

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
REPUBLICUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
جامعة عمّار ثليجي بالأغواط
UNIVERSITE AMAR TELIDJI LAGHOUAT

كلية العلوم
FACULTE DES SCIENCES

DEPARTEMENT Sciences de la Matière



Mémoire de Master

Domaine : Sciences de la matière

Filière : Chimie

Option : Chimie Organique Appliquée

Par :

Addi Fatna

Ettir Amina

THEME

Etude Phytochimique et évaluation de l'activité antioxydante
des Extrait Ethanoïque et Aqueux de *Pistacia Lentiscus*

Soutenu publiquement devant le jury composé de :

Mr. YOUSFI Mohammed (Pr)

Président

Mme. AMMI Yasmina (M.A.A)

Examinatrice

Mme. NOURDDINE Asmaa (M.A.A)

Examinatrice

Mme. BOUZIANE Amel (M.A.A)

Promotrice

Mr. HABATI Mounir

Co-promoteur

Année Universitaire 2017- 2018

SOMMAIRE

Introduction générale	01
I. Matériels et méthodes	03
I.1. Matière végétale	03
I.2. Méthodes	05
I.2.1. Etude phytochimique de <i>Pistacia lentiscus</i>	05
I.2.1.1. Séchage et Broyage	05
I.2.1.2. Extraction des composés phénoliques	06
I.2.1.3. Tests phytochimiques	09
I.2.1.4. Dosage des polyphénols totaux	10
I.2.1.5. Dosage des flavonoïdes totaux	11
I.2.1.6. Dosage des flavonols	11
I.2.1.7. Dosage des tanins	11
I.2.2. Evaluation de l'activité antioxydante	12
I.2.2.1. Test de piégeage du radical DPPH	12
I.2.2.2. Réduction du radical-cation ABTS ^{•+}	13
I.2.2.3. Test de réduction du fer FRAP	14
I.2.3. Analyse statistique	14
II. Résultats et discussions	15
II.1. Rendements d'extraction	15
II.2. Tests phytochimiques	15
II.3. Quantification des composés phénoliques	16
II.4. Estimation de l'activité antioxydante	19
II.4.1. Test de DPPH	19
II.4.2. Test d'ABTS	20

II.4.3. Test de FRAP

22

Conclusion générale et perspective

24

Références Bibliographiques

Annexes

Résumé

Remerciment

Nous commencerons par remercier et rendre grâce à Dieu tout puissant pour nous avoir donnée le courage et la volonté de mener à bon terme ce travail.

Ce travail n'aurait pu se faire seul ! Ce sont les compétences, La disponibilité, le dynamisme, la bonne humeur et la patience Qui nous ont permis de poursuivre nos études Et d'achever ce mémoire dans les meilleures conditions.

C'est pourquoi nous tenons chaleureusement à remercier :

Nos premiers remerciements vont à notre promotrice Mme : BOUZIANE AMEL, et Co-promoteur : HABATI MOUNIR, qui ont suivi et veillé sur le bon déroulement de ce travail avec ses conseils et ses remarques constitutives.

Nos remerciements vont aussi à Mr. YOUSFI MOHAMMED d'avoir accepté de présider le jury de notre mémoire.

Nous remercions également Mme. AMMI YASMINA et Mme. NOURDDINE ASMAA d'avoir acceptés de juger ce travail et pour son aide et ces précieux conseils.

Nous remercions également tous les enseignants qui ont contribué à notre formation durant notre cursus universitaire. Sans oublier MR : HAMDI AHMED le chef de département de science de la matière. Enfin nous remercions tous ceux qui ont contribué de près Ou de loin à l'élaboration de ce modeste travail.

Merci beaucoup

إهداء

لا أدع قولاً ولا فضلاً بمجهودي إنما الفضل لمالك الوجود لا إله إلا هو وخير خلقه محمد صلى الله عليه وسلم، وبعد أهدي هذا العمل:

إلى من تعبت لأرتاح جاهدت لأنال ساندتني وشجعتني فكان لها الفضل الكبير إلى ما وصلت إليه إلى نبض الفؤاد أُمي الحنونة "ذهبية" حفظها الله .
إلى طيف الأمل ورمز الأخلاق والعمل عنوان الرجولة إلى من جعل من كتفيه سلماً أصعد به قمم النجاح إلى نور قلبي أبي الغالي "سليمان" حفظه الله .
إلى سندي وعوني في هذه الحياة إخوتي محمد (وزوجته زينب ع)، عون الله ، إسماعيل .
إلى توأم روحي أخواتي العزيزات زهرة الحنونة (وزوجها وابنتيها هديل بيسان وأميرة ريماس)، نور الإيمان المتميزة، آية تسنيم المشاغبة (رحمونة) .
إلى من يستأنس القلب بها وتهادئ النفس وتأمين بوجودها إلى أختي المميزة زينب (وزوجها يحيى وابنهما محمد لقمان) .
إلى قدوتي ومثلي الأعلى إلى من تعلمت منها الصبر والتفائل توأم روحي وأمي الثانية أختي حدة (وزوجها الطاهر وابنهما محمد عبد السلام) .
إلى رفيقة دربي وأنيسة فكري التي تعبت معي في إنجاز هذا العمل فكانت مثلاً في الاجتهاد والتحدي إلى رمز الوفاء فاطمة عدي وكل عائلتها .
إلى فيض الحنان وبلسم الأحزان إلى صديقة الطفولة حبيبتي وغاليتي منصور الطير وإلى كل من ابنة خالتي عائشة بزيط وابنة عمي دنيا .
إلى من أنستني رفقتهم ويصعب علي فراقهم إلى شقيقات الروح والعقيدة: نسيبة ح ق، سمية ب، هدى ورشيدة خ، عواطف وفاطمة س، خديجة وعاتكة ع، مي ق، مريم ف، وسام ج، مارياب، سمية ت، سعدية و، أميمة (موريتانيا) ، ياسمين ص، عائشة ب، سهام ب ط، صبرين س، فاطمة م .
إلى أساتذتي: سكوري عبد الرحمن، مداني حديبي، عمار بن ثابت، هويشر مسعود، لمجادي عجب، ورمز العمل الدؤوب والأخلاق الرفيعة الأستاذ "هباطي منير" .
إلى كل أعضاء جمعية البشير الإبراهيمي للطلبة ومنظمة الاتحاد العام الطلابي الحر إلى كل طلبة الثانية ماستر كيمياء وفيزياء
إلى كل المرابطين ببيت المقدس خاصة "أمي خديجة خويص"

أمنية

إهداء

الحمد لله الذي وفقنا لهذا وما كنا لنصل إليه لولا فضل الله وبعد :

أهدي ثمرة مجهودي إلى زهرة العمر الجميل، وراحة الصبر الطويل إلى العيون الساهرة و المبحرة .
إلى جزر الطهر والوفاء ، إلى بحار الخير والعطاء ، إلى الشموع التي تحرق عصارة العمر الجميل كي
تضيء عيون الآخرين إلى من سجاياهما أكبر من مساحة الكلام وعطاياهما لا يحدهما تسطير الأقلام،
إليكما أنتما وحدكما أمي وأبي.

دمتالي هدية السماء ويا عطايا الله الكريم، أقف على عتبات الحياء والخجل عندما أفكر أني أحاول رد
بعض الجميل إليكما، ومع كل ذلك، أرفع رحلة دراستي إليكما .

إليكم إخوتي ذلك السداسي الرائع، تاج رأسي ومفخرتي (بوزيد وزوجته ابتسام ، محمد وزوجته تركية ،
سعدية وزوجها خالد، طاهر، عبد القادر، أمينة).

إلى كتكوتي العائلة محمد ياسين ومحمد هيثم.

إلى إخوتي حتى ولم تلداهم أمي (عمار، محمد، حسين، مرسلي، قادة، أحمد، حسام، عبدالله، خالدية ،
مسعودة، بشرى، خالدية، زينب، نوال، صبرين ، خديجة، سارة، ثرية ، فاطمة) .

إلى أعمامي وعماتي وأخوالي و خلاتي والأزواجهم ، إلى الراحلة جديتي " سعدية " رحمها الله .

إلى الكتاكيت (عبد الرزاق، طه الامين، محمد، آدم، طاهر، محمد البشير، علاء، عبدالرحمان، أحمد
إسلام، نوح زكريا).

إلى الكتكوتات (إيمان، فدوى، حياة، كوثر، ايناس ، هاجر، إكرام ، سهام ، هبة الرحمان ، شيماء ،

أمينة، جهان ، وفاء، ملاك، خولة، سلسبيل، نورالهدى، رانية ، نور الايمان، أريج) .

إلى رفيقة دربي وأنيسة فكري التي تعبت معي في إنجاز هذا العمل فكانت مثالا في الاجتهاد والتحدي إلى
رمز الوفاء أمينة الطير وكل عائلتها .

إلى من أنستني رفقتهم ويصعب علي فراقهم إلى شقيقات الروح (فتيحة، مسعودة، سهيلة، نعيمة، هدى،
مباركة، عائشة، ليلي، نور الهدى، عاشوراء، تركية، زهية، سمية، سعاد، رشيدة، رقية، خيرة، مروى).

إلى كل طالبة ثانية ماستر كيمياء وفيزياء .

إلى كل من سقط من قلبي سهوا .

فاطنة

Liste des abréviations

ABTS: 2, 2'-azinobis (3-ethyl-benzothiazoline-6-sulfonic Acid)

C°: Degré Celsius

DPPH: 2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl

D: Densité

FRAP: Pouvoir antioxydant par réduction ferrique

IC50 : Concentration inhibitrice à 50%

I : Inhibition

g : Gramme

g /mol : Gramme par mol

M : Molaire

s : Seconde

min: Minute

h : Heure

mg : Milligramme

mg /ml : Milligramme /Millilitre

mg /g: Milligramme / Gramme

ml : Millilitre

mM : Millimolarié

mmol /L : Milli mol par Litre

nm : Nanomètre

I% : Pourcentage d'inhibition

Liste des figures et schémas

Schéma 1 : Organigramme expliquant les différentes étapes expérimentales.	05
Figure 1: Feuilles sèches.	06
Figure 2: Feuilles broyées.	06
Schéma 2 : Protocole expérimentale d'extraction des composées phénoliques.	08
Figure 3: Mécanisme réactionnel intervenant lors du test DPPH.	12
Figure 4: Les rendements d'extraction.	15
Figure 5: Les teneurs en composés phénoliques des extraits étudiés.	17
Figure 6: Activité antioxydante des différents extraits vis-à-vis du radical DPPH.	19
Figure 7: Résultats de l'activité antioxydante évaluée par le test ABTS.	21
Figure 8: Activité antioxydante de différentes concentrations des extraits analysées par le test de FRAP.	22

Liste des tableaux

Tableau 01: Caractérisation de la plante étudiée.	03
Tableau 02: Résultats des tests phytochimiques.	16
Tableau 03: Les teneurs en composés phénoliques des extraits étudiés.	17
Tableau 04: Activité antioxydante des différents extraits vis-à-vis du radical DPPH [•]	20
Tableau 05: Résultats de l'activité antioxydante évaluée par le test ABTS.	21
Tableau 06: Test FRAP pour les extraits analysés.	23

Introduction

Depuis longtemps, L'homme et les plantes vivent côte à côte. Il est habitué à consommer différentes espèces de plantes, qui sont bien souvent appréciées pour leurs qualités aussi bien médicales que nutritives. A cet effet un grand nombre des plantes médicinales possèdent des propriétés biologiques très intéressantes, qui trouvent application très largement répandue dans divers domaines à savoir en médecine, pharmacie, cosmétologie et l'agriculture ^[1].

Les plantes médicinales restent encore le premier réservoir de nouveaux médicaments. Elles sont considérées comme source de matière première essentielle pour la découverte de nouvelles molécules nécessaires à la mise au point de futurs médicaments ^[2].

L'étude de la chimie des plantes est toujours d'une brûlante actualité malgré son ancienneté. Cela tient principalement au fait que le règne végétal représente une source importante d'une immense variété de molécules bioactives. Cette matière végétale contient un grand nombre de molécules qui ont des intérêts multiples mis à profit dans l'industrie alimentaire, en cosmétologie et en pharmacie. Parmi ces composés on retrouve, les coumarines, les alcaloïdes, les acides phénoliques, les tannins, les terpènes et les flavonoïdes ^[3].

Les polyphénols sont en effet doués de multiples vertus thérapeutiques, ils jouent un rôle très important, principalement, dans la lutte contre les cancers, les maladies cardiovasculaires et la peroxydation lipidique. Expliquant de ce fait leur grande utilisation dans la fabrication des médicaments. Ils interviennent aussi dans la protection des plantes contre les différentes attaques microbiennes (surtout fongiques) risquant de causer la perte d'une grande quantité de végétation ^[4].

