, 3,125 mg/ml). Dans chaque puits, 100 μ l du bouillon MH ont été mélangé avec 50 μ l de l'extrait. Un blanc et un contrôle positif ont été préparés en parallèle, composé de 100 μ l de MH additionné de, soit de 100 μ l d'eau physiologique, pour le premier ou bien du 100 μ l du réactif dont il est dissout l'extrait, pour le deuxième. Enfin, 50 μ l de la suspension bactérienne ont été ajoutées au puits, excepté ceux du blanc. Les microplaques ainsi préparées ont été incubées à 37°C pendant 24 h. Les pourcentages d'inhibition de la croissance bactérienne ont été calculé selon l'équation suivante (**Kowalska et al., 2021**) :

$$\% \text{ d'inhibition} = \frac{(\text{Abs contrôle} - (\text{Abs échantillon} - \text{Abs du blanc}))}{\text{Abs contrôle}} \times 100$$

Les IC₅₀ ont été calculés en milligramme par millilitre (mg/ml) on se basant sur les résultats obtenus .

8. Analyse statistique

Les résultats des tests effectués ont été exprimés moyenne \pm SD. La comparaison statistique des résultats a été effectuée en utilisant le Graph Pad Prism software version 5.03 et les différences sont considérées comme significative à *P < 0.05, **P < 0.01, ***P < 0.001, grâce à l'analyse de variance (ANOVA) suivi du test de Dunnett.

Chapitre III

RESULTATS ET DISCUSSIONS

Résultats et discussion

1. Rendement d'extraction

Le rendement inclut la masse d'extrait, déterminée après évaporation du solvant, et exprimée en pourcentage par rapport à la masse initiale de la plante soumise à l'extraction. Les rendements d'extraction de l'huile des graines noires, extraite par Soxhlet et des extraits éthanoliques des graines noires ou rouges, extraites par ultrason, ont été calculés et mentionnés dans le **tableau VII**.

Tableau VII : les rendements de l'huile végétale et des l'extraits éthanoliques obtenus à partir des fruits de *P. lentiscus*.

Extrait	Rendement
Huile végétale	44,37%
Extrait éthanoliques	
Graines rouges (GR)	74,24%
Graines noires (GN)	45,66%

Le rendement de l'huile de *P.lentiscus* récoltées dans la région d'Amizour Bejaia est de 44,37%. Cette valeur est supérieure à celle de **Boukaloua et al. (2012)** qui est de 20,25 % issue de la zone d'Elharrouche la wilaya de Skikda .Cette valeur est proche a des rendements de huiles des fruits d'autres espèces de *P. lentiscus* qui varie entre 41,2% et 45% **Belyagoubi et al. (2018)**. En effet, dans cette étude nous avons effectué une extraction par Soxhlet en utilisant l'hexane comme solvant. Cette méthode peut extraire efficacement l'huile de diverses matières végétales en maintenant le contact direct entre les matériaux (**Fachrina et al., 2023**). Selon **Guenther (1987)**, l'hexane se distingue comme le type de solvant le plus léger. En effet, ce solvant est capable d'extraire l'huile présente dans les grains par rapport à d'autres solvants organiques.

Les résultats mentionnés dans le **tableau VII**, montrent que le rendement d'extrait éthanolique des grains rouges est plus élevé, à savoir 74,24%, par rapport à celui des grains noires, qui est de 45,66%. Ces résultats sont similaires à ceux trouvés par **Gardeli et al. (2008)**, qui ont obtenu un rendement de 45,2%. Par comparaison, les valeurs obtenues sont supérieures à celles de **Barbouchi et al. (2020)** ($43,18 \pm 0,09$) et **Remila et al. (2015)** (3,07%), sachant que ce dernier a utilisé le même solvant d'extraction sur les feuilles de la même espèce. Le rendement élevé des graines rouges s'explique par la forte présence de flavonoïdes à ce stade de maturation,

comme l'a démontré **Aissat et al. (2022)**. En effet, l'influence de divers facteurs biotique et abiotique qui sont liée à l'environnement comme les conditions de sol, ou au processus d'extraction comme le stade de la maturité de fruits et la période de récolte, peuvent aussi influencer le rendement de l'extraction (**Chemani 2023**). La méthode d'extraction assistée par ultrasons se distingue par sa simplicité et son coût d'équipement abordable. Elle a été employée pour extraire des composants végétaux afin de réduire le temps nécessaire à l'extraction, de minimiser l'usage des solvants et d'optimiser les rendements d'extraction (**Carrera et al., 2012**). Dans cette étude, nous avons opté pour cette méthode en utilisant l'éthanol comme solvant. Cette sélection résulte de sa réputation en tant qu'alternative efficace, économique et moins toxique en comparaison à d'autres solvants organiques (**Dahmoune et al., 2014**).

2. Teneurs en phénols totaux et en flavonoïdes

Les résultats du dosage des phénols totaux et des flavonoïdes de l'huile des graines noires de *P. lentiscus* et les extraits éthanoliques des graines rouges et graines noires de la même plante, sont représentés dans le **tableau VIII**.

Tableau VIII : Résultats du dosage des flavonoïdes et des phénols totaux.

Extrait	Flavonoïdes (mg EQ/g ES)	Phénols totaux (mg EAG/g ES)
Huile	0,129 ± 0,05	0,382 ± 0,06
Graines rouges	79,76 ± 0,08***	120,30 ± 0,45***
Graines noires	40,09 ± 0,05***	324,91 ± 2,02***

Les résultats sont exprimés en moyenne \pm SD et les valeurs sont significativement différentes à *P < 0.05, **P < 0.01, et ***P < 0.001. La comparaison a été faite par rapport à l'huile.

La teneur en PPT de l'huile de *P. lentiscus*, trouvées dans cette étude, est de $0,382 \pm 0,06$ mg EAG/g MS. Cette valeur est significativement inférieure à celle des extraits éthanoliques des graines rouges ($120,30 \pm 0,45$) et des graines noires ($324,91 \pm 2,02$). En effet, il a été rapporté par **Barbouchi et al. (2020)** que la teneur en PPT ($36,4 \pm 192$ mg AG/g) de l'huile végétale de *P. lentiscus* est supérieure à celle retrouvée dans cette étude. De plus, **Bouyahia et al. (2017)** ont annoncé une valeur de PTT de $122,7$ mg AG/g de l'huile végétale de *P. lentiscus* du Maroc. Tandis que pour l'extrait éthanolique des graines noires, la valeur des PTT, révélées dans cette étude, est supérieure à celle trouvée par **Barbouchi et al. (2018)** ainsi que **Selmi et al. (2020)**, qui sont de $150,12 \pm 0,81$ mg EG/mg MS et $161,18 \pm 6,11$ mg EQ/mg MS, respectivement.

La teneur en flavonoïdes de l'huile de *P.lentiscus* représentée dans le **tableau VIII**, est de $0,129 \pm 0,05$ mg EQ/g. Cette valeur reste inférieure à celle trouvée par **Barbouchi et al. (2020)** qui est de 18,4 mg EQ/g ainsi que celle de **Yosr et al. (2018)** qui est de 47,5 mg EQ/g. Alors que, pour les extraits éthanoliques, une valeur de $40,09 \pm 0,05$ mg EQ/g pour l'extrait des graines noires et de $79,76 \pm 0,08$ mg EQ/g pour l'extrait des graines rouges a été enregistrée. Cette valeur est supérieure à celle trouvée par **Remila et al. (2015)** ($6,28 \pm 1,04$ mg EQ/g), ainsi à celle de **Elloumi et al. (2022)** qui est de $3,52 \pm 1,00$ mg EQ/g. Néanmoins cette valeur est inférieure à celle de l'extrait méthanolique des feuilles de *P. lentiscus* de **Yosr et al. (2018)** et qui est de $47,5 \pm 1,1$ mg EQ/g.

3. Composition chimiques en acide gras de l'huile

La composition en acide gras d'huile de fruits de *P. lentiscus* obtenue par la chromatographie en phase gazeuse (CPG), est présentée dans le **tableau VIII**.

Tableau VIII : les principaux acides gras de l'huile végétale de *P.lentiscus*.

Acide gras	Quantité (%)
C4 :0 Acide butyrique	$0,07 \pm 0,00$
C6 :0 Acide caproïque	$0,52 \pm 0,00$
C14 :0 Acide myristique	$0,06 \pm 0,00$
C15 :1 Acide pentadécylique	$1,71 \pm 0,00$
C16 :0 Acide palmitique	$21,12 \pm 0,01$ ***
C16 :1 Acide palmitoléique	$0,06 \pm 0,00$
C17 :0 Acide margarique	$0,10 \pm 0,00$
C17 :1 Acide heptadécanoïque	$1,58 \pm 0,00$
C18 : 1 (trans) Acide oléique	$2,12 \pm 0,00$
C18 : 1 (cis) Acide oléique	$47,37 \pm 0,02$ ***
C18 : 2 Acide linoléique	$24,22 \pm 0,04$ ***

C18 :3 Acide linoléique	0,60±0,00
C20 :0 Acide arachidique	0,20±0,00
C20 : 2 Acide eicosadiénoïque	0,10±0,00
C20 :4 Acide arachidonique	0,10±0,00

Les résultats sont exprimés en moyenne \pm SD et les valeurs sont significativement différentes à *P < 0.05, **P < 0.01, et ***P < 0.001.

