

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou
Faculté des Sciences Biologiques et des Sciences Agronomiques

Département de Biochimie-Microbiologie



Mémoire de fin d'étude

En vue de l'obtention du diplôme de Master

Filière: Biotechnologie

Spécialité: Biotechnologie microbienne

Thème

**Quantification et évaluation de quelques
activités biologiques des polyphénols totaux,
des flavonoïdes et des tannins hydrolysables
de *Pistacia lentiscus* L.**

Présenté par :

-Ladjimi Ouiza

-Lahouazi Selma

-Medjber Sabiha

Soutenu le 28.09.2022 devant le jury composé de :

Présidente : Mme BEN AHMED DJILALI A.	Professeur	UMMTO
Examinatrice : Mme ASMANI K.	MCA	UMMTO
Promotrice : Mme CHEHRIT-HACID F.	MCB	UMMTO
Co-promotrice : Mme DERMECHE S.	MCB	UMMTO

Promotion : 2021/2022

Remerciements

Le travail présenté dans ce mémoire a été effectué au sein du Laboratoire de recherche de Biochimie Analytique et Biotechnologie et du laboratoire de Recherche de Production, Amélioration Végétale et Agroalimentaire à l'Université Mouloud Mammeri de TIZI- OUZOU (UMMTO).

*Avant tout, on remercie Dieu le tout Puissant, de nous avoir donné la force, la patience et la volonté pour accomplir ce travail. Il est difficile d'exprimer, en quelques lignes, nos remerciements à l'égard de notre encadreur de mémoire, **M^{me} Chehrit-Hacid F.** En effet, nous avons le privilège d'être encadrées et orientées par elle, d'apprécier ses qualités et ses valeurs. On la remercie pour la confiance qu'elle a placée en nous durant cette période de recherche. Nous lui témoignons notre gratitude pour ses conseils qui nous ont été très utiles et qui nous le serons toujours. Il est, à nos avis, difficile de trouver une aussi bonne directrice de mémoire tant d'un point de vue scientifique que d'un point de vue humain. Son sérieux, sa gentillesse, ses compétences et son savoir nous ont énormément marqués. Ce travail est donc pour nous, l'occasion de lui témoigner, nos profondes gratitude pour ses aides et sa disponibilité. Puisse-t-elle, enfin, trouver à travers ces quelques lignes, l'expression de notre respectueuse considération et notre profonde admiration pour toutes ses qualités humaines et scientifiques.*

*On tient aussi à remercier notre co-promotrice **M^{me} Dermeche S.** pour sa contribution, ses précieux conseils et son aides tout au long de notre travail expérimental.*

*On tient à exprimer notre gratitude à **M^{me} Ben Ahmed Djilali A.** d'avoir accepté de présider le jury de soutenance.*

*Nos remerciements s'adressent également à **M^{me} Asmani K.** de nous avoir honorées en acceptant de faire partie du jury et d'examiner notre travail à travers ses remarques et critiques.*

Nos remerciements les plus sincères à tous nos enseignants du département de Biotechnologie-Microbiologie-Biochimie appliqué (BMC) de l'université Mouloud Mammeri Tizi-Ouzou pour leurs compétences et expertises.

Enfin, que tous ceux et celles qui ont contribué de près et de loin à la réalisation de ce modeste travail, soient assurés de notre profonde sympathie.

DIDECACE

Chers parents, c'est avec une énorme reconnaissance et une grande émotion que je vous dédie ce travail, vous êtes et vous serez à jamais ma plus grande fierté et la source de mon bonheur, que Dieu vous garde pour nous, je vous aime infiniment.

C'est avec grand plaisir que je dédie ce travail pour mes adorables sœurs, Zohra et Lila, ainsi mon frère Azzedine qui comptent énormément dans ma vie.

Je ne pourrais pas oublier de citer mon petit ange, mon neveu Jugurtha qui ne cesse d'illuminer notre quotidien.

A ma grande et adorable famille, oncles, tantes et spécialement cousins et cousines, avec tout mon amour envers vous.

Un énorme Merci pour l'une des personnes les plus chères à mon cœur, Jugurtha Imazaten pour sa disponibilité, son soutien et ses précieux conseils.

A mes binômes Ouiza et Salma.

A tous mes amis(e).

Sabiha.

DIDECACE

Tout d'abord, je tiens à remercier DIEU pour m'avoir guidée pour atteindre ce stade.

A ma chère maman et à mon cher papa qui n'ont jamais cessé de me soutenir, m'encourager, durant mes années d'études vous êtes la prunelle de mes yeux, ma raison de vivre, sans vous je n'en serais pas là, c'est avec une énorme reconnaissance et une grande émotion que je vous dédie ce travail, vous êtes et vous serez à jamais ma plus grande fierté et la source de mon bonheur, que Dieu vous garde pour nous, je vous aime infiniment.

C'est avec grand plaisir que je dédie ce travail pour mes adorables frères, mes piliers, mes protecteurs: Yazid Massi Hacene, qui comptent énormément dans ma vie et qui sans eux, je ne serais pas ce que je suis devenue aujourd'hui à mon adorable belle-sœur Nedjma.

A mon petit ange ADAM qui illumine ma vie.

Nulle dédicace ne puisse exprimer mes sincères sentiments, pour leur patience illimitée, leur encouragement continu, leur aide, en témoignage de mon profond amour et respect. Merci énormément.

Mes dédicaces vont spécialement à mes adorables binômes : Sabiha et Selma

A tous mes amis et amies spécialement : Asma, Faiza, Samira, Melissa, Houria, Linda,...

A tous mes camarades.

Un énorme Merci pour l'une des personnes les plus chères à mon cœur, Ferhat pour sa disponibilité, son soutien et ses précieux conseils.

Tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

OUIZA.

DEDICACE

A mon cher grand père, qui est ma plus grande raison de vivre et ma précieuse offre de Dieu qui me doit ma vie, ma réussite et tout mon respect. Aucune dédicace ne saurait exprimer mon amour éternel et ma considération pour les sacrifices que tu as faits pour mon instruction et mon bien être, je te remercie pour tout le soutien et l'amour que tu me portes depuis mon enfance et j'espère que ta bénédiction m'accompagnera toujours, puisse Dieu, t'accorde santé, bonheur et longue vie.

A mes chères parents, qui n'ont jamais cessé de formuler des prières à mon égard, de me soutenir et de m'épauler pour que je puisse atteindre mes objectifs, merci pour tout l'amour dont vous m'avez entouré, je ferai de mon mieux pour rester un sujet de fierté à vos yeux avec l'espoir de ne jamais vous décevoir, je vous dédie ce travail avec tous mes vœux de bonheur et de santé, que ce travail soit l'exaucement de vos vœux tant formulé et de vos prières quotidiennes.

A ma très chère sœur Tassadit qui n'a pas cessé de m'encourager et me soutenir tout au long de mes études merci pour ta patience, amour, bienveillance.... Que dieu te protège et t'offre la chance et le bonheur.

A mes adorables frères Khaled et Samy, que dieu vous réserve un avenir plein de joie,
de bonheur et de réussite.

A mon ami Hakim merci énormément pour ton soutien plus que précieux, merci pour ton grand cœur et toutes tes qualités qui seraient trop longues à énumérer, ma vie ne serait pas aussi magique sans ta présence, puisse dieu te protège et t'offre de la chance et le bonheur.

A mes chères binômes Ouiza et Sabiha merci pour votre soutien moral votre patience
votre compréhension tout au long de ce travail.

A toutes ma famille oncles, tantes, mes grands-parents maternel spécialement mon oncle
AZIZ et sa femme SAIDA à qui je dois un respect énorme. A mes chères copines Tinou,
Tina et Nerdjes.

SELMA.

Tables des matières

Remerciements

Dédicaces

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction..... 1

I. Partie bibliographique

Chapitre I. Généralités sur *Pistacia lentiscus* L.

1	Introduction.....	3
2	Description botanique de <i>P. lentiscus</i>	3
3	Répartitions géographiques	5
3.1	Dans le monde	5
3.2	En Algérie	5
4	Activités biologiques et pharmacologiques de <i>P. lentiscus</i>	6
5	Utilisation et intérêt	7

Chapitre II. Généralités sur les polyphénols et leurs activités biologiques.

1	Généralités sur les polyphénols.....	8
2	Biosynthèse des polyphénols	8
2.1	Voie du shikimate	8
2.2	Voie de l'acétate	8
3	Classification des polyphénols	10
3.1	Les acides phénoliques	11
3.2	Flavonoïdes.....	11
3.3	Les tannins.....	13
3.3.1	Les tannins condensés.....	13
3.3.2	Les tannins hydrolysables	13

4	Propriétés des polyphénols	14
4.1	Propriétés physicochimiques	14
4.2	Propriétés biologiques	15
5	Rôle des polyphénols	17
5.1	Chez les végétaux	17
6	Méthodes d'extraction des polyphénols	17

II. Partie bibliographique

Chapitre I. Matériel et méthodes

1	Matériel biologique	19
1.1	Matériel végétal.....	19
1.2	Souches microbiennes utilisées	19
1.3	Souches fongiques	20
2	Méthodes	23
2.1	Préparation du matériel végétal	23
2.2	Extraction des polyphénols	23
3	Analyse quantitative de l'extrait	23
3.1	Dosage des polyphénols totaux	23
3.2	Dosage des flavonoïdes totaux	24
3.3	Dosage des tannins hydrolysables	24
4	Evaluation de l'activité anti-oxydante par le test de piégeage du radicale libre DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl)	24
5	Evaluation de l'activité antimicrobienne	25
5.1	Activité antibactérienne (antibiogramme)	25
5.1.1	Préparation des précultures	26
5.1.2	Préparation de l'inoculum est standardisation.....	26
5.1.3	Aromatogramme.....	26
5.1.4	Lecture des résultats.....	26
5.2	Evaluation de l'activité antifongique	26
5.2.1	Repiquage des souches fongiques.....	27
5.2.2	Lecture des résultats.....	27

6	Analyse statistique.....	27
----------	---------------------------------	-----------

Chapitre II. Résultats et discussion.

1	Résultats quantitatifs	28
1.1	Teneur en polyphénols totaux	28
1.2	Teneur en flavonoïdes totaux.....	28
1.3	Teneurs en tannins hydrolysables	29
2	Test de l'activité antioxydante	30
3	Evaluation de l'activité antibactérienne	31
4	Evaluation de l'activité antifongique	32
5	Discussion.....	32
6	Test de l'activité antioxydante	33
7	Evaluation de l'activité antibactérienne	34
8	Evaluation de l'activité antifongique	35

Conclusion.....	37
------------------------	-----------

Références bibliographiques.....	38
---	-----------

Annexes

Résumé

ATCC : American Type Culture Collection

DMSO : Diméthylsulfoxyde

DO : Densité optique

DPPH : 2,2-diphényl-1-picrylhydrazil

EEA : Extrait gardé à température ambiante

EAG : Equivalent d'acide gallique

EAT : Equivalent de l'acide tannique

EER : Extrait conservé au réfrigérateur

ER : Equivalent de la rutine

FT : Flavonoïdes totaux

GM : Gentamycine

IC50 : Concentration inhibitrice médiane

LPS : Lipopolysaccharide

ROS : Espèce réactive de l'oxygène

SOD : Superoxyde dismutases

TH : Tannins hydrolysables

UV : Ultra-violet

Figure 01. Feuilles de <i>P. lentiscus</i>	4
Figure 02. Inflorescences de <i>P. lentiscus</i> A : inflorescences mâles, B: inflorescences femelles.....	4
Figure 03. Fruit de <i>P. lentiscus</i>	5
Figure 04. Aire de distribution de <i>Pistacia lentiscus</i> L.dans le monde.....	5
Figure 05. Origine biosynthétique des composés phénoliques par la voie de shikimate	9
Figure 06. Classification des composées phénoliques.....	10
Figure 07. Structure du noyau flavane.....	11
Figure 08. Classification des Flavonoides.....	12
Figure 09. Tannins condensés.....	13
Figure 10. Tannins hydrolysables	14
Figure 11. Effets biologiques des polyphénols.....	15
Figure 12. Aspect des précultures sur milieux PDA (a : <i>Fusarium</i> sp, b : <i>Penicillium</i> sp, c : <i>Aspergillus flavipes</i> , d : <i>Aspergillus niger</i>).....	20
Figure 13. Diagramme représentant les protocoles expérimentant adoptés.....	22
Figure 14. Structure de DPPH• (radical) et sa réduction par l'antioxydant	25
Figure 15. Teneurs en polyphénols totaux de <i>P. lentiscus</i>	28
Figure 16. Teneurs en flavonoides totaux de <i>P. lentiscus</i>	29
Figure 17. Teneurs en tannins hydrolysables de <i>P. lentiscus</i>	30
Figure 18. Histogramme représente les % IC50 de l'extrait (EER).....	3

Tableau I. Classification taxonomique de <i>P. lentiscus</i>	3
Tableau II. Activité biologique et pharmacologique de <i>P.lentiscus</i>	6
Tableau III. Screening biochimique et l'utilisation de <i>P. lentiscus</i>	7
Tableau IV. Principaux sous-groupes des flavonoïdes et leur caractéristique.	11
Tableau V. Méthodes d'extraction des polyphénols.	18
Tableau VI. Souches bactériennes testées et l'antibiotique utilisé.	19
Tableau VII. Représentation d'IC 50% (pourcentage \pm écart type) de l'extrait EER.	30
Tableau VIII. Diamètres des zones d'inhibition en mm (moyenne \pm écart type) exercées par les extraits éthanoliques de lentisque vis-à-vis des souches testées.	31
Tableau IX. Résultats des activités antifongiques des extraits des feuilles de <i>P. lentiscus</i> sur les champignons.	32



Introduction

Depuis l'antiquité, les plantes médicinales ont joué un rôle important dans les soins de santé humaine. Le traitement par les plantes est reconnu pour sa facilité d'utilisation, son efficacité ainsi que ses bienfaits incontestables. D'après l'organisation mondiale de la santé (OMS), près de 80 % de la population a recours à la médecine traditionnelle (Nunes *et al.*, 2020).

De nos jours, les vertus thérapeutiques des plantes médicinales présentent un regain d'intérêt grâce à l'amélioration des techniques extractives, et aux progrès des méthodes d'analyses structurales pour la découverte de nouveaux principes actifs (Saffidine *et al.*, 2013), comparativement aux molécules synthétiques qui peuvent causer de nombreux effets secondaires indésirables présentent des limites thérapeutiques.

En effet, les plantes médicinales possèdent des propriétés qui sont dues à la présence de centaines des composés naturels bioactifs appelés les métabolites secondaires, ces derniers dotés de multiples vertus thérapeutiques. Ils jouent un rôle important principalement dans la lutte contre les maladies infectieuses, les cancers, les maladies cardiovasculaires ; ce qui explique leur grande utilisation dans la fabrication des médicaments. Ils interviennent aussi dans la protection des plantes contre les différentes attaques microbiennes.

Actuellement, le développement de la résistance microbienne aux antibiotiques et la toxicité des antioxydants synthétiques ont conduit les chercheurs à puiser dans le monde végétal et particulièrement les plantes médicinales (Benbrinis, 2012).

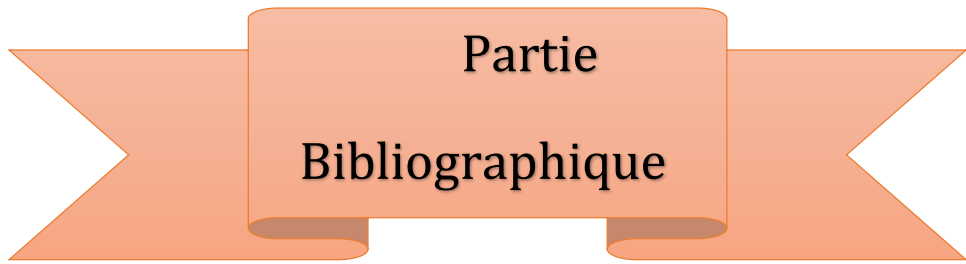
Pistacia lentiscus (*P. lentiscus*) est un arbrisseau appartenant à la famille des *Anacardiaceae*. Connue en Algérie sous le nom de Drow, communément appelé arbre de mastic, est une plante médicinale originaire de bassin méditerranéen, qui est riche en composés phénoliques. Cette plante est largement utilisée par les populations locales dans la médecine traditionnelle à des fins diverses comme antiseptique, antihypertenseur, gastro-intestinal, hépatique et urinaire (Boutemine *et al.*, 2018). Elle possède plusieurs activités pharmacologiques, notamment antioxydantes, antibactériennes, anti-inflammatoires et anticancéreuses.

C'est dans ce contexte que nous avons jugé intéressant de contribuer à l'étude des polyphénols des feuilles de *P. lentiscus*, en évaluant quelques activités biologiques, notamment les activités antioxydantes, antibactériennes et antifongiques de leur extrait éthanolique. Par ailleurs, nous nous sommes posés la question sur l'effet de la température de conservation des extraits avant analyse, nous avons alors quantifié les polyphénols de deux extraits, l'un laissé à température ambiante pendant 48 heures et l'autre immédiatement mis au réfrigérateur ; nous avons également comparé entre les activités biologiques de ces deux extraits.

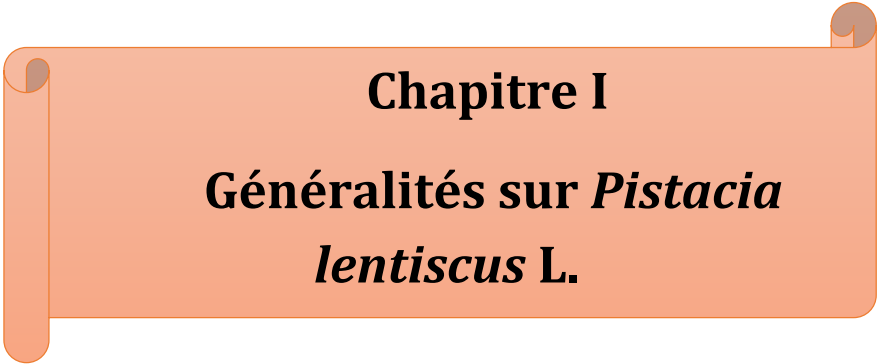
Ce mémoire est divisé en deux parties :

La première partie, bibliographique est divisée en deux chapitres ; le premier chapitre a porté sur description botanique de *Pistacia lentiscus* L., et ses propriétés biologiques, le deuxième chapitre traite les composés phénoliques ; leur classification, leur biosynthèse et leurs propriétés biologiques.

Dans la partie expérimentale nous avons, en premier lieu présenté le matériel végétal et les souches microbiennes utilisés ainsi que le matériel de laboratoire et les méthodes expérimentales ayant permis la réalisation de ce travail. Nous achevons notre travail par une conclusion générale et des prescriptives.



Partie
Bibliographique

An orange scroll graphic with a vertical strip on the left side and a small circular tab on the right side. The text is centered on the scroll.

Chapitre I
Généralités sur *Pistacia*
***lentiscus* L.**

1 Introduction

P. lentiscus L ou le lentisque, Drow en arabe et Thidekt en Kabyle est un arbrisseau aromatique du genre *Pistacia* appartenant à la famille des *Anacardiaceae* qui comprend environ 70 genres et plus de 600 espèces, répondeur dans le porteur de bassin méditerranéen (Bozorgui *et al.*, 2013).

P. lentiscus possède une forte croissance racinaire, ce qui lui permet de se développer même en manque de nutriments et d'eau (Abdelwahed *et al.*, 2007 ; Cortina *et al.*, 2008). Cette espèce est très connue et employée par la population locale pour ses nombreuses thérapeutiques, notamment antiulcéreuse, anti-inflammatoire et antibactérienne (Milia *et al.*, 2021).

- **Classification taxonomique**

Le lentisque comporte au moins 11 espèces dioïques. Les trois espèces les plus abondantes en Algérie sont *Pistacia atlantica*, *Pistacia lentiscus* et la moins fréquente *Pistacia térébinthus* (Ait said, 2011). La classification botanique de *P. lentiscus* est donnée dans le tableau I.

Tableau I. Classification taxonomique de *P. lentiscus* d'après Bock. (2011).

Règne	Plantae
Embranchement	Spermatophyte
Sous- embranchement	Angiosperma
Classe	Dicotylédones
Ordre	Sapindales
Famille	Anacardiaceae
Genre	<i>Pistacia</i>
Espèce	<i>P. lentiscus</i> L.