Cependant, l'évaluation des propriétés phytopharmaceutiques, antioxydante et antimicrobienne demeure une tâche très intéressante et utile, en particulier pour les plantes d'une utilisation rare ou moins fréquente ou non connue dans la médecine traditionnelle. Ces plantes représentent une nouvelle source de composés actifs ^[5].

Les espèces du genre *Pistacia* sont utilisées depuis longtemps dans un intérêt économique pour préparer le chewinggum. La substance responsable est une substance visqueuse qui est la résine. *Pistacia lentiscus* fait l'objet aussi de notre travail pour deux raisons principales :

- C'est une plante souvent utilisée par la population locale ;
- Elle possède des activités antioxydantes.

L'objectif de notre étude est d'estimer la teneur de cette espèce végétale en ces composés actifs essentiels, les polyphénols, flavonoïdes et les tanins obtenus dans les extraits éthanoïques de la partie aérienne de *pistacia lentiscus* collecté dans région d'Aflou de la wilaya de Laghouat.

Cette étude est divisée en deux parties :

Dans la première partie de notre étude, nous rappelons brièvement la description d'espèce végétale étudié, puis nous cherchons à réaliser le volet expérimental qui se déroule sur une étude phytochimique et l'évaluation de l'activité antioxydante.

La seconde partie regroupe l'ensemble des résultats qui seront suivis d'une discussion.

Enfin nous avons terminés notre travail par une conclusion générale et des perspectives.

I. Matériels et méthodes

I.1. Matière végétale

La matière végétale qui a fait l'objet de ce travail est constituée de la partie aérienne (feuilles) de la plante de *Pistacia lentiscus*.

Les échantillons ont été récoltés dans la région d'Aflou wilaya de Laghouat (sud Algérien) au mois **Décembre 2017**. La plante étudiée est séchée à l'abri de la lumière pendant 1 mois.

Le tableau suivant présente les différentes caractéristiques de la plante étudiée.

Tableau 1 : Caractérisation de la plante étudiée.

Description	Photos
<p><u>Noms vernaculaires :</u></p> <ul style="list-style-type: none">-En anglais : Chios mastic tree.-En français : Arbre au mastic, Lentisque.-En arabe : ضرور <p>C'est un arbrisseau de 1 à 3 mètres de hauteur, courant en sites arides de la région méditerranéenne (de l'Asie, l'Europe, l'Afrique, jusqu'aux Canaries)</p> <p><u>Classification botanique :</u></p> <p>Règne : Plantae.</p> <p>Embranchement : Spermatophyta.</p> <p>Classe : Dicotyledones.</p> <p>Ordre : Sapindales.</p> <p>Famille : Anacardiaceae.</p> <p>Genre : <i>pistacia</i> – pistache.</p> <p>Espèce : <i>Pistacia lentiscus</i>.</p> <p><u>Feuilles</u> : Sont persistantes, composées et possèdent un nombre pair de folioles (4 à 10) d'un vert sombre, elliptiques, obtuses, luisantes en dessus, glabres, coriaces et dont le pétiole est bordé d'une aile verte. On trouve des pieds mâles et femelles distincts (espèce dioïque) qui fleurissent en grappes denses en mois de Mai.</p>	 <p style="text-align: center;">L'arbre</p>  <p style="text-align: center;">Les Feuilles</p>

Fleurs : Les fleurs unisexuées d'environ 3mm de large se présentent sous forme de grappe. Elles apparaissent au printemps et sont très aromatiques, forment des racèmes de petite taille à l'aisselle des feuilles.

Fruit : Est une baie globuleuse (de 2 à 3 mm) de diamètre, monosperme, sa couleur est d'abord rouge, et devient brunâtre à sa maturité, qui est complète à l'automne.

Propriétés thérapeutiques :

le pistachier lentisque est un des arbres caractéristiques du maquis provençal. Ses rameaux renferment une huile essentielle aux nombreuses vertus. Elle exerce une action antispasmodique (elle prévient les contractions musculaires involontaires), antalgique, antibactérienne, antifongique, antioxydante et cicatrisante. Grâce à sa propriété décongestionnante, elle agit efficacement contre les troubles de la circulation sanguine (varices, jambes lourdes) et les affections respiratoires (bronchites, sinusites). Cette plante est aussi indiquée dans le traitement des troubles digestifs (diarrhées, douleurs abdominales, ulcères de l'estomac), des œdèmes et des hémorroïdes. Enfin, elle protège le foie, combat la cellulite, renforce les gencives et apaise les douleurs dentaires ^[6].



Les Fleurs



Fruit



I.2. Méthodes

L'ensemble des méthodes expérimentales que nous avons mené dans ce travail se structure comme le montre l'organigramme ci-après

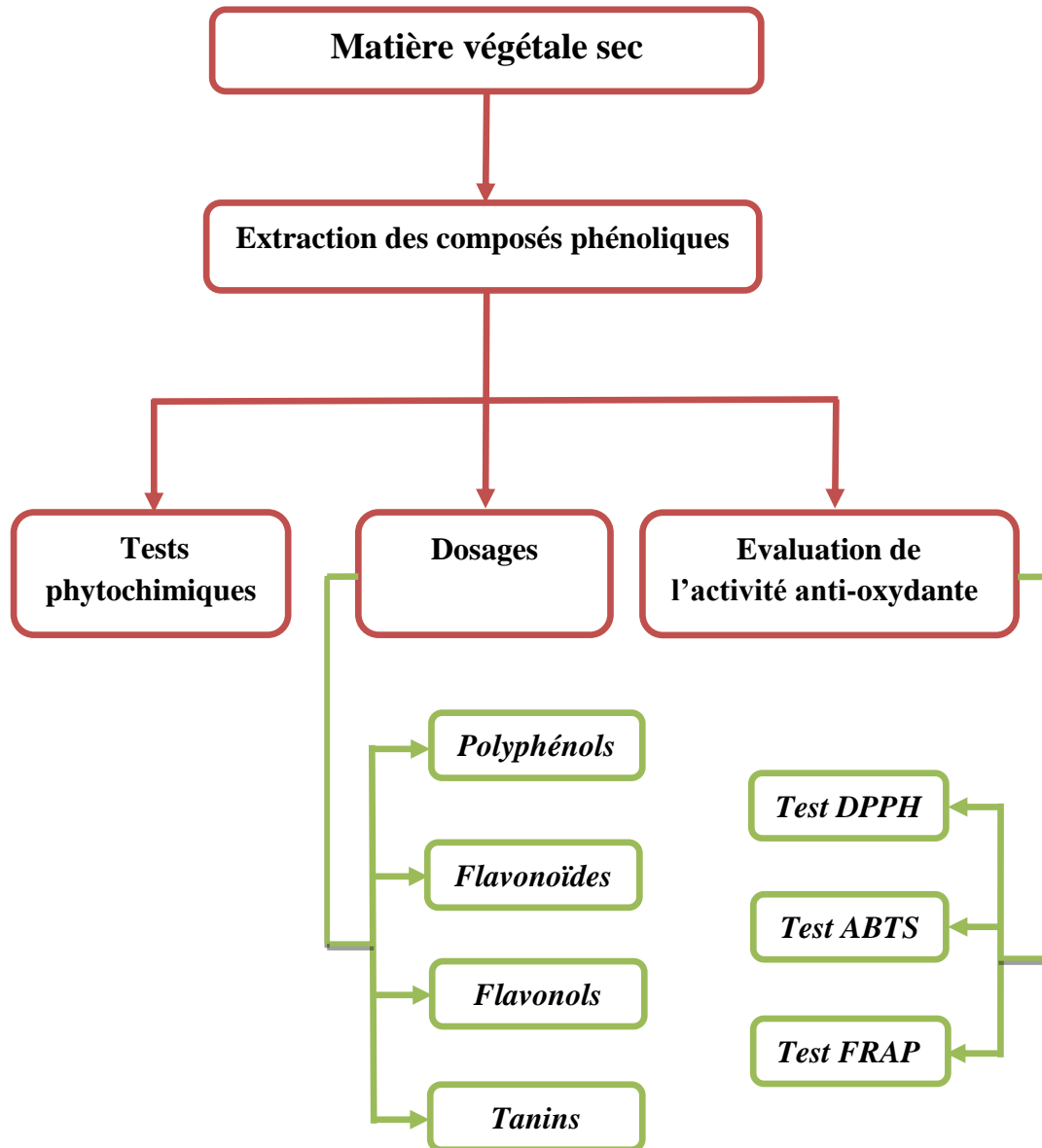


Schéma1 : Organigramme expliquant les différentes étapes expérimentales.

I.2.1. Etude phytochimique de *Pistacia Lentiscus*

I.2.1.1. Séchage et Broyage

Le matériel végétal utilisé au cours de notre étude est la partie aérienne de *pistacia lentiscus*, récolté en mois de **Décembre 2017** dans la région d'Aflou wilaya de Laghouat. Après la récolte, les parties utilisées de la plante (feuilles) ont été lavés et séchées à l'ombre

dans un endroit sec et aéré à une température ambiante et à l'abri de la lumière pour éviter toute modification ou dégradation des constituants présents. Une fois séchés, ils sont récupérés dans des sacs en papier (**Figure 1**).

Les feuilles séchées de *P. Lentiscus* est broyées à l'aide d'un mixeur jusqu'à leur réduction en poudre (**Figure 2**).



Figure 1 : feuilles sèches.



Figure 2: feuilles broyées.

I.2.1.2. Extraction des composés phénolique

L'extrait brut des échantillons étudiés est obtenu par macération. Ce type d'extraction est un simple contact entre le support solide et le solvant ; 5g de poudre ont été mélangé avec 75ml du solvant hydro alcoolique (éthanol à 80%) ; le mélange a été mis sous agitateur magnétique à température ambiante pendant 48h. le Macérât a été filtré à travers un papier

filtre pour obtenir un extrait clair, et on a évaporé le solvant sous vide à une température de 40°C. Après traitement à l'hexane afin d'éliminer toutes traces de composés apolaires (pigments, lipides, etc.), la phase aqueuse est extraite à l'acétate d'éthyle, la phase organique obtenue est évaporée sous vide à 40 °C. Le résidu est repris dans (5 ml d'éthanol pour la phase organique et 5 ml d'eau pour la phase aqueuse) et conserver au réfrigérateur jusqu'à le temps d'analyse.

La série d'extraction permet d'obtenir deux extraits : un extrait aqueux, et un autre organique.

L'organigramme suivant explique les différentes étapes d'extraction des composés phénoliques (**Schéma 2**).

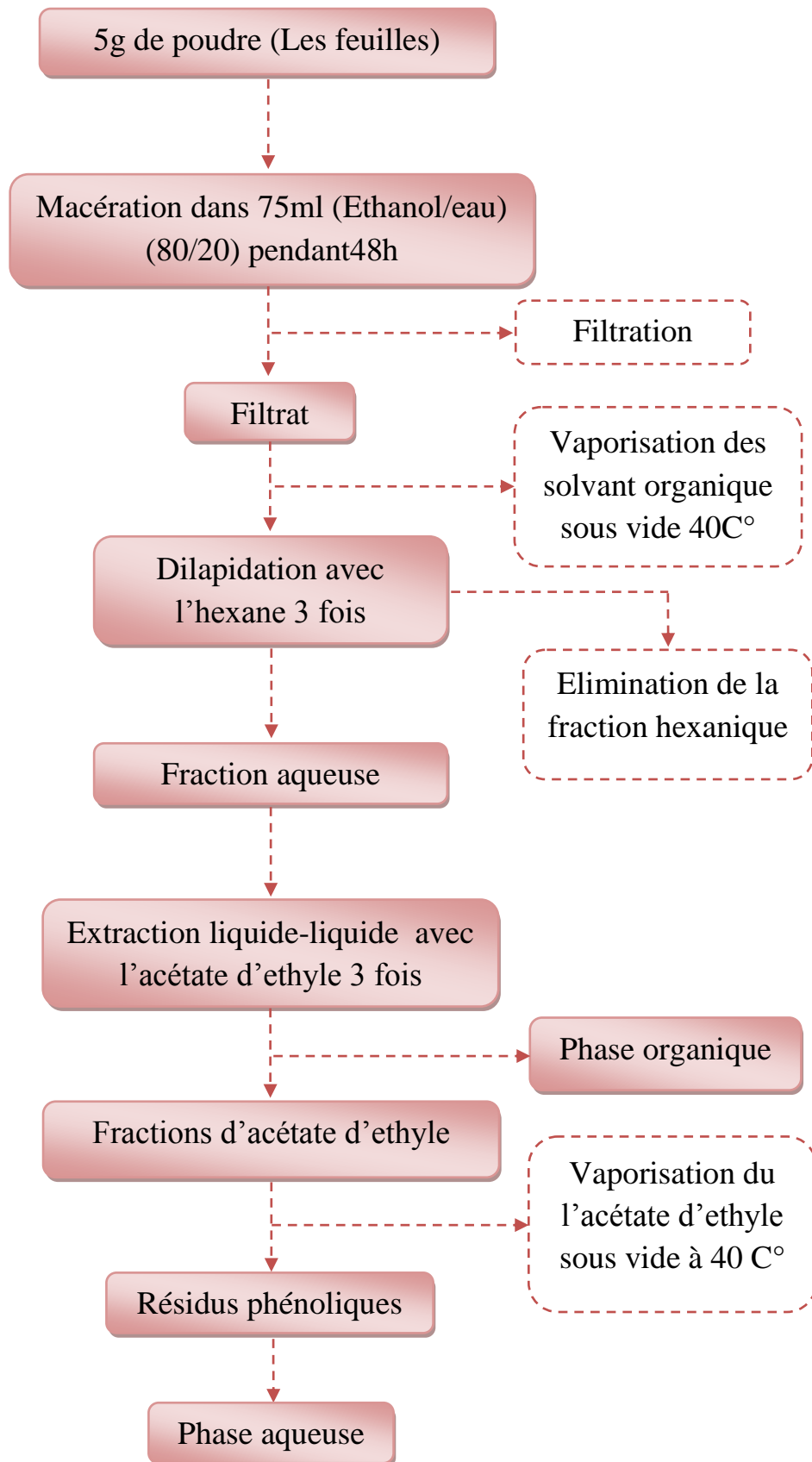


Schéma 2 : Protocole expérimentale d'extraction des composées phénoliques.

