

République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université A. Mira-Bejaïa

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département des Sciences Alimentaires

Spécialité Qualité des Produits et Sécurité Alimentaire



Réf :

Mémoire de Fin de Cycle

En vue de l'obtention du diplôme

MASTER

Thème

Optimisation de l'extraction assistée par ultrasons des composés phénoliques à partir du marc de Pistacia lentiscus

Présenté par :

Melle **HAMDAOUI Sabiha** & Melle **HAMDANE Kenza**

Soutenu le : **27 septembre 2021**

Devant le jury composé de :

Mme BOULEKBACHE.L

Professeur

Présidente

Mme GUEMGHAR. H

MCA

Promotrice

Mme OUCHEMOUKH. N

MCA

Examinatrice

Année universitaire : 2020/ 2021

REMERCIEMENTS

Au terme de ce modeste travail, nous tenons à exprimer nos remerciements les plus sincères tout d'abord au bon DIEU de nous avoir donné le courage, la santé et toute la patience qui nous ont été utiles tout au long de notre parcours.

Nos remerciements vont également à :

Les membres du jury, La présidente du jury Mme BOULEKBACHE Lila de nous avoir fait l'honneur de présider le jury.

Également Mme OUCHMOUKH Nadia d'avoir accepté d'examiner notre travail.

Notre promotrice Mme GUEMGHAR Hayat d'avoir accepté de nous encadrer, pour son suivie, ses conseils, ses orientations et sa précieuse aide.

Nos remerciements les plus sincères à tout le personnel de laboratoire d'analyses instrumentales, ainsi que le personnel de laboratoire BBBS.

A toutes les personnes qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce mémoire



DEDICACE



*Tout d'abord je tiens à remercier **ALLAH** le tout puissant de m'avoir donné la volonté, le courage et la patience pour mener à terme de pouvoir réaliser ce mémoire.*

Avec l'expression de ma reconnaissance, je dédie ce modeste travail à ceux qui je n'arriverai jamais à leur exprimer mon amour sincère.

A celle qui a souffert sans me laisser souffrir, qui n'a jamais cessé de croire en moi et qui a fait l'impossible pour me rendre heureuse : mon adorable mère

Nora Remila.

*A mon plus précieux, qui m'a toujours soutenu par tous les moyens pour que je réussisse, qui a toujours cru en moi et m'a poussé d'aller de l'avant : mon très cher père **Abderrahmane Hamdane.***

*A mes chers frères **Hamza, Ismail, Aymen** qui n'ont pas cessé de me faire rire et me remonter le moral.*

*A mon adorable petite sœur **Nour**, mon âme sœur à qui je tiens trop malgré nos petites chamailleries.*

*A mes **grands- mères et grands- pères, mes oncles et mes tantes** que **Dieu** leur donne une longue et joyeuse vie.*

*A tous mes **cousins et cousines**, qui étaient toujours là pour me soutenir et m'encourager, en particulier **Soussou, Meriem, Sissa, Asma, Djamila, Yasmine et Selma.***

*A mes très chers **ami(e)s, camarades et collègues** sans exceptions.*

*A ma meilleure amie **Mamel**, qui le faite d'avoir une sœur comme elle, c'est vivre dans le bonheur.*

*Un merci exceptionnel pour ma chère **Saliha Remila** pour son aide et son soutien.*

*A mon cher binôme **Sabiha H.** pour son soutien moral, sa patience et sa compréhension tout au long de ce projet.*

*Sans oublier la promotion **Qualité des Produits et Sécurité Alimentaire 2021***

Merci pour leurs amours et leurs encouragements.

Kenza





DEDICACE



DIEU le Tout Puissant. Je me prosterne devant ta Grandeur pour te remercier de m'avoir assistée tout au long de ce voyage dans le sanctuaire du savoir, que ta lumière guide mes pas !

Avec mes sentiments de gratitude les plus profonds. Je dédie ce modeste travail

A mes chers parents Lakhdar et Nouara

Aucune dédicace ne saurait être assez éloquente pour exprimer ce que tu mérites pour tous les sacrifices que vous avez consenti pour mon instruction et mon bien être. Je te remercie pour tout le soutien et l'amour que tu me porte depuis mon enfance.

Que ce modeste travail soit l'exaucement de vos vœux tant formulés. Puisse Dieu, le très haut, vous accorde santé, bonheur et longue vie.

A Mes très chères sœurs Hakima, Linda et Thiziri

Je suis vraiment chanceuse de vous avoir à mes côtés, merci pour vos conseils soutiens, aides et encouragements, Soyez honorées par ce travail et que Dieu vous garde !

A Mes chers frères Abdelghani, khaled et Laala

A Mes chers nièces Kahina et Fahima ; Mes chères cousines Mellissa et Meriem

Avec qui j'ai vécu tellement d'aventures, Je tiens à vous remercier chaleureusement d'être avec moi, que cela soit dans les moments de joie ou de désespoir, Je vous souhaite une vie comblée et toute Réussite !

A Mes chers neveux et nièces : Hamza, Hemmou, Yanis, Ziri, Rosa, Aya, Islem, Zineb, Ayoub, Safiya, Maria et Younes

A mes oncles maternels en particulier « Khali Moustapha », A tous mes amis que j'aime

A Mon cher binôme Kenza

Qui a choisi de partager avec moi ce précieux travail ; J'ai beaucoup apprécié ta collaboration, ton implication, Très reconnaissante pour tes efforts et le temps qu'a pris pour réaliser notre projet.

A toute la promotion Qualité des Produits et Sécurité Alimentaire 2021

Sabiha « Nina »



LISTE DES ABRÉVIATIONS

- ABTS: 2,2'-azino-bis (éthylbenzothiazoline-6-sulfonate).
- ABTS•+ : 2,2'-azinobis (3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique).
- AdjR² : Coefficient de détermination ajusté.
- ANOVA: Analyze of Variance.
- BBD: Box-Behnken Design.
- CPT, TPC : composées phénoliques totaux.
- CV : Coefficient de variation.
- EAG : Equivalent d'acide gallique.
- EAU : Extraction assistée par ultrasons.
- FC : Folin-Ciocalteu.
- KHZ: Kilo hertz.
- MS : Matière sèche
- MSR : Méthode de surface et de réponse.
- Na₂ CO₃ : Carbonate de sodium.
- P: Probabilité.
- PI: Pourcentage d' inhibition.
- Pred. R² : Coefficient de détermination de prédiction
- R² : Coefficient de régression

LISTE DES FIGURES

Figure 01 : Photographies des espèces de <i>Pistacia</i> : <i>P.lentiscus</i> (a), <i>P. terebinthus</i> (b), <i>P.vera</i> (c).....	03
Figure 02 : Photographies des feuilles (a), fleurs (b), graines (c) de <i>Pistacia lentiscus</i>	06
Figure 03 : Photographie de l'écorce de <i>P.lentiscus</i>	06
Figure 04 : Photographie du suc résineux de <i>P.lentiscus</i>	06
Figure 05 : Carte géographique démontre la distribution de <i>P.Lentiscus</i> dans l'Algérie.....	07
Figure 06 : Formules d'un acide benzoïque et d'un acide cinnamique.....	13
Figure 07 : Structure de base des flavonoïdes	13
Figure 08 : Quelques composés phénoliques de la classe des flavonoïdes	14
Figure 09 : Structure chimique des tanins hydrolysables (a) et condensés (b).....	15
Figure 10 : Schéma détaillé du protocole suivi pour obtenir la poudre de <i>P.lentiscus</i>	17
Figure 11 : Représentation des bulles de cavitation sous l'effet des ultrasons.	18
Figure 12 : Protocole d'extraction des polyphénols totaux de la poudre des fruits de lentisque	19
Figure 13 : Protocole expérimental du dosage des polyphénols.....	21
Figure 14 : Protocole du test d'ABTS ⁺	22
Figure 15 : Effet des différentes concentrations de l'éthanol sur l'extraction des polyphénols.....	26
Figure 16 : Effet du temps sur l'extraction des composés phénoliques.....	26
Figure 17 : Effet des différentes températures sur l'extraction des polyphénols.....	27
Figure 18 : Effet du rapport (liquide/solide) sur l'extraction des polyphénols	28
Figure 19 : Graphique des valeurs observées en fonction des valeurs prédites.....	30
Figure 20 : Surface de réponse pour l'interaction (concentration en éthanol/temps) sur la teneur en CPTPT.....	32
Figure 21 : Surface de réponse pour l'interaction (concentration en éthanol/température) sur la teneur en CPT.....	33

Figure 22 : Surface de réponse pour l'interaction (temps d'extraction/température) sur la teneur en CPT.....33

Figure 23 : Profils pour les valeurs prédites et la fonction de désirabilité.....34

Liste des figures en annexes

Figure 01 : Structures chimiques des anthocyanes de fruits de *Pistacia lentiscus* cyanidine 3-O-glucoside (a), Delphinidine 3-O-glucoside (b) et cyanidine 3-O-arabinoside (c).

Figure 02 : Courbe d'étalonnage des polyphénols totaux.

Figure 03 : Courbe IC₅₀.

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I : Les noms courants de <i>Pistacia lentiscus</i>	04
Tableau II : Les différentes activités biologiques et pharmacologiques de <i>Pistacia lentiscus</i>	10
Tableau III : Les deux classes des acides phénoliques.....	12
Tableau IV : Récapitulatif des conditions de récoltes.....	17
Tableau V : Variables indépendantes et niveaux de facteurs affectant l'extraction assistée par ultrasons.....	20
Tableau VI : Conception composite centrale à trois facteurs et trois niveaux utilisée pour le RSM et données expérimentales des réponses étudiées des extraits du marc de <i>Pistacia</i>	29
Tableau VII : Paramètres descriptifs de l'ajustement du modèle.....	30
Tableau VIII : Analyse de la variance (ANOVA) des expériences.....	31
Tableau IX : Conditions optimales pour l'extraction des CPT (mg EAG/g) du marc de <i>Pistacia lentiscus</i>	35
Tableau X : Activité antioxydante de l'extrait du marc de lentisque comparé au Trolox.....	35

Liste des tableaux en annexes

Tableau I : Matériels et appareillage utilisés au cours du travail.

Tableau II : Solutions et réactifs utilisés au cours du travail.

TABLE DES MATIÈRES

Remerciements

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction01

Revue bibliographique

Chapitre I : Généralités sur le *Pistacia Lentiscus*

I. Historique.....03

II. Description.....03

II.1. Description botanique de la famille des Anacardiacees.....03

II.2. Présentation de la plante *Pistacia lentiscus*.....04

II.2.1. Classification taxonomique.....05

II.2.2. Morphologie générale de *Pistacia lentiscus*05

III. Localisation et répartition géographique.....07

IV. Différents domaines d'utilisation de *Pistacia lentiscus*.....07

IV.1. Utilisation traditionnelle07

IV.2. Utilisation moderne.....08

IV.3. Précautions d'emploi.....09

V. Activités biologiques de *Pistacia lentiscus*.....09

Chapitre II : Composés phénolique, structure et propriétés

I. Définition des polyphénols.....11

II. Polyphénols présents dans lentisque11

II.1. Les acides phénoliques simples	12
II.2. Les flavonoïdes	13
II.3. Les tanins	14
III. Propriétés des polyphénols	15
III.1. Propriété antioxydante	15
III.1.1. Propriété Alimentaire.....	15
III.1.2. Propriété cosmétique	16
III.1.3. Propriétés thérapeutiques des polyphénols.....	16
III.2. Rôle des polyphénols dans les plantes	16

Partie expérimentale

Chapitre III : Matériels et méthodes

I. Matériel végétal	17
II. Méthodes expérimentales	18
II.1. Extraction des composés phénoliques par sonication	18
III. Optimisation des conditions de l'extraction des polyphénols.....	18
III.1. Essais préliminaires	18
III.2. Plan d'expérience.....	20
III.3. Dosage des polyphénols totaux	20
III.3.1. Détermination de la teneur en polyphénols totaux.....	20
IV. Évaluation de l'activité antioxydante des polyphénols.....	22
IV. Piégeage de l'ABTS+.....	22

Chapitre IV : Résultats et discussions

I. Extraction par ultrasons.....	24
II. Etudes préliminaire pour la sélection de conditions d'extraction appropriées.....	24
II.1. Effet de la concentration du solvant	24
II.2. Effet de différents temps sur l'extraction.....	25
II.3. Effet de différentes températures.....	26
II.4. Effet de ratio.....	27
III. Optimisation de la procédure d'extraction assistée par ultrasons.....	28
III.1. Plan d'expérience.....	28
III.2. Modèle mathématique	29
III.3. Ajustement du modèle et Signification des variables	30
III.4. Effet des facteurs.....	31
III.4.1. Effet linaires.....	31
III.4.2. Effet d'interaction	32
III.4.3. Effet quadratique	32
III.5. Analyse de surface de réponse.....	32
IV. Conditions optimales.....	34
V. Validation du modèle... ..	34
VI. Évaluation de l'activité antioxydante des polyphénols.....	35
Conclusion.....	36
Références bibliographiques	38
Résumé	

INTRODUCTION

L'Algérie par sa situation géographique est un pays riche en plantes médicinales dont l'exploitation est d'un grand intérêt. Elles contiennent un large spectre des substances phytochimiques qui ont été utilisés depuis l'antiquité par l'homme à des fins médicinales, culinaires et esthétiques. Parmi ces plantes, se trouve *Pistacia lentiscus* connu sous le nom de Drou ou Darw, appartenant à la famille des "Anacardiaceae", largement distribuées dans les écosystèmes du bassin méditerranéen (Morsli et al., 2021 ; Remila et al., 2015 ; Chaib, 2015).

Les propriétés thérapeutiques sont dues à la présence des composés naturels bioactifs accumulés dans différents organes de cette plante (Boudjouref, 2011).

Les polyphénols représentent la majeure partie des antioxydants présents dans l'alimentation. En tant qu'antioxydants, les polyphénols sont des agents réducteurs, et conjointement avec d'autres agents réducteurs nutritionnels peuvent protéger les constituants cellulaires contre les dommages oxydatifs limitant ainsi le risque de diverses maladies dégénératives associées à l'oxydation (Mokrani & Madani, 2016).

Plusieurs études ont été réalisées dans le domaine de l'évaluation de l'activité antioxydante des polyphénols d'origine végétale extraits par des technologies d'extraction hautement sophistiqués. Les ultrasons ont été utilisés dans les industries alimentaires pour améliorer les processus d'extractions, tel que l'extraction des composés bioactifs. Tous les effets mécaniques impliqués dans ce processus ultrasonore peuvent accélérer la diffusion interne de ces composés, ce qui améliore le transfert de masse, cette méthode est simple, reproductible et efficace (Dzah et al., 2021 ; Bimakr et al., 2017).

Dans le présent travail, le choix de la plante *Pistacia lentiscus* comme sujet d'étude a été guidé non seulement par les nombreuses utilisations traditionnelles qui en sont répertoriées, mais aussi par le fait qu'elle est une source très riche en polyphénols et qu'il s'agit d'une plante très abondante localement. L'objectif principale de notre travail vise à optimiser les conditions d'extraction des composés phénoliques totaux à partir du marc de lentisque assistée par ultrasons en utilisant des plans d'expériences permettant la modélisation mathématique pour obtenir les conditions optimales et pouvoir expliquer l'interaction des paramètres expérimentaux sur l'extraction.

Dans le cadre de notre travail, nous avons d'abord commencé par des généralités sur *Pistacia lentiscus*. Elle est suivie par une étude bibliographique sur les polyphénols en tant que classe de composés secondaires des plantes, ensuite nous avons décrit le matériel et les méthodes utilisés afin d'extraire et de doser les polyphénols totaux, puis nous avons présenté

les résultats et la discussion relatifs à cette expérimentation. Enfin nous avons terminé par une conclusion.

REVUE

BIBLIOGRAPHIQUE

***GÉNÉRALITÉS SUR LE
PISTACIA LENTICUS***

I. Historique :

Le genre *Pistacia lentiscus* a été découvert il y a plus de 80 millions d'années au centre d'Asie, dont il fait partie de la famille des anacardiacees qui comporte environ 875 espèces.

Les romains ont nommé cette plante « *Pistacia lentiscus* » car *Pistacia* est le nom grec « pistakia » qui constitue une modification du mot d'origines arabe « foustouk », et *Lentiscus* vient du mot latin « lentiscus » qui signifie « l'arbre au mastic ».