2 Description botanique de *P. lentiscus*

Le lentisque est un arbrisseau vivace dioïque, ramifié, sclérophylle et aromatique à croissance lente. Il peut atteindre de 5 à 6 m de hauteur, mais peut atteindre 8 m dans certaines conditions (Chehrit-Hacid, 2016). Cette plante dégage une odeur résineuse et forte due à la présence d'une résine appelée gomme à mastic qui s'écoule du tronc incisé et qui, une fois distillée, fournit une essence employée en parfumerie.

P. lentiscus est caractérisé par des feuilles persistantes, sont composées de 4 à 10 folioles paripennées obtuses, elliptiques, luisantes en dessus, de couleur vert foncé (Figure 01). Les fleurs sont unisexes d'environ 3 mm de largeur et se présentent sous forme de grappe. Elles sont très aromatiques et forment des racèmes de petite taille. Les fleurs mâles étant pourvues de 5 grandes étamines de couleur rouge foncé.

Les fleurs femelles possèdent un ovaire à trois carpelles uniloculaires, avec un ovule anatrope uniovulé avec une couleur vert jaunâtre. (Figure 02) (Ait-Said, 2011)



Figure 01. Feuilles de *P. lentiscus* (Photographie prise en mois de mai 2022).



Figure 02. Inflorescences de *P. lentiscus* A : inflorescences mâles, B : inflorescences femelles. (Chehrit-Hacid, 2016).

Le fruit est une baie globuleuse de 2 à 3 mm, monosperme, remplie par nucléole de la même forme, d'abord rouge, il devient noir à sa maturité (Figure 03).



Figure 03. Fruit de *P. lentiscus* (Bammou *et al.*, 2015).

3 Répartitions géographiques

3.1 Dans le monde

P. lentiscus est un arbuste largement répandu dans les écosystèmes de la région méditerranéenne, notamment en Grèce, Turquie, Italie, Espagne, Tunisie, Algérie, Maroc et la France (Figure 04), à une large répartition géographiques et bioclimatiques, s'étendent des zones humides aux régions arides (Harrat *et al.*, 2018).

3.2 En Algérie

P. lentiscus est dispersée sur tout le littoral et pousse dans divers habitats le long d'un gradient climatique qui varie en termes de rayonnement solaire, de température et de précipitation, elle est répandue en forêt seule ou associé avec d'autres espèces d'arbre comme les oliviers, le terébinthe (Ait-Said, 2011).

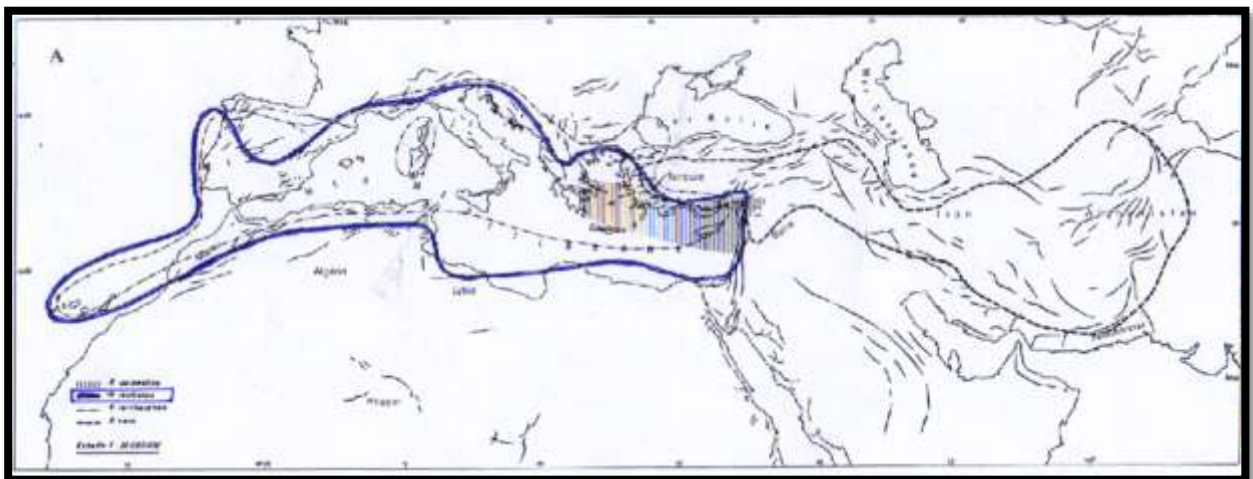


Figure 04. Aire de distribution de *Pistacia lentiscus* L. dans le monde d'après Alyafi (1979) in Ait Said (2011).

4 Activités biologiques et pharmacologiques de *P. lentiscus*.

De nombreuses études pharmacologiques ont montré que les molécules contenues dans les différentes parties de cette plante ont diverses activités biologiques (Benhammou *et al.*, 2008) qui sont présentées dans le tableau II.

Tableau II. Tableau récapitulatif de résultats rapportés par différents chercheurs dans leurs études effectuées sur les activités biologiques de *P. lentiscus*.

Activités	Parties de la plante	Extraits ou métabolites	Souche et/ou test utilisé	Résultats : Diamètres (mm) / IC50	CMI EC50	Références
Anti-Bactérienne	Fruits	Huile essentielle	<i>Staphylococcus aureus</i> <i>Bacillus subtilis</i> <i>Escherichia Coli</i>	48 ±1b 22±1c 16±1d	0,25 0,50	Amara <i>et al.</i> , (2019)
	Feuilles		<i>Enterococcus faecalis</i>	19,3 ± 1,0		El Idrissi <i>et al.</i> , (2016)
Antioxydante	Feuilles Fruits Feuilles Fruits	Extraction méthanolique	DPPH FRAP		0,121±0,001 0,261±0,002 0,207±0,0002 0.163±0.0003	Hemma <i>et al.</i> , (2018)
Antifongique	Feuilles	Extrait aqueux	<i>Penicillium Digitatum</i> <i>Penicillium Italicum</i> <i>Fusarium sp.</i>	53,6 ± 0,6 56,0 ± 1,0 46,7 ± 0,5		El Idrissi <i>et al.</i> , (2016)
Anti-inflammaoire	Feuilles Fruits	Fraction hydro-alcolique	ORAC	56,4 58,04		Remila <i>et al.</i> , (2015)

5 Utilisation et intérêt

P. lentiscus est une plante très connue et utilisée depuis longtemps dans l'alimentation humaine, dans la médecine traditionnelle et dans l'industrie pharmaceutique (Azib *et al.*, 2019). En raison de sa large utilisation en médecine traditionnelle, les différentes parties de lentisque ont fait l'objet de nombreuses études phytochimiques afin d'identifier les principes actifs.

Tableau III. Screening biochimique et l'utilisation.

Partie de la plante	Utilisation	Composé chimique	Références
Feuille	Asthme, rhumatisme Trouble cérébraux et gastriques intestinaux	Flavonoïdes, tannins, alcaloïdes, leucoanthocyanes	Azib <i>et al.</i> , (2019). Arab <i>et al.</i> , (2014).
Fruit	Diarrhée, maladie respiratoires	Flavonoïdes, tannins, glycoside, anthocyane et amidon	Boukeloua <i>et al.</i> , (2016). Arab <i>et al.</i> , (2014).
Mastic (résine)	Maux d'estomac, douleurs abdominales, ulcère gastro duodéal	Triterpènes (acide oléanique et uronique), tétracycliques.	Bammou <i>et al.</i> , (2015). Bozorgui <i>et al.</i> , (2013).

Chapitre II

Généralités sur les polyphénols et leurs activités biologiques

1 Généralités sur les polyphénols

Les polyphénols sont les métabolites secondaires végétaux, ils sont abondants dans la majorité des fruits et des légumes, représentent un grand groupe d'au moins 10 000 composés différents qui contiennent un ou plusieurs cycles aromatiques auxquels sont attachés un ou plusieurs groupe hydroxyle (Mojzer *et al.*, 2016). Le plus souvent, les composés phénoliques ne se trouvent pas libres dans la nature, mais sous forme d'ester. Ils se rencontrent également sous forme de polymères comme la lignine et les tannins.

2 Biosynthèse des polyphénols

Les composés phénoliques sont synthétisés par deux voies biosynthétiques :

2.1 Voie du shikimate : cette voie est liée au métabolisme des glucides et des acides aminés aromatiques. Les substances initiales sont ici les produits de la glycolyse et du cycle du pentose phosphate (le phosphoénolpyruvate et l'érythrose phosphate). Leur condensation et cyclisation conduisent à la formation d'un intermédiaire important : l'acide shikimique. Celui-ci, peut soit se transformer en acide hydroxybenzoïque (par exemple l'acide gallique), soit donner naissance aux acides aromatiques, la phénylalanine et la tyrosine. La désamination de phénylalanine en acide cinnamique et leurs dérivés, puis de la tyrosine en acide p-coumarique est catalysé par deux enzymes spécifiques : la phénylalanine Ammonia Lyase (PAL) et la Tyrosine Ammonia Lyase (TAL) (Macheix, 2006 ; Chehrit-Hacid, 2021) (Figure 05).

Les formes actives des dérivés de l'acide cinnamique avec le Coenzyme A permettent d'accéder aux principales classes des composés phénoliques :

Les acides hydroxybenzoïques (acide gallique, salicylé..) sont synthétisés par une oxydation et aux tannins hydrolysables par la combinaison des sucres avec les acides gallique, et les coumarines par cyclisation intermédiaire des molécules suivie de modification complémentaire (glycosylation, prénylation). Ensuite, la condensation des chalcones, conduit à la formation des flavonoïdes et la polymérisation aboutie aux tannins condensés, et les lignines sont synthétisé par une réduction conduisant aux monolignols suivie d'une polymérisation oxydative en présence des peroxydases et les laccases (Macheix *et al.*, 2005).

2.2 Voie de l'acétate

La voie des polyacétates chez les végétaux supérieurs, permet par la condensation de trois acétyl-Coa, la synthèse du second noyau benzénique des flavonoïdes et stilbènes (figure 5). Cette voie consiste en effet en la cyclisation des chaînes polycétoniques, elles-mêmes obtenues par condensation de groupements acétates. Cette dernière ne se fait qu'après carboxylation de l'acétyl-CoA (coenzyme A) en malonyl-CoA (Macheix *et al.*, 2005 ; Noel *et al.*, 2005 in Chehrit-Hacid, 2016).

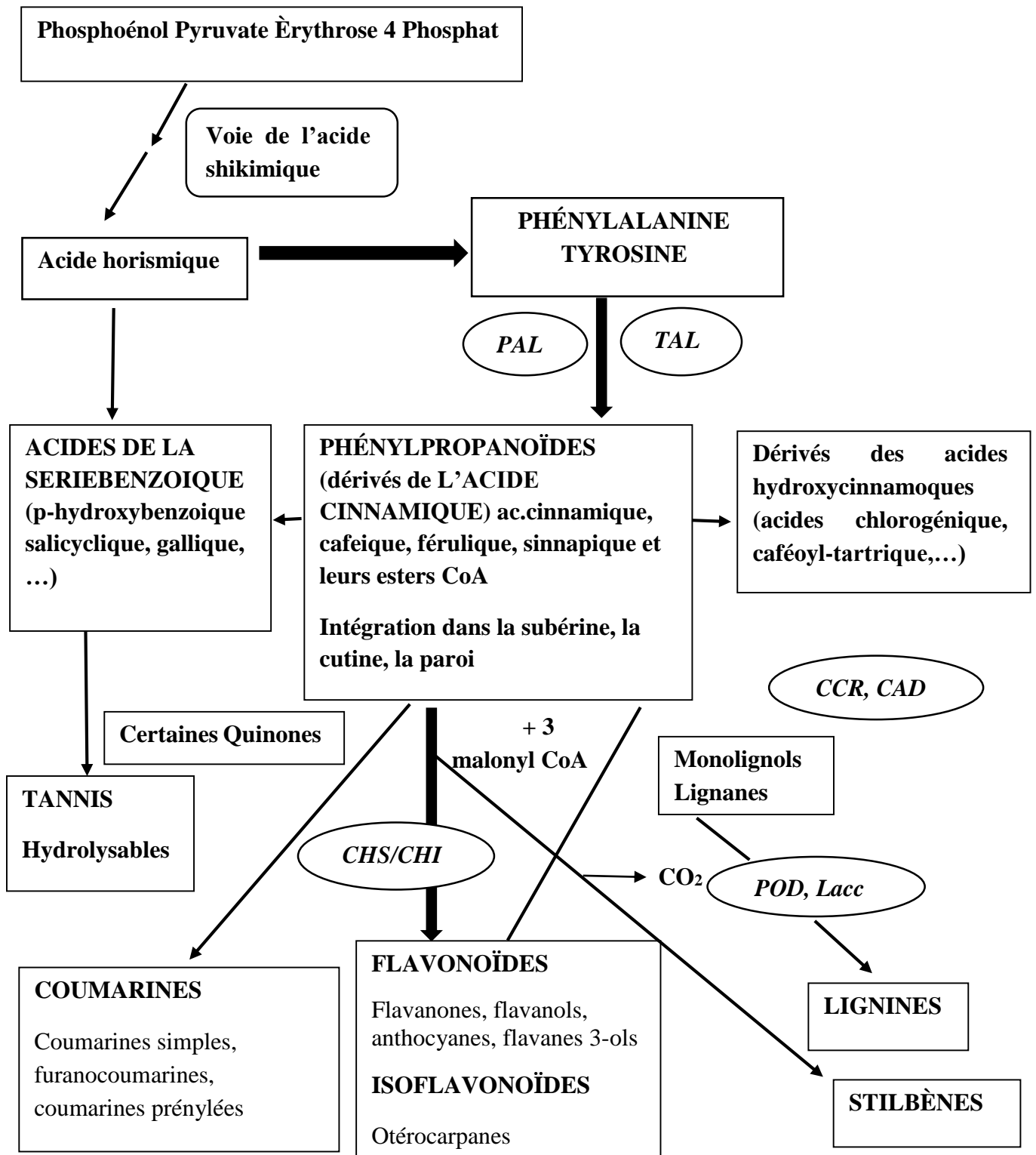


Figure 05. Origine biosynthétique des composés phénoliques par la voie de shikimate (Macheix *et al.*, 2006). **PAL** : phénylalanine ammonia lyase ; **TAL** : tyrosine ammonia lyase ; **CCR** : cinnamate CoA réductase ; **CAD** : cinnamyl alcool déshydrogénase ; **CHS** : chalcone synthase ; **CHI** : chalcone flavone isomérase ; **POD** : peroxydases ; **Lacc** : laccases.

3 Classification des polyphénols

La classification de ces métabolites secondaires se fait en fonction de leur structure chimique, des cycles de sucre, de la composition et de leurs voies de synthèse (Prabhu *et al.*, 2021). Cette classification est représentée dans la Figure 06.

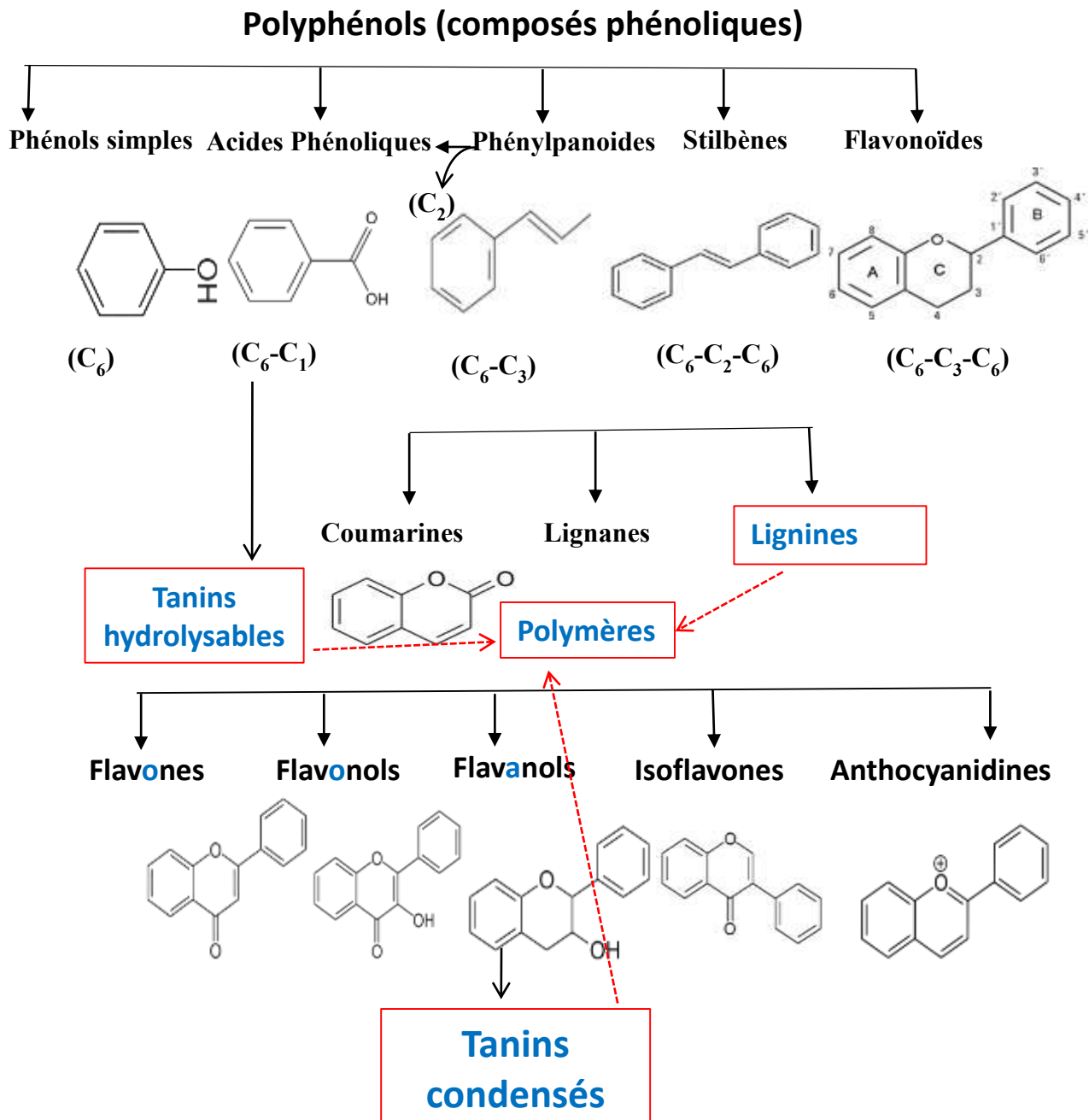


Figure 06. Classification des composées phénoliques (Chehrit-Hacid, 2021).

3.1 Les acides phénoliques

Les acides phénoliques simples sont des composés dérivés de l'acide cinnamique, ils ont perdu partiellement ou totalement les chaînes latérales caractéristiques telles que ; les acides hydroxybenzoïques qui possèdent une structure courante de type (C₆-C₁), et les acides hydroxycinnamiques qui possèdent une chaîne latérale à 3 carbone (C₆-C₃) (Prabhu *et al.*, 2021)

3.2 Flavonoïdes

Les flavonoïdes constituent la classe la plus abondante des polyphénols. Ils sont caractérisés par la présence du noyau flavane (Figure 07), Chimiquement, ils sont composés de deux cycles phényle (A et B) liés ensemble par un cycle hétérocyclique oxygéné (C), ce qui donne une structure générale d'un squelette à 15 atomes de carbone (C₆-C₃-C₆) (Papuc *et al.*, 2017).

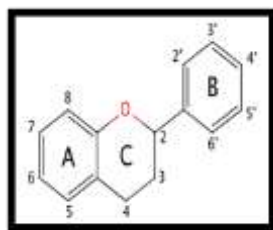


Figure 07. Structure du noyau flavane (Arroyo-Currás *et al.*, 2016).

Ils peuvent être divisés en plusieurs sous-groupes en fonction du nombre et de la nature des substituants (groupements hydroxyles, méthoxyles...) et le degré d'oxydation de l'hétérocycle C, parmi les principaux sous-groupes sont représentés dans le tableau IV et la figure 08 ci-dessus.

Tableau IV. Principaux sous-classes des flavonoïdes et leur caractéristique (Izzou *et al.*, 2020).