L'analyse chromatographique de l'huile végétale de *P. lentiscus* étudiée a révélé une prédominance d'acides gras insaturés, principalement l'acide oléique (**C18:1**) avec une teneur de 47,37 \pm 0,02 %, suivi par l'acide linoléique (**C18:2**) à 24,22 \pm 0,04 %. Tandis que, pour les acides gras saturés, l'acide palmitique (**C16:0**) demeure le plus présent dans l'huile végétale de notre plante, avec un pourcentage de 21,12 \pm 0,01. En outre, les acides gras à chaîne courte et longue tels que C4:0, C6:0, C14:0, C15:1, C16:1, C17:0, C17:1, C18:3, C20:0, C20:2, C20:4 étaient présents en quantités mineures, variant de 0,07 \pm 0,00 % à 2,12 \pm 0,00%. Ces résultats sont en accord avec ceux rapportés précédemment pour l'huile végétale de *P. lentiscus* par **Dhifi et al. (2013)**, **Mezni et al. (2014)** ainsi que **Chaabani et al. (2019)**.

4. Analyse physicochimique

4.1. Indice de peroxyde

L'indice de peroxyde (IP) est un marqueur de qualité et de stabilité des huiles et graisses (**Zahir et al., 2017**). Les résultats d'IP de l'huile de lentisque, extraite dans cette étude, ainsi que de l'huile enrichie avec les extraits éthanoliques ou de α -tocophérol, avant pendant, et après stockage, sont représentés dans le **Tableau X**.

En effet, dans cette étude, une valeur d'IP de 7,5 \pm 0 meq/ Kg a été enregistrée pour l'extrait de l'huile de *P.lentiscus*. Cette valeur est proche de celle de **Khedir et al. (2018)**, qui est de 7,2 \pm 0 meq/Kg, néanmoins elle est inférieure à celle de **Kenji (2001)** et qui est de 10 \pm 0,04 meq/ Kg.

Tableau X : Indice de peroxyde de l'huile de lentisque, de l'huile enrichie avec les extraits éthanoliques ou de α -tocophérol, au cours de stockage. Les résultats sont exprimés en meq/ Kg.

Jours	Huile+ polyphénols			Huile + α -tocophérol
	Huile	GR	GN	
J0	7,5 \pm 0,00	6,25 \pm 0,00	6,5 \pm 0,00	7,75 \pm 0,00
J7	6,75 \pm 1,06	6,87 \pm 0,5	6,25 \pm 1,06	7,25 \pm 0,35
J15	9 \pm 1,41	6,62 \pm 0,53 [#]	7,50 \pm 0,70	7,25 \pm 1,06
J21	11 \pm 1,41**	6,12 \pm 0,17 ^{###}	8,37 \pm 0,17 ^{***#}	6,37 \pm 0,17 ^{###}
J30	20 \pm 0,1 ***	6 \pm 0,01 ^{###}	8,25 \pm 0,02 ^{###}	12 \pm 0,01 ^{#####}

*(comparaison des IP des différents extraits en fonction du temps (J0)). # (comparaison des IP des différents extraits en fonction de l'enrichissement). Les résultats sont exprimés en moyenne \pm SD et les valeurs sont significativement différentes à *P < 0,05, **P < 0,01, et ***P < 0,001. la comparaison a été faite par rapport à l'huile.

Les résultats exprimés dans le tableau X, ont montré une augmentation non significative d'IP de l'huile de lentisque du J0 (7,5 \pm 0,00 meq/ Kg) jusqu'à J15 (9 \pm 1,41 meq/ Kg), puis et à partir du J21, cet indice augmente significativement jusqu'à une valeur de (20 \pm 0,00 meq/ Kg). Par ailleurs, et en fonction de l'enrichissement, l'huile enrichie à 1 ppm d'extrait éthanolique des fruits de *P. Lentiscus* a montré une diminution d'IP par rapport à l'huile vierge. Cette diminution, très hautement significative à partir de J21, est comparable à celle de l'huile enrichie par l'antioxydant synthétique, ce qui indique une réduction de l'oxydation lipidique. En effet, Cette amélioration est attribuée à la réduction de la formation d'hydroperoxydes lipidiques et de diènes et triènes conjugués, comme c'est rapporté par **Bouaziz et al. (2008)**. Ces dernier ont utilisé l'extrait méthanolique des feuilles d'olivier dont l'indice de peroxyde des contrôles de l'huiles d'olive et de coque varie respectivement de 16 et 14 meq/ Kg à 828 et 875 meq/kg. En revanche, les valeurs d'IP de l'huile enrichie par 1 ppm d' α -tocophérol sont moins oxydées à celles de l'huile témoin. Cela met en évidence l'influence du temps de stockage sur l'oxydation de l'huile. D'après nos résultats on constate que les α -tocophérols apparaissent donc comme des antioxydants moins efficaces que les polyphénols cela confirme que les antioxydants naturels sont meilleurs pour la stabilité d'huile.

4.2. Indice d'acidité

L'acidité régule la dégradation hydrolytique, enzymatique ou chimique des chaînes d'acide gras des triglycérides (Abaza, 2002). Les résultats d'IA de l'huile de lentisque, de l'huile enrichie avec les extraits éthanoliques ou de α -tocophérol, au cours de stockage, sont représentés dans le **Tableau XI**. Ces résultats ont dévoilé une valeur d'IA de $2,11 \pm 0,00\%$. En effet, il a été rapporté que l'huile des fruits de *P. lentiscus* Marocaine a une forte acidité de 4%.

Tableau XI : Indice d'acidité de l'huile de lentisque, de l'huile enrichie avec les extraits éthanoliques ou de α -tocophérol, au cours de stockage. Les résultats sont exprimés en %.

Jours	Huile	Huile+ polyphénols		Huile + α -tocophérol
		GR	GN	
J0	$2,11 \pm 0,00$	$2,25 \pm 0,00$	$1,41 \pm 0,01$	$2,25 \pm 0,00$
J7	$3,45 \pm 0,07$	$2,25 \pm 0,19$	$2,95 \pm 0,40$	$3,17 \pm 0,29$
J15	$3,52 \pm 0,00$	$2,32 \pm 0,09$	$2,59 \pm 0,32$	$3,53 \pm 0,41$
J21	$3,59 \pm 0,09$	$2,70 \pm 0,04$	$2,85 \pm 0,04$	$3,31 \pm 0,09$
J30	$3,17 \pm 0,03$	$2,67 \pm 0,00$	$2,96 \pm 0,19$	$3,55 \pm 0,14$

D'après les résultats mentionnés dans le tableau XI, il n'a été constaté aucune augmentation significative de l'IA des différents échantillons, ni en fonction du temps de stockage ni en fonction de l'enrichissement. De plus, l'huile enrichie avec les polyphénols présente une faible acidité par rapport à celle de α -tocophérol qui est très proche à celle de l'huile témoin. Par comparaison, et dans une étude similaire de l'enrichissement de l'huile de lentisque par les polyphénols des feuilles de lentisque, une faible acidité a été noté dans l'huile enrichie par rapport à celle non enrichie **Salhi et al. (2019)**. Ces résultats suggèrent un effet protecteur des polyphénols naturels contre la dégradation des chaînes d'acides gras durant le stockage.

4.3. Coefficient d'extinction 232 nm et 270nm

Les indices d'extinction spécifiques (ES) à 232 nm et à 270 nm, sont des paramètres utilisés pour estimer la pureté d'une huile végétale (**Ögütçü et al., 2008**). Les résultats d'ES K232 de notre étude sont illustrés dans le **Tableau XII**. En effet, la moyenne d'ES de K232 obtenue dans cette étude, pour l'huile des fruits de *P. lentiscus*, étaient de $1,03 \pm 0,01$. Cette dernière dépasse celle rapportée par **Brahmi et al. (2020)** qui étaient de $0,039 \pm 0,01$. Cependant, nos

résultats sont inférieurs à ceux rapportés par **Atifi et al. (2017)**, pour le K232 de l'huile extraite à partir de fruits d'*Argania spinosa L.* et qui est de $1,20 \pm 0,04$.

Tableau XII: Extinction spécifique K232 de l'huile de lentisque, de l'huile enrichie avec les extraits éthanoliques ou de α -tocophérol, au cours de stockage.

Huile+ polyphénols				
Jours	Huile	GR	GN	Huile + α -tocophérol
J0	$1,03 \pm 0,01$	$0,60 \pm 0,00^{***}$	$0,60 \pm 0,02^{***}$	$0,58 \pm 0,00^{***}$
J7	$0,24 \pm 0,09$	$0,35 \pm 0,04$	$0,36 \pm 0,24$	$0,33 \pm 0,18$
J15	$0,40 \pm 0,04$	$0,43 \pm 0,01$	$0,53 \pm 0,08$	$0,44 \pm 0,04$
J21	$0,30 \pm 0,04$	$0,32 \pm 0,06$	$0,27 \pm 0,008$	$0,38 \pm 0,007$
J30	$0,40 \pm 0,04$	$0,4 \pm 0,06$	$0,39 \pm 0,09$	$0,39 \pm 0,10$

*(comparaison des IP des différents extraits en fonction de l'enrichissement). Les résultats sont exprimés en moyenne \pm SD et les valeurs sont significativement différentes à *P < 0.05, **P < 0.01, et ***P < 0.001. La comparaison a été faite par rapport à l'huile.