I.2.1.3. Tests phytochimiques

Dans le cadre de la recherche de ces molécules ou activités biologiques nouvelles d'origine végétale, il est préférable de déterminer leurs compositions chimiques par une étude phytochimique afin de détecter les classes des composés existants dans les différents organes des plantes.

Les tests phytochimiques sont basés sur des essais de solubilité, sur des réactions décoloration et de précipitation ainsi que sur des examens en lumière ultra violette.

✓ **Mise en évidence des composés phénoliques :**

0,1g extrait, on ajoute 3ml éthanol et 5 gouttes de la solution de FeCl_3 à 1%. Un test positif est révélé par l'apparition d'une coloration bleu-vert ^[7].

✓ **Mise en évidence des flavonoïdes :**

On ajoute 1 ml de l'extrait pur à 1 ml de solution AlCl_3 (2%). et l'ensemble est porté à température ambiante pendant 15 minutes. Un test positif est indiqué par l'apparition d'une couleur jaune ^[8].

✓ **Mise en évidence des anthocyanes :**

5ml de l'extrait, on ajoute 5ml de H_2SO_4 et 5ml NH_4OH . Un test positif est révélé par L'apparition d'une coloration bleu violacé ^[9].

✓ **Mise en évidence des tannins :**

A 2 ml de la solution à tester, on ajoute 2 à 3 gouttes de la solution de FeCl_3 à 1%. Un test positif est révélé par l'apparition d'une coloration bleu-noire (tannins galliques) ou bleu (verdâtre) (tannins cathéchiques) ^[10].

✓ **Mise en évidence des alcaloïdes :**

Leur présence est déterminée quantitativement par : 2.5 ml de l'extrait, on ajoute 1 ml de HCl (10%) (Solution A), et on met les tubes dans un bain marie jusqu'à ébullition. On sépare ce mélange en 2 tubes, le 1^{er} tube constitue le témoin qui contient 1ml de la solution A, le 2^{ème} tube contient 1ml de la solution A et quelques gouttes du réactif de Wagner.

Si le test est positif, on a l'apparition d'une précipitation brune dans le 2^{ème} ^[11].

Le réactif de Wagner est préparé comme suite :

Dans 75 ml d'eau distillée, dissoudre 2g de KI et 1.27g de I_2 . Le volume obtenu est ajusté à 100 ml avec l'eau distillée.

✓ **Mise en évidence des saponosides :**

Leur présence est déterminée quantitativement par : 10 ml d'extrait bien agité pendant 15s. Après un repos de 15 min en position verticale, on mesure la hauteur de la mousse persistante en cm ^[12].

S'il n'y a pas de mousse : test (-)

Si la hauteur de la mousse est de 1 cm d'épaisseur : test faiblement positif (+)

Si la hauteur de la mousse est de 1 cm à 2 cm d'épaisseur : test positif (++)

Si la hauteur de la mousse est de plus de 2 cm d'épaisseur : test fortement positif (+++).

✓ **Mise en évidence des coumarines :**

5 ml de l'extrait est évaporé au bain marie. Au résidu sec, on ajoute 2 ml d'eau chaude. La solution obtenue est divisée en deux parties égales dont :

- La première représente un témoin ;

- Alors que la deuxième est traitée avec 0.5 ml d'ammoniaque (NH₄OH) à 10%.

L'examen est réalisé sous la lumière ultraviolette et l'apparition d'une fluorescence intense révèle la présence de coumarines ^[13].

✓ **Mise en évidence des anthraquinones :**

A 10 ml de l'extrait, on ajoute 5ml de la solution de NH₄OH à 10% avec agitation. Un test positif est révélé par l'apparition d'une coloration violette ^[14].

I.2.1.4. Dosage des polyphénols totaux

Le dosage des polyphénols totaux a été effectué par une méthode adaptée par Singleton et Ross en 1965 avec le réactif de Folin-Ciocalteu ^[15]. Le réactif est constitué d'un mélange d'acide phosphotungstique, H₃PW₁₂O₄₀, et l'acide phosphomolybdique, H₃PMo₁₂O₄₀, qui, après oxydation des phénols, est réduit en un mélange d'oxydes bleus de tungstène, W₈O₂₃, et le molybdène, Mo₈O₂₃. La coloration bleue produite possède une absorption maximale dans la région de 750 nm et est proportionnelle à la quantité totale des composés phénoliques initialement présents ^[16].

200 µl d'extrait dilué été mélangés avec 1 ml de réactif de Folin-Ciocalteu (10%) dilué dans l'eau, après agitation pendant 5 min, 0,8 ml de carbonate de sodium (7,5%) est ajouté à l'ensemble. Les échantillons ont été incubés à température ambiante pendant 30 minutes. L'absorbance est mesurée à 760 à l'aide d'un spectrophotomètre UV (SP-3000 nano) contre un blanc.

Une courbe d'étalonnage a été réalisée en parallèle dans les mêmes conditions opératoires en utilisant l'acide gallique (**Annexe 2**) comme contrôle positif à différentes concentrations (0.1-1 mg/ml).

I.2.1.5. Dosage des flavonoïdes totaux

La concentration des flavonoïdes a été déterminée en utilisant une méthode chlorométrique ^[17]. La méthode repose sur le principe du dosage direct par le chlorure de l'aluminium. En effet, les flavonoïdes possèdent un groupement hydroxyle libre en position 5 susceptible de donner (en présence de chlorure d'aluminium), un complexe jaunâtre par chélation de l'ion Al^+ . La coloration jaune produite est proportionnelle à la quantité de flavonoïdes présente dans l'extrait ^[18].

Brièvement, un millilitre d'extrait dilué dans l'eau est ajouté à 1 ml d' $AlCl_3$ 2%. Après 30 minutes de réaction, l'absorbance est lue à 430 nm. Une courbe d'étalonnage a été réalisée en parallèle dans les mêmes conditions opératoires en utilisant la rutine (**Annexe 3**) comme contrôle positif à différentes concentrations (0.1-1 mg/ml). Les résultats sont ainsi exprimés en mg d'équivalent de rutine par 1g du poids sec de la matière végétal ^[19].

I.2.1.6. Dosage des flavonols

Le taux des flavonols est déterminé par la méthode décrite par Adedapo ^[20]. Un volume de 500 μ l d'extrait est ajouté à 500 μ l d'acétate de sodium (50%) et 750 μ l de chlorure d'aluminium (2%). La lecture de l'absorbance est faite à 440nm après 2 heures et demie d'incubation, les résultats sont exprimés en mg équivalents rutine/g d'échantillons (mg EQ/100g).

Une courbe d'étalonnage a été réalisée en parallèle dans les mêmes conditions opératoires en utilisant la rutine (**Annexe 4**) comme contrôle positif à différentes concentrations (0.1- 1 mg/ml).

I.2.1.7. Dosage des tanins

La méthode dépend de la réaction de la vanilline ^[21]. Cela s'explique par la propriété des tanins à se transformer en anthocyanidols de couleur rouge par réaction avec la vanilline ^[22].

Un volume de 400 μ l de chaque extrait a été ajouté à 3 ml de la solution vanilline/méthanol à 4 %, puis mélangé vigoureusement. Ensuite, un volume de 1,5 ml de l'acide chlorhydrique (HCl) à 8% a été additionné. Le mélange obtenu est laissé réagir à température ambiante pendant 15 min. L'absorbance est mesurée à **500 nm** contre un blanc. Différentes

concentrations (0.1-1 mg/ml) préparées à partir d'une solution mère de la catéchine (**Annexe 5**), permettront de tracer la courbe d'étalonnage.

I.2.2. Evaluation de l'activité antioxydante

I.2.2.1. Test de piégeage du radical DPPH

✓ Principe

La réduction de radical libre DPPH[•] (2,2'-diphényle-1-picrylhydrazyl) par un antioxydant peut être suivie par spectrométrie UV-Visible, en mesurant la diminution de l'absorbance à 517 nm provoquée par les antioxydants ^[23].

En présence des piègeurs de radicaux libres, le DPPH de couleur violette se réduit en 2,2-Diphényl 1 picryl hydrazine de couleur jaune (**Figure 3**) ^[24].

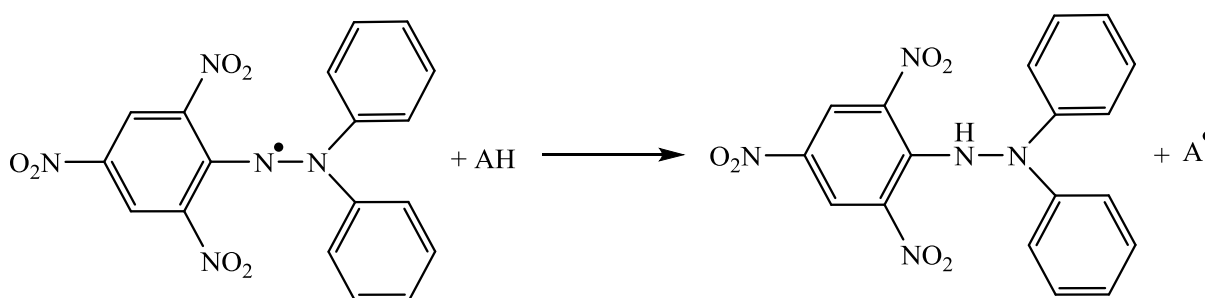


Figure 03: Mécanisme réactionnel intervenant lors du test DPPH.

✓ Mode opératoire

L'activité du piégeage du radical DPPH a été mesurée selon le protocole décrit par LOPES-LUTZ et al. (2008) ^[25]. 50µl de chaque solution éthanoïque de l'extrait à différentes concentrations sont ajoutés 1950 µl de la solution éthanoïque du DPPH. Parallèlement, un témoin négatif est préparé en mélangeant 50 µl d'éthanol avec 1950 µl de la solution de DPPH. La lecture de l'absorbances est faite contre un blanc pour chaque concentration à 517 nm après 30 min d'incubation à l'obscurité et la température ambiante. Le contrôle positif est représenté par une solution d'un antioxydant standard ; Trolox et l'acide ascorbique (**Annexe 6, 7**), dont l'absorbance a été mesuré dans les mêmes conditions que les échantillons et pour chaque concentration ^[26].

La capacité à piéger le radical libre DPPH a été calculé comme pourcentage d'inhibition (I%) en utilisant l'équation suivante :

$$\%I = [(A_0 - A_s) / A_0] * 100$$

Où :

A_0 : Est l'absorbance de la solution DPPH

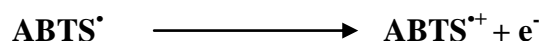
A_S : Est l'absorbance de l'extrait de l'échantillon lorsque la solution a été ajoutée [27].

L'activité antioxydant est exprimé ensuite par la valeur de IC_{50} en mg/ml, les valeurs de IC_{50} ont été déterminées graphiquement par la régression linéaire l'inhibition en fonction de la concentration ; sachant que IC_{50} est la concentration efficace d'antioxydant nécessaire pour le piégeage et la réduction de 50% d'une mole du radical DPPH [27].

I.2.2.2. Réduction du radical-cation ABTS^{•+}

✓ Principe

La méthode de radical ABTS est l'un des tests les plus utilisés pour la détermination de la concentration des radicaux libres. Il est basé sur la neutralisation d'un radical-cation résultant de la mono électronique oxydation du chromophore synthétique 2,2-azino-bis (3 éthylbenzothiazoline -6-sulfonique acide) (ABTS^{•+}) :



Cette réaction est suivie par spectrophotométrie [28].

