

MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE
UNIVERSITÉ AKLI MOHAND OULHADJ – BOUIRA
FACULTÉ DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE ET DES SCIENCES DE LA
TERRE
DÉPARTEMENT DE BIOLOGIE



Réf :/UAMOB/F.SNV.ST/DEP.BIO/2021

MEMOIRE DE FIN D'ETUDES
EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLOME MASTER

Domaine : SNV Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Biochimie Appliquée

Présenté par :

BOUZIANE Lyliane & REZIG Sarah

Thème

**Caractérisation phytochimique des fruits de lentisque
(*Pistacia lentiscus* L) : étude de l'interaction des
polyphénols-protéines et évaluation de quelques
activités biologiques.**

Soutenu le : 06/07/2022

Devant le jury composé de :

| <i>Nom et Prénom</i> | <i>Grade</i> | | |
|-------------------------|-------------------|------------------------|----------------------|
| <i>LEKBAL Farouk</i> | <i>MAA</i> | <i>Univ. de Bouira</i> | <i>Président</i> |
| <i>DAHMOUNE Farid</i> | <i>MCA</i> | <i>Univ. de Bouira</i> | <i>Promoteur</i> |
| <i>BOUCHEMAL Samah</i> | <i>Doctorante</i> | <i>Univ. de Bouira</i> | <i>Co-Promotrice</i> |
| <i>BENSMAIL Souhila</i> | <i>MCB</i> | <i>Univ. de Bouira</i> | <i>Examinatrice</i> |

Année Universitaire : 2021/2022

Remerciement



Tout d'abord Nous remercions DIEU le tout puissant de nous avoir donné le courage et la Volonté de terminer ce travail.

al-Hamdu li allâh

En préambule, nous voulons adresser tous nos remerciements aux personnes avec lesquelles on a pu échanger et qui nous ont aidés pour la rédaction de ce mémoire. Au terme de ce travail, nous tenons à exprimer nos profondes gratitude à notre promoteur M. Dahmoune Farid et Co-promotrice Bouchemal Samah pour leurs suivi, leurs énorme soutien, le temps qu'ils nous ont consacré, on les remercier de nous avoir encadrés, orientés, aidés et conseillés.

Nous adressons également nos remerciements au doctorant Moussa Hamza pour leur suivi, leur énorme soutien, le temps qu'il nous a consacré, on les remercier de nous avoir orienté, aidé et conseillé.

Nous tenons à remercier l'ensemble du personnel de laboratoire de biochimie du département de biologie de la faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et des Sciences de la Terre, Université de Bouira , pour leur patience, leurs conseils pleins de sens et pour le suivi et l'intérêt qu'ils ont portaient à notre travail. Nous adressons nos sincères remerciements à tous les professeurs, intervenants et toutes les personnes qui par leurs paroles, leurs écrits, leurs conseils et leurs critiques ont guidé nos réflexions et ont accepté de nous rencontrer et de répondre à nos questions durant nos recherches. Enfin, dans l'impossibilité de citer tous les noms, nos sincères remerciements vont à tous ceux et celles, qui de près ou de loin, ont permis par leurs conseils et leurs compétences la réalisation de ce mémoire.

Dédicaces



Toutes les lettres ne sauraient trouver les mots qu'il faut, tous les mots ne sauraient exprimer la gratitude, le respect, la reconnaissance, aussi tous simplement que je dédie ce travail :

A ma chère famille :

*À mon père, **B. Boualem**, l'homme respectueux et dévoué qui m'a comblé de ses bienfaits et m'a inculqué les principes moraux et mondains d'une vie équilibré, Ton honnêteté, ton ardeur dans le travail, et tes grandes qualités humaines font de toi un exemple à suivre.*

*À ma mère, **B. Nadia**, aucune parole ne peut être dite à sa juste valeur pour exprimer mon amour, mon attachement à toi, tu m'as toujours donné de la force, de l'énergie, de l'amour, sachant que tout ce que je pourrais faire ou dire ne pourrait égaler ce que tu m'as donné et fait pour moi.*

Que se travail soit l'exaucement de leurs vœux et le fruit de leurs innombrables sacrifices consentis pour mes études et mon éducation. C'est votre réussite avant la mienne, puisse dieu le puissant vous protéger et vous accorder la santé le bonheur et une longue vie.

*À ma sœur, **B. Nesrine** tu as été toujours la source de force, de joie et de tendresse, merci pour tout le soutien moral et physique que tu m'as contribué pour la réalisation de ce travaux. Sans oublier mon frère **B. Abd El Kader**.*

À mes chers grands-parents, qui ont été toujours la source de tendresse, d'affection.

Puisse le seigneur tout puissant vous procurer longue vie, santé et bonheur.

*A ma chère tante, **Khadîdja**, une source de tendresse, de joie, je te dédie ce travail pour exprimer mon amour et mon respect pour toi.*

*A mes chères amies **R.Sarah** et **A. Souhila**, Je ne saurais exprimer ma profonde reconnaissance pour le soutien continu dont vous m'avez toujours fait preuve. Vous m'avez toujours encouragé, incité à faire de mon mieux, et me donnez de la force quand rien n'aller bien. Je vous dédie ce travail avec mes vœux de réussite, de prospérité et de bonheur. Je vous aiiiime.*

A mes chers enseignants :

Je m'adresse mes vifs remerciements aux professeurs qui ont été déployé tous leurs efforts pour nous éduquer et surtout pour nous préparer à affronter la vie professionnelle.

Bouziane Lyliane

Dédicaces



Dieu soit loué, qui m'a permis de terminer mes études et d'atteindre ce que je suis.

Je dédie ce travail :

*Tout d'abord et spécialement, A mon très agréable père **R. Saad**, qui s'est tant sacrifié pour moi, qui s'est toujours donné pour assurer mon bien être, pour son soutien son aide et sa compréhension. J'ai voulu mener ce travail à terme pour que tu sois fier de moi Merci papa, merci pour tout.*

*A Ma chère mère **R. Fatna** Tu représentes pour moi le symbole de la bonté par excellence, la source de tendresse et l'exemple du dévouement qui n'a pas cessé de m'encourager et de prier pour moi. Ta prière et ta bénédiction m'ont été d'un grand secours pour mener à bien mes études. Aucune dédicace ne saurait être assez éloquente pour exprimer ce que tu mérites pour tous les sacrifices que tu n'as cessé de me donner depuis ma naissance, durant mon enfance et même à l'âge adulte. Tu as fait plus qu'une mère puisse faire pour que ses enfants suivent le bon chemin dans leur vie et leurs études. Je te dédie ce travail en témoignage de mon profond amour. Puisse Dieu, le tout puissant, te préserver et t'accorder santé, longue vie et bonheur.*

J'espère que je suis à la hauteur de ce que vous attendez de moi.

*A ma chère **grand-mère** pour leur qui ne m'a pas laissé avec supplication.*

*A ma sœur **Assia**, et mon frère **Rabeh**, Qui ont été toujours une source de joie et de force pour moi, je vous remercie infiniment pour votre présence, dans ma vie.*

*A mon cher oncle **R. Mohammed** qui m'a aidé et protégé et qui s'est toujours tenu à mes côtés que Dieu lui fasse miséricorde, il a été la source de mon bonheur.*

Nous nous retrouverons au paradis, si Dieu le veut.

*Je n'oublierai jamais tes sacrifices. A mon petit **Walid**,*

*A mes chers amis : **B. Lilyane** ma moitié qui m'a soutenu dans mes jours les plus difficiles et n'a jamais quitté ma main qui m'a toujours donné la force, la confiance et l'amour merci d'être là.*

***A. Souhila, O. Fathia, B. Nesrine, M. Salma, wafa, Houria, Sihame**, leurs amours, son confiance, leurs joies, leurs encouragements, m'a toujours aidé pour affronter tous ce chemin. Je te dédie ce travail à vous parce que vous étiez et vous avez resté toujours des vraies amies à qui je peux compter.*

A mes chers professeurs : Je m'adresse mes vifs remerciements aux professeurs qui ont été déployés tous leurs efforts pour nous éduquer et surtout pour nous préparer à affronter la vie professionnelle.

REZIG Sarah.

Remerciements

Dédicaces

Table de matière

| | |
|--|----|
| Introduction..... | 1 |
| I. Aperçu sur la botanique sur <i>Pistacia lentiscus</i> L..... | 4 |
| 1) Pistachier Lentisque..... | 4 |
| I.1.1 Les composants phytochimiques..... | 6 |
| 1) Les polyphénols..... | 6 |
| 2) Les flavonoïdes | 6 |
| 3) Les tanins..... | 7 |
| 4) Les terpènes..... | 7 |
| I.1.2 L'intérêt d'exploitation de <i>Pistacia lentiscus</i> L..... | 8 |
| I.1.3 Les activités biologiques de <i>Pistacia lentiscus</i> L..... | 10 |
| I.2 Interaction polyphénols protéines | 13 |
| I.2.1 Généralités sur les protéines..... | 13 |
| I.2.2 Le principe de complexation et de précipitation | 14 |
| I.2.3 Les principaux mécanismes d'interaction | 15 |
| 1. Les interactions hydrophobes :..... | 15 |
| 2. Les liaisons hydrogènes :..... | 15 |
| 3. Les liaisons ioniques :..... | 15 |
| I.2.4 Les types d'interaction | 15 |
| I.2.5 Les paramètres influençant l'interaction entre les polyphénols et les protéines | 16 |
| 1) Les paramètres intrinsèques : | 16 |
| 2) les paramètres extrinsèques..... | 18 |
| II. Matériel et méthodes | 19 |
| 1) Appareillage et matériels | 19 |
| 2) Méthode | 23 |
| II.2.1 Extraction assisté par ultrason (UAE)..... | 23 |
| II.2.2 dosage des antioxydants..... | 25 |
| II.2.3 Etude de l'interaction polyphénols-protéines..... | 28 |
| II.2.4 Evaluation de l'activité antioxydante..... | 30 |
| II.2.5 Evaluation de l'activité antibactérienne..... | 32 |

| | |
|---|----|
| III. Résultats et discussions..... | 35 |
| III.1 La teneur en composés phénoliques..... | 35 |
| III.2 Résultats de l'interaction polyphénols-protéines..... | 40 |
| III.3 Evaluation de l'activité antioxydante..... | 47 |
| III.4 Evaluation de l'activité antibactérienne..... | 52 |
| 1) Résultat de la Bactérie à Gram négatif | 52 |
| 4. Résultat de la Bactérie à Gram positif..... | 53 |
| Conclusion..... | 58 |
| Références | |
| Annexes | |
| Résumé | |

Liste des abréviations

ERO : Espèce Réactives d'Oxygène

BSA : Sérum Albumine Bovine

HSA : Sérum Albumine Humain

MH: Muller Hinton

GN: Gélose Nutritive

Liste de figures :

Figure 1: Photographie de *Pistacia Lentiscus* L 4

| | |
|---|----|
| Figure 2: Feuille, fleur, graine du <i>Pistacia lentiscus</i> L | 5 |
| Figure 3:Structure de base des composés phénoliques..... | 6 |
| Figure 4: Structure de base des flavonoïdes | 7 |
| Figure 5: Structures chimiques (a) d'un tanin hydrolysables et (b) d'un tanin condensé | 7 |
| Figure 6: Principe de complexations entre les polyphénols et protéines..... | 14 |
| Figure 7: Liaisons non covalentes mises en jeu dans l'interaction polyphénols-protéines | 15 |
| Figure 8 : Photographie représente la plante et les fruits de <i>Pistacia lentiscus</i> L..... | 21 |
| Figure 9: la Carte géographique qui représente la région de la récolte de <i>Pistacia lentiscus</i> L..... | 22 |
| Figure 10: Réaction de l'ABTS* avec des composés antioxydants | 30 |
| Figure 11 : Résultat de dosage des polyphénols des fruits de <i>Pistacia lentiscus</i> L en fonction de stade de maturation..... | 35 |
| Figure 12: Résultats de dosage des polyphénols des fruits de <i>Pistacia lentiscus</i> L en fonction de stade de maturation..... | 37 |
| Figure 13 : Résultats de dosage des tanins hydrolysable des fruits de <i>Pistacia lentiscus</i> L en fonction des stades de maturation..... | 38 |
| Figure 14: Résultats de dosage des proanthocyanidines des fruits de <i>Pistacia lentiscus</i> L en fonction des stades de maturation..... | 39 |
| Figure 15: Résultat de l'interaction polyphénols-protéines de l'extrait vert (stade immature) à différentes températures 100 et 80 °C. | 40 |
| Figure 16: Variation de la DO en fonction des concentrations de l'extrait de <i>Pistacia</i> L. | 41 |
| Figure 17: Variation de la DO des complexes extraits de <i>Pistachia</i> . L (vert-rouge et noir)-BSA. | 43 |
| Figure 18: Variation de la DO des complexes extraits de <i>Pistacia lentiscus</i> . L (vert-rouge et noir)-BSA sous l'effet de NaCl. | 44 |

| | |
|---|----|
| Figure 19: Variation de la DO des complexes extraits de <i>Pistachia</i> . L (vert-rouge et noir)-BSA dans un tampon phosphate à différents pH. | 46 |
| Figure 20: Le pourcentage d'inhibition des extraits (vert- rouge et noir) par la technique de décoloration d'ABTS*..... | 47 |
| Figure 21: le pourcentage d'inhibition des différents extraits de <i>Pistacia lentiscus</i> L par la technique de DPPH..... | 48 |
| Figure 22: le pourcentage d'inhibition des différents extraits de fruits de <i>Pistacia lentiscus</i> -BSA par la technique de décoloration de radical ABTS*..... | 49 |
| Figure 23: Le pourcentage d'inhibition des différents extraits de fruits de <i>Pistacia lentiscus</i> L-BSA par la technique de DPPH. | 50 |

Liste des tableaux

| | |
|---|----|
| Tableau 1: les différentes parties de lentisque et leur utilisation..... | 8 |
| Tableau 2: L'appareillage utilisé afin de réaliser la partie expérimental. | 19 |
| Tableau 3: Réactifs chimiques et solvant utilisé pour la partie expérimental. | 20 |
| Tableau 4: Les zones d'inhibitions (cm) des extraits des fruits de la plante <i>Pistacia lentiscus</i> L à différents stades de maturation (vert, rouge et noir), sur les bactéries Gram positif et Gram négatif..... | 52 |

Introduction

Depuis des milliers d'années, l'homme a toujours utilisé les plantes pour soigner et traiter certaines maladies, pour cela il a toujours essayé d'exploiter les différentes plantes qui se trouvent dans son environnement afin de qualifier ses qualités nutritives et médicinales (Rodrigues 2007). Mais le développement scientifique et technologique a touché le domaine pharmaceutique, ce qui a délaissé l'usage des plantes traditionnelles (Iserin 2001).

En Afrique, en Chine et en Inde, l'usage thérapeutique des plantes médicinales reste la forme de médecine la plus répandue et la plus ancienne (Laurant-Berthoud 2013).

L'Organisation Mondiale de la Santé a estimé que 65 à 80% de la population mondiale est satisfaite par la médecine traditionnelle, car les plantes ont pu démontrer leurs efficacités (Ma, Tan et al. 1997), sachant que 25% des médicaments prescrits sont d'origine des plantes (Moutinho, Matos et al. 2013).

Les recherches scientifiques s'intéressent beaucoup plus aux composés des plantes qui sont destinés à l'utilisation dans le domaine phytopharmaceutique. Il existe beaucoup de plantes riches en molécules bioactives connues sous l'appellation de métabolites secondaires (Hammoudi 2015), à savoir les terpénoïdes, les alcaloïdes, les huiles essentielles, les composés phénoliques, ...etc, sont l'origine des propriétés thérapeutiques des plantes médicinales (Tsao and Yang 2003). Les polyphénols sont les plus étudiés par les chercheurs, car ils sont l'origine de plusieurs propriétés médicinales et jouent un rôle très important dans la lutte contre les cancers, les maladies cardiovasculaires et le stress oxydant etc (Hennebelle, Sahpaz et al. 2004).

L'Algérie est tellement riche en plantes médicinales à cause de sa localisation géographique. Parmi ces plantes, on trouve *Pistacia lentiscus* L connue sous le nom DARW (BELHACHAT 2019), c'est une plante d'origine méditerranéen, elle a été considérée comme un bon remède pour le traitement des ulcères, l'hypertension, la toux, les maux de gorge, l'eczéma, les calculs rénaux et la jaunisse (Djedaia 2017). Cette plante est connue chez les chercheurs par sa richesse en composés bioactifs et surtout les polyphénols (Gardeli, Vassiliki et al. 2008).

En effet, Lors de l'ingestion d'aliments riches en polyphénols, ceux-ci, entrent en contact avec différentes matrices biologiques (glucides, lipides et protéines) et interagissent avec elles. L'interaction la plus décrite est celle des polyphénols avec les protéines, car ces derniers jouent des rôles importants dans plusieurs activités physiologiques (Sęczyk, Świeca et al. 2019). Ces interactions polyphénols-protéines peuvent avoir des effets significatifs sur la biodisponibilité et les propriétés bénéfiques des polyphénols (Bandyopadhyay, Ghosh et al. 2012). La sérum albumine bovin est une protéine possède l'habilité à se complexer avec les polyphénols, souvent utilisée comme protéine modèle pour la complexation du concept d'interaction des protéines avec les polyphénols, elle détire plusieurs fonctions biologiques telle que le transport de molécules bioactives et permet le maintien de la pression oncotique (Carvalho, Mateus et al. 2004).

L'intérêt de cette est la valorisation des fruits de lentisque très répandu sur le tell algérien, pour cela nous avons envisagé la caractérisation phytochimique de ce fruit, nous nous sommes fixées pour objectif, d'étudier les interactions polyphénols-protéines et l'effet de celles-ci sur la biodisponibilité et l'activité antioxydante des polyphénols ainsi que sur l'activité antibactérienne. Pour atteindre cet objectif, ce travail s'organise en deux parties :

- ✓ Une partie bibliographique dans laquelle nous avons réalisé une synthèse des connaissances concernant le lentisque, les molécules bioactives et leurs activités.
- ✓ Une partie expérimentale qui est subdivisée en trois parties : le dosage des molécules bioactives, l'étude de l'interaction et l'étude de l'activité antioxydante et antibactérienne.

Chapitre 01

Synthèse bibliographique

Synthèse bibliographique

I. Aperçu sur la botanique de *Pistacia lentiscus* L

II.2 Pistachier Lentisque

Le nom pistachier lentisque vient de mot latin Pistakia qui est une altération du mot foustak, et lentiscus vient de mot latin lentiscus qui est le nom de l'arbre mastic (Iauk, Ragusa et al. 1996).

Le Pistachier Lentisque appelé communément arbre mastic, en arabe Darou ou Tadist (Bézanger-Beauquesne and Pinkas 1964). Le lentisque appartient à la famille des Anacardiacées ou, il pousse dans l'état sauvage sur les sols en friches ou les brandes.

Le pistachier est classé comme suit :

Règne : Plantae

Sous règne : Tracheobionta

Super division : Spermatophyta

Division : Magnoliophyta

Classe : Magnoliopsida

Sous classe : Rosidae

Ordre : Sapindales

Famille : Anacardiacées

Genre : *PISTACIA* L. – pistache

Espèce : *Pistacia Lentiscus* L



Figure 1: Photographie de *Pistacia Lentiscus* L (Bellakhdar 2013).

Le lentisque est une espèce qui se trouve couramment dans les régions méditerranéennes de l'Europe et l'Afrique, en sites arides Asie, jusqu'aux canaries (Bellakhdar 2013). Il est spontanée très répandue dans les régions subhumide et semi-aride en Algérie (Smail-Saadoun 2005), Cette plante se trouve précisément dans le bassin de Soummam en association avec le pin d'Alep, le chêne vert et le chêne liège (Smail-Saadoun 2005).