D'après les résultats exposées dans le tableau XII, on remarque une diminution non significative des valeurs de l'indice d'ES de K232 de l'huile, durant les 30 jours de stockage, de $1,03 \pm 0$ à $0,40 \pm 0,04$, pareille pour les huiles enrichies à une concentration de 1 ppm de α -tocophérol ($0,58 \pm 0,00$ à $0,39 \pm 0,10$), de l'extrait éthanolique des fruits rouges de *P.lentiscus* ($0,60 \pm 0$ à $0,4 \pm 0,06$) et de l'extrait éthanolique des graines noires ($0,60 \pm 0,00$ à $0,39 \pm 0,09$). Les résultats de l'ES K270, des extraits analysés dans cette étude, au cours d'un stockage de 30 jours, sont représentés dans le **Tableau XIII**. La valeur de l'indice d'ES K270 de l'huile enregistrée est de $4,29 \pm 0,01$. Cette valeur est supérieure à celle trouvée par **Brahmi et al. (2020)** ($0,133 \pm 0,00$).

Tableau XIII : Extinction spécifique K270 de l'huile de lentisque, de l'huile enrichie avec les extraits éthanoliques ou de α -tocophérol, au cours de stockage.

Jours	Huile+ polyphénols			Huile + α -tocophérol
	Huile	GR	GN	
J0	4,29 \pm 0,01	4,65 \pm 0,006	4,09 \pm 0,01	3,90 \pm 0,00
J7	3,62 \pm 0,06	3,91 \pm 0,08	3,70 \pm 0,042	3,90 \pm 0,027
J15	3,92 \pm 0,26	4,00 \pm 0,11	4,04 \pm 0,23	4,03 \pm 0,046
J21	3,54 \pm 0,08	3,68 \pm 0,06	3,58 \pm 0,027	3,83 \pm 0,10
J30	3,49 \pm 0,13	3,61 \pm 0,02	3,75 \pm 0,006	4,01 \pm 0,51

D'après les données du tableau XIII, on remarque une diminution non significative des valeurs de K270 pour l'huile témoin, passant d'une valeur initiale de $4,29 \pm 0,01$ à une valeur finale de $3,49 \pm 0,13$. Cette tendance est également observée pour l'huile enrichie par 1 ppm d'extrait de fruits *P. lentiscus*, qui varie de $4,65 \pm 0$ à $3,61 \pm 0,02$, pour les graines rouges, et de $4,09 \pm 0$ à $3,75 \pm 0,06$ pour les graines noires. En revanche, une légère augmentation est constatée pour l'huile enrichie par 1 ppm d' α -tocophérols, passant de $3,90 \pm 0$ à $4,01 \pm 0,51$.

D'après **Gharby et al., (2014)**, plus le K270 est élevé, plus l'huile est riche en produits secondaires d'oxydation. Ainsi, les résultats obtenus dans cette étude confirment cette hypothèse. En outre, le taux de formation des produits secondaires d'oxydation n'a pas significativement changé entre l'huile témoin et l'huile enrichie en α -tocophérols, mais a diminué par rapport à l'huile enrichie par les extraits (GN ou GR). Ceci suggère que les extraits de fruits de *P. lentiscus* (GN ou GR) enrichissent l'huile en composés antioxydants efficaces, ce qui pourrait entraîner une réduction du K270, indiquant une meilleure stabilité oxydative, de manière plus marquée que l'ajout d' α -tocophérols à la même concentration.

Nous pouvons conclure que les résultats des teneurs en polyphénols totaux et en flavonoïdes, existantes dans les extraits de *P. lentiscus*, ainsi que les résultats des paramètres physico-chimiques renforcent l'idée que les polyphénols naturels peuvent protéger les huiles végétale contre l'oxydation. En effet, il a été prouvé que les flavonoïdes sont d'excellents antioxydants par plusieurs méthodes *in vivo* et *in vitro*, et que leur pouvoir a été attribué à leur capacité de réduire la formation et / ou de piéger les radicaux libres (**Pietta, 2000 ; Atmani et al., 2009**).

5. Activité antibactérienne

5.1. Effet antibactérien des extraits de *P. lentiscus* sur milieu solide

Face à la problématique de la résistance croissante des bactéries aux antibiotiques synthétiques, plusieurs études ont exploré les propriétés antibactériennes alternatives. Dans notre recherche, nous avons évalué l'efficacité antibactérienne de l'huile de lentisque, des extraits éthanoliques, ainsi que de l'huile enrichie en composés phénoliques (GR et GN) sur trois souches bactériennes : *E. coli*, *P. aeruginosa* et *S. aureus*. L'évaluation de cette efficacité a été faite en mesurant le diamètre des zones d'inhibition représenté dans le **tableau XIV et la figure (6)**.

Tableau XIV : diamètre des zones d'inhibition en mm.

Diamètre d'inhibition (mm)			
Extrait	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>	<i>P. aeruginosa</i>
Huile	0	0	0
Graines noires	10,8±0,06	12,3±0,05	10,4±0,03
Graines rouges	10,4±0,01	11,1±0,02	11,8±0,07
HEGN	09,6±0,01	0	09,6±0,01
HEGR	09,5±0,00	12,1±0,02	09,7±0,05
Augmentin	13,8±0,03	0	0
DMSO 40%	0	0	0

HEGN : Huile enrichie par l'extrait éthanolique des graine noires, **HEGR** : Huile enrichie par l'extrait éthanolique des graine rouges.

Les données du tableau XIII montrent que l'huile de *P. lentiscus* n'a aucun effet inhibiteur sur la croissance bactérienne des souches testées (*E.coli*, *S.aureus*, *P. aeruginosa*), de même que le contrôle négatif (DMSO 40%), qui n'a montré aucun diamètre d'inhibition. En ce qui concerne l'antibiotique Augmentin, cet antibiotique a présenté un effet inhibiteur sur *S. aureus* avec un diamètre d'inhibition de $13,8 \pm 0,03$ mm, mais il n'a montré aucun effet sur les deux autres souches *E. coli* et *P. aeruginosa*.

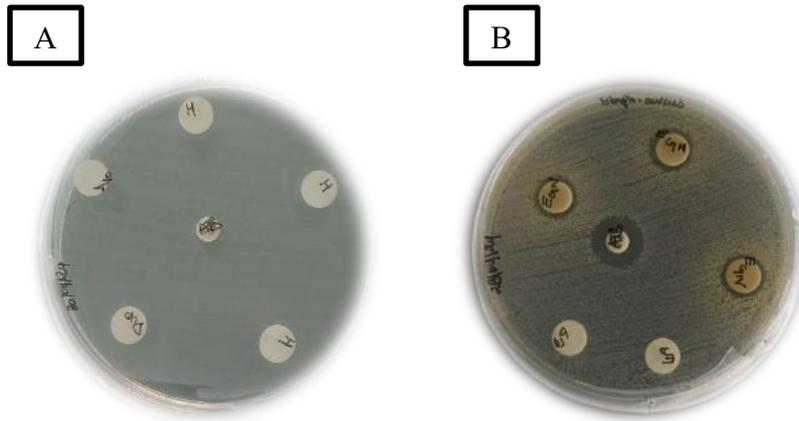


Figure 6: Activité antibactérienne de l'huile des graines noires (A), et de l'extrait éthanolique des graines noires (B) de *P. lentiscus* contre *E. coli* et *S.aureus*, respectivement.

En revanche, les extraits éthanoliques ont démontré un effet inhibiteur sur les souches testés. Concernant l'extrait des graines noires, le diamètre le plus élevé est celui contre *E. coli* ($12,3 \pm 0,05$ mm), suivi par celui de *S. aureus* avec $10,8 \pm 0,06$ mm, et enfin *P. aeruginosa* avec $10,4 \pm 0,03$ mm. Alors que pour l'extrait des graines rouges, l'effet inhibiteur le plus marqué est observé contre *P. aeruginosa* avec $11,8 \pm 0,07$ mm, suivi de *E. coli* avec $11,1 \pm 0,02$ mm et enfin *S. aureus* avec $10,4 \pm 0,06$ mm.

L'huile enrichie par l'extrait éthanolique des graines noires a montré un diamètre d'inhibition similaire pour *S. aureus* et *P. aeruginosa* ($09,6 \pm 0,01$ mm), tandis que pour l'huile enrichie par l'extrait des graines rouges, un effet inhibiteur élevé est observé chez *E. coli* avec $12,1 \pm 0,02$ mm, comparé à *S. aureus* et *P. aeruginosa* avec $09,7 \pm 0,05$ mm et $09,5 \pm 0,01$ mm, respectivement.

Concernant *P.aeruginosa*, et d'après les résultats mentionnés dans le tableau XIII, on remarque que l'extrait éthanolique (GR ou GN) à un effet inhibiteur d'un diamètre qui varie entre $10,4 \pm 0,03$ mm et $11,8 \pm 0,78$ mm et qui est supérieur à la valeur notée par **Al-zaben et al. (2023)** de $08 \pm 0,3$ mm, et inférieur à celle exposée par **Alhadad et al. (2022)** de $15,3 \pm 0,57$ mm pour l'extrait méthanolique des feuilles de *P. lentiscus*.

De plus, dans cette étude, l'extrait éthanolique (GR ou GN) a donné un effet inhibiteur contre *E. coli* dont le diamètre variait entre ($11,1 \pm 0,02$ mm ; $12,3 \pm 0,05$ mm), ce qui est inférieur à celui rapporté par **Noushin et al. (2016)** de 17 mm, et supérieur à celui trouvé par **Bammou et al. (2015)** qui n'a constaté l'apparition d'aucune zone d'inhibition ainsi que pour **Missoun et al. (2017)** qui a trouvé un diamètre de $05 \pm 0,02$ mm.