Sous-groupes	Caractéristiques	Composés
Les flavanones	Absence de la double liaison entre C ₂ -C ₃ dans le cycle C ; uniquement des groupes hydroxyles et méthoxyles comme substituants.	Naringénine Silibinine
Les flavones	Présence de double liaison entre C ₂ C ₃ et la présence d'un groupement carbonyle en position 4.	Apgénine Luteoline Tricine
Les isoflavanones	Grande diversité de structure dans le cycle C. Le cycle B est attaché en C ₃ plutôt qu'une C ₂ de cycle C.	Genisteine Diadzeine
Les flavanols ou Catéchines	Absence de double liaison entre C ₂ -C ₃ dans le groupe hydroxyle en position 3.	EGCG Epicatechine
Les flavonols	Présence d'une double liaison entre C ₂ -C ₃ et une cétone dans le cycle C.	Quercétine Myricétine

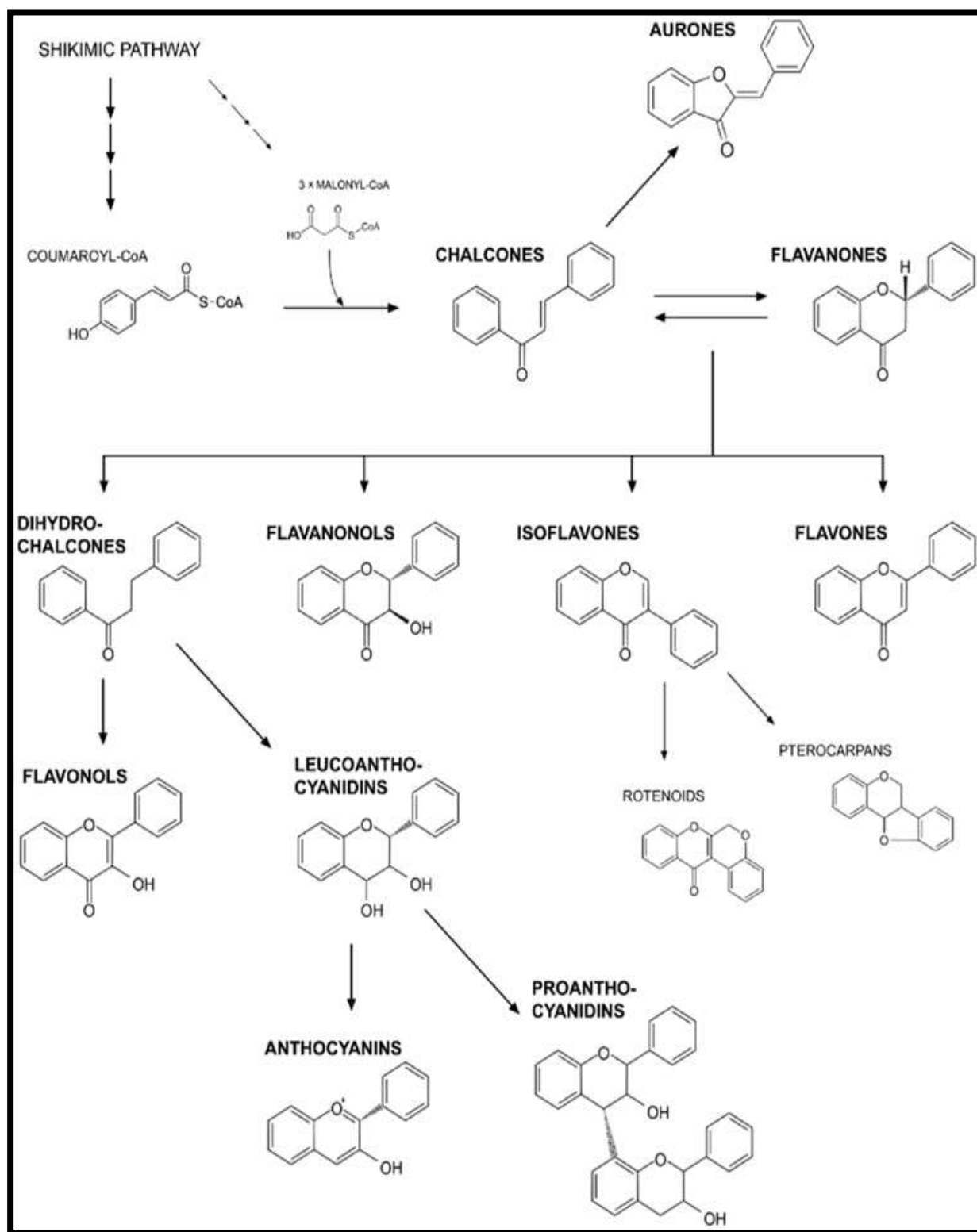


Figure 08. Classification des Flavonoïdes (Mierziak *et al.*, 2014).

3.3 Les tannins

Les tannins désignent un groupe de substances phénoliques polymériques hydrosolubles dont le poids moléculaire est relativement élevé. Ils sont présents à des concentrations variables et dans différentes parties de la plante : l'écorce, le bois, les feuilles, les fruits et les racines (Vandi *et al.*, 2016). Les tannins sont largement répandus dans l'alimentation humaine, telle que les pommes, le vin rouge et le chocolat et d'autres. Ils peuvent être subdivisés en deux catégories : les tannins condensés et les tannins hydrolysables.

3.3.1 Les tannins condensés

Les tannins condensés ou proanthocyanidines sont des polymères d'unité flavane-3-ol liées principalement par des liaisons C₄-C₆ ou C₄-C₈ (Figure 09) Panzella et Napolitano. (2022). Ils ont une forte affinité pour les protéines avec lesquelles ils forment des complexes, d'où leur rôle dans la protection contre les herbivores (War *et al.*, 2018).

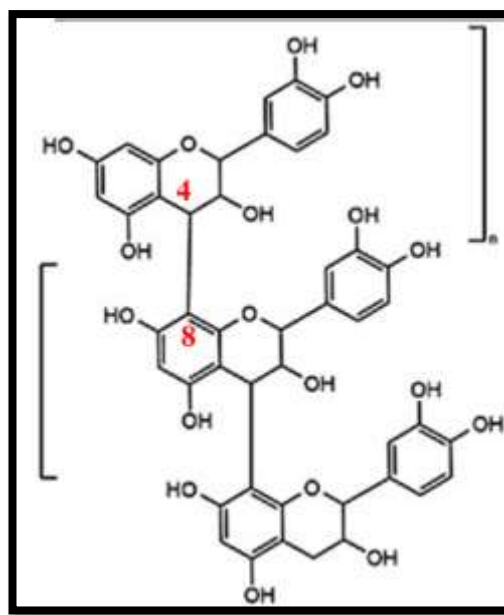


Figure 09. Tannins condensés (Yan *et al.*, 2021).

3.3.2 Les tannins hydrolysables

Les tannins hydrolysables ou acides tanniques sont des polymères de l'acide gallique ou de son produit de condensation (l'acide ellagique) estérifié par un polyol, généralement le glucose donnant des tannins galliques (a) et des tannins ellagiques respectivement (b) (Figure10). Ils ont un poids moléculaire plus faible et précipitent beaucoup moins les protéines que les tannins condensés. Ces molécules sont facilement hydrolysables par voie enzymatique ou chimique (Macheix *et al.*, 2005).

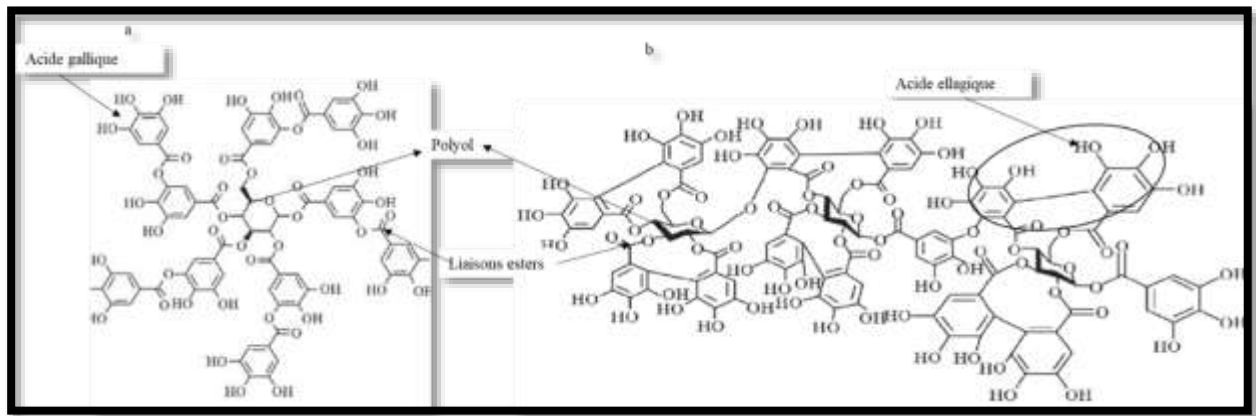


Figure 10. Tannins hydrolysables : tannins galliques (a) et tannins ellagiques (b) (Hussein *et al.*, 2020 modifiée).

4 Propriétés des polyphénols

4.1 Propriétés physicochimiques

Les polyphénols ont en commun deux propriétés physico-chimiques fondamentales qui caractérisent leurs activités biologiques :

- L'activité réductrice responsable de leurs propriétés anti-oxydantes et leur sensibilité à l'oxydation.

- Les propriétés de liaison qui sont attribuées à leurs activités de chélation des métaux et à leur affinité pour les protéines ; y compris les enzymes, les protéines de transport et des récepteurs (Belščak-Cvitanović *et al.*, 2018).

- ✓ Solubilité : les polyphénols sont solubles dans les solvants organiques, après leur glycosylation en glycoside phénolique, sont solubles dans l'eau, mais les aglycones correspondants sont généralement moins. En effet, la solubilité dans l'eau augmente avec le nombre de groupements hydroxyles présents (Belščak-Cvitanović *et al.*, 2018).

- ✓ Absorption de la lumière ultraviolette : tous les composés phénoliques présentent une adsorption intense dans la région UV du spectre, ceux qui sont colorés absorbent dans la région UV-visible. Chaque classe de composés phénoliques possède des caractéristiques d'absorption distincte. Par exemple, les phénols et les acides phénoliques présentent des maximaux spectraux compris entre 250 et 290 nm ; les flavones et flavonols présentent des bandes d'adsorption entre 250-350 nm (Belščak-Cvitanović *et al.*, 2018).

- ✓ Pigments des végétaux et substances odorantes : les anthocyanes agissent comme des pigments, notamment jaunes, rouges, bleus et violets, ainsi que divers composés impliqués dans la saveur des aliments. Certains polyphénols volatils, comme la vanilline (qui est responsable de l'odeur caractéristique des clous de girofle), sont des odorants, extrêmement puissants, mais les principales saveurs associées aux polyphénols sont l'amertume et l'astringence (Belščak-Cvitanović *et al.*, 2018).

4.2 Propriétés biologiques

De nos jours, les propriétés des polyphénols sont largement étudiées dans le domaine médical où on leur reconnaît des activités antivirales, anti-inflammatoires, antibactériennes et anticancéreuses, et protègent le corps également contre un grand nombre de maladies comme l'athérosclérose, l'Alzheimer et autres maladies neurologiques, le diabète, la cataracte (Sinha, 2019).

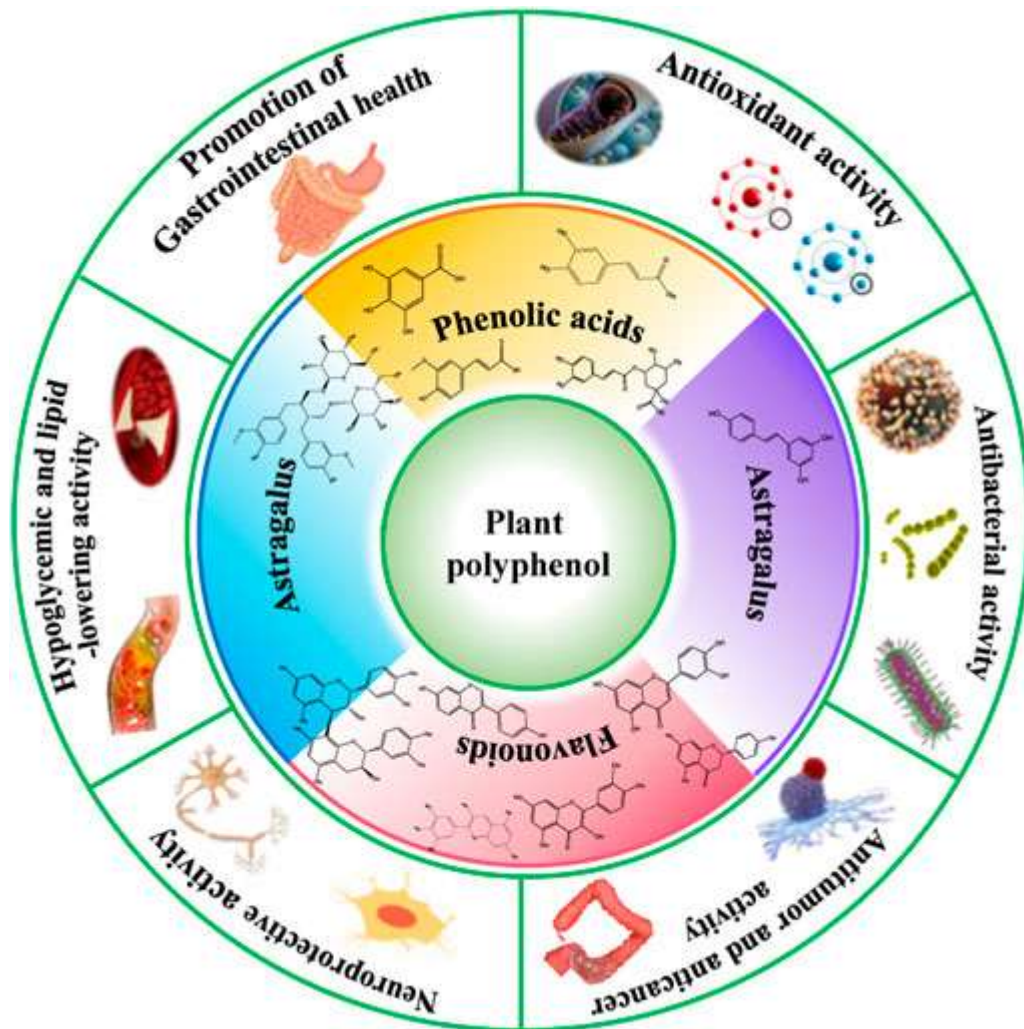


Figure 11. Effets biologiques des polyphénols (Yan *et al.*, 2021).

Les espèces réactives de l'oxygène (ROS), radicaux libres les plus abondants, sont formés en continu en tant que sous-produits normaux du métabolisme cellulaire ; et, à faible concentration, ils sont essentiels à plusieurs processus physiologiques (Rajendran *et al.*, 2014). Ces ROS peuvent être maintenus à faibles concentrations par des systèmes enzymatiques anti-oxydants tels que les superoxydes dismutases (SOD), les catalases (CAT), et des systèmes anti-oxydants non enzymatiques généralement produits par les végétaux et sont dits exogènes pour les organismes animaux (Valko *et al.* 2007 ; Martemucci *et al.*, 2022). Parmi ces molécules, figurent les polyphénols dont l'activité antioxydante a suscité un grand intérêt (Stago, 2019). Leur haute capacité antioxydante fait des polyphénols un facteur clé impliqué dans la défense chimique (réduction de la formation d'hydroperoxyde et l'inhibition de l'oxydation des lipides...), pour la prévention contre les maladies, aussi des plantes contre les agents pathogènes et les herbivores (García-Sánchez *et al.*, 2020). Par ailleurs, la présence des flavonoïdes confirme l'effet hépatoprotecteur, antispasmodique, antimicrobien et veinoactif alloué aux feuilles (Andersen et Markham, 2010 *in* Bammou, 2015). D'autre part, les polyphénols sont bien connus pour leur activité anti-inflammatoire *in vitro* et *in vivo* et anticancéreuse (Serreli et Deiana, 2019). D'ailleurs, parmi les propriétés biologiques intéressantes des polyphénols, la prévention du cancer, et ils ont la capacité d'inhiber de la prolifération de différents types de cancers (Yahfoufi *et al.*, 2018). La quercétine, le resvératrol, les polyphénols du thé vert, l'épigallocatechine-3-gallate et la curcumine ont démontré leur efficacité en tant que composés anticancéreux (Yahfoufi *et al.*, 2018). Plusieurs travaux de cohortes révèlent qu'un grand apport de flavonoïdes tirés des fruits et des légumes corrèle avec la réduction du risque d'apparition de maladie cardiovasculaire (Adriouch *et al.*, 2017). Les polyphénols possèdent des propriétés antifongiques, ils peuvent être considérés comme des métabolites responsables de la défense naturelle des végétaux vis-à-vis des champignons. Leur acidité relative et le nombre important de groupements hydroxyle semblent être un facteur important dans l'activité antifongique. Par exemple, le resvératrol présente une activité inhibitrice contre *Candida albicans*, *Saccharomyces cerevisiae*. Les stilbènes sont responsables de l'inhibition de la germination de solutions de conidies de *Botrytis cinerea* (Vestergaard *et al.*, 2019). Des études *in vitro* sur l'activité anti-hémolytique, ont montré l'efficacité de la protection hémolytique des extraits de feuilles et de drupes de *P. lentiscus* (Chehrit-Hacid, 2016). Cette efficacité serait due à la capacité des composés phénoliques, dont les flavonoïdes, à neutraliser les radicaux libres générés par H₂O₂, protégeant ainsi les membranes érythrocytaires de la lyse (Divya *et al.*, 2012 *in* Chehrit-Hacid, 2016).

5 Rôle des polyphénols

Les polyphénols attirent de plus en plus l'attention des chercheurs en raison des rôles très importants chez tous les organismes, ils suscitent donc l'intérêt des chercheurs dans tous les domaines.

Chez les végétaux

Dans la nature, les polyphénols interviennent dans la défense contre les herbivores, en effet les plantes pour se protéger de ces prédateurs, produisent des composés phénoliques (Brake et Chase, 2019), les tannins protègent spécifiquement les plantes contre les prédateurs tels que les animaux, les insectes et les microbes. Les composés phénoliques peuvent aussi affecter positivement ou négativement les caractéristiques sensorielles des aliments avec des impacts sur la couleur (Oliveria *et al.*, 2014) ; (les anthocyanes sont des pigments naturels, induisant toutes les couleurs, bleu, rose, rouge de différents fruits et légumes.) la saveur (les flavonoïdes), l'amertume du cacao et de l'astringence (tanins) (Morand, 2014).

Les composés phénoliques végétaux jouent également un rôle en tant qu'agents de signalisation, tant au-dessus du sol que sous le sol, entre les végétaux et d'autres organismes, mais aussi en tant que filtres à rayons UV. Certaines études ont montré que les métabolismes phénoliques sont non seulement un mécanisme de protection contre le stress biotique et abiotique, mais aussi une partie des programmes moléculaires qui contribuent à la croissance et développement normal des plantes (Belščak-Cvitanović *et al.*, 2018).

Enfin, ils sont impliqués dans de nombreux processus physiologiques comme la croissance cellulaire, la rhizogenèse, la germination des graines et la maturation des fruits (Boizot et Charpentier, 2006).

6 Méthodes d'extraction des polyphénols

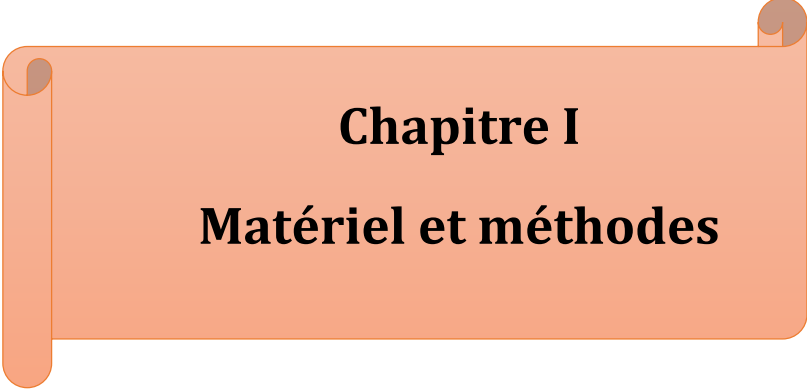
L'extraction des composés phénoliques est influencée par la nature chimique des substances, leurs tailles et par la présence de substances interférentes (Mojzer *et al.*, 2016). Le rendement d'extraction est fortement influencé par le temps d'extraction, la température, le choix du solvant et le rapport solvant. Des méthodes conventionnelles d'extraction telles que la macération, la décoction et soxhlet sont fréquemment utilisées parce qu'elles sont efficaces et d'utilisation facile interférente (Mojzer *et al.*, 2016). En raison des inconvénients liés aux températures élevées et aux temps longs, ces méthodes ont tendance à être remplacées par des méthodes récentes dites non-conventionnelles (Sridhar *et al.*, 2021). Ces méthodes sont résumées dans le tableau V.