L'arbre mastic se caractérise par une hauteur de 1 à 3 mètres ramifié (Bellakhdar 2013), ainsi par sa forte odeur de résine avec un goût acre. Cette plante préfère les endroits chauds avec une exposition longue aux radiations solaires, ainsi que les endroits pauvres en nutriments et en eau (Magiatis, Melliou et al. 1999).

Pistacia lentiscus L est composée de :

- **Ecorces**, rougeâtres quand la plante est jeune et il devient gris avec le temps, avec des branches tortueuses et pressées (Hans YK. 2007).
- **Feuilles**, sont composantes à folioles en nombre paires de 6 à 12, leurs couleur est vert sombre, entières, coriaces, elliptiques, obtuses, le pétiole est bordé d'une aile verte. Lorsqu'elle est une espèce dioïque, on trouve des pieds mâles et des pieds femelles (Hans YK. 2007).
- **Fleurs**, présentent une forme de grappe. Elles sont unisexuées, avec une largeur de 3 mm, très aromatiques. les fleurs femelles sont vert jaunâtres, et les fleurs mâles sont rouges foncées (Benmeggoura, Zerroukhi et al. 2021).
- **Fruits**, une baie globuleuse ou une petite drupe arrondie remplie d'un nucléole de la même forme (Benmeggoura, Zerroukhi et al. 2021), les fruits de lentisque ont deux stades de maturation, mature où les fruits sont verts et rouges, mature où les fruits sont noirs (Quézel and Santa 1962). Ils sont monospermes.



Figure 2: Feuille, fleur, graine du *Pistacia lentiscus* L (Abdelwahed, Bouhlel et al. 2007).

I.1.1 Les composants phytochimiques de Lentisque

L'étude de la composition chimique de la plante a montré que cette dernière contient une huile essentielle, des métabolites secondaires : les polyphénols, les flavonoïdes, les tannins, des triterpènes, etc.

1) Les polyphénols

Les polyphénols constituent une famille très large des métabolites secondaires d'origine végétale, avec au moins un cycle aromatique et plusieurs groupes hydroxyles qui se lient à d'autres fonctions comme : l'éther, ester ou hétéroside.

Ils se trouvent généralement dans toutes les plantes vasculaires, où ils se localisent dans les racines, les tiges, les feuilles, les fleurs, les fruits (Manallah 2018).

Les polyphénols peuvent être des molécules simples comme l'acide phénolique, ou complexes telle que les tannins. Ils possèdent des propriétés anti-inflammatoires, antioxydantes, antiallergiques, et luttent contre les maladies cardiaques et le cancer (Gani, Wani et al. 2012).

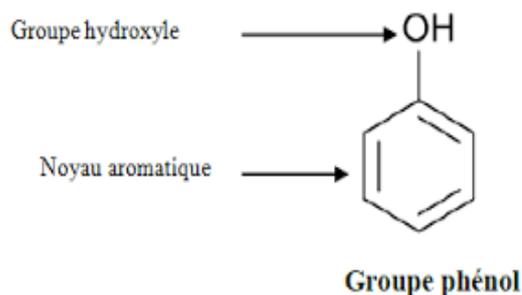


Figure 3: Structure de base des composés phénoliques (Manallah 2018).

2) Les flavonoïdes

Les flavonoïdes sont des molécules qui ont des structures chimiques variées et des caractéristiques propres (Tsimogiannis and Oreopoulou 2006). Ce sont les polyphénols les plus étudiés et diversifiés avec plus de 8000 variants (Beta, Nam et al. 2005). Ce sont des pigments incolores ou colorés, constitués d'un grand groupe de composés polyphénoliques ayant une structure benzo- γ pyrone et de façon ubiquitaire dans les végétaux (Kumar and Pandey 2013).

Les activités biologiques des flavonoïdes sont dues à leurs pouvoirs antioxydant et chélateur, en inhibant la croissance de plusieurs types de carcinome humain comme le

cancer des seins, du colon, la leucémie, prostate, adénocarcinome, Le carcinome hépatocellulaire et cancers bronchiques à petites cellules (Kumar and Pandey 2013).

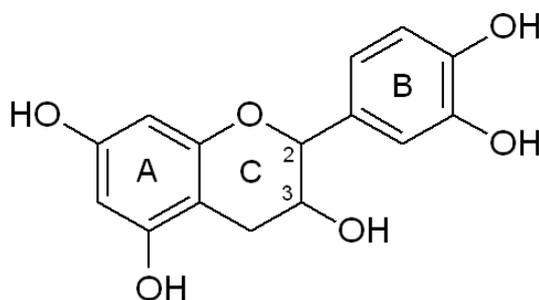


Figure 4: Structure de base des flavonoïdes(Coste 2015).

3) Les tanins

Résultent de la condensation des formes simples des flavonoïdes, et selon le type de condensation on distingue deux types des tanins : les tanins hydrolysables et les tanins condensés (Iauk, Ragusa et al. 1996).

les tanins hydrolysables sont des polyesters de glucides et d'acides phénols (Jean 2009) et les tanins condensés sont des polymères flavaniques constitués d'unités de flavan-3-ols liées entre elles par des liaisons carbone-carbone(Jean 2009).

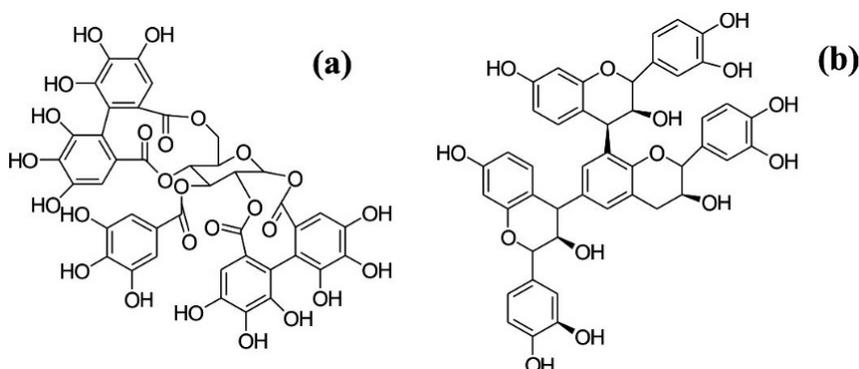


Figure 5: Structures chimiques (a) d'un tanin hydrolysable et (b) d'un tanin condensé(Bayart 2019).

4) Les terpènes

Les terpènes sont des molécules très volatiles, très répandus dans le règne végétal(Lamarti, Badoc et al. 1994). Ils sont localisés dans tous les organes végétaux : fleurs, feuilles, rhizomes, écorces et fruits ou graines. Ces derniers sont des substances très lipophiles et insolubles dans l'eau (Meddah and Deloum 2007).Les terpènes sont des

composés de 5 atome de carbone à la formule générale (C₅H₈_n) ayant pour base un isoprène et selon le nombre d'entités isoprène qui sont digérées dans leurs structures , les terpènes sont classées en sept classes : les hémiterpènes, les monoterpènes, les sesquiterpènes, les diterpènes, les triterpènes, les tétraterpènes et polyterpènes (Rebstein and Soerensen 2011). Le Manool, carnosol et l'acide ursolique sont des terpènes avec une activité anti-inflammatoire (Morel 2008).

I.1.2 L'intérêt d'exploitation de *Pistacia Lentiscus* L

Depuis des temps des grecs anciens, plusieurs utilisations de cette espèce ont été référées. On cite quelques-uns :

1) Traditionnellement :

Plusieurs utilisations thérapeutiques ont été reportées à partir de différentes parties de cette plante (feuille, fleur, racine, écorce, mastic).

Tableau 1: les différentes parties de lentisque et leur utilisation.

| Partie de la plante | Utilisation | Référence |
|---------------------|--|----------------------------------|
| Feuille | Troubles gastro-intestinales, traitement d'eczéma et des infections de la gorge. | (Kıvçak and Akay 2005) |
| Fruit | Grippe, rhumatisme, diarrhée. | (Bozorgi, Memariani et al. 2013) |
| Ecorce | Douleurs intestinales, diabète et diarrhée. | (Bozorgi, Memariani et al. 2013) |
| Mastic | Douleurs abdominales, traitement des ulcères gastroduodéal. | (Kıvçak and Akay 2005) |

2) Phytothérapie :

C'est l'utilisation des plantes à des fins thérapeutiques. Le pistachier est caractérisé par la production de l'oléorésine qui est utilisée comme un antiseptique des voies respiratoires. Elle possède une activité antivirale contre les virus d'embryon de poulet. Elle est bénéfique pour le traitement des ulcères de l'estomac (Chekchaki, Boumendjel et al. 2015).

Ainsi que les stérols qui se trouvent dans l'huile de *Pistacia* L représentent les précurseurs de provitamine D3, ils jouent ainsi un rôle très important en abaissant le cholestérol dans le sang (Chekchaki, Boumendjel et al. 2015).

3) Pharmaceutique et médecine :

Pistachier est une source très importante des molécules bioactives. Elle est utilisée, soit par voie interne, transcutanée ou diffusion. Le mastic est utilisé en médecine vétérinaire en diminuant les risques d'infection des chèvres et moutons par les larves contagieuse (Rogosic, Estell et al. 2008), ainsi qu'en médecine humaine en utilisant les racines pour les inflammations intestinales et d'estomac (Rogosic, Estell et al. 2008), la résine connu par ses effets multiples : diurétique, antifongique, antioxydant, analgésique et dans le traitement d'hypertension (Chekchaki, Boumendjel et al. 2015). Les fruits de *Pistacia lentiscus* L contiennent 5,4 mg/ml d'anthocyanines, de plus des polyphénols, sa composition minérale montre une teneur très élevée en potassium, de sodium, calcium et de phosphore (Longo, Scardino et al. 2007).

4) Cosmétique :

la résine est utilisée comme un ingrédient de certains produits cosmétique telle que les dentifrices, des lotions pour les cheveux, des pommades cutanées, des produits de la peau et la production des parfums (Hasan, Habib et al. 2011).

I.1.3 Les activités biologiques de *Pistacia lentiscus* L

L'arbre mastic a démontrée des diverses activités d'après des études cliniques et des recherches, on cite quelques activités :

- ✓ **Activité antioxydante** : le lentisque est tellement riche en polyphénols et flavonoïdes ce qui lui confère une activité antioxydante (Halliwell 1994). Elle correspond à sa capacité à résister l'oxydation (Barus 2008). La plupart des antioxydants d'origine naturelle possèdent un groupement hydroxyphénoliques. Cette activité est due à leur capacité de neutraliser les radicaux libres (Barus 2008).
- ✓ **Activité anti-inflammatoire** : les flavonoïdes qui se trouvent dans le pistachier lui confère une activité anti-inflammatoire, par une inhibition de certaines enzymes de régulation (Manthey 2000).
- ✓ **Activité antimicrobienne et antivirale** : le mastic a un moyen de défense contre les microorganismes grâce aux composés phénoliques qu'il contient. En effet les groupements hydroxyles augmente la toxicité contre soit par la chélation des ions métalliques, ou par des interactions non spécifiques, comme l'interaction avec les protéines de paroi cellulaire avec des ponts hydrogènes, pour inactiver l'adhésion des microorganismes (Cowan 1999).
- ✓ **Activité antimutagène** : d'après des essaies in vitro, les polyphénols de *Pistacia lentiscus* L ont une activité inhibitrice de la mutagénéité et la génotoxicité (Barus 2008).
- ✓ **Activité anticancéreuse** : la gomme du mastic de *Pistacia Lentiscus* L contient des composées qui inhibent la prolifération et induisent l'apoptose des cellules cancéreuses (Manthey 2000).

1) Etude sur l'activité antioxydante

Les radicaux libres sont des armes à double tranchants, d'une part ils protègent l'organisme de certaines microorganismes et des cellules tumorales, d'autre part ils sont responsables de la toxicité d'oxygène et ses effets mutagènes (Wilson and Salamatian 2003), sachant qu'ils sont dures à étudier à cause de leurs courte durée de vie (Favier 2003).

Ces radicaux sont des espèces qui possèdent un seul électron sur leurs couches externes, ils sont produits au niveau de différents organites cellulaires (mitochondrie-cytosol) (Wilson and Salamatian 2003), L'ensemble de ces radicaux avec leurs

précurseurs forme ce qu'on appelle les espèces réactives d'oxygène (ERO). C'est à cause de ces ERO comme l'ion superoxyde (O_2^-), le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2), et le radical hydroxyle (HO^{\bullet}) qui cherchent à se stabiliser en acquérant l'électron qui leur manque (Halliwell 1995), qu'il y aura un déséquilibre entre ces derniers et les antioxydants et on appelle ça « le stress oxydatif » qui est l'origine de plusieurs maladies telle que : le cancer, l'athérosclérose, Alzheimer et la déficience du system immunitaire (Aruoma 1998).

Les sources de la provenance des espèces réactives d'oxygène sont (Halliwell 1995), (McCord 2000) :

- Sources endogènes : NADPH oxydase, Chaîne respiratoire mitochondriale, Peroxysome, Cycloxygénase, Lipoxygénase, Xanthine oxydase, Cytochrome P-450.
- Sources exogènes : Polluants, Radiations (X, UV), Xénobiotiques pro-oxydants, Cytokines pro-inflammatoires.

a) Les antioxydants

L'organisme est capable de développer des mécanismes pour limiter le stress oxydatif, les molécules qui sont capable de limiter les dommages des radicaux libres sont appelées les antioxydants, il existe deux types : enzymatique et non enzymatique (Halliwell 1995).

- Les antioxydants enzymatiques : les plus efficaces chez les mammifères et les plantes sont : la catalase, glutathion peroxydase.
- Les antioxydants non-enzymatiques : on trouve la vitamine C et E, les bêta-carotènes, les flavonoïdes et les polyphénols alimentaires.

b) Le stress antioxydant

Le stress antioxydant est un déséquilibre dans les conditions de mauvaise alimentation, d'où vient l'importance d'une alimentation riche en antioxydants (Rolland 2004). Comme il peut être défini comme un déséquilibre causé par le système de défense antioxydant suivi par une augmentation des ERO, ce qui cause l'apparition des maladies pathogènes telle que le cancer, l'arthrite...(Evans and Halliwell 1999).

La plante choisie pour ce travail doit une grande partie de capacité antioxydante aux polyphénols (Singh, Prabha et al. 2017). Ces polyphénols sont synthétisés par la voie de Shikimate qui est présente que chez les bactéries, les champignons et les plantes. (Hoffmann 2003). Sachant que les polyphénols sont des excellents piègeurs des ERO et

des très bons chélateurs des métaux de transition comme le fer et le cuivre(Guillouty 2016).

2) Etude de l'activité antimicrobienne

Chez une plante on ne parle pas d'un système immunitaire, mais plutôt de propriété antibactérienne qui est efficace contre une gamme des microorganismes.

Lorsqu'on parle d'une activité antibactérienne on cite deux types d'effets, soit une inhibition de croissance, ou une activité létale. Les plantes agissent sur la pathogénicité des bactéries par l'accumulation des composés phénoliques dans leurs couches phospholipidiques qui perturbent la couche membranaire et les échanges intercellulaires nécessaire pour la biosynthèse et la croissance(Cox, Mann et al. 2001).

Les bactéries se divisent en deux groupes : les Grams positifs et les Grams négatifs. Les positifs sont celles qui possèdent une enveloppe cellulaire constitué d'une membrane cytoplasmique et une paroi épaisse et à la fin de la coloration de Gram elles sont colorées en violet, telle : staphylococcus aureus, Bacillus asparagines, listeria Les Grams négatifs possèdent une enveloppe cellulaire avec une membrane cytoplasmique d'un périplasme et elles sont colorées en rouge à la fin de la coloration de Gram, et on trouve : *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella*... (Cox, Mann et al. 2001).

II.2 Interaction polyphénols-protéines

Les polyphénols ont plusieurs effets biochimiques et pharmacologiques, celles que les chercheurs sont intéressés est la capacité des polyphénols de se lier aux protéines. Cette interaction se fait d'une manière réversible ou irréversible en formant un système moléculaire organisé. Cette interaction s'influence par certaines conditions telles : le pH et la température.

Cependant, la plupart des recherches sur ce sujet sont basées sur l'interaction tanins-protéines.

I.2.1 Généralités sur les protéines

Les protéines sont des éléments essentielles pour la cellule, sont des macromolécules azotés formés de nombreux acides aminés unis entre eux par des liaisons peptidiques (Whitford 2005), toutes les protéines, des bactéries à l'homme sont créées de même groupe de 20 acides aminés. Elles ont un rôle : catalytique, de transport, de protection (Kamoun 2003). Elles ont quarts structures, une structure primaire, secondaire, tertiaire et quartenaire.

La structure primaire est un enchainement des acides aminés monomères, dont l'assemblage est contrôlé par un code génétique (Boumaza 2014). Les protéines peuvent adoptées une structure secondaire qui correspond aux hélices α et feuillets β (Boumaza 2014). La structure tertiaire est un repliement à l'échelle moléculaire ce qui lui donne une structure tridimensionnelle et lui confère une activité biologique (Whitford 2005).

La structure quaternaire est le niveau le plus élevé d'organisation des protéines ou l'interaction de plusieurs protéines appelé une sous-unité protéiques (Ansari and Helms 2005).

Il existe plusieurs protéines qui peuvent intervenir dans l'interaction avec les polyphénols, on trouve :

- ✓ **Caséines** : elles représentent 80 % de lait de vache, Les caséines α_1 , α_2 et β sont des phosphoprotéines, la caséine K est une phosphoglycoprotéine. Elles sont hétérogènes par rapport à leur teneur en phosphore et en sucre (Guillou, Pelissier et al. 1986).
- ✓ **La pepsine** : c'est une protéine sécrétée par la muqueuse gastrique. Elle est caractérisée par sa teneur élevée en acides aminés acides et β -hydroxylé, elle a une forme bilobée (Nalinanon, Benjakul et al. 2010).

✓ Le sérum albumine bovine (BSA) :

c'est une protéine globulaire, hydrosoluble qui est produite par le foie (Murray, Granner et al. 2003), elle est similaire à la protéine de plasma humaine (HSA), elle est nécessaire pour la distribution des fluides corporelle (Isaza, de Seigneux et al. 2012).

Son poids moléculaire est 66.43KDA, sa structure primaire est sous la forme d'un cœur, alors que sa structure secondaire est formée de 68% d'hélices α et 18% feuillets β (Bos, Labro et al. 1989). Elle est composée de 609 acides aminés, avec un faible taux de tryptophane et de méthionine, et un taux élevé de cystéine et d'acides aminés chargés (Friedli 1996).

L'albumine maintient la pression osmotique du sang à cause de sa masse moléculaire faible et sa concentration élevé, c'est un transporteur d'acide aminé soluble dans le plasma, elle a une affinité avec les composés aromatiques chargés négativement (Friedli 1996).

I.2.2 Le principe de complexation et de précipitation

L'interaction des polyphénols avec les protéines se déroule en trois étapes, commençant par l'association des polyphénols à la surface de la protéine, ce qui conduit au changement de conformation de la molécule de protéine. La deuxième étape est la formation des colloïdaux insolubles, où les polyphénols vont se lier à plusieurs molécules de protéines. Durant la dernière étape, le nombre d'interactions augmente, ce qui cause un accroissement des agrégats qui provoque leur précipitation (Jöbstl, O'Connell et al. 2004).