En fin, l'effet inhibiteur d'extrait éthanolique (GR ou GN) sur *S. aureus* a été observé avec des diamètres variant entre $10,4 \pm 0,01$ mm et $10,8 \pm 0,06$ mm, ce qui est inférieur à celui rapporté par **Missoun et al. (2017)** avec $18 \pm 0,07$ mm, mais similaire à celui de **Al-zaben et al. (2023)** avec un diamètre de $10 \pm 0,06$ mm. En revanche, il est supérieur à celui trouvé par **Bammou et al. (2015)** et **Tahiri et al. (2016)**, avec des diamètres de $08,6 \pm 0$ mm et $08,7 \pm 0$ mm, respectivement.

Nos résultats indiquent que toutes les souches utilisées sont sensibles aux divers extraits étudiés ($09 < \emptyset < 14$ mm). Plusieurs études ont mis en évidence l'effet antibactérien des extraits des différentes parties de *P. lentiscus* (**Debbabi et al., 2017**), et cette effet varie selon les bactéries et les extraits utilisés (**Ponce et al., 2003**). Cependant, nos résultats montrent que l'huile végétale de *P. lentiscus* n'a eu aucun effet sur les bactéries étudiées. Cette absence d'effet pourrait être expliquée par la faible solubilité de l'huile végétale dans la gélose (**kim et al., 1995**). En revanche, les extraits se sont révélés plus efficaces que l'huile. L'activité antibactérienne des polyphénols est bien documentée depuis longtemps, avec des études soulignant que cette activité dépend de la nature et de la structure des composés phénoliques (**Wen et al., 2003**). Les groupes hydroxyles des composés phénoliques leur permettent de se lier aux protéines des membranes bactériennes pour former des complexes inhibiteurs. De nombreuses recherches ont également démontré l'activité antibactérienne d'extraits de plantes provenant de différentes parties comme les feuilles, les graines et les fleurs (**Al-zaben et al., 2023**). Ces composés végétaux antimicrobiens agissent en inhibant divers processus bactériens, tels que la synthèse de la paroi cellulaire, la destruction de la membrane, l'inhibition de la synthèse d'acides nucléiques, la motilité bactérienne, la chaîne respiratoire, la synthèse d'ATP, ainsi que la formation de toxines et de biofilms. Ils agissent également en inhibant les enzymes liées à la virulence bactérienne, les pompes à efflux et l'adhésion bactérienne (**farha et al., 2020 ; Biharee et al., 2020**).

5.2. Effet antibactérien des extraits de *P. lentiscus* sur milieu liquide (IC₅₀)

La détermination de l'IC₅₀, est importante pour évaluer l'efficacité des extraits. Les résultats de l'IC₅₀ des extraits de *P. lentiscus* vis-à-vis des souches bactériennes testées sont présentés dans le **tableau XV**.

Tableau XV : valeurs de l'IC₅₀ des extraits de *P.lentiscus*. Résultats exprimés en mg/ml.

Extrait	<i>E.coli</i>	<i>S. aureus</i>	<i>P. aeruginosa</i>
Graine noires	9,35	65,81	57,23
Graines rouges	3,25	40,01	60,06
HEGN	/	19,13	54,91
HEGR	84,12	76,38	10,2

HEGN : Huile enrichie par l'extrait éthanolique des graine noires, **HEGR** : Huile enrichie par l'extrait éthanolique des graine rouges

D'après les résultats du tableau XV, la meilleure IC₅₀ (3,25 mg/ml) enregistrée est celle de l'extrait éthanolique des graines rouges contre *E. coli*, suivi par celle de l'extrait éthanolique des graines noires (9,35 mg/ml) contre la même souche, puis celle de l'huile enrichie par l'extrait éthanolique des graines rouges (10,2) vis à vis de *P. aerogenosa*. L'extrait le moins efficace avec une IC₅₀ la plus élevée (84,12 mg/ml) contre *E.coli*, est l'huile enrichie par l'extrait éthanolique des graines rouges.

La comparaison des résultats de l'analyse qualitative (diamètres d'inhibition sur milieu solide) et l'analyse quantitative (IC₅₀) de l'activité antibactérienne des extraits de *P. lentiscus*, a renforcé l'idée que les souches présentant les plus grandes zone d'inhibition ne sont pas toujours ceux qui présentent les valeurs d'IC₅₀ les plus basses. Ces observations suggèrent que la taille de la zone d'inhibition ne reflète pas nécessairement l'efficacité réelle d'un composé antibactérien. Des valeurs d'IC₅₀ élevées ne signifient pas que tous les extraits testés sont inactifs (Mezni et al., 2014).

CONCLUSION

L'oxydation des acides gras présents dans les huiles provoque des problèmes de santé chez l'être humain ; c'est pourquoi nos travaux sont consacrés à l'étude de l'enrichissement de l'huile végétale de *P. lentiscus* en antioxydants naturels afin de maintenir et d'améliorer sa qualité.

Dans cette étude, deux méthodes d'extraction ont été utilisées. La première méthode consiste à extraire l'huile végétale des fruits de *P. lentiscus* en utilisant le Soxhlet. La seconde méthode a permis l'extraction des composés phénoliques de ces fruits à l'aide d'ultrasons. Ensuite, les quantités de phénols totaux et de flavonoïdes ont été dosées, démontrant une concentration élevée en polyphénols et en flavonoïdes dans les extraits éthanoliques de lentisque. De plus, l'analyse phytochimique par chromatographie en phase gazeuse a révélé une richesse de l'huile végétale des graines noires de *P. lentiscus* en acides gras oléique, linoléique et palmitique.

Dans cette étude, la stabilité oxydative de l'huile de lentisque enrichie ou non par les polyphénols pendant une période de 30 jours de stockage a été aussi réalisée. Les résultats des indices de qualité (IP, IA, ES 232 et 270) ont montré que l'huile de lentisque enrichie en polyphénols présentait une meilleure résistance à l'oxydation que l'huile non enrichie. Les polyphénols naturels ont exhibé une capacité antioxydante remarquable par rapport aux antioxydants synthétiques (α -tocophérols).

Enfin, l'activité antibactérienne des extraits obtenus a été évaluée contre les bactéries *E. coli*, *S. aureus* et *P. aeruginosa* selon deux méthodes : diffusion sur milieu solide et microdilution sur milieu liquide. Les composés actifs présents ont montré une activité antibactérienne remarquable. L'extrait éthanolique des graines noires a représenté l'effet inhibiteur le plus efficace avec une zone d'inhibition de $1,23 \pm 0,05$ cm et une valeur d'IC₅₀ de 9,35 mg/ml contre *E. coli*.

Dans les perspectives de notre étude, nous visons à encourager d'autres étudiants à poursuivre nos travaux afin d'améliorer l'évaluation de la qualité des huiles enrichies de lentisque, en fixant comme perspectives :

- Élargir la diversité des échantillons en enrichissant l'huile de *P. lentiscus* à différentes concentrations.
- Enrichir d'autres types d'huiles avec les polyphénols des graines de *P. lentiscus*.
- Etudier d'autres activités biologiques, *in vivo* et *in vitro*, des extraits enrichis.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Références bibliographiques

Références bibliographiques

1. **Abaza, L., Msallem, M., Daoud, D., & Zarrouk, M. (2002).** Caractérisation des huiles de sept variétés d'olivier tunisiennes. *Oléagineux, Corps Gras, Lipides*, 9(2), 174–179.
2. **Achat, S., Tomao, V., Madani, K., Chibane, M., Elmaataoui, M., Dangles, O., & Chemat, F. (2012).** Direct enrichment of olive oil in oleuropein by ultrasound-assisted maceration at laboratory and pilot plant scale. *Ultrasonics Sonochemistry*, 19(4), 777–786.
3. **Afnan, Saleem, A., Akhtar, M. F., Sharif, A., Akhtar, B., Siddique, R., Ashraf, G. M., Alghamdi, B. S., & Alharthy, S. A. (2022).** Anticancer, cardio-protective and anti-inflammatory potential of natural-sources-derived phenolic acids. *Molecules*, 27(21), 7286.
4. **Aissat, A. K., Chaher-Bazizi, N., Richard, T., Kilani-Atmani, D., Pedrot, E., Renouf, E., Atmani, D., & Valls Fonayet, J. (2022).** Analysis of individual anthocyanins, flavanols, flavonols and other polyphenols in *Pistacia lentiscus L.* fruits during ripening. *Journal of Food Composition and Analysis*, 106, 104286.
5. **Aissi, O., Boussaid, M., & Messaoud, C. (2016).** Essential oil composition in natural populations of *Pistacia lentiscus L.* from Tunisia: Effect of ecological factors and incidence on antioxidant and antiacetylcholinesterase activities. *Industrial Crops and Products*, 91, 56–65.
6. **Ait Said, S., Fernandez, C., Greff, S., Derridj, A., Gauquelin, T., & Mevy, J.-P. (2011).** Inter-population variability of leaf morpho-anatomical and terpenoid patterns of *Pistacia atlantica Desf. ssp. atlantica* growing along an aridity gradient in Algeria. *Flora - Morphology, Distribution, Functional Ecology of Plants*, 206(4), 397–405.
7. **Alhadad, A. O., Salem, G. S., Elmhdwi, M. F., Hussein, S. M., & Elshareef, S. M. (2022).** Assessments of antibacterial and antioxidant properties in the methanolic and aqueous leaf extracts of *Pistacia lentiscus* against different antibiotic resistance pathogenic bacteria. *advances in bioscience and biotechnology*, 13(03), 113–133.
8. **Al-Zaben, M., Zaban, M. A., Naghmouchi, S., Nasser Alsaloom, A., Al-Sugiran, N., & Alrokban, A. (2023).** Comparison of phytochemical composition, antibacterial, and antifungal activities of extracts from three organs of *Pistacia lentiscus* from saudi arabia. *Molecules*, 28(13), 5156.
9. **Amara, N., Benrima, A., Chahira, A., & Houria, B. (2019).** activité antimicrobienne de l'huile essentielle des fruits du pistachier lentisque (*Pistacia lentiscus*)

