

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 تليجي 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 :**

DOUDOU Mohamed

### THEME

---

Etude phytochimique et évaluation de l'activité  
antioxydante des Extraits Alcooliques de  
*Pistacia Lentiscus*.

---

*Soutenu publiquement devant le jury composé de :*

GHERIB Abdelaziz	<i>Pr</i>	<i>Président</i>
NOURDDINE Asma	<i>M.A.A</i>	<i>Examineur</i>
BAKCHICHE Boulanouar	<i>M.C.A</i>	<i>Examineur</i>
BOUZIANE Amel	<i>M.A.A</i>	<i>Promotrice</i>
HABATI Mounir		<i>Co-encadreur</i>

**Année Universitaire 2017- 2018**

# **REMERCIEMENT**

*Je remercie tout d'abord ALLAH le tout puissant de m'avoir donné la santé la patience, la puissance et la volonté pour réaliser ce mémoire.*

*E tiens particulièrement à remercier mon promotrice, Mme .BOUZIANE Amel, pour avoir accepté la charge d'être rapporteur de ce mémoire, je remercie pour sa disponibilité, ses pertinents conseils et pour les efforts qu'il a consenti durant la réalisation de ce mémoire.*

*Nos profonds remerciements vont aux membres de jury qui ont accepté de juger notre travail Monsieur Pr GHERIB Abdelaziz, Madame NOURDDINE Asma, Monsieur Dr BAKCHICHE BOULANOUAR et HABATI Mounir.*

*Mes remerciements vont aussi à toute personne ayant participé pour réaliser ce modeste travail.*

*J'adresse, enfin et surtout, ma plus profonde gratitude et tout mon amour à ma mère, mon père, mes sœurs et mes frères, qui ont su me faire confiance et me soutenir en toutes circonstances, ainsi qu'à tous mes proches amis qui m'ont toujours soutenu et encouragé même dans les périodes les plus difficiles.*

*Mohammed DOUDOU*

# Dédicaces

Aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour,  
L'estime, le dévouement et le respect que j'ai toujours eu  
Pour vous. Rien au monde ne vaut les efforts fournis jour

Et

Nuit pour mon éducation et mon bien être. Ce travail est le fruit de tes sacrifices que tu as  
consentis pour mon

Éducation et ma formation. À toi mon père.

A la lumière de mes jours, la source de mes efforts,

La flamme de mon

Cœur, ma vie et mon bonheur ma mère que j'adore.

A tous mes frères et mes sœurs:

Et

À toute ma famille : DOUDOU et KECHAR.

Source sensibilité et tendresse par grande et petite

Et à toutes mes chères aimées

Spécialité et généralité par EL Ghardaïa et Laghouat

À tous les étudiants de la promotion 2017/2018

Chimie Organique ET Inorganique

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

*Mohammed DOUDOU*

## *Liste des figures*

	Pages
<b>Figure 1:</b> Feuilles sèches	05
<b>Figure 2:</b> Feuilles broyées	05
<b>Figure 3:</b> Réduction de radical libre DPPH en présence d'antioxydant	09
<b>Figure 4 :</b> Les rendements des extraits	12
<b>Figure 5:</b> Les teneurs en composés phénoliques des extraits étudiés	15

## *Liste des tableaux*

	Pages
<b>Tableau1</b> : Caractérisation de la plante étudiée	02
<b>Tableau2</b> : Couleurs et rendements des extraits obtenus par Macération	12
<b>Tableau3</b> : Résultats des tests phytochimiques	13
<b>Tableau4</b> : Les teneurs en composés phénoliques des extraits étudiés	14
<b>Tableau5</b> : Activité antioxydante des différents extraits vis-à-vis du DPPH	16
<b>Tableau6</b> : Résultats de l'activité antioxydante évaluée par le test ABTS	17
<b>Tableau7</b> : Résultats de l'activité antioxydante évaluée par le test FRAP	18
<b>Tableau8</b> : Réactifs et produits chimiques	20

## *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

**min :** Minute

**mg :** Milligramme

**mg /ml :** Milligramme /Millilitre

**ml :** Millilitre

**mM :** Millimolarié

**mM/l :** Millimolarié par litre

**mmol /l :** Milli mol par Litre

**nm :** Nanomètre

**PI :** Pourcentage d'inhibition

**Φ :** Phase

**Φ aq :** Phase aqueuse

**Φ org :** Phase organique



# Sommaire

Pages

## Remerciements

## Liste des notations

## Liste des figures

## Liste des tableaux

I. Introduction générale	01
II. Matériels et méthodes	02
II.1. Matériel végétal	02
II.2.Méthodes	04
II.3 Etude phytochimique de PistaciaLentiscus	05
II .3.1Séchage et Broyage	05
II .4. Extraction des composés phénolique	06
II.5.Tests phytochimiques	07
II. 6. L'analyse quantitative	08
II.6.1.Dosage des composés phénoliques totaux	08
II.6.2.Dosage des flavonoïdes	08
II.6.3.Dosage des flavonols	09
II.6.4.Dosage des tanins	09
II.7 .Evaluation de l'activité antioxydante	09
II.7 .Evaluation de l'activité antioxydante	09
II.7.2Test d'ABTS	10
II.7.3Test de réduction du fer FRAP	11
III. Résultats et discussion	12
III .1. Détermination de rendement	12
III.2. Tests phytochimiques	13

III.2. Tests phytochimiques	13
III.4. Estimation de l'activité antioxydant	16
III.4.1. Test de DPPH	16
III.4.2. Test d'ABTS	17
III.4.3. Test de FRAP	18
IV. Conclusion générale	19
Références Bibliographiques	
ANNEXE	21
Résumé	



## I. Introduction générale

La position géographique particulière de notre pays caractérisée par une importante richesse floristique. L'Algérie est connue par sa diversité en ressources végétales. Parmi lesquelles cet arbre spontané qui pousse sur tout le bassin méditerranéen porte le nom de pistachier de lentisque (*Pistacia lentiscus* .L.)<sup>[1]</sup>.

Le Pistachier lentisque (Le lentisque), ou *Pistacia lentiscus* est un arbre à mastic, au Languedoc il est appelé restinche. Il est nommé par les anglophones. « Mastic tree » ou « Lentisc ». Le nom pistachier vient du grec *pistakê*. Le nom lentisque vient du latin *lentus* (visqueux). Le pistachier est un arbuste dioïque thermophile à l'écorce lisse et grise, plante de la famille des anacardiaceae (anacardiaceae)<sup>[2]</sup>.

Les polyphénols sont des molécules synthétisées par les végétaux. Ils appartiennent à leur métabolisme secondaire et participent à leur défense contre les agressions environnementales<sup>[3]</sup>.

Les polyphénols intéressent plusieurs domaines : thérapeutiques, produits pharmaceutiques des médicaments utilisés contre les maladies liées au stress oxydant telles que les maladies cardiovasculaires, les maladies métaboliques et le cancer, cosmétique (maquillages; gommage minceur) et agroalimentaires comme conservateurs et colorant<sup>[4]</sup>.

Notre étude est consacrée à la valorisation phytochimique de l'arbre de pistachier lentisque. Cette valorisation consiste à étudier la composition qualitative et quantitative de l'extrait de *Pistacia lentiscus* et à quantifier les polyphénols totaux et les flavonoïdes et d'étudier l'activité antioxydante.

- La première partie consiste à l'extraction des polyphénols par deux solvants de polarités différentes puis l'analyse qualitative et quantitative du contenu en polyphénols et en flavonoïdes de deux extraits de *Pistacia lentiscus* L.
- La seconde partie étudie l'activité antioxydante des extraits par des différentes méthodes.
- La troisième partie du mémoire sera consacrée à la présentation de l'ensemble des résultats obtenus et aux discussions qui en découlent.

A la fin de Ce manuscrit ; nous présenterons une conclusion générale et des perspectives issues de notre présente étude.

## II. Matériels et méthodes

### II .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 *Pistacha 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 étudié.

**Tableau 1** : Caractérisation de la plante étudiée

Description	Photos
<p><b><u>Noms vernaculaires :</u></b></p> <ul style="list-style-type: none"><li>-<b>En anglais</b> : Chios mastic tree.</li><li>-<b>En français</b> : Arbre au mastic, Lentisque.</li><li>-<b>En arabe</b> : ضرور</li></ul> <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><b><u>Classification botanique :</u></b></p> <p><b>Règne</b> :Plantae. <b>Embranchement</b> :Spermatophyta. <b>Classe</b> :Dicotyledones. <b>Ordre</b> :Sapindales. <b>Famille</b> :Anacardiaceae. <b>Genre</b> :<i>pistacia</i>– pistache. <b>Espèce</b>:<i>Pistacialentiscus</i>.</p> <p><b><u>Feuilles :</u></b></p> <p>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;"><b>L'arbre</b></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.

### **Utilisation thérapeutique traditionnelle :**

Les médecines traditionnelles pratiquées de part et d'autre des rives de la méditerranée, attribuées au lentisque des vertus dans le traitement des ulcères, des plaies et brûlures légères.

La médecine traditionnelle algérienne utilise surtout l'huile grasse obtenue par expression des fruits de lentisque dans le traitement des petites blessures, brûlures légères et érythèmes.

**L'huile essentielle** est aussi employée par voie orale contre les problèmes respiratoires d'origine allergique et les ulcères de l'estomac. Ces usages sont surtout répandus à l'Est du pays (région d'El-Milia, Skikda, Guelma). L'huile est également très utilisée pour les mêmes indications en Tunisie <sup>[6]</sup>.