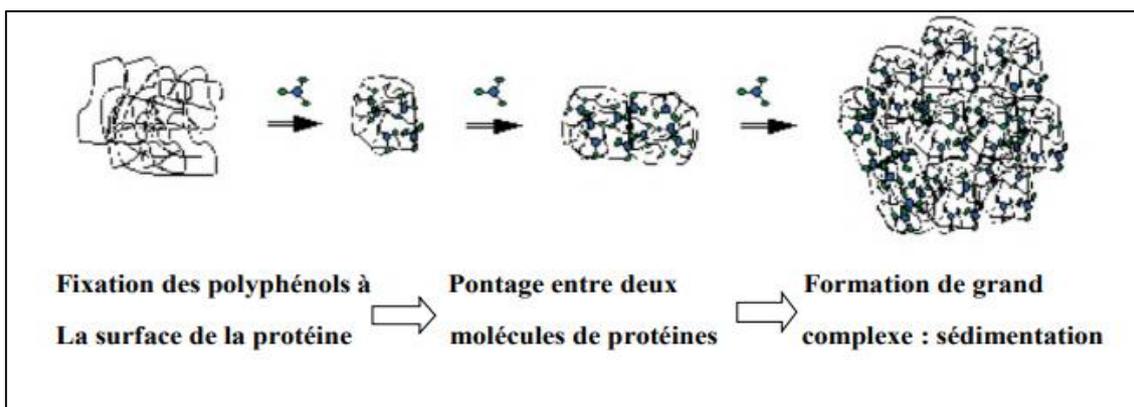


Figure 6: Principe de complexations entre les polyphénols et protéines (Jöbstl, O'Connell et al. 2004).

I.2.3 Les principaux mécanismes d'interaction

1. Les interactions hydrophobes

les protéines et les polyphénols s'orientent l'un par rapport à l'autre (Charlton, Baxter et al. 1996). Ce type d'interaction se produit entre un noyau aromatique des polyphénols et des acides aminés (Ozdal, Capanoglu et al. 2013).

2. Les liaisons hydrogènes

Ce sont la force majeure de stabilisation de complexe, ses liaisons se forment entre les groupements carboxyles des protéines et les groupements hydroxyle des polyphénols (Hagerman and Butler 1978).

3. Les liaisons ioniques

Se créent entre les ions phénolate et les cations protéiques (Croft and Foley 2008).

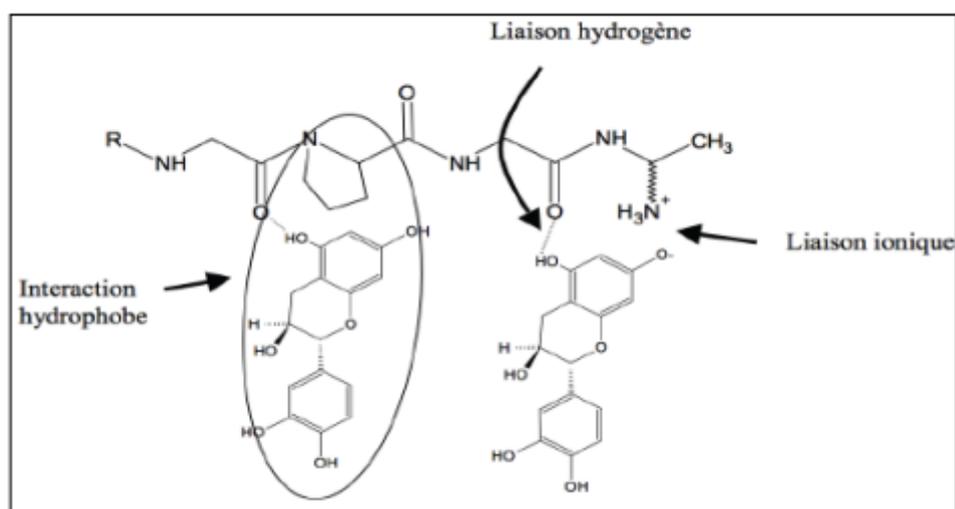


Figure 7: Liaisons non covalentes mises en jeu dans l'interaction polyphénols-protéines (Croft and Foley 2008).

I.2.4 Les types d'interaction

1) Interaction réversible

Se fait par des liaisons de faible énergie ce qui forme des complexes solubles et facile à se précipiter (Haslam, Lilley et al. 1988).

2) Interaction irréversible

C'est la formation des complexes qui contient des liaisons covalentes (Ozdal, Capanoglu et al. 2013), ce type est trouvé dans les aliments qui ont subi une transformation industrielle (Dupas 2005).

Le type le plus étudié est l'interaction réversible à cause de manque de méthodes appropriées pour la quantification des liaisons covalentes entre les molécules (Ozdal, Capanoglu et al. 2013).

I.2.5 Les paramètres influençant l'interaction entre les polyphénols et les protéines

L'interaction entre les polyphénols et les protéines est un phénomène complexe qu'il faut l'étudier de manière détaillée pour optimiser les propriétés nutritionnelles et fonctionnelles. Il existe plusieurs paramètres qui influencent sur l'interaction entre les polyphénols et protéines, ces paramètres sont classés dans deux types différents, intrinsèque et extrinsèques (Ribéreau-Gayon 1968).

I.2 Les paramètres intrinsèques

Ces paramètres sont liés à la nature des polyphénols et protéines.

- ✓ **La taille de la protéine** : joue un rôle très important, où plus une protéine est de grande taille plus le nombre de site potentielle est importante. D'après des recherches, les interactions entre les protéines et les polyphénols sont plus fortes avec quelque protéines, contrairement aux protéines où l'interaction est faible comme : épigallocatechine et la gélatine (Ribéreau-Gayon 1968).
- ✓ **Types et structure des composés phénoliques** : l'interaction entre les polyphénols et les protéines est influencé par la taille des polyphénols, lorsque la taille des polyphénols est grande, les liaisons avec les protéines augmentent ce qui favorise la complexation avec les protéines (Freitas and Mateus 2002).

II.2 Les paramètres extrinsèques

- ✓ **Le pH** : l'affinité des protéines pour les polyphénols augmente en s'approchant au pH isoélectrique de la protéine. En effet, la précipitation du complexe protéine/polyphénol augmente lorsque pH est proche de point isoélectrique (Hagerman and Butler 1978).
- ✓ **La température** : La température joué un rôle très important dans l'interaction

Entre les polyphénols et les protéines, où l'interaction augmente en augmentant la température (Siebert 2006).

- ✓ **La force ionique** : La force ionique présente un effet sur la formation de complexe entre les polyphénols et les protéines, plus la force ionique augmente plus l'interaction augmente (Hagerman and Butler 1978).
- ✓ **L'effet du sucre** : Plusieurs études ont démontré que les sucres et les polysaccharides sont capables d'interférer d'une manière compétitive avec les protéines lors de l'interaction avec les polyphénols (Simon 2003). Les polysaccharides ont la capacité d'entrer en compétition avec les polyphénols grâce à des liaisons hydrogènes ou hydrophobes (Freitas and Mateus 2002). Ils améliorent la solubilité des complexes polyphénols-protéines et diminuant la quantité d'agrégats insolubles (Haslam 1998).

Chapitre 02

Matériel et méthodes

Matériel et méthodes

II. Matériel et méthodes

II.2 Appareillage et matériels

II.1.1 Appareillage

L'appareillage utilisé durant le travail expérimental est présenté dans le tableau ci-dessus :

Tableau 2: L'appareillage utilisé afin de réaliser la partie expérimentale.

| Appareil | Référence |
|-------------------------|--|
| Ultrason | (JP SELECTA S A, 611898, Spain) |
| Bain marin | (MEMMERT WNB22, L519.0937, Germany) |
| Lyophilisateur | / |
| Centrifugeuse | (sigma3-16L, 172577, Germany) |
| Etuve | (MEMMERT, B319.0656, Germany) |
| PH mètre | (Al Amel Scientific Group, Five Easy F20, B615331415, Switzerland) |
| Balance électrique | (OHAUS, px85, B937268868, USA) |
| Vortex | (Nhita, C84181, 50681500,....) |
| Réfrigérateur | (Christ, D-37520, 22645, Germany) |
| Autoclave | (Daihan Scientific Co, Wac-80, S/N.0400930108R001, Korea) |
| Broyeur | / |
| Agitateur magnétique | (Stuart, SB162, R600002574, PRC) |
| Spectromètre UV-visible | (Optima, SP-3000nano, 5T5701-143132-00, Japan) |
| Bec benzène | / |
| Ecouvillon | / |
| Anse en platine | / |
| Boîtes de pétri | / |

II.1.2 Produits chimiques

Des différents réactifs chimiques et solvants ont été utilisés dans les expériences. Le tableau ci-dessous représente ses derniers :

Tableau 3: Réactifs chimique et solvant utilisé afin de réaliser la partie expérimentale.

| Réactif chimique et solvant | Formule chimique |
|---------------------------------|---------------------------------------|
| Ethanol | C_2H_5OH |
| Méthanol | CH_3OH |
| DPPH | <i>2,2-diphényl 1-picrylhydrazyle</i> |
| ABTS | $C_{18}H_{18}N_4O_6S_4$ |
| Phosphate de sodium monobasique | NaH_2PO_4 |
| Phosphate de sodium dibasique | Na_2HPO_4 |
| Sérum albumine bovine | / |
| D-glucose | $C_6H_{12}O_6$ |
| Chlorure de sodium | $Na\ cl$ |
| Folin-Ciocalteu | $H_3PMo_{12}O_{40}$ |
| Chlorure d'hydrogène | HCL |
| Acide ascorbique | $C_6H_8O_6$ |
| Acide acétique | CH_3COOH |
| Carbonate de sodium | Na_2CO_3 |
| Chlorure d'aluminium | $AlCl_3$ |
| Vanilline | $C_8H_8O_3$ |
| Chlorure de fer | $FeCl_3$ |

II.1.3 Matériel végétal

L'étude a été réalisée sur les fruits de *Pistacia lentiscus* L à trois différents stades de maturation, stade immature (vert et rouge) et stade mature (noir).



Figure 8 : Photographie représente la plante et les fruits de *Pistacia lentiscus* L (originale).

II.1.4 Récolte

Les fruits de lentisque ont été recueillis à la commune d'EL ARAYCHE, Wilaya de Jijel en Aout 2020 pour le stade vert, Octobre 2020 pour le stade rouge et en Novembre 2020 pour le stade noir. La situation géographique de la région de la récolte est tracée dans la carte géographique ci-dessus :

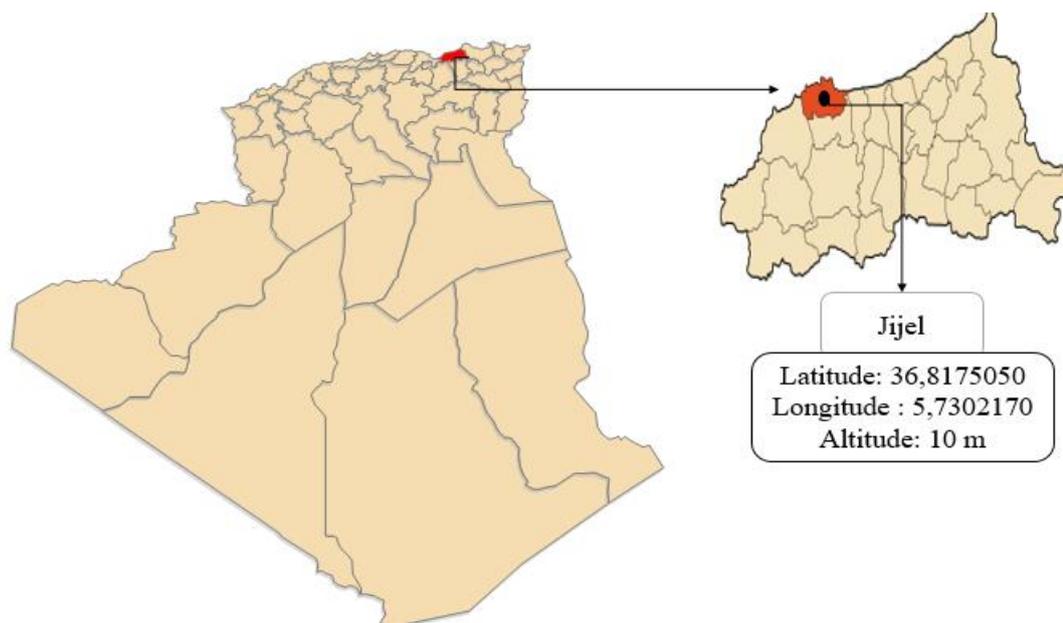


Figure 9: Carte géographique qui représente la région de la récolte de fruits de *Pistacia lentiscus* L.

II.1.5 Lavage et Séchage

Après la récolte, Les fruits de lentisque étaient bien nettoyés avec l'eau de robinet dans le but d'éliminer toute la poussière et les impuretés, après ils étaient lavés avec de l'eau distillée et essuies avec du papier absorbant, puis séchés à des différentes températures pour chaque stade : le vert, rouge et noir à 100 °C et 80 °C à l'étuve. Après séchage, la plante était conservée dans des bocaux hermétiques dans un endroit sec à l'abri de la lumière.

Le but de séchage est l'arrêt des réactions chimiques afin d'éviter la dégradation et l'oxydation des composés bioactifs, l'obtention d'un meilleur broyage et une meilleure extraction, uniformisation des taux d'humidité résiduelle des échantillons et la conservation des échantillons par l'élimination d'eau.

II.1.6 Broyage et tamisage

Le matériel végétal séché a été broyé à l'aide d'un moulin à café en poudre pour permettre une meilleure extraction, puis délipidé. Les poudres obtenues ont été tamisées par un tamis (la taille des particules < 200 µm). Ces derniers ont été ensuite utilisés pour faire une extraction par ultrason.

II.2 Méthode

II.2.1 Extraction assistée par ultrason (UAE)

➤ Principe

Les ultrasons provoquent la propagation des ondes qui entraînent des cycles de compression et de raréfaction, ce qui provoque des mouvements à l'intérieur du liquide (Mason, Paniwnyk et al. 2003).

Lors de cycle raréfaction, des bulles de cavitation vont se former à l'intérieur de liquide, jusqu'à ce qu'elles atteignent leurs dimension instable, à ce moment les bulles s'implosent et libèrent la molécule d'intérêt avec une énergie très importante, c'est le cycle de compression (Chemat 2011). Ce processus est appelé cavitation (Mason, Paniwnyk et al. 1996)

Les paramètres qui influencent cette technique sont : le solvant, la température et le temps d'extraction.

- ✓ Le solvant : joue un rôle très important pour pouvoir extraire la molécule d'intérêt, ce dernier doit avoir deux points essentiels : une affinité importante pour les molécules ciblées et grande capacité de dissolution (Chemat, Rombaut et al. 2017). Le méthanol, l'éthanol, le propanol, l'acétone, l'acétate d'éthyle ainsi que leur mélange avec l'eau sont des solvants très utilisés pour extraire les composés phénoliques (Pinelo, Del Fabbro et al. 2005; Yilmaz and Toledo 2006; Penchev, Angelov et al. 2010).
- ✓ La température : elle a plusieurs effets telle que : la diminution de la solubilité et la diffusivité dans la solution et la réduction de viscosité, elle produit moins d'énergie de cavitation due à la diminution de la tension superficielle et à l'augmentation de la pression de vapeur, elle affecte ainsi la stabilité de certains composés phénoliques (Fischer, Carle et al. 2013).
- ✓ Le temps : permettre d'arrêter l'extraction lorsque le taux de rendement d'extraction est maximal (Wen, Zhang et al. 2018).

➤ **Le protocole d'extraction**

L'extraction a été effectuée sur les fruits de lentisque (vert-rouge et noir) qui ont été séparés au niveau de laboratoire de la faculté de science de la nature et de vie-Bouira.

La poudre des fruits préalablement broyée et tamisée (200µm) et délipidée a été mise à extraction par ultrasons (JP SELECTA SA) selon le protocole de (Dahmoune, Boulekbache et al. 2013) : 1g de poudre de chaque fruit a été introduit dans trois béchers différents, mélangé avec 40ml d'un solvant hydroéthanolique (63.93%), la température a été réglé à 20°C (température ambiante) pendant 15 minutes. Les six extraits hydro-alcooliques étaient récupérés dans un premier temps, par la suite filtrés avec un papier Wattman (N° 02). Le solvant a été ensuite éliminé du filtrat par évaporation dans l'étuve (MEMMERT) à 40 °C afin d'éliminer l'éthanol et le reste de l'extrait a été congelé à une basse température (-20 °C) toute la nuit. Le lendemain, le mélange était lyophilisé dans un lyophilisateur (CHRIST Alpha 1-2 LD PLUS), les poudres des différents extraits ont été récupérées dans des eppendorfs et conservées dans le réfrigérateur (Christ) jusqu'à l'utilisation.

II.2.2 Le dosage des antioxydants

1) Dosage des polyphénols totaux

➤ Le principe

Le réactif de folin-ciocalteu, est réduit lors de l'oxydation des polyphénols, en un mélange d'oxyde bleu de tungstène et de molybdène, ce qui aide à doser les polyphénols à une longueur d'onde de 765 nm (Guillouty 2016).

➤ Mode opératoire

Cette technique est étudiée selon (Singleton and Rossi 1965).

Une concentration de 0.5mg /ml des extraits (vert-rouge-noire) est préparé est réalisé : 5mg/ml de poudre d'extrait dans 10 ml d'éthanol (63.93%). La solution de folin-ciocalteu est préparée comme suit : 1ml de folin a été ajouté à 9ml de l'eau distillée. Solution de carbonate sodium est réalisée comme suit : 7.5g de carbonate de sodium dans 100ml de l'eau distillé.

200 µl d'extrait ont été mélangé avec 1 ml de réactif de folin et incubé pendant 3 minutes à une température ambiante, après 800 µl de carbonate de sodium ont été ajouté et mélangé à l'aide d'un vortex, puis incubé pendant 30 minutes à l'obscurité à une température ambiante. La lecture est réalisée à l'aide d'un spectrophotomètre à 765nm.

Les résultats sont exprimés à partir d'une courbe d'étalonnage ($y = ax + b$), établis avec des concentrations précises de l'acide gallique, comme un standard de référence. La droite d'étalonnage est effectuée en suivant le même protocole.

Les résultats sont exprimés en microgramme d'équivalent d'acide gallique par mg d'extrait (µg EAG/ml d'extrait). La fonction linéaire de courbe d'étalonnage : $y=7,3268x+0,026$.

2) Dosage des flavonoïdes

➤ Principe

Les flavonoïdes ont la capacité de chélater les métaux comme le fer et l'aluminium (Kim, Chun et al. 2003), grâce aux groupements hydroxyles des flavonoïdes capable de donner un complexe en présence d'aluminium (trichlorure d'aluminium) (Chang, Yang et al. 2002).

➤ Le mode opératoire

Cette étude est réalisée selon (Ghafar, Prasad et al. 2010)

Une concentration de 1mg/ml des extraits (vert, rouge et noir) est préparé comme suit : 10mg /ml de poudre d'extrait a été ajouté à 10ml d'éthanol (63.93 %). La solution de trichlorure d'aluminium 2% est préparée comme suit : 2g de trichlorure d'aluminium dans 100ml de méthanol.

1ml des extraits ont été mélangés avec 1ml de de chlorure d'aluminium, mélangé avec le vortex, et incubé pendant 10 minutes à l'obscurité à une température ambiante. La lecture est réalisée à l'aide d'un spectrophotomètre à 430nm.