L'arbre de mastic a été utilisé depuis l'antiquité dans plusieurs domaines tels qu'en médecine, en cuisine, en phytothérapie, et en cosmétique (Alvarez et al., 2008 ; Al Saghir et al., 2010 ; Garnier et al., 1961).

II. Description :

II.1. Description botanique de la famille des Anacardiaceae :

Les Anacardiaceae sont des arbres, ou des arbustes, renfermant des canaux à sécrétions oléorésineux. Elles possèdent un feuillage sans stipules avec des feuilles alternes, composées trifoliolées, et des fleurs bisexuées actinomorphes, qui donne des fruits que l'on appelle des drupes souvent à mésocarpe résineux. Pour la plus grande majorité de ces espèces les fruits sont comestibles après cuisson, quant aux graines elles sont exalbuminées (Ben Douissa et al., 2005 ; Gausson et al., 1982).

La famille des anacardiacees est une moyenne famille de plantes à fleurs de 600 espèces d'arbres et d'arbustes qui sont répartis en 70 genres on site parmi eux le genre *Pistacia*.

Ce genre regroupe 9 espèces d'arbustes appartenant à l'ordre des Sapindales. Trois espèces sont très connues :

- *Pistacia lentiscus* : dont on extrait une résine et qui présente un feuillage persistant.
- *Pistacia terebinthus* : arbre au feuillage caduc dont on extrait l'huile de térébenthine.
- *Pistacia vera* : arbuste au feuillage caduc dont on consomme les graines grillées (les pistaches) (Hormaza & Wunsch, 2011 ; Ben Douissa et al., 2005).



(a)



(b)



(c)

Figure 01 : Photographies des espèces de *Pistacia* : *P.lentiscus* (a), *P. terebinthus* (b), *P.vera* (c) (Fritsch, 1983 ; Girerd & Roux, 2004).

II.2. Présentation de la plante *Pistacia lentiscus* :

Pistacia lentiscus, est un Arbrisseau vivace ramifié appelé « lentisque pistachier » ou « arbre à mastic » qui développe un branchage épais, à petites feuilles elliptiques et coriaces, à fleurs rouges en grappes et à fruits ronds rouges qui noircissent en murissant (**Larousse des plantes médicinales, 2007**).

Il est généralement plus large (3m) que long (2m), mais sa forme se rattache finalement à ses conditions de croissance ; il est bas en quelque sorte rampant en zones aérées, et se dresse en zones protégées. Ses bourgeons alternes rendent ses rameaux très élégants. Son tronc produit une écorce marron-grise qui contient les canaux d'où peut être extrait la fameuse résine de lentisque qui est caractérisé par une odeur fortement âcre pouvant être parfois désagréable chez certaines personnes (**Ben Douissa, 2005**).

Le Pistachier porte plusieurs noms et différentes appellations dans un pays à un autre (Tableau I).

Tableau I : Les noms courants de *Pistacia lentiscus* (**Cheraft, 2011**).

Langue	Noms
Berbère (kabyle)	Tidekth, Amadhagh
Arabe	(Darou),الضرو
Français	Arbre au mastic, pistachier lentisque
Anglais	Mastic tree
Espagnol	Lentisco
Allemand	Mastix baum
Italien	Lentischio,Sendrio

II.2.1. Classification taxonomique:

- Règne → Plantae.
- Sous-règne → Tracheobionta.
- Embranchement → Spermaphyte.
- Sous-embranchement → Angiosperme.
- Division → Magnoliophyta.
- Classe → Magnoliopsida.
- Sous-classe → Rosidae.
- Ordre → Sapindales.
- Famille → Anacardiaceae.
- Genre → *Pistacia*.
- Espèce → *Pistacia lentiscus*.
- Classification → Phylogénétique.

II.2.1. Morphologie générale de *Pistacia lentiscus* :

➤ Les Feuilles :

Sont caractérisées par un nombre pair de folioles (de 4 à 10), un feuillage persistant de couleur verte foncée lavée de pourpre, avec une forme elliptiques (sphériques), obtuses (pointue), luisante (réfléchis la lumière), une texture glabres (sans poiles) et coriaces, et des pétioles bordés d'une aile verte (**Onay & Jeffrey, 2000**).

➤ Les Fleurs :

Comme tous les autres pistachiers, l'arbre de lentisque est dioïque, ses fleurs sont unisexuées, vertes ou rougeâtres, denses, de très petite taille, qui se déposent sous forme de grappes, condensées disposées en épis cylindriques courts (**Djedaia, 2016**).

Elles sont tri stomates et très aromatiques. Elles apparaissent au printemps du mois d'avril jusqu'à juin. La différence entre les deux sexes des fleurs est distinguée par leurs couleurs, les fleurs femelles sont de couleur verte jaunâtres. Quant aux fleurs mâles, elles sont caractérisées par une couleur rouge foncé. Celles-ci, peuvent produire environ 47000 à 60000 grains de pollens par fleurs. (**Garnier et al., 1961 ; Bayer et al., 1987, Verdu & Garcia-Fayos, 1998 ; Baba-Aissa, 1999**).

➤ **Les graines :**

Les graines de lentisque sont des drupes sèche de petite taille d'environ 4mm, des baies globuleuses légèrement condensées sous forme de grappes qui comportent un seul noyau à une seule graine et une pulpe de bon goût et d'une odeur agréable. Les fruits de lentisque révèlent plusieurs couleurs aux cours de leur maturité, en effet, au premier stade, ils sont de couleur verte, puis se transforment en rouge à mi- maturité et deviennent noirâtres au dernier stade (Ait Youssef, 2006).



(a)



(b)



(c)

Figure 02 : Photographies des feuilles (a), fleurs (b), graines (c) de *Pistacia lentiscus*.

➤ **Les Ecorces :**

Se caractérisent d'une couleur qui tend vers le gris en murissant. Elles sont crevassées et peuvent atteindre 5 à 6 mètres de hauteur. Lorsqu'une incision est appliquée sur l'écorce, la plante laisse s'écouler une sève liquide visqueuse irritante, non colorée à odeur forte qui est nommé « résine » (Garnier et al., 1961).

➤ **Mastic :** L'incision du tronc de cet arbuste fait écouler un suc résineux appelée mastic, durcit en contact avec l'air, qui une fois distillé, on récupère une huile essentielle employée en parfumerie (Ferradji, 2011).



Figure 03 : Photographie de l'écorce de *P. lentiscus*



Figure 04 : Photographie de suc résineux de *P. lentiscus*.

III. Localisation et répartition géographique :

Pistacia lentiscus est distribuée dans les écosystèmes extrêmes du bassin méditerranéen, surtout dans les régions ensoleillées sèches à basse altitude, et dans les parties chaudes de la méditerranée de l'Europe, de l'Asie, de l'Afrique jusqu'au Canaries (Al-Saghir, 2006 ; Belhadj, 2002 ; Hamlat & Hassani, 2008).

L'Algérie bénéficie d'un climat très diversifié avec une hétérogénéité des conditions climatiques qui ont permis un développement riche de la flore Algérienne. L'espèce de *Pistacia lentiscus* a un usage très répandu par la population Algérienne (Krishnaiah et al., 2010).

Elle pousse à l'état sauvage, dans les sites humides et subhumides, dans les garrigues et sur les sols en friche et constitue avec les myrtes et les cistes, d'immenses broussailles appelées maquis. Elle assure la protection du sol contre l'érosion et crée les conditions favorables pour l'humification de la matière organique et l'enrichissement de ses propriétés biologiques. Elle s'adapte à la chaleur et la sécheresse et se retrouve dans tout type de sols (Garnier et al., 1961 ; Correia & Diaz Barradas, 2000 ; More & White, 2005 ; Saadoun, 2002 ; Belhadj, 2002).

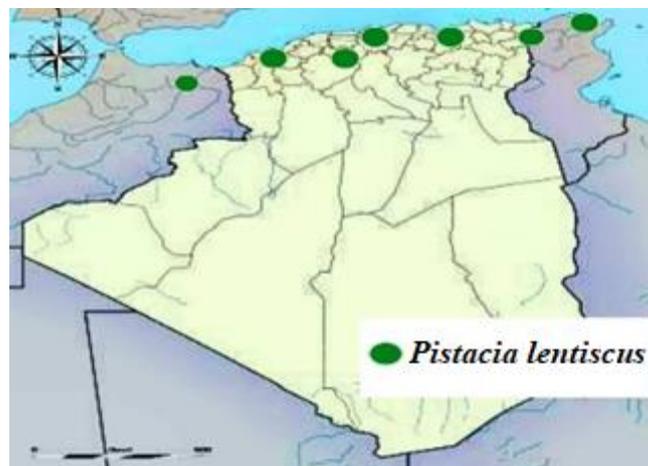


Figure 05 : Carte géographique démontre la distribution de *P. lentiscus* dans l'Algérie (Al. Saghir, 2006).

IV. Différents domaines d'utilisation de *P. lentiscus* :

IV.1. Utilisation traditionnelle :

➤ En Médecine :

Dû à sa considération comme source importante en substances actives, différentes parties de *Pistacia lentiscus* sont utilisées en médecine traditionnelle, soit par voie interne, cutanée ou par inhalation (Dogan et al., 2003 ; Ljubuncic et al., 2005 ; Delille 2007).

L'huile grasse obtenue par expression des fruits de lentisque a été utilisée traditionnellement par les Algériens dans le traitement des petites blessures, les douleurs dorsales, les brûlures de 1^{er} degré, et dans les cas d'irritation de la peau (érythèmes) employée sous forme de crème. Tandis que la résine a été utilisée comme agent luttant contre les cancers et les tumeurs. Contre l'ulcère gastroduodéal et la dyspepsie Elle a aussi servi d'une gomme à mâcher, contre la sécheresse des lèvres, et comme antiseptique pour le système respiratoire (Bellakhdar, 1997 ; Assimopoulou & Papageorgiou, 2005 ; Al-Habbal et al., 1984 ; Baytop, 1999 ; Tulzaci & Aymaz, 2001).

➤ **En Cosmétologie :**

Depuis l'antiquité la résine de *Pistacia lentiscus* a été employée comme produit cosmétique, les femmes grecques servaient de cette résine comme fixateur pour fixer des cils postiche sur leurs paupières. En Afrique du Nord, elle servait de parfum et de dépilatoire. Elle a été également utilisée en Orient, comme masticatoire parfumé, pour rafraîchir l'haleine et protéger les gencives (De Lanfranchi et al., 1999).

➤ **Autres :**

Les feuilles du lentisque ont été utilisées pour le tannage du cuir, et pour teindre la laine des tapis en noir, et cela dû grâce à leur richesse en tannins. Ces feuilles ont une capacité antiseptique qui permet de lutter contre les charançons, les teignes et les puces (De Lanfranchi et al., 1999 ; Bonnier & Douin, 1934).

IV.2. Utilisation moderne :

➤ **En pharmacologie :**

Cliniquement parlant, La résine collectée à partir des branches est souvent citée comme remède efficace contre plusieurs maladies grâce à son effet analgésique, antifongique, antioxydant, antithérogénique, expectorant, stimulant, diurétique et spasmolytique, antiseptique pour les bronchites. Tandis que l'infusion de ses feuilles est appliquée pour le traitement de l'eczéma, la diarrhée, et les infections de la gorge.

Plusieurs études effectuées sur les huiles essentielles de *Pistacia lentiscus* ont mis en évidence qu'elles possèdent des propriétés thérapeutiques appréciables (Dedoussis et al., 2004 ; Rodriguez-Pérez et al., 2013 ; Gardeli et al., 2008 ; Kordali et al., 2003).

➤ **En Industries :**

De nos jours, une large gamme de produits est formulée en industries alimentaires à partir des ingrédients issus de *Pistacia lentiscus*, tels que la résine, l'huile essentielle, l'huile végétale ou des extraits enrichis, cela est dû aux activités biologiques liées à leurs métabolites secondaires tel que les flavonoïdes, polyphénols et acides phénoliques (**Glampedaki & Dutschk, 2014 ; Dapkevicius et al., 1998 ; Proestos et al., 2005 ; Rauha et al., 2000**).

➤ **En Cuisine :**

Les fruits sont séchés tamisés et consommés comme café, et aussi utilisés en confiserie et dans la fabrication d'un type de liqueur appelée « mastiche ». La matière grasse isolée de ces fruits est employée comme huile de cuisson. Ainsi que dans la confection des savons (**Topçu et al., 2007 ; Baytop, 1999 ; De Lanfranchi et al., 1999**).

➤ **En Cosmétologie :**

La gomme du mastic est employée dans les préparations des parfums tandis que l'huile essentielle est utilisée pour la fabrication du savon, dans la production de dentifrice et d'autres produits (**Baytop, 1999**).

IV.3. Précautions d'emploi :

L'huile essentielle de lentisque est déconseillée pour les femmes enceintes pendant la période des premiers mois, et aux enfants de moins de 6 ans. Afin de réduire le risque de réaction allergique, il est préférable de la mélanger à une autre huile.

Les données toxicologiques de la gomme mastic ont été rapportées concernant la toxicité aigüe, irritation de la peau et la phototoxicité chez les animaux et les humains (**Spott et al., 1970 ; Keynan et al., 1997 ; Ford et al., 1992**).

V. Activités biologiques de *Pistacia lentiscus* :

De nombreuses études ont démontré les activités biologiques de *Pistacia lentiscus*. Le **tableau II** résume les activités biologiques des extraits obtenus à partir des différents organes de *Pistacia lentiscus* rapporté par la littérature.

Tableau II : Les différentes activités biologiques du *Pistacia lentiscus*.

Activités Biologiques	Partie utilisée	Métabolites / Extraits	Références
Anti-oxydante	Fruits	Acide Digallique	Bhourri et al., 2010
		Extrait hydro-Alcoolique	Remila et al., 2015
	Feuilles	Huile Essentielle	Barra et al., 2007
		Fractions aqueuses de chloroforme et d'hexane	Atmani et al., 2009
	Mastic	Extrait aqueux de résine	Sakagami et al., 2009
Antimicrobienne et Antivirale	Feuilles	Huile Essentielle	Djenane et al., 2011
	Fruits	Huile végétale	Mezni et al., 2015
		Extrait phénolique	Mezni et al., 2015
	Mastic liquide	Extrait aqueux de Mastic	Sakagami et al., 2009
Antifongique	Feuilles	Huile Essentielle	Ismail et al., 2013
Anti-inflammatoire	Feuilles	Extrait aqueux, chloroforme, éthyl-acétate et méthanol	Dellai et al., 2013
	Fruits	Huile végétale	Ben Khedir et al., 2016
		Extrait hydro-Alcoolique	Remila et al., 2015
Anti-diabétique	Fruits	Huile végétale	Djerroua et al., 2011
		Extrait éthanolique, fractions aqueuses et organiques	Mehenni et al., 2016
Anti-cancéreuse	Feuilles	Extrait hydro-Alcoolique	Remila et al., 2015
hépatoprotectrice	Feuilles	Extrait éthanolique, fractions aqueuses et organiques	Mehenni et al., 2016
Anti-ulcère	Fruits	Huile végétale	Naouar et al., 2016

***COMPOSÉS PHÉNOLIQUES,
STRUCTURE ET
PROPRIÉTÉS***

Les polyphénols constituent une famille de molécules organiques largement présente dans le règne végétal. Parmi ces métabolites on cite : les acides phénoliques, les flavonoïdes et les tannins qui sont les principales classes majeures des polyphénols et sont groupés selon la présence des divers substituants sur les noyaux et selon leur degré de saturation. Ils sont souvent attachés aux molécules de sucre pour augmenter leur solubilité dans l'eau, ils sont présents naturellement dans de nombreux fruits et légumes, ils confèrent aux produits végétaux frais et transformés certaines de leurs propriétés organoleptiques majeures (**Chira et al., 2008 ; Berboucha, 2005 ; Mezni et al., 2018**).

Ils constituent les principes actifs de nombreuses plantes médicinales. Ils sont trouvés, d'une manière générale dans toutes les plantes vasculaires, où ils peuvent être localisés dans divers organes : racines, tiges, bois, feuilles, fleurs et fruit (**Reven et al., 2014**).

I. Définition des polyphénols

Les polyphénols sont des micro-constituants végétaux abondants dans nos aliments. Ces composés sont reconnus pour leur forte bioactivité qui se traduit au niveau de l'organisme par une large gamme de propriétés biologiques (**Morand et al., 2014**).