**Les Fleurs**



**Fruit**



## II.2 Méthodes

L'ensemble des méthodes expérimentales que nous avons mené dans ce travail se structure comme illustré l'organigramme ci-dessus (schéma 1):

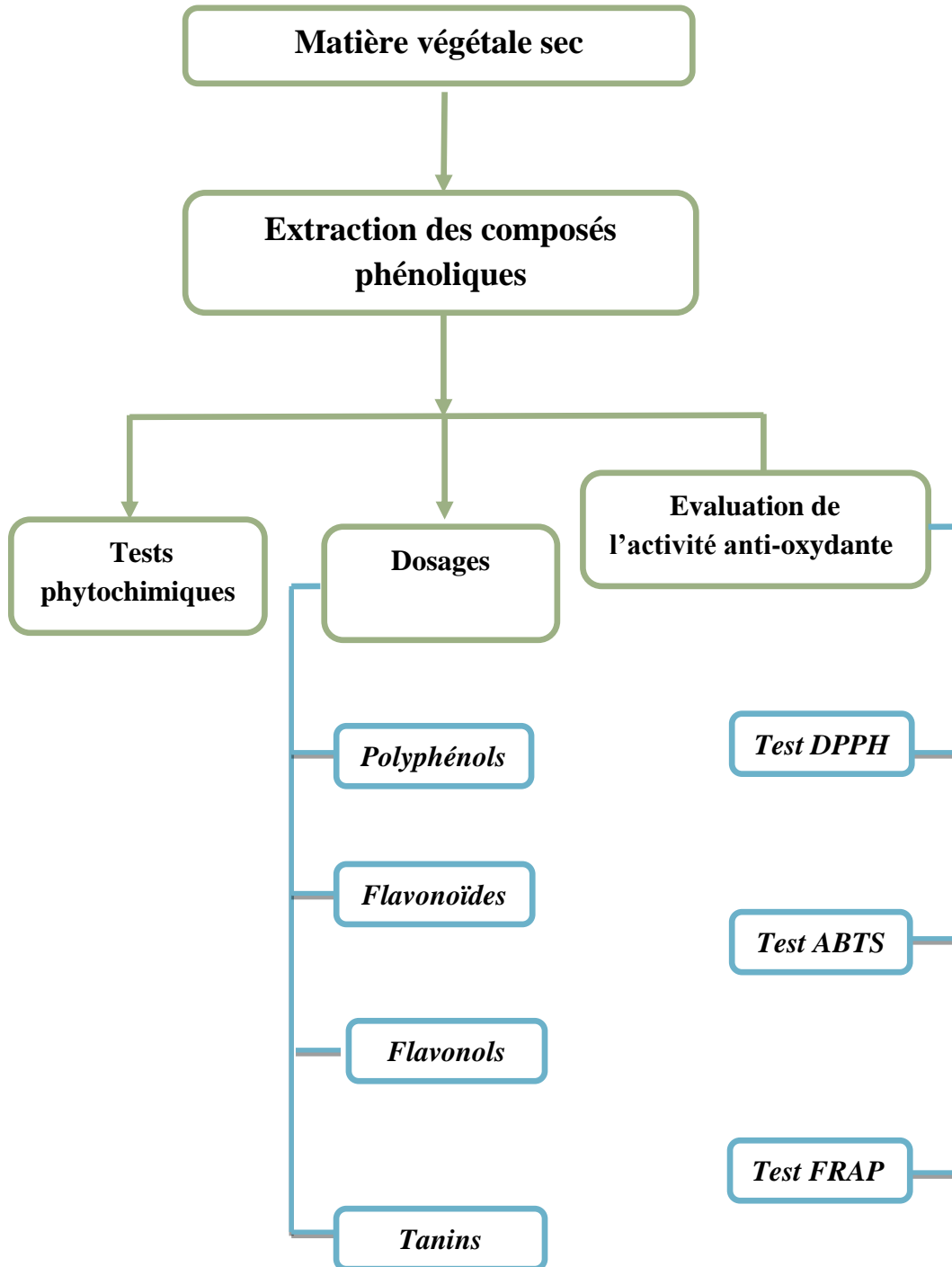


Schéma 1 : Organigramme expliquant les différentes étapes expérimentales.

## II.3 Etude phytochimique de *PistaciaLentiscus*

### II .3.1Séchage 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 *pistacialentiscus* estbroyés à l'aide d'un mixeur jusqu'à leur réduction en poudre (**Figure 2**).



**Figure 1** : Feuilles sèches.

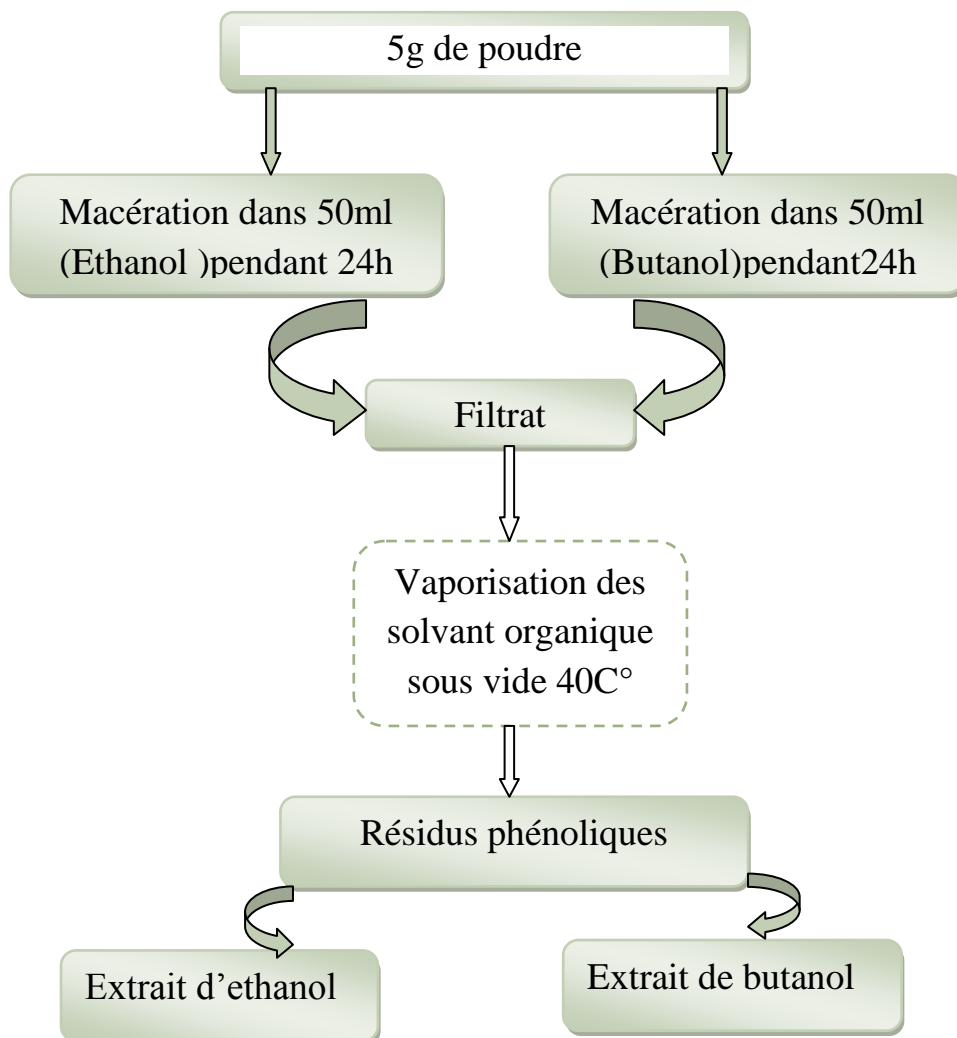


**Figure 2** : Feuilles broyées.

## II .4 Extraction des composés phénoliques

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 ; la poudre des feuilles de la plante est subie une macération avec deux solvants de polarité déviant: Ethanol et Butanol. Le mélange a été mis sous agitateur magnétique à température ambiante pendant 24h. 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. Le résidu est repris dans (5 ml d'éthanol) et conserver au réfrigérateur jusqu'à le temps d'analyse.

La série d'extraction permet d'obtenir deux extraits : un extrait d'éthanol, et un extrait de butanol, L'organigramme suivant explique les différentes étapes d'extraction des composés phénoliques :



**Schéma2** : Protocole expérimentale d'extraction des composées phénoliques.

## **II.5 Tests phytochimiques**

L'examen phytochimique est nécessaire pour identifier les grandes familles de composés existants dans les feuilles de notre plante.

### **1-Mise en évidence des composés phénoliques**

A l'extrait, on ajoute 3ml d'éthanol et 5 gouttes de la solution de  $\text{FeCl}_3$  à 1%. Un test positif est révélé par l'apparition d'une coloration bleu-vert<sup>[7]</sup>.

### **2-Mise en évidence des flavonoïdes**

On ajoute 1 ml de l'extrait pur à 1 ml de solution  $\text{AlCl}_3$  (2%). et l'ensemble est porté à température ambiante pendant 15 minutes. Un test positif est indiqué par l'apparition d'une couleur jaune<sup>[8]</sup>.

### **3-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<sup>[9]</sup>.

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 (2+).
- Si la hauteur de la mousse est de plus de 2 cm d'épaisseur : test fortement positif (3+).