La quantification des flavonoïdes contenus dans les extraits des fruits de lentisque a été faite en fonction d'une droite d'étalonnage linéaire ($y = ax + b$) réalisé par un standard étalon « la Quercétine (0-40 μ g /ml) ». Les résultats sont exprimés en microgrammes d'équivalents de Quercétine par milligramme d'extrait (μ g EQ/ mg E). Fonction linéaire de courbe d'étalonnage de Quercétine : $y=35,575x+0,0061$

3) Dosage des tannins hydrolysables

➤ Principe

Les tanins hydrolysables réagissent avec le trichlorure de fer ($FeCl_3$), qui va provoquer une coloration rouge violette du complexe, cette couleur est due de la formation des ions de (Fe^{3+}) (Dif, Benchiha et al. 2015).

➤ Mode opératoire

Cette étude est réalisée selon (Dif, Benchiha et al. 2015).

Une concentration de 0.5mg/ml des extraits (vert, rouge et noir) qui ont été préparés à partir de 5mg de la poudre (vert, rouge et noir) dans 10ml d'éthanol (63,93%).

1ml des extraits (vert, rouge et noir) a été mélangé avec 3.5ml de FeCl_3 (0.01M) et incubé pendant 15 secondes, à une température ambiante à l'obscurité. La lecture est réalisée à l'aide d'une spectrophotométrie à 660 nm.

Les résultats sont exprimés en microgrammes d'équivalents d'acide tannique par milligramme d'extrait ($\mu\text{g TAE/ mg Extrait}$). Fonction linéaire de courbe d'étalonnage de l'acide tannique $Y=0,839x+0,0081$.

4) Dosage des pro-anthocyanidines

➤ Principe

Ce sont des structures plus complexes, on les appelle également les tanins condensés (Peronny 2005). Ils sont déterminés par la méthode à la vanilline en milieu acide.

Cette méthode est basée sur la capacité de la vanilline à réagir avec les unités des tanins condensés en présence d'acide pour produire un complexe coloré mesuré à 500 nm. La réaction de la vanilline avec les tanins n'implique que la première unité du polymère (Julkunen-Tiitto 1985).

➤ Mode opératoire :

Cette étude est réalisée selon (Peronny 2005).

Une concentration de 0.5mg/mL des extraits (vert, rouge et noir) qui ont été préparé à partir de 5mg des poudres (vert, rouge, noir) dans 10mL d'éthanol (63,93%). 4% de vanilline qui a été préparé à partir de 5g de vanilline dans 100ml de méthanol.

0.25mL des extraits (vert, rouge et noir) a été mélangé avec 1.5mL de vanilline (4%), après 0.75mL de HCL ont été ajouté, agité avec le vortex et incubé pendant 20 minutes à l'obscurité. La lecture est réalisée à l'aide d'un spectrophotomètre à 500 nm (Melo, Lima et al. 2006).

Les résultats sont exprimés en microgrammes d'équivalents de catéchine par milligramme d'extrait ($\mu\text{g CatE/ mg Extrait}$). La fonction linéaire de la courbe d'étalonnage de la catéchine $y=2,4387x+0,017$.

II.2.3 Etude de l'interaction polyphénols-protéines

Les polyphénols ont cette propriété interactionnelle avec les protéines, où ils forment des complexes polyphénols-protéines grâce à l'affinité des liaisons des polyphénols (Naczki, Grant et al. 2006).

Pour l'étude de ce phénomène, la BSA est utilisée comme un standard, et l'acide gallique comme un standard pour la comparaison avec l'extrait. Cette étude réactionnelle est faite en dépendance de plusieurs effets : concentration de l'extrait, concentration sucre, la force ionique et le pH.

1) Effet de la concentration d'extrait

Cette étude est réalisée selon (Naczki, Oickle et al. 1996), elle repose sur la turbidité de la solution qui contient la BSA et l'extrait.

La solution protéique d'une concentration de 0.5mg/ml est préparée comme suit : 25mg de la poudre de BSA a été mélangé à 50ml de tampon A de pH=6.9. Une gamme de concentrations des extraits (0.025M, 0.05M, 0.075M, 0.1M) a été préparée en diluant la solution mère des extraits (vert, rouge et noir) préparé comme suit : 10mg de poudre d'extrait dans 10ml d'éthanol 63.93%.

Dans des tubes à essai, 500µl des extraits ont été mélangé avec 500µl de BSA, mélangé ensuite avec le vortex et incubé pendant 1 heure à 37°C. La lecture est réalisée par un spectrophotomètre à une longueur d'onde de 280nm.

Le même protocole a été utilisé pour la préparation du standard : Acide gallique.

2) Effet du pH

Cette étude a été réalisée selon (Freitas and Mateus 2002).

La préparation de BSA est comme suit : 25mg de BSA a été mélangé à 50ml de tampon A de pH= 6.9. Une concentration de 0.5mg/ml des extraits (vert, rouge et noir) a été réalisée comme suit : 5mg de poudre des extraits solubilisé dans 10ml d'éthanol 63.93%. Des différents pH (2-7 et 9) ont été préparés comme suit : 38.5ml de Na₂PHO₄ (0.2M) a été mélangé à 11.5ml de NaH₂PO₄, les degrés de pH ont été régulés par l'ajout de HCl.

Dans des tubes à essai, 500 μ l des extraits (0.5mg/ml) ont été mélangé avec 500 μ l de BSA (0.5mg/ml), 500 μ l des différents degrés de pH, mélangé avec le vortex et incubé pendant 1 heure à 37°C. La lecture est réalisée à l'aide d'un spectrophotomètre à une longueur d'onde de 280nm.

3) Effet de concentration du sucre

L'étude de l'influence de la concentration du glucose sur l'interaction entre la plante et la protéine est réalisée selon le protocole (de Freitas, Carvalho et al. 2003).

Pour cela une gamme de concentrations de solution de glucose est réalisée (1mg/ml, 0.08 mg/ml, 0.6 mg/ml, 0.4 mg/ml, 0.2 mg/ml, 0.1 mg/ml) à partir de la solution mère qui a été préparée par 10 mg de poudre D-glucose dans 10 ml de l'eau distillée. Une concentration de 0.5 mg/ml a été préparée comme suit : 5 mg des poudres (vert, rouge, noir) dans 10ml d'éthanol (63,93%). Solution de BSA (0.5mg/ml) a été préparée comme suit : 25mg de BSA dans 50ml dans un tampon A pH=6.9.

0.5ml des extraits (vert, rouge et noir (0.5mg/ml)) a été mélangé avec 0.5ml de BSA (0.5mg/ml) après les concentrations de glucose ont été ajoutées et incubé pendant 1 heure à 37°C. La lecture est réalisée à l'aide d'un spectrophotomètre à 280nm.

4) Effet de la force ionique

L'étude de l'influence de la force ionique est réalisé selon (de Freitas, Carvalho et al. 2003).

Pour cela une gamme de concentration de solution de NaCl a été réalisée (0.1mg/mL, 0.08mg/mL, 0.06mg/mL, 0.02mg/mL, 0.004mg/mL), à partir d'une solution qui a été préparée par 1mg de NaCl dans 10mL d'eau distillée. Une concentration de 0.5mg/ml a été préparée comme suit : 5mg des poudres (vert, rouge, noir) dans 10ml d'éthanol (63,93%). Solution de BSA (0.5mg/ml) a été préparée comme suit : 25mg de BSA dans 50ml dans un tampon A pH=6.9.

0.5mL des extrais (vert, rouge et noir (0.5mg/ml)) ont été mélangé avec 0.5ml de BSA (0.5mg/ml), après l'ajout de la gamme de concentration de NaCl qui a été préparée et incubé pendant 1 heure à 37°C. la lecture a été réalisée à l'aide d'un spectrophotomètre à 280nm.

II.2.4 L'activité antioxydante

1) Test de décoloration d'ABTS*

Le test d'ABTS* est réalisé selon le protocole de Dahmoune, Spigno et al. (2014)

➤ Principe

C'est une méthode basé sur l'évaluation du degré de réduction du l'ABTS*^{•+} en présence d'un antioxydant et passe à la forme non radicalaire l'ABTS* ce qui explique la disparition de la couleur bleu verte. Sachant que le radical l'ABTS*^{•+} est généré en présence des ions de persulfate.

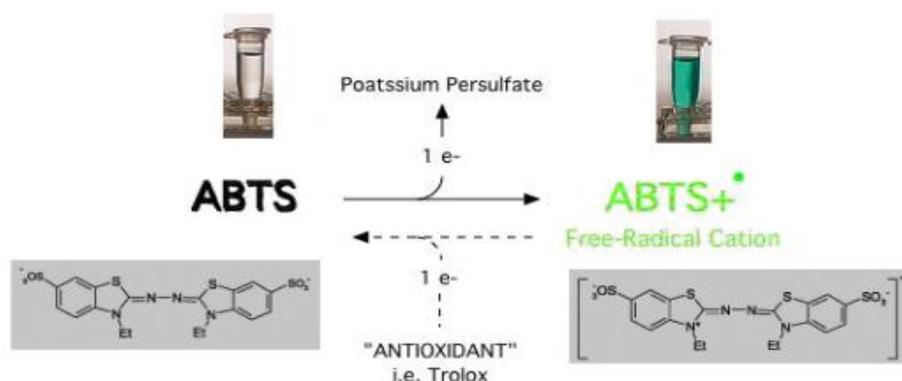


Figure 10: Réaction de l'ABTS* avec des composés antioxydants (Abdelwahed, Bouhlel et al. 2007; Boligon, Machado et al. 2014).

➤ Mode opératoire

Une gamme de concentrations des extraits des différents stades de la plante (1mg/ml, 0.5 mg/ml, 0.4 mg/ml et 0.2 mg/ml) été réalisée, la solution d'ABTS été préparée comme suit : ABTS* à 7 mM + persulfate de potassium à 2,45 mM, puis incubée à l'abri de la lumière pendant 12 à 16 heures avant l'utilisation. Cette solution a ensuite été diluée avec de l'éthanol jusqu'à une absorbance de 0.705 ± 0.02 à 734 nm.

20 μ L des extraits à des différentes concentrations ont été mélangés avec 2000 μ L de la solution diluée d'ABTS*, le mélange a été mélangé au vortex et incubé pendant 6 minutes à l'obscurité et à température ambiante, La lecture est réalisée à l'aide d'un spectrophotomètre (Optima) à 734 nm contre de l'éthanol à 63.93 %.

Les résultats sont exprimés en pourcentage d'inhibition donné par la formule suivante :

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

Le même protocole a été réalisé sauf que la gamme des extraits (vert, rouge et noir) a été remplacée par une solution qui contient :

- ✓ Essai 01 : 500µl extrait (0.5mg/ml) a été mélangé avec 500µl de BSA.

Et les résultats sont exprimés aussi en pourcentage d'inhibition selon la formule précédente.

2) Test de piégeage du radical libre DPPH*

➤ Le principe

Le 1,1 diphenyl-2-picrylhydrazyl est un radical libre stable, d'une couleur violacée, absorbe à 517nm (Talbi, Boumaza et al. 2015). Un mélange d'une solution de DPPH avec une substance donneuse d'atome d'hydrogène, antioxydante, mène à la formation d'un 2,2- diphenylhydrazine (DPPH-H), ce qui réduit et change sa couleur en virant au jaune (Brand-Williams, Cuvelier et al. 1995).

➤ Le protocole

Cette technique est décrite par (Talbi, Boumaza et al. 2015).

La solution de DPPH a été préparée en solubilisant 4mg de la poudre de DPPH dans 100ml de méthanol (à l'abri de la lumière), cette solution a été ensuite diluée avec le méthanol jusqu'à l'obtention d'une absorbance entre 0.7 et 0.8 à 517nm.

100 µL des extraits ont été mélangés avec 1300µL de la solution diluée de DPPH, le mélange a été mélangé au vortex et incubé pendant 30 minutes à l'obscurité et à température ambiante, La lecture est réalisée à l'aide d'un spectrophotomètre (Optima) à 517nm contre le méthanol.

Les résultats sont exprimés en pourcentage d'inhibition donné par la formule suivante :

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

Le même protocole est réalisé sauf que la gamme des extraits (vert, rouge, noire) a été remplacée par une solution qui contient :

- ✓ Essai 01 : 500µl extrait (0.5mg/ml) a été mélangé avec 500µl de BSA.

Et les résultats sont exprimés aussi en pourcentage d'inhibition selon la formule précédente.

II.2.5 Activité antibactérienne :

Les tests antimicrobiens ont pour but de rechercher l'activité biologique de chaque extrait (vert, rouge et noir) de fruits de lentisque. Les extraits bioactifs pourraient ainsi justifier l'usage en médecine traditionnelle des plantes dont ils sont extraits et permettre à partir du présent travail, d'ouvrir d'autres pistes pour la recherche.

➤ **Principe**

L'activité antimicrobienne des extraits (vert, rouge et noir) a été testée *in vitro* par la méthode de diffusion sur gélose (Osato, Reddy et al. 2001).

Cette méthode repose sur le même principe que celui des tests d'antibiogramme. C'est-à-dire, l'application de patches imprégnés d'extrait de plante sur des milieux de cultureensemencés de microorganismes. La présence d'une activité antimicrobienne se manifestera alors par des zones d'inhibition autour des disques.

➤ **Activité antimicrobienne des extraits**

L'activité antibactérienne des extraits a été déterminée par la méthode de diffusion en milieu gélosé citée par (Lesueur, Serra et al. 2007).

➤ **Souche bactériennes utilisée**

Ces souches proviennent du laboratoire de microbiologie du département de biologie de la faculté des sciences de la nature et de la vie et des sciences de la terre, Université de Bouira.

Deux souches bactériennes ont été testées : *Pseudomonas aeruginosa* et *Bacillus subtilis*.

➤ **Milieux de culture utilisés**

Trois milieux de culture ont été utilisés : Gélose Nutritive (GN), Gélose Mueller Hinton (MH), et l'eau physiologique stérile.

➤ **Mode opératoire**

Les deux souches bactériennes testées ont été revivifiées sur gélose nutritive (GN) en boîtes de Pétri par l'utilisation d'une méthode appelée méthode des stries et incubées à 37°C pendant 24 h.

Après la revivification, les colonies obtenues ont été prélevées à l'aide d'une anse de platine, ensuite homogénéisées avec 9 ml d'eau physiologique stérile dans un tube à essai. Des dilutions successives ont été préparées dans la même solution jusqu'à l'obtention d'une densité optique à 626nm comprise entre 0.08-0.1, cette concentration a subi par la suite une autre dilution.

Le milieu gélosé de Muller Hinton stérile et liquéfié a été coulé dans des boîtes de Pétri vides et stériles jusqu'à la solidification de milieu, 4 puits ont été faites à l'aide des embouts stériles qui ont été remplis avec 0.1 ml de : extraits éthanoliques (20mg/ml), solvant d'extraction (éthanol à 63.93%) comme témoin, BSA (50mg/ml) et le dernier puits par de l'extrait-BSA.

Par l'utilisation des écouvillons stériles, chargés de la suspension bactérienne déjà préparée, l'ensemencement par étalement a été fait. Les boîtes ont été par la suite incubées en premier lieu à 4°C pendant 30 minutes pour assurer la diffusion des extraits, puis incubées dans l'étuve à 37°C pendant 24h.

Analyse statistique

Toutes les expériences ont été menées en triple et les résultats sont exprimés en moyenne \pm standard déviation (SD). L'analyse de variance (ANOVA) a été réalisée en utilisant le logiciel JMP. Le test multiple de Tukey (HSD) a été utilisé pour comparer les moyennes des paramètres déterminés. Les évaluations étaient basées sur le seuil de signification $p < 0,05$.

Chapitre 03

Résultats et discussion

Résultats et discussion

III. Résultats et discussions

III.1 La teneur en composés phénoliques

Les analyses quantitatives des phénols, des flavonoïdes et des tannins sont déterminées à partir des équations de la régression linéaire de chaque courbe d'étalonnage exprimées successivement en μg équivalent d'acide gallique, μg de Quercétine, en μg d'acide tannique et en μg de catéchine par mg d'extrait éthanolique de *Pistacia lentiscus* L.

1) Les Polyphénols totaux

Le dosage des polyphénols totaux a été réalisé selon la méthode Folin-ciocalteu en utilisant l'acide gallique comme standard, la teneur en composés phénoliques des extraits a été calculée à partir de la courbe d'étalonnage d'acide gallique, et exprimée en milligramme d'équivalent d'acide gallique par gramme de la matière sèche (mg EAG/g. mg).

Les résultats de dosage des polyphénols totaux sont représentés dans la figure suivante :

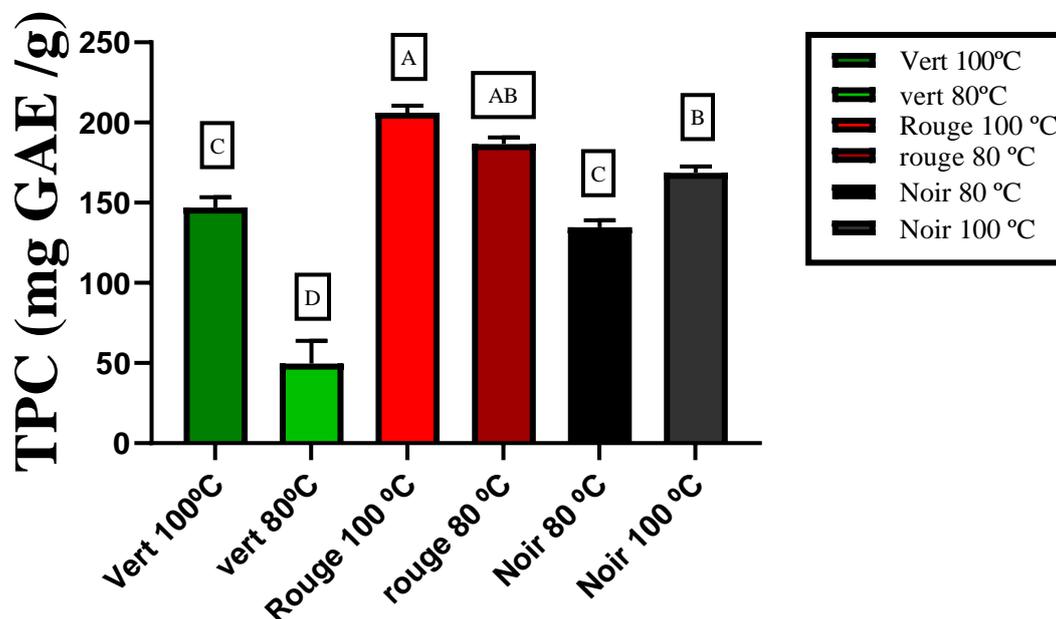


Figure 11 : Résultat de dosage des Polyphénols des fruits de *Pistacia lentiscus* L en fonction de stade de maturation.

D'après les résultats illustrés dans la figure précédente, on remarque qu'il existe une différence significative entre les extraits verts (100-80 °C), ainsi qu'entre les extraits rouges (100-80°C), et noirs (100-80 °C). On remarque aussi qu'il y a une différence non significative entre l'extrait vert 100 °C et l'extrait noir 80 °C et entre les extraits rouge 80, rouge 100 °C et noir 100 °C.

On constate ainsi que la teneur la plus élevée est enregistré dans le stade rouge 80 (206,184± 4,353µg EQ/g d'extrait), et la plus faible dans le stade vert 80 (49,589±14,20583 µg EQ/g d'extrait).

Les travaux de (Amel, Nabila et al. 2016) réalisés sur les feuilles et les fruits de *Pistacia lentiscus* ont montrés que les fruits ont une valeur de 103.342 ± 2.317 µg EQ/g d'extrait. Alors que (Toul, Belyagoubi-Benhammou et al. 2017) ont trouvés la valeur de 205.219 ± 9.974 µg EQ/g d'extrait.