Tableau V. Méthodes d'extraction des polyphénols (Achat *et al.*, 2013 ; Hashemi *et al.*, 2019 ; Pradal *et al.*, 2016 ; Rijo *et al.*, 2014).

Méthodes	Principe	Avantages
Macération	Laisser séjourner la matière végétale dans un solvant d'extraction à température ambiante.	Méthode simple Faible coût
Décoction	Extraire en ébullition les substances chimiques et principes actifs contenus dans les herbes et autres végétaux.	Utiliser pour extraire des constituants solubles. Application dans des diverses plantes aromatiques et médicinales.
Extraction par soxhlet	Circulation continue de solvant à travers la matière végétale jusqu'à l'épuisement total de contenu végétal.	Méthode simple et convenable
Extraction assistée par micro-onde	La propagation de la radiation électromagnétique dans le matériau, pour atteindre la molécule polaire présente dans la matière d'extrait.	La rapidité d'action Augmentation de rendement. Diminution de la quantité de solvants utilisés Faciles à mettre en œuvre et peu coûteuse.
Extraction assistée par Ultrason	La destruction des parois cellulaires par des fréquences d'ultrasons, ce qui permet une meilleure pénétration du solvant au cœur de la matière, et par conséquent un meilleur rendement d'extraction.	Méthode simple et peu coûteuse. Augmentation de rendement Accélère la cinétique d'extraction Effectue plusieurs extractions simultanément.
Extraction par fluide Supercritique	L'extraction des substances bioactives des plantes à des températures atmosphériques empêchant la dénaturation thermique.	Facilité d'élimination des solvants à moindre coût.



**Partie
expérimentale**

An orange scroll graphic with a dark orange border and rounded corners. The scroll is unrolled in the center, with the top and bottom edges curled up. The text is centered on the unrolled portion.

Chapitre I
Matériel et méthodes

Le travail expérimental a été effectué au sein du Laboratoire, de Recherche de Production, Amélioration Végétale et Agroalimentaire, et du Laboratoire de Recherche de Biochimie Analytique et Biotechnologie (LABAB) de la Faculté des Sciences Biologiques et Agronomiques de l'Université de Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou (UMMTO). L'objectif de la présente étude est l'évaluation de l'activité antibactérienne, antifongique, anti-oxydante de l'extrait éthanolique de *P. lentiscus*.

1 Matériel biologique

1.1 Matériel végétal

Le choix de la plante est porté sur *P. lentiscus* pour ses utilisations traditionnelles et son abondance en Algérie. Les échantillons de feuilles *P. lentiscus* ont été récoltés entre le 15 et le 17 avril 2022, dans la région d'Illoula Oumalou, wilaya de Tizi-Ouzou, Bouzguen au niveau de cinq endroits. Les feuilles ont été mises dans des sachets en papier et transportées au laboratoire où elles ont été lavées et pour éliminer les particules du sol, les rachis ont été éliminés et les folioles séchées dans une étuve à 40°C pendant une semaine. Le séchage a pour but d'abaisser la teneur en eau des folioles récoltées afin d'éviter toute réaction d'altération et de prolifération des microorganismes. Une fois séchées, les folioles sont broyées à l'aide d'un broyeur électrique à hélice jusqu'à leur réduction en poudre, puis conservées dans des flacons à l'abri de la lumière, de l'humidité et de la chaleur.

1.2 Souches microbiennes utilisées

Les différentes souches bactériennes utilisées dans l'activité antibactérienne sont représentées dans le tableau VI. Elles ont été fournies par le laboratoire de recherche LABAB.

Tableau VI. Souches bactériennes testées et l'antibiotique utilisé.

Souche	Référence	Gram	Antibiotique
<i>Escherichia coli</i>	ATCC 25922	Gram (-)	Gentamycine (GM)
<i>Staphylococcus aureus</i>	MU50	Gram (+)	
<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 25923		
<i>Bacillus cereus</i>	ATCC 14579		

1.3 Souches fongiques

Les souches fongiques utilisées dans cette étude ont été fournies par Madame Tabli du laboratoire Biomasse et environnement et le laboratoire de mycologie de l'université ABDERHMANE Mira de Bejaia. L'aspect de ces souches sur milieu PDA après 6 jours d'incubation à 28°C a été montré dans la figure 12.

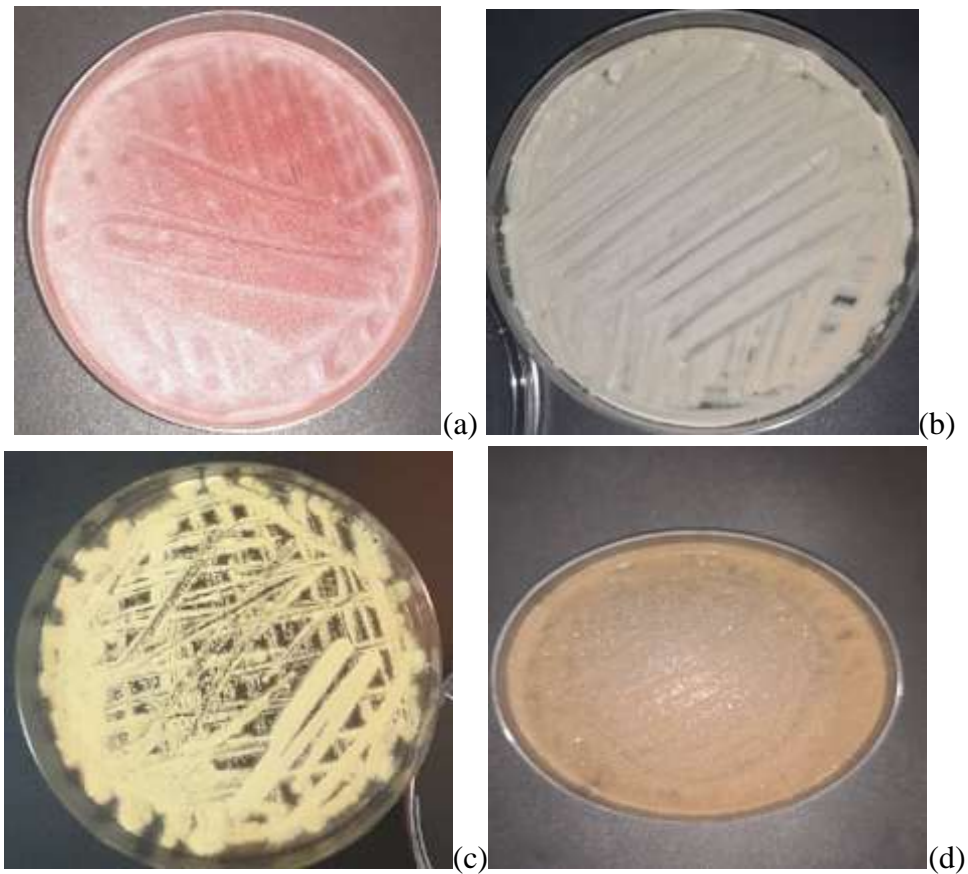


Figure 12. Aspect des précultures sur milieux PDA (a : *Fusarium* sp, b : *Penicillium* sp, c : *Aspergillus flavipes*, d : *Aspergillus niger*. (Photographies prises au laboratoire).

Un diagramme retraçant l'ensemble des parties expérimentales réalisées au cours de cette étude est représenté dans la figure 13.

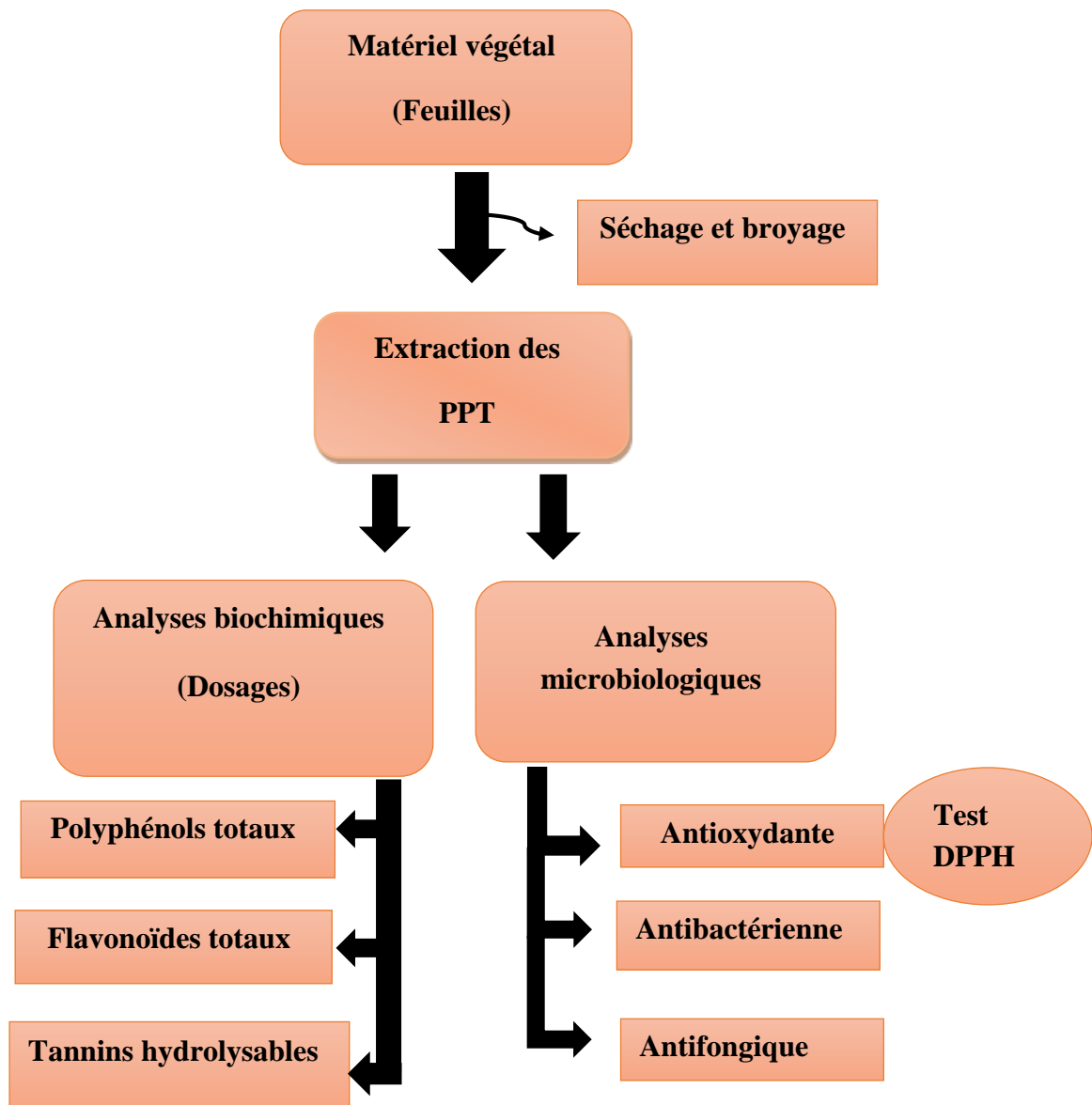


Figure 13. Diagramme représentant les protocoles expérimentaux adoptés.

2 Méthodes

2.1 Préparation du matériel végétal

Les feuilles de *P. lentiscus* fraîchement récoltées sont lavées sous l'eau courante pour éliminer les particules du sol. Les rachis ont été éliminés et les folioles été séchées dans une étuve à 40 °C pendant une semaine. Le séchage a pour but d'abaisser la teneur en eau des folioles récoltées afin d'éviter toute réaction d'altération et de prolifération des microorganismes. Les folioles sont ensuite broyées, dans un broyeur électrique à hélice jusqu'à leur réduction en poudre, et conservées dans des flacons à l'abri de la lumière, de l'humidité et de la chaleur.

2.2 Extraction des polyphénols

L'extraction est faite selon la méthode décrite par Chehrit-Hacid *et al.* (2021). Dans deux lots de 6 tubes à essai, 1 g de poudre végétal est mélangé dans 20 ml d'éthanol (70 %). Les contenus des tubes ont été mélangés et acidifiés. Les mélanges obtenus sont soumis à une agitation au vortex puis portés au bain-marie à 50 °C pendant 30 min. Les solutions ont été centrifugées à 2400 g pendant 15 min. Les surnageant récupérés ont été soumis à une évaporation sous pression réduite à 60 °C dans un rotavapor dans le but d'obtenir une solution aqueuse concentrée de 20 ml.

L'un des extraits a immédiatement été conservé dans un réfrigérateur (EER) et l'autre à température ambiante pendant 48 h (EEA), ces deux extraits sont utilisés pour la quantification des polyphénols totaux (PT), des flavonoïdes totaux (FT) et des tannins hydrolysables (TH) et pour l'analyse microbiologique.

3 Analyse quantitative de l'extrait

3.1 Dosage des polyphénols totaux

La teneur en polyphénols totaux des extraits de *P. lentiscus* a été déterminée par la méthode de Folin-Ciocalteu décrite par Geremu *et al.* (2016), avec quelques modifications. Dans les tubes à essai, un volume de 100 µl de l'extrait convenablement dilué, ou de l'eau distillée pour le blanc, est additionnée de 500 µl de Folin-Ciocalteu (1/10, V/V). Après 5 min, le milieu réactionnel est complété avec 150 µl de Na₂CO₃ à 7.5 % (P/V). Par la suite, le mélange est bien agité au vortex et incubé pendant 60 min à température ambiante à l'abri de la lumière. Les absorbances sont lues à 740 nm au spectrophotomètre (UV-2450).

La courbe d'étalonnage est établie en utilisant l'acide gallique comme un standard suivant une gamme de concentration allant de 0 à 1000 µg/ml (Annexe 3). Les résultats sont exprimés en mg équivalent acide gallique/g (mg EAG/g) de matière sèche (MS).

3.2 Dosage des flavonoïdes totaux

La teneur en flavonoïdes totaux est déterminée selon la méthode décrite par Li *et al.* (2010). Brièvement, un volume de 100 µl de chacun des deux extraits est porté dans un tube à essai, puis additionné de 600 µl de l'eau distillée et 60 µl de la solution de NaNO₂ (1/20, p/v). Après 6 min, 60 µl de AlCl₃ sont ajoutés (1/10, p/v). Ensuite, le mélange est complété avec 800 µl de NaOH 1 M 6 min plus tard. Le tout est ajusté avec 2 ml d'eau distillée. La solution obtenue est agitée et incubée pendant 15 min à température ambiante. L'absorbance des échantillons est mesurée à 506 nm au spectrophotomètre (UV-2400).

La rutine est utilisée comme standard pour la préparation de la courbe d'étalonnage (Annexe 4). Les résultats sont exprimés en µg équivalent de la rutine par g de matière sèche.

3.3 Dosage des tannins hydrolysables

Un volume de 200 µl de chaque extrait est additionné à 1,8 ml de H₂O et 1 ml de KIO₃ 2,5 % (p/v). Les mélanges réactionnels sont incubés à l'obscurité pendant 30 min à température ambiante. Les absorbances de couleur rouge sont mesurées à 550 nm. La concentration des extraits en tannins est déduite à partir d'une courbe d'étalonnage établie avec l'acide tannique (Annexe 5) et calculée en mg équivalent de l'acide tannique.

4 Evaluation de l'activité anti-oxydante par le test de piégeage du radical libre DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl)

L'évaluation de l'activité anti-oxydante *in vitro* de *P. lentiscus* a été réalisée par la méthode de piégeage du radical libre DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl).

- **Principe**

Le DPPH est un radical libre stable, qui possède un électron célibataire sur l'atome d'azote, il est caractérisé par une couleur violette et un pic d'absorption spectral maximal à 517 nm. En présence d'un antioxydant, l'électron célibataire devient apparié, ce qui fait varier la couleur du DPPH du violet (forme radicalaire DPPH) au jaune (forme réduit DPPH-H).

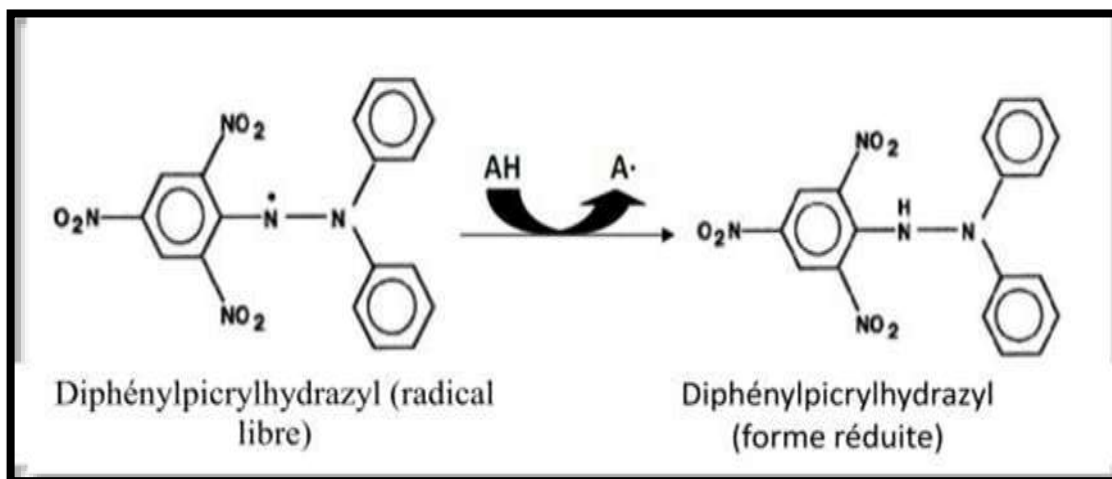


Figure 14. Structure du radical DPPH• et sa réduction par l'antioxydant AH (Brand-Williams *et al.*, 1995 in Chehrit 2016).

- **Mode opératoire**

Le test du pouvoir antiradicalaire est réalisé selon la méthode de Brand Williams *et al.* (1995). Le réactif est préparé en solubilisant 0.04 g de DPPH dans 100 ml d'éthanol. Ensuite, un volume de 50 µl de l'extrait phénolique (EER) est additionné à 1 ml de DPPH. Après homogénéisation au vortex, le milieu réactionnel est incubé pendant 30 min à l'abri de la lumière. Les opérations sont réalisées en triplicate, et les absorbances sont mesurées à 517 nm.

- **Expression des résultats**

La capacité de piégeage du radical libre DPPH• est calculée en utilisant la formule ci-dessous.

$$\text{Inhibition (I \%)} = (\text{AD} - \text{AE} / \text{AD}) \times 100$$

AD : Absorbance de DPPH.

AE : Absorbance de l'extrait.

5 Evaluation de l'activité antimicrobienne

5.1 Activité antibactérienne (antibiogramme)

L'activité antibactérienne sur *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) MU50, *S. aureus* ATCC 25922, *Bacillus cereus* (*B. cereus*) ATCC 14579 et *Escherichia coli* (*E. coli*) ATCC 25923 est évaluée par la méthode de diffusion des substances bioactives sur gélose (aromatogramme).

Cette technique repose sur la présence ou l'absence d'une zone d'inhibition dans le milieu de culture autour du disque contenant l'extrait étudié (Bssaibis *et al.*, 2009).

5.1.1 Préparation des précultures

Le test de l'activité antibactérienne nécessite des cultures bactériennes jeunes (âgées de 18 heures). À cet effet, les souches ont été repiquées sur gélose nutritive à l'aide d'une pipette Pasteur par la méthode des stries, puis incubées à 37 °C pendant 18 h.

5.1.2 Préparation de l'inoculum est standardisation

Quelques colonies bien isolées sont prélevées à partir de la préculture de la souche à tester, à l'aide d'une pipette Pasteur, puis déchargée dans un tube d'eau physiologique stérile. La suspension bactérienne ainsi préparée est bien homogénéisée au vortex avant de mesurer sa DO à 625 nm qui doit être comprise entre 0,08 à 0,10. Cette dernière peut être ajustée soit en ajoutant quelques cellules de la culture bactérienne s'il est trop faible, ou bien l'eau physiologique s'il est trop concentré.