Références bibliographiques

10. **Amarowicz, R., & Pegg, R. B. (2024).** Condensed tannins—Their content in plant foods, changes during processing, antioxidant and biological activities. In *Advances in Food and Nutrition Research* (pp. 327–398). Elsevier.
11. **Aqeel, M. T. (2019).** Phenolic derivatives with antioxidant and anti-inflammatory activities: an in silico, in vitro and in vivo study. *pakistan veterinary journal*, 39(04), 598–602.
12. **Atifi, H., Bouzoubaâ, Z., Gharby, S., & Rachid, M. (2017).** *Fruits maturity effect on the Argan oil amount, quality and chemical composition*. Unknown.
13. **Atmani, D., Chaher, N., Berboucha, M., Ayouni, K., Lounis, H., Boudaoud, H., & Atmani, D. (2009).** Antioxidant capacity and phenol content of selected Algerian medicinal plants. *Food Chemistry*, 112(2), 303-309.
14. **Baer-Dubowska, W., Szaefer, H., Majchrzak-Celińska, A., & Krajka-Kuźniak, V. (2020).** Tannic acid: Specific form of tannins in cancer chemoprevention and therapy-old and new applications. *Current Pharmacology Reports*, 6(2), 28–37.
15. **Bakkalbaşı, E. (2018).** Oxidative stability of enriched walnut oil with phenolic extracts from walnut press-cake under accelerated oxidation conditions and the effect of ultrasound treatment. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 13(1), 43–50.
16. **Bammou, M., Daoudi, A., Slimani, I., Najem, M., Bouiamrine, E., Ibijbijen, J., & Nassiri, L. (2015).** Valorisation du lentisque «*Pistacia lentiscus L.*»: Étude ethnobotanique, Screening phytochimique et pouvoir antibactérien. *Journal of Applied Biosciences*, 86(1), 7966.
17. **Barbouchi, M., Elamrani, K., El Idrissi, M., & Choukrad, M. (2020).** A comparative study on phytochemical screening, quantification of phenolic contents and antioxidant properties of different solvent extracts from various parts of *Pistacia lentiscus L.* *Journal of King Saud University - Science*, 32(1), 302–306.
18. **Barbouchi, M., Elamrani, K., El Idrissi, M., Choukrad, M., 2018.** A comparative study on phytochemical screening, quantification of phenolic contents and antioxidant properties of different solvent extracts from various parts of *Pistacia lentiscus L.* *Journal of King Saud University – S.*
19. **Behl, T., Bungau, S., Kumar, K., Zengin, G., Khan, F., Kumar, A., Kaur, R., Venkatachalam, T., Tit, D. M., Vesa, C. M., Barsan, G., & Mosteanu, D.-E. (2020).**

Références bibliographiques

Pleotropic effects of polyphenols in cardiovascular system. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 130, 110714.

20. BELBAKIA (2021) .Etude expérimentale et modélisation de l'extraction des lipides des matrices végétales thèse de doctorat en génie des procédés université de constantine 3.

21. Beldi, M., Merzougui, H., & Lazli, A. (2021). Etude ethnobotanique du Pistachier lentisque *Pistacia lentiscus L.* dans la wilaya d'El Tarf (Nord-est algérien) - Ethnobotanical study of *Pistacia lentiscus L.* in El Tarf region (Northeastern Algeria). *Ethnobotany Research and Applications*, 21.

22. Belyagoubi-Benhammou, N., Belyagoubi, L., El Zerey-Belaskri, A., Zitouni, A., Ghembaza, N., Benhassaini, H., Atik-Bekkara, F., Piras, A., Falconieri, D., & 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(2), 1408–1412.

23. Biharee, A., Sharma, A., Kumar, A., & Jaitak, V. (2020). Antimicrobial flavonoids as a potential substitute for overcoming antimicrobial resistance. *Fitoterapia*, 146, 104720.

24. Bolland, J. L., & Gee, G. (1946). Kinetic studies in the chemistry of rubber and related materials. III. Thermochemistry and mechanisms of olefin oxidation. *Transactions of the Faraday Society*, 42, 244.

25. Bouaziz, M., Fki, I., Jemai, H., Ayadi, M., & Sayadi, S. (2008). Effect of storage on refined and husk olive oils composition: Stabilization by addition of natural antioxidants from Chemlali olive leaves. *Food Chemistry*, 108(1), 253–262.

26. Boukeloua, A., Belkhiri, A., Djerrou, Z., Bahri, L., Boulebda, N., & Pacha, Y. (2012). Acute toxicity of *Opuntia ficus indica* and *Pistacia lentiscus* seed oils in mice. *African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines*, 9(4).

27. Bouyahya, A., Bakri, Y., Et-Touys, A., Talbaoui, A., Khouchlaa, A., Idrissi, A., Abrini, J., & Dakka, N. (2017). In vitro Screening of Antibacterial and Antioxidant Activities of Essential Oils from Four Moroccan Medicinal Plants. *Microbiology Research Journal International*, 18(4), 1–10.

Références bibliographiques

28. **Bouyahya, A., Dakka, N., Talbaoui, A., El Moussaoui, N., Abrini, J., Bakri, Y., 2018.** Phenolic contents and antiradical capacity of vegetable oil from *Pistacia lentiscus* (L). *J. Mater. Environ. Sci.* 9, 1518–1524.
29. **Brahmi, F., Haddad, S., Bouamara, K., Yalaoui-Guellal, D., Prost-Camus, E., de Barros, J.-P. P., Prost, M., Atanasov, A. G., Madani, K., Boulekbache-Makhlouf, L., & Lizard, G. (2020).** Comparison of chemical composition and biological activities of Algerian seed oils of *Pistacia lentiscus* L., *Opuntia ficus indica* (L.) mill. and *Argania spinosa* L. Skeels. *Industrial Crops and Products*, 151, 112456.
30. **Brännström, H., Kumar, H., & Alén, R. (2018).** Current and potential biofuel production from plant oils. *BioEnergy Research*, 11(3), 592–613.
31. **Bruneton, J. (1999).** Pharmacognosie: Phytochimie, plantes médicinales. Tec & Doc Lavoisier
32. **Câmara, J. S., Locatelli, M., Pereira, J. A. M., Oliveira, H., Arlorio, M., Fernandes, I., Perestrelo, R., Freitas, V., & Bordiga, M. (2022).** Behind the scenes of anthocyanins—from the health benefits to potential applications in food, pharmaceutical and cosmetic fields. *Nutrients*, 14(23), 5133.
33. **Caponio, F., Durante, V., Varva, G., Silletti, R., Previtali, M. A., Viggiani, I., Squeo, G., Summo, C., Pasqualone, A., Gomes, T., & Baiano, A. (2016).** Effect of infusion of spices into the oil vs. combined malaxation of olive paste and spices on quality of naturally flavoured virgin olive oils. *Food Chemistry*, 202, 221–228.
34. **Carrera, C., Ruiz-Rodríguez, A., Palma, M., & Barroso, C. G. (2012).** Ultrasound assisted extraction of phenolic compounds from grapes. *Analytica Chimica Acta*, 732, 100–104.
35. **Catala, A. (2012).** Lipid peroxidation.
36. **Chaabani E. (2020).** Eco-extraction et valorisation des métabolites primaires et secondaires des différentes parties de *Pistacia lentiscus* .thèse de doctorat en Sciences Biologiques .Université d'avignon et des pays de vaucluse.
37. **Chaabani, E., Vian, M.A., Dakhlaoui, S., Bourgou, S., Chemat, F., Ksouri, R., (2019).** *Pistacia lentiscus* L. edible oil: green extraction with bio-based solvents, metabolite profiling and in vitro anti-inflammatory activity. *OCL* 26, 25

Références bibliographiques

38. **Chemani Amel (2023)**. effets therapeutiques (anti-inflammatoire, antibacterien) de l'huile de lentisque *Pistacia lentiscus l.* universite saad dahleb, blida 1. Faculté des Sciences de la Nature et de La Vie
39. **Chen, S., Wang, X., Cheng, Y., Gao, H., & Chen, X. (2023)**. A review of classification, biosynthesis, biological activities and potential applications of flavonoids. *molecules*, 28(13), 4982.
40. **Cheynier, V., Dueñas-Paton, M., Salas, E., Maury, C., Souquet, J.-M., Sarni-Manchado, P., & Fulcrand, H. (2006)**. Structure and properties of wine pigments and tannins. *American Journal of Enology and Viticulture*, 57(3), 298–305.
41. **Cillard, J., & Cillard, P. (2006)**. Mécanismes de la peroxydation lipidique et des anti-oxydations. *Oléagineux, Corps Gras, Lipides*, 13(1), 24–29.
42. **Cisbani, G., & Bazinet, R. P. (2021)**. The role of peripheral fatty acids as biomarkers for Alzheimer's disease and brain inflammation. *Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids*, 164, 102205.
43. **Crozier, A., Clifford, M. N., & Ashihara, H. (2008)**. *Plant secondary metabolites: Occurrence, structure and role in the human diet*. John Wiley & Sons.
44. **Cuvelier, M.-E., & Maillard, M.-N. (2012)**. Stabilité des huiles alimentaires au cours de leur stockage. *Oléagineux, Corps Gras, Lipides*, 19(2), 125–132.
45. **Dahmoune, F., Spigno, G., Moussi, K., Remini, H., Cherbal, A., & Madani, K. (2014)**. *Pistacia lentiscus* leaves as a source of phenolic compounds: Microwave-assisted extraction optimized and compared with ultrasound-assisted and conventional solvent extraction. *Industrial Crops and Products*, 61, 31–40.
46. **Debbabi, H., Nemri, K., & Riahi, H. (2017)**. Antimicrobial Effects of *Pistacia lentiscus L.* Foliar Extracts on fresh turkey breast cutlets. 40.
47. **Dhifi, W., Jelali, N., Chaabani, E., Beji, M., Fatnassi, S., Omri, S., Mnif, W., 2013**. Chemical composition of Lentisk (*Pistacia lentiscus L.*) seed oil. *Afr. J. Agric. Res.* 8, 1395–1400.
48. **Djeridane, A., Yousfi, M., Nadjemi, B., Maamri, S., Djireb, F., & Stocker, P. (2006)**. Phenolic extracts from various Algerian plants as strong inhibitors of porcine liver carboxylesterase. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, 21(6), 719-726.