L'appellation « polyphénols » ou « composés phénoliques » regroupe un vaste ensemble de plus de 8 000 molécules, divisées en une dizaine de catégories chimiques, qui présentent toutes un point commun : la présence dans leur structure d'au moins un cycle aromatique à 6 atomes de carbones, lui-même porteur d'un nombre variable de fonctions hydroxyles (OH). Les composés phénoliques sont hydrosolubles, de poids moléculaire compris entre 500 et 3000 Dalton. Ils peuvent aller de molécules simples, comme les acides phénoliques, à des composés hautement polymérisés, de plus de 3000 Dalton, comme les tanins (**Chira et al., 2008**).

II. Polyphénols présents dans lentisque :

A ce jour, plus de 8000 composés phénoliques ont été identifiés, dont la taille varie d'une certaine de daltons à plusieurs milliers de daltons, Il existe différentes classes de polyphénols, notamment : les acides phénoliques, les stilbènes, les tanins, les lignanes et les flavonoïdes.... Il est bien documenté que les espèces de Pistacia sont très riches en polyphénols, les feuilles contenaient des niveaux plus élevés de phénols totaux et de flavonoïdes par rapport à leurs homologues de fruits, mais la plus grande quantité de tanins a

été présentée par les fruits, ce qui est reflétée par une activité antioxydante totale très élevée (Mezni et al.,2018 ; Remila., 2015).

Une étude réalisée par **Mezni et al. (2018)** sur l'huile de lentisque récolté dans différentes localités en Tunisie a permis de quantifier quarante composés phénoliques et d'identifier dix-huit d'entre eux: Acide gallique, Tyrosol, Acide 4-hydroxyphénylacétique, Acide vanillique, Acide p-coumarique, Acide férulique, Trans-4-hydroxy Acide -3-méthoxycinnamique, acide o-coumarique, oleuropéine aglycone, lutéoline, kaempférol, naphthorésorcinol, acide salicylique, pinorésinol, apigénine, coumarine, acide carnosique et acide trans cinnamique.

La structure des composés phénoliques va du simple noyau aromatique de faible poids moléculaire jusqu'aux tanins complexes de très haut poids moléculaire, ils peuvent être classés par le nombre et l'arrangement des atomes de carbone les composant, en fonction de la nature de leur squelette carboné et en fonction de la longueur de la chaîne aliphatique liée au noyau benzénique (**Chira et al., 2008**).

II.1. Les acides phénoliques simples :

Les acides phénoliques sont des composés phénoliques possèdent une forme chimique simple allant du simple phénol en C6. Parmi les acides phénoliques les plus connus les acides benzoïques caractérisés par un squelette en C6-C1 et les acides cinnamiques de structure C6-C3 (**Macheix et al., 2005 ; Balasundram et al., 2006**) (**Tableau III, figure 06**).

Tableau III : Les deux classes des acides phénoliques (**Ghyath, 1999 ; Macheix, 2005**)

	Les acides hydroxybenzoïques	Les acides hydroxycinnamiques
Type de structure	C6-C1	C6-C3
Exemples	Acide salicylique, acide gallique, acide vanilique, acide syringique	Acide caféique, acide férulique, acide sinapique, acide p-coumarique

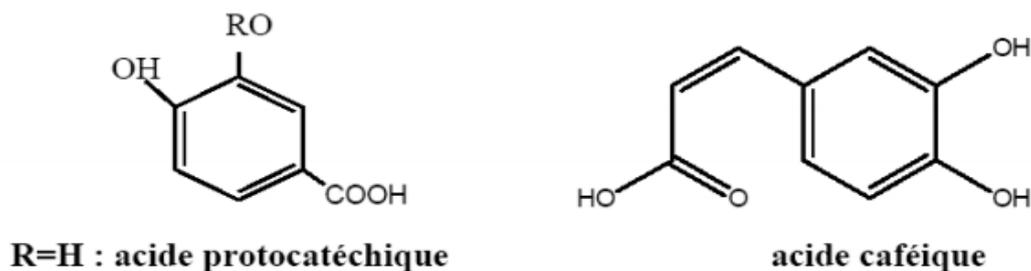


Figure 06 : Formules d'un acide benzoïque et d'un acide cinnamique.

(Ribereau, 1968 ; Guignard, 1996).

II.2. Les flavonoïdes :

Désignent une très large gamme de composés naturels appartenant à la famille des polyphénols. Ils sont considérés comme des pigments quasi universels des végétaux. Ils sont les plus abondants dans notre alimentation (Morand, 2013).

Les flavonoïdes sont des dérivés de l'enchaînement benzo- γ -pyrone peuvent être classés selon la nature des différents substituants présents sur les cycles de la molécule et du degré de saturation du squelette benzo- γ -pyrone, (figure 07). Ils se rencontrent sous forme libre ou sous forme de glycosides. Les flavonoïdes se répartissent en plusieurs classes des molécules (figure 08) dont les plus importants sont : flavanols, flavonols, flavones, isoflavones, flavanones et anthocyanes. Les anthocyanes se trouvent dans les fruits (les baies surtout), sont responsables de la couleur violette. Les principaux anthocyanes des baies de *Pistacia lentiscus* ont été identifiés comme étant le cyanidine 3-O-glucoside et le delphinidine 3-O-glucoside. Le cyanidine 3-O-arabinoside a également été trouvé en quantités mineures (Ghedira, 2005 ; Fusetti et al., 2002 ; Rodriguez-Matéos et al., 2013 ; Mezni et al., 2018).

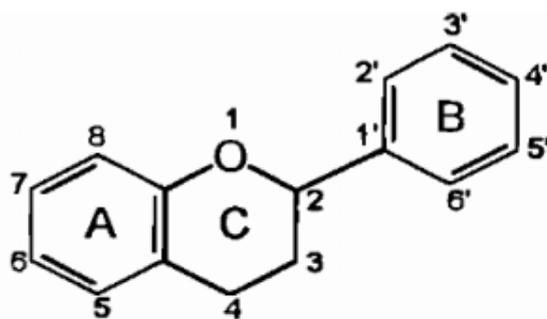


Figure 07 : Structure de base des flavonoïdes (Krishnaiah et al., 2001).

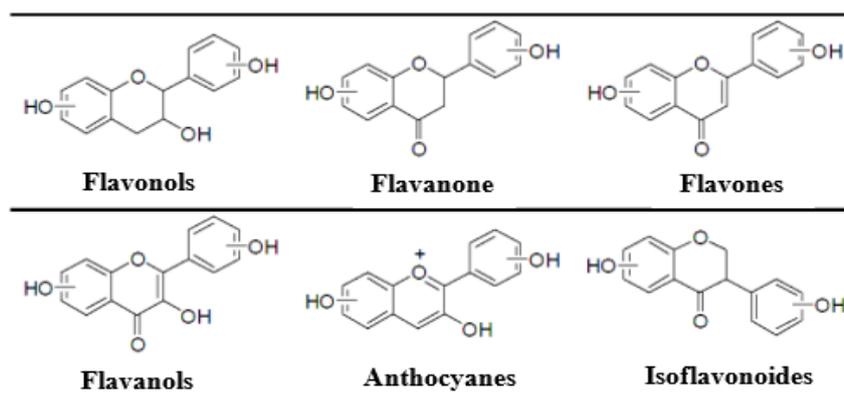


Figure 08 : Quelques composés phénoliques de la classe des flavonoïdes (Djedaia., 2017).

II.3. Les tanins :

Ces composés résultent généralement de la condensation des formes simples des flavonoïdes. Selon la nature des constituants impliqués et le type de condensation, on distingue : les tanins hydrolysables et les tanins condensés (Reed, 1995 ; Khanbabaee & Ree, 2001) (figure 09).

- Les tanins hydrolysables

Ce sont des oligo ou des polyesters d'un sucre et d'un nombre variable de molécules d'acides phénols, le sucre est généralement le glucose. Ils sont scindés en deux groupes : les tanins galliques (gallotannins) et les tanins éllagiques (Richeter, 1993).

- Les tanins condensés

Ils sont constitués par la polymérisation de molécules élémentaires qui possèdent des structures générales des flavonoïdes dont les plus importantes sont les flavan-3-ols (catéchines), et les flavan-3-4-diols (Hagerman, 2003).

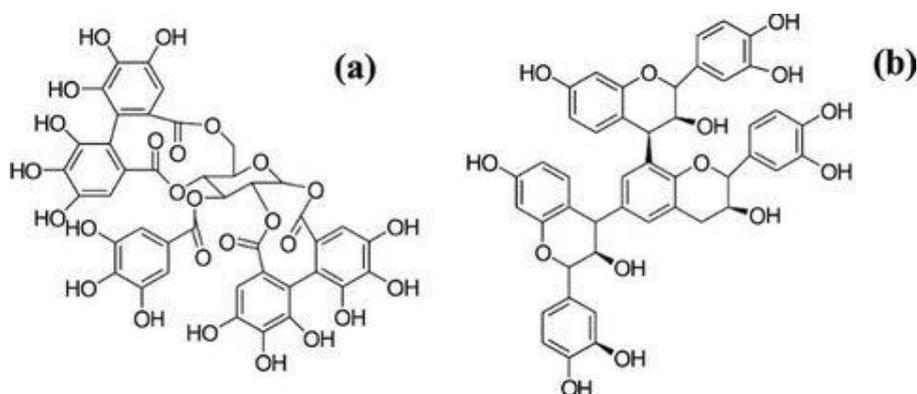


Figure 09 : Structure chimique des tanins hydrolysables (a) et condensés (b)(Bayart,2019).

III. Propriété des polyphénols :

Les polyphénols attirent de plus en plus l'attention des chercheurs et des industriels en raison de leur importance, ils présentent beaucoup d'effets bénéfiques pour la santé (Charrouf & Guillaume, 2007 ; Grolier et al., 2001).

Ils démontrent des propriétés préventives contre les maladies, les flavonoïdes en particulier s'avèrent être des composants sûrs, possédant une action biologique très diversifiée (Edeas, 2007).

III.1. Propriété antioxydante :

Les polyphénols grâce à leur propriété antioxydante jouent un rôle dans la santé humaine soit en tant que composants de la ration alimentaire, soit en entrant dans la composition de médicaments ou bien dans l'utilisation en agroalimentaire. Comme les composés phénoliques ont un potentiel redox élevé, ils sont d'importants antioxydants capables d'agir comme de l'hydrogène. Donneurs, agents réducteurs et extincteurs d'oxygène singulet. La richesse des structures des polyphénols en résidus hydroxyles, leur confère une meilleure capacité à neutraliser les radicaux libres., ainsi, réduire le stress oxydant au niveau de l'organisme (Macheix et al., 2005 ; Mezni et al., 2018 ; Spencer et al., 2001 ; Morand et al., 2014).

Les polyphénols sont perçus comme des molécules « signal » qui pourraient stimuler les défenses antioxydantes d'une part via l'inhibition des activités enzymatiques pro-oxydantes et d'autre part via la modulation des voies de signalisation intracellulaires contrôlant l'expression des enzymes anti-oxydantes. Ils présentent une affinité pour une grande variété de protéines dont certains enzymes et récepteurs (Morand et al., 2014).

III.1.1. Propriété alimentaire :

Les polyphénols sont des molécules antioxydantes naturelles intéressantes pour la conservation des aliments, qui peuvent constituer une alternative aux conservateurs artificiels (Edeas, 2007 ; Mezni et al., 2018).

Ils jouent un rôle essentiel dans la détermination des caractéristiques organoleptiques de la plante, en plus de leurs contributions à la couleur et à l'arôme, ils jouent un rôle déterminant en termes de goût, notamment les sensations d'astringence et d'amertume (Touafek, 2010 ; Kanoun, 2011 ; Mezni et al., 2018).

III.1.2. Propriété cosmétique :

Les laboratoires pharmaceutiques ont mis au point des produits cosmétiques contenant des polyphénols Pour lutter plus efficacement contre la production de radicaux libres néfastes à la santé et à la beauté de la peau (effet protecteur vis-à-vis des rayons UV) (**Edeas, 2007**).

III.1.3. Propriétés thérapeutiques des polyphénols :

Les maladies infectieuses et parasitaires constituent un problème de santé publique à cause de leur fréquence et de leur gravité, les polyphénols jouent un rôle important dans la prévention de ces maladies dégénératives telles que le cancer, les maladies cardiovasculaires, inflammatoires et neurodégénératives ainsi les flavonoïdes surtout sont également connus pour leurs effets antiallergiques (**Basli., 2012 ; Mezni et al., 2018 ; Chira et al., 2008 ; Ghedira, 2005**).

Les polyphénols présents dans lentisque représentent une source intéressante pour le développement de nouveaux agents antioxydants, anti-inflammatoires et anticancéreux (**Remila., 2015**),

III.2. Rôle des polyphénols dans les plantes :

Les composés phénoliques ont un rôle important dans la croissance des plantes et la lutte contre l'infection causée par les champignons ou par des bactéries, ils protègent les plantes les rayonnements solaires (par l'absorption rayonnements UV), agissent comme des pigments ou des co-pigments, sont à l'origine des goûts amers et astringents afin de repousser les animaux herbivores, ainsi ils permettent aux plantes de se défendre contre les phénomènes d'oxydation, certaines agressions extérieures et contre le pourrissement (**Sarni, 2006 ; zaghad, 2009 ; Menat, 2006**).

PARTIE
EXPÉRIMENTALE

MATÉRIEL
ET MÉTHODES

I. Matériel végétale :

Les baies de lentisque sont récoltées selon les conditions réunies dans le **tableau IV**. Le choix des fruits a été porté sur des arbustes dont le stade de pigmentation des baies a été semi-noir ou noir. Les fruits sont lavés et séchés avant l'extraction de l'huile.

Tableau IV : Récapitulatif des conditions de récoltes.

Nom Botanique	Date de récolte	Lieu	Organes	Stade de maturation	Saison	Milieu végétatif
<i>Pistacia lentiscus</i>	Décembre 2019	Wilaya de Bejaia (Barbacha)	Graines	Fruits murs de couleur noir	Hiver	Forêt

L'extraction de l'huile de pistachier a été effectuée par pressage des graines selon une méthode traditionnelle. Le marc a été séparé et récupéré, ensuite étalé et séché à l'air libre. Après séchage, une certaine quantité a été prise et broyée à l'aide d'un broyeur électrique jusqu'à l'obtention d'une poudre, puis tamisée par un tamis manuel dont les dimensions des pores sont $\leq 500 \mu\text{m}$ (poudre lisse sans grumeaux), cette dernière a été conservée dans une boîte en verre en attendant d'être analysée (**figure 10**).