5.1.3 Aromatogramme

Les tapis bactériennes ont été préparés dans des boîtes de Pétri pré-coulées avec le milieu Mueller Hinton, avec la méthode d'écouvillonnage. L'écouvillon est trempé dans la suspension bactérienne, essoré en le pressant fermement sur la paroi interne du tube, puis frotté sur la totalité de la surface gélosée en stries serrées. L'opération est répétée deux fois en tournant la boîte de 90°C à chaque fois. Quatre disques de 6 mm de diamètre préalablement préparés, stérilisés et imprégnés de 20 µl et 10 µl des deux extraits sont déposés sur la gélose. Un disque d'antibiotique (Gentamicine) est utilisé comme témoin positif. Enfin, les boîtes de Pétri sont incubées pendant 24 h à 37 °C.

5.1.4 Lecture des résultats

Les résultats sont exprimés par la mesure du diamètre de la zone d'inhibition autour des disques et peuvent être symbolisés par des signes selon la sensibilité des souches vis-à-vis des extraits (Ponce *et al.*, 2003).

- Non sensible (-) : pour le diamètre moins de 8 mm
- Sensible (+) : pour le diamètre entre 9 et 14 mm
- Très sensible (++) : pour un diamètre entre 15 à 19 mm
- Extrêmement sensible (+++) pour le diamètre plus de 20 mm.

5.2 Evaluation de l'activité antifongique

L'activité antifongique sur *Fusarium* sp., *Penicillium* sp., *Aspergillus flavipes* (*A. flavipes*), *Aspergillus niger* (*A. niger*) est réalisée par la méthode de confrontation directe entre les extraits et les espèces fongiques afin de déterminer la sensibilité de ces derniers vis-à-vis des extraits. L'activité antifongique sur la cible est appréciée par l'observation de la zone d'inhibition

vis-à-vis de la croissance du champignon autour de l'extrait après un certain temps du développement de l'espèce fongique.

5.2.1 Repiquage des souches fongiques

À l'aide d'un écouvillon, quelque spores du mycélium est récoltée et frottée en stries sur toute la surface d'une boîte contenant le milieu PDA. L'opération est répétée trois fois en tournant la boîte de 90 °C à chaque fois. L'incubation des boîtes est effectuée à 28 °C pendant 4 à 5 jours.

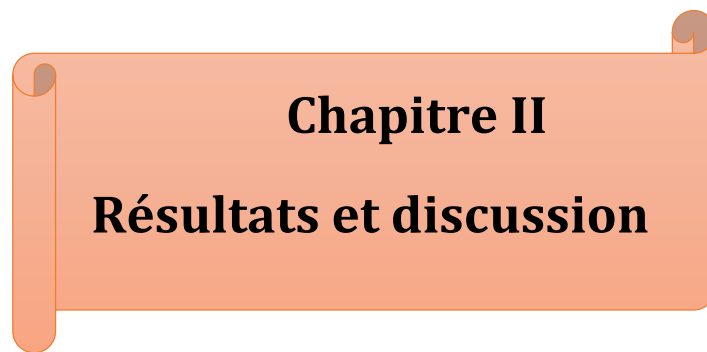
Après incubation, des disques fongiques de 8 mm de diamètre, prélevés à partir des cultures jeunes mycéliennes sont déposés séparément au centre de différentes boîtes de Pétri contenant la gélose à l'extrait de malt. Des disques imprégnés d'extrait sont déposés autour des disques fongiques. Des boîtes de témoins positifs, sans disques imprégnés d'extraits, sont également préparées. Les boîtes sont incubées à 28 °C et observées quotidiennement pendant 10 jours.

5.2.2 Lecture des résultats

Il s'agit de comparer le développement du témoin non exposé aux extraits à celui confronté à ces derniers. Si une inhibition et/ou anomalie est constatée au niveau du développement mycélien, cela indique bien que l'extrait possède une activité antifongique.

6 Analyse statistique

Les résultats sont représentés par la moyenne suivie de l'écart-type (n=3). Le test de student a été utilisé pour comparer les moyennes et confirmer ou infirmer une différence significative. Les moyennes sont significativement différentes pour p value inférieure à 0,05.

An orange scroll graphic with a dark orange border and a dark orange shadow. The scroll is unrolled in the middle, with the top and bottom edges curled up. The text is centered on the unrolled portion.

Chapitre II
Résultats et discussion

1 Résultats quantitatifs

1.1 Teneur en polyphénols totaux

Les teneurs en polyphénols totaux de l'extrait éthanolique immédiatement mis au réfrigérateur (PT EER) et de celui d'abord gardé à température ambiante puis mis au réfrigérateur (PT EEA) des feuilles de lentisque exprimées en mg équivalent d'acide gallique/g de MS (mg EAG/ g MS) ont été calculées à partir de l'équation de la courbe : $y = 0.0003x + 0.0202$, ($R^2 = 0.96$) (Annexe 3). Elles sont significativement plus élevées dans l'extrait immédiatement gardé à température ambiante pendant 48 h que dans l'extrait mis au réfrigérateur ($p = 0,014$). Ces teneurs sont de $153,47 \pm 5,51$ mg EAG/ g MS et de $122 \pm 11,11$ mg EAG/ g MS respectivement (figure 15).

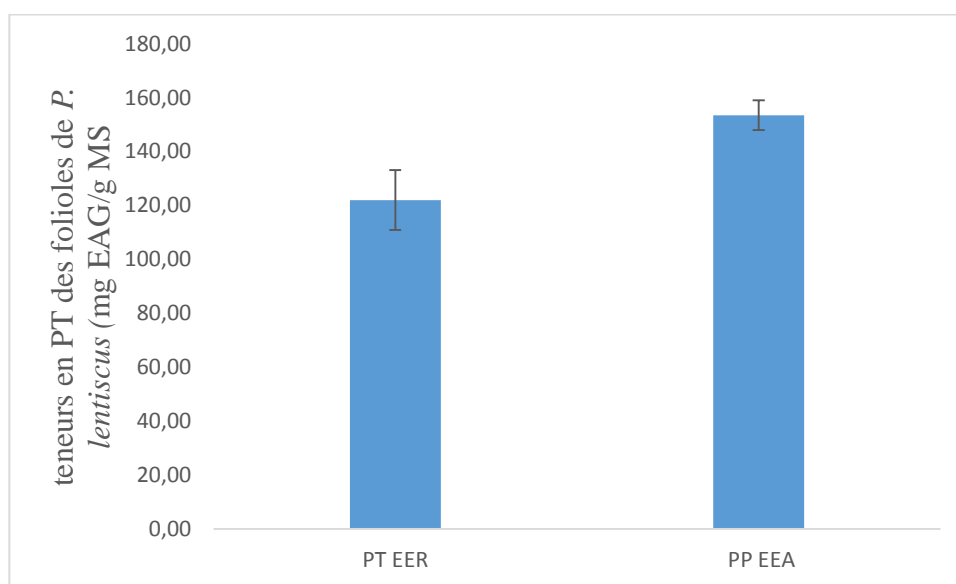


Figure 15. Teneurs en polyphénols totaux de *P. lentiscus*. EER: Extrait conservé dans un réfrigérateur, EEA: Extrait gardé à température ambiante pendant 48 H.

1.2 Teneur en flavonoïdes totaux

Les teneurs en flavonoïdes totaux de l'extrait éthanolique immédiatement mis au réfrigérateur (FT EER) et de celui d'abord gardé à température ambiante puis mis au réfrigérateur (FT EEA) des feuilles de lentisque exprimées en μg équivalent rutine/g de MS ($\mu\text{g R/ g MS}$) ont été calculées à partir de l'équation de la courbe : $y = 0.001x + 0.1139$, ($R^2 = 0.9138$). (Annexe 4). Elles sont très significativement plus élevées dans l'extrait immédiatement gardé à température ambiante pendant 48 h que dans l'extrait mis au réfrigérateur ($p = 0,001$). Ces teneurs sont de $918,30 \pm 30,00$ $\mu\text{g ER/ g MS}$ et de $67,00 \pm 34,64$ $\mu\text{g ER/ g MS}$ respectivement pour EEA et EER (figure 16).

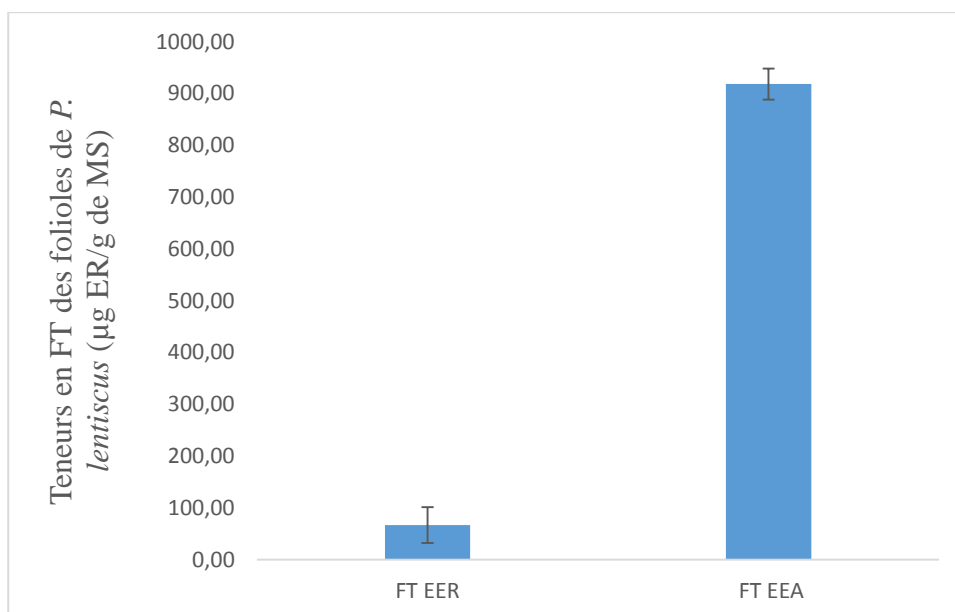


Figure 16. Représentation graphique de la teneur en flavonoïdes totaux de l'extrait de *P. lentiscus*. EER : Extrait conservé dans un réfrigérateur, EEA : Extrait gardé à température ambiante pendant 48 H.

1.3 Teneurs en tannins hydrolysables

Les teneurs en tannins hydrolysables de l'extrait éthanolique immédiatement mis au réfrigérateur (TH EER) et de celui d'abord gardé à température ambiante puis mis réfrigérateur (TH EEA) des feuilles de lentisque exprimées (mg EAT/ g MS) ont été calculées à partir de l'équation de la courbe : $y=0.0004x$, ($R^2= 0.8546$) (Annexe 5). La différence entre ces teneurs est hautement significative ($p=0,000$) ; elles sont de $3,23 \pm 0,075$ mg EAT/ g MS et de $1,56 \pm 0,1$ mg EAT/ g MS respectivement donc ces valeurs montrent qu'il y a une différence entre ces deux extraits, et cette différence peut être revenue à la température de la conservation.

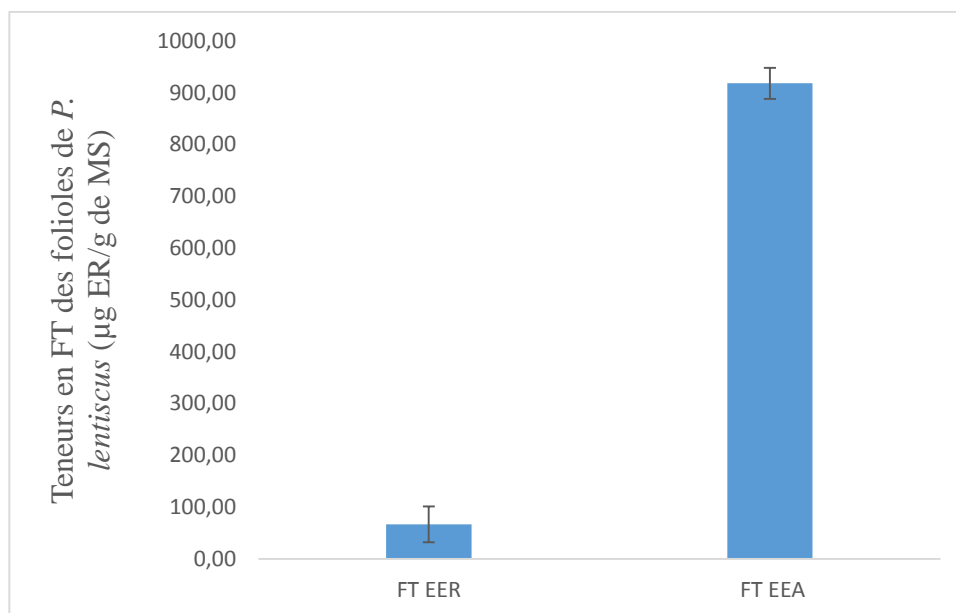


Figure 17. Représentation graphique de teneur en tannins hydrolysables des feuilles de *P. lentiscus*. EER : Extrait conservé au réfrigérateur EEA : Extrait gardé à température ambiante.

2 Test de l'activité antioxydante

L'évaluation de l'activité antioxydante de l'extrait éthanolique (EER) vis-à-vis du radical DPPH• est exprimée par la concentration inhibitrice à 50 % (IC50), qui correspond à la concentration en polyphénols nécessaire pour inhiber ou réduire 50 % de la concentration initiale du DPPH•. L'IC50 est inversement proportionnelle à l'activité anti-radicalaire. Tous les IC50 sont calculés à partir de l'équation de régression linéaire (Annexe 6) des pourcentages d'inhibition en fonction de la concentration des composés phénoliques présents dans les différentes dilutions de l'extrait testés (Tableau VII et Figure 18).

Tableau VII. Représentation d'IC 50 % (pourcentage \pm écart type) de l'extrait EER en fonction de la concentration en PT.

Concentration ($\mu\text{g}/\mu\text{l}$)	0,5	1,5	2
IC 50 ($\mu\text{g}/\mu\text{l}$)	$0,42 \pm 0,014$	$0,43 \pm 0,014$	$0,44 \pm 0,028$

D'après les résultats présentés dans le tableau VII et la figure 18, nos valeurs variant de $0,42 \pm 0,014$ à $0,44 \pm 0,028 \mu\text{g}/\mu\text{l}$, ces valeurs augmentent en fonction de la concentration.

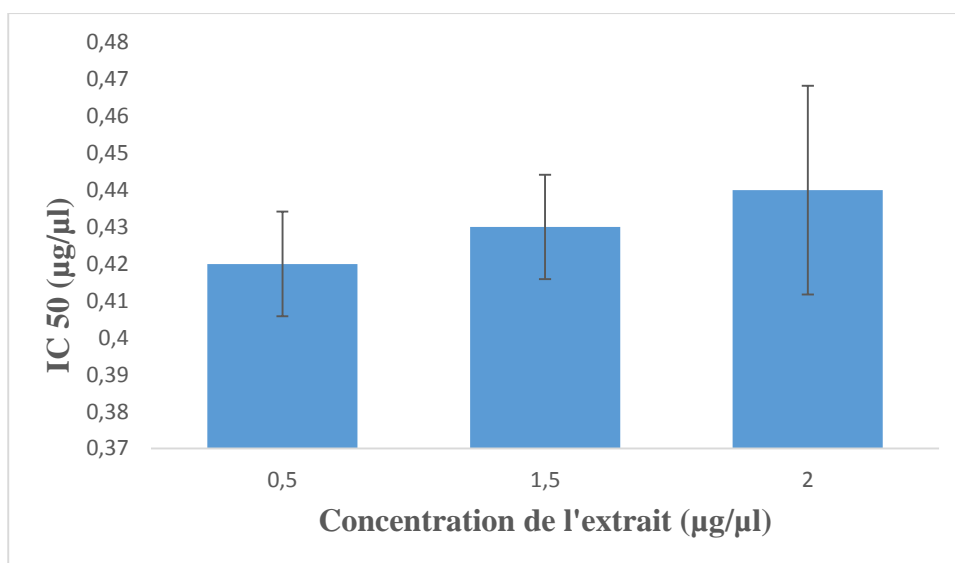


Figure 18. Histogramme représente les % IC₅₀ de l'extrait (EER).

3 Evaluation de l'activité antibactérienne

Pour évaluer l'activité antibactérienne des extraits *P. lentiscus*, vis-à-vis de quatre souches bactériennes de référence réparties en deux groupes, nous avons utilisé la méthode de l'aromatogramme. Les bactéries gram positif utilisées sont *B. cereus* ATCC 14579, *S. aureus* MU50, *S. aureus* ATCC 25923, et Gram négatif sont *E. coli* ATCC 25922. La présence ou l'absence d'une activité se manifeste par l'apparition ou l'absence d'une zone d'inhibition autour des disques, le diamètre de ces derniers est estimé en mm. L'ensemble des résultats obtenus sont représentés dans le tableau VIII.

Tableau VIII. Diamètres des zones d'inhibition en mm (moyenne ± écart type) exercées par les extraits éthanoliques de lentisque vis-à-vis des souches testées. EER : Extrait conservé dans un réfrigérateur, EEA : Extrait gardé à température ambiante.

Souches / Extraits	<i>S. aureus</i> MU50	<i>S. aureus</i> ATCC 25923	<i>B. cereus</i> ATCC 14579	<i>E. coli</i> ATCC 25922
Antibiotique Gentamycine	19 ± 1 mm	33,5 ± 1,5 mm	25 ± 3,05 mm	20 ± 1,52 mm
EER (20 µl)	8,2 ± 2,08	8,2 ± 4,08	11 ± 0	0
EER (10 µl)	23 ± 2,12	8 ± 0	12 ± 6,36	0
EEA (20 µl)	12 ± 0	12,5 ± 1,29	8,5 ± 0,707	0
EEA (10 µl)	25 ± 0,70	13,3 ± 3,05	10 ± 0	0

D'après les résultats présentés dans le tableau VIII, *S. aureus* MU50 présente une meilleure inhibition vis-à-vis des extraits (EER et EEA) avec une zone d'inhibition de $23 \pm 2,12$ et $25 \pm 0,70$ mm respectivement. Tandis que, *S. aureus* ATCC 25923 présente une zone d'inhibition de $12,5 \pm 1,29$ et 8 ± 0 , et *B. cereus* ATCC 14579 une zone de $12 \pm 6,36$ et 10 ± 0 mm respectivement pour les extraits (EER et EEA).

4 Evaluation de l'activité antifongique

Le pouvoir antifongique a été évalué par observation d'un changement dans le développement de l'espèce fongique et la mesure des diamètres des zones d'inhibition (mm) selon l'échelle citée par Mutai *et al.* (2009). Les effets des extraits éthanoliques des feuilles de *P. lentiscus* sur les souches fongiques : *A. niger*, *A. flavipes*, *Penicillium* sp. , *Fusarium* sp. , ont été observés après une semaine d'incubation à 28 °C.

Tableau IX. Résultats des activités antifongiques des extraits des feuilles de *P. lentiscus* sur les champignons. EER : Extrait conservé dans un réfrigérateur, EEA : Extrait gardé à température ambiante.

Champignons Extrait	<i>A. niger</i>	<i>A. flavipes</i>	<i>Penicillium</i> sp.	<i>Fusarium</i> sp.
EER	-	-	-	-
EEA	-	-	-	-

5 Discussion

Les teneurs en polyphénols totaux de l'extrait éthanolique immédiatement mis au réfrigérateur (PT EER), de $122 \pm 11,11$ mg EAG/ g MS. Par comparaison aux travaux de Chehrit-Hacid *et al.* (2021), sur des échantillons récoltés au niveau des stations d'Azeffoun Ouzra et Tarik Ibn Zaid, et conservés au congélateur, ont trouvé des valeurs variant de $16,69 \pm 2,66$ à $21,71 \pm 4,41$ mg EAG/g MS, quantités inférieures aux teneurs trouvées dans la présente étude. Yemmen *et al.* (2017), ayant évalué la teneur en PT de *P. lentiscus* par la méthode d'extraction éthanolique à 70 % et ont obtenu une quantité de 95,53 mg EAG/g MS, ce résultat est également inférieur à ceux du présent travail. Par contre, les mêmes auteurs ont pu enregistrer une teneur proche de nos résultats 124,1 mg EA/g MS, et ce en utilisant le méthanol (80 %) comme solvant d'extraction. D'autre part, Mehenni *et al.* (2016) et Barbouchi *et al.* (2018) sur l'extrait éthanolique des feuilles, ont rapporté des teneurs importantes en PT estimées, respectivement, à $517,51 \pm 5,53$ et $255,85 \pm 090$ mg EAG/g d'extrait. Ces dernières sont largement supérieures à nos résultats $122 \pm 11,11$ mg EAG/g MS.