✓ Mode opératoire

Pour préparer la solution de l'ABTS on prépare une solution aqueuse de persulfate de potassium $K_2S_2O_8$ (2,45mM) à partir de cette solution on prépare la solution d'ABTS à (7mM), que présente une coloration bleu-vert correspondante à la formation du radical cationique ABTS^{•+}.

Tout est conservé à l'abri de la lumière et à la température ambiante durant 16h avant l'utilisation. La solution obtenue est diluée avec l'eau distillée pour obtenir une absorbance de 0,7 à 734 nm. Un volume de 1980 μ l d'ABTS est mélangé avec 20 μ l de différentes concentrations de notre extrait puis laissé à l'incubation pendant 30 min à l'abri de la lumière et à la température ambiante. On mesure directement la diminution de l'absorbance par le spectrophotomètre à une longueur d'onde de 734 nm contre un blanc contenant l'éthanol et persulfate [29].

Le Trolox et l'acide ascorbique (**Annexe 10 et 11**) sont utilisés comme antioxydant standard dont l'absorbance a été mesurée dans les mêmes conditions que les échantillons et pour chaque concentration [30].

Le pourcentage d'inhibition est calculé selon la formule suivante :

$$\%I = [(Abs_0 - Abs_S) / Abs_0] * 100$$

%I : Pourcentage d'inhibition

Abs₀ : L'absorbance du radical ABTS^{•+} + Ethanol.

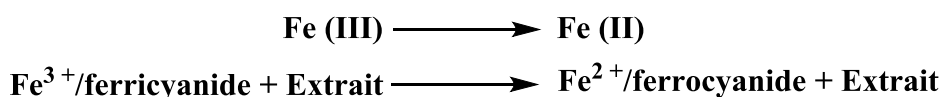
Abs_S : L'absorbance de l'échantillon ABTS^{•+} (Extrait ou standard) ^[31].

I.2.2. Test de réduction du fer FRAP

✓ Principe

Le pouvoir réducteur d'un extrait est associé à son pouvoir antioxydant. Cette technique a été développée pour mesurer la capacité des extraits testés à réduire le fer ferrique (Fe³⁺) présent dans le complexe ferricyanure de potassium K₃Fe(CN)₆ en fer ferreux (Fe²⁺). En effet le Fe³⁺ participe à la formation du radical hydroxyle par la réaction de Fenton. L'absorbance du milieu réactionnel est déterminée à 700 nm ^[32]. Une augmentation de l'absorbance correspond à une augmentation du pouvoir réducteur des extraits testés ^[33].

Le principe de ce test est basé sur la réaction chimique suivante :



✓ Mode opératoire

Le pouvoir réducteur a été déterminé suivant la méthode préconisée par ^[32]. En effet, 25 µl de différentes concentrations de chaque extrait dilué dans l'éthanol est mélangé avec 500 µl de la solution tampon (pH 6.28) et 500 µl de ferricyanure de potassium K₃Fe(CN)₆ à 1%. Les mélanges sont incubés à 50°C pendant 20 min. après, 500µl de l'acide trichloracétique (10%) est additionné avec 100µl FeCl₃ (0,1%). L'absorbance est mesurée à 700 nm à l'aide d'un spectrophotomètre. Trolox est utilisé comme contrôle positif dans cette expérience dans les mêmes conditions opératoires (**Annexe 14**).

I.2.3. Analyse statistique

Les résultats d'analyse des extraits sont calculés à partir de trois essais. Les données ainsi que les présentations graphiques sont traitées à l'aide de Microsoft Office Excel.

II. Résultats et Discussion

II.1. Rendement d'extraction

Le rendement d'extraction par la méthode de macération de notre plante *pistacia lentiscus* est exprimé en pourcentage massique par rapport à la matière sèche. Il est représenté au niveau du (Figure 4).

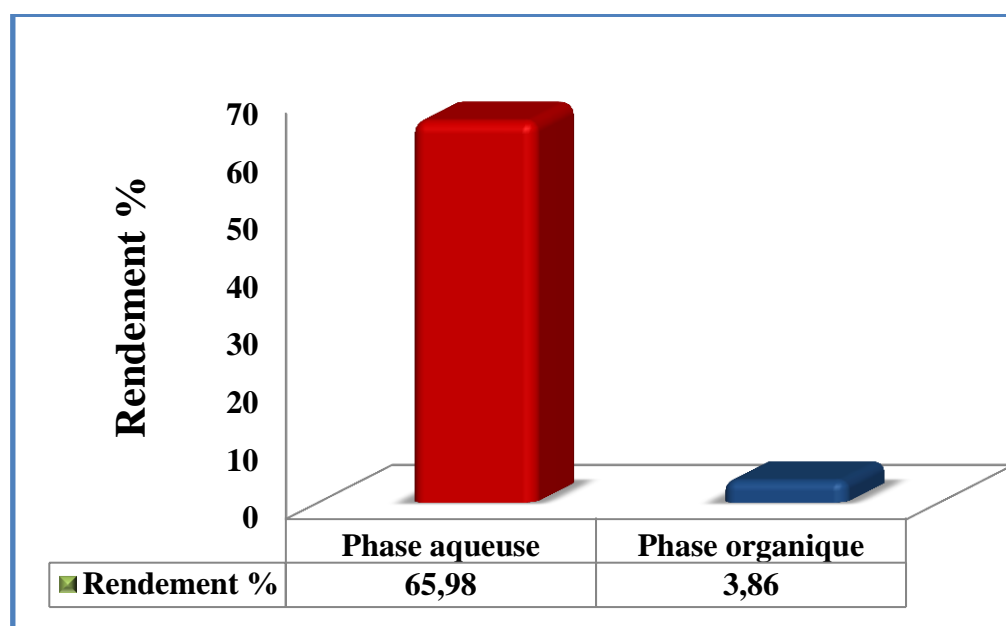


Figure 04 : Les rendements d'extraction.

D'après les résultats obtenus, nous avons constaté que la phase aqueuse de *pistacia lentiscus* a donné un rendement élevé à 65,98% par rapport à celle de phase organique à 3,86%. On peut dire que le taux d'extraction varie d'une phase à l'autre la composition chimique.

Dans la présente étude, la méthode de macération sous agitation permet d'accélérer le processus d'extraction et de minimiser le temps de contact du solvant avec l'extrait tout en préservant la bio-activité de ses constituants.

II.2. Tests phytochimiques

Les tests phytochimiques ont été réalisés sur différents extraits préparés permet de détecter les différentes familles chimiques présentes dans la partie aérienne de *pistacia lentiscus*. Les résultats sont repris dans le (Tableau 02) une réaction positive est représentée par (+) et l'absence de la substance est représenté par (-).

Tableau 02 : Résultats des tests phytochimiques.

Familles chimiques	Extrait	
	Phase organique	Phase aqueuse
Alcaloïdes	Réactif de Wagner	
	+	+
Anthocyanes	-	-
Anthra quinones	-	-
Composés phénolique	+	+
Saponisides	Test de Mouse	
	+ (1cm)	++ (2cm)
Tanins	+ (tanins catéchiques)	+ (tanins galliques)
Flavonoïde	+	+

D'après les résultats obtenus, nous remarquons la présence des tanins : catéchiques (phase organique) et tanins galliques (phase aqueuse), des saponisides, des Composés phénoliques, des flavonoïdes, les alcaloïdes (d'après la réaction de Wagner). Par contre les anthocyanes et les anthra quinones sont négatifs.

II.3. Quantification des composés phénoliques

Les composés phénoliques constituent un ensemble de molécules très largement répandues dans le règne végétal. On les trouve dans les plantes, depuis les racines jusqu'aux fruits.

Le terme composé phénoliques désigne de nombreuses substances regroupées en famille. Les différents composés d'une même famille se différencient par la nature et la position des substituants fixés sur un squelette aromatique commun.

Les résultats obtenus sont regroupés dans le (**Tableau 03**) et présentés dans la (**Figure 05**):

Tableau 03 : les teneurs en composés phénoliques des extraits étudiés.

Composés phénoliques	Phase organique	Phase aqueuse
Polyphénols (mgEAG /gMs)	149,561 ± 30,234	579,027 ± 24,764
Flavonoïdes (mgER /gMs)	116,584 ± 20,875	323,096 ± 26,343
Flavanols (mgER /gMs)	77,361 ± 2,823	30,385 ± 6,279
Tanins (mgEC /gMs)	166,666 ± 30.176	1166,666 ± 25.032

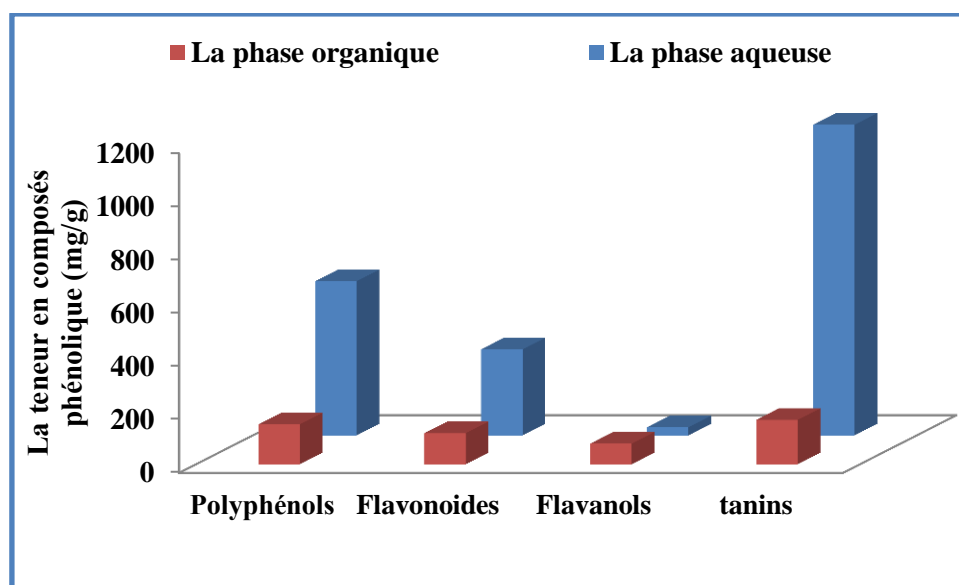


Figure 05 : les teneurs en composés phénoliques des extraits étudiés.

La teneur en phénols totaux de chaque extrait a été alors calculée à partir de la courbe d'étalonnage de l'acide gallique (**Annexe 2**) et exprimée en milligrammes d'équivalent d'acide gallique par gramme de la matière sèche.

Selon **Ghasemi** ^[34], la variation des teneurs en polyphénols peut être dû à la nature du solvant utilisé, la méthode d'extraction et la température d'extraction.

Pour les deux phases de la plante de *pistacia lentiscus* étudiée nous avons remarqué une variabilité des teneurs en phénols totaux. La teneur la plus élevée est constatée dans la phase aqueuse elle est de l'ordre de (579,027±24,764mg/g) par contre la plus faible teneur remarquer par la phase organique avec une valeur de (149,561±30,234mg/g) pour les polyphénols.

✓ **La teneur des flavonoïdes**

Dans nos échantillons a été déterminée à partir d'une courbe d'étalonnage de la rutine (**Annexe 3**) et exprimés en milligrammes par gramme de la matière sèche en équivalent de la rutine.

D'après les résultats obtenus, nous avons observé des teneurs variables en flavonoïdes dans les deux phases, la phase aqueuse renferme une concentration plus élevée ($323,096 \pm 26,343$ mg /g) que celle de la phase organique ($116,584 \pm 20,875$ mg /g). Selon ces résultats, on peut constater une répartition inégale des flavonoïdes dans les différentes phases d'extraction. La comparaison entre la teneur des flavonoïdes et phénols totaux dans chaque extrait, nous a permis de dire que la variation des quantités des flavonoïdes est relative à celle des phénols totaux c'est-à-dire elles varient dans le même sens.

✓ **La teneur des flavanols**

Dans nos échantillons a été déterminée à partir d'une courbe d'étalonnage de la rutine (**Annexe 4**) et exprimés en milligrammes par gramme de la matière sèche en équivalent de la rutine.

L'analyse des résultats révèle que la phase organique possède la teneur la plus élevée ($77,361 \pm 2,823$ mg/g), tandis que la concentration la moins élevée est manifestés par la phase aqueuse ($30,385 \pm 6,279$ mg/g). On remarque qu'il y a une différence remarquable dans ce dosage par rapport au les autres.

✓ **La teneur en tanins**

A été à partir de la courbe d'étalonnage, tracée en utilisant la catéchine comme standard. Les résultats ont été déterminés à partir de l'équation de la régression linéaire de la courbe d'étalonnage (**Annexe 5**), et exprimés en milligrammes par gramme de la matière sèche en équivalent de la catéchine.