### **4-Mise en évidence des alcaloïdes**

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

- Si le test est positif, on a l'apparition d'une précipitation brune dans le 2<sup>ème</sup> tube<sup>[10]</sup>.
- Le réactif de Wagner est préparé comme suite :

Réactif de Wagner : Dans 75 ml d'eau distillée, dissoudre 2g de KI et 1.27g de  $\text{I}_2$  le volume obtenu est ajusté à 100 ml avec l'eau distillée.

### **5-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 ( $\text{NH}_4\text{OH}$ ) à 10%.

L'examen est réalisé sous la lumière ultraviolette et l'apparition d'une fluorescence intense révèle la présence de coumarines<sup>[11]</sup>.

#### **6-Mise en évidence des tannins**

A 2 ml de la solution à tester, on ajoute 2 à 3 gouttes de la solution de FeCl<sub>3</sub> à 1%. Un test positif est révélé par l'apparition d'une coloration bleu-noire (tannins galliques) ou bleu-vert (tanninscathéchiqes)<sup>[12]</sup>.

#### **7-Mise en évidence des anthraquinones**

A 10 ml de l'extrait, on ajoute 5ml de la solution de NH<sub>4</sub>OH à 10% avec agitation. Un test positif est révélé par l'apparition d'une coloration violette<sup>[10]</sup>.

#### **8-Mise en évidence des anthocyanes**

5 ml de l'extrait, on ajoute 5ml de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> et

5ml NH<sub>4</sub>OH Un test positif est révélé par l'apparition d'une coloration bleu violacé<sup>[14]</sup>.

## **II. 6. L'analyse quantitative**

### **II.6 .1 Dosage des composés phénoliques totaux**

Cette méthode est basée sur la réduction en milieu alcalin de mélange d'acide phosphotungstique (H<sub>3</sub>PW<sub>12</sub>O<sub>40</sub>) et d'acide phosphomolybdique (H<sub>3</sub>PMo<sub>12</sub>O<sub>40</sub>) du réactif de Folin-ciocalteu qui est de couleur jaune par le groupement oxydable des composés phénoliques, conduisant à la formation de produits de réduction de couleur bleu de tungstène et de molybdène dont l'intensité de la coloration est proportionnelle à la quantité des polyphénols totaux présents dans l'échantillon<sup>[15]</sup>.

200 µl d'extrait sont mélangés avec 1000 µl de réactif de folin-ciocalteu fraîchement préparé et dilué à 1/10 et 800 µl de carbonates de sodium Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (7.5%). L'ensemble est incubé à une température ambiante pendant 30 min à l'obscurité. La lecture est effectuée contre un blanc sans extrait à l'aide d'un spectrophotomètre à 760 nm.

### **II.6.2 Dosage des flavonoïdes**

Les flavonoïdes sont des substances généralement colorées ré pondues chez les végétaux, les teneurs des flavonoïdes sont mesurés en utilisant le trichlorure d'aluminium (AlCl<sub>3</sub>) comme réactif. La présence d'une case libre dans AlCl<sub>3</sub> forme une liaison dative avec les doublets libres de l'oxygène des groupements OH des flavonoïdes, en produisant un complexe très stable de couleur jaune<sup>[16]</sup>.

Cette méthode consiste à mélanger 1000 µl de l'extrait et 1000 µl du réactif trichlorure d'aluminium (AlCl<sub>3</sub>) après incubation à 30 min dans l'obscurité à température ambiante.

Les absorbances sont mesurées à partir d'un spectrophotomètre UV-visible à 420 nm.

La teneur des flavonoïdes totaux dans nos échantillons a été déterminée à partir d'une courbe d'étalonnage de la rutine.

### II.6.3 Dosage des flavonols

Le taux des flavonols est déterminé par la méthode décrite par Adapa et al<sup>[17]</sup>. Un volume de 1000 µl d'extrait est ajouté à 500 µl d'acétate de sodium (50%) et 500 µl de chlorure d'aluminium (2 %). La lecture de l'absorbance est faite à 440 nm après 30 min d'incubation.

### II.6.4 Dosage des tanins

Les tanins hydrolysables sont des esters du glucose et d'acides phénols que sont l'acide gallique (tanins galliques) et l'acide éllagique (tanins éllagiques). Leurs polymères sont appelés des tannoïdes. Ils sont caractéristiques des Angiospermes dicotylédones.

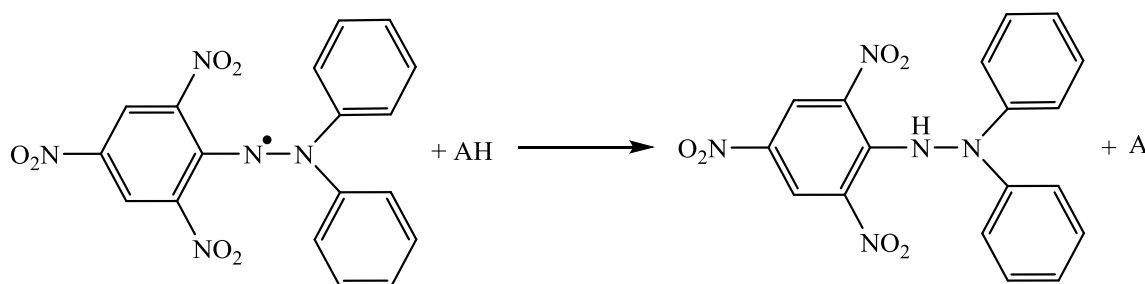
Un volume de 400 µl de chaque extrait a été ajouté 3 ml de la solution vanilline/méthanol à 4 %, puis mélangé vigoureusement. Ensuite, un volume de 1,5 ml de l'acide chlorhydrique (HCl) à 8% a été additionné. Le mélange obtenu est laissé réagir à température ambiante pendant 15 min. L'absorbance est mesurée à 500 nm contre un blanc. Différentes concentrations (0.1-1 mg/ml) préparées à partir d'une solution mère de la catéchine, permettront de tracer la courbe d'étalonnage<sup>[18]</sup>.

## II.7 Evaluation de l'activité antioxydante

### II.7.1 Test de DPPH

La réduction de radical libre DPPH<sup>•</sup> (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.

En présence des piègeurs de radicaux libres, le DPPH de couleur violette se réduit en 2,2-Diphényl 1 picrylhydrazine de couleur jaune<sup>[19]</sup> (**Figure 3**).



**Figure 3:** Réduction de radical libre DPPH en présence d'antioxydant

Pour réaliser ce test, un volume de 50 µl des diverses concentrations préparées de chaque extrait a été mélangé avec 1950 µl de solution de DPPH (0,023 g/l), le mélange a été secoué vigoureusement et incubé à l'obscurité pendant 30 minutes. La réduction du radical DPPH a été mesurée à 517 nm contre un blanc contenant la solution de DPPH et du solvant.

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

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

**A<sub>0</sub>** : Est l'absorbance de la solution DPPH

**A<sub>s</sub>** : Est l'absorbance de l'extrait de l'échantillon lorsque la solution a été ajoutée

L'activité antioxydant est exprimé ensuite par la valeur de IC<sub>50</sub> en mg/ml, les valeurs de l'IC<sub>50</sub> ont été déterminées graphiquement par la régression linéaire l'inhibition en fonction de la concentration ; sachant que l'IC<sub>50</sub> est la concentration efficace d'antioxydant nécessaire pour le piégeage et la réduction de 50% d'une mole du radical DPPH<sup>[21]</sup>.

Trolox et l'acide ascorbique sont utilisés comme des contrôles positifs dans cette expérience dans les mêmes conditions opératoires.

## II.7.2 Test d'ABTS

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)<sup>[22]</sup> (ABTS<sup>•</sup>) :



Cette réaction est suivie par spectrophotométrie par la variation de spectre d'absorption.

Pour préparer la solution de l'ABTS on prépare une solution aqueuse de persulfate de potassium K<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>8</sub> (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<sup>•+</sup>.

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 µl d'ABTS est mélangé avec 20µl de différente concentration de notre extrait puis laisser 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.

Le Trolox et l'acide ascorbique sont utilisés comme des antioxydants standards et résultats finals sont exprimés en micromoles d'équivalent Trolox par gramme de matière sèche [23].

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

$$\%I = [(Abs_{témoin} - Abs_{blanc}) / Abs_{témoin}] * 100$$

**PI** : Pourcentage d'inhibition

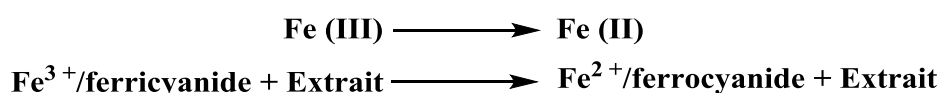
**Abs<sub>témoin</sub>** : L'absorbance du radical ABTS<sup>•+</sup> + Ethanol.

**Abs<sub>extrait</sub>** : L'absorbance de l'échantillon ABTS<sup>•+</sup> (Extrait ou standard).

### II.7.3 Test de réduction du fer FRAP

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 (Fe<sup>3+</sup>) présent dans le complexe ferricyanure de potassium K<sub>3</sub>Fe(CN)<sub>6</sub> en fer ferreux (Fe<sup>2+</sup>). En effet le Fe<sup>3+</sup> participe à la formation du radical hydroxyle par la réaction de Fenton. L'absorbance du milieu réactionnel est déterminée à 700 nm [24]. Une augmentation de l'absorbance correspond à une augmentation du pouvoir réducteur des extraits testés [25].

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



Le pouvoir réducteur a été déterminé suivant la méthode préconisée par Oyaizu [24].