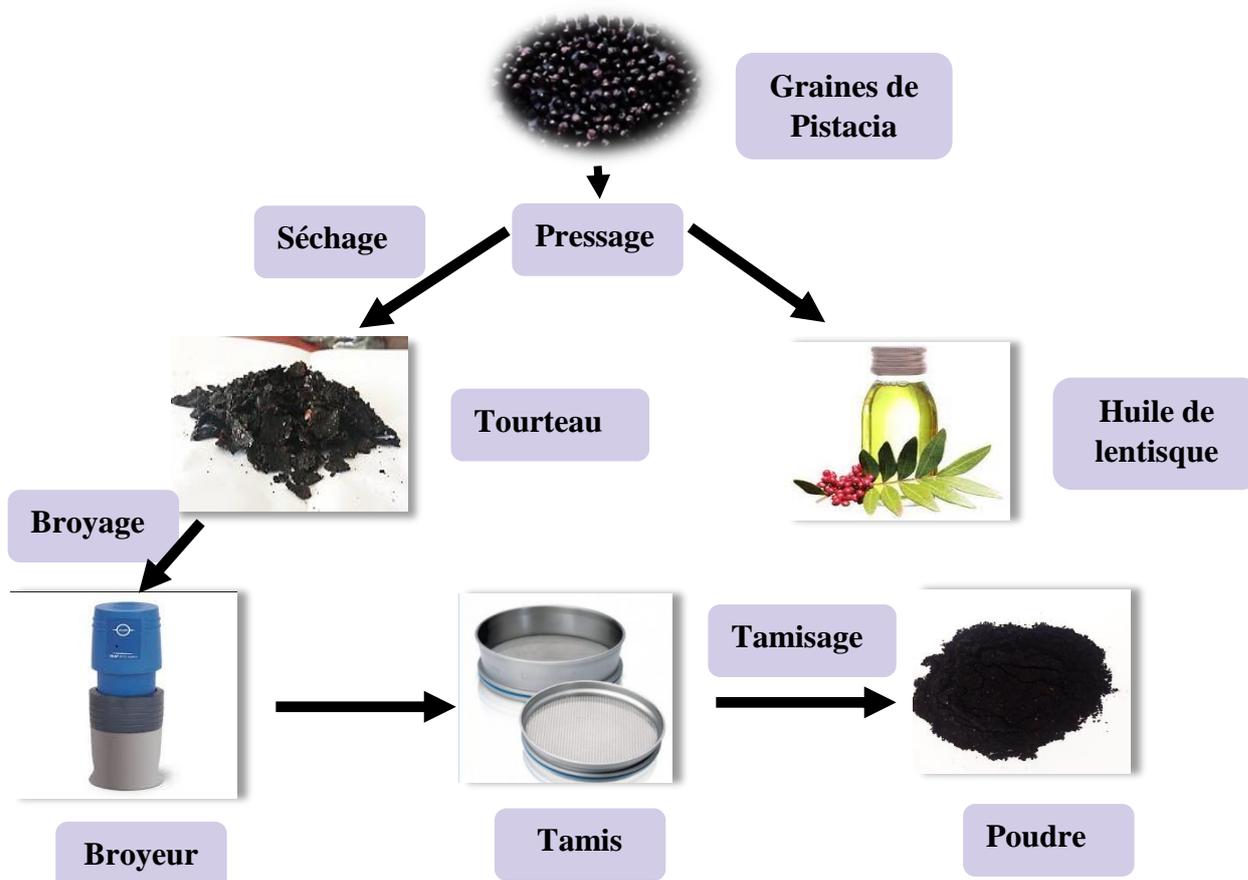


Figure 10 : Schéma détaillé du protocole suivi pour obtenir la poudre de *Pistacia*.

II. Méthodes expérimentales :

II.1. Extraction des composés phénoliques par sonication :

L'extraction par ultrasons peut être utilisée dans une variété de substrats végétaux pour extraire des antioxydants, y compris des composés phénoliques. De manière générale, le rendement et la cinétique d'extraction sont améliorés (Chemat et al., 2011).

L'extraction des composés phénoliques à partir des graines de *Pistacia lentiscus* a été réalisée à l'aide d'un équipement à ultrasons de Puissance de chauffage : 100W, Puissance ultrasonique : 120W, et de Fréquence : 40 kHz. Dans les liquides, la propagation des ondes provoque un cycle continu de compression (haute pression) et de raréfaction (basse pression). Cette différence de pression provoque un mouvement dans le fluide. Lors d'un cycle de raréfaction, les bulles de cavitations vont se former à partir des noyaux de gaz existant dans le fluide. Ces bulles formées, grossissent et implosent près d'une surface solide, l'implosion de la cavité est asymétrique et produit des jets de liquide à grande vitesse ce qui perturbe les parois des cellules biologiques, facilitant ainsi la libération du contenu (Chemat et al., 2011).

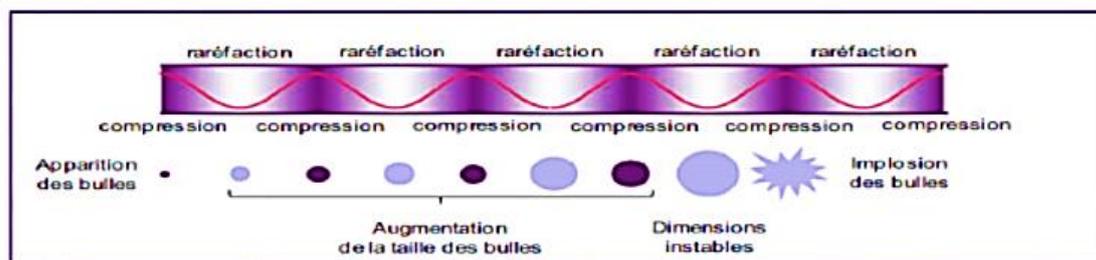


Figure 11 : Représentation des bulles de cavitation sous l'effet des ultrasons (Mason & Paniwnyk, 2000).

III. Optimisation des conditions de l'extraction des polyphénols :

III.1. Essais préliminaires :

Des essais préliminaires sont effectués, selon le modèle classique d'extraction en variant un paramètre et fixant les autres. Ces essais préliminaires sont effectués sur poudre de noyaux de *Pistacia lentiscus*. Le solvant utilisé est l'éthanol qui est un solvant polaire non toxique très utilisé dans l'extraction des composés phénoliques.

Afin de pouvoir choisir la meilleure concentration, pour extraire les composés phénoliques de la poudre des graines de *Pistacia lentiscus*, une série d'essais est réalisée avec quatre concentrations d'éthanol : 20%, 40%, 60% et 80%.

L'extraction est effectuée en utilisant 1g de poudre dans 20ml de solvant pendant 20 min à 40°C. Le choix de la concentration d'éthanol adéquate est déterminé selon la teneur en polyphénols totaux extraite. Puis on joue sur la température en gardant les mêmes conditions, et de la même façon on détermine la meilleure concentration et la meilleure température.

Après avoir identifié les paramètres précédents, le temps et le ratio optimale pour l'extraction ont été déterminés.

Les données des conditions d'extraction sont mentionnées ci-dessous :

- **Concentrations d'éthanol** : 20%, 40%, 60% et 80%.
- **Températures d'extraction** : 20°C, 40°C, 60°C puis 70°C.
- **Temps d'extraction** : 5min, 10min, 15min, 20min, 35min, 70min et 120min.
- **Ratio** : 10ml /g, 20 ml/g, 30ml/g, 40 ml/g et 50ml/g.

La figure suivante présente le protocole détaillé de l'extraction des polyphénols totaux de la poudre des fruits de *Pistacia lentiscus* :

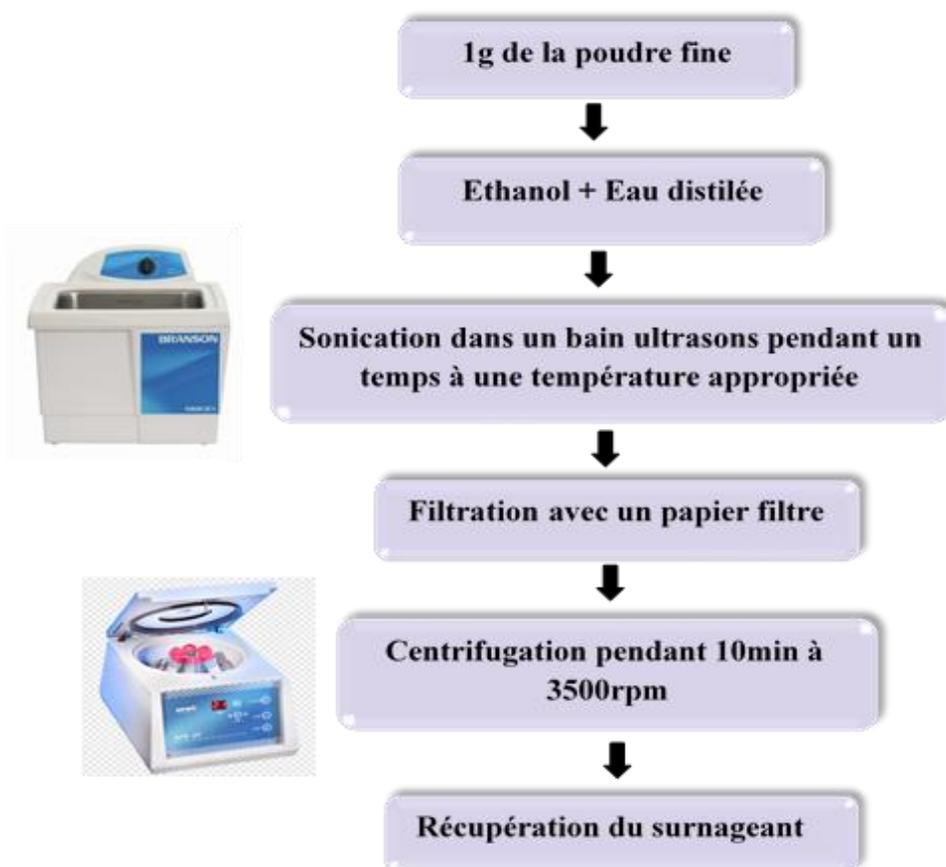


Figure 12 : Protocole d'extraction des polyphénols totaux de la poudre des fruits.

III.2. Plan d'expérience :

Les plans d'expériences permettent de mieux organiser les essais accompagnant la recherche scientifique ou les études industrielles, et d'obtenir le maximum d'informations avec un minimum d'expérimentations (Goupy & Creighton, 2005).

Dans le cadre de notre étude le type de modèle choisi est le plan de Box-Behnken, qui est un modèle de second degré à plusieurs variables, facile à mettre en œuvre (Goupy & Creighton, 2005).

L'étude préliminaire menée a permis la détermination du domaine expérimentale en fixant les niveaux bas et haut de chaque variable affectant le rendement de l'extraction.

Trois facteurs (A, B, et C) à trois niveaux (-1, 0 et +1) sont appliqués pour optimiser l'extraction des polyphénols à partir de la poudre (Tableau V).

15 expériences ont été réalisées de manière à pouvoir estimer le modèle mathématique de la réponse étudiée.

Tableau V : Variables indépendantes et niveaux de facteurs affectant l'extraction assistée par ultrasons.

Les variables indépendantes	Niveaux des facteurs		
	-1	0	+1
A : Concentration d'éthanol	20%	40%	60%
B : Température d'extraction	20°C	40°C	60°C
C : Temps d'extraction.	15min	60min	105min

III.3. Dosage des polyphénols totaux :

III.3.1. Détermination de la teneur en polyphénols totaux :

La teneur en composés phénoliques du marc de *Pistacia lentiscus* est estimée par la méthode de Folin-Ciocalteu en utilisant l'acide gallique comme standard.

❖ Principe :

Le Folin-Ciocalteu est un réactif composé de deux acides (acide phosphotungstique et acide phosphomolybdique) qui se réduisent en milieu basique en tungstène et en molybdène par les composés phénoliques, conduisant à l'apparition d'une couleur bleue (Boizot et al., 2006).

L'intensité de cette coloration est proportionnelle avec le taux des composés phénoliques présents dans le milieu.

❖ Mode opératoire :

Un volume de 200 µl d'extrait a été ajouté à un volume de 1 ml de Folin-Ciocalteu (dilué 10 fois). Après 5 minutes d'agitation rigoureuse au vortex, 1 ml du réactif de carbonate de sodium Na_2CO_3 (6%) a été additionné au mélange. Les mélanges ont été incubés ensuite pendant 30 minutes à température ambiante. L'absorbance a été mesurée à 750 nm par un spectrophotomètre UV contre un échantillon à blanc sans extrait. Toutes les mesures ont été réalisées en trois exemplaires. Le protocole de dosage des polyphénols totaux est illustré dans la **Figure 13**.

La concentration en composés phénoliques totaux des extraits de *Pistacia lentiscus* a été calculée à partir de la courbe d'étalonnage d'acide gallique par l'équation de régression ($y = 10,01x + 0,03$).

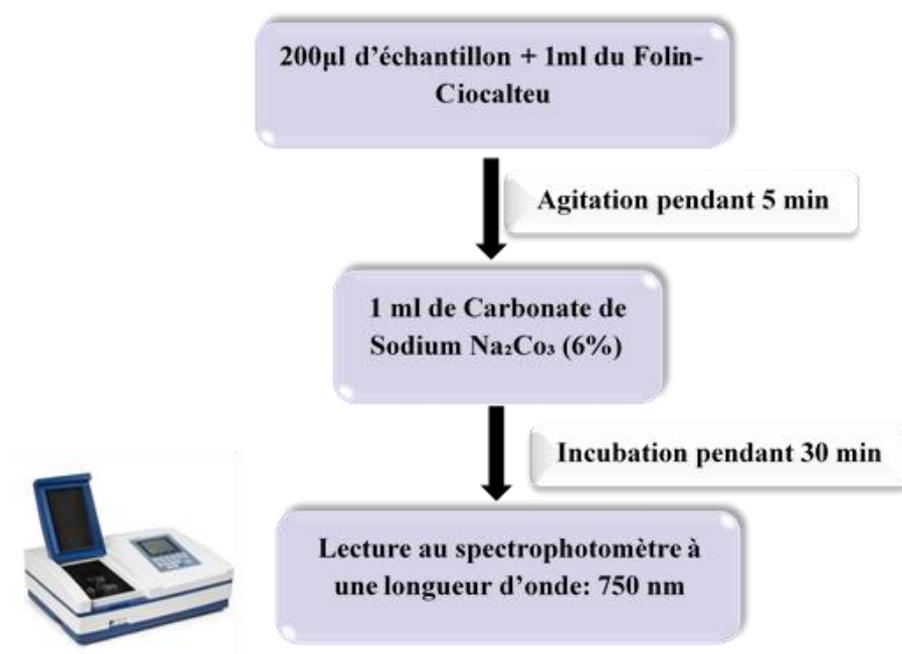


Figure 13 : Protocole expérimental du dosage des polyphénols.

IV. Évaluation de l'activité antioxydante des polyphénols :

IV.1. Piégeage du ABTS•⁺ (2,2'-azynobis- [3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid]) :

❖ Principe :

Cette méthode est basée sur la capacité d'un antioxydant à piéger le cation radical ABTS•⁺ (2,2'-azinobis (3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique)) de coloration bleue verte en le transformant en ABTS-H + incolore, par un don d'hydrogène. La décroissance de l'absorbance causée par l'antioxydant reflète la capacité de capture du radical libre (Antolovich et al., 2002).

❖ Le mode opératoire

Une solution d'ATBS a été préparée avec 7mM et 2,45 mM de persulfate de potassium dans 25 ml d'eau distillée, qui a été incubée à l'obscurité pendant 12-16 h à 4°C avant utilisation. Cet intervalle de temps permet la génération du radical ABTS•⁺. La solution obtenue est bleue verte et stable. La solution d'ABTS concentrée a été diluée avec de l'éthanol 96 % pour donner une solution avec une absorbance finale de $0,70 \pm 0,002$ à 734 nm (Deing et al., 2017). Le mode opératoire est détaillé dans la **figure 14**.

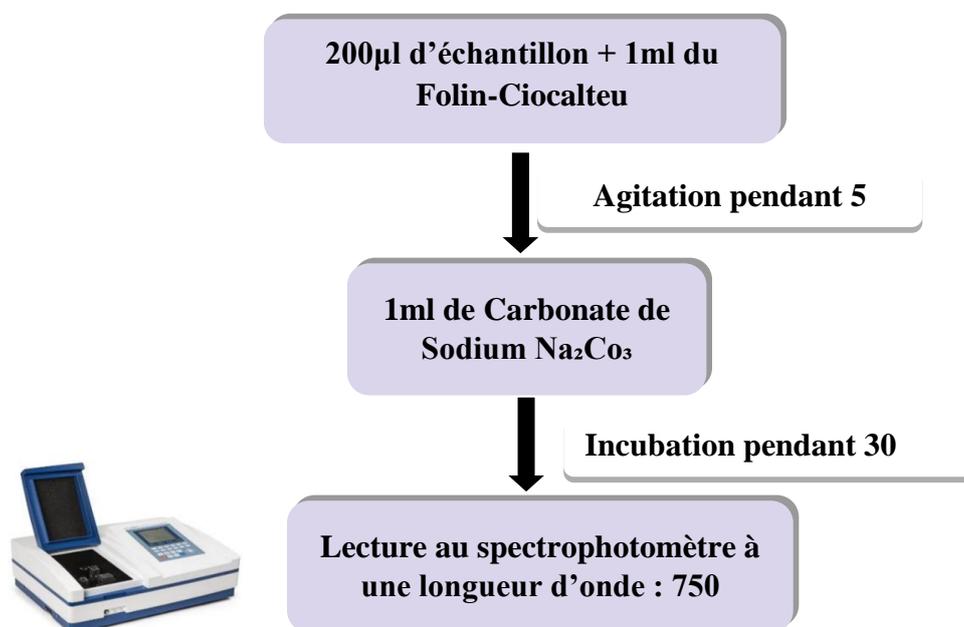


Figure 14 : Protocole du test d'ABTS.