(Bozorgi, Memariani et al. 2013) a prouvé que la partie aérienne de *Pistacia lentiscus* L est riche en polyphénols.

2) Les flavonoïdes

Le dosage des flavonoïdes a été réalisé selon la méthode trichlorure d'aluminium en utilisant la Quercétine comme standard, la teneur en flavonoïdes des extraits a été calculée à partir de la courbe d'étalonnage de la Quercétine, et exprimée en milligramme d'équivalent de Quercétine par g de la matière sèche (mg QE /g d'extrait)

Les résultats de dosage des polyphénols totaux sont représentés dans la figure suivante :

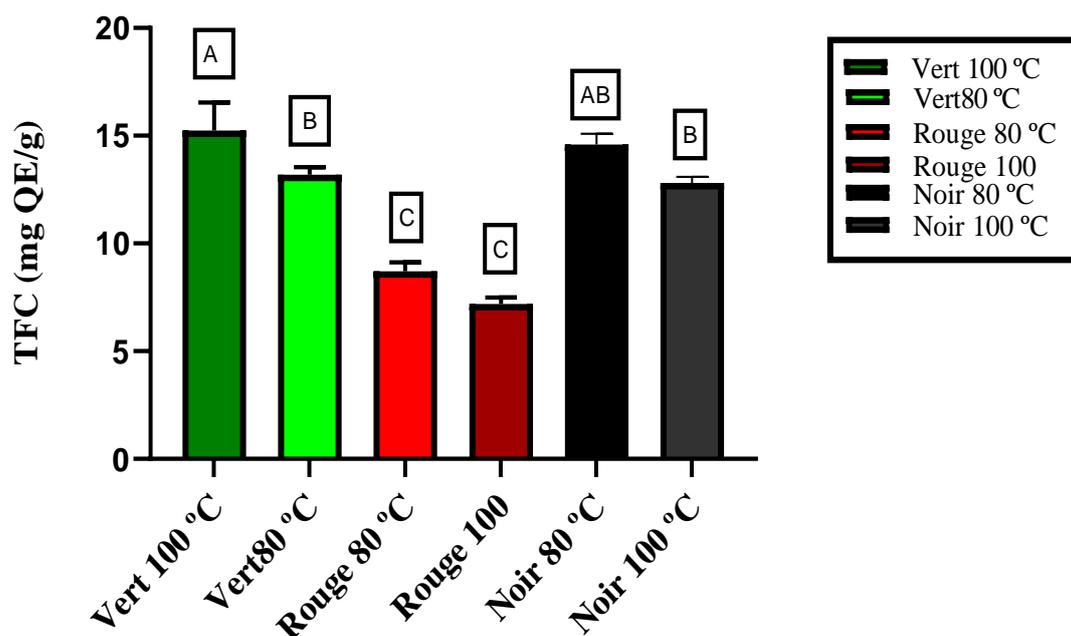


Figure 12: Résultats de dosage des Flavonoïdes des fruits de *Pistacia lentiscus* L en fonction de stade de maturation.

D'après les résultats illustrés dans la figure précédente, on remarque qu'il existe une différence significative entre les extraits verts (100-80 °C) et noirs (100-80 °C), alors qu'on observe une différence non significative entre vert 80 °C et noir 100 °C, ainsi qu'entre les extraits vert 100, vert80, noir 100 °C et noir 80 °C.

Les résultats montrent une teneur plus élevée pour vert 100 °C avec une valeur de $15,242 \pm 1,305$ mg QE /g et une faible teneur en flavonoïdes pour les rouges 100 d'une valeur de $7,184 \pm 0,310$ mg QE /g.

Une autre étude menée par (Amel, Nabila et al. 2016) sur les fruits de *Pistacia lentiscus* L a montré une teneur presque similaire d'une valeur de 7.893 ± 0.481 mg QE /g. D'autres travaux réalisés par (Amel, Nabila et al. 2016) ont trouvé une valeur de 4.696 ± 0.329 mg QE /g.

3) Dosage des Tanins hydrolysables :

Le dosage des tanins hydrolysables a été réalisé avec le trichlorure de fer (FeCl_3). En utilisant l'acide tannique comme standard, la teneur des tanins hydrolysables des extraits a été calculée à partir de la courbe d'étalonnage de l'acide tannique, et exprimée

en milligramme d'équivalent de l'acide tannique par g de la matière sèche (mg TAE/g).

Les résultats de dosage des tanins hydrolysable sont représentés dans la figure14 :

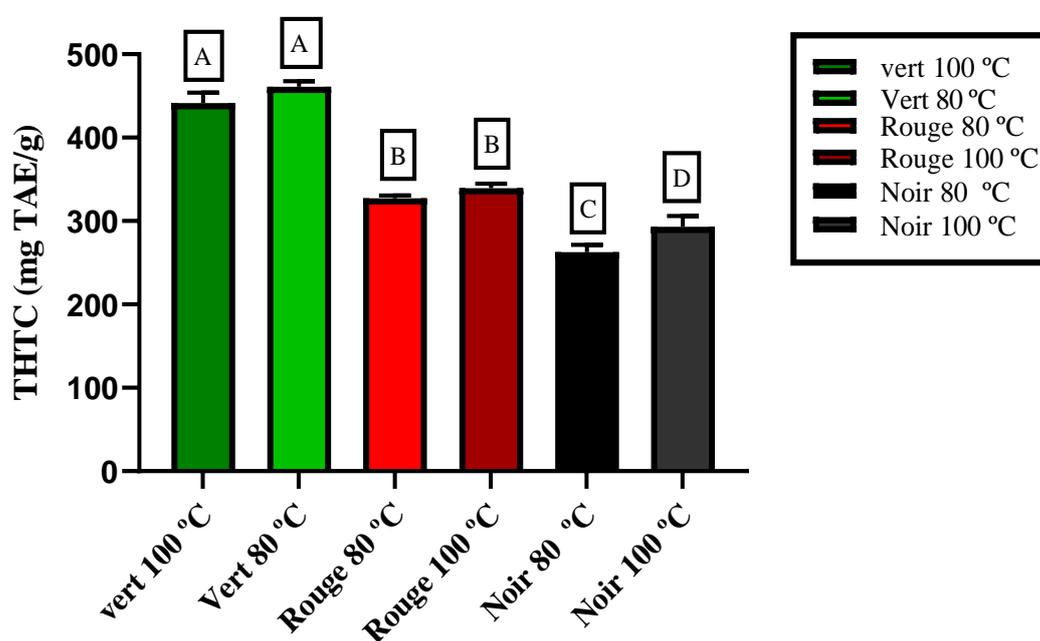


Figure 13 : Résultats de dosage des Tanins hydrolysable des fruits de *Pistacia lentiscus* L en fonction des stades de maturation.

Ces résultats indiquent la présence d'une différence non significative entre les extraits verts (100-80 °C), et entre les rouges (100-80 °C), par contre il existe une différence significative entre les extraits noirs (100-80 °C). . On remarque également que la teneur la plus élevée est enregistrée pour le extrait verts 80 (460,985±6,564 mg EAT/g d'extrait), et la plus faible est celle de extrait noir 80 (262,733±8.622mgEAT/ g d'extrait).

Ces résultats sont en accord avec les travaux (Djedaia 2017) qui ont montré que la teneur des tanins hydrolysables des fruits de lentisque est (51,54± 1,25 mg EAT/g). D'autre travaux de (Mebirouk-Boudechiche, Cherif et al. 2014) ont montré que la teneur des tanins hydrolysables est (74,62±2,03 mg EAT/g).

D'après la comparaison avec les résultats des articles (Djedaia 2017), et (Mebirouk-Boudechiche, Cherif et al. 2014), on constate que nos résultats sont meilleurs que leurs résultats.

4) Dosage des Pro-anthocyanidines :

Le dosage des Pro-anthocyanidines (tanins condensés) a été réalisé selon la méthode de la vanilline en milieu acide. En utilisant la Catéchine comme standard, la teneur des tanins condensés des extraits a été calculée à partir de la courbe d'étalonnage de la catéchine, et exprimée en milligramme d'équivalent de catéchine par g de la matière sèche (mg ECat/mg).

Les résultats de dosage des Pro-anthocyanidines sont représentés dans la figure 15 :

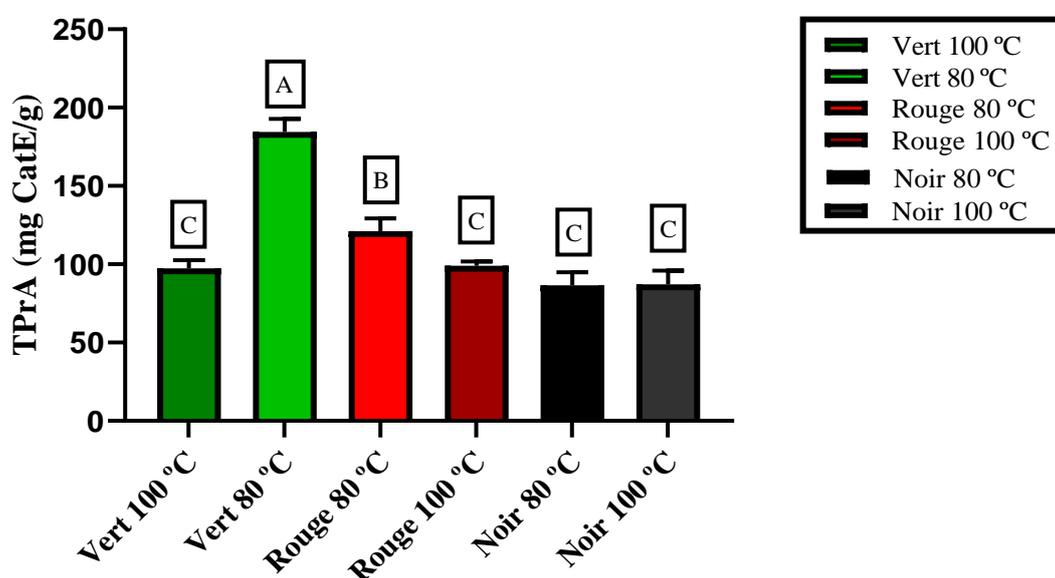


Figure 14: Résultats de dosage des Proanthocyanidines des fruits de *Pistacia lentiscus* L en fonction des stades de maturation.

Ces résultats indiquent la présence d'une différence significative entre les extraits vert et rouge 80 °C, par contre il existe une différence non significative entre les extraits noir et rouge et vert 100 °C et le noir 80 °C. On remarque également que la teneur la plus élevée est enregistrée pour l'extrait vert 80 (184,525±8,191 mg ECat/mg d'extrait), et la plus faible est celle de l'extrait noir 100 (87,205±8,817mgEAT/ g d'extrait).

Ces résultats sont presque similaires avec les travaux de (Hayat, Akodad et al. 2020) qui ont montré que la teneur en tanins condensés des fruits de *Pistacia lentiscus* L est ($258,68 \pm 4,50 \text{ ECat/ mg}$). D'autres travaux de (Amel, Nabila et al. 2016) ont montré que la teneur des fruits en tanins condensés est ($19,162 \pm 0,436 \text{ ECat/ mg}$).

III.2 Evaluation de l'étude de l'interaction polyphénols-protéines

Pour cette étude d'interaction polyphénols-protéines, une mesure de turbidité a été réalisée, des solutions contenant l'extrait et la BSA, l'extrait-BSA et glucose, Extrait-BSA et NaCl, Extrait-BSA à différents pH, ainsi que l'extrait seul et la BSA seule.

Le Choix des extraits secs pour l'étude de l'interaction

Pour le choix des extraits secs pour continuer l'étude de l'interaction, nous nous sommes fixés sur l'étude comparative entre les résultats de l'interaction polyphénols des fruits de *Pistacia lentiscus* L (mature et immature) séchés à différentes températures (100°C et 80°C) avec la protéine de la BSA.

Les résultats sont exprimés sur le graphique ci-dessus, ainsi que dans les annexes 03 :

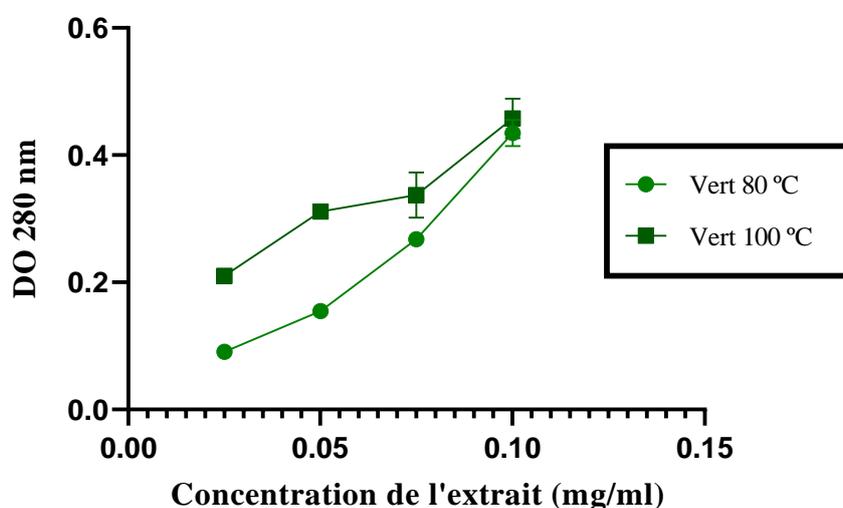


Figure 15: Résultat de la DO de l'interaction Polyphénols-Protéines de l'extrait vert (stade immature) de Lentisque à deux températures : 100°C et 80°C .

D'après les résultats illustrés dans la figure précédente et les annexes (04), on a remarqué que tous les extraits verts, rouges, et noirs où les fruits ont été séchés à 100°C , présente une meilleure turbidité par rapport aux extraits des fruits séchés à 80°C .

En comparant avec les résultats de dosages des composés phytochimiques, on a observé que les extraits des fruits séchés à la température 100°C, présentent une teneur plus élevé par rapport aux autres extraits (80 °C).

Pour cela on a choisis les fruits séchés à 100 °C, pour la réalisation de reste de travail.

1) Effet de la concentration de l'extrait

A l'issu de la mise en contact de différentes concentrations d'extraits de plantes, avec la BSA, il y a eu formation d'un trouble dans les solutions. Une mesure de la densité optique à l'aide d'un spectrophotomètre, et les résultats des absorbances correspondent à chaque dilution sont illustrés dans la figure en dessus :

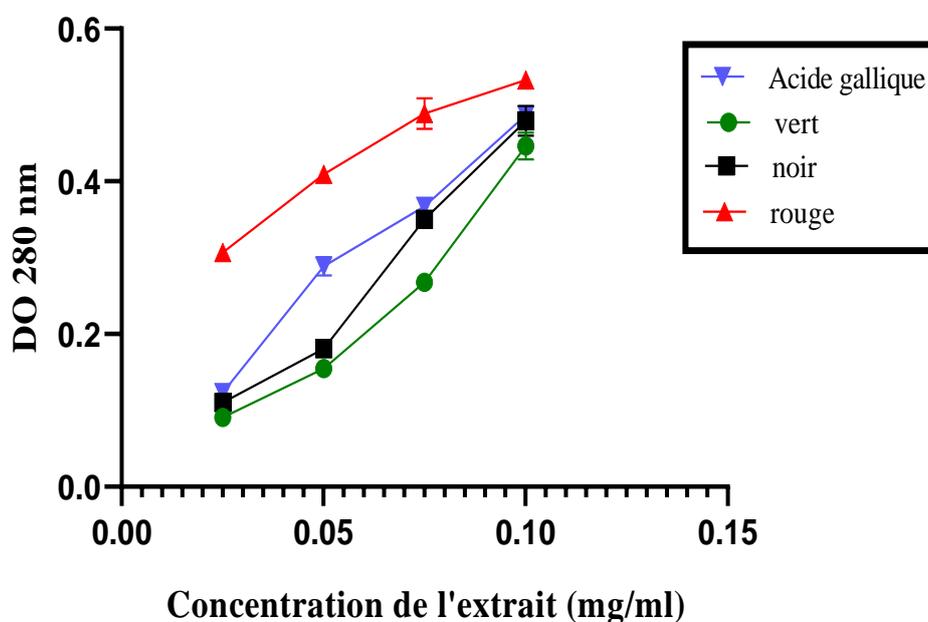


Figure 16: Variation de la DO en fonction des concentrations de l'Extrait des fruits de *Pistacia lentiscus* L.

D'après la figure, l'interaction BSA-polyphénols est réalisée par la mesure de la turbidité des solutions de mélange BSA et l'extrait hydro-éthanolique de différents stades de maturation de fruit de lentisque (vert- rouge et noir), on observe que les absorbances s'augmentent avec l'augmentation de la concentration de l'extrait. On remarque aussi que l'extrait rouge a une forte interaction par rapport aux autres extraits (explication par DO),

on peut dire que cette différence est due à la teneur élevée en polyphénols de cet extrait à ce stade (d'après les résultats de dosage).

Donc on peut constater que l'évolution de l'interaction dépend de la concentration de l'extrait. On remarque aussi l'absence de degré de saturation qui peut être expliqué par : la concentration de l'extrait n'est pas suffisante pour atteindre la saturation (Siebert 2006).

Les résultats illustrés dans la figure montrent que l'évolution de la DO est proportionnelle à la concentration de l'acide ascorbique est similaire avec tous les extraits de *Pistacia lentiscus* L.

(Simon 2003) a interprété le fait que la turbidité s'accroît avec l'augmentation de la concentration de l'extrait par la présence des sites de fixation pour les polyphénols sur la protéine, ces derniers vont se fixer sur les protéines et induisent des changements de conformation de ces dernières.

Les résultats obtenus sont similaires avec celles de (Siebert 2006), qui ont montré que la DO augmentent avec l'augmentation de la concentration de l'extrait. Ainsi que l'étude de (Carvalho, Mateus et al. 2004) a confirmé que la saturation n'est pas obtenue que lorsque la concentration de l'extrait est suffisante.

2) Effet de la concentration du glucose :

L'influence du glucose sur la formation du complexe polyphénols-protéines est Représentée dans la figure ci-après :

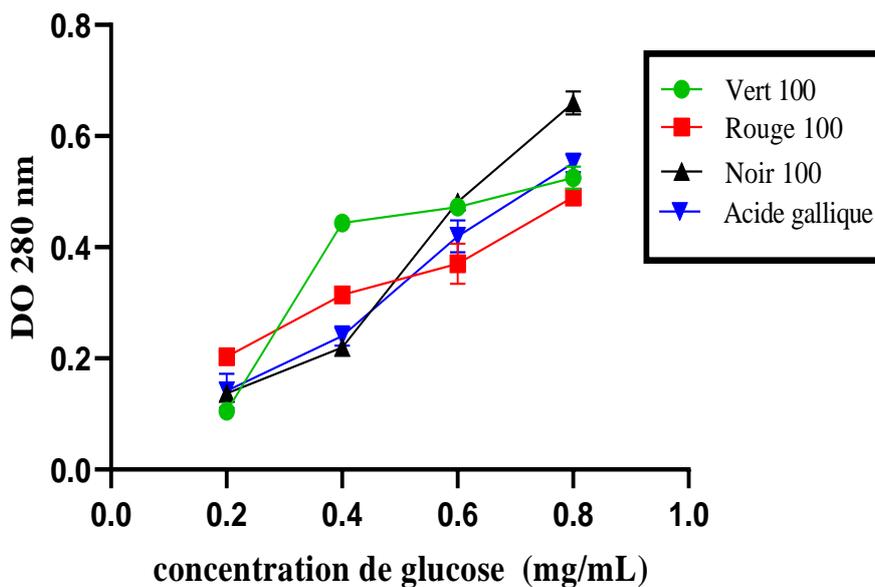


Figure 17: Variation de la DO des complexes Extraits de *Pistacia lentiscus* L (vert-rouge et noir)-BSA.