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 K<sub>3</sub>Fe(CN)<sub>6</sub> à 1%. Les mélanges sont incubés à 50°C pendant 20 min. après, 500µl de l'acide trichloracétique (10%) est additionné avec 100µl FeCl<sub>3</sub> (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.

### III-Résultats et discussion

#### III .1 Détermination de rendement

Le rendement des extraits a été calculé par la formule suivante:

$$R (\%) = 100 M_{\text{ext}}/M_{\text{séch.}}$$

Où :

**R**: est le rendement en %

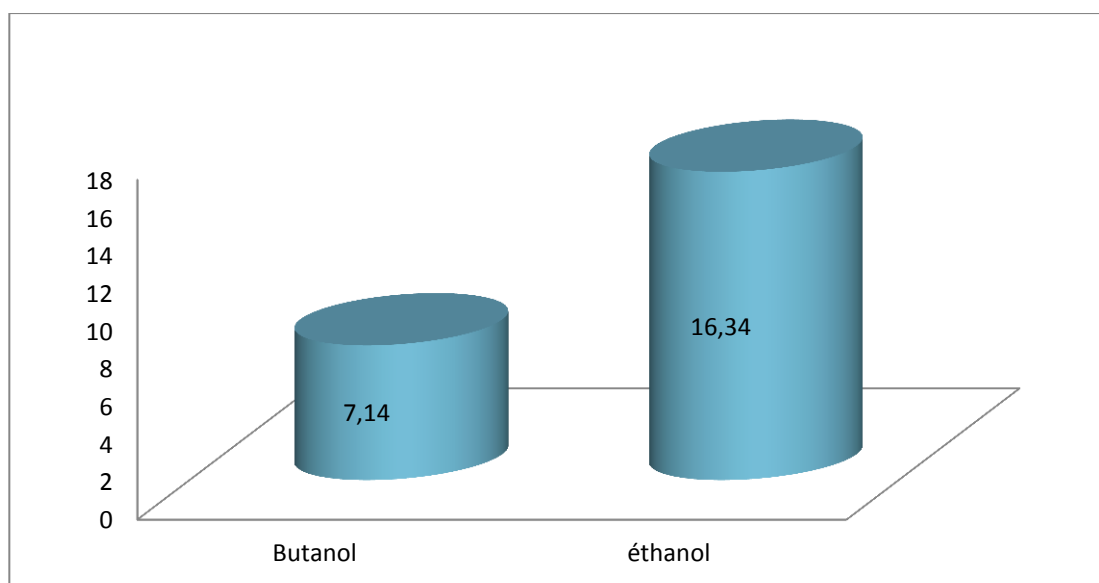
**M<sub>ext</sub>**: est la masse de l'extrait après évaporation du solvant en g

**M<sub>séch</sub>**: est la masse sèche la plante en g.

**Tableau2** :Couleurs et rendements des extraits obtenus par Macération.

Extrait	Couleur	Rendement (%)
Butanol	Vert Foncé	<b>7.14</b>
éthanol	Vert	<b>16.34</b>

D'après les résultats obtenus, nous remarquons que le système de solvant éthanol donne le rendement le plus important (16.34%), l'extraction par le système de solvant Butanol présente un rendement plus petit égal à (7.14%)(**Figure4**).



**Figure4**: Les rendements des extraits.

### III.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 *pistacialentiscus*. Les résultats sont repris dans le (**Tableau 3**) une réaction positive est représentée par (+) et l'absence de la substance est représenté par (-).

**Tableau3** : Résultats des tests phytochimiques.

Familles chimique	Extrait	
	Ethanol	Butanol
Alcaloïdes	Réactif de Wagner	
	+	+
Anthocyanes	-	-
Anthra quinones	-	-
Composés phénolique	+	+
Saponosides	Test de Mouse	
	+ (1cm)	+ (1cm)
Tanins	+	+
Flavonoïde	+	+

D'après les résultats obtenus, nous remarquons que, la présence de saponosides, des composés phénoliques, des flavonoïdes, et les alcaloïdes dans les deux extraits. Par contre l'absence des anthocyanes et des anthraquinones.

### III.3 Etudes phytochimique

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 la (**Tableau4**).

**Tableau 4** :Les teneurs en composés phénoliques des extraits étudiés.

Dosage	Concentration (mg/g)	
	Butanol	Ethanol
<b>polyphénols</b>	<b>69,068± 0.015</b>	<b>71,645± 0.039</b>
<b>Flavonoïde</b>	<b>41,124± 0.058</b>	<b>43,896± 0.058</b>
<b>Flavanol</b>	<b>9,5073± 0.004</b>	<b>11,467± 0.027</b>
<b>Tanins</b>	<b>21,341± 0.087</b>	<b>23,433± 0.048</b>

**La teneur en phénols totaux** de chaque extrait a été alors calculée à partir de la courbe d'étalonnage de l'acide gallique (**ANNEXE 1**) et exprimée en milligrammes d'équivalent d'acide gallique par gramme de la matière sèche.

Pour les deux extraits 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 l'extrait d'éthanol elle est de l'ordre de (**71,645± 0.039 mg/g**) par contre la teneur de l'extrait de butanol avec une valeur de (**69,068± 0.015 mg/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 2**) 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 extraits, la concentration plus élevée de l'extrait d'éthanol (**43,896± 0.058 mg /g**) que celle de butanol (**41,124±0.058 mg /g**). Selon ces résultats. 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.

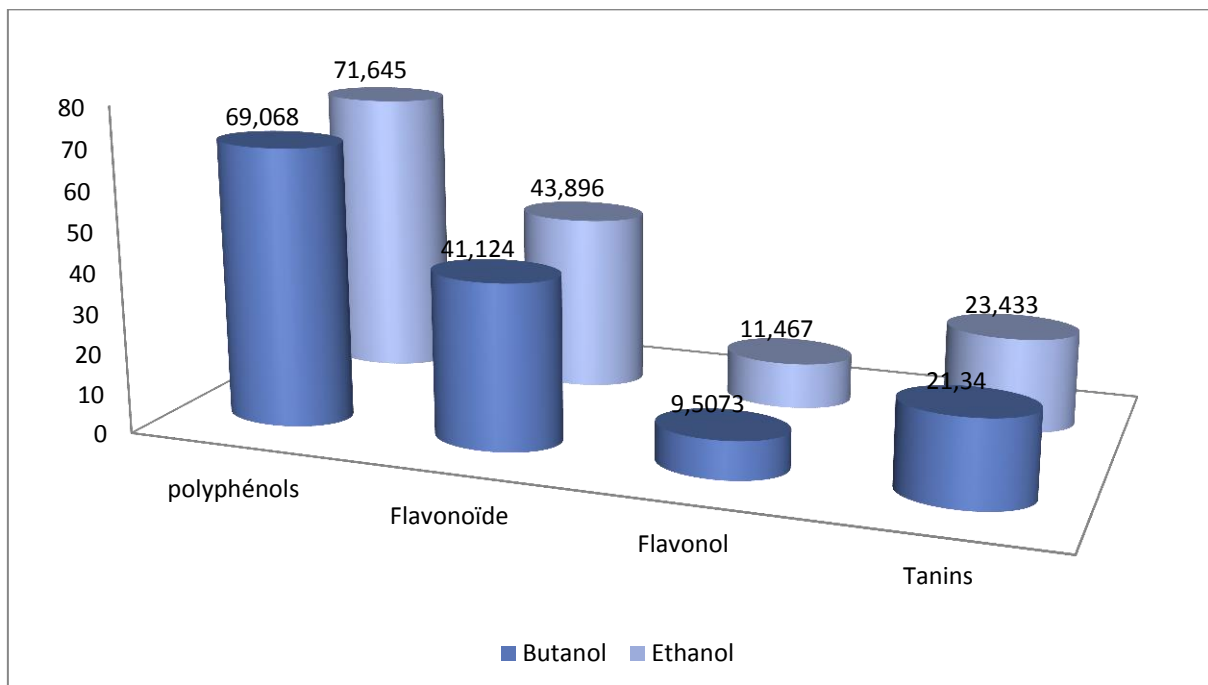
**La teneur des flavanols** dans nos échantillons a été déterminée à partir d'une courbe d'étalonnage de la rutine (ANNEXE 3) et exprimés en milligrammes par gramme de la matière sèche en équivalent de la rutine. L'analyse des résultats révèle que l'extrait d'éthanol possède la teneur la plus élevée ( $11,467 \pm 0.004\text{mg/g}$ ), par rapport à la concentration de l'extrait de butanol ( $9,5073 \pm 0.027\text{mg/g}$ ).

**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 4), 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 [18].

Ce dosage révèle que l'extrait d'éthanol, avec une valeur de ( $23,433 \pm 0.087 \text{ mg/g}$ ). En revanche, l'extrait de butanol leur concentration est atteinte ( $21,341 \pm 0.048\text{mg/g}$ ).

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 (Figure 5).



**Figure5** : Les teneurs en composés phénoliques des extraits étudiés.

### III.4 Estimation de l'activité antioxydante

#### III.4.1 Test de DPPH

Après 30 mn d'incubation de la solution DPPH-extrait (à différente concentration), la coloration violette vire vers une coloration jaune dans les deux extraits, ce changement de couleur est dû à la réduction de DPPH, ce qui montre que les échantillons ont un effet de piégeage de radical DPPH.

Nous avons déterminé les valeurs des IC<sub>50</sub> de l'extrait et de l'antioxydant à partir des représentations graphiques  $I\%=f(C)$  (ANNEXE 5). 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 antioxydante de cet extrait (ANNEXE 6). Les résultats sont groupés dans le (Tableau 5).