Références bibliographiques

49. **Djerrou, Z., 2014.** Anti-hypercholesterolemic effect of *Pistacia lentiscus* fatty oil in egg yolk-fed rabbits: a comparative study with simvastatin. *Chin. J. Nat. Med.* 12, 561–566
50. **Dutton, H. (1995).** Factors affecting oil quality and stability. In *Methods to Assess Quality and Stability of Oils and Fat-Containing Foods*. AOCS Publishing.
51. **Eloumi, W., Maalej, A., Ortiz, S., Michel, S., Chamkha, M., Boutefnouchet, S., & Sayadi, S. (2022).** *Pistacia lentiscus* L. Distilled Leaves as a Potential Cosmeceutical Ingredient: Phytochemical Characterization, Transdermal Diffusion, and Anti-Elastase and Anti-Tyrosinase Activities. *Molecules*, 27(3), 855.
52. **Eymard S. (2003).** Mise en évidence et suivi de l'oxydation des lipides au cours de la conservation et de la transformation du chinchard (*Trachurus trachurus* : choix des procédés). Thèse de doctorat en biochimie. Université de Nantes.
53. **Fachrina, S., & Broto, R. T. W. (2023).** Optimization of Soxhlet Extraction of Candlenut Oil (*Aleurites moluccana* (L.) willd) Using Factorial Experimental Design Level 23. *Journal of Vocational Studies on Applied Research*, 5(1), 5–9.
54. **Farha, A. K., Yang, Q.-Q., Kim, G., Li, H.-B., Zhu, F., Liu, H.-Y., Gan, R.-Y., & Corke, H. (2020).** Tannins as an alternative to antibiotics. *Food Bioscience*, 38, 100751.
55. **Frankel, E. N. (2012).** Photooxidation of unsaturated fats. In *Lipid Oxidation* (pp. 51–66). Elsevier.
56. **Frédéric Élie (2022)** Les phénols et les polyphénols .
57. **Gardeli, C., Vassiliki, P., Athanasios, M., Kibouris, T., & Komaitis, M. (2008).** Essential oil composition of *Pistacia lentiscus* L. and *Myrtus communis* L.: Evaluation of antioxidant capacity of methanolic extracts. *Food Chemistry*, 107(3), 1120–1130.
58. **Gharby S., Harhar H., Bouzoubaa Z., Roudani A., Chafchaoui I., Kartah B., & Charrouf Z. (2014).** Effect of polyphenols extracts from margins on the stability of sunflower oil | Effet des polyphénols extraits des margines sur la stabilité de l'huile de tournesol. *Journal of Matériel and Environmental Science*.
59. **Gjoshevska, M., Chachorovska, M., & Runcevska, K. (2022).** Automated determination of acid value on fatty alcohols and fatty acids raw materials using potentiometric titration. *Macedonian Pharmaceutical Bulletin*, 68(03), 133–134.

Références bibliographiques

60. **Goicoechea, E., & Guillén, M. D. (2014).** Volatile compounds generated in corn oil stored at room temperature. Presence of toxic compounds. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 116(4), 395–406.
61. **Gramza-Michalowska, A., Sidor, A., & Hes, M. (2011).** herb extract influence on the oxidative stability of selected lipids. *journal of food biochemistry*, 35(6), 1723–1736.
62. **Guenther, E. (1987),** Minyak Atsiri, Jilid 1, UI Press, Jakarta.
63. **Guichard, C. (1967a).** *Éléments de technologie pharmaceutique : Pharmacie galénique.*
64. **Gurib-Fakim, A. (2006).** Medicinal plants: Traditions of yesterday and drugs of tomorrow. *Molecular Aspects of Medicine*, 27(1), 1–93.
65. **Harrat M. (2020).** Étude de l'activité antioxydante des extraits des feuilles du *Pistacia*
66. **Hu, Q., & Luo, Y. (2016).** Polyphenol-chitosan conjugates: Synthesis, characterization, and applications. *Carbohydrate Polymers*, 151, 624–639.
67. **Ibourahema Coulibaly, Robin Dubois-Dauphin, Sabine Danthine, Lamia Majad, Thami Mejoub, Jacqueline Destain, François Béra, Jean-Paul Wathelet, & Philippe Thonart. (n.d.).** Techniques de séchage des starters lactiques et mécanismes affectant la viabilité cellulaire suite à la lyophilisation. *BASE.*
68. **Isemura, M. (2019).** Catechin in human health and disease. *Molecules*, 24(3), 528.
69. **Jacotot, B., & Campillo, B. (2003).** *Nutrition humaine.* Elsevier Masson.
70. **Jang, W. Y., Kim, M.-Y., & Cho, J. Y. (2022).** Antioxidant, anti-inflammatory, anti-menopausal, and anti-cancer effects of lignans and their metabolites. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(24), 15482.
71. **Japón-Luján, R., Janeiro, P., & Luque de Castro, M. D. (2008).** Solid–Liquid transfer of biophenols from olive leaves for the enrichment of edible oils by a dynamic ultrasound-assisted approach. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56(16), 7231–7235.
72. **Jost, J.-P., & Jost-Tse, Y.-C. (2016).** *Stratégie de défense des plantes contre les maladies et les parasites (et: Quelques applications prat.* Editions Publibook.
73. **Kandji, N., 2001.** Etude de la composition chimique et de la qualité d'huiles végétales artisanales consommées au Sénégal. Doctoral dissertation. Thèse pour

Références bibliographiques

l'obtention du titre de Docteur en Pharmacie. Université Cheik Anta Diop (UCAD) de Dakar, Sénégal

74. **Karunaratne, D. N., Surandika Siriwardhana, D. A., Ariyaratna, I. R., Indunil Rajakaruna, R. M. P., Banu, F. T., & Karunaratne, V. (2017).** Nutrient delivery through nanoencapsulation. In *Nutrient Delivery* (pp. 653–680). Elsevier.
75. **Khedir, S.B., Bardaa, S., Moalla, D., Ghliissi, Z., Sahnoun, Z., Rebai, T., 2018.** Tunisian *Pistacia lentiscus* fruit oil: biochemical composition and wound healing activity in a rat model. *Int. J. Clin. Med. Res.* 5, 72–85.
76. **Kim, J., Marshall, M. R., & Wei, C. (1995).** Antibacterial activity of some essential oil components against five foodborne pathogens. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 43(11), 2839–2845.
77. **Kim, S. R., Ko, J. K., Kim, K., Jeon, H.-J., & Lee, S.-E. (2021).** Lignins and their close derivatives produced by biorefinery processes for the treatment of human diseases. In *Biomass, Biofuels, Biochemicals* (pp. 15–32). Elsevier
78. **Kowalska-Krochmal, B., & Dudek-Wicher, R. (2021).** The minimum inhibitory concentration of antibiotics: Methods, interpretation, clinical relevance. *Pathogens*, 10(2), 165.
79. **Lattanzio, V., Lattanzio, V.M.T et Cardinali, A. (2006).** Role of phenolics in the resistance mechanisms of plants against fungal pathogens and insects. *Phytochemistry: Advances in Research*. 661. 23-67
80. **Lee, W. J., Zhang, Z., Lai, O. M., Tan, C. P., & Wang, Y. (2020).** Diacylglycerol in food industry: Synthesis methods, functionalities, health benefits, potential risks and drawbacks. *Trends in Food Science & Technology*, 97, 114–125.
81. **Leppert, J. (2022).** Gas Chromatography Simulator.jl. *Journal of Open Source Software*, 7(76), 4565.
82. **Lesjak, M., Simin, N., & Srail, S. K. S. (2022).** Can polyphenols inhibit ferroptosis? *Antioxidants*, 11(1), 150.
83. **Li, A.-N., Li, S., Zhang, Y.-J., Xu, X.-R., Chen, Y.-M., & Li, H.-B. (2014).** Resources and biological activities of natural polyphenols. *Nutrients*, 6(12), 6020–6047.
84. **Lima Lipid oxidation and lamb meat quality. (2013).** *Acta Veterinaria Brasilica*, 7(1).