D'après les résultats illustrés dans la figure ci avant, la concentration de glucose dans les extraits étudiés influence sur l'interaction des polyphénols présents dans les fruits des extraits de *Pistacia lentiscus* L pour les différents stades de maturations (vert, rouge et noir) et la BSA, qui ont été séchés dans la température 100°C, on remarque que pour les deux conditions plus la concentration de sucre est élevée, plus l'interaction polyphénolprotéine augmente.

Les résultats illustrés dans la figure montrent que l'évolution de la DO est proportionnelle à la concentration de l'acide ascorbique. Ces résultats sont similaires avec les résultats de tous les extraits de lentisque, à l'exception de l'extrait vert, on observe qu'il y a une interaction plus élevée pour à la concentration de glucose de 0.4mg/ml par rapport à l'acide gallique et pour l'extrait noir on remarque une turbidité élevée à une concentration 0.6 à 0.8 mg/ml.

D'après nos résultats on peut constater que l'augmentation de l'interaction est dépendante de l'augmentation de la concentration du glucose.

(de Freitas, Carvalho et al. 2003) et (Mateus, Carvalho et al. 2004) ont trouvé que l'interaction protéines-polyphénols diminue en présence de glucose. Ils ont expliqué ce phénomène par que la structure de glucose à une forte affinité pour se lier avec les

polyphénols, et qu'elles sont capable d'encapsuler ces dernier, ce qui empêche leur interactions avec les protéines.

Les résultats obtenus par ces chercheurs et les résultats de notre travail sont différents. Cette différence peut être due à plusieurs variables parmi lesquelles : les conditions de séchage, la méthodologie de travail, le milieu expérimental et les réactifs utilisés.

3) Effet de la force ionique

L'influence de la force ionique est effectuée par la mesure de la turbidité des solutions de NaCl contenant le mélange BSA et l'extrait de fruits de lentisque par un spectrophotomètre.

Les résultats de l'effet de la force ionique sur la formation du complexe polyphénols-protéines sont représentés dans la figure ci-dessous :

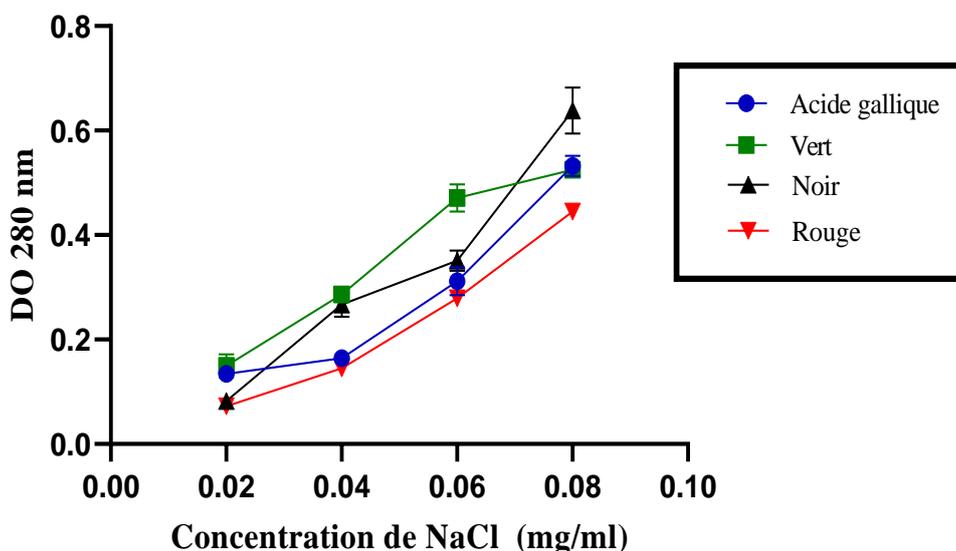


Figure 18: Variation de la DO des complexes Extraits de fruits de *Pistacia. L* (vert-rouge et noir)-BSA sous l'effet de NaCl.

D'après les résultats illustrés dans la figure, la concentration de la force ionique (NaCl) dans les extraits étudiées influence sur l'interaction des polyphénols présents dans les fruits des extraits de fruits de lentisque et la protéine (BSA), pour les différents stades de maturation (vert, rouge et noir), on remarque que plus la concentration de NaCl augmente, plus l'interaction Polyphénol-Protéine augmente.

Les résultats illustrés dans la figure montrent que l'évolution de la DO est proportionnelle à la concentration de l'acide gallique est similaire pour tous les extraits,

sauf qu'il y a une interaction plus élevée pour le stade vert (immature), lorsque la concentration de NaCl est de 0,06mg/ml par rapport à l'acide gallique.

Donc on peut constater que l'augmentation de l'interaction est dépendante de l'augmentation de la concentration de NaCl.

Les résultats obtenus dans la figure précédente, sont en accord à ceux montrés par (de Freitas, Carvalho et al. 2003), qui ont démontrés qu' à une faible concentration de NaCl, la densité optique est très faible ce qui exprime qu'il n'a aucun effet sur l'interaction entre polyphénol et la protéine (BSA), et à des fortes concentrations de NaCl, la charge globale de la protéine s'augmente par les ions qui provoquent l'augmentation des répulsions électrostatiques entre les protéines ce qui provoque la diminution de la turbidité du complexe.

D'autres travaux de (Hagerman, Riedl et al. 1998), ont montré que l'interaction entre les polyphénols et la protéine (BSA), dépend fortement des critères ioniques du milieu réactionnel.

(de Freitas, Carvalho et al. 2003), ont démontré que les ions de NaCl peut se fixer sur le complexe polyphénol-protéine, qui va former ce dernier une monocouche des ions qui va permet de former des interactions hydrophiles, ce qui exprime la solubilité de complexe et la diminution de la densité optique. Il reste difficile de savoir si l'effet de la force ionique est lié à des modifications de conformation des protéines ou des polyphénols.

4) Effet de pH

Le pH de la solution est l'un des paramètres les plus importants. Il contrôle le degré des groupements des chaînes latérales des protéines. Pour cette étude on a choisi trois Tampon phosphate différents : un Tampon phosphate à pH acide (pH=2), Tampon phosphate à pH neutre (pH=7) et un Tampon phosphate à pH basique (pH=9).

Les variations d'absorption du complexe Extrait de plante-BSA en fonction de pH sont représentées dans la figure suivante :

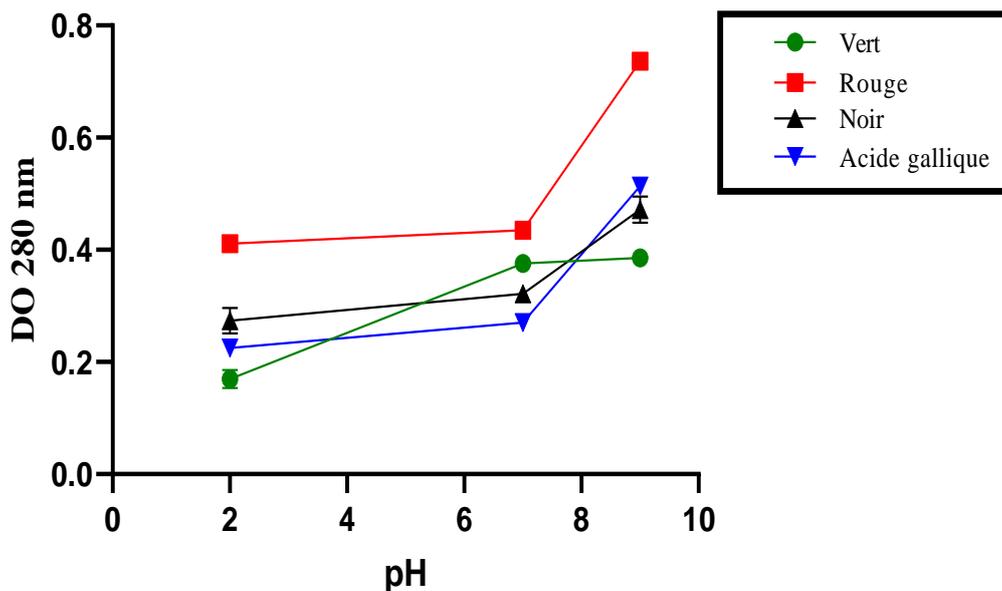


Figure 19: Variation de la DO des complexes Extraits de fruits de *Pistacia. Lentiscus L* (vert-rouge et noir)-BSA dans un tampon phosphate à différents pH.

D'après la figure précédente, on observe une augmentation croissante de turbidité des solutions des différents extraits (vert-rouge et noir) en degré de pH à l'intervalle 4-9. On remarque aussi que l'extrait rouge présente une augmentation élevée par rapport aux autres extraits vert et noir en augmentant le degré de pH. On constate ainsi que l'évolution de la DO de l'acide gallique est proportionnelle au degré de pH, ce qui est presque similaire avec tous les extraits de fruits de lentisque.

Les résultats montrent que les interactions entre les extraits (vert, rouge et noir)-BSA en présence d'un tampon phosphate à différents pH sont dépendantes au degré de pH. Cette augmentation pourrait être expliquée par l'augmentation de l'absorbance de la BSA et qui pourrait être aussi attribuée à la formation des complexes.

Nos résultats sont presque similaires avec les résultats des travaux de (Hagerman and Butler 1981) qui suggèrent que la BSA est une protéine globulaire qui se précipite à un intervalle de pH de 3 à 6 d'une manière générale.

III.3 Evaluation de l'activité antioxydante *In vitro* des extraits de *Pistacia lentiscus* L

1) Test de décoloration de radical ABTS*

Dans cet essai le cation radical stable d'ABTS est oxydé par l'ajout de potassium persulfate qui lui donne une coloration bleu-verte, la présence des antioxydants neutralise le radical et provoque une décoloration du milieu, par l'apport d'hydrogène ou d'électron au radical (Brand-Williams, Cuvelier et al. 1995; Re, Pellegrini et al. 1999).

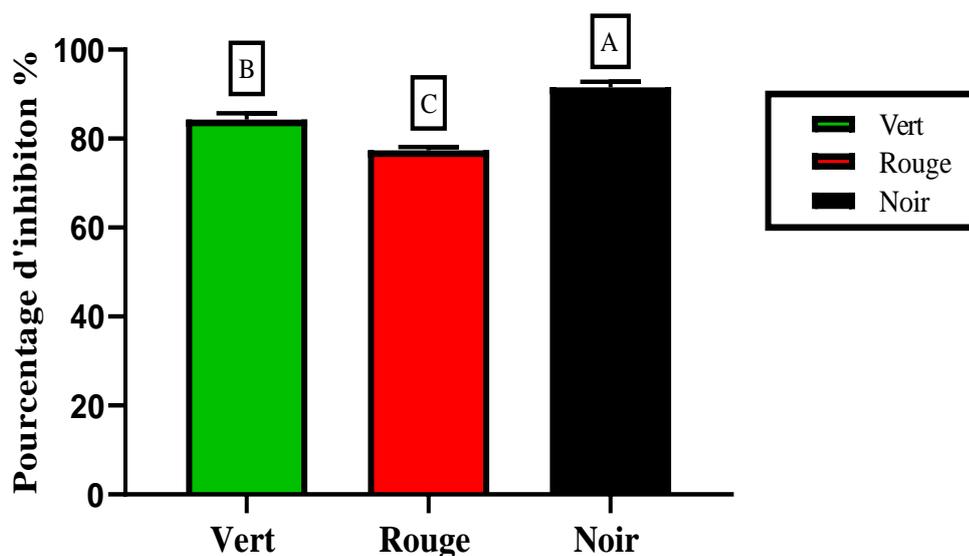


Figure 20: Pourcentage d'inhibition des Extraits de fruits de lentisque (vert- rouge et noir) par la technique de décoloration d'ABTS*.

D'après les résultats observés dans le graphe de la figure 20, on déduit une variation du pourcentage d'inhibition des extraits vert, rouge et noir sur le radical ABTS*, une différence significative d'activité est aperçue chez les extraits vert, rouge et noirs.

La plus forte activité parmi les trois extraits qui ont une différence non significative a été enregistrée chez l'extrait noir 80 avec $91.525 \pm 1.231\%$ et la plus faible a été enregistrée chez l'extrait rouge avec $77.354 \pm 0.778\%$.

A cause de différents conditions de travail, en utilisant les extraits des fruits de *Pistacia lentiscus* L (stade immature : vert-rouge et stade mature noir), la littérature leurs accrédite une activité supérieure dans le stade immature (le rouge) avec $40.918 \pm 2.42\%$

(Chelghoum, Guenane et al. 2020). Nos résultats paraient meilleurs que les résultats obtenus par ces chercheurs, cette différence peut-être due au milieu et la technique d'extraction.

Dans une autre étude similaire, (Botsaris, Orphanides et al. 2015) ont montrés des résultats similaires avec nos résultats avec un taux d'inhibition de $92\pm 3.9\%$.

2) Test de piégeage du radical libre DPPH*

Le DPPH est caractérisé par son adaptation à plusieurs échantillons dans une courte dur, aussi il est assez sensible pour détecter les ingrédients actifs à des basses concentrations, à cet effet, il a été employé pour le criblage des activités antiradicalaires des extraits végétaux.

L'activité anti-radicalaire des fruits de lentisque à différents stades de maturation *in vitro* a été évaluée par la mesure de pourcentage d'inhibition (%). Les résultats sont exprimés dans la figure suivante :

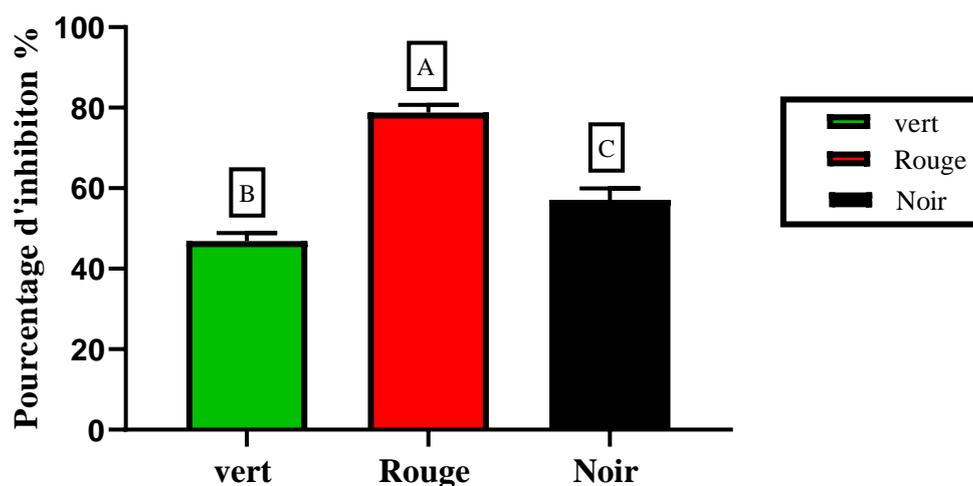


Figure 21: Pourcentage d'inhibition des différents Extraits de fruits de *Pistacia lentiscus* L par la technique de DPPH.

Le graphe montre que les trois extraits ont une différence significative. La plus forte activité a été enregistrée chez l'extrait rouge avec $78.829\pm 2.809\%$, la plus faible a été enregistrée chez le vert avec $46.847\pm 1.997\%$.

Des travaux similaires réalisés sur les huiles essentielles des fruits rouges et noirs de lentisque, ils ont enregistrés un pourcentage d'inhibition de $90.62\pm 1.66\%$ (SID, DIB et

al. 2018). Et (Botsaris, Orphanides et al. 2015) a enregistré un taux d'inhibition de $70.2\pm 5.3\%$.

Dans une étude similaire, les résultats de l'activité antioxydante évaluée par les mêmes méthodes ABTS et DPPH obtenue par (Bouyahya, Assemian et al. 2019), montrent que les fruits immatures de lentisque ont une capacité antioxydante plus forte que les feuilles.

III.3.1 Effet de l'interaction sur l'activité antioxydante des extraits de *Pistacia lentiscus* L

1) Test de décoloration de radical ABTS*

Afin de savoir l'effet de l'interaction polyphénol-BSA sur l'activité antioxydante, on a suivi le même décrit par (Brand-Williams, Cuvelier et al. 1995; Re, Pellegrini et al. 1999), avec un changement de la solution des extraits où on a ajouté la BSA. Les résultats sont exprimés dans la figure suivante :

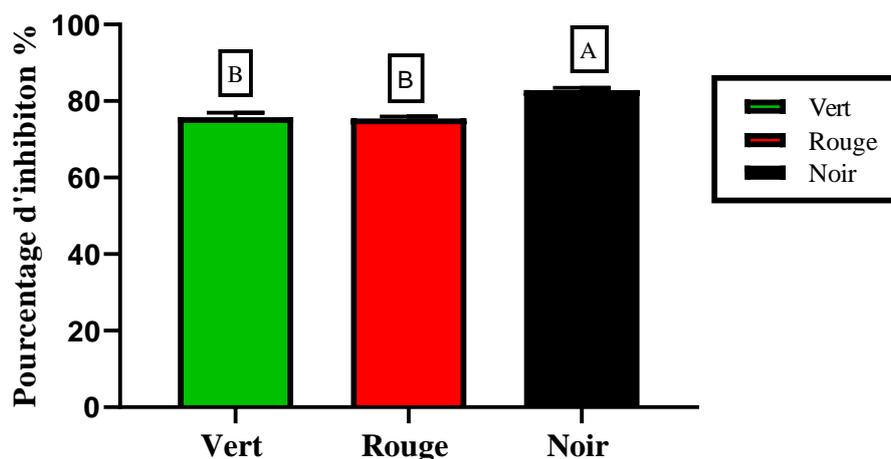


Figure 22: Pourcentage d'inhibition des différents Extraits de fruits de lentisque- BSA par la technique de décoloration de radical ABTS*.

D'après la figure, on observe une différence significative entre les extraits : vert, rouge et rouge, et une différence non significative pour les deux extraits vert et rouge. La plus forte activité a été enregistrée pour le stade noir avec un pourcentage d'inhibition $82.886\pm 0.557\%$ et la plus faible chez l'extrait rouge avec $75.436\pm 0.516\%$.

On comparant ces résultats avec les résultats précédents enregistrés quand l'extrait était seul, on remarque une légère augmentation pour les extraits verts, rouges et noirs.

2) Test de piégeage du radical libre DPPH*

Dans cet essai, on a utilisé le même protocole, en ajoutant de la BSA aux extraits. Les résultats obtenus sont mentionnés dans la figure ci-dessus :

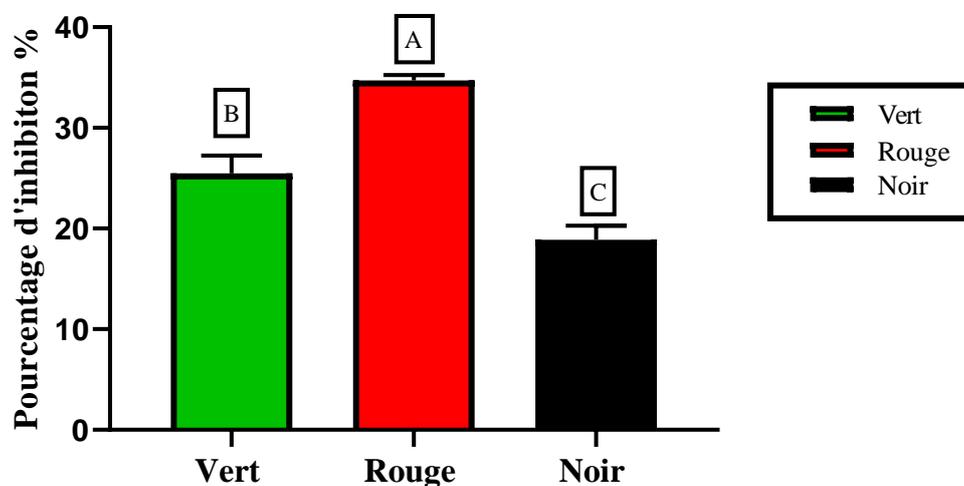


Figure 23: Pourcentage d'inhibition des différents Extraits de fruits *Pistacia lentiscus* L-BSA par la technique de DPPH*.