**Tableau 5** : Activité antioxydante des différents extraits vis-à-vis du radical DPPH

Solvant	EC <sub>50</sub> (g/ml)
Butanol	6,12 ± 0.00025
Ethanol	9,81 ± 0.0020
Acide ascorbique	4,8 ± 0,00014
Trolox	2,3 ± 4,1314E-05

Les valeurs de IC<sub>50</sub>% sont de l'ordre de pour (6,12 ± 0.00025 g /ml) pour l'extrait butanol et l'extrait de éthanol a enregistré un IC<sub>50</sub>% =(9,81 ± 0.0020g/ml), on peut constater que le pouvoir anti radicalaire de l'extrait de butanol est plus important que celle de l'extrait d'éthanol. En comparant ces valeurs obtenues avec les standards, la vitamine C et le trolox, on trouve que ces extraits ont une activité **anti radicalaire forte** par rapport aux standards.

L'activité antioxydante montrée par les extraits alcoolique est due à la présence de substances phénoliques contenues dans les extraits de *pistacia lentiscus*.

### III.4.2 Test d'ABTS

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

La capacité de piégeage des radicaux libres a été exprimée par la concentration effective IC<sub>50</sub> de l'antioxydant (mg/ml) qui représente la concentration nécessaire pour récupérer 50% de radicaux d'ABTS(ANNEXE7).

Les résultats obtenus sont regroupés dans le(Tableau6).

**Tableau 6:**Résultats de l'activité antioxydante évaluée par le test ABTS

Solvant	EC <sub>50</sub> (g/ml)
Butanol	4,360±0.00045
Ethanol	5,400±0.00102
Acide ascorbique	3,800
Trolox	2,100

Les résultats ont été exprimés par détermination d'IC<sub>50</sub> (concentration en antioxydant nécessaire pour réduire de 50 % la concentration initiale en ABTS<sup>•+</sup>), les IC<sub>50</sub> ont été calculé pour chaque antioxydants standard(ANNEXE8).

Les valeurs de IC<sub>50</sub>% sont de l'ordre (4,360 ± 0.00045 g /ml), pour l'extrait butanol et l'extrait d'éthanol enregistré un IC<sub>50</sub>% = (5,400 ± 0.00102g/ml) on peut constater que le pouvoir anti radicalaire de l'extrait de butanol est plus important que celle de l'extrait d'éthanol. En comparant ces valeurs obtenues avec les standards, la Acide ascorbique et le trolox, on trouve que ces extraits ont une activité anti radicalaire **forte**.

Les meilleures capacités antioxydantes, cela peut être justifiée par la présence de composé polaires doués d'un grand potentiel antioxydant, qui agit comme des donneurs d'hydrogène ou d'électron. Elle dépend aussi de la structure chimique des composés phénoliques de nombre de OH ainsi que leur position.

### III.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 .

Le pouvoir réducteur de ces échantillons est exprimé par la concentration effective à 50% (IC50) qui est une concentration qui permet d'obtenir une absorbance de 0,5. En utilisant le Trolox comme standard, (ANNEXE9).

Les résultats obtenus sont représentés dans le (Tableau 7).

**Tableau7:** Résultats de l'activité antioxydante évaluée par le test FRAP.

Solvant	FRAP IC 50 (g/ml)
Butanol	<b>92,6</b> ± 0.00016
Ethanol	<b>128.1</b> ± 0.00075
Trolox	<b>47</b> ±0,0006

Les résultats ont été exprimés par détermination d'IC50 (concentration en antioxydant nécessaire pour réduire de 50 % la concentration initiale enFRAP), (ANNEXE10), les IC50 ont été calculé pour chaque antioxydants standard.

Pour les deux extraits, extrait d'éthanol présent IC50 (**128.1** ± 0.00075 g/ml), et l'extrait de butanol avec un IC50 (**92.6** ± 0.00016mg/ml), on peut constater que le pouvoir anti radicalaire de l'extrait de butanol est plus important que celle de l'extrait d'éthanol.

Les résultats obtenus dans les deux courbes montrent que la capacité de la réduction de  $Fe^{3+}$  en  $Fe^{2+}$  est proportionnelle à l'augmentation de la concentration d'échantillons.

Donc, toutes augmentation de concentration d'échantillon conduit à l'augmentation de la capacité de réduction de fer.

## 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 *pistacialentiscus* 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.

De même nous avons dosé les flavonoïdes et les tanins qui nous mènent à conclure que cette plante contient une quantité considérable dans deux extraits.

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

Nous avons constaté pour l'activité antioxydante par le piégeage du radical libre DPPH<sup>•</sup> et en comparant les IC<sub>50</sub> des différents extraits testés par rapport à celles de l'acide ascorbique et le Trolox, nous avons remarqué une activité antiradicalaire très importante dans les deux extraits.

D'après tous les résultats obtenus des différents solvants éthanol et butanol, on conclut qu'il y a une forte relation entre les trois testes 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**.

## *Références bibliographiques*

- [1] - BENSALÉM Ghada. l'huile de lentisque (*pistacialentiscus*) dans l'est algérien caractéristiques physico-chimiques et composition en acides gras. Mémoire de Magister, Université Constantine, 2015.
- [2] - Mahmoud CHAREF. Contribution à l'étude de la composition chimique et étude des propriétés phytochimiques et nutritionnelles des lipides des fruits de *Pistacialentiscus* et du *Quercus*. Thèse de Doctorat, Université d'Ouargla, 2011.
- [3] - HADBAOUI Zineb. Evaluation de l'activité antioxydante des fractions lipidiques, protéiques et phénoliques de Sorgho et de Mil de Ain Saleh. Thèse de Doctorat, Université d'Ouargla, 2013.
- [4] - BELHADJ S. Etude Eco-Botanique de pistaches atlantique DES (ANACARDIACEAE) en Algérie, préalable à la conservation des ressources génétiques de l'espèce et à sa valorisation. Thèse de Doctorat, Université Tizi-Ouzou, 2007.
- [5] - Belakhdar, Manuel des corps gras .Tomel, Edition : Technique et documentation Lavoisier, Paris, 1992.
- [6] - Yahya M ; Iserin P ; Baudoux D ; et Grosjean N; <http://dictionnaire.sensagent.com/1753/fr-fr/1992>, 2001, 2003; et 2007.
- [8] - Ciulel I.. Methodology for analysis of vegetable drugs. E I.P.A.C. Romania. (1982).
- [9] - Deiana M., Rosa A., Casu V., Cottiglia F., Bonsignore L., Dessi M.A. *of the Oil Chemistry's Society*, 2003 .
- [10] - W. Trager, J.B. Jensen, Human malarial parasites in continuous culture. Science , 1976.
- [11] - Ciulel I.. Methodology for analysis of vegetable drugs. E I.P.A.C. Romania, 1988.
- [12] - Karumi Y., Onyeyili P.A., Oyugbuaja V. O Identification of active principals of M, 2004.
- [13] - Paris R., Moyse H. Précis de matière médicale. Paris : Masson, 1969.
- [14] - BRUNETON J- Pharmacognosie phytochimie plantes médicinales. 3<sup>ème</sup> édition Tec et Doc, Paris, 1999 .
- [15] - Boizot N, Charpentier J. Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des oranges d'un arbre forestier. Méthodes et outils pour l'observation et l'évaluation des milieux forestiers, prairiaux et aquatiques, INRA, 2006.

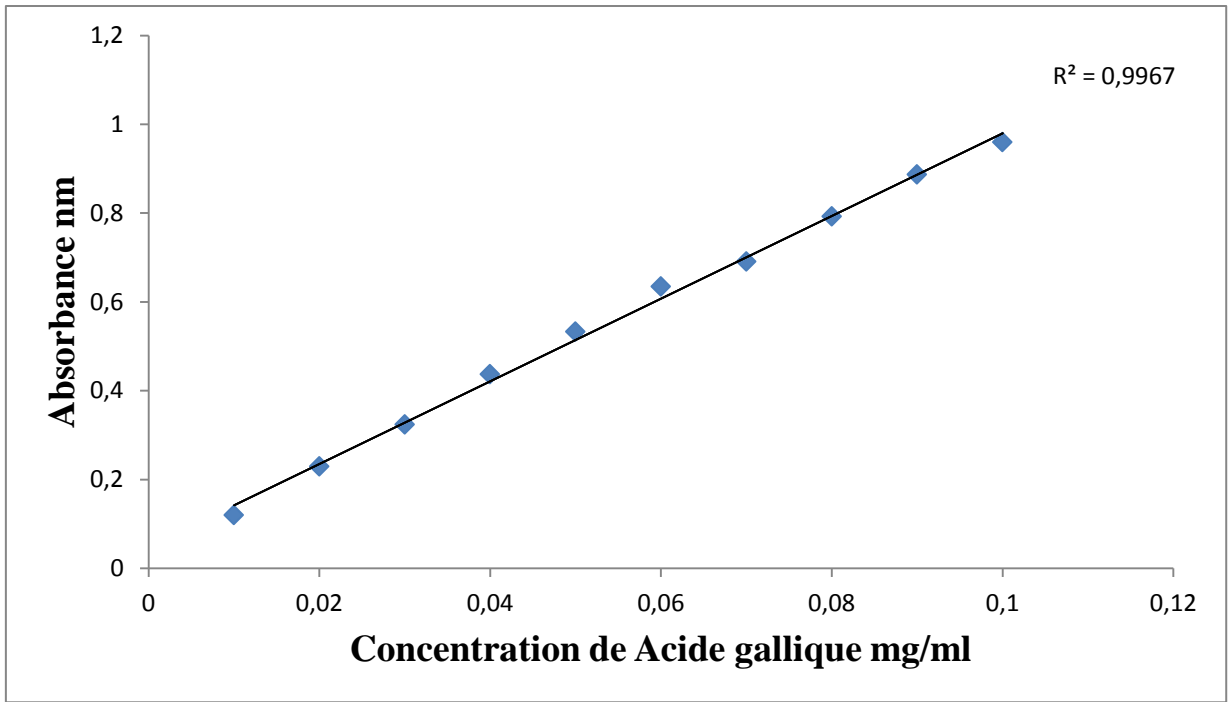
- [16] - Bahorun T. Substances Naturelles actives. La flore Mauricienne *une sourced'approvisionnement potentielle Food and Agricultural Research Council Mauritias*, 1997.
- [17] - Catoire C., Zwang H and Bouet C. Le jujubier ou le *Zizyphus lotus*. Fruits outlies .Article n°1, 1994.
- [18] - Schofield P., Mbugua D-M and Pell A N. Analyses of condensed tannins: a review *Animal Food and Technology*, 2001.
- [19] - Brand-Williams W., Cuvelier M.E. et Berset C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LebensmittelWissenschaften and Technologie*. 1995.
- [20] - Re R., Pellegrini N., Proteggente A., Pannala A., Yang M. et Rice-Evans C. Antioxydant activity applying an improved ABTS radical cation de colorization assay. *Free Radical Biology and Medicine*. 1998.
- [21] - Musa K.H., Abdullah A., Jusoh K. et Subramaniam V. Antioxidant activity of pink-flesh guava (*Psidium guajava* L.): effect of extraction techniques and solvents. *Food Analytical Methods*. 2011.
- [22] - Baydar N.G., Ozkan G. et Sagdic O. Total contents and antibacterial activities of grape (*Vitis vinifera*) extracts. *Food Control*. 2004.
- [23] - Thaipong K., Boonprakob U., Crosby K., Cisneros-Zevallos L. et Byrne D.H., Comparison of ABTS, DPPH, FRAP, and ORAC assays for estimating antioxidant activity from guava fruit extracts. *Journal of Food Composition and Analysis*, 2006.