La teneur de l'extrait EEA, de $153,47 \pm 5,51$ mg EAG/g MS est supérieure à celle obtenue par Ivona *et al.* (2020) qui est de $100,14 \pm 3,64$ mg GAE/g.

Les teneurs en flavonoïdes totaux de l'extrait éthanolique immédiatement mis au réfrigérateur (FT EER), de $67,00 \pm 34,64 \mu\text{g ER/g MS}$. Dans leur étude sur des échantillons récoltés au niveau des stations d'Azeffoun, Ouzra et Tarik Ibn Zaid, et conservés au congélateur ont trouvées des valeurs variant de $08,38 \pm 1,14$ à $10,40 \pm 1,40 \text{ mg ER/g MS}$, quantités inférieures aux teneurs trouvées dans la présente étude. D'autre part, Azib *et al.* (2019) et Atmani *et al.* (2009), ayant évalué la teneur en FT sur l'extrait des feuilles de lentisque, ont rapporté des teneurs estimées, respectivement, à $5,18 \pm 0,05 \text{ g QE/kg de poids sec}$ et $12,93 \pm 1,69 \text{ mg EQ/g de d'extrait}$. Ces dernières sont inférieures à nos résultats $67 \pm 34,64 \mu\text{g ER/g MS}$. D'autre part, les résultats obtenus par Remila *et al.* (2015), ont trouvé une teneur de $139,38 \pm 3,11 \text{ mg ER/g de l'extrait}$, cette dernière est largement supérieure à nos résultats $67 \pm 34,64 \mu\text{g ER/g MS}$.

Comparativement à d'autres espèces du même genre *P. lentiscus* est plus riche en flavonoïde que *P. atlantica* (Chehrit-Hacid *et al.*, 2021).

Chehri-Hacid *et al.* (2021), ayant évalué la teneur en TH sur des échantillons récoltés au niveau des stations d'Azeffoun, Ouzra et Tarik Ibn Zaid, et conservés au congélateur ont trouvé des valeurs variant de $74,04 \pm 7,77$ à $12,763 \pm 15,49$. Remila *et al.* (2015), ayant évalué la teneur en TH sur l'extrait éthanolique des feuilles de lentisque, ont trouvé une teneur de $142,56 \pm 2,60 \text{ mg EAT/g MS}$. Ces dernières sont largement supérieures à nos résultats. Par ailleurs, Mhenni *et al.* (2018) ont trouvé une teneur en tannin $409,87 \pm 6,9 \text{ mg EAT/g MS}$ qui est supérieure à celle trouvée dans nos études. De plus, Atmani *et al.* (2009) ont montré une teneur des feuilles très importante en tannin estimé par $909,4 \pm 42,61 \text{ mg EAT/g MS}$.

Au vu de toutes ces comparaisons, il en ressort que l'extraction des polyphénols est influencée par des facteurs liés au procédé d'extraction lui-même (Lagha-Benamrouche *et al.*, 2013), génétiques et environnementaux (Atmani *et al.*, 2009). En effet, la méthode d'extraction, la nature du solvant, la température d'extraction et de conservation de l'extrait avant analyse sont des facteurs qui influencent fortement le taux d'extraction. C'est ainsi que nos résultats sont supérieurs à ceux obtenus par Chehrit-Hacid *et al.* (2021) qui n'ont pas acidifié leur solvant d'extraction. Selon Petreska Stanoeva *et al.* (2020) et Zin *et al.* (2021), l'acidification du solvant, notamment avec de l'acide chlorhydrique, améliorerait le taux d'extraction des polyphénols. Par ailleurs, selon Chehrit-Hacid *et al.* (2021) qui ont échantillonné au niveau de trois stations selon un gradient d'aridité ont conclu à la présence de plusieurs écotypes. Il s'agirait donc selon les mêmes auteurs de l'influence à la fois de facteurs génétiques et environnementaux.

6 Test de l'activité antioxydante

Les résultats obtenus dans la figure 18, montrent que l'extrait EER des feuilles de *P. lentiscus* présente des valeurs de IC50 % qui varient de $0,42 \pm 0,014$ à $0,44 \pm 0,028 \mu\text{g}/\mu\text{l}$ en fonction de la concentration en PT. Sur l'histogramme de la figure 18, les écart-types chevauchent, ce qui suggère qu'il n'y a pas de différence significative entre les IC50 avec augmentation de la concentration en polyphénols. L'extrait (EER) présente une bonne activité avec une valeur d'IC50 $0,42 \pm 0,014 \mu\text{g}/\mu\text{l}$. Nos résultats sont proches de ceux obtenus par

Hemma *et al.* (2018) sur l'extrait méthanolique de *P. lentiscus*. En revanche, (Zitouni *et al.*, 2016) ont trouvés une valeur de 0,166 mg/ml sur l'extrait méthanolique de *P. lentiscus*. Par contre, l'extrait EEA ne présente aucune activité antiradicalaire, ces résultats peuvent être dus à la température de la conservation de l'extrait.

La différence entre les IC50 de ces résultats est probablement liée à la différence du profil phénolique qui varie en fonction du type d'extrait, de la méthode d'extraction des composés phénoliques et de la polarité des solvants utilisés. D'après Hemma *et al.* (2018), y a une relation entre la haute activité de piégeage de l'extrait et la concentration des composés phénoliques dans les parties aériennes de cette plante. Enfin, dans le cas où y'auras un chevauchement, il est intéressant de tester avec différentes concentrations.

7 Evaluation de l'activité antibactérienne

D'après les résultats présentés dans le tableau VIII, les deux extraits des feuilles de *P. lentiscus* ont montré une bonne activité antibactérienne vis-à-vis de *B. cereus* ATCC 14579, *S. aureus* MU50, *S. aureus* ATCC 25923, puisque nous avons observé l'apparition de zones d'inhibition. En revanche, nous n'avons observé aucune zone d'inhibition chez *E. coli*. Cette souche serait probablement résistante aux polyphénols de l'extrait des feuilles de *P. lentiscus*.

La comparaison avec des résultats rapportés par d'autres chercheurs pour la même plante reste difficile en raison de plusieurs variables telles que le type de souches utilisées.

Benhamou *et al.* (2008), ont également enregistré une forte activité de l'extrait éthanolique des feuilles de lentisque contre *S. aureus* ATCC 601 avec une zone d'inhibition de 21,5 mm (10 µl) vis-à-vis de l'extrait éthanolique de feuilles de *P. lentiscus*.

Les travaux de Bammou *et al.* (2015) ainsi que ceux de Alhadad *et al.*, (2022) ont montré que *S. aureus* présente une sensibilité vis-à-vis de l'extrait méthanolique des feuilles de *P. lentiscus* avec une zone d'inhibition, respectivement pour les résultats des deux auteurs, de 28 et 26 ± 1.00 (25 µl) mm de diamètre

Concernant la résistance d'*E. coli* aux extraits des feuilles de *P. lentiscus*, le même résultat est affirmé par Benhamou *et al.* (2008) qui a travaillé sur l'extrait éthanolique des feuilles de lentisque. D'autre part, les résultats se rapprochent de ceux rapportés par Missoum *et al.* (2017) ayant travaillé sur l'extrait méthanoliques du lentisque. En effet, ces derniers ont noté l'absence totale de zones d'inhibition vis-à-vis d'*E. coli*.

Cependant, Ouarab et Sehil (2012) ont obtenu, vis-à-vis d'*E. coli*, des diamètres de zone d'inhibition de 14 à 20 mm avec des extraits éthanoliques de feuilles de *P. lentiscus*, de concentration respectives 0,378 g/ml et 0,551 g/ml.

Il ressort, à travers nos résultats, que *B. cereus* ATCC 14579 est sensible aux extraits éthanoliques des feuilles de lentisque. Cette sensibilité est révélée par l'apparition des zones d'inhibition, 11 et 12 mm pour EER (20, 10 µl), 8,5 et 10 mm pour EEA (20, 10 µl), cela signifie que ces extraits ont une activité antibactérienne contre cette bactérie.

Les résultats obtenus sur *B. cereus* semblent être similaires avec ceux de Selmi *et al.* (2020) sur *B. subtilis* par la méthode à la vapeur d'eau avec des diamètres de $17,33 \pm 0,57$ mm. Par ailleurs, les résultats obtenus par Alhadi *et al.* (2018) ont révélé la sensibilité de *B. subtilis* à l'extrait éthanolique des feuilles de lentisque avec une zone d'inhibition de (19 mm). Hmed *et al.* (2018) qui ont travaillé sur *P. atlantica* ont trouvé une forte activité pour l'extrait de cette plante vis-à-vis de *B. cereus* ATCC 14579 avec une zone d'inhibition de $19 \pm 0,4$ mm.

D'après les résultats obtenus, les bactéries Gram (+) sont plus sensibles à l'extrait de *P. lentiscus* que les bactéries Gram (-). Ceci pourrait être expliqué par la différence de structure de la paroi bactérienne de ces deux groupes bactériens, due probablement à la présence d'un taux élevé de phospholipides dans la paroi des Gram (-) par rapport à celle des Gram (+). De plus, les Gram (-) possèdent une membrane externe perméable aux composés lipophiles et un espace périplasmique qu'on ne retrouve pas chez les Gram (+) (Balentine *et al.*, 2006).

La résistance des bactéries Gram (-) à des substances antibactériennes est liée à la surface hydrophile de leur membrane externe, qui est riche en molécules polysaccharidiques constituant une barrière à la pénétration de nombreuses molécules antibiotiques et aussi aux enzymes de l'espace périplasmique capable de dégrader les molécules introduites de l'extérieur.

L'activité antimicrobienne est fortement liée aux teneurs et à la composition de l'extrait en composés phénoliques. Le nombre et la position des groupements hydroxyles présents sur le noyau aromatiques de ces composés phénoliques peuvent entraîner la toxicité des microorganismes (Halmi, 2015). Les variations des zones d'inhibition sont influencées par : le potentiel antibactérien de l'extrait étudié, la partie testée de la plante, le solvant utilisé lors de l'extraction, la concentration en extrait et la composition de milieu, notamment ce qui concerne la teneur en agar et leur capacité de diffusion dans le milieu.

8 Evaluation de l'activité antifongique

Les souches fongiques que nous avons testées à savoir *A. niger*, *A. flavipes*, *Penicillium* sp., *Fusarium* sp., ont montré une résistance aux extraits éthanoliques de *P. lentiscus*. Nos résultats concordent avec ceux obtenus par Bakli *et al.* (2020) qui ont testé l'activité antimicrobienne des extraits de feuilles de *P. lentiscus* vis-à-vis des souches d'*A. niger* et d'*A. flavus*. Ces résultats n'ont montré aucune zone d'inhibition. Ces mêmes auteurs ont observé une importante activité antifongique vis-à-vis de *C. albicans*. Ils concordent partiellement avec ceux de Mezni *et al.* (2014), ayant évalué l'activité antifongique de l'extrait phénolique d'huile de *P. lentiscus*, vis-à-vis des souches d'*A. niger* et *A. fusarium*. Les résultats obtenus montrent l'absence d'une zone d'inhibition pour *A. niger* donc l'absence de l'activité, par contre la présence d'une zone d'inhibition de 19 mm pour *A. fusarium*.

Ces résultats ne concordent pas avec ceux de Rocznik *et al.* (2015) ayant évalué l'activité antifongique de Lamiacées *Pogostemon cablin*, *Lavandula angustifolia*, *Melissa officinalis* et *Salvia officinalis*, vis-à-vis des souches *A. niger*, *P. chrysogenum*. Les résultats obtenus montrent la présence des zones d'inhibition avec des diamètres de 6,68 ; 6,00 ; 8,33 mm et 11,17 ; 8,08 ; 7,17 mm pour *A. niger* et *P. chrysogenum* respectivement.

La différence dans ces résultats pourrait s'expliquer par la composition phénolique et des extraits ainsi par la concentration des composés dans ces extraits (Mezni *et al.*, 2014).



Conclusion

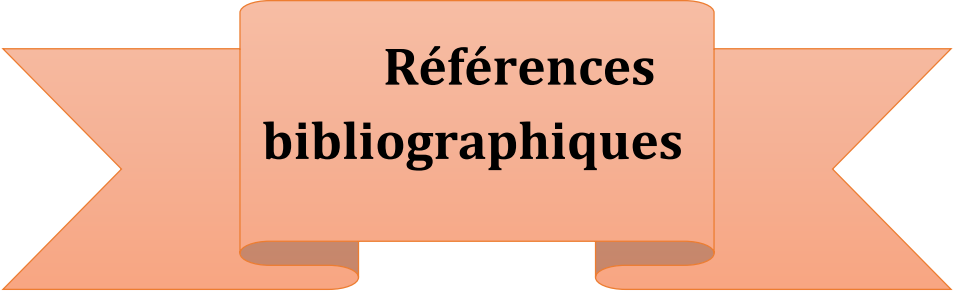
Un grand nombre de plantes aromatiques et médicinales possèdent des propriétés biologiques très importantes qui trouvent de nombreuses applications dans divers domaines à savoir en médecine, pharmacie, cosmétique et agriculture. Ces dernières décennies, les scientifiques portent leur intérêt sur leurs propriétés et leurs activités biologiques. Ce regain d'intérêt vient d'une part du fait que les plantes médicinales représentent une source inépuisable de substances bioactives, et d'autre part les effets secondaires induits par les médicaments inquiètent les utilisateurs qui se retournent vers des soins moins agressifs pour l'organisme. Le présent de travail est une contribution à l'étude de quelques propriétés biologiques des extraits éthanoliques issus des feuilles de *P. lentiscus* L.

Les analyses chimiques montrent que le lentisque contient des teneurs importantes en polyphénol, en tannins hydrolysables et flavonoïdes aussi bien dans l'extrait gardé à température ambiante pendant 48 h que celui conservé au réfrigérateur. Le test au radical DPPH montre que l'extrait (EER) possède une meilleure capacité réductrice.

Les résultats antimicrobiens obtenus montrent une sensibilité des souches *Staphylococcus aureus* MU50 et ATCC 25922, *Bacillus cereus* ATCC aux composés phénoliques contenus dans les deux extraits de lentisque, et une résistance à *Escherichia coli* ATCC 25923. Par contre, ces extraits ne présentent aucune activité antifongique sur les souches testées (*Aspergillus niger*, *Aspergillus flavipes*, *Penicillium* sp., *Fusarium* sp.).

A la suite de ces résultats obtenus, il serait intéressant de reprendre cette étude en augmentant le nombre de répétitions, en utilisant d'autre test de l'activité anti-oxydante tels que la réduction de phosphomolybdate (TAC) et la réduction des ions ferriques (FRAP), et de tester d'autres activités biologiques telles que l'activité anti-inflammatoire, antiviral et insecticide... Il est aussi essentiel de déterminer les composés phénoliques contenus dans les différentes parties de plante par des méthodes plus performantes comme la chromatographie liquide couplée à spectroscopie de masse (LC-MS).

L'ensemble de ces résultats obtenus *in vitro* ne constitue qu'une première étape dans la recherche des substances d'origine naturelle, biologiquement actives. Une étude *in vivo* est souhaitable pour obtenir une vue plus approfondie sur les activités biologiques de l'extrait de cette plante.



**Références
bibliographiques**

Abdelwahed, A., Bouhlel, I., Skamdarni, I., Valenti, K., Kadri, M., Guirand, P., Steiman, R., Mariotte, A.M., Gherdia, K., Laporte, F., Dijoux, F., Ranca, M.G., Chekir-Ghediral, L. (2007). Study of antimutagenic and antioxidant activities 1, 2, 3, 4, 6-pentagalloylglucose from *Pistacia Lentiscus* confirmation by microarray expression profiling. *Chem. Biol. Inter.* 165, 1- 13.

Abdel-Shafy, H.I., Mansour, M.S.M. (2019). Polyphenols: Properties, Occurrence, Content in Food and Potential Effects. *Environmental Science and Engineering.* (6) : 1-3.

Achat, S. (2013). Polyphénols de l'alimentation : Extraction, pouvoir antioxydant et interaction avec des ions métalliques. Thèse de doctorat. Université d'Avignon. France.

Adriouch, S., Kesse-Guyot, E., Herberg, S., Touvier, M., Fezeu, L.K. (2007). Association entre les apports en polyphénols et le risque de maladies cardiovasculaires : résultats d'une étude prospective sur 84 000 adultes français. *Nutrition Clinique et Métabolisme,* 31(3): 238.

Ait said, S. (2011). Strategies adaptatives de deux espèces du genre *Pistacia* (*P. lentiscus* L. et *P. atlantica* Desf.) Aux conditions d'altitude, de salinité, de salinité et d'aridité : Approches morpho-anatomiques, phytochimiques et écophysiologiques. Thèse de Doctorat. Université Mouloud Mammeri Tizi Ouzou.

Alhadad, A.O., Salem, G.S., Elmhdwi, M.F., Hussein, S.M. Elshareef, S.M. (2022). Assessments of Antibacterial and Antioxidant Properties in the Methanolic and Aqueous Leaf Extracts of *Pistacia lentiscus* against Different Antibiotic Resistance Pathogenic Bacteria. *Advances in Bioscience and Biotechnology.* 13 : 113-133.

Alhadi, E. A., Hamdi, O. A. A., Ayoub, S. M. H., Yagi, S. (2018). *In vitro* antioxidant and antimicrobial activities of *Pistacia lentiscus*, *Phyllanthus anderssonii* and *Cinnamomum verum* crude extracts and fractions. *Journal of Medicinal Plants Research.* 12(16) : 186-193

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

Arab, K., Bouchenak, O., Yahiaoui, K. (2014). Phytochemical Study and Evaluation of the Antimicrobial and Antioxidant Activity of Essential Oils and Phenolic Compounds of *Pistacia Lentiscus* L. *Journal of Fundamental and Applied Sciences.* 6 (1): 77-91.

Arroyo-Currás, N., Rosas-García, V.M., Videa, M. (2016). Substituent Inductive Effects on the Electrochemical Oxidation of Flavonoids Studied by Square Wave Voltammetry and Ab Initio Calculations. *Molecules.* 21(11):1422.

Atmani, D., Chaher, N., Berboucha, M., Ayouni, K., Lounis, H., Boudaoud, H., Debbache, N., Atmani, D. (2011). Antioxidant capacity and phenol content of selected Algerian medicinal plants. *Food Chemistry*. 112: 303-309.

Azib, L., Debbache, B.N., DaCosta, G., Atmani, K.D., Saidenea, N., Ayounia, K., Richard, T., Atmania, D. (2019). *Pistacia lentiscus* leaves extract and its major phenolic compounds reverse aluminium-induced neurotoxicity in mice. *Industrial Crops and Products*. 137, 576–584.

Bakli, S., Harzallah D., Zerroug A., Sadrati N., Bouguerra A., Gaamoune S., Naili O. (2020). Antimicrobial and Antioxidant Activities of Flavonoids Extracted from *Pistacia lentiscus* L., Leaves, *Journal of Drug Delivery and Therapeutics*. 10(1-s):82-89.

Balentine, C.W., Crandall, G.P., O'bryan, C.A., Duong, D.Q., Pohlman, F.W. (2006). The pre- and post-grinding application of rosemary and its effects on lipid oxidation and color during storage of ground beef. *Meat Science Journal*. 73 (3): 413-421.

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

Barbouchi, M., Elamrani, K., El Idrissi, M., Choukrad M. (2018). A comparative study on phytochemical screening, quantification of phenolic contents and antioxidant properties of different solvent extracts from various parts of *Pistacia lentiscus* L. *Journal of King Saud University-Science*. 32 (2020): 302-306.

Benbrinis, S., (2012). Evaluation des activités antioxydante et antibactérienne des extraits de *Santolina chamaecyparissus*. Mémoire de magister en biochimie. Université Ferhat Abbas, Setif. 84p

Belščak-Cvitanović, A., Durgo, K., Hudek, A., Bačun-Družina, V., Komes, D. (2018). Overview of polyphenols and their properties. In *Polyphenols: Properties, Recovery, and Applications*.