La présence des tanins suggère la capacité de notre plante à jouer un rôle majeur en tant qu'agent antimicrobien et antioxydant ^[35].

Ce dosage révèle que la fraction aqueuse renferme la plus importante teneur en tanins, avec une valeur de ($1166,666 \pm 25.032$ mg/g). En revanche, la fraction organique est enregistrée la teneur la plus faibles ; leur concentration est atteint ($166,666 \pm 30.176$ mg/g).

L'ensemble de ces résultats importants reflètent les données trouvées dans la (**Figure 04**) où nous avons enregistré un rendement élevé pour la phase aqueuse ce qui prouve la richesse de cette partie de la plante en composés phénolique.

Par conséquent, on peut conclure que la quantité de différents composés phénoliques est influencée par la capacité de chaque solvant d'extraire le maximum de ces composés selon leur polarité.

Les solvants d'extraction entraînent des substances non phénoliques comme les sucres, les protéines et les colorants qui peuvent interférer pendant toute évaluation phénolique. Le dosage donne donc une évaluation brute de tous les composés phénoliques d'un extrait, de plus le réactif utilisé n'est spécifique aux polyphénols [36].

Le contenu polyphénolique varie qualitativement et quantitativement d'une plante à une autre. Cela peut être attribué à plusieurs facteurs dont nous citons les facteurs climatiques et environnementaux : la zone géographique, sécheresse, sol, agressions et maladies...etc; le patrimoine génétique, la période de la récolte et le stade de développement de la plante [36].

II.4. Estimation de l'activité antioxydante

II.4.1. Test de DPPH

Les résultats du pouvoir antiradicalaire par le DPPH des différents extraits sont rassemblés dans la (Figure 06).

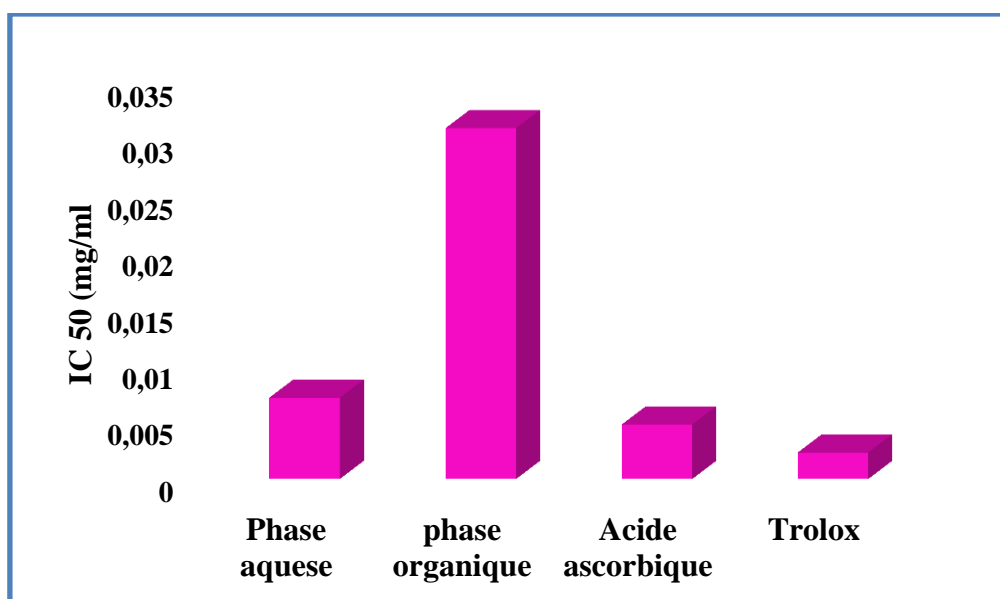


Figure 06 : Activité antioxydante des différents extraits vis-à-vis du radical DPPH.

Nous avons déterminé les valeurs des IC₅₀ de l'extrait et de l'antioxydant à partir des représentations graphiques I%=f(C) (Annexe 8 et 9). Ce graphe montre la croissance de l'inhibition en fonction de la concentration, lorsque la concentration de l'extrait augmente

dans la solution la capacité à réduire le radical DPPH augmente, ce qui montre l'activité antioxydant de cette extrait. Les résultats sont groupés dans le (**Tableau 04**).

Tableau 04 : Activité antioxydante des différents extraits vis-à-vis du radical DPPH.

Pouvoir antioxydant par le test DPPH IC 50 (mg/ml)	
Phase organique	0,031±0,0036
Phase aqueuse	0,0071±0,00048
Acide ascorbique	0,0048±0,00014
Trolox	0,0023±4,1314E-05

Les valeurs de IC50% sont de l'ordre de pour (0,0071±0,00048 mg/ml) pour la phase aqueuse, la phase organique a enregistré un IC50% = (0,031±0,0036 mg /ml), sachant que le paramètre IC50 est inversement proportionnel à l'activité antioxydante, on peut constater que le pouvoir anti radicalaire de la phase aqueuse est plus important que celle de la phase organique. En comparant ces valeurs obtenues avec les standards, la vitamine C et le trolox, on trouve que ces extraits ont une activité anti radicalaire puissante mais ils sont moins actifs que le trolox (la plus puissante).

La différence dans l'activité anti-radicalaire au DPPH entre les extraits analysés est probablement due à leur composition en différents composés phénoliques. La réduction du DPPH n'est généralement pas due à l'action d'un seul composé mais aux interactions entre plusieurs composés, ces interactions peuvent exister dans un extrait pas dans un autre, conduisant ainsi à cette différence d'activité entre les extraits.

II.4.2. Test d'ABTS

Ce test est basé sur la capacité d'un antioxydant à stabiliser le radical cationique ABTS^{•+} de coloration bleu-vert en le transformant en ABTS⁺ incolore, par piégeage d'un proton par l'antioxydant.

La capacité de piégeage des radicaux libres a été exprimée par la concentration effective IC50 de l'antioxydant (mg/ml) qui représente la concentration nécessaire pour récupérer 50% de radicaux d'ABTS.

Les résultats obtenus sont regroupés dans le (**Tableau 05**) et présentés dans la (**Figure 07**):

Tableau 05: Résultats de l'activité antioxydante évaluée par le test ABTS.

Pouvoir antioxydant par le test ABTS IC 50 mg/ml	
Phase organique	0,0087±8,9938E-05
Phase aqueuse	0,0025±0,0011
Acide ascorbique	0,0038±0,00017
Trolox	0,0021±0,00025

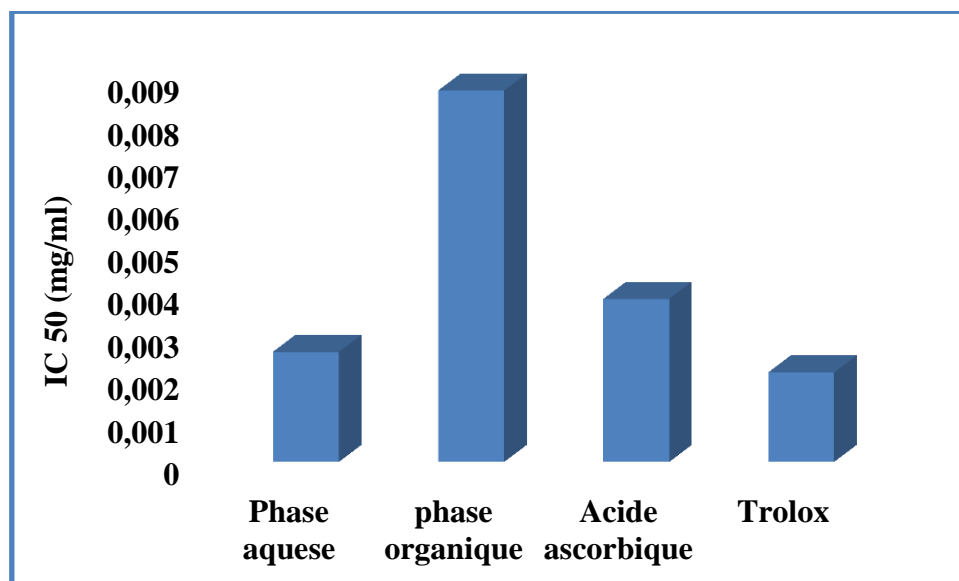


Figure 07 : Résultats de l'activité antioxydante évaluée par le test ABTS.

Les résultats ont été exprimés par détermination d'IC₅₀ (concentration en antioxydant nécessaire pour réduire de 50 % la concentration initiale en ABTS^{•+}) Plus la valeur d'IC₅₀ est petite plus la capacité antioxydante de nos extraits est importante, les IC₅₀ ont été calculé pour chaque extraits (**Annexe 12 et 13**) et antioxydants standard.

Pour les deux extraits, la phase aqueuse présente IC₅₀ le plus faible (0,0025±0,0011 mg/ml), il est donc considéré comme étant le plus efficace pour l'inhibition cationique ABTS. Suivie de la phase organique avec un IC₅₀ plus supérieure (0,0087±8,9938E-05mg/ml).

L'extrait de la phase aqueuse serait donc plus actif que celui de la phase organique. Ce résultat serait compatible avec la composition chimique déterminée pour les polyphénols où une prédominance de ces composés a été clairement identifiée dans la phase aqueuse que dans l'organique, lequel expliquerait son pouvoir anti-radicalaire relativement élevé dans la phase aqueuse que dans la phase organique.

Ce travail est en accord avec des résultats déjà publiés ^[37]. Selon lesquels les polyphénols constitueraient une bonne source d'antioxydante naturel.

II.4.3. Test de FRAP

Beaucoup d'études ont indiqué la présence d'une relation directe entre les activités antioxydantes et la puissance réductrice. Dans ce test le pouvoir antioxydant se manifeste via le changement de la couleur du milieu réactionnel de jaune au bleu, un changement qui est due à la réduction de (Fe^{3+}) à la forme fer ferreux (Fe^{2+}) qui est quantifiée par la mesure de l'absorbance de la couleur bleu formée aux différentes concentrations utilisées (**Figure 08**).

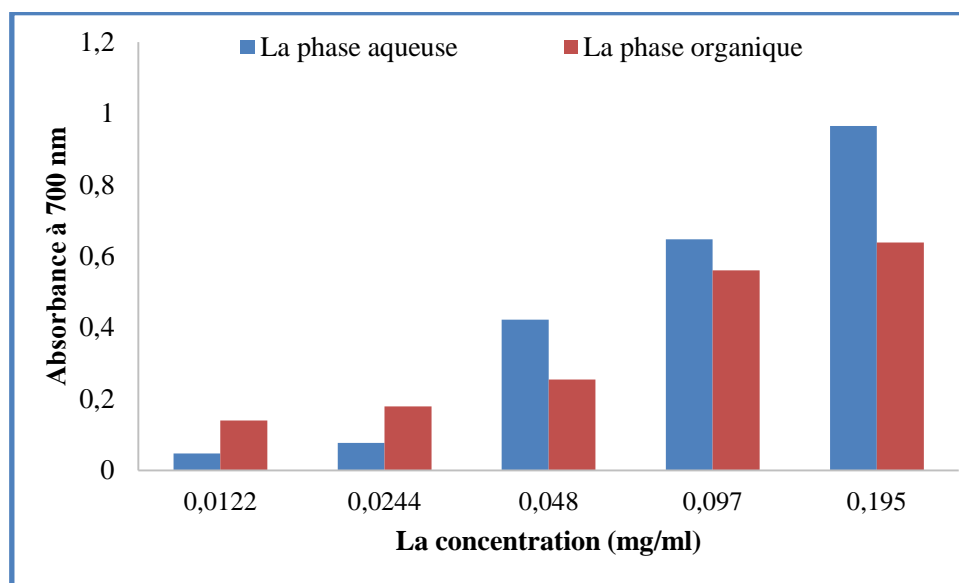


Figure 08: Activité antioxydante de différentes concentrations des extraits analysées par le test de FRAP.

Le pouvoir réducteur de ces échantillons est exprimé par la concentration effective qui est une concentration qui permet d'obtenir une absorbance de 0,5 [38]. En utilisant le Trolox comme standard (**Annexe 14**).

Les résultats obtenus sont représentées dans le (**Tableau 06**).

Tableau 06 : Test FRAP pour les extraits analysés.

FRAP IC 50 (mg/ml)	
Phase organique	0,12±0,003
Phase aqueuse	0,073±0.003
Trolox	0,047±0,0006

D'après les résultats obtenus (**Figure 08**), l'efficacité des échantillons à réduire Fe^{3+} à Fe^{2+} est variable, pour les deux extraits nous observons que l'activité antioxydante augmente avec

la concentration utilisée. D'après les résultats obtenus nous ont montré que la capacité de réduction est proportionnelle à l'augmentation de la concentration de nos échantillons.