## ANNEXE

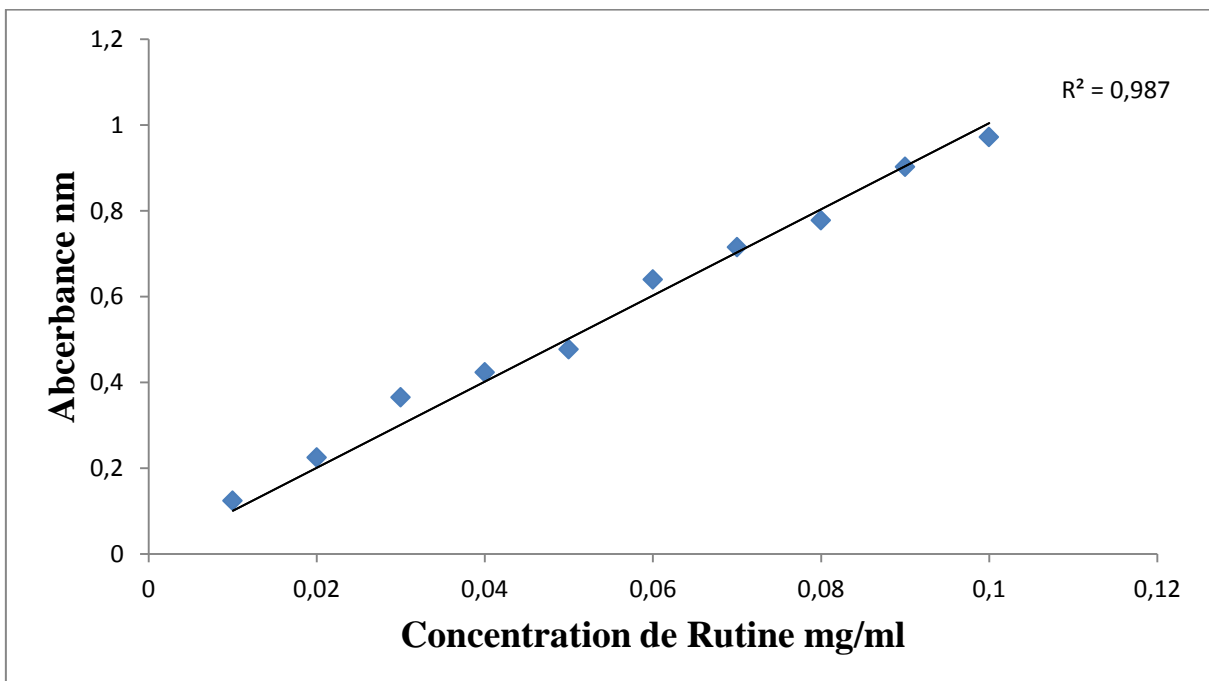
### Réactifs et produits utilisé dans ce travail

Tableau 09 : Réactifs et produits chimiques

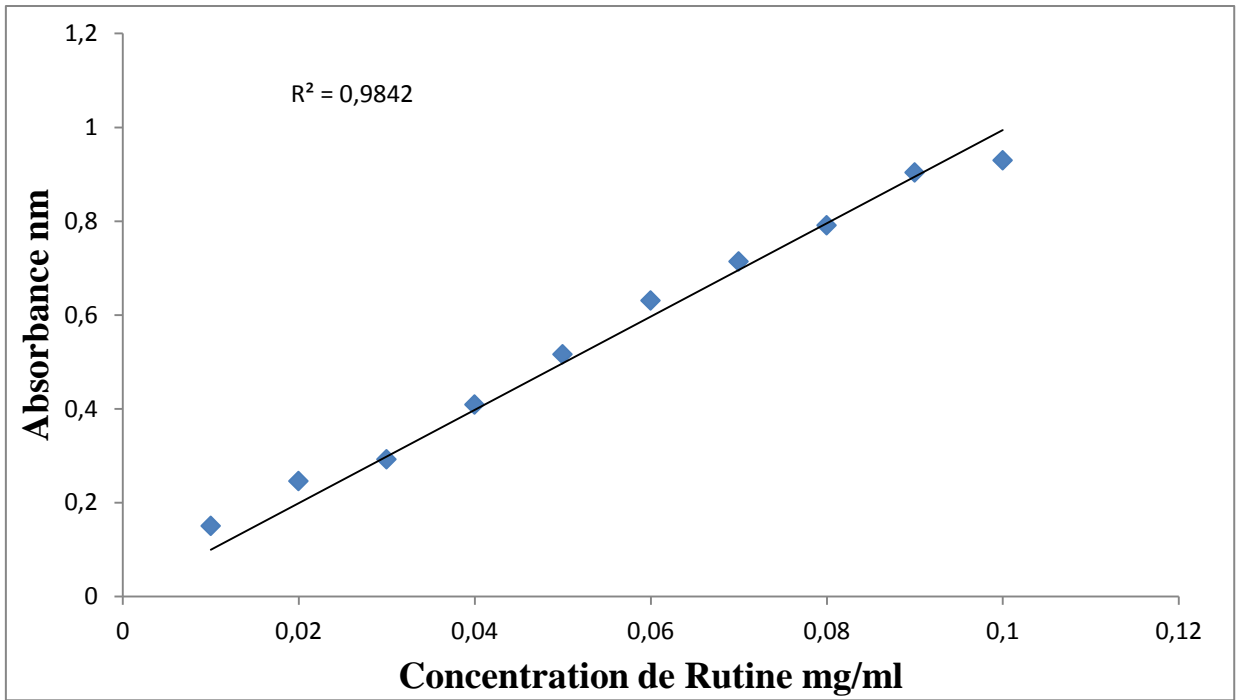
Produits	Formules
Hexane	$C_6H_{14}$
Acide gallique	$C_7H_6O_5$
Carbonate de sodium	$Na_2CO_3$
Chlorure de Fer (III)	$FeCl_3$
Ammoniaque	$NH_4OH$
Persulfate de potassium	$K_2S_2O_8$
Trichlorure D'Aluminium	$(AlCl_3 ; 6H_2O)$
Acide sulfurique	$H_2SO_4$
Ethanol, Méthanol,	$C_2H_6O, CH_3OH,$
Ethyle Acétate	$C_4H_8O_2$
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	$C_{18}H_{12}N_5O_6$