Références bibliographiques

85. Long, E. K., & Picklo, M. J., Sr. (2010). Trans-4-hydroxy-2-hexenal, a product of n-3 fatty acid peroxidation: Make some room HNE.... *Free Radical Biology and Medicine*, 49(1), 1–8.
86. Lúcia F. Pereira, A., & Kelly G. Abreu, V. (2020). Lipid peroxidation in meat and meat products. In *Lipid Peroxidation Research*. IntechOpen.
87. Malheiro, R., Casal, S., Lamas, H., Bento, A., & Pereira, J. A. (2012). Can tea extracts protect extra virgin olive oil from oxidation during microwave heating? *Food Research International*, 48(1), 148–154.
88. Martínez-Silvestre, K. E., Santiz-Gómez, J. A., Luján-Hidalgo, M. C., Ruiz-Lau, N., Sánchez-Roque, Y., & Gutiérrez-Miceli, F. A. (2022). Effect of UV-B Radiation on Flavonoids and Phenols Accumulation in Tempisque (*Sideroxylon capiri* Pittier) Callus. *Plants*, 11(4), 473.
89. Mezni, F., Labidi, A., Msallem, M., Boussaid, M., Khouja, M., Khaldi, A., (2014). Influence of harvest date on fatty acid composition and antioxidant activity of *Pistacia lentiscus* L. edible oils. *J. Mater. Environ. Sci.* 5, 1703–1708.
90. Milanez, K. D. T. M., & Pontes, M. J. C. (2014). Classification of edible vegetable oil using digital image and pattern recognition techniques. *Microchemical Journal*, 113, 10–16.
91. Missoun, F., Bouabedelli, F., Benhamimed, E., Baghdad, A., & Djebli, N. (2017). Phytochemical study and antibacterial activity of different extracts of *Pistacia lentiscus* L; collected from Dahra Region West of Algeria. *Journal of Fundamental and Applied Sciences*, 9(2), 669.
92. Mohammed, H. A., & Khan, R. A. (2022). Anthocyanins: Traditional uses, structural and functional variations, approaches to increase yields and products' quality, hepatoprotection, liver longevity, and commercial products. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(4), 2149.
93. Moll, M., & Moll, N. (1998). *Additifs alimentaires et auxiliaires technologiques*.
94. Mussatto, S. I., Ballesteros, L. F., Martins, S., & Teixeira, J. A. (2011). Extraction of antioxidant phenolic compounds from spent coffee grounds. *Separation and Purification Technology*, 83, 173–179.
95. Nahida, Ansari, S. H., & Siddiqui, A. N. (2012), *Pistacia lentiscus*: review on phytochemistry and pharmacological properties. Innovare Academic Sciences.

Références bibliographiques

96. Nogueira, M. S., Scolaro, B., Milne, G. L., & Castro, I. A. (2019). Oxidation products from omega-3 and omega-6 fatty acids during a simulated shelf life of edible oils. *LWT, 101*, 113–122.
97. Noushin Jalayer-Naderi^{1*}, Mohammad Niakan^{2*}, Elham khodadadi³, Maryam Mohamadi-Motlagh³ (December 2016). The antibacterial activity of methanolic *Anacyclus pyrethrum* and *Pistacia lentiscus L.* extract on *Escherichia coli*.
98. Ögütçü, M., Mendes, M., & Yilmaz, E. (2008). Sensorial and physico-chemical characterization of virgin olive oils produced in Çanakkale. *Journal of the American Oil Chemists' Society, 85*(5), 441–456.
99. Ottaway, J. M., Chance Carter, J., Adams, K. L., Camancho, J., Lavine, B. K., & Booksh, K. S. (2021). Comparison of spectroscopic techniques for determining the peroxide value of 19 classes of naturally aged, plant-based edible oils. *Applied Spectroscopy*, 000370282199450.
100. Pereira Jesus, E., Panek, A. D., & Eleutherio, E. C. A. (2003). Protection against oxidation during dehydration of yeast. *Cell Stress & Chaperones, 8*(2), 120.
101. Pérez, M., Dominguez-López, I., & Lamuela-Raventós, R. M. (2023). The chemistry behind the folin–ciocalteu method for the estimation of polyphenol content in food: Total phenolic intake in a Mediterranean dietary pattern. *Journal of Agricultural and Food Chemistry, 71*(46), 17543–17553.
102. Pietta, P.G. (2000). Flavonoids as antioxidants. *Journal of Natural Product, 63*, 1035–1042.
103. Ponce, A. G., Fritz, R., del Valle, C., & Roura, S. I. (2003). Antimicrobial activity of essential oils on the native microflora of organic Swiss chard. *LWT - Food Science and Technology, 36*(7), 679–684.
104. Rajasekaran, S., Rajasekar, N., & Sivanantham, A. (2021). Therapeutic potential of plant-derived tannins in non-malignant respiratory diseases. *The Journal of Nutritional Biochemistry, 94*, 108632.
105. Rasouli, H., Farzaei, M. H., & Khodarahmi, R. (2017). Polyphenols and their benefits: A review. *International Journal of Food Properties, 1–42*.
106. Remila, S., Atmani-Kilani, D., Delemasure, S., Connat, J.-L., Azib, L., Richard, T., & Atmani, D. (2015). Antioxidant, cytoprotective, anti-inflammatory and anticancer

Références bibliographiques

activities of *Pistacia lentiscus* (Anacardiaceae) leaf and fruit extracts. *European Journal of Integrative Medicine*, 7(3), 274–286.

107. Salhi, A., Bellaouchi, R., Barkany, S. E., Rokni, Y., Bouyanzer, A., Asehrou, A., Amhamdi, H., Zarrouk, A., & Hammouti, B. (2019). Total phenolic content, antioxidant and antimicrobial activities of extracts from *Pistacia lentiscus* leaves. *Caspian Journal of Environmental Sciences*, 17(3), 189–198.

108. Selmi, O., Ouergui, I., Castellano, J., Levitt, D., & Bouassida, A. (2020). Effect of an intensified training period on well-being indices, recovery and psychological aspects in professional soccer players. *European Review of Applied Psychology*, 70(6), 100603.

109. Shahidi, F., & Zhong, Y. (2010). Lipid oxidation and improving the oxidative stability. *Chemical Society Reviews*, 39(11), 4067.

110. Singla, R. K., Dubey, A. K., Garg, A., Sharma, R. K., Fiorino, M., Ameen, S. M., Haddad, M. A., & Al-Hiary, M. (2019). Natural polyphenols: Chemical classification, definition of classes, subcategories, and structures. *Journal of AOAC International*, 102(5), 1397–1400.

111. Szydłowska-Czerniak, A., Rabiej, D., Kyselka, J., Dragoun, M., & Filip, V. (2018). Antioxidative effect of phenolic acids octyl esters on rapeseed oil stability. *LWT*, 96, 193–198.

112. Tahiri Ouahiba, Atmani Dina et Atmani Djebbar (2016) Caractérisation de l'activité anti-bactérienne des extraits de *Pistacia lentiscus* et de *fraxinus angustifolia*.

113. Tsao, C. (2010). Kubler-Ross. *Academic Psychiatry*, 34(1), 38–38.

114. Tyagi, A., Shabbir, U., Chen, X., Chelliah, R., Elahi, F., Ham, H. J., & Oh, D.-H. (2022). Phytochemical profiling and cellular antioxidant efficacy of different rice varieties in colorectal adenocarcinoma cells exposed to oxidative stress. *PLOS ONE*, 17(6), e0269403.

115. Ullah, A., Munir, S., Badshah, S. L., Khan, N., Ghani, L., Poulson, B. G., Emwas, A.-H., & Jaremko, M. (2020). Important flavonoids and their role as a therapeutic agent. *Molecules*, 25(22), 5243.

116. Wahrburg, U., Kratz, M., & Cullen, P. (2002). *European Journal of Lipid Science and Technology*, 104(9–10), 698–705

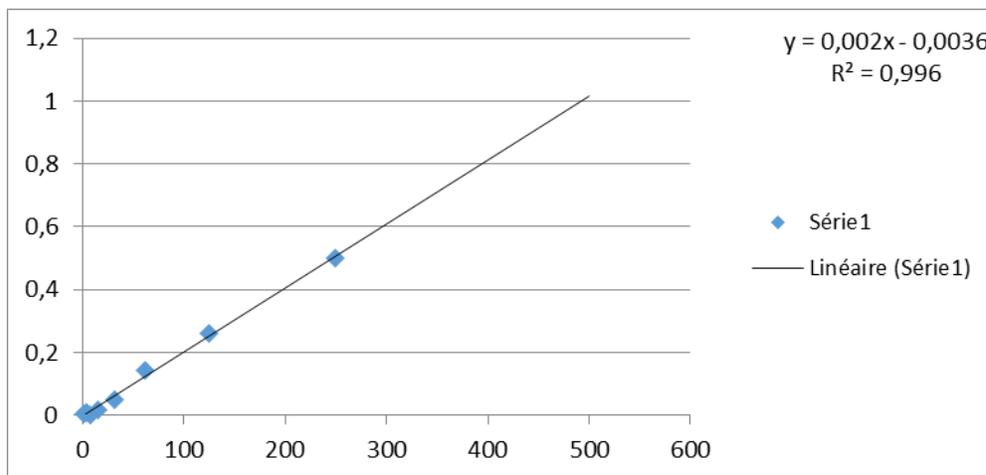
117. Wen, A., Delaquis, P., Stanich, K., & Toivonen, P. (2003). Antilisterial activity of selected phenolic acids. *Food Microbiology*, 20(3), 305–311.