Le graphe montre une différence non significative entre les extraits vert, rouge et noir. Une forte activité a été observée chez l'extrait rouge avec $34.72 \pm 0.52\%$, la plus faible a été enregistrée chez l'extrait noir avec un pourcentage d'inhibition $18.89 \pm 1.39\%$.

On comparant ces résultats avec les résultats précédents enregistrés quand l'extrait était seul en utilisant le test de DPPH*, on remarque une diminution de pourcentage d'inhibition pour tous les stades.

➤ Discussion des résultats de l'effet de l'interaction sur l'activité antioxydante

Des travaux presque similaires ont démontrés que le complexe protéine-polyphénol, présente une activité plus forte que quand les polyphénols ou les protéines sont tous seuls (Quan, Benjakul et al. 2019).

(Jiang, Zhang et al. 2018), a ajouté que la capacité de piégeage des radicaux libres était augmentée avec l'ajout du lactosérum et la caséine aux composés phénoliques.

(Tsai and She 2006), Ont aussi documentés que l'activité antioxydante des protéines a augmentée après l'ajout des composés phénoliques.

Nos résultats de test de décoloration d'ABTS* sont similaires avec les résultats de ces travaux cités ci-dessus, donc on peut déduire que l'interaction polyphénols-protéines augmente l'activité antioxydante de ces derniers.

III.4 Evaluation de l'activité antibactérienne de l'extrait de *Pistacia lentiscus* L

La propriété antibactérienne de l'extrait hydro-alcoolique de *Pistacia lentiscus* L a été évaluée vis-à-vis deux souches bactériennes Gram positif et Gram négatif qui sont les suivantes : *Pseudomonas aeruginosa* et *Bacillus subtilis*. Par la méthode de diffusion sur gélose, l'estimation de cette activité a été mesurée par l'évaluation des zones d'inhibition (cm).

➤ Résultats de l'activité antibactérienne de *Pistacia lentiscus* L à différents stades de maturation

Après une observation quantitative, on a renseigné sur l'effet des extraits organiques à partir de calcul de diamètres des zones d'inhibition apparus.

Tableau 4: Les zones d'inhibitions (cm) des extraits des fruits de la plante *Pistacia lentiscus* L à différents stades de maturation (vert, rouge et noir), sur les bactéries à Gram positif et à Gram négatif.

| | Gram positif | | | Gram négatif | | |
|---------------------|--------------------------|------|------|-------------------------------|------|------|
| | <i>Bacillus subtilis</i> | | | <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | | |
| Extrait vert | 0,3 | 0,6 | 0,4 | 0,4 | 0,4 | 0,3 |
| Extrait rouge | 0,5 | 0,1 | 0,3 | 0,4 | 0,5 | 0,45 |
| Extrait noir | 0,6 | 0,3 | 0,5 | 0,6 | 0,4 | 0,5 |
| Extrait vert +BSA | 0,1 | 0,2 | 0,25 | 0,2 | 0,3 | 0,2 |
| Extrait rouge + BSA | - | - | - | - | - | - |
| Extrait noir+ BSA | 0,3 | 0,32 | 0,34 | 0,21 | 0,28 | 0,25 |
| BSA | - | - | - | - | - | - |
| Ethanol | - | - | - | - | - | - |

(-) : indique une absence d'inhibition (absence de l'activité antibactérienne).

1) Résultat de l'activité antibactérienne la Bactérie à Gram négatif

Une sensibilité a été enregistrée pour l'espèce *Pseudomonas aeruginosa* devant les fruits de la plante de *Pistacia lentiscus* L à différents stades de maturation (vert, rouge et noir), cette sensibilisation sensibilité a été observée seulement pour les extraits hydro-éthanoliques de *Pistacia lentiscus* L.

La meilleure inhibition marquée pour *Pseudomonas aeruginosa* a été (5,00±1,00) mm, et la plus faible zone d'inhibition est de 3,66±0,57 mm, mais elle n'a pas montré une activité avec Extrait-BSA, Ethanol et BSA.

4. Résultat de l'activité antibactérienne la Bactérie à Gram positif

La souche à Gram positif *Bacillus subtilis*, a été sensible seulement aux extraits hydro-alcooliques des fruits de *Pistacia lentiscus* L à différents stades de maturation (vert, rouge et noir). On remarque l'absence de l'activité pour les extraits-BSA, éthanol seul et la BSA seule.

La meilleure zone d'inhibition marquée par *Bacillus subtilis* est de $(4,66 \pm 1,52)$ mm, et la plus faible zone d'inhibition est de $(3,00 \pm 2,00)$ mm.

➤ Discussion des résultats de l'activité antibactérienne de l'extrait de *Pistacia lentiscus* L

Plusieurs études ont montrés l'efficacité potentielle des extraits de fruits de *Pistacia lentiscus* contre de nombreux agents pathogènes. (Nabila, Fawzia et al. 2008), On a trouvé que l'extrait éthanolique de fruits de *Pistacia lentiscus* L est actif contre des bactéries pathogènes à Gram positif et à Gram négatif.

L'activité antibactérienne des fruits de la plante *Pistacia lentiscus* L a été documentée dans plusieurs recherches scientifiques a l'occurrence celle de (Mezni, Aouadhi et al. 2015) qui ont trouvés une zone d'inhibition de $(9,33 \pm 0,003)$ mm. (Bammou, Daoudi et al. 2015) Ont trouvés une zone d'inhibition de $10 \pm 1,00$ mm.

D'après notre expérimentation sur l'efficacité antibactérienne des fruits de lentisque à différents stades de maturation (vert, rouge et noir), notre étude a présenté un résultat plus faible par rapport aux résultats des travaux cités ci-dessus, cela est peut être dû à l'utilisation d'une faible concentration des extraits.

A decorative scroll frame with an orange border and grey scroll tabs at the corners. The word "Conclusion" is written in a cursive font in the center of the scroll.

Conclusion

Conclusion

Les plantes médicinales sont toujours une source fiable des molécules bioactives. Ces molécules isolées à partir de ces plantes médicinales, sont intéressantes pour qu'elles soient utilisées comme une thérapie alternative ou un modèle pour la synthèse des nouvelles substances bioactifs.

Dans un premier lieu, l'extraction de leurs métabolites secondaires depuis les fruits de lentisque à différents stades de maturation (vert, rouge et noir) a été faite à l'aide d'un solvant hydro-éthanolique 63,93% par la technique d'extraction assistée aux ultrasons.

Les tests phytochimiques effectués sur les extraits ont révélés la présence en quantités relativement importantes de métabolites secondaires d'intérêt biologiques et thérapeutiques :

Phénols totaux ($206,184 \pm 4,353$ mg TAE/g) pour l'extrait rouge 80 °C, Flavonoïdes ($15,242 \pm 1,305$ mg EQ/g) pour l'extrait vert 100°C et les Tanins hydrolysables ($460,985 \pm 8,622$ mg EAT/g) pour le vert 80 °C et les Proanthocyanidines avec ($184,525 \pm 8,191$ mgECat/g) pour le rouge 80 °C, la détermination quantitative de ces différentes classes phénoliques est en partie confirmée, par une étude spectrale UV-Visible.

Les polyphénols de fruits de lentisque possèdent une grande affinité de liaison pour la protéine (sérum albumine bovine), L'étude portée sur l'interaction Polyphénols-BSA a révélée l'influence de la concentration de l'extrait, la force ionique, le sucre et le pH sur l'interaction.

L'évaluation de l'activité antioxydante a été déterminée par deux tests ABTS, DPPH. Les résultats de ces tests ont révélé une capacité antioxydante variable entre les extraits éthanoliques des fruits à différents stades de maturation, les résultats qui sont respectivement $91.525 \pm 1.231\%$, $82.432 \pm 4.414\%$. L'effet de l'interaction sur ces activités est que le pourcentage d'inhibition augmente avec l'augmentation des interactions Polyphénols-Protéines.

L'activité antibactérienne a été estimée par la méthode de diffusion sur un milieu gélosé par puits. D'après la lecture des résultats des zones d'inhibition, on a conclu que les extraits des fruits de lentisque ont bien montré une activité inhibitrice des bactéries

pour les souches utilisées avec des zones d'inhibition qui allait entre 3 et 5 cm soit pour le Gram positif ou négatif.

La richesse des fruits de lentisque en composés phénoliques, permet l'utilisation de cette plante en médecine traditionnelle. En effet, ces composés sont largement utilisés pour diagnostiquer les maladies virales, antispasmodiques, anti-tumorales, anti agrégation plaquettaires, antiallergiques, hypocholestérolémiantes, anti-inflammatoires, anti-hypertensives et antimicrobiennes.

En perspectives, il serait intéressant d'apporter des informations supplémentaires sur les caractères avantageés des fruits de lentisque d'une façon palpable et perceptible, avant de s'en servir dans la médecine actuelle et les traitements des maladies.

D'autres facettes intéressantes et utiles à explorer et étudier sont :

- ✓ La détermination des sites de liaison des Polyphénols avec la BSA, et comprendre leurs mode d'action.
- ✓ La mise en évidence de cette interaction en RMN, Infrarouge et Fluorescence serait une approche complémentaire.
- ✓ Tester d'autres paramètres qui peuvent influencer cette interaction, telle que : la température, le rapport molaire, l'acidité et le changement de la protéine.
- ✓ Caractérisation des extraits des fruits de lentisque par des méthodes chromatographiques.
- ✓ Etude de l'interaction des Polyphénols majoritaires avec les Protéines.
- ✓ Etude bio-informatique de l'interaction (Docking Moléculaire).
- ✓ Approfondir l'étude antibactérienne des extraits sans ou avec interaction.

Références bibliographiques :

- Abdelwahed, A., I. Bouhleb, et al. (2007). "Study of antimutagenic and antioxidant activities of Gallic acid and 1, 2, 3, 4, 6-pentagalloylglucose from *Pistacia lentiscus*: Confirmation by microarray expression profiling." *Chemico-biological interactions* **165**(1): 1-13.
- Amel, Z., B.-B. Nabila, et al. (2016). "Assessment of phytochemical composition and antioxidant properties of extracts from the leaf, stem, fruit and root of *Pistacia lentiscus* L." *Int. J. Pharmacogn. Phytochem. Res* **8**: 627-633.
- Ansari, S. and V. Helms (2005). "Statistical analysis of predominantly transient protein–protein interfaces." *Proteins: Structure, Function, and Bioinformatics* **61**(2): 344-355.
- Aruoma, O. I. (1998). "Free radicals, oxidative stress, and antioxidants in human health and disease." *Journal of the American oil chemists' society* **75**(2): 199-212.
- Bammou, M., A. Daoudi, et al. (2015). "Valorisation du lentisque «*Pistacia lentiscus* L.»: Étude ethnobotanique, Screening phytochimique et pouvoir antibactérien." *Journal of applied biosciences* **86**: 7966–7975-7966–7975.
- Bandyopadhyay, P., A. K. Ghosh, et al. (2012). "Recent developments on polyphenol–protein interactions: effects on tea and coffee taste, antioxidant properties and the digestive system." *Food & function* **3**(6): 592-605.
- Barus, C. (2008). *Etude électrochimique de molécules antioxydantes et de leur association en milieux homogène et biphasique: application aux produits dermocosmétiques*, Toulouse 3.
- Bayart, M. (2019). "Élaboration et caractérisation de biocomposites à base d'acide polylactique et de fibres de lin: compatibilisation interfaciale par dépôt de revêtements à base d'époxy, de dioxyde de titane, de lignine ou de tanin."
- BELHACHAT, D. (2019). *Etude phytochimique des extraits de Pistacia lentiscus (L.) activité antioxydante et antimicrobienne.*
- Bellakhdar, J. (2013). *Le Maghreb à travers ses plantes: plantes, productions végétales et traditions au Maghreb*, Editions Le Fennec.

- Benmeggoura, R., A. Zerroukhi, et al. (2021). "Contribution à l'étude phytochimique et l'activité antioxydante et antibactérienne de quelques extraits de *Pistacia lentiscus* L de l'Est Algérien."
- Beta, T., S. Nam, et al. (2005). "Phenolic content and antioxidant activity of pearled wheat and roller-milled fractions." **82**(4): 390-393.
- Bézanger-Beauquesne, L. and M. Pinkas (1964). "Plantes médicinales de la région du Nord (Nord, Pas-de-Calais, Somme)." *Bulletin de la Société Botanique de France* **111**(sup3): 380-404.
- Boligon, A. A., M. M. Machado, et al. (2014). "Technical evaluation of antioxidant activity." *Med chem* **4**(7): 517-522.
- Bos, O., J. Labro, et al. (1989). "The molecular mechanism of the neutral-to-base transition of human serum albumin: Acid/Base titration and proton nuclear magnetic resonance studies on a large peptic and a large tryptic fragment of albumin." *Journal of Biological Chemistry* **264**(2): 953-959.
- Botsaris, G., A. Orphanides, et al. (2015). "Antioxidant and antimicrobial effects of *Pistacia lentiscus* L. extracts in pork sausages." *Food technology and biotechnology* **53**(4): 472-478.
- Boumaza, S. (2014). *Evaluation rapide des protéines par turbidimétrie: Application à quelques effluents agro-alimentaires avant et après un traitement de clarification*, Université Badji Mokhtar.
- Bouyahya, A., I. C. C. Assemian, et al. (2019). "Could volatile compounds from leaves and fruits of *Pistacia lentiscus* constitute a novel source of anticancer, antioxidant, antiparasitic and antibacterial drugs?" *Industrial Crops and Products* **128**: 62-69.
- Bozorgi, M., Z. Memariani, et al. (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* **2013**.
- Brand-Williams, W., M.-E. Cuvelier, et al. (1995). "Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity." *LWT-Food Science and Technology* **28**(1): 25-30.
- Brand-Williams, W., M.-E. Cuvelier, et al. (1995). "Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity." **28**(1): 25-30.
- Carvalho, E., N. Mateus, et al. (2004). "Flow nephelometric analysis of protein-tannin interactions." *Analytica Chimica Acta* **513**(1): 97-101.

- Chang, C.-C., M.-H. Yang, et al. (2002). "Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods." *Journal of food and drug analysis* **10**(3).
- Charlton, A. J., N. J. Baxter, et al. (1996). "Tannin interactions with a full-length human salivary proline-rich protein display a stronger affinity than with single proline-rich repeats." *FEBS letters* **382**(3): 289-292.
- Chekchaki, N., A. Boumendjel, et al. (2015). "Effets anti-inflammatoires de *Pistacia lentiscus* dans un modèle d'asthme expérimental." *Revue Française d'Allergologie* **55**(3): 269.
- Chelghoum, M., H. Guenane, et al. (2020). "Total Tocopherols, carotenoids, and fatty acids content variation of *Pistacia atlantica* from different organs' crude oils and their antioxidant activity during development stages." *Chemistry & Biodiversity* **17**(9): e2000117.
- Chemat, F. (2011). *Eco-extraction du végétal*, Dunod.
- Chemat, F., N. Rombaut, et al. (2017). "Ultrasound assisted extraction of food and natural products. Mechanisms, techniques, combinations, protocols and applications. A review." *Ultrasonics sonochemistry* **34**: 540-560.
- Coste, E. (2015). *Trente-sept plantes chinoises (Magnoliidae, Ranunculidae, Asteridae): caractères botaniques, étude pharmacologique et intérêt thérapeutique*.
- Cowan, M. M. (1999). "Plant products as antimicrobial agents." *Clinical microbiology reviews* **12**(4): 564-582.
- Cox, S., C. Mann, et al. (2001). "Interactions between components of the essential oil of *Melaleuca alternifolia*." **91**(3): 492-497.
- Croft, A. and M. Foley (2008). "Proline-rich proteins—deriving a basis for residue-based selectivity in polyphenolic binding." *Organic & Biomolecular Chemistry* **6**(9): 1594-1600.
- Dahmoune, F., L. Boulekbache, et al. (2013). "Valorization of Citrus limon residues for the recovery of antioxidants: Evaluation and optimization of microwave and ultrasound application to solvent extraction." *Industrial Crops and Products* **50**: 77-87.
- Dahmoune, F., G. Spigno, et al. (2014). "*Pistacia lentiscus* leaves as a source of phenolic compounds: Microwave-assisted extraction optimized and compared with

- ultrasound-assisted and conventional solvent extraction." *Industrial Crops and Products* **61**: 31-40.
- de Freitas, V., E. Carvalho, et al. (2003). "Study of carbohydrate influence on protein–tannin aggregation by nephelometry." *Food Chemistry* **81**(4): 503-509.
- Dif, M., H. Benchiha, et al. (2015). "Étude quantitative des polyphénols dans les différents organes de l'espèce *Papaver rhoeas* L." *Phytothérapie* **13**(5): 314-319.
- Djedaia, M. S. (2017). "Etude physico-chimique et caractérisation du fruit de la plante lentisque (*Pistacia Lentiscus* L.)." UNIVERSITÉ BADJI MOKHTAR-ANNABA.
- Dupas, C. (2005). Influence des protéines laitières sur le pouvoir antioxydant et la biodisponibilité des polyphénols du café, ENSIA (AgroParisTech).
- Evans, P. and B. Halliwell (1999). "Free radicals and hearing: cause, consequence, and criteria." *Annals of the New York Academy of Sciences* **884**(1): 19-40.
- Favier, A. (2003). "Le stress oxydant." *L'actualité chimique* **108**(10): 863-832.
- Fischer, U. A., R. Carle, et al. (2013). "Thermal stability of anthocyanins and colourless phenolics in pomegranate (*Punica granatum* L.) juices and model solutions." *Food Chemistry* **138**(2-3): 1800-1809.
- Freitas, V. d. and N. Mateus (2002). "Nephelometric study of salivary protein–tannin aggregates." *Journal of the Science of Food and Agriculture* **82**(1): 113-119.
- Friedli, G.-L. (1996). Interaction of deamidated soluble wheat protein (SWP) with other food proteins and metals, University of Surrey (United Kingdom).
- Gani, A., S. Wani, et al. (2012). "Whole-grain cereal bioactive compounds and their health benefits: a review." *J Food Process Technol* **3**(3): 146-156.
- Gardeli, C., P. Vassiliki, et al. (2008). "Essential oil composition of *Pistacia lentiscus* L. and *Myrtus communis* L.: Evaluation of antioxidant capacity of methanolic extracts." *Food Chemistry* **107**(3): 1120-1130.
- Ghafar, M., K. N. Prasad, et al. (2010). "Flavonoid, hesperidine, total phenolic contents and antioxidant activities from *Citrus* species." *African Journal of Biotechnology* **9**(3).
- Guillou, H., J. Pelissier, et al. (1986). "Méthodes de dosage des protéines du lait de vache." *Le Lait* **66**(2): 143-175.
- Guillouty, A. (2016). *Plantes médicinales et antioxydants*, Université Toulouse III-Paul Sabatier.