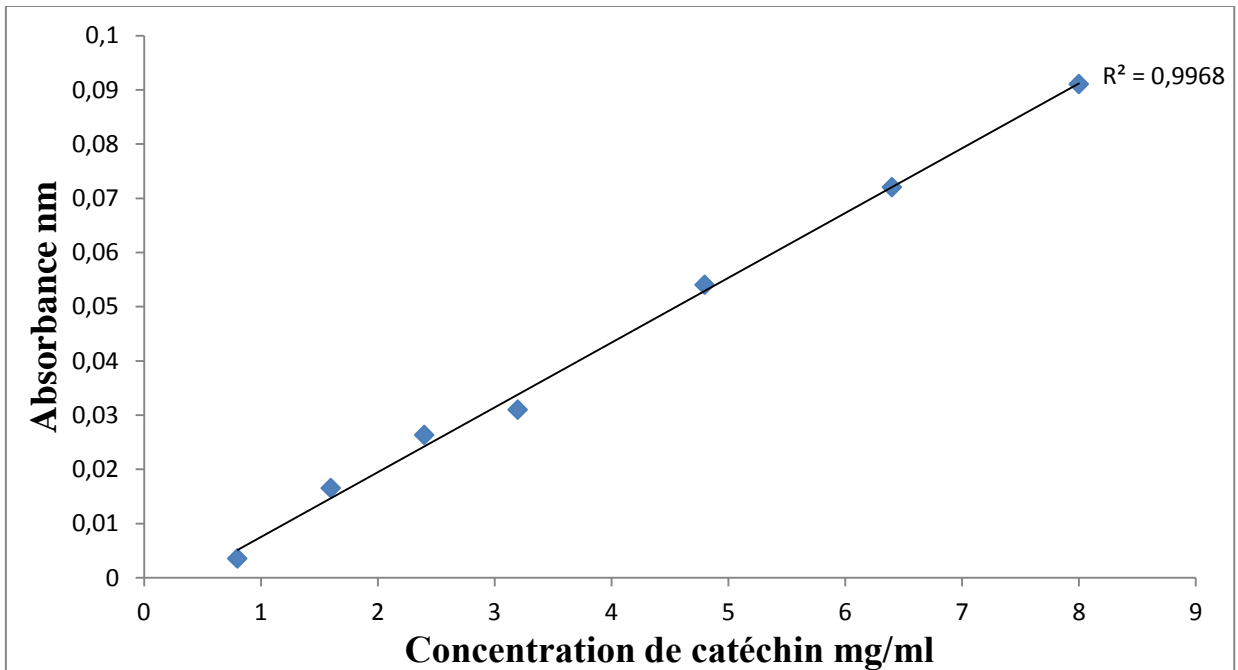
**ANNEXE1: La courbe d'étalonnage de l'acide gallique**



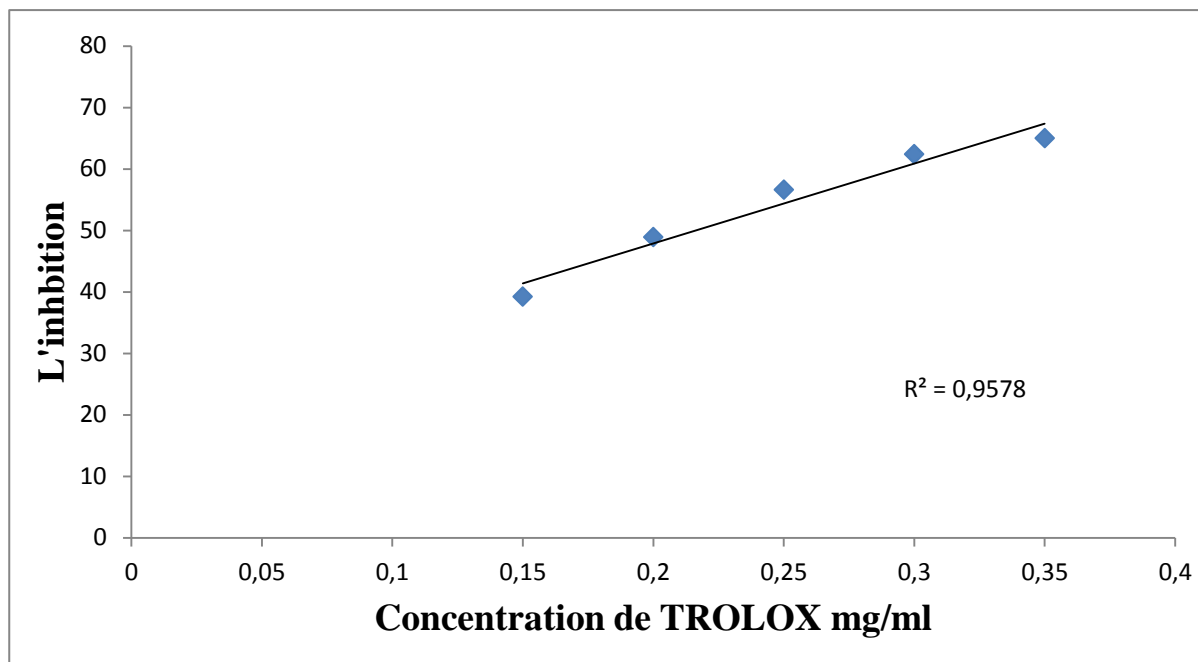
**ANNEXE 2: La courbe d'étalonnage de la Rutine**



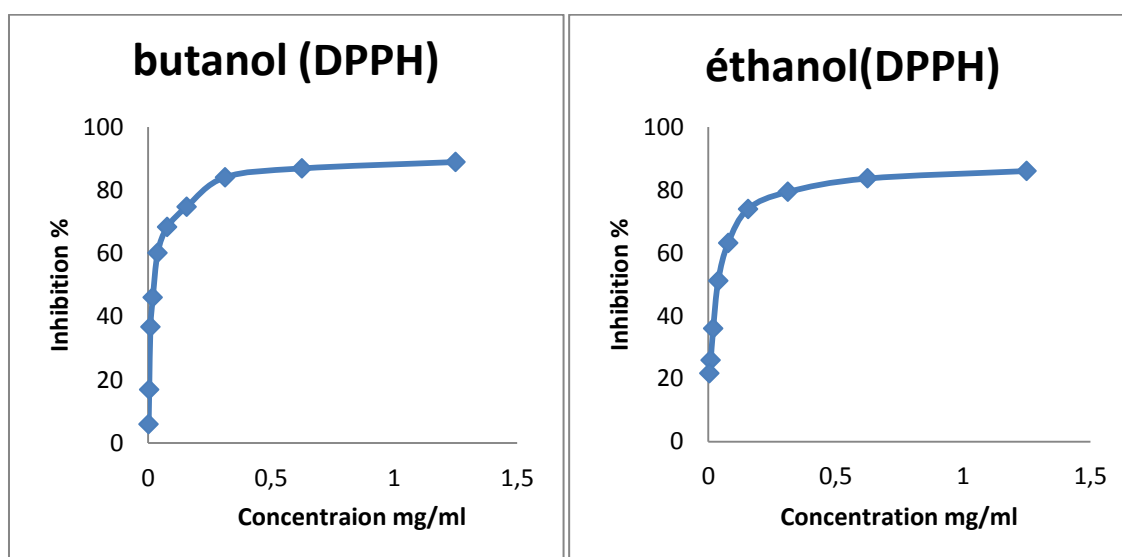
**ANNEXE 3 : La courbe d'étalonnage de la Rutine**



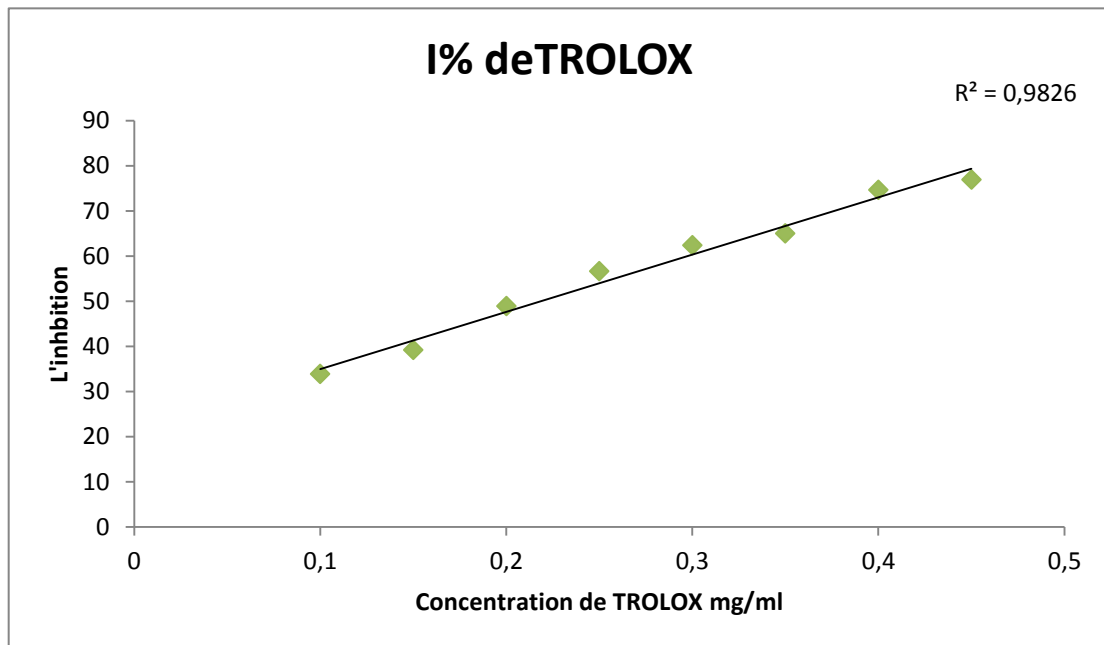
**ANNEXE 4 : La courbe d'étalonnage de catéchine**