Benhammou, N., Bekkara, F. A., Panovska, T. K. (2008). Antioxidant and antimicrobial activities of the *Pistacia lentiscus* and *Pistacia atlantica* extracts. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*. 2 (2): 022-028.

Bock, B. (2011). Base de données Nomenclatures de la flore de France. *Tela Botanica*. (4), 02.

- Boizot, N., Charpentier, J.P. (2006).** Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier. Méthodes et outils pour d'observation et l'évaluation des milieux forestiers, prairiaux et aquatiques, Le Cahier des Techniques de l'INRA, 79-82.
- Boukeloua, A., Belkhiri, A., Yilmaz, M.A, Temel, H. (2016).** Chemical profiling and total thickness excised wound-healing activity of *Pistacia lentiscus* L. fruits growing in Algeria. Cogent Biology. 2, 1-5.
- Boutemine, I.M., Amri, M., Amir, Z-C., Fitting, C., Mecherara-Idjeri, S., Layaida, K., Sennoun, N., Berkane, S., Cavaillon, J-M., Touil-Boukoffa, C. (2018).** Gastro-protective, therapeutic and anti-inflammatory activities of *Pistacia lentiscus* L. fatty oil against ethanol-induced gastric ulcers in rats. Journal of Ethnopharmacology. 36p.
- Bozorgi, M., Memariani, Z., Mobli, M., Hossein, M., Surmaghi, S., Shams-Ardekani M.R., Rahimi, R. (2013).** Five *Pistacia* species (*P. vera*, *P. atlantica*, *P. terebinthus*, *P. khinjuk*, and *P. lentiscus*): A review of their traditional uses, phytochemistry and pharmacology. The Scientific World Journal. p1-33.
- Brand-williams W., cuvelier M.E eT Berset C. (1995).** Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. Lebensmittel-Wissenschaft and Technologie. 28: 25-30.
- Brake, M., Chase, J. (2019).** Biologie végétale. De Boeck Supérieur.
- Bssaibis F. (2009).** Activite Antimicrobienne De *Dittrichia Viscos* L; Revue. Microbien. Environnement. 3 (1): 44-45.
- Chehrit-Hacid, F., (2021).** Polycopié de Cours de Biochimie Végétale. Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou, 81p.
- Chehrit-Hacid, F. (2016).** Etude de la variabilité biochimique, physiologique et évaluation des activités biologiques des polyphénols de deux espèces du genre *Pistacia* (*P. lentiscus* L. et *P. atlantica* Desf.). Thèse de Doctorat. Université Mouloud Mammeri Tizi Ouzou.
- Chehrit-Hacid, F., Gaceb-TerraK, R., Daoudi, H., Hannachi,L., Metna,B., Mati, A., Limam, F., Mati-Moulti,F. (2021).** Effect of environmental factors on variation of phenolic compounds in leaves of *Pistacia lentiscus* L. And *Pistacia atlantica* Desf. Analele Universitatii din Oradea, Fascicula Biologie, XXVIII (1):109-116.
- Cortina, J., Green, J.J., Baddeley, J.A., Waston, C.A. (2008).** Root morphology and water transport of *Pistacia lentiscus* seedling under contrasting water supply. A test of the pipe stem theory. Environmental and Experimental Botany. 6(2): 343-350.

Elez Garofulić, I., Kruk, V., Martić, A., Martić, I., Zorić, Z., Pedisić, S., Dragović, S., Dragović-Uzelac, V. (2020). Evaluation of Polyphenolic Profile and Antioxidant Activity of *Pistacia lentiscus* L. Leaves and Fruit Extract Obtained by Optimized Microwave-Assisted Extraction. *Foods*. 9 (11): 1556.

El Idrissi, M., Barbouchi, M., Choukrad, M.B., Louzi, L. (2016). Chemical composition and antimicrobial activity of essential oils isolated from leaves and twigs of *Pistacia lentiscus* L. Growing wild in Morocco. *World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*. 5 (4): 516-524.

García-Sánchez, A., Miranda-Díaz, A. G., Cardona-Muñoz, E. G. (2020). The Role of Oxidative Stress in Physiopathology and Pharmacological Treatment with Pro- and Antioxidant Properties in Chronic Diseases. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. 1-16.

Geremu, M., Tola, Y.B., Soualeh, A. (2016). Extraction and determination of total polyphenols and antioxidant capacity of red coffee (*Coffea arabica* L.) pulp of wet processing plants. *Chemical and Biological Technologies in Agriculture*. 3 (25): 1-6.

Hashemi, Z., Ebrahimzadeh, M.A., Khalili, M. (2019). Sun protection factor, total phenol, flavonoid contents and antioxidant activity of medicinal plants from Iran. *Tropical Journal Pharmaceutical Research*. 18:1443-1448.

Halmi, S. (2015). Etude botanique et phytochimique : Approche biologique et pharmacologique d'*Opuntia ficus indica*. Thèse de doctorat. Frères Mentouri de Constantine. Algérie.

Harrat, M., Benaliab, M., Gourine, N., Yousfi, M. (2018). Variability of chemical composition of fatty acids, tocopherols and the antioxidant activity of the lipids from the leaves of *Pistacia lentiscus* L. from Algeria. *Mediterranean Journal of Nutrition and Metabolism*, 10, 2-16.

Hmed, MB., Cherif, S. (2019). Antimicrobial Activity of Aqueous Extract from *P. atlantica* Roots. *Clinical Gastroenterologist International*.1(1): 1006.

Hemma, R., Belhadj, S., Ouahchia, C., Saidi, F. (2018). Antioxidant Activity of *Pistacia lentiscus* Methanolic Extracts. *Revue Agrobiologi*. 8 (1): 845-852.

Izzo, S., Naponelli, V., Bettuzzi, S. (2020). Flavonoids as Epigenetic Modulators for Prostate Cancer Prevention. *Nutrients*, 12(4).

Lagha-Benamrouche, S., Madani, K. (2013). Phenolic contents and antioxidant activity of orange varieties (*Citrus sinensis* L. and *Citrus aurantium* L.) cultivated in Algeria: Peels and leaves. *Industrial Crops and Products*. 50: (723-730).

Li S., Zhu R., Zhong M., Zhang Y., Huang K., Zhi X., Fu S. (2010). Effects of ultrasonic-assistant extraction parameters on total flavones yield of *Selaginella doederleinii* and its antioxidant activity. *Journal of Medicinal Plants Research*. 4 (17): 1743–1750.

Macheix, J.J., Fleuriet A., Jay-Allemand C. (2005). Les composés phénoliques des végétaux. Edition Les Presse Polytechniques et Universitaires Romandes, Loussane. (p. 1-14).

Macheix, J.J., Fleuriet A., Sarni-Manchado P. (2006). Composés Phénoliques dans la Plante-Structure, Biosynthèse, Répartition et Rôles ; in : « Les Polyphénols en Agroalimentaire ». Techniques & Documentation, Lavoisier, Paris. (p. 1-27).

Martemucci, G., Costagliola, C., Mariano, M., D'andrea, L., Napolitano, P., D'Alessandro, A.G. (2022). Free Radical Properties, Source and Targets, Antioxidant Consumption and Health. *Oxygen*. 2 (2): 48-78.

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

Mezni, F., Aouadhi, C., Khouja, M.L., Khaldi, A., Maaroufi, A. (2014). *In vitro* antimicrobial activity of *Pistacia lentiscus* L. edible oil and phenolic extract, *Natural Product Research: Formerly Natural Product Letters*. 6 (29): 565-570.

Mierziak, J., Kostyn, K., Kulma, A. (2014). Flavonoids as Important Molecules of Plant Interactions with the Environment. *Molecules*. 19 (10): 16240-16265.

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

Missoun, F., Bouabedelli, F., Benhamimed, E., Baghdad, A., Djebli, N. (2017). Phytochemical study and antibacterial activity of different extracts of *Pistacia lentiscus* L. collected from Dahra region west of Algeria. *Journal of Fundamental and Applied Sciences*. 9 (2): 669-684.

Mojzer E.B., Hrcic M.K., Skerget M., Knez Z., Bren, U. (2016). Polyphénols: Extraction Methods, Antioxidative Action, Bioavailability and Anticarcinogenic Effects. *Molecules*. 21 (901): 1-38.

Morand, C. (2014). Intérêt des aliments riches en flavonoïdes pour le maintien de la santé cardiométabolique. *Médecine des maladies Métaboliques*, 8(5) : 477-482.

Mutai, C., Bii, C., Rukunga, G., Oudicho, J., Mwitari, P., Abatis, D., Vagias, C., Roussis, V., Kirui, J. (2009). Antimicrobial activity of pentacyclic triterpenes isolated *Acacia millifera*. *Afric. J. Trad. CAM*. 6 (1) : 42-48.

Nunes. C.D.R., Arantes. M.B., Menezes de Faria Pereira. S., Leandro da Cruz. L., Passos. M.D.S., Pereira de Moraes. L., Vieira. I.J.C., Barros de Oliveira. D. (2020). Plants as Sources of Anti-Inflammatory Agents. *Molecules*. 25: 3725 1-22.

Oliveira, L. D. L. D., Carvalho, M. V. D., Melo, L. (2014). Health promoting and sensory properties of phenolic compounds in food. *Revista Ceres*, 61, 764-779.

Ouarab et Sehil. (2012). Evaluation de l'effet antibactérien d'extraits éthanolique de feuilles de lentisque (*Pistacia lentiscus*) récoltées de quatre régions de la wilaya de Tizi- Ouzou. Ingéniorat en Contrôle de la Qualité Alimentaire. Université Mouloud MAMMERI. Tizi-Ouzou.

Panzella, L., Napolitano, A. (2022). Condensed Tannins, a Viable Solution To Meet the Need for Sustainable and Effective Multifunctionality in Food Packaging: Structure, Sources, and Properties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 70, 751–758.

Papuc, C., Goran, G. V., Predescu, C. N., Nicorescu, V., Stefan, G. (2017). Plant Polyphenols as Antioxidant and Antibacterial Agents for Shelf-Life Extension of Meat and Meat Products: Classification, Structures, Sources, and Action Mechanisms. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. 16 (6): 1243-1268.

Petreska Stanoeva, J., Balshikevskal, E., Stefoval, M., Tusevski, O., Sonja, G.S. (2020). Comparison of the Effect of Acids in Solvent Mixtures for Extraction of Phenolic Compounds From *Aronia melanocarpa*. *Natural Product Communications*. 15 (7): 1-10.

Ponce, A.G., Fritz, R., Del valle, C., Roura, S.I. (2003). Antimicrobial activity of essential oils on the native microflora of organic Swiss chard. *Lebensmittel- Wissenschaft und Technology*. 500-508.

Prabhu, S., Molath, A., Choksi, H., Kumar, S., Mehra, R. (2021). Classification of polyphénols and thier potentiel application in human health and diseases. *International Journal of Physiology, Nutrition and physical Education*. 6 (1) : 293-301.

Pradal, D. (2016). Eco-procédés d'extraction de polyphénols antioxydants à partir d'un co-produit agro-alimentaire. Thèse de Doctorat. Université de Lille 1, Lille, France.

Rajendran, P., Nandakumar, M., Rengarajan, T., Palaniswami, R., Gnanadha, E.N., Lakshminarasaiah, U., Gopas, J., Nishigaki, I. (2014). Antioxidants and Human Diseases. *Clinica Chimica Acta*. 346 (13): 332-347.

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

Rijo, P., Falé, P.L., Serralheiro, M.L. (2014). Optimization of medicinal plant extraction methods and their encapsulation through extrusion technology. *Meas J Int Meas Confed.* 58: 249-255.

Rocznik, O.S., E Czerwińska, E., Szparaga, A. (2015). Antibacterial and Antifungal Activity of Plant Extracts. *Annual Set The Environment Protection.* 1 (17) : 209-229.

Saffidine, K., F,Sahli ., Zerroug, M M. (2013). Antimicrobial activity of an Algerian medicinal plant:*Carthamus caeruleus* L. *Pharmacognosy Communications,* 3(4), 71-76.

Selmi, H., Dhifallah, A., Bahri, A., Jedidi, S., Abbes, C., Rouissi, H. (2020). Chimiical composition, antioxydans and antimicrobial activitie of *Pistacia lentiscus* and *Rosmarinus officinalis* essentiels oils. *Journal of New Sciences, Agriculture and Biotechnology.* 69 (1) : 4247258.

Serreli, G., Deiana, M. (2019). *In vivo* formed metabolites of polyphenols and their biological efficacy. *Food and Function.* 10 (11): 6999-7021.

Sinha, D. (2019). Pharmacological importance of polyphenols: A review. *International Research Journal of Pharmacy.* 10 (9): 13-23.

Sridhar, A., Ponnuchamy, M., Kumar, P.S., Kapoor, A., VO, D.N., Prabhakar, S. (2019). Techniques and modeling of polyphenol extraction from food: A Review. *Environmental Chemistry Letters.* 19(4): 3409-3443.

Stagos, D. (2019). Antioxidant Activity of Polyphenolic Plant Extracts. *Antioxidants.* 1 (9): 19.

Valko, M., Leibfritz, D., Monocol, J., Cronin, M., Mazur, M., Telser, J. (2007). Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *The International Journal of Biochemistry and Cell Biology.* 1 (9): 44-84.

Vandi, D., Nga, E. N., Betti, J. L., Loe, G. M. E., Ottou, P. B. M., Priso, R. J., Mpondo, E. M. (2016). Contribution des populations des villes de Yaoundé et Douala à la connaissance des plantes à tanins et à anthocyanes. *Journal of Animal & Plant Sciences.* 30 (3): 4797-4814.

Vestergaard, M., Ingmer, H. (2019). Antibacterial and antifungal properties of resveratrol. *International Journal of Antimicrobial Agents.* 53 : 716-723.

War, A.R., Paulraj, M.G., Ahmad, T., Buhroo, A.A., Hussain, B., Ignacimuthu, S., Sharma, H.C. (2018). Mechanisms of Plant Defense against Insect Herbivores. *Plant Signaling and Behavior.* 7 (10): 1306-1320.

Yahfoufi, N., Alsadi, N., Jambi, M., Matar, C. (2018). The Immunomodulatory and Anti-Inflammatory Role of Polyphenols. *Nutrients.* 10 (11): 1618.

Yan, Z., Zhong, Y., Duan, Y., Chen, Q., Li, F. (2020). Antioxidant mechanism of tea polyphenols and its impact on health benefits. *Animal Nutrition*. 6 (2): 115-123.

Yemmen, M., Landolsi, A., Ben Hamida, J., Mégraud, F., Trabelsi Ayadi, M. (2017). Antioxidant activities, anticancer activity and polyphenolics profile, of leaf, fruit and stem extracts of *Pistacia lentiscus* from Tunisia. *Cellular and Molecular Biology*. 63(9): 87-95.

Zin, Z.M., Mohamad, N., Hui, C.K., Majid, N.I., Zainol, M.K. (2021). Effect of Acidified Ethanol on Antioxidant Properties of *Morinda citrifolia* Leaf Extract and Its Catechin Derivatives. *Current Research in Nutrition and Food Science*. 1 (9): 172-183.

Zitouni, A., Belyagoubi-Benhammou, N., Ghembaza, N. Toul, F. Atik- Bekkara, F. (2016). Assessment of Phytochemical Composition and Antioxidant Properties of Extracts from the Leaf, Stem, Fruit and Root of *Pistacia lentiscus* L. *International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research*. 8 (4): 627-633.



Annexes

Annexe 1. Préparation des solutions et gamme d'éthalonage

➤ Préparation des solutions

-Préparation de la solution de l'éthanol 70% : 72.91 ml d'éthanol, ajusté 27.09 ml d'eau distillée, et acidification à pH 3.

-Dilution des extraits, dissoudre 1ml d'extraits dans 99 ml d'eau distillé.

-Facteur de dilution : $D = V_f / V_i \longrightarrow 99/1 = 99$ D= 99

-Préparation de la solution de Folin-ciocalteu (1/10) (dissoudre 1 ml de Folin dans 9 ml d'eau distillée).

- Préparation de la solution de carbonate de sodium Na_2CO_3 à 7.5% (dissoudre 7.5 g de Na_2CO_3 dans 100 ml d'eau distillée).

Préparation de la solution de NaOH 1M (dissoudre 4 g dans 100 ml de l'eau distillée).

-Préparation de la solution éthanolique d' AlCl_3 (1/10) (dissoudre 0.05 g dans 50 ml d'éthanol).

-Préparation de la solution NaNO_2 (1/20) (dissoudre 1 g dans 20 ml de l'eau distillée).

-Préparation de la solution KIO_3 à 2.5% (dissoudre 2.5 g dans 10 ml de l'eau distillée).

➤ Préparation de la Gamme étalon de l'acide gallique

-Préparation de la solution mère de l'acide gallique (on introduit 0.05 g dans 50 ml d'eau distillée).

➤ Concentration de la solution

0.05g	→	50 ml	}	X= 0.001g
X	→	1 ml		

La concentration de la solution mère est de 0.001 g.

Volume correspondant :

$$C_1V_1 = C_2V_2 \implies V_1 = C_2.V_2/C_1 = 1000.2/1000 = 2$$

Volume d'eau distillé : $2 - 2 = 0$ ml

Donc pour obtenir la concentration 200 en acide gallique, on mélange un volume de 400 de l'acide gallique avec 1600 d'eau distillé. On procède de la même manière pour l'obtention des autres concentrations.

Tableau. Préparation des dilutions de l'acide gallique

Tubes	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
[C] $\mu\text{g} / \text{ml}$	0	200	300	400	500	600	700	800	900	1000
AC gallique (μl)	0	400	600	800	1000	1200	1400	1600	1800	2000
Eau distillé (μl)	2000	1600	1400	1200	1000	800	600	400	200	0

Pour le dosage spectrophotométrie, nous avons prélevé 100 μl de l'acide gallique de chaque dilution, et les introduits dans des tubes à essai, puis on ajoute 500 μl (1/10, V/V) de Folin-Ciocalteu. Après 5 min nous avons ajouté 150 μl (1/10, V/V) de Na_2CO_3 . Les solutions sont agitées et incubé pendant 60 min à température ambiante, puis elles sont dosées par spectrophotomètre à 760 nm.

➤ **Préparation de la gamme étalon de la rutine**

-Préparation de la solution mère de la rutine (0.025 g dans 25 ml d'éthanol).

Concentration de la solution mère :

$$\left. \begin{array}{l} 0.025 \longrightarrow 25 \text{ ml} \\ X \longrightarrow 1 \text{ ml} \end{array} \right\} \boxed{X = 0.001}$$

La concentration de la solution mère est de 0.001 g/l

Tableau : Préparation des dilutions de la rutine.

Tubes	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
[C] $\mu\text{g} / \mu\text{l}$	0	200	300	400	500	600	700	800	900	1000
Rutine (μl)	0	400	600	800	1000	1200	1400	1600	1800	2000
Eau distillé (μl)	2000	1600	1400	1200	1000	800	600	400	200	0

Pour le dosage spectrophotométrie, nous avons prélevé 100 μl de la rutine de chaque dilution, et les introduits dans des tubes à essai, et ajusté avec 600 μl de l'eau distillé et 60 μl de NaNO_2 (1 :20). Après 6 min, on ajoute 60 μl d' AlCl_3 (1 :10) et 800 μl de NaOH 1M 6 min plus tard, et on ajuste avec 2 ml d'eau distillée. Les solutions obtenus est agités incubé à pendant 15 min à température ambiante, et les DO sont lue avec le spectrophotomètre à 506 nm.

➤ **Préparation de la gamme étalon de l'acide tannique**

-Préparation de la solution mère de l'acide tannique (0.05 g dans 50 ml de l'eau distillée)

-Préparation de la solution KIO_3 à 2.5% (dissoudre 2.5 g dans 10 ml de l'eau distillée).

➤ **Concentration de la solution mère**

$$\begin{array}{l} 0.05 \longrightarrow 50 \text{ ml} \\ X \longrightarrow 1 \text{ ml} \end{array} \left. \vphantom{\begin{array}{l} 0.05 \\ X \end{array}} \right\} \boxed{X = 0.001 \text{ g}}$$

La concentration de la solution mère est de 0.001 g.

-Dilution à partir de la solution mère, appliquer l'équation $C_1V_1=C_2V_2$.