- Hagerman, A. E. and L. G. Butler (1978). "Protein precipitation method for the quantitative determination of tannins." *Journal of agricultural and food chemistry* **26**(4): 809-812.
- Hagerman, A. E. and L. G. Butler (1981). "The specificity of proanthocyanidin-protein interactions." *Journal of Biological Chemistry* **256**(9): 4494-4497.
- Hagerman, A. E., K. M. Riedl, et al. (1998). "High molecular weight plant polyphenolics (tannins) as biological antioxidants." *Journal of agricultural and food chemistry* **46**(5): 1887-1892.
- Halliwell, B. (1994). "Free radicals and antioxidants: a personal view." *Nutrition reviews* **52**(8): 253-265.
- Halliwell, B. (1995). How to characterize an antioxidant: an update. *Biochemical Society Symposium*.
- Hammoudi, R. (2015). *Activités biologiques de quelques métabolites secondaires extraits de quelques plantes médicinales du Sahara méridional algérien, Thèse de doctorat.* "Sciences biologiques". Université Kasdi Merbah-Ouargla.
- Hans, W. (2007). "1000 plantes aromatiques et médicinales." Terre édition: 6-7.
- Hasan, H. H., I. H. Habib, et al. (2011). "Comparative phytochemical and antimicrobial investigation of some plants growing in Al Jabal Al-Akhdar." *J Nat Prod Plant Resour* **1**(1): 15-23.
- Haslam, E. (1998). *Practical polyphenolics: from structure to molecular recognition and physiological action*, Cambridge University Press.
- Haslam, E., T. H. Lilley, et al. (1988). "Natural astringency in foodstuffs—a molecular interpretation." *Critical Reviews in Food Science & Nutrition* **27**(1): 1-40.
- Hayat, J., M. Akodad, et al. (2020). "Phytochemical screening, polyphenols, flavonoids and tannin content, antioxidant activities and FTIR characterization of *Marrubium vulgare* L. from 2 different localities of Northeast of Morocco." *Heliyon* **6**(11): e05609.
- Hennebelle, T., S. Sahpaz, et al. (2004). "Polyphénols végétaux, sources, utilisations et potentiel dans la lutte contre le stress oxydatif." *Phytothérapie* **2**(1): 3-6.
- Hoffmann, L. (2003). *Etude du métabolisme des phénylpropanoïdes; analyse de l'interaction de la caféoyl-coenzyme A 3-O-méthyltransférase (CCoAOMT) avec son substrat et caractérisation fonctionnelle d'une nouvelle acyltransférase,*

- l'Hydroxycinnamoyl-CoA: shikimate/quinate hydroxycinnamoyl Transférase (HCT), Université Louis Pasteur-Strasbourg I.
- Iauk, L., S. Ragusa, et al. (1996). "In vitro antimicrobial activity of Pistacia lentiscus L. extracts: preliminary report." *Journal of chemotherapy* **8**(3): 207-209.
- Isaza, C., S. de Seigneux, et al. (2012). "Protéinurie: rappel physiologique et applications pratiques." *Revue médicale suisse*(330): 466.
- Iserin, P. (2001). "Larousse encyclopédie des plantes médicinales." Identification, Préparations, soins. 2nd edition, Dorling Kindersley Limited, Londres.
- Jean, B. (2009). *Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales* (4e éd.), Lavoisier.
- Jiang, J., Z. Zhang, et al. (2018). "The effect of non-covalent interaction of chlorogenic acid with whey protein and casein on physicochemical and radical-scavenging activity of in vitro protein digests." *Food Chemistry* **268**: 334-341.
- Jöbstl, E., J. O'Connell, et al. (2004). "Astringency—a molecular model for polyphenol/protein binding." *Fibre Diffraction Review* **12**: 66-69.
- Julkunen-Tiitto, R. (1985). "Phenolic constituents in the leaves of northern willows: methods for the analysis of certain phenolics." *Journal of agricultural and food chemistry* **33**(2): 213-217.
- Kamoun, P. (2003). "Biochimie et biologie moléculaire."
- Kim, D.-O., O. K. Chun, et al. (2003). "Quantification of polyphenolics and their antioxidant capacity in fresh plums." *Journal of agricultural and food chemistry* **51**(22): 6509-6515.
- Kıvçak, B. and S. Akay (2005). "Quantitative determination of α -tocopherol in Pistacia lentiscus, Pistacia lentiscus var. chia, and Pistacia terebinthus by TLC-densitometry and colorimetry." *Fitoterapia* **76**(1): 62-66.
- Kumar, S. and A. K. Pandey (2013). "Chemistry and biological activities of flavonoids: an overview." *The scientific world journal* **2013**.
- Lamarti, A., A. Badoc, et al. (1994). "BIOGÉNÈSE DES MONOTERPÈNES (II-La chaîne isoprénique." *Bull. Soc. Pharm. Bordeaux* **133**: 79-99.
- Laurant-Berthoud, C. (2013). *Tisanes: guide pratique pour toute la famille*, Éditions Jouvence.
- Lesueur, D., D. d. R. Serra, et al. (2007). "Chemical composition and antibacterial activity of the essential oil of *Michelia foveolata* Merryll ex Dandy from Vietnam." *Flavour and fragrance journal* **22**(4): 317-321.

- Longo, L., A. Scardino, et al. (2007). "Identification and quantification of anthocyanins in the berries of *Pistacia lentiscus* L., *Phillyrea latifolia* L. and *Rubia peregrina* L." *Innovative Food Science & Emerging Technologies* **8**(3): 360-364.
- Ma, W. G., R. X. Tan, et al. (1997). "Wahlenbergioside, a phenylpropanoid glucoside from *Wahlenbergia marginata*." *Phytochemistry* **45**(2): 411-415.
- Magiatis, P., E. Melliou, et al. (1999). "Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oils of *Pistacia lentiscus* var. *chia*." *Planta medica* **65**(08): 749-752.
- Manallah, A. (2018). Activités antioxydante et anticoagulante des polyphénols de la pulpe d'olive *olea europaea*L.
- Manthey, J. A. (2000). "Biological properties of flavonoids pertaining to inflammation." *Microcirculation* **7**(sup1): S29-S34.
- Mason, T. J., L. Paniwnyk, et al. (2003). Ultrasound as a preservation technology. *Food preservation techniques*, Elsevier: 303-337.
- Mason, T. J., L. Paniwnyk, et al. (1996). "The uses of ultrasound in food technology." *Ultrasonics sonochemistry* **3**(3): S253-S260.
- Mateus, N., E. Carvalho, et al. (2004). "Influence of the tannin structure on the disruption effect of carbohydrates on protein–tannin aggregates." *Analytica Chimica Acta* **513**(1): 135-140.
- McCord, J. M. J. T. A. j. o. m. (2000). "The evolution of free radicals and oxidative stress." **108**(8): 652-659.
- Mebirouk-Boudechiche, L., M. Cherif, et al. (2014). "Teneurs en composés primaires et secondaires des feuilles d'arbustes fourragers de la région humide d'Algérie." *Revue Méd. Vét* **165**(11): 344-352.
- Meddah, D. and H. Deloum (2007). LES TERPENES, Université Mohamed BOUDIAF de M'Sila.
- Melo, E. d. A., V. Lima, et al. (2006). "Polyphenol, ascorbic acid and total carotenoid contents in common fruits and vegetables." *Brazilian Journal of Food Technology* **9**(2): 89-94.
- Mezni, F., C. Aouadhi, et al. (2015). "In vitro antimicrobial activity of *Pistacia lentiscus* L. edible oil and phenolic extract." *Natural product research* **29**(6): 565-570.
- Morel, J.-M. (2008). *Traité pratique de phytothérapie: remèdes d'hier pour médecine de demain*, Grancher.

- Moutinho, C., C. Matos, et al. (2013). "Antispasmodic activity of aqueous extracts from *Mentha x piperita* native from Trás-os-Montes region (Portugal)."
- Murray, R. K., D. K. Granner, et al. (2003). *Illustrated Biochemistry*, New York: Mc Graw Hill.
- Nabila, B., A. B. Fawzia, et al. (2008). "Antioxidant and antimicrobial activities of the *Pistacia lentiscus* and *Pistacia atlantica* extracts." *African journal of pharmacy and pharmacology* **2**(2): 022-028.
- Naczka, M., S. Grant, et al. (2006). "Protein precipitating capacity of phenolics of wild blueberry leaves and fruits." *Food Chemistry* **96**(4): 640-647.
- Naczka, M., D. Oickle, et al. (1996). "Protein precipitating capacity of crude canola tannins: effect of pH, tannin, and protein concentrations." *Journal of agricultural and food chemistry* **44**(8): 2144-2148.
- Nalinanon, S., S. Benjakul, et al. (2010). "Biochemical properties of pepsinogen and pepsin from the stomach of albacore tuna (*Thunnus alalunga*)." *Food Chemistry* **121**(1): 49-55.
- Osato, M. S., R. Reddy, et al. (2001). "Comparison of the Etest and the NCCLS-approved agar dilution method to detect metronidazole and clarithromycin resistant *Helicobacter pylori*." *International journal of antimicrobial agents* **17**(1): 39-44.
- Ozdal, T., E. Capanoglu, et al. (2013). "A review on protein–phenolic interactions and associated changes." *Food Research International* **51**(2): 954-970.
- Penchev, P., G. Angelov, et al. (2010). "Extraction des agents antioxydants (acide rosmarinique) à partir de la mélisse (*Melissa officinalis* L.)." *Revue de génie industriel* **5**: 115-123.
- Peronny, S. (2005). *La perception gustative et la consommation des tannins chez le maki (Lemur catta)*, Museum national d'histoire naturelle-MNHN PARIS.
- Pinelo, M., P. Del Fabbro, et al. (2005). "Optimization of continuous phenol extraction from *Vitis vinifera* byproducts." *Food Chemistry* **92**(1): 109-117.
- Quan, T. H., S. Benjakul, et al. (2019). "Protein–polyphenol conjugates: Antioxidant property, functionalities and their applications." *Trends in Food Science & Technology* **91**: 507-517.
- Quézel, P. and S. Santa (1962). "Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales."

- Re, R., N. Pellegrini, et al. (1999). "Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay." **26**(9-10): 1231-1237.
- Rebstein, M. and C. Soerensen (2011). Chimie avancée: préparation au bac et à la maturité, PPUR Presses polytechniques.
- Ribéreau-Gayon, P. (1968). Les Composés phénoliques des végétaux: par Pascal Ribéreau-Gayon, Dunod.
- Rodrigues, E. (2007). "Plants of restricted use indicated by three cultures in Brazil (Caboclo-river dweller, Indian and Quilombola)." *Journal of ethnopharmacology* **111**(2): 295-302.
- Rogosic, J., R. Estell, et al. (2008). "Potential mechanisms to increase shrub intake and performance of small ruminants in Mediterranean shrubby ecosystems." *Small Ruminant Research* **74**(1-3): 1-15.
- Rolland, Y. (2004). "Antioxydants naturels végétaux." *Oléagineux, Corps gras, Lipides* **11**(6): 419-424.
- Sęczyk, Ł., M. Świeca, et al. (2019). "Protein–phenolic interactions as a factor affecting the physicochemical properties of white bean proteins." *Molecules* **24**(3): 408.
- SID, F., R. DIB, et al. (2018). Etude de l'activité antioxydante de l'huile de plante *Pistacia lentiscus*, Université de Jijel.
- Siebert, K. J. (2006). "Haze formation in beverages." *LWT-Food Science and Technology* **39**(9): 987-994.
- Simon, C. (2003). Structure et dynamique de protéines de la salive humaine en interaction avec les tanins du vin de Bordeaux, Bordeaux 1.
- Singh, D. P., R. Prabha, et al. (2017). "Antioxidant properties and polyphenolic content in terrestrial cyanobacteria." *3 Biotech* **7**(2): 1-14.
- Singleton, V. L. and J. A. Rossi (1965). "Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents." *American journal of Enology and Viticulture* **16**(3): 144-158.
- Smail-Saadoun, N. (2005). "Types stomatiques du genre *Pistacia*: *Pistacia atlantica* Desf. ssp. *atlantica* et *Pistacia lentiscus*." *L. Options méditerranéennes, série A* **63**: 369-371.
- Talbi, H., A. Boumaza, et al. (2015). "Evaluation de l'activité antioxydante et la composition physico-chimique des extraits méthanolique et aqueux de la *Nigella sativa* L." *Journal of Materials and Environmental Science* **6**(4): 1111-1117.

- Toul, F., N. Belyagoubi-Benhammou, et al. (2017). "Antioxidant activity and phenolic profile of different organs of *Pistacia atlantica* Desf. subsp. *atlantica* from Algeria." *Natural product research* **31**(6): 718-723.
- Tsai, P.-J. and C.-H. She (2006). "Significance of phenol– protein interactions in modifying the antioxidant capacity of peas." *Journal of agricultural and food chemistry* **54**(22): 8491-8494.
- Tsao, R. and R. Yang (2003). "Optimization of a new mobile phase to know the complex and real polyphenolic composition: towards a total phenolic index using high-performance liquid chromatography." *Journal of chromatography A* **1018**(1): 29-40.
- Tsimogiannis, D. I. and V. Oreopoulou (2006). "The contribution of flavonoid C-ring on the DPPH free radical scavenging efficiency. A kinetic approach for the 3', 4'-hydroxy substituted members." *Innovative Food Science & Emerging Technologies* **7**(1-2): 140-146.
- Wen, C., J. Zhang, et al. (2018). "Advances in ultrasound assisted extraction of bioactive compounds from cash crops - A review." *Ultrason Sonochem* **48**: 538-549.
- Whitford, D. (2005). "Proteins: Structure and Function Wiley." New York.
- Wilson, A. and L. Salamatian (2003). "Les Radicaux Libres: Une question d'équilibre." Université de.
- Yilmaz, Y. and R. T. Toledo (2006). "Oxygen radical absorbance capacities of grape/wine industry byproducts and effect of solvent type on extraction of grape seed polyphenols." *Journal of Food Composition and Analysis* **19**(1): 41-48.

Annexe 01 : Composition des milieux de cultures

➤ **Muller-Hinton :**

| | |
|---|-------|
| - Infusion de viande de boeuf déshydraté..... | 300g |
| - Hydrolysat decaséine..... | 17.5g |
| - Amidon | 1.5g |
| - Agar-agar..... | 17g |
| - Eau distillée..... | 1l |

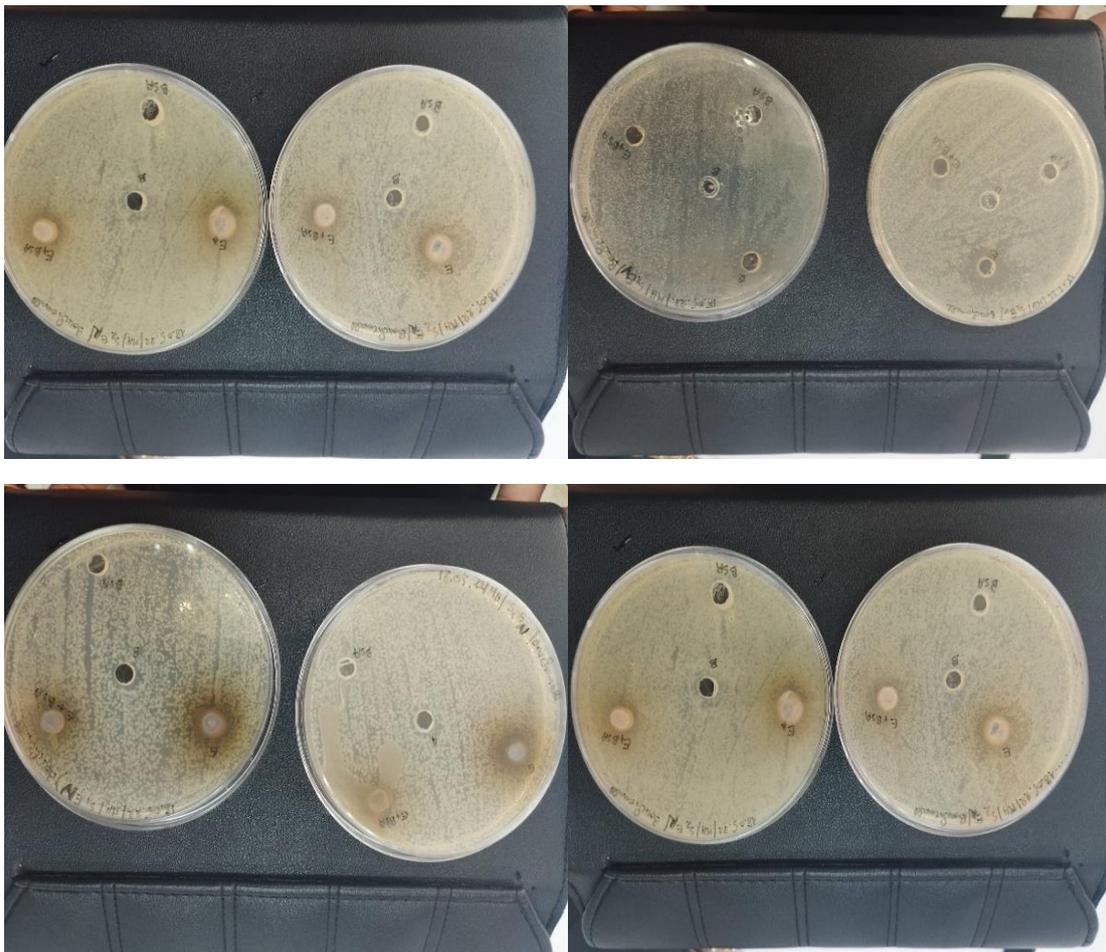
➤ **Gélose nutritive**

| | |
|---------------------------|----|
| - Extrait de boeuf..... | 1g |
| - Extrait de levure..... | 2g |
| - Peptone..... | 5g |
| - chlorure de sodium..... | 5g |

Annexe 02 : la composition de tampon A.

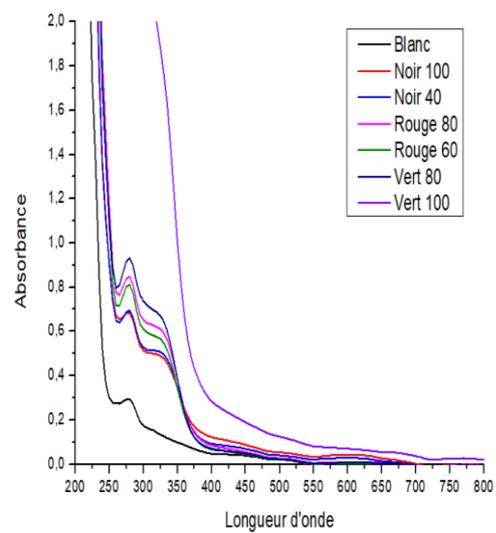
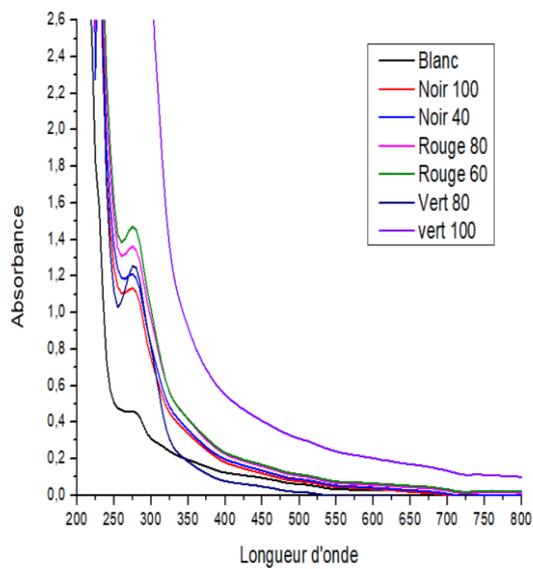