Références bibliographiques

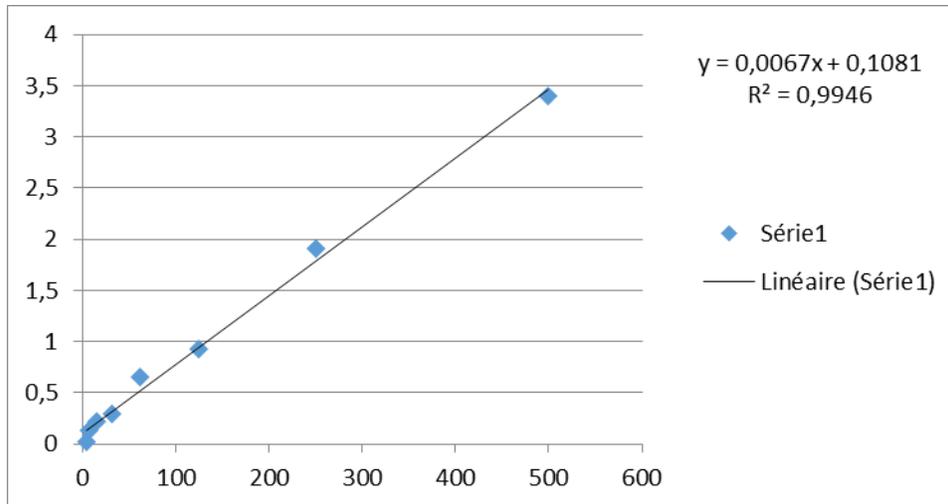
- 118. Wen, L., Wu, D., Tan, X., Zhong, M., Xing, J., Li, W., Li, D., & Cao, F. (2022).** The Role of Catechins in regulating diabetes: An update review. *Nutrients*, *14*(21), 4681.
- 119. Xiong, W., Li, Y., Yao, Y., Xu, Q., & Wang, L. (2022).** Antioxidant mechanism of a newly found phenolic compound from adlay (NDPS) in HepG2 cells via Nrf2 signalling. *Food Chemistry*, *378*, 132034.
- 120. Yala, J.-F., Ntsameso-Mve-Mba, V., Issembe, Y. A., Lepengue, N. A., & Souza, A. (2016).**Évaluation in vitro de l'activité antimicrobienne de l'extrait aqueux d'Eryngium foetidumrécolté dans la ville de Franceville. *Journal of Applied Biosciences*, *103*, 9886-9893.
- 121. Yosr, Z., Imen, B. H. Y., Rym, J., Chokri, M., & Mohamed, B. (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.
- 122. Yu, M., Kim, H. J., Heo, H., Kim, M., Jeon, Y., Lee, H., & Lee, J. (2022).** Comparison of the antihypertensive activity of phenolic acids. *Molecules*, *27*(19), 6185.
- 123. Zahir, E., Saeed, R., Hameed, M.A., Yousuf, A., 2017.** Study of physicochemical properties of edible oil and evaluation of frying oil quality by Fourier Transform-Infrared (FTIR) Spectroscopy. A
- 124. Zongo, L., & Lange, H. (2022).** Lignins and their potential for use as biopolymers in pharmaceutical engineering - a review. *Journal Africain de Technologie Pharmaceutique et Biopharmacie (JATPB)*, *1*(1), 37–62.

ANNEXES

ANNEXE

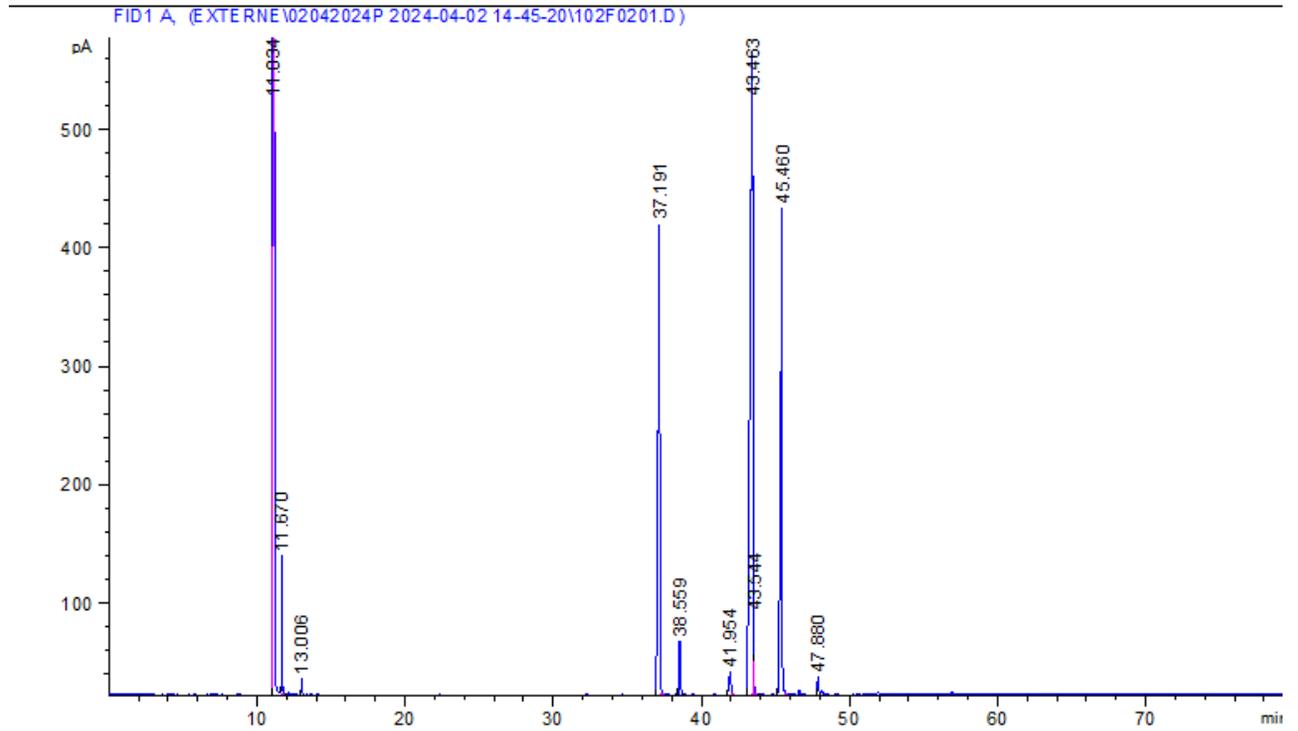


Annexe 1 : courbe d'étalonnage d'acide gallique



Annexe 2 : courbe d'étalonnage de la quercétine

Annexes



Annexe 3 : Profil chromatographique de l'huile de lentisque.

Résumé

Dans cette étude, l'accent est mis sur l'amélioration de la qualité de l'huile végétale de *P. lentiscus* en l'enrichissant avec des antioxydants naturels afin de prévenir les problèmes de santé dus à l'oxydation des acides gras. Deux méthodes d'extraction ont été réalisées : la méthode Soxhlet pour l'huile végétale et la méthode par ultrasons pour les composés phénoliques. Les extraits éthanoliques ont montré une concentration élevée en polyphénols et flavonoïdes. Une étude de la stabilité oxydative a révélé que l'huile de lentisque enrichie en polyphénols résiste mieux à l'oxydation que celle non enrichie, confirmant l'efficacité des polyphénols naturels comme antioxydants par rapport aux antioxydants synthétiques comme les α -tocophérols. L'analyse par chromatographie en phase gazeuse a identifié principalement les acides gras oléique, linoléique et palmitique dans l'huile de lentisque. De plus, l'étude a évalué une activité antibactérienne des extraits contre *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* et *Pseudomonas aeruginosa*, montrant une activité significative des extraits éthanoliques des graines noires contre *E. coli*, avec une zone d'inhibition notable de 1,23 cm.

Abstract

In this study, the focus is on improving the quality of *P. lentiscus* vegetable oil by enriching it with natural antioxidants to prevent health problems due to fatty acid oxidation. Two extraction methods were used: the Soxhlet method for vegetable oil and the ultrasonic method for phenolic compound. The ethanolic extracts showed a high concentration of polyphenols and flavonoïds. A study of oxidative stability revealed that polyphenol-enriched lentisc oil was more resistant to oxidation than unenriched oil, confirming the effectiveness of natural polyphenols as antioxidants compared with synthetic antioxidants such as α -tocopherols. Gas chromatography analysis identified mainly oleic, linoleic and palmitic fatty acids in mastic oil. In addition, the study assessed the antibacterial activity of the extracts against *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa*, showing significant activity of ethanolic extracts of black fruits against *E. coli*, with a zone of inhibition of 1.23 cm.

ملخص

الزيت النباتي *P. lentiscus* من خلال إثرائه بمضادات الأكسدة الطبيعية للوقاية من المشاكل الصحية بسبب أكسدة الأحماض الدهنية. تم تنفيذ طريقتين للاستخلاص: طريقة سوكلت للزيوت النباتية وطريقة الموجات فوق الصوتية للمركبات الفينولية. أظهرت المستخلصات الإيثانولية تركيزاً عالياً من مادة البوليفينول والفلافونويد. كشفت دراسة الثبات التأكسدي أن زيت المستكة المخصب بالبوليفينول يقاوم الأكسدة بشكل أفضل من غير المخصب، مما يؤكد فعالية البوليفينول الطبيعي كمضادات للأكسدة مقارنة بمضادات الأكسدة الاصطناعية مثل ألفا توكوفيرول. حدد التحليل اللوني للغاز بشكل رئيسي الأحماض الدهنية الأوليك واللينوليك والبالمتيك في زيت المصطكي. بالإضافة إلى ذلك، قيمت الدراسة النشاط المضاد للبكتيريا للمستخلصات ضد *الإشريكية القولونية* و*المكورات العنقودية الذهبية* و*الزائفة الزنجارية*، وأظهرت فعالية كبيرة للمستخلصات الإيثانولية للحبوب السوداء ضد *الإشريكية القولونية*، مع منطقة تثبيط ملحوظة قدرها 1.23 سم.