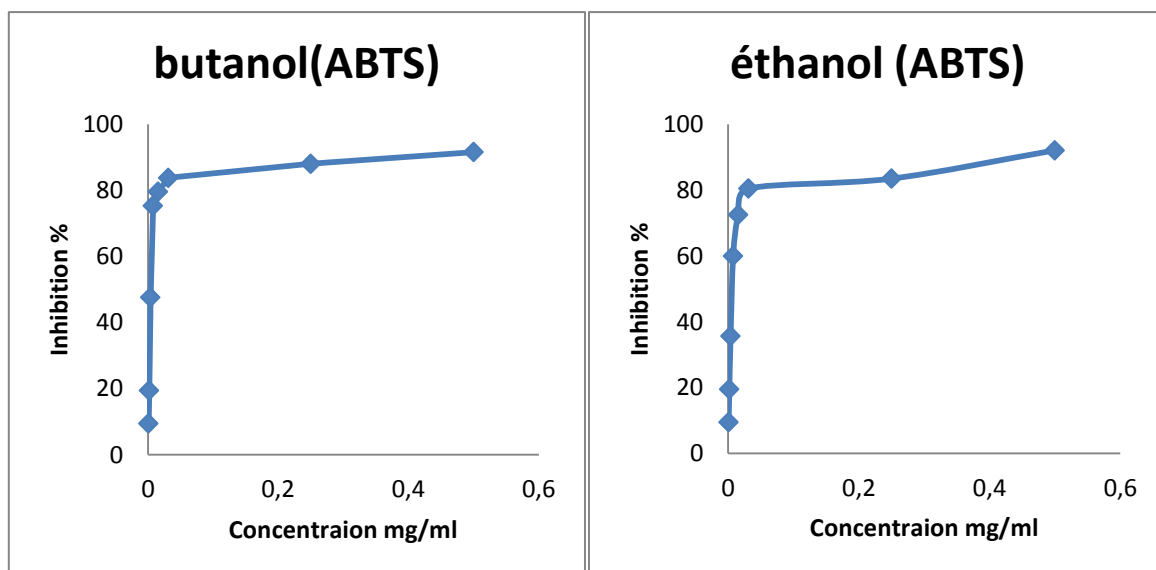
**ANNEXE 5: La courbe d'étalonnage de TROLOX**



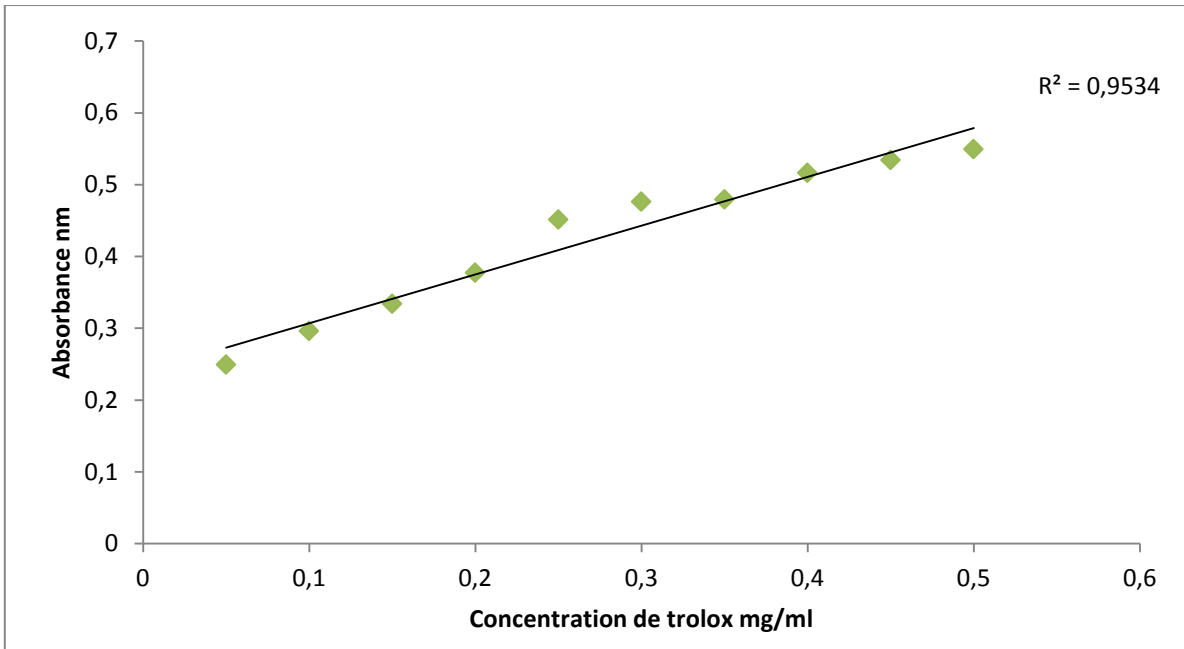
**ANNEXE 6 : Courbes représentant la variation des pourcentages d'inhibition de test DPPH Butanol / Ethanol.**



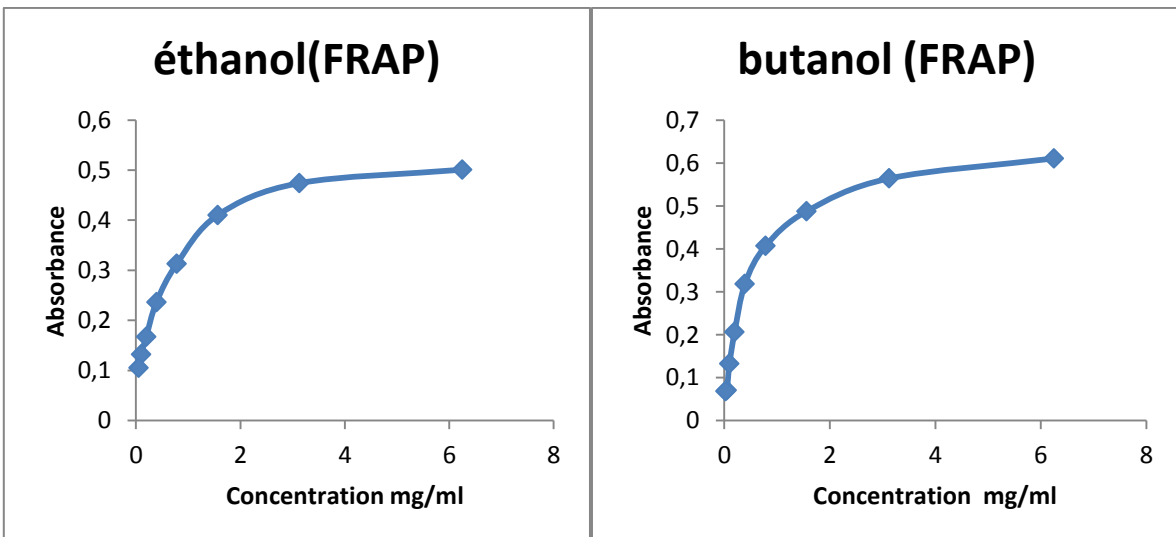
**ANNEXE 7 : La courbe d'étalonnage deTROLOX**



**ANNEXE 8: Courbes représentant la variation des pourcentages d'inhibition de test (ABTS) Butanol / Ethanol.**



**ANNEXE 9: La courbe d'étalonnage deTROLOX**



**ANNEXE 10: Courbes représentant la variation des Absorbances de test (FRAP)**

**Butanol / Ethanol**



## ملخص

يعتبر الضرى نبات منتشر بكثرة في منطقة البحر الابيض المتوسط . خاصة الجزائر . حيث ان أوراقه تعطي مستخلص يدعى " مستخلص الضرى " الذي يعرف بفوائده الهامة.

خلال هذه الدراسة تم اختبار عينة من هذا المستخلص حيث قمنا بتحديد الخصائص الفيزيائية والكيميائية لمستخلص الضرى باستخدام مذيبين (إيثانول, بيثانول) والنتائج المتحصل عليها بينت ان المستخلص غني ب (البوليفينول ، الفلافونويد ، الفلافانول ، التانينات )

وكما قمنا بتقييم النشاط المضاد للأكسدة بثلاثة اختبارات ( DPPH .FRAP. ABTS ) حيث بين هذا تقييم ان مستخلص الضرى لديه نشاط مضاد للأكسدة قوي

**الكلمات المفتاحية :** الضرى ، البوليفينول ، الفلافونويد ، النشاط المضاد للأكسدة.

مجممل هذه النتائج اعطت اهمية وقيمة لمستخلص الضرى . وتشجع على زيادة البحث في هذا الموضوع

## Résumé

L'espèce végétale de *Pistacia lentiscus* est très commune dans la région méditerranéenne. Surtout l'Algérie. Ses feuilles donnent un extrait appelé "Extrait de *Pistacia lentiscus* " qui est connu pour ses avantages importants.

Au cours de cette étude, nous avons identifié les propriétés physiques et chimiques de l'extrait de *Pistacia lentiscus* avec deux solvants (éthanol, butanol) et les résultats obtenus ont montré que l'extrait est riche en (polyphénols, flavonoïdes, Tanins, et flavanols). Et nous avons évalué l'activité antioxydante par trois tests (DPPH, FRAP, et ABTS), ces tests montrent que les deux extraits ont une bonne activité antioxydante.

**Mots clés :** *Pistacia lentiscus*, Polyphénols, flavonoïdes, Activité antioxydante .

## Abstract

The plant species *Pistacia lentiscus* is very common in the Mediterranean region. Especially Algeria. Where As its leaves gives an extract called "extract *Pistacia lentiscus*" which is known for its important benefits from the foot. It therefore requires us to study samples.

During this study, we identified the physical and chemical properties of *Pistacia lentiscus* extract with two solvents (ethanol, butanol) and the results obtained showed that the extract is rich in (polyphenols, flavonoids, tannins, and flavanols).

As we evaluated the three-way antioxidant (DPPH .FRAP. ABTS) showed the activity of free high pox for the extract ,the results of these findings are important and valuable for the conclusion of necessity. Andencoura gesfurther research on the subject.

**Key words:** *Pistacia lentiscus*, polyphenols, flavonoids, Antioxidant activity.