Selon les résultats du test de FRAP mentionnés sur le (**Tableau 06**), Nous constatons que la phase aqueuse a présenté une valeur d'IC50 ($0,073 \pm 0,003$ mg/ml) ce qui signifie une meilleure capacité à réduire le fer. Cette valeur est plus proche à celle de trolox ($0,047 \pm 0,0006$ mg/ml).

Siddhuraju et Becker ^[39], ont montré que cette forte activité peut être probablement dû à la présence de groupement hydroxyle dans les composés phénoliques qui peuvent servir comme donneur d'électron. Par conséquent, les antioxydants peuvent être considérés comme des réductants et inactivateurs des oxydants. ^[40].

La phase organique a montré le pouvoir le plus faible avec une valeur d'IC50 très élevée qui de $0,12 \pm 0,003$ mg/ ml. Cela peut être expliqué par une faible affinité entre leur fonction et les ions métallique de fer ferrique (Fe^{3+}).

Conclusion et perspectives

A l'heure actuelle, les plantes médicinales restent encore le premier réservoir de nouveaux médicaments. Elles sont considérées comme une source de matières premières essentielles pour la découverte de nouvelles molécules nécessaires à la mise au point de futurs médicaments.

Notre travail consiste à l'étude quantitative et qualitative d'une plante locale *pistacia lentiscus* et la valorisation de l'activité antioxydante des polyphénols. Pour l'obtention de ces derniers nous avons réalisé une extraction par macération.

L'extraction des composés phénoliques est une étape très importante pour la valorisation de ces principes actifs, elle dépend du solvant approprié qui préservent leurs propriétés biologiques.

Les résultats obtenus dans l'analyse qualitative, nous laissent à constater que les familles chimiques répondu dans notre plante sont les composés phénoliques, les flavonoïdes, les tanins, les saponosides et les alcaloïdes.

Quantitativement, l'évaluation du contenu des polyphénols totaux en adoptant la méthode de Folin-Ciocalteu révèle la présence des quantités importantes en polyphénols. Dont le rendement le plus remarquable est celui de la phase aqueuse ($579,027 \pm 24,764$ mg/g).

De même nous avons dosé les flavonoïdes et les tanins qui nous mène à conclure que cette plante contient une quantité considérable surtout pour la phase aqueuse.

Au cours de ce travail, nous avons également mesuré l'activité antioxydante des extraits par trois tests : l'analyse par le radical stable DPPH \cdot , radical cationique ABTS \cdot^+ et l'estimation du pouvoir réducteur FRAP.

Nous avons constaté pour l'activité antioxydante par le piégeage du radical libre DPPH \cdot et en comparant les IC₅₀ des différents extraits testés par rapport à celles de l'acide ascorbique et le Trolox, nous avons remarqué une activité antiradicalaire très importante pour la phase aqueuse comparativement à la phase organique.

Pour le test à l'ABTS, la phase aqueuse montre une valeur très importante par rapport au phase organique. Pour ce test l'activité antiradicalaire intéressante et presque similaire avec les standards.

Cependant, l'activité antioxydante par la méthode FRAP, la phase aqueuse a une capacité de réduire le fer très importante par rapport à la phase organique et qui augmente en fonction de la concentration.

D'après tous les résultats obtenus des différentes fractions organiques et aqueuse, on conclut qu'il y a une forte relation entre les trois tests antioxydants pour ce qui confirme les propriétés puissantes que possèdent les polyphénols à piéger les radicaux libres et à réduire le fer.

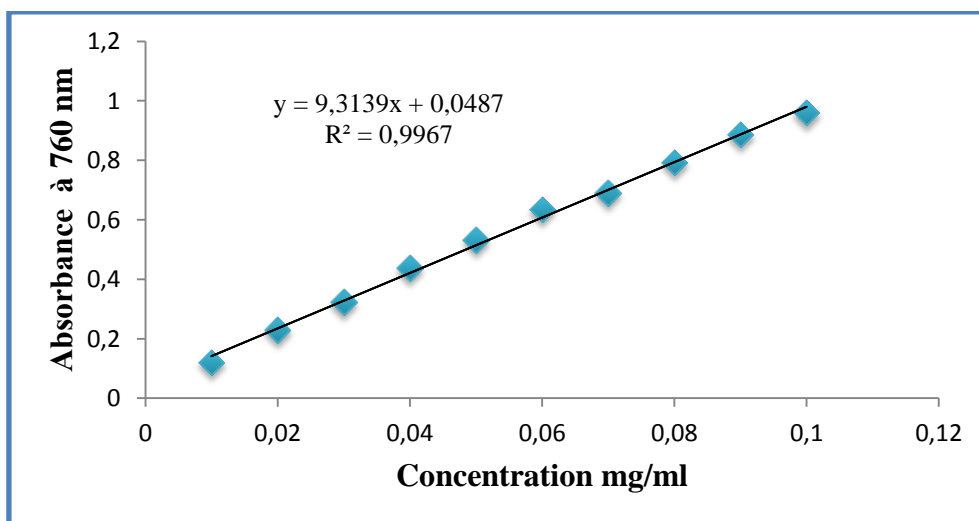
Comme perspective, nous suggérons des études complémentaires afin de déterminer les activités biologiques des extraits de *Pistacia lentiscus* **in vitro** et **in vivo**.

ANNEXES

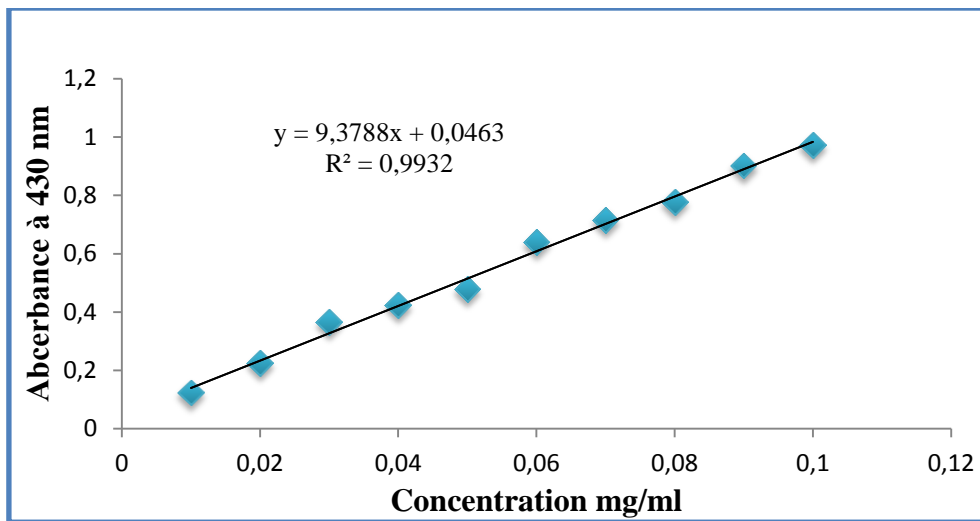
Annexe 1 : Réactifs et produits chimiques

Produits	Formules
Hexane	C_6H_{14}
Acide gallique	$C_7H_6O_5$
Carbonate de sodium	Na_2CO_3
Chlorure de Fer (III)	$FeCl_3$
Ammoniaque	NH_4OH
Persulfate de potassium	$K_2S_2O_8$
Trichlorure D'Aluminium	$(AlCl_3 ; 6H_2O)$
Acide sulfurique	H_2SO_4
Ethanol, Méthanol	$C_2H_6O, CH_3OH,$
Ethyle Acétate	$C_4H_8O_2$
Acide Chlorhydrique	HCl
Iodure de Potassium, Iode	KI, I_2
Dibasic potassium phosphate	K_2HPO_4
Potassium dihydrogen phosphate	KH_2PO_4
ABTS	$C_{18}H_{18}N_4O_6S_4$
DPPH	$C_{18}H_{12}N_5O_6$

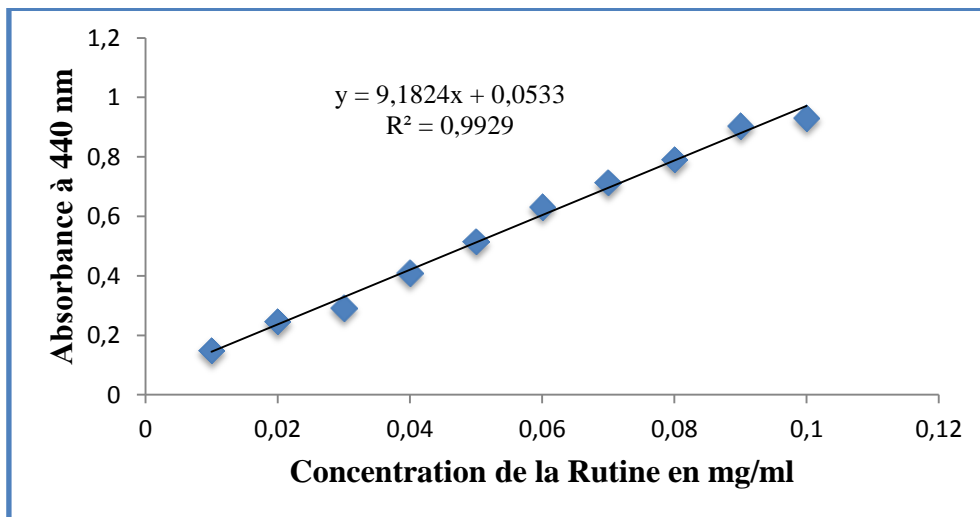
Annexe 2 : Courbe d'étalonnage des polyphénols (l'acide gallique).



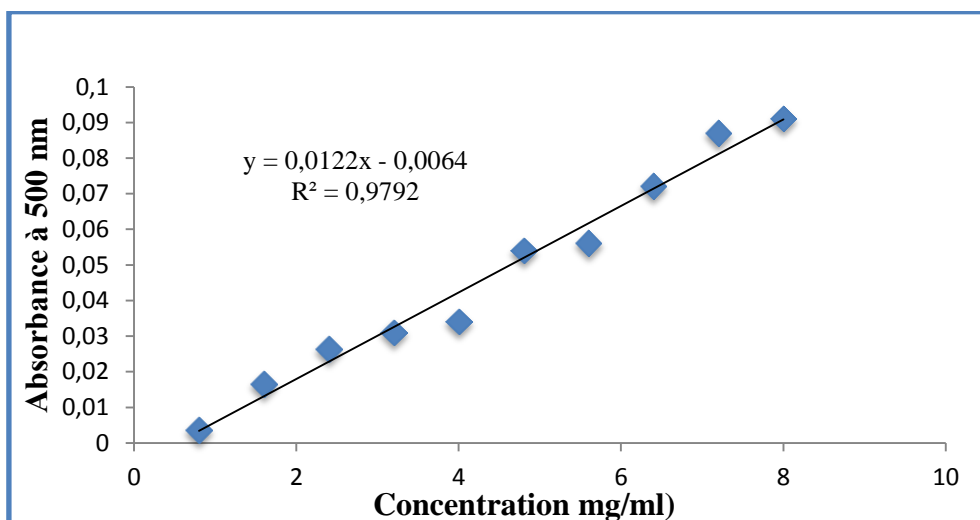
Annexe 3 : Courbe d'étalonnage des flavonoïdes (Rutine)



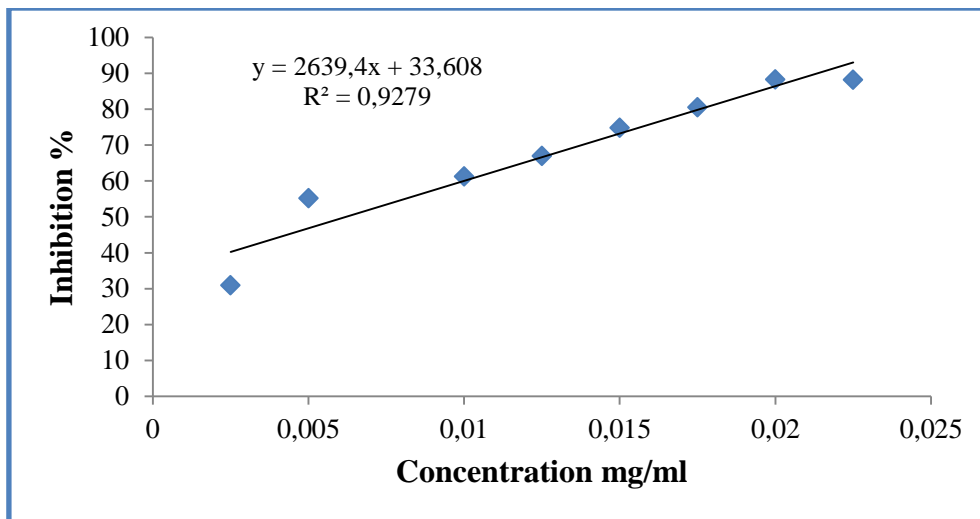
Annexe 4 : Courbe d'étalonnage des flavonols (Rutine)