Tableau. Préparation des dilutions de l'acide tannique

Tubes	0	2	3	4	5	6	7	8	9	10
[C] $\mu\text{g/ml}$	0	200	300	400	500	600	700	800	900	1000
AC tannique (μl)	0	400	600	800	1000	1200	1400	1600	1800	2000
Eau distillé (μl)	2000	1600	1400	1200	1000	800	600	400	200	0

Pour le dosage, nous avons prélevé 200 μl de chaque dilution, et introduis dans des tubes à essai. Ensuite, on ajoute 1.8 ml de H_2O , et 1 ml de KIO_3 ; les solutions sont bien agitées et incubé à température ambiante pendant 15 min, la DO est mesuré à 550nm.

Annexe 2. Appareils, produits chimiques et milieux de culture utilisée lors du travail expérimental.

Tableaux. Appareillage utilisé lors de travail expérimentale.

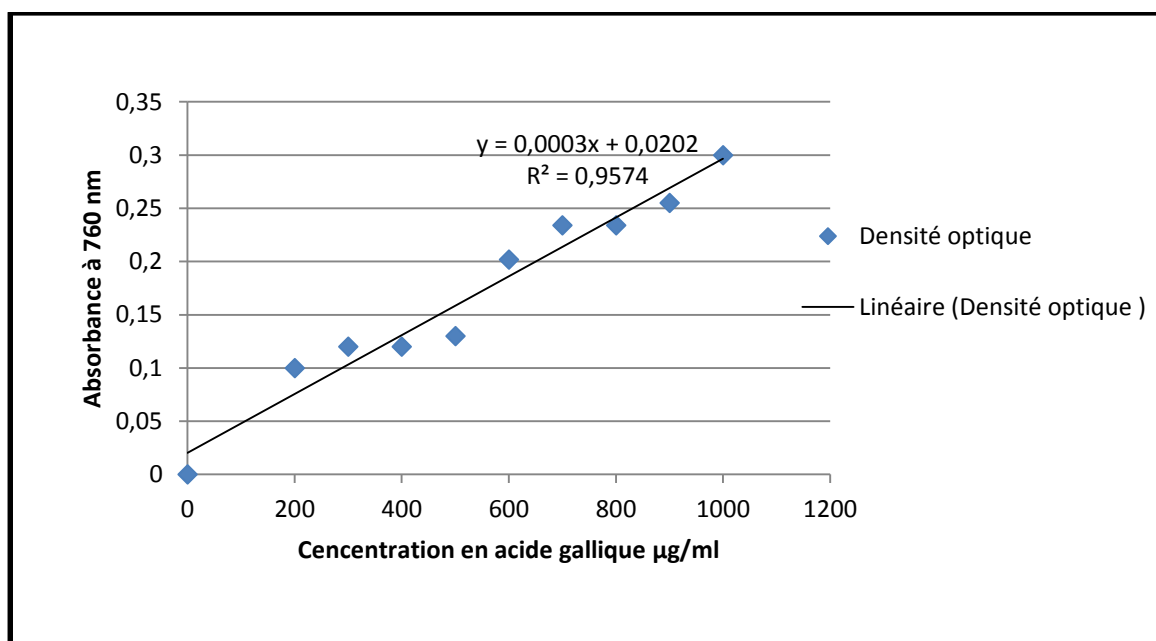
Appareils	Référence
Spectrophotomètre UV-visible	BIOTECH ENGINEERING MANAGEMENT CO.LTD(UK),VIS7220G
Balance de précision	Sartorius, BP121S
Balance	DENVER INSTRUMENT, MXX-612
Bain-marie	WiseBath (Fuzzy control system)
Etuve 37°C et 105°C	Memmert 854 Schwabach, memmert
Autoclave	Pbi International
Agitateur magnétique	VELP SCIENTIFICA, VARIOMAG electronicührer poly15 NETEZ
Rota-vapeur	Stuart
Centrifugeuse Réfrigérée	Hettichzentrugen D-7200 tuttingen
Vortex	VELP SCIENTIFICA (Zx3)
Réfrigérateur	ENIEM

Tableaux. Milieux de culture utilisés.

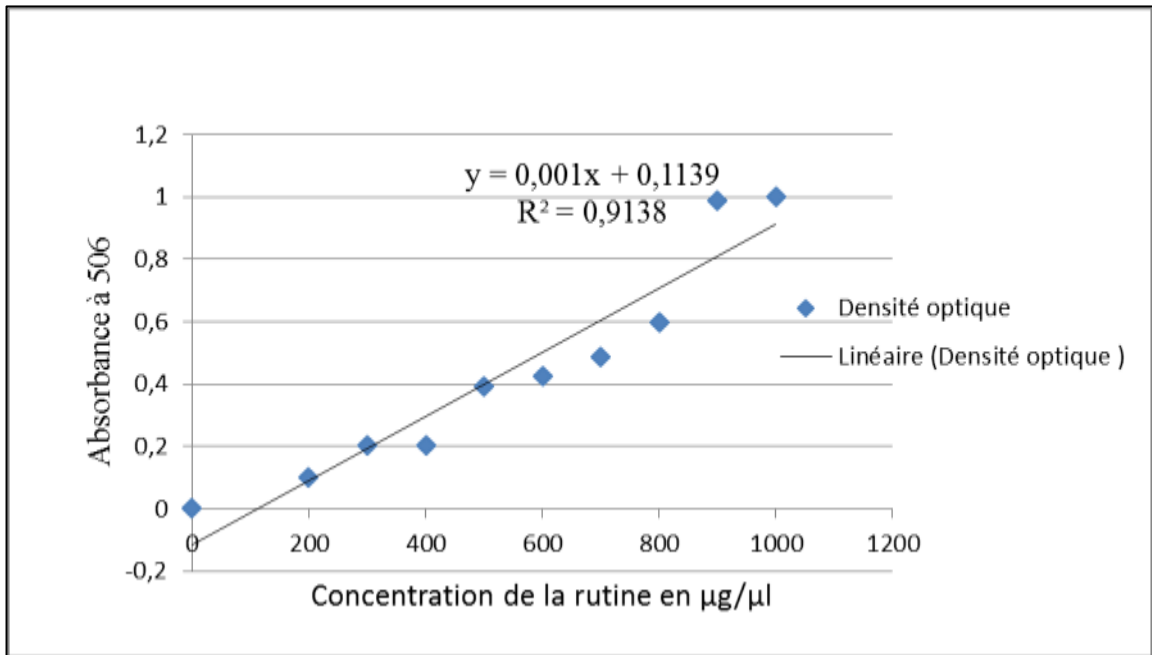
Milieux de culture utilisés
Gélose nutritive (GN) (HIMEDIA)
Mueller Hinton Agar (MHA) (HIMEDIA)
Extrait de pomme de terre agar "Potato Dextrose Agar" (PDA)
Agar à Extrait de Malte (EM)

Tableaux. Les produits utilisés durant l'étude.

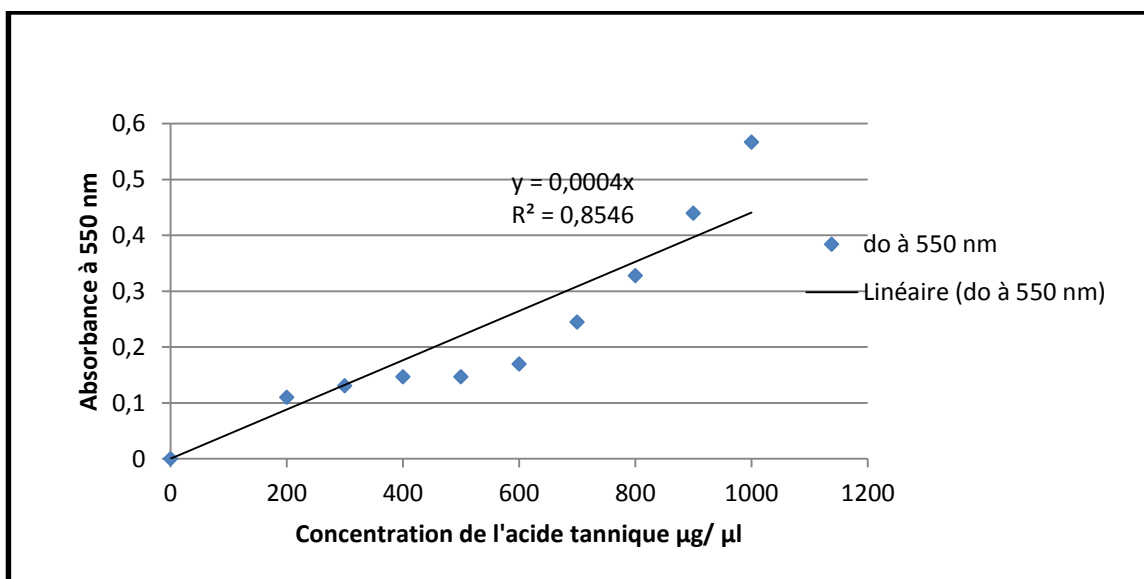
Produits chimiques, réactifs	Sels	Solvants organiques
Acide gallique	Carbonate de sodium (Na_2CO_3)	Méthanol (CH_3OH)
Acide tannique	Chlorure de sodium (NaCl)	Diméthylsulfoxyde (DMSO)
Folin-Ciocalteu		Ethanol ($\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$)
La rutine		
Nitrite de sodium NaNO_2		
Chlorure d'aluminium AlCl_3		
L'hydroxyde de sodium NaOH		
Eaux distillée		
L'iodate de potassium KIO_3		



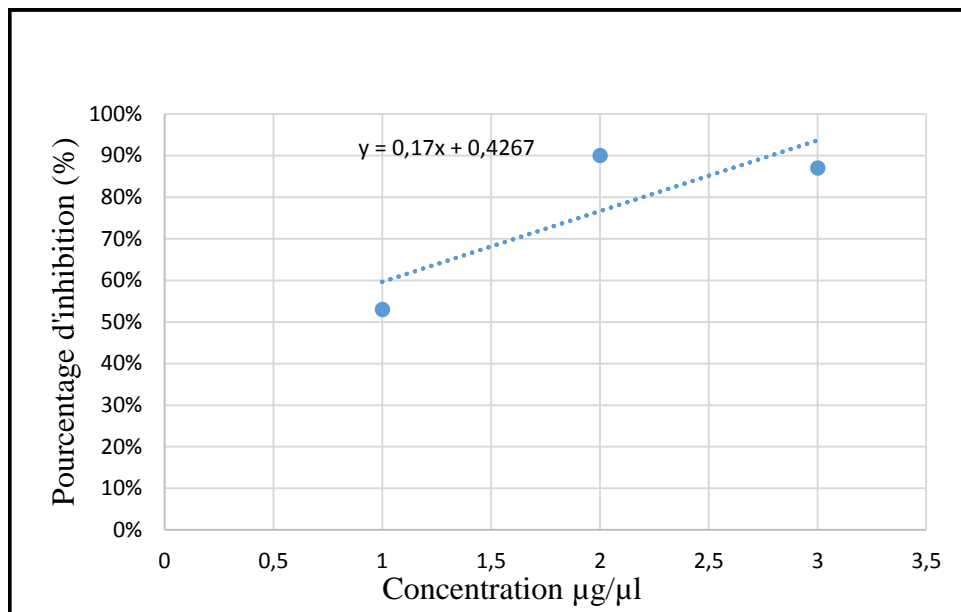
Annexe 3. Courbe d'étalonnage de l'acide gallique



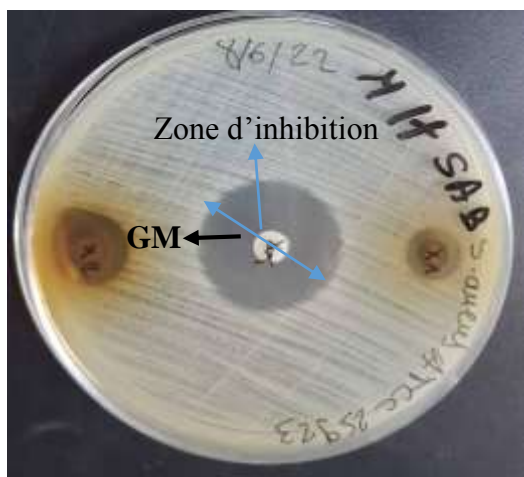
Annexe 4. Courbe d'étalonnage de la rutine.



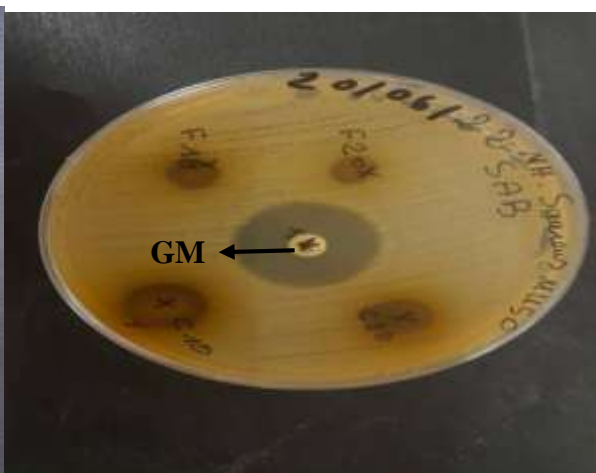
Annexe 5. Courbe d'étalonnage de l'acide tannique.



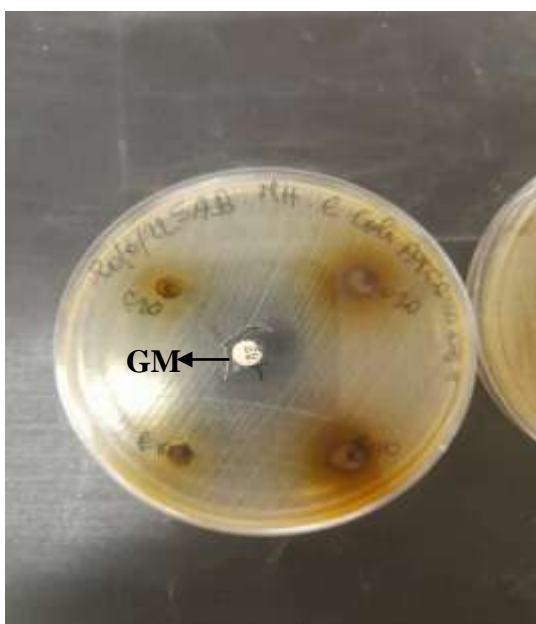
Annexe 6. Pourcentage d'inhibition du DPPH en fonction de différentes concentrations de l'extrait éthanolique de *P. lentiscus*.



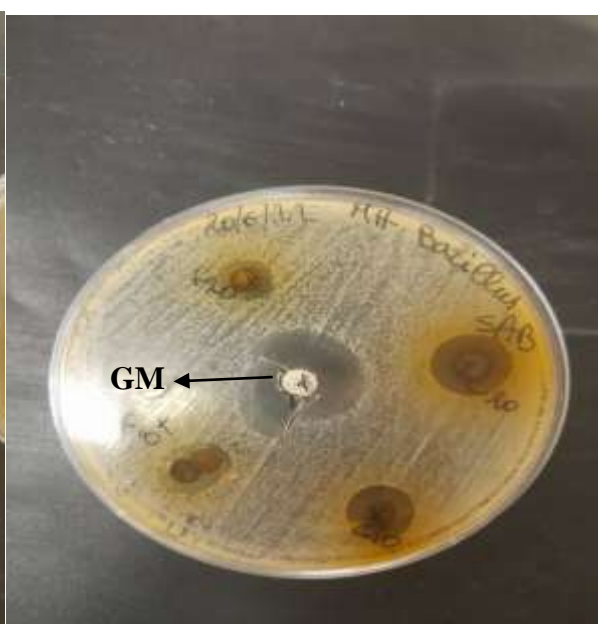
Staphylococcus aureus ATCC25923



Staphylococcus aureus MU50



Escherichia coli ATCC 25922



Bacillus cereus ATCC 14579

Annexe 7. Effets des extraits de *P. lentiscus* sur les différentes souches microbiennes.

Résumé

Les extraits naturels de plantes contiennent une variété de composés phénoliques auxquels sont attribuées diverses activités biologiques. Ce travail s'inscrit dans le cadre de la valorisation de la partie aérienne (feuille) de *Pistacia lentiscus* L. (*P. lentiscus*), une plante méditerranéenne appartenant à la famille des *Anacardiaceae*, utilisée depuis l'antiquité dans la médecine traditionnelle. Le but de ce travail est de réaliser une analyse quantitative des substances bioactives de cette plante et d'évaluer quelques activités biologiques d'extraits de feuilles de *P. lentiscus*. Dans ce contexte, deux extraits ont été préparés par une extraction éthanolique. Après une évaporation, un extrait a été conservé dans le réfrigérateur (EER), et l'autre à température ambiante pendant 48 h (EEA). L'estimation quantitative des polyphénols, flavonoïdes et des tannins hydrolysables a montré la richesse des extraits de la plante en composés phénoliques. La teneur est de $122 \pm 11,11$ mg EAG/g MS et $153,47 \pm 5,51$ mg EAG/g MS en polyphénols respectivement pour les extraits EER et EEA. Pour les flavonoïdes et les tannins, l'extrait EEA est plus riche avec des teneurs de $918,30 \pm 30,00$ µg ER/g MS en flavonoïdes et de $3,23 \pm 0,75$ mg EAT/g MS en tannins, comparativement à l'extrait EER et de $67,00 \pm 34,64$ µg ER/g MS en flavonoïdes et $1,55 \pm 0,1$ mg EAT/g MS en tannins. L'évaluation de l'activité antioxydante en utilisant la méthode de DPPH, montre que l'extrait EER possède une activité antiradicalaire avec un IC 50 de $0,42 \pm 0,014$ µg/µl. Concernant l'activité antibactérienne, les deux extraits présentent une inhibition vis-à-vis de *Bacillus cereus* ATCC 14579, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 et *Staphylococcus aureus* MU50 qui est la plus sensible. *Escherichia coli* ATCC 25922 présente une résistance vis-à-vis de ces extraits. Par contre, ces extraits ne possèdent aucune activité antifongique vis-à-vis des souches testées : *Fusarium* sp., *Penicillium* sp., *Aspergillus flavipes*, *Aspergillus niger*.

Enfin, cette étude nous a permis de démontrer que *P. lentiscus* est riche en composés phénoliques, et possède une activité antioxydante, antibactérienne.

Mots clés : *Pistacia lentiscus*, polyphénols, activité antioxydante, activité antibactérienne, activité antifongique.

Summary

Natural plant extracts contain a variety of phenolic compounds to which various biological activities are attributed. This work is part of the development of the aerial part (leaf) of *Pistacia lentiscus* L. (*P. lentiscus*), a Mediterranean plant belonging to the *Anacardiaceae* family, used since antiquity in traditional medicine. The aim of this work is to carry out a quantitative analysis of the bioactive substances of this plant and to evaluate some biological activities of extracts of leaves of *P. lentiscus*. In this context, two extracts were prepared by ethanolic extraction. After evaporation, one extract was stored in the refrigerator (EER), and the other at room temperature for 48 h (EEA). The quantitative estimation of polyphenols, flavonoids and hydrolysable tannins showed the richness of plant extracts in phenolic compounds. The polyphenol content is $122 \pm 11,11$ mg EAG/g DM and $153,47 \pm 5,51$ mg EAG/g DM respectively for the EER and EEA extracts. For flavonoids and tannins, the EEA extract is richer with contents of $918,30 \pm 30,00$ µg RE/g DM in flavonoids and $3,23 \pm 0,75$ mg EAT/g DM in tannins, compared to the EER extract and $67,00 \pm 34,64$ µg RE/g DM in flavonoids and $1,55 \pm 0,1$ mg EAT/g DM in tannins. The evaluation of the antioxidant activity using the DPPH method shows that the EER extracts have an antiradical activity with an IC 50 of 0.42 ± 0.014 µg/µl. Regarding the antibacterial activity, the two extracts show inhibition against *Bacillus cereus* ATCC 14579, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 and *Staphylococcus aureus* MU50 which is the most sensitive. *Escherichia coli* ATCC 25922 shows resistance to these extracts. On the other hand, these extracts have no antifungal activity against the strains tested: *Fusarium* sp., *Penicillium* sp., *Aspergillus flavipes*, *Aspergillus niger*.

Finally, this study allowed us to demonstrate that *P. lentiscus* is rich in phenolic compounds, and has antioxidant and antibacterial activity.

Key words: *Pistacia lentiscus*, polyphenols, antioxidant activity, antibacterial activity, antifungal activity.