Le pouvoir anti-radicalaire de l'extrait a été exprimé en pourcentage d'inhibition du radical ABTS•⁺ par la relation suivante :

$$\text{PI}\% = [(\text{Abs contrôle} - \text{Abs Echantillon}) / \text{Abs contrôle}] \times 100$$

Abs Echantillon : Absorbance des extraits, après 30 minutes, à 734 nm.

Abs Contrôle : Absorbance du contrôle après 30 minutes à 734 nm.

Analyse statistique

Les évaluations statistiques ont utilisé l'analyse de variance à sens unique (ANOVA). Les résultats ont été considérés comme statistiquement significatifs à $p < 0,05$. Le logiciel JMP version 10 a été utilisé dans le travail d'optimisation.

RÉSULTATS ET DISCUSSION

I. Extraction par ultrasons :

L'extraction assistée par ultrasons (EAU) est largement utilisée ces derniers temps pour ses avantages, sa capacité à utiliser moins ou pas de solvant organique, sa nature en tant que méthode d'extraction physique, sa simplicité d'opération, son efficacité d'extraction, sa capacité à préserver l'activité biologique des composés extraits, moins de dépendance au temps, et sa capacité à être mis en œuvre au niveau industriel, entre autres., il est nécessaire d'optimiser le protocole d'extraction pour s'assurer que les meilleurs résultats sont obtenus en termes de rendements d'extraction et de préservation des activités biologiques. Les résultats des EAU dépendent largement du type de matériel végétal, du solvant d'extraction et des paramètres d'extraction. Cela signifie que pour chaque matériel végétal des conditions s'extraction doivent être optimisé (**Dzah et al., 2021**).

II. Etudes préliminaire pour la sélection de conditions d'extraction appropriées :

Les études préliminaires permettent la détermination du domaine expérimental pour chaque variable indépendante ce qui permettra la construction du plan d'expérience.

II.1. Effet de la concentration du solvant :

Les propriétés physico-chimiques des solvants d'extraction utilisés pour les EAU sont importantes car elles définissent la nature du milieu d'extraction et interagissent avec le matériau traité et les composés extraits (**Dzah et al., 2021**).

Le mélange solvant-eau semble très efficace pour l'extraction des polyphénols, car l'eau en combinaison avec le solvant contribue à la création d'un milieu modérément polaire qui assure à la fois l'extraction des composés phénoliques et la préservation de leur activité antioxydante (**Chirinos et al., 2007**).

L'éthanol a été utilisé dans cette étude pour son aptitude à extraire les composés phénoliques et pour sa faible toxicité envers l'homme et l'environnement. Cependant, il est aussi important de déterminer sa concentration idéale. Donc on réalise plusieurs extractions dans les mêmes conditions, en variant la concentration de l'éthanol, l'influence de cette dernière sur le rendement en composés phénoliques totaux est illustrée dans **la figure 15** :

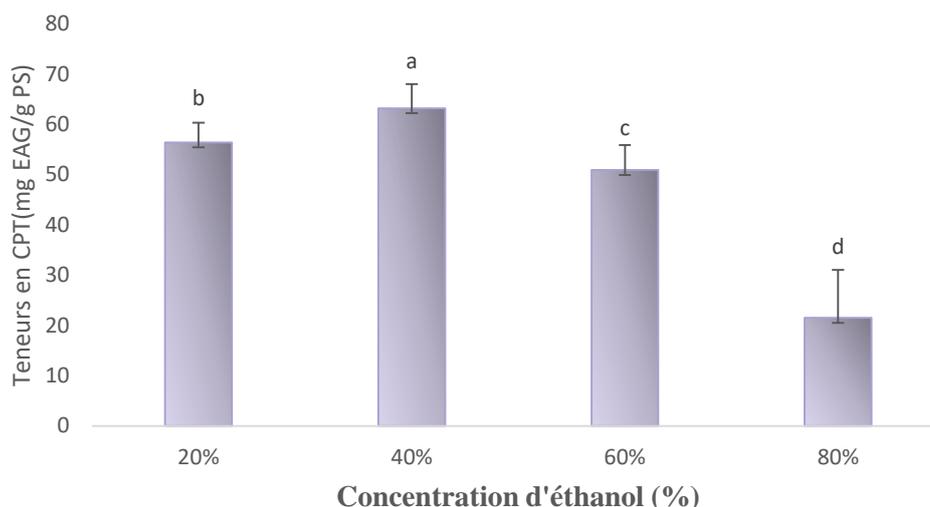


Figure 15 : Effet des différentes concentrations de l'éthanol sur l'extraction des polyphénols.

La barre verticale représente l'écart-type. La valeur représente la moyenne de 3 mesures \pm écarts type. Les valeurs avec les différentes lettres (a-b-c-d) sont significativement différentes (Tukey, $p < 0.05$) pour les différentes variétés. Les résultats sont classés en ordre descendant : $a > b > c > d$.

L'étude statique a montré que la teneur maximale en CPT (63,20mg EAG/g) a été obtenue avec de l'éthanol à 40%, alors que l'éthanol 80% a donné le taux le plus bas de 21,51mg EAG/g de poudre.

L'éthanol à 40% étant le plus efficace pour l'extraction des composés phénoliques totaux est fixé pour les expériences de l'étude préliminaire, la gamme de concentration de 20-60% a été choisie pour les essais de MSR.

II.2. Effet du temps sur l'extraction :

Le temps d'extraction est un paramètre très important dans la procédure d'extraction des polyphénols, il peut varier de quelques minutes à 24 heures. Le temps pendant lequel le solvant et le matériel végétal sont mis en contact peut influencer la libération successive de solutés à partir de la matrice végétale vers le solvant, donc cela affecte l'efficacité de l'extraction (Lapornik et al., 2005 ; Lee et al., 2005 ; Michiels et al., 2012).

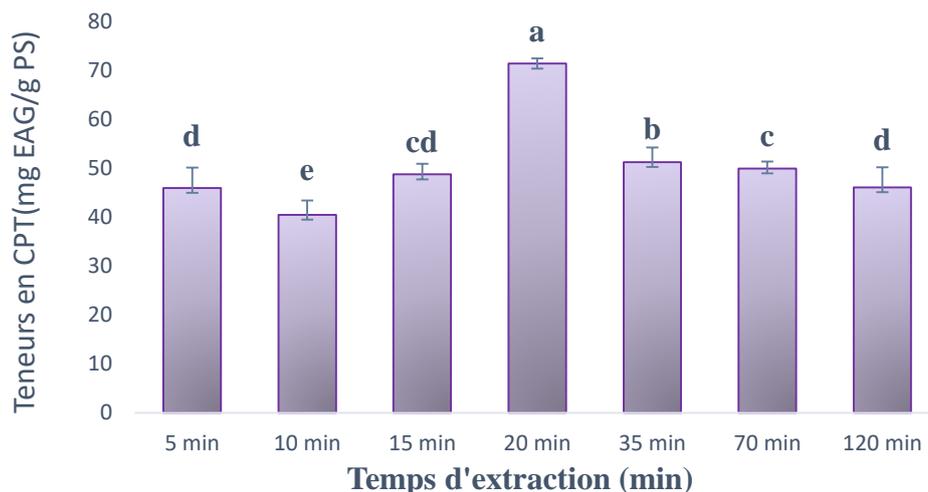


Figure 16 : Effet du temps sur l'extraction des composés phénoliques.

La barre verticale représente l'écart-type. La valeur représente la moyenne de 3 mesures \pm écarts type. Les valeurs avec les différentes lettres (a-b-c-d) sont significativement différentes (Tukey, $p < 0.05$) pour les différentes variétés. Les résultats sont classés en ordre descendant : $a > b > c > d$.

La teneur en CPT augmente de 40,49 mg EAG/g à 71,46 mg EAG/g avec le temps d'extraction allant de 5 à 20 min et au de-là de 20 min la teneur en CPT diminue jusqu'à ce qu'elle atteigne 46,12 mg EAG/g vers 120 min (**figure 16**). On peut déduire qu'un temps de contact prolongé n'améliore pas toujours l'efficacité de l'extraction en favorisant la détérioration des composés phénoliques (**Santos-Buelga et al., 2012**).

Le temps de 20 min a été choisi pour les prochains essais à facteur unique, tandis que la gamme 15-105 min a été choisie pour les essais de MSR.

II.3. Effet de la température :

La température est un facteur important affectant l'extraction des composés bioactifs de la matrice végétale. Le chauffage pourrait ramollir le tissu végétal et affaiblir les interactions phénol-protéine et phénol-polysaccharide, donc plus de polyphénols migreraient dans le solvant, cela pourrait expliquer l'augmentation du rendement en TPC lors de l'augmentation de la température (**Mokrani & Madani, 2020**).

L'étude statistique (**figure 17**) a montré que de la teneur en TPC diminue de 92,63 mg EAG/g à 24,06 mg EAG/g de MS proportionnellement avec l'augmentation de la température allant de 20 à 60, éventuellement en raison de la dégradation des composés phénoliques à des températures élevées (**Careri et al., 2000**). Une légère augmentation de TPC a été observée à 70°C. Donc on a procédé à la sélection de la meilleure température qui est 20°C.

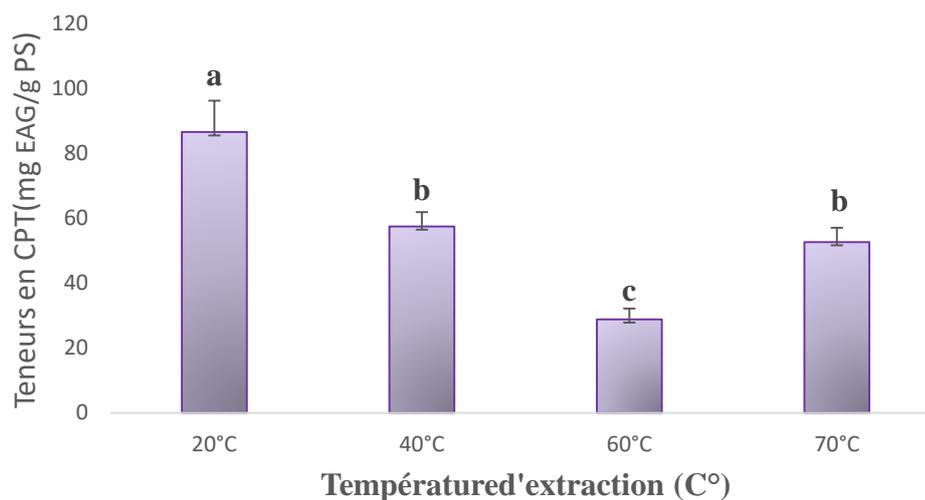


Figure 17 : Effet de la température sur l'extraction des polyphénols.

La barre verticale représente l'écart-type. La valeur représente la moyenne de 3 mesures \pm écarts type. Les valeurs avec les différentes lettres (a-b-c-d) sont significativement différentes (Tukey, $p < 0.05$) pour les différentes variétés. Les résultats sont classés en ordre descendant : $a > b > c > d$.

II.4. Effet du ratio :

Le volume de solvant doit toujours être suffisant pour garantir que l'ensemble de l'échantillon est immergé pendant le processus d'extraction. En général, dans les techniques d'extraction conventionnelles, un volume de solvant plus élevé augmente la performance d'extraction (Mandal & Mandal, 2010).

Dans la présente étude il a été procédé à la détermination du ratio volume du solvant d'extraction / poids de la poudre du marc, en fixant le solide à 1g (la poudre) et en variant le liquide : 10, 20, 30, 40 et 50 ml. Les autres paramètres déterminés précédemment ont été fixés. Le meilleur ratio d'extraction a été choisi sur la base de la valeur la plus élevée en polyphénols totaux (Figure 18).

D'après ces résultats et l'étude statistique, on conclue que le ratio idéal pour l'extraction optimal des polyphénols est (1/30) qui est 1g de poudre dans 30ml du solvant avec une teneur en polyphénols extraite de 64,01mg EAG/ g de MS. le ratio 30 ml/g a été sélectionné pour l'optimisation MSR.

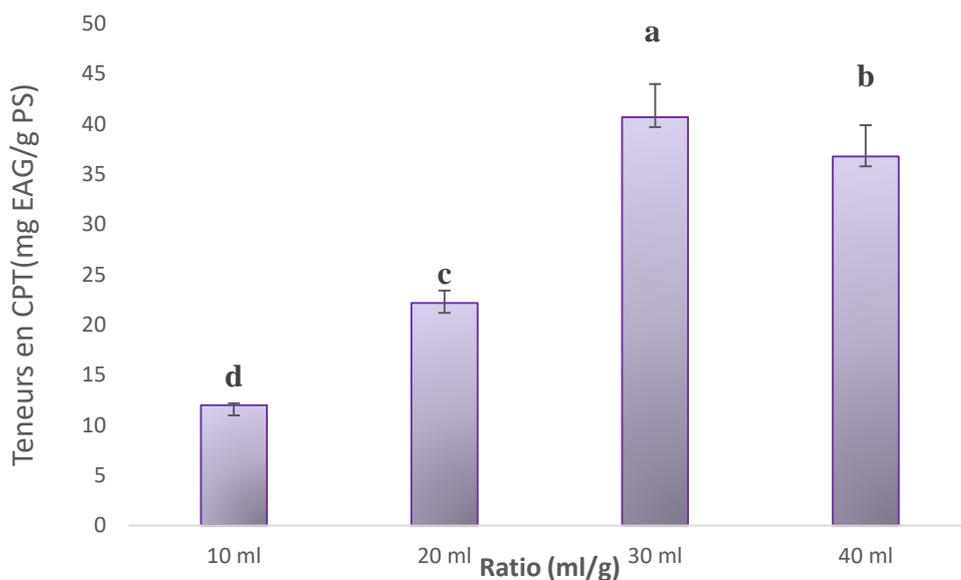


Figure 18 : Effet du ratio (liquide / solide) sur l'extraction des polyphénols.

La barre verticale représente l'écart-type. La valeur représente la moyenne de 3 mesures \pm écarts type. Les valeurs avec les différentes lettres (a-b-c-d) sont significativement différentes (Tukey, $p < 0.05$) pour les différentes variétés. Les résultats sont classés en ordre descendant : $a > b > c > d$.

III. Optimisation de la procédure d'extraction assistée par ultrasons :

III.1. Plan d'expérience :

La méthodologie de surface de réponse (MSR) est un ensemble de techniques mathématiques et statistiques qui permet d'optimiser les processus et d'évaluer les effets de différentes variables. Le principal avantage de la MSR est de réduire le nombre d'expériences nécessaires à l'évaluation des variables et de leurs interactions. Le plan d'expérience Box-Bhenken (BBD) est une technique multivariée de second ordre impliquant un plan factoriel incomplet à trois niveaux. Comparé à d'autres conceptions RSM, le BBD est plus efficace et plus facile à organiser et à interpréter des expériences (Feki et al., 2021).

En se basant sur les observations des études préliminaires, les gammes de chaque variable indépendante (concentration en éthanol, temps d'extraction et température) influençant le CPT ont été choisies.

Dans le cadre de notre étude, 15 expériences dont trois répétitions au point central ont été réalisées et exprimé dans le tableau suivant :

Tableau VI : Conception composite centrale à trois facteurs et trois niveaux utilisée pour le MRS et données expérimentales des réponses étudiées des extraits de graines de *Pistacia lentiscus*.

Essai	Concentration en éthanol (%)	Température (°C)	Temps (min)	CPT (mg /g PS)
1	60	40	105	80,07
2	40	40	60	88,39
3	20	60	60	78,4
4	60	40	15	58,89
5	40	60	105	97,17
6	40	40	60	85,39
7	20	40	15	51,31
8	60	20	60	85,22
9	40	40	60	81,89
10	40	20	105	98,85
11	40	60	15	66,29
12	20	40	105	72,35
13	20	20	60	88,96
14	40	20	15	70,68
15	60	60	60	93,69

Les résultats de la présente étude, montrent que les teneurs en composés phénoliques varient de 51,31 à 98,85mg EAG/g de MS, impliquant que les facteurs ont une influence significative sur le rendement d'extraction de ces composés bioactifs.

III.2. Modèle mathématique :

C'est un modèle polynomial de second ordre développé en mesurant l'association entre la réponse et les variables indépendantes (Feki et al., 2021).

Le modèle mathématique qui relie le rendement de l'extraction des TPC à partir du marc du lentisque par ultrasons est représenté par la relation suivante :

$$\text{TPC} = + 85,22 + 3,36*A - 1,02*B + 12,66*C + 4,76*AB + 0,035*AC + 0,68*BC - 9,47*A^2 + 9,47 B^2 - 11,44*C^2$$

III. Ajustement du model et signification des variables :

Pour évaluer la qualité de l'ajustement du modèle, différentes analyses statistiques descriptives telles que le coefficient de détermination (R^2), le coefficient de détermination ajusté ($Adj R^2$), le coefficient de détermination de prédiction ($Pred. R^2$) et le coefficient de variation (CV) ont été utilisés (**Tableau VII**). La valeur R^2 était de 0,98, ce qui implique que la variation de l'échantillon était statistiquement significative à 98% et que seulement 2% (approximativement) de la variance totale ne pouvait être expliquée par le modèle. En d'autres termes, un coefficient de détermination proche de 1 indique un degré élevé de corrélation entre les données observées et prédites (**Figure 19**). L' $Adj R^2$ et le $Pred R^2$ de CPT étaient également satisfaisants pour confirmer l'importance du modèle. Le $Pred R^2$ était en accord raisonnable avec l' $Adj R^2$, la différence entre les deux paramètres est inférieure à 0,10.

Le coefficient de variation (CV) décrit la mesure dans laquelle les données ont été dispersées. En général, une petite valeur de CV donne une meilleure reproductibilité, et un CV élevé indique que la variation de la valeur moyenne est élevée et ne développe pas de manière satisfaisante un modèle de réponse adéquat. En règle générale, le CV ne devrait pas être supérieur à 10%. Le CV se situait dans la plage acceptable (**Liyanapathirana & Shahidi, 2005 ; Prakash Maran & Manikandan, 2012**).

Tableau VII : Paramètres descriptifs de l'ajustement du modèle.

Std.Dev	3,47	R-carrés	0,98
Moyenne	79.84	R-carré ajusté	0,93
CV %	4,35	R-carré prédictif	0,74

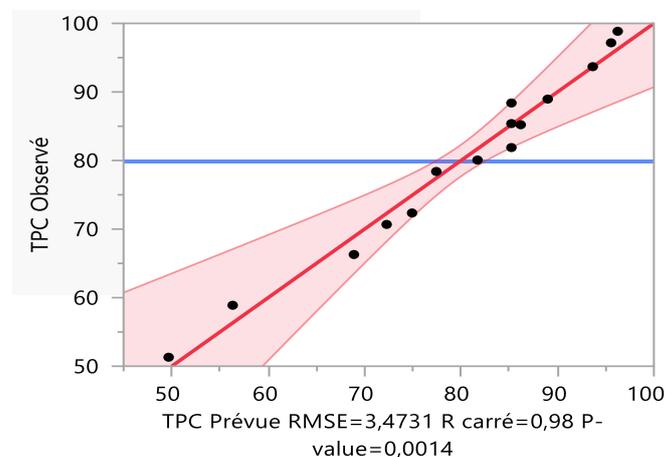


Figure 19 : Graphique des valeurs observées en fonction des valeurs prédites.

La signification de chaque coefficient a été déterminé en utilisant la valeur p . Cette dernière est utilisée comme un outil pour vérifier la signification de chaque coefficient et la force d'interaction entre deux variables indépendantes. La valeur p inférieure à 0,05 indique que les termes du modèle sont significatifs. L'analyse de la variance montre que le modèle quadratique adopté est adéquat pour prédire le rendement de l'extraction des composés phénoliques à partir du marc par les ultrasons.

Tableau VIII : Analyse de la variance (ANOVA) des expériences expérimentales.

Source	Sum of squares	df	Main Square	F-Value	P-value Prob > F
Modèle	2592,05	9	288,01	23,88	0,0014
A Concentration d'éthanol	90,12	1	90,12	7,47	0,0411
B Température	8,32	1	8,32	0,69	0,4440
C Temps	1281,95	1	1281,95	106,28	0,0001
AB	90,54	1	90,54	7,51	0,0408
AC	4,900E-003	1	4,900E-003	4,062E-004	0,9847
BC	1,84	1	1,84	0,15	0,7125
A²	243,70	1	243,70	20,20	0,0064
B²	331,01	1	331,01	27,44	0,0034
C²	483,58	1	483,58	40,09	/
Résiduel	60,31	5	12,06	/	/

III.4. Effets des facteurs :

III.4.1. Effet linéaire :

La concentration d'éthanol (A) ($p < 0,0411$) et le temps d'extraction (c) ($p < 0,0001$) ont un effet hautement significatif sur le taux de CPT extrait. Cependant la température (B) ($p < 0,440$) n'a pas un effet significatif.

III.4.2. Effet d'interaction :

Les résultats de la présente étude, montrent que l'interaction qui possède une influence hautement significative sur l'extraction des polyphénols de la poudre étudiée est A et B concentration de l'éthanol-température avec une probabilité de $p=0,04$. Cependant l'impact est non significatif pour les interactions AC et BC de probabilités $p=0,9847$ et $p=0,7125$ respectivement.

III.4.3. Effet quadratique :

D'après les résultats du **tableau VIII**, les effets quadratiques A^2 (concentration²), B^2 (température²), C^2 (temps²) sont hautement significatif sur la teneur en CPT, extraite de la poudre de graines de *Pistacia lentiscus* avec des probabilités respectives de $p = 0,0064$; $p = 0,0034$ et $p = 0,0014$.

III.5. Analyse de la surface de réponse :

Les résultats illustrés dans la **figure 20** montrent que la teneur en TPC atteint sa valeur maximale lorsqu'on utilise une concentration d'éthanol de 45 à 55% et un temps allant de 80 à 100 min.

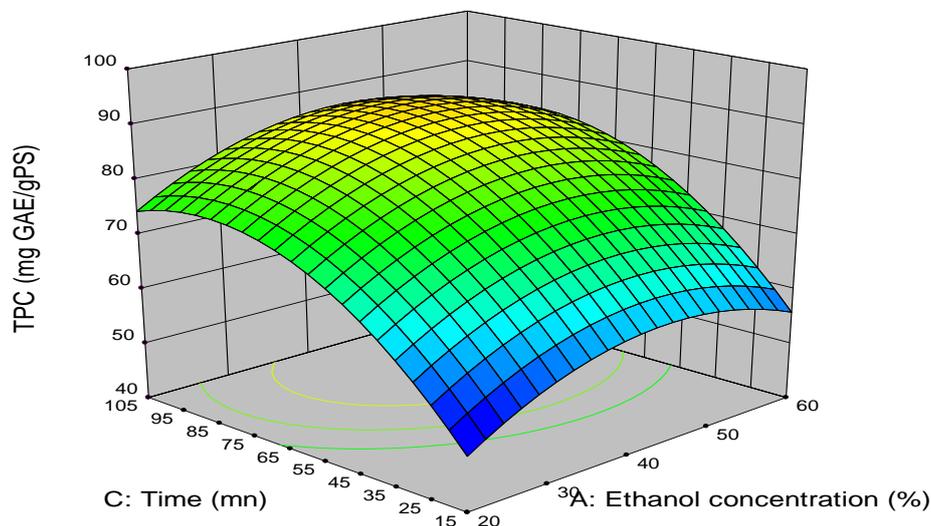


Figure 20 : Surface de réponse pour l'interaction concentration en éthanol/temps d'extraction sur la teneur en CPT.

L'interaction entre la température et la concentration d'éthanol **figure 21** montre que la teneur en CPT est élevée quand la température est à 20 et 60°C en parallèle avec une concentration d'éthanol (de 45 à 55 %). On remarque une légère diminution du rendement à une température d'environ 40°C.

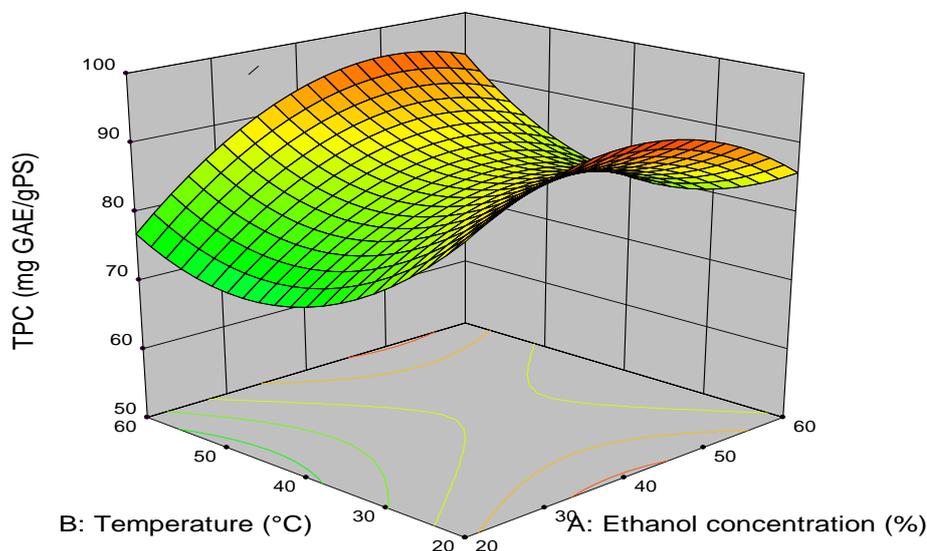


Figure 21 : Surface de réponse pour l'interaction concentration en éthanol/température d'extraction sur la teneur en CPT.

Comme la **figure 22** le montre, une augmentation du temps d'extraction de (80 à 100min) avec une température de 20°C et 60°C améliorent La teneur en TPC. Mais à une température de 30 à 40°C et un temps d'extraction inférieur à 35min, une diminution de TPC a été remarquée.

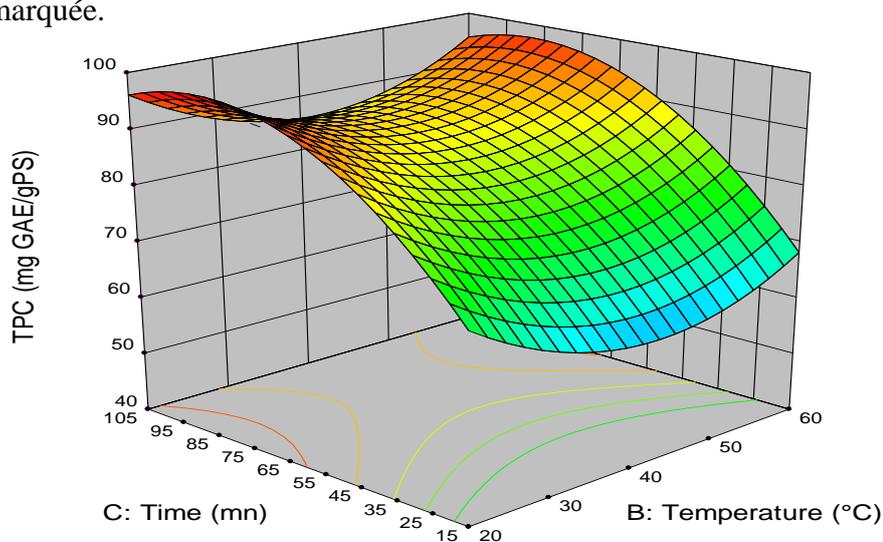


Figure 22 : Surface de réponse pour l'interaction /température d'extraction/temps d'extraction sur la teneur en CPT.

IV. Conditions d'extraction optimales :

En utilisant un modèle quadratique pour décrire l'expérience, nous avons optimisé trois variables expérimentales pour une extraction maximale des composés phénoliques du marc de *Pistacia lentiscus*.

L'optimisation à l'aide de la fonction de désirabilité (**figure 23**) a indiqué que les conditions optimales pour l'extraction des composés phénoliques avec une désirabilité de 0,97 étaient les suivantes :

- Solvant d'extraction : Ethanol 50%.
- Température d'extraction : 60°C.
- Temps d'extraction : 86min.

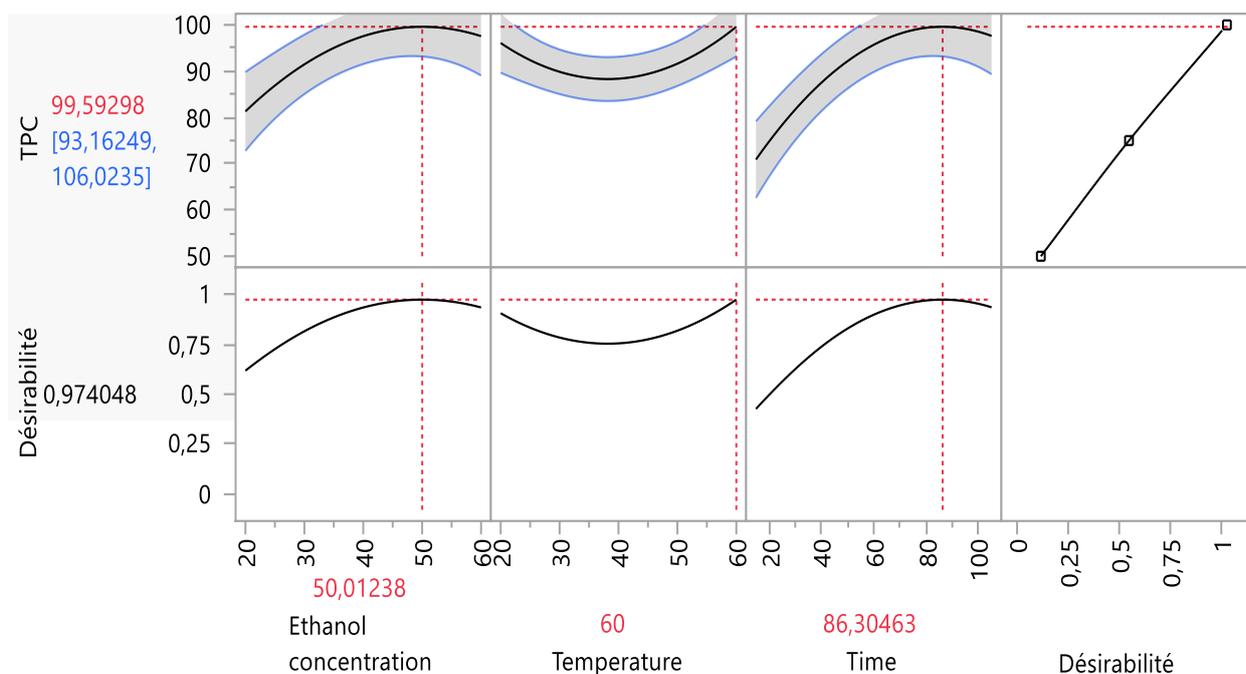


Figure 23 : Profils pour les valeurs prédites et la fonction de désirabilité.

V. Validation du modèle :

Les conditions optimisées obtenues par MRS ont été utilisées pour valider le modèle prophétique d'extraction des CPT à partir du marc de lentisque. Le **tableau IX** montre que les valeurs expérimentales sont raisonnablement proches des valeurs prévues confirmant la

validité et l'adéquation du modèle prévu. Il n'existe pas une différence significative entre la valeur prédite et la valeur expérimentale.

Tableau IX : Conditions optimales pour l'extraction des CPT (mg EAG/g) du marc de *Pistacia lentiscus*.

	Concentration d'éthanol (%)	Température (°C)	Temps d'extraction (min)	Valeur prédite (mg EAG/g)	Valeur Expérimentale (mg EAG/g)
CPT (mg EAG/g)	50	60	86	99,59±12,84	97,96±10,25

VI. Evaluation de l'activité antioxydante :

Les extraits de l'huile de lentisque présentent une activité antioxydante vis-à-vis du radical ABTS très proche à celle du Trolox (l'acide 3,4-dihydro-6-hydroxy-2,5,7,8-tétraméthyl-2H-1-benzopyran-2-carboxylique), qui est un analogue hydrophile de la vitamine E. Cela montre que l'extrait du marc de lentisque est riche en molécules antioxydantes.

Tableau X : Activité antioxydante de l'extrait du marc de lentisque comparé au Trolox.

	Extrait du marc de lentisque	Trolox
IC ₅₀ ABTS (mg/ml)	0,585	0,460

CONCLUSION

Cette étude a été menée dans le but d'extraire des composés phénoliques par ultrasons à partir du marc de *Pistacia lentiscus*, en optimisant les conditions d'extraction afin d'élaborer un procédé simple, rapide et efficace.

Un plan Box-Behnken, a été mis en place pour étudier l'effet de trois variables indépendantes : concentration de l'éthanol (%), temps (min), et température (°C) sur l'extraction des composés phénoliques totaux afin de définir un modèle mathématique permettant l'optimisation des conditions d'extraction. Une étude préliminaire a été effectuée en variant un paramètre et fixant les autres, ce qui a permis de définir les niveaux hauts et bas pour chaque facteur. Cette approche a permis de tirer les conclusions suivantes :

Le plan Box-Behnken a permis d'identifier les meilleurs paramètres d'extraction : éthanol 50%, à une température de 60°C pendant un temps d'extraction de 86min.

Le taux des composés phénoliques retrouvés, sous les conditions optimales, est de $97,96 \pm 10,25$ mg EAG/g de PS.

Le pouvoir anti radicalaire ABTS+ des extraits du marc de *Pistacia lentiscus* étudiées, a révélé une valeur de $IC_{50} = 0,585$ mg /ml qui est très proche à celle du Trolox 0,460 mg /ml.

En conclusion, les ultrasons ont assuré la facilité d'extraction par apport aux méthodes conventionnelles, et les rendements étaient meilleurs dans la plupart des cas. Les résultats obtenus indiquent que le marc de *Pistacia lentiscus* contient des quantités significatives de composés phénoliques.

Ces constituants pourraient être isolé pour être utilisés comme antioxydants naturels pour la fabrication des produits alimentaires fonctionnels, ou pour servir d'additifs dans les systèmes alimentaires afin d'augmenter leur durée de vie.

Perspectives :

- La caractérisation des polyphénols présent dans le marc de *Pistacia lentiscus*.
- Utilisation d'autres méthodes pour l'extraction des composés phénoliques : extraction par microonde.

RÉFÉRENCES
BIBLIOGRAPHIQUE

-A-

Aït youssef M. 2006. « Plantes médicinales de la kabylie ». Paris, p 260-263

Al-Habbal, Jamil M., Al-Habbal Z., Umer Huwez F, 1984. A Double-Blind Controlled Clinical Trial of Mastic and Placebo in the Treatment of Duodenal Ulcer. *Clinical and experimental pharmacology and physiology* : Vol. 11, No. 5, 541-544

Álvarez, R., A. Encina, et N. Pérez Hidalgo. 2009. « Histological Aspects of Three Pistacia Terebinthus Galls Induced by Three Different Aphids: Paracletus Cimiciformis, Forda Marginata and Forda Formicaria ». *Plant Science* 176(2): 303-14.

AL-Saghir, Mohannad G. 2009. « Phylogenetic Analysis of the Genus Pistacia L. (Anacardiaceae) Based on Morphological Data ». *Asian Journal of Plant Sciences* 9(1): 28-35.

Antolovich, M., Prenzler, P. D., Patsalides, E., McDonald, S., & Robards, K. 2002. « Methods for testing antioxidant activity ». *The Analyst*, 127, 183–198

Assimopoulou, A.N., Papageorgiou, V.P. 2005. « GC-MS analysis of penta- and tetra-cyclic triterpenes from resins of Pistacia species ». Part II. *Pistacia terebinthus* var. Chia. *Biomedical Chromatography*. 19: 586–605

Atmani D., Chaher N., Berboucha M., Ayouni K., Lounis H., & Boudaoud H. 2009. « Antioxidant capacity and phenol content of selected Algerian medicinal plants ». *Food Chemistry*, 112(2), 303-309.

- B -

Baba-Aissa, F. 1999. « Encyclopédie des plantes utiles, Flore d'Algérie et du Maghreb », p:1-218.

Balasundram, Nagendran, Kalyana Sundram, et Samir Samman. 2006. « Phenolic Compounds in Plants and Agro-Industrial by-Products: Antioxidant Activity, Occurrence, and Potential Uses ». *Food Chemistry* 99(1): 191-203.

Barra, Andrea et al. 2007. « Characterization of the Volatile Constituents in the Essential Oil of *Pistacia lentiscus* from Different Origins and its Antifungal and Antioxidant Activity ». *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 55(17): 7093-98.

- Basli, A., M. Chibane, K. Madani, et N. Oukil. 2012. « Activité antibactérienne des polyphénols extraits d'une plante médicinale de la flore d'Algérie : *Origanum glandulosum* Desf. » *Phytothérapie* 10(1): 2-9.
- Bayart M.. 2019. «Elaboration et caractérisation de biocomposites à base d'acide polylactique et de fibres de lin: compatibilisation interfaciale par depot de revetments à base d'epoxy, de dioxyde de titane, de lignine ou de tannin ». Thèse de doctorat.
- Bayer, E., Buttler, K.P., Finkenzeller, X. and Grau, J. 1987. « Guide de la flore méditerranéenne, caractéristiques, habitat, distribution et particularité de 536 espèces ». La Martinière Groupe, p: 94.
- Baytop, T., 1999. Therapy with medicinal plants in turkey- Past and Present, Second ed. Nobel Publishers, Istanbul.
- Bellakhdar J, 1997. La Pharmacopée Marocaine Traditionnelle : Médecine Arabe Et Savoirs Populaires. Editions Le Fennec, (Ed.) (Eds.), Ibis Press, Casablanca, Morocco : 764p
- Belhadj, S. 2002. « Geographical distribution of *Pistacia atlantica* desf. In Algeria ». *Acta Horticulturae* (591): 499-503.
- Berboucha, M., Ayouni, K., Atmani, D., and Benboubetra, M. 2010. « Kinetic Study on the Inhibition of Xanthine Oxidase by Extracts from Two Selected Algerian Plants Traditionally Used for the Treatment of Inflammatory Diseases ». *J of Medicinal Food*, 13 (4): 1–9.
- Ben Douissa Faouzia, Nawel Hayder, Leila Chekir-Ghedira, Mohamed Hammami, Kamel Ghedira, Anne-Marie Mariotte, Marie-Geneviève Dijoux-Franca., 2005. « New study of the essential oil from leaves of *Pistacia lentiscus* L ». (Anacardiaceae) from Tunisia.
- Bhour, W., Derbel, S., Skandrani, I., Boubaker, J., Bouhlel, I., B. Sghaier, M., Kilani S., Mariotte, A. M. ; Dijoux-Franca, M. G.; Ghedira, K. and Chekir-Ghedira, L. 2010. « Study of genotoxic, antigenotoxic and antioxidant activities of the digallic acid isolated from *Pistacia lentiscus* fruits ». *Toxicology in Vitro*, 24: 509–515
- Bimakr, Mandana, Ali Ganjloo, Soheila Zarringhalami, et Elham Ansarian. 2017. « Ultrasound-Assisted Extraction of Bioactive Compounds from *Malva Sylvestris* Leaves and Its Comparison with Agitated Bed Extraction Technique ». *Food Science and Biotechnology* 26(6): 1481-90.

Bonnier, G., Douin, R. 1934. « Flore complète illustrée en couleurs de France, Suisse et Belgique ». Librairie Générale de l'Enseignement. Paris. 12 tomes. 120 fasc. 721 p.

Boudjouref M. 2011. « Etude de l'activité antioxydante et antimicrobienne d'extraits d'*Artemisia campestris L* ». Thèse de magister. Université Ferhat Abbes-Sétif. 99 p.

- C -

Careri, M., L. Elviri, A. Mangia, et M. Musci. 2000. « Spectrophotometric and Coulometric Detection in the High-Performance Liquid Chromatography of Flavonoids and Optimization of Sample Treatment for the Determination of Quercetin in Orange Juice ». *Journal of Chromatography A* 881(1-2) : 449-60.

Chaib A., 2015. « Guide des plantes phytothérapeutiques ». Ed. Thala. El-Biar, Alger.

Charrouf, Z., et D. Guillaume. 2007. « Phenols and Polyphenols from *Argania spinosa* ». *American Journal of Food Technology* 2(7): 679-83

Chemat, Farid, Zill-e-Huma, et Muhammed Kamran Khan. 2011. « Applications of Ultrasound in Food Technology: Processing, Preservation and Extraction ». *Ultrasonics Sonochemistry* 18(4) : 813-35.

Cheraft, N. 2011. « Activité biologique in vitro des extraits de *Pistacia lentiscus* contre les radicaux ABTS•+, O₂•⁻ et •NO et caractérisation des fractions actives », Mémoire présenté en vue de l'obtention du diplôme de Magister En Biologie Option : Biochimie Appliquée aux Substances Végétales Bioactives.

Chirinos, Rosana et al. 2007. « Optimization of Extraction Conditions of Antioxidant Phenolic Compounds from Mashua (*Tropaeolum Tuberosum* Ruíz & Pavón) Tubers ». *Separation and Purification Technology* 55(2) : 217-25.

Chira, K., J. -H. Suh, C. Saucier, et P. -L. Teissèdre. 2008. « Les polyphénols du raisin ». *Phytothérapie* 6(2) : 75-82.

Coude-Gaussen, G., C. Mosser, P. Rognon, et J. Tourenq. 1982. « Une Accumulation de Loess Du Pleistocene Supérieur Dans Le Sud-Tunisien ; La Coupe de Techine ». *Bulletin de la Société Géologique de France* S7-XXIV(2): 283-92

Correia O & Barradas M.D. 2000. « Ecophysiological differences between male and female plants of *Pistacia lentiscus L* ». *Plant Ecology*, 149(2), 131-142

- D -

Dapkevicius, A, Venskutonis R., Van Beek, T.A., Linssen, J.P.H. 1998. « Antioxidant activity of extracts obtained by different isolation procedures from some aromatic ».

Dedoussis George V.Z, Andriana CKaliora, Stelliou Psarras, Antonia Chioua, Anastasia Mylonaa, Nikolaos G Papadopoulos, Nikolaos K Andrikopoulou., 2004. « Antiatherogenic effect of *Pistacia lentiscus* via GSH restoration and downregulation of CD36 mRNA expression ».

De Lanfranchi, François, Maï Bui Thi, et Michel Girard. 1999. « La fabrication d'huile de lentisque (Linsticu ou chessa) en Sardaigne ». *Journal d'agriculture traditionnelle et de botanique appliquée* 41(2) : 81-100.

Delille, L. 2007. « Les plantes médicinales d'Algérie ». Berti. P : 147-148.

Dieng, Serigne Ibra Mbacke et al. 2017. « Evaluation de l'activité antioxydante des extraits hydro-ethanoliques des feuilles et écorces de *Piliostigmathonningii* Schumach. » *International Journal of Biological and Chemical Sciences* 11(2) : 768.

Djedaia Salah. 2017. « Etude physicochimique et caractérisation du fruit de la plante lentisque (*Pistacia lentiscus*) ». Thèse de doctorat. Université Badji-Moukhtar- Annaba.

Djenane, Djamel et al. 2011. « Antimicrobial Activity of *Pistacia Lentiscus* and *Satureja Montana* Essential Oils against *Listeria Monocytogenes* CECT 935 Using Laboratory Media: Efficacy and Synergistic Potential in Minced Beef ». *Food Control* 22(7): 1046-53.

Djerroua, Z et al. 2011. « Evaluation of *Pistacia lentiscus* Fatty Oil Effects on Glycemic Index, Liver Functions and Kidney Functions of New Zealand Rabbits ». *African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines* 8(5S).

Dogan, Y., Baslar, S., Aydın, A. and Mert, A.H. 2003. « A Study Of The Soil-Plant Interactions Of *Pistacia lentiscus* Distributed In The Western Anatolian Part Of Turkey ». *Acta Bot. Croat.* 62 (2), 73–88,

Dzah, Courage Sedem et al. 2020. « The Effects of Ultrasound Assisted Extraction on Yield, Antioxidant, Anticancer and Antimicrobial Activity of Polyphenol Extracts: A Review ». *Food Bioscience* 35 : 100547.

-E-

Edeas, M. 2007. « Les polyphénols et les polyphénols de thé ». *Phytothérapie* 5(5) : 264-70.

-F-

Feki, Firas et al. 2021. « Optimization of Microwave Assisted Extraction of Simmonds ins and Polyphenols from Jojoba (*Simmondsia Chinensis*) Seed Cake Using Box-Behnken Statistical Design ». *Food Chemistry* 356 : 129670.

Ferradji, A. 2011. « Activités antioxydante et anti-inflammatoire des extraits alcoolique et aqueux des feuilles et des baies *Pistacia lentiscus* », Mémoire Présenté Pour l'obtention du Diplôme de Magister en biochimie Sétif.

Ford, R.A., Api, A.M., Letizia, C.S., 1992. « Monographs on fragrance raw materials ». *Food Chem. Toxicol.* 30 (Suppl), 1S–138S.

Fritsch Robert - Compte rendu de la sortie botanique au coteau de Saint-Romain - 1983.06, p. 11- 13 – Départ/Région : Savoie, Bulletin de la Société d'Histoire Naturelle de Savoie, 1, n°146.

Fusetti, Fabrizia et al. 2002. « Crystal Structure of the Copper-Containing Quercetin 2,3-Dioxygenase from *Aspergillus Japonicus* ». *Structure* 10(2) : 259-68.

-G-

Gardeli, C et al. 2008. « Essential Oil Composition of *Pistacia Lentiscus* and *Myrtus Communis* L.: Evaluation of Antioxidant Capacity of Methanolic Extracts ». *Food Chemistry* 107(3): 1120-30.

Garnier, G., Bézanger-Beauquesne, L. and Debraux, G. 1961. « Ressources médicinales de la flore française ». Edition, Vigot Frères Editeurs, p : 665-666.

Ghedira, K. 2005. « Les flavonoïdes : structure, propriétés biologiques, rôle prophylactique et emplois en thérapeutique ». *Phytotherapie* 3(4) : 162-69.

Ghyath Mosbah S. 1999. « Principe de de biochimie ». Université de Damas. p : 478.

Girard Bernard, Roux Jean-Pierre. « Plantes nouvelles pour le Vaucluse ». Année 2003 - 2004.04, p. 4- 5. Départ / Région : 84. Bulletin de la Société Botanique du Vaucluse, 1, N°14.

Glampedaki, Pelagia, et Victoria Dutschk. 2014. « Stability Studies of Cosmetic Emulsions Prepared from Natural Products Such as Wine, Grape Seed Oil and Mastic Resin ». *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects* 460: 306-11.

Gouppy, J., Creighton, L., 2006. « Introduction aux plans d'expériences ». 3ème édition. Dunod 336.

Guignard JL. 1996. « Biochimie végétale ». éd, Masson, Paris, p : 189.

Grolier P., Borel P., Scalbert A. & Remesy C. 2001. « Les phytomicronutriments ». Basdevant A., Laville M., Lerebours E, Traité de nutrition clinique de l'adulte, Éd. Flammarion, Paris, France.

- H -

Hagerman, A.E., Butler, L.G. 2003. « Protein precipitation method for quantitative determination of tannins ». *J of Agriculture and Food chemistry*, 26: 809-81 issus des alcools: formation de depsides. Thèse de doctorat, soutenue devant l'université de Limoges. Faculté de Pharmacie.

Hamlat et Hassani. 2008. « Analyse des polyphénols extraits des feuilles du *Pistacia lentiscus* Etude de l'activité antibactérienne ».

Hayder, Nawel et al. 2005. « Antibacterial and Antimutagenic Activity of Extracts and Essential Oil from (Tunisian) *Pistacia lentiscus* ». *Toxicological & Environmental Chemistry* 87(4): 567-73.

Homaza J.I. et Wunsch A., 2011. « Pistacia. In Kole C. Wild Crop Relatives: Genomic and Breeding Resources Temperature Fruits ». Springer-Verlag, ed, Berlin. 119-128.

- I -

Ismail, A. et al. 2013. « Chemical Composition and Antifungal Activity of Three Anacardiaceae Species Grown in Tunisia ». *Science International* 1(5): 148-54.

- K -

Keynan. N., Tamir. R., Waisel. Y., Reshef. A., Spitz. E., Shomer-Ilan. A., Geller-Bernstein. C., 1997. « Allergenicity of the pollen of Pistacia », *Allergy* 52, 323-330.

Khanbabaee, K. and Ree, T. V. 2001. « Tannins: Classification and definition. Natural Product ». 18: 641-649.

Kordali, S, A Cakir, H Zengin, et M.E Duru. 2003. « Antifungal Activities of the Leaves of Three Pistacia Species Grown in Turkey ». *Fitoterapia* 74(1-2): 164-67.

Krishnaiah, Duduku, Rosalam Sarbatly, et Rajesh Nithyanandam. 2011. « A Review of the Antioxidant Potential of Medicinal Plant Species ». *Food and Bioproducts Processing* 89(3): 217-33.

- L -

Lapornik, B., Prošek, M., Wondra, A.G., 2005. « Comparison of extracts prepared from plant byproducts using different solvents and extraction time ». *Journal of food engineering* 71, 214-222.

Larousse des plantes medicinales. 2007, *Encyclopedia of medicinal plants*, 2nd ed. P: 250.

Lee, B., Jung, J., Choi, Y., 2005. « Optimization of microwave-assisted extraction process of *Rehmannia Radix preparata* by response surface methodology ». *Food Engineering Progress* 9, 283-290.

Liyana pathirana, Chandrika, et Fereidoon Shahidi. 2004. « Antioxidant Activity of Wheat Extracts as Affected by in Vitro Digestion ». *BioFactors* 21(1-4) : 325-28.

Ljubuncic, Predrag et al. 2005. « The Effects of Aqueous Extracts Prepared from the Leaves of *Pistacia lentiscus* in Experimental Liver Disease ». *Journal of Ethnopharmacology* 100(1-2): 198-204.

- M -

Macheix, J.J., Fleuriet, C., Jay-Allemand, C. 2005. « Les composés phénoliques des végétaux: Un exemple de métabolites secondaires d'importance économique ». Italie. *Presse polytechnique et universitaires romandes*.

Mandal, Vivekananda, et Subhash C. Mandal. 2010. « Design and Performance Evaluation of a Microwave Based Low Carbon Yielding Extraction Technique for Naturally Occurring Bioactive Triterpenoid: Oleanolic Acid ». *Biochemical Engineering Journal* 50(1-2): 63-70.

Mason T.J., Paniwnyk L., 2000. « Ultrasound as a preservation technology ». Zeuthen, P., BoghSorensen, L. editions, Woodhead Publishing Limited, Cambridge, Angleterre.

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

Menat, É. 2006. « Les polyphénols de thé, du vin et du cacao ». *Phytothérapie* 4(S1) : hs40-45.

Mezni, Faten et al. 2018. « Phenolic Profile and Effect of Growing Area on *Pistacia lentiscus* Seed Oil ». *Food Chemistry* 257: 206-10.

Mezni, F. et al. 2015. « In Vitro Antimicrobial Activity of *Pistacia lentiscus* L. Edible Oil and Phenolic Extract ». *Natural Product Research* 29(6): 565-70.

Michiels, Jean Albert et al. 2012. « Extraction Conditions Can Greatly Influence Antioxidant Capacity Assays in Plant Food Matrices ». *Food Chemistry* 130(4): 986-93.

Mokrani, Abderrahmane, et Khodir Madani. 2016. « Effect of Solvent, Time and Temperature on the Extraction of Phenolic Compounds and Antioxidant Capacity of Peach (*Prunus Persica* L.) Fruit ». *Separation and Purification Technology* 162 : 68-76.

Morand, C. 2013. « Les polyphénols du thé et du cacao ont-ils des effets santé ? » *Phytothérapie* 11(2) : 92-99.

Morand C.1, Milenkovic D., 2014. « Polyphénols et santé vasculaire : mise en évidence du rôle direct des polyphénols dans les effets bénéfiques des agrumes dans la protection vasculaire ». Centre de Recherche Clermont-Ferrand/Theix, CRNH d'Auvergne.

More D and White J. 2005. « Encyclopédie des Arbres plus de 1800 Espèces et Variétés du Monde », Flammarion, 18-24.

Morsli, Fathi et al. 2021. « Appraisal of the Combined Effect of Time and Temperature on the Total Polyphenol Yield in Batch Stirred-Tank Extraction of Medicinal and Aromatic Plants: The Extraction Efficiency Factor ». *Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants* 25: 100340.

- N-

Naouar, Mustafa S. et al. 2016. « Preventive and Curative Effect of *Pistacia lentiscus* Oil in Experimental Colitis ». *Biomedicine & Pharmacotherapy* 83: 577-83.

Nathalie Boizot, Jean-Paul Charpentier.2006. « Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier ». Cahier des Techniques de l'INRA. »

- O -

Onay A., & Jeffree C.E. 2000. « Somatic Embryogenesis in Pistachio (*Pistacia Vera L.*) ». In *Somatic embryogenesis in woody plants* (pp. 361-390). Springer Netherlands.

- P -

Prakash Maran, J., V. Mekala, et S. Manikandan. 2013. « Modeling and Optimization of Ultrasound-Assisted Extraction of Polysaccharide from Cucurbita Moschata ». *Carbohydrate Polymers* 92(2) : 2018-26.

Proestos, Charalampos, et Michael Komaitis. 2008. « Application of Microwave-Assisted Extraction to the Fast Extraction of Plant Phenolic Compounds ». *LWT - Food Science and Technology* 41(4): 652-59.

- R -

Rauha, Jussi-Pekka et al. 2000. « Antimicrobial Effects of Finnish Plant Extracts Containing Flavonoids and Other Phenolic Compounds ». *International Journal of Food Microbiology* 56(1): 3-12.

Reed, J. D. 1995. « Nutritional Toxicology of Tannins and Related Polyphenols in Forage Legumes ». *J Animal Science*, 73:1516-1528.

Remila, Saliha et al. 2015. « Antioxidant, Cytoprotective, Anti-Inflammatory and Anticancer Activities of *Pistacia lentiscus* (Anacardiaceae) Leaf and Fruit Extracts ». *European Journal of Integrative Medicine* 7(3) : 274-86.

Reven, H., Evvert, R., Eichhon, S. 2014. « Biologie végétale ». 3éme édition. Paris : boeck rue de minimes. P : 27,30,31.

Ribéreau-Gayon, P. 1968. « Notions générales sur les composés phénoliques ». In : Les composés phénoliques des végétaux. Edition Dunod P 1-27.

Richter, G. 1993. « Les composés phénoliques. Métabolisme des végétaux (physiologie et biochimie) ». Edition DUNOD: 317-339.

Rodríguez-Pérez, C. et al. 2013. « A Metabolite-Profiling Approach Allows the Identification of New Compounds from *Pistacia lentiscus* Leaves ». *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 77: 167-74.

-S-

Sakagami, H., Kishino, K., Kobayashi, M., Hashimoto, K., Iida, S., Shimetani, A., Nakamura, Y., Takahashi, K., Ikarashi, T., Fukamachi, H., Satoh, K., Nakashima, H., Shimizu, T., Takeda, K., Watanabe, S., Nakamura, W. 2009. « Selective antibacterial and apoptosis-modulating activities of mastic ». In *Vivo*. 23: 215-224.

Santos-Buelga, C., Gonzalez-Manzano, S., Dueñas, M., Gonzalez-Paramas, A.M. 2012. « Extraction and isolation of phenolic compounds ». *Natural products isolation*, 427-464.

Sarni P, Manchado, V-cheynier. 2006. « Les polyphénols en agroalimentaire », Edition tee & doc; p: 2, 3, 4, 9, 25, 26,398.

Smail-Saadoun, N., 2002. « Types stomatiques du genre Pistacia : *Pistacia atlantica* Desf.ssp. *Atlantica* et *Pistacia lentiscus* L ». p369

Spencer J. P, Schroeter H, Rechner A. R et Rice-Evans C. 2001. « Bioavailability of flavan-3-ols and procyanidins: gastrointestinal tract influences and their relevance to bioactive forms in vivo. *Antioxid Redox Signal* ». (3) : 1023-39.

Spott, David A. 1970. « Exanthem Due to Contact Allergen (Benzoin) Absorbed Through Skin ». *JAMA: The Journal of the American Medical Association* 214(10): 1881.

-T-

Topçu, Gülaçtı et al. 2007. « A New Flavone from Antioxidant Extracts of *Pistacia Terebinthus* ». *Food Chemistry* 103(3): 816-22.

Touafek O. 2010. « Etude phytochimique de plantes médicinales du Nord et du Sud algériens ».

Tuzlacı, Ertan, et Pınar Eryaşar Aymaz. 2001. « Turkish Folk Medicinal Plants, Part IV: Gönen (Balıkesir) ». *Fitoterapia* 72(4): 323-43.

-V-

Verdú, M and García-Fayos, P. 1998. « Ecological causes, function, and evolution of abortion and parthenocarpy in *Pistacia lentiscus* (Anacardiaceae) ». *Can. J. Bot.* 76: 134–141.

- Z -

Zaghad, N. 2009. « Etude du contenu polyphénolique de deux plantes médicinales d'intérêt économique (*Thymus vulgaris*, *Rosmarinus officinalis*) et évaluation de leur activité antimicrobienne ». Magister en biologie végétale et écologie : biotechnologie végétale. Constantine. Université Mentouri.

ANNEXES

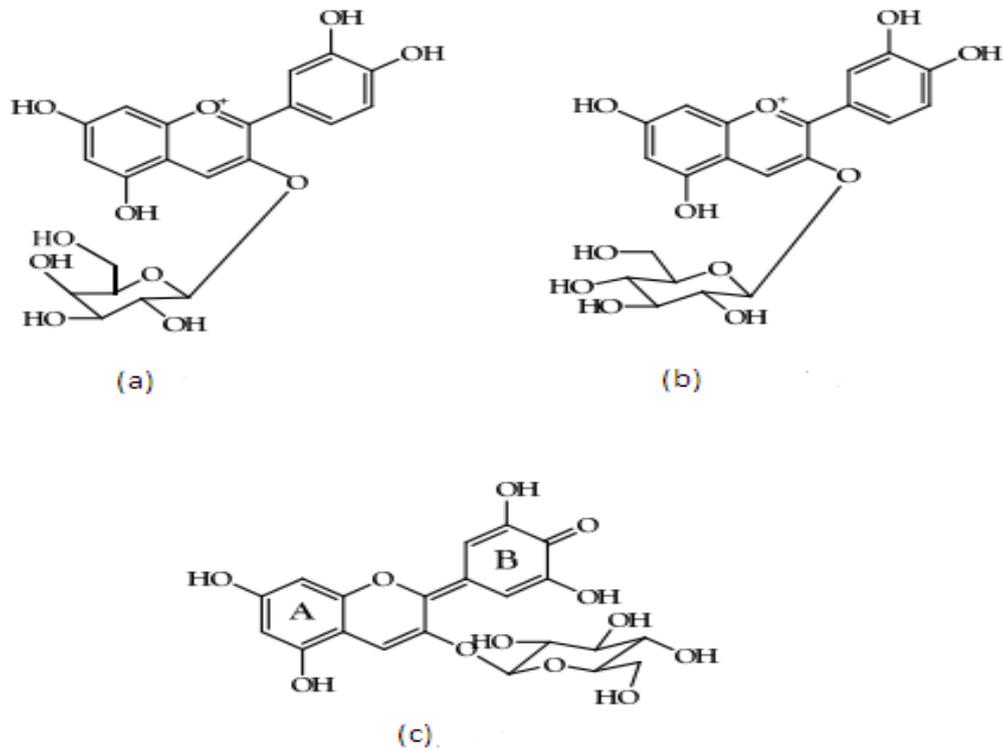


Figure 02: Structures chimiques des anthocyanes de fruits de *Pistacia lentiscus* cyanidine 3-O-glucoside (a), Delphinidine 3-O-glucoside (b) et cyanidine 3-O-arabinoside (c).

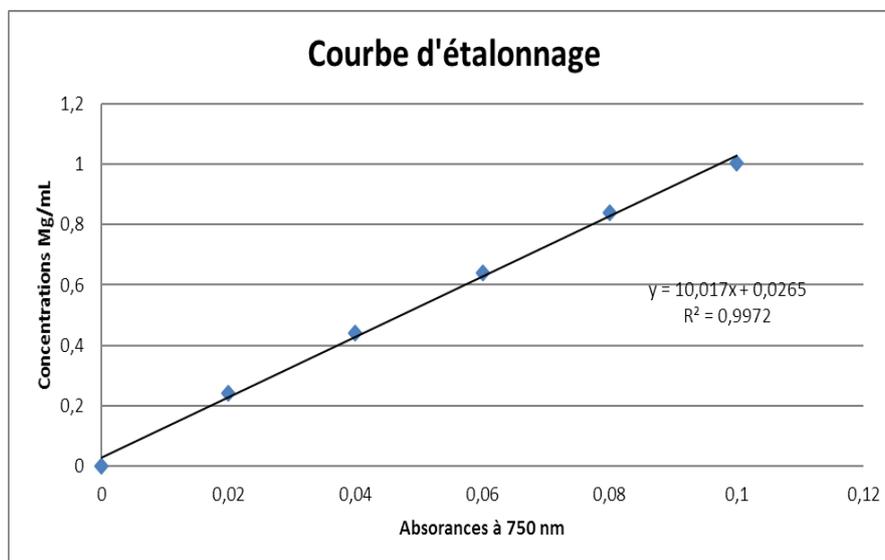


Figure 02 : Courbe d'étalonnage des polyphénols totaux.

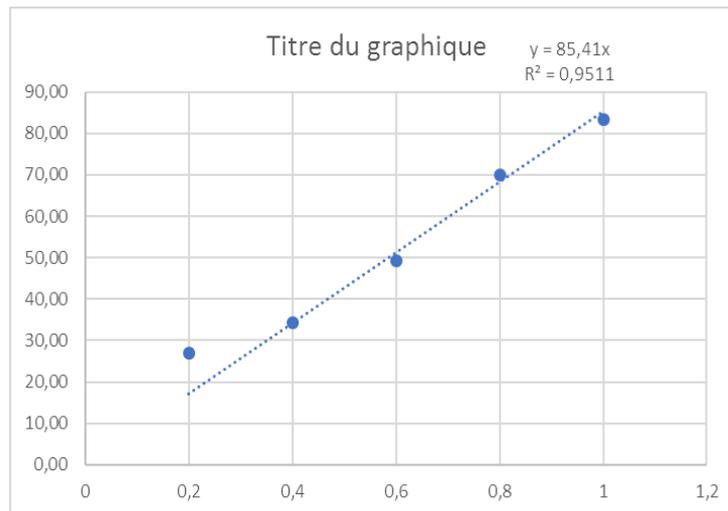


Figure 03 : Courbe IC₅₀.

Tableau I : Matériels et appareillage utilisés au cours du travail.

Materiel	Appareillage
Tubes à essais	Balance de précision
Becher	Micropipettes
Eprouvettes graduées	Centrifugeuse
Papier filtre	Tamiseur
Entonnoirs	Spectrophotomètre
Fioles	Vortex
Pipettes graduées	Plaque magnétique agitatrice

Tableau II : Solutions et réactifs utilisés au cours du travail

Solutions
Eau distillé
Folin-Ciocalteu (1/10)
Carbonate de Sodium
ABTS

Résumé

La présente étude est portée sur l'optimisation de l'extraction des composés phénoliques des extraits du marc de *Pistacia lentiscus* par la méthodologie de surface de réponse en utilisant le plan Box-Behnken (BBD). Les conditions expérimentales optimales permettant une maximisation de l'extraction des polyphénols ($97,96 \pm 10,25$ mg EAG/g de PS) par bain ultrason étaient : éthanol 50% comme solvant d'extraction pour un temps d'extraction de 86min et une température de 60°C. La valeur expérimentale était très proche de la valeur prédite ce qui confirme la validité du modèle mathématique obtenu. Le pouvoir anti radicalaire ABTS+ de l'extrait du marc de *Pistacia lentiscus* étudiées, a révélé une valeur de $IC_{50} = 0,585$ mg /ml très proche à celle du Trolox 0,460 mg /ml.

Mots clés : *Pistacia lentiscus*, composés phénoliques, optimisation, extraction, Box-Behnken, ultrasons.

Abstract

The present study is focused on the optimization of the extraction of phenolic compounds from the extracts of *Pistacia lentiscus*'s marc by response surface methodology using the Box-Behnken design. The results showed that the highest TPC yield (97,96 mg GAE/g DP) was obtained with ethanol concentration of 50%, extraction time of 86 min, temperature of 60°C. The experimental values were reasonably close to the predicted values confirming the validity of the predicted models. The ABTS+ radical scavenging activity of lentisk ($IC_{50} = 0.585$ mg/ml) was close to Trolox value ($IC_{50} = 0,460$ mg/ml).

Keywords: *Pistacia lentiscus*, phenolic compounds, optimization, extraction, Box-Behnken, ultrasound.