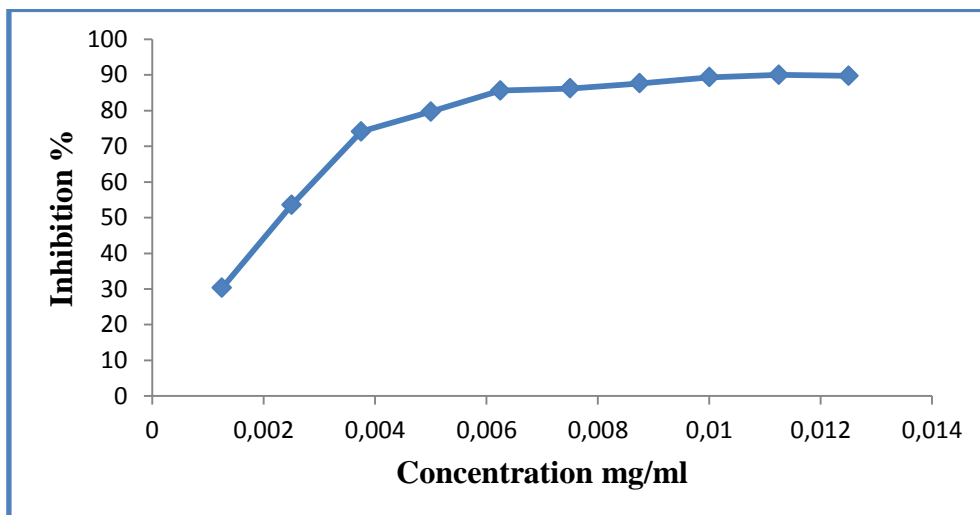
Annexe 5 : Courbe d'étalonnage des tanins (catéchine).



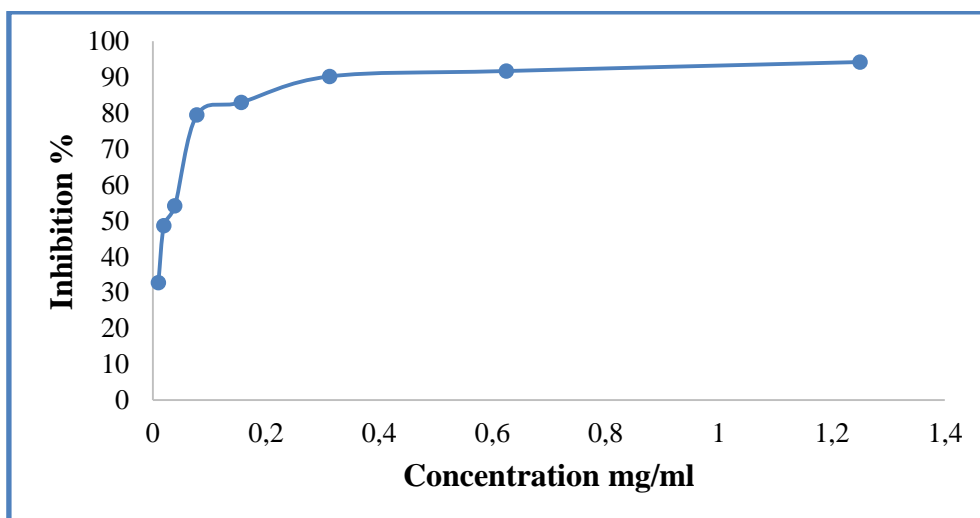
Annexe 6 : Test de DPPH pour l'acide ascorbique.



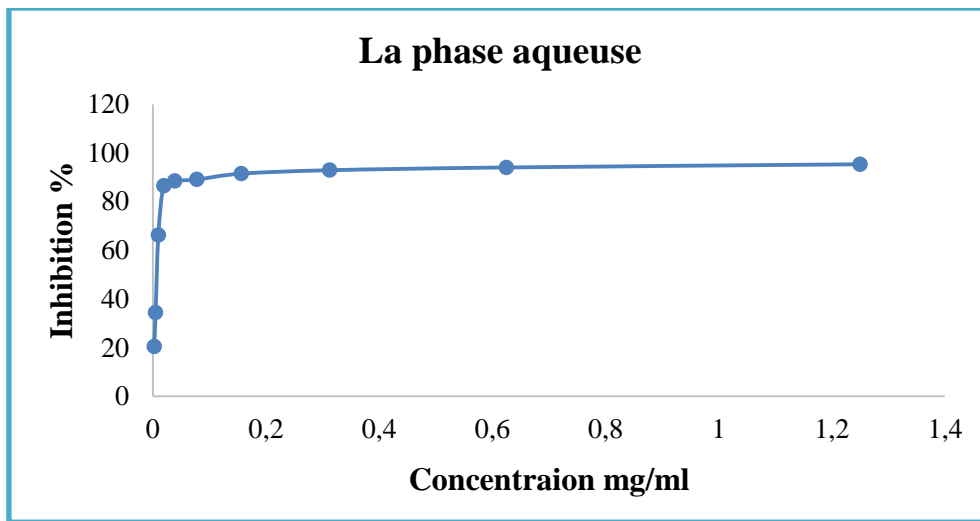
Annexe 7 : Test de DPPH pour le Trolox



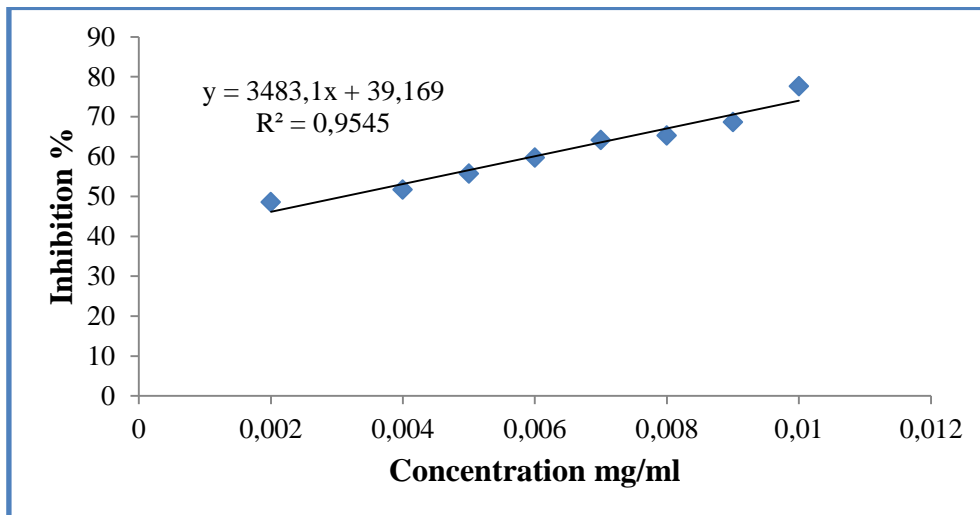
Annexe 8 : Test de DPPH pour la phase organique.



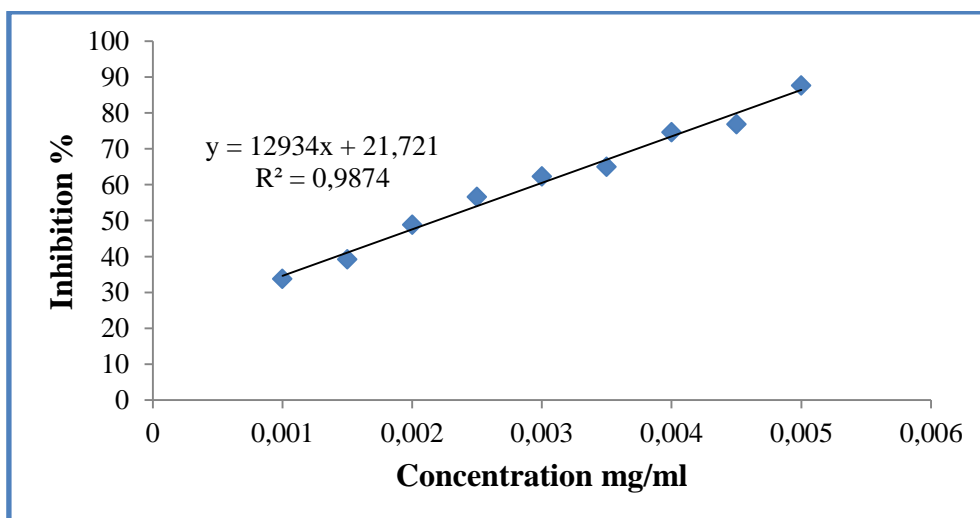
Annexe 9 : Test de DPPH pour la phase aqueuse.



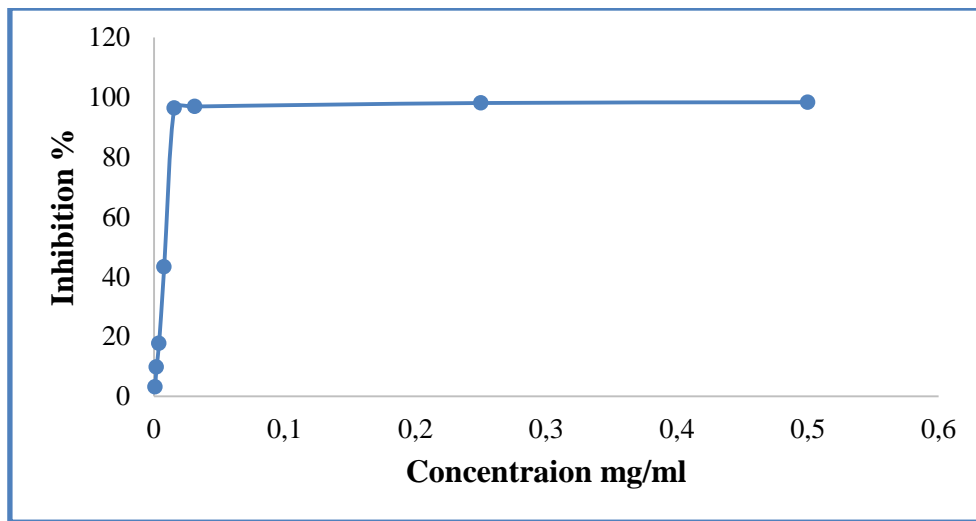
Annexe 10 : Test de l'ABTS pour l'acide ascorbique



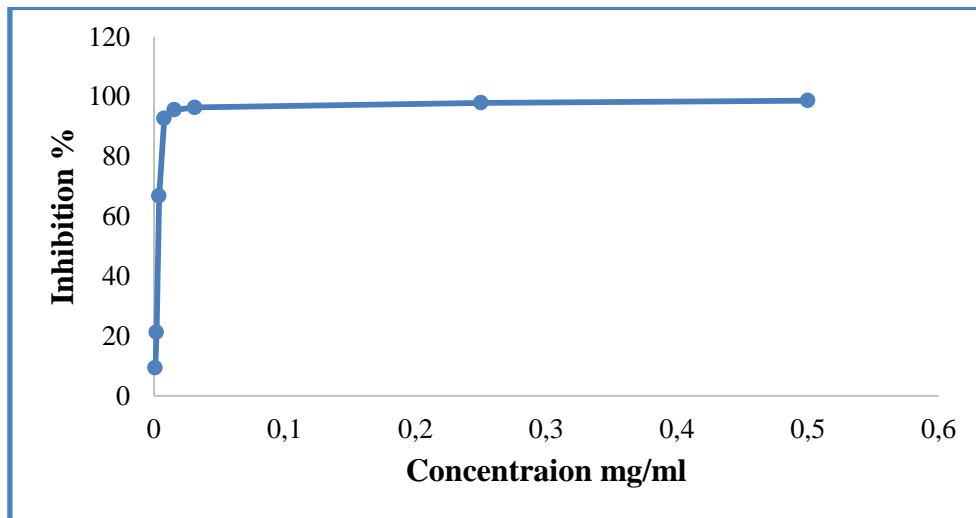
Annexe 11 : Test de l'ABTS pour le Trolox



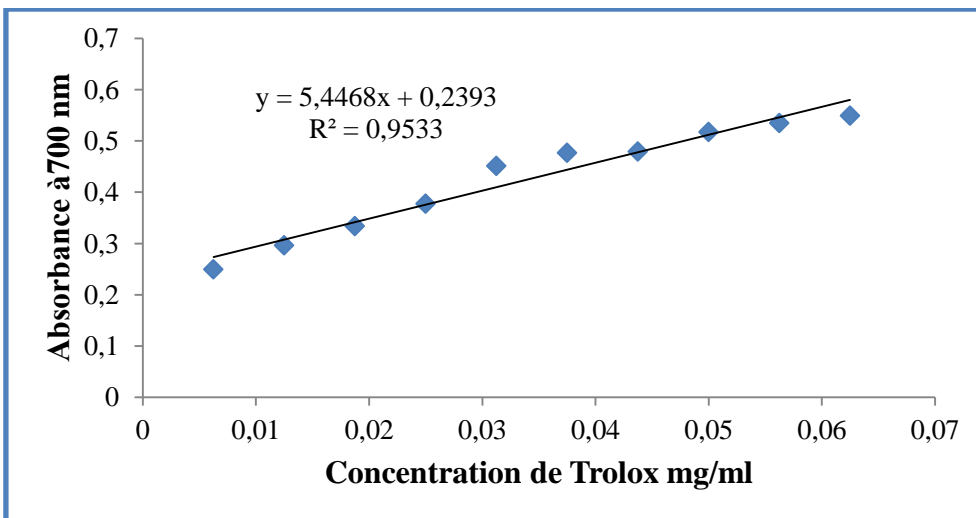
Annexe 12 : Test de l'ABTS pour la phase organique.



Annexe 13 : Test de l'ABTS pour la phase aqueuse.



Annexe 14 : Test de FRAP pour le Trolox.



Références Bibliographiques

1. Bérubé-Gagnon J. Isolation et identification de composés antibiotiques des écorces de Piceamariana. Mémoire de l'université de Québec. (2006).
2. Maurice N. L'herboristerie d'antan à la phytothérapie moléculaire du XXIe siècle. Ed. Lavoisier, Paris, (1997), p. 12-14.
3. Bahorun T., Gressier B., Trotin F., Brunet C., Dine T., Luyckx M., Vasseur J., Cazin M., Cazin J. C. and Pinkas M. Oxygen species scavenging activity of phenolic extracts from hawthorn fresh plant organs and pharmaceutical preparations. *Arznei. Forschung.* (1996); 46: 1086-1089.
4. Bruneton J. Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. Ed. mdicales internationales Editions Technique & Documentation, Cachan, [S.l.], (1999), p. 647-673.
5. Teixeira da Silva J. A. Mining the essential oils of the Anthemideae. *Afr. J. Biotechnol.*(2004); 3: 706-720.
6. <http://www.medisite.fr/dictionnaire-des-plantes-medicinales-lentisque1616059.8.html>.
7. (Rosine et mono, 2009).
8. Ciulel I. Methodology for analysis of vedetable drugs. Ed I.P.A.C. Romania. (1982). 67p.
9. Bessas A., Benmoussa L., Kerarma M., Dosage biochimique des composés phénoliques dans les dattes et le miel récoltés dans le sud Algérien. Mémoire d'ingénieur en biologie. université djillali liabes, (sidi bel-abbès): (2007). 14-17.
10. Karumi Y., Onyeyili P.A., Oyugbuaja V.O. Identification of Active Principles of M. balsamina (Balsam Apple) Leaf Extract *Journal of Medical Sciences* .(2004).Volume: 4 Issue: 3 Page No.: 179-182.
11. Paris R., Moyse H. Précis de matière médicinale. Paris : Masson. (1969).
12. N'Guessan K, Kadja B, Zirihi G, Traoré D, Aké-Assi L. Screening phytochimique de quelques plantes médicinales ivoiriennes utilisées en pays Krobou (Agboville, Côte-d'Ivoire). (2009) *Sci Nat*, 6 (1) : 1 – 15.
13. Bruneton J. Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. 3e éd. France : Tech & Doc – Lavoisier. (1999).
14. Oloyede O I. Chemical profile of Unripe Pulp of *Carica papaya*. *Pak J Nutr*, 4: 379 – 381. (2005).

15. V. L. Singleton and J. A. Rossi, Colorimetry of Total Phenolics with Phosphomolybdic-Phosphotungstic Acid Reagents, *American Journal of Enology and Viticulture*, vol. 16, no. 3, pp. 144–158, Jan.(1965).
16. N. Boizot and J.-P. Charpentier, Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d ' un arbre forestier, *Le Cahier de Technique de l'Inra*, pp. 79–82,(2006).
17. M. Dahmouni, M. Lahbib, B. Jamâa, and G. Mabrouk, Relation entre les chenilles d'*Orgyia trigotephra* (Lepidoptera, Lymantriidae), insecte polyphage ravageur du chêne-liège , et ses plantes hôtes en Tunisie, *IOBC/wprs Bulletin*, vol. 76, pp. 271–278, (2012).
18. A. Basli, M. Chibane, K. Madani, and N. Oukil, Activité antibactérienne des polyphénols extraits d'une plante médicinale de la flore d'Algérie: *Origanum glandulosum* Desf., *Phytotherapie*, vol. 10, pp. 2–9, (2012).
19. A. Manallah, Activités antioxydante et anticoagulante des polyphénols de la pulpe d'olive *Olea europaea* L, *Mémoire de Magister, Université Ferhat Abbas. Setif*,(2012).
20. Adedapo A. A., Florence J. O., Srinivas K., Anthony A. J. and Patrick M. J. Antibacterial and antioxidant properties of the methanol extracts of the leaves and stems of *Calpurnia aurea*. *BMC Complementary and Alternative Medicine* 10.1186/1472-6882-8-53. (2008).
21. P.Schofield, D.M. Mbugua, A.N.Pell, "*Analysis of condensed tannins*" a review. *Anim. Feed Sci. Technol.* (2001), Vol. (91), page: 21.
22. B.Sun., JM. Richardo-da-Silvia, , I. Spranger, "Critical factors of vanillin assay for catechins and proanthocyanidins" *J. of Agriculture and Food Chemistry*,(1998), Vol. (46),page : 4267.
23. Molyneux P., Songklanakarin J. The use of the stable free radical Diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Sciences Technology* (2014), 26 (2), 211-219.
24. Maataoui B S.,Hmyene A., Hilali S. Activités anti-radicalaires d'extraits de jus de fruits du figuier de barbarie (*Opuntia ficus indica*). *Lebanese Science Journal*.(2006), (1), 3-8.
25. Athamena S., Chalghem I., Kassah A., Laroui S., Khebri S. Activité anti-oxydante et antimicrobienne d'extraits de *cuminum cyminum* L.*Lebanese Science Journal*. (2010), 11 (1), 72.

26. Bougandoura N., Bendimerad N. Evaluation de l'activité antioxydante des extraits aqueux et méthanolique de *Satureja calamintha ssp. Nepeta (L.)* Briq. Nature & Technologie. (2013), (9), 15.
27. Oliveira, I., Coelho, V., Baltasar, R., Pereira, J. A., and P. Baptista, Scavenging capacity of strawleery tree (*Arbutus unedo* L.) Leaves on free radicals, Food Chem. Toxicol. (2009), 47, 1507-1511.
28. Jiri S., Marketa R., Olga K., Petr S., Vojtech J., Libuse T., Ladislav H., Miroslava B., Josef Z., Ivo P., Rne K. Fully Automated Spectrometric Protocols for Determination of Antioxidant Activity: Advantages and Disadvantages. Molécules. (2010), (15), 8618-8640.
29. Abbas, A. Evaluation de l'activité antioxydante des huiles essentielles d'*ammoides verticillata* «NOUKHA» de la région de Tlemcen. Mémoire de master, Université aboubakr belkaid. Juin, (2014).
30. Ba K., Tine E., Destain J., Cisse C., Thonart P. Étude comparative des composés phénoliques, du pouvoir antioxydant de différentes variétés de sorgho sénégalais et des enzymes amylolytiques de leur malt. Biotechnol. Agron. Soc. (2010), 14(1), 131-139.
31. Adeolu A. A., Florence O. J., Anthony J. A., Patrick J. M. Antioxidant activities and phenolic contents of the methanol extracts of the stems of *Acokanthera oppositifolia* and *Adenia gummifera*. BMC Complementary and Alternative Medicine. (2008) (8), 1-7.
32. Oyaizu M., Studies on products of browning reaction prepared from glucose amine. Japanese Journal of Nutrition. (1986). 44: 307-315.
33. Hubert A. J. Caractérisation biochimique et propriétés biologiques des micronutriments du germe de soja. Etude des voies de sa valorisation en nutrition et santé humaine, Thèse de doctorat de l'institut national polytechnique de Toulouse. école doctorale des Sciences Ecologiques. Vétérinaires. Agronomiques et Bio ingénieries, spécialité : qualité et sécurité des aliments. (2006). p 174.
34. Ghasemi, K., Ghasemi, Y., and Mohammed, A. E. Antioxidant Activity, Phenol and Flavonoid contents of 13 citrus species peels and tissues. Pak. J. Pharm, (2009). 22 (3): 277-281.
35. B. Tepe, M. Sokmen, H. A. Akpulat, A. Sokmen, "Screening of the antioxidant potentials of six *Salvia* species from Turkey" Food Chem., (2006), Vol. (95), page: 200.

36. Hammoudi Roukia .Activités biologiques de quelques métabolites secondaires extraits de quelques plantes médicinales du Sahara méridional algérien, Thèse pour l'obtention du diplôme de Doctorat ès sciences en biologie. (2015).
37. Halliwell, B. Dietary polyphénol: good, bad, or different for your health?, *Cardiovasc Res*, (2007). 73(2): 47-341
38. Gourine N, Bombarda I, Yousfi M et Gaydou EM. Chemotypes of *Pistacia atlantica* leaf essential oils from Algeria .Natural product of communication, (2010). vol. 5, N°1, 115- 120.
39. Siddhuraju P et Becker K. The antioxidant and free radical scavenging activities of processed cowpea (*Vigna unguiculata* L.) seed extracts. *Food Chem* (2007). 101, 10-19.
40. Jeong ST, Goro-Yamamoto N, Kobayashi S et Esaka M. Effects of plant hormones and shading on the accumulation of anthocyanins and the expression of anthocyanin biosynthetic genes in grape berry skin. *Plant Sci.*, (2004) 167, 247-252

ملخص

ينصب هذا العمل في اطار دراسة الموروث النباتي الوطني خاصة النباتات الطبية، والتي لا يزال قسم كبير منها يتطلب دراسة معمقة، حيث كان الهدف من بحثنا هذا الدراسة الفيتو كيميائية و مضادات الأكسدة للجزء الهوائي لنبات الضرو وفقا لنتائج التحليلات النوعية عن طريق الاختبارات الفيتو كيميائية أثبتنا وجود مركبات الفينول ، الفلافونويدات ، الالكالويدات ، الصابونيين، والتانا بكميات كبيرة. وفقا لنتائج التحليلات الكمية لاحظنا أن المستخلص المائي هو الأكثر غنى بالفينولات ، الفلافونويدات ، والتانا، ، بينما المسخلص الا تانولي هو الأكثر غنى بالفلافونولات. بينما بين تقييم نشاط مضادات الأكسدة أن مستخلص الهيدروالكوليك لنبات الضرو لديه طاقة مضادات أكسدة قوية

كلمات مفتاحية: الضرو، بوليفينول، دراسة فيتوكيميائية، مضادات الأكسدة

Résumé

Ce travail s'inscrit dans le cadre de l'étude du patrimoine botanique national surtout les plantes médicinales dont une grande partie reste encore vierge et nécessite des études approfondis, alors il porte sur notre objectif sera alentour l'étude **phytochimique** et **l'activité antioxydante** de la partie aérienne de *Pistacia lentiscus*. D'après les résultats des analyses qualitatives par les tests phytochimiques nous avons constaté la présence des composés phénoliques, des flavonoïdes, des alcaloïdes, des saponosides et des tanins en quantités importantes. D'après les résultats des analyses quantitatives en observe que l'extrait aqueux plus riche en Polyphénols, Flavonoïdes et Tanins ,Par contre en observe que l'extrait éthanoïque plus riche en flavanols. L'évaluation de l'activité antioxydante montre que l'extrait hydroalcoolique de *Pistacia lentiscus* a un **pouvoir antioxydant fort**.

Mots-clés : *Pistacia lentiscus*, Polyphénols, Etude phytochimique, Activité antioxydante.

Abstract

This work is part of the study of the national botanical heritage, especially the medicinal plants, much of which remains untouched and requires further study In depth, then it relates to our goal will be around **the phytochemical study and antioxidant activity** of the aerial part of *Pistacia lentiscus*. According to the results of qualitative analyzes by phytochemical tests we have found the presence of phenolic compounds, flavonoids, alkaloids, saponosides and tannins in large quantities. According to the results of the quantitative analyzes observed that the aqueous extract richer in Polyphenols, Flavonoids and Tannins, on the other hand observed that the ethanoic extract richer in flavanols. The evaluation of the antioxidant activity shows that the hydroalcoholic extract of *Pistacia lentiscus* has a **high antioxidant activity**.

Keywords: *Pistacia lentiscus*, Phenolic, phytochemical screening, Antioxidant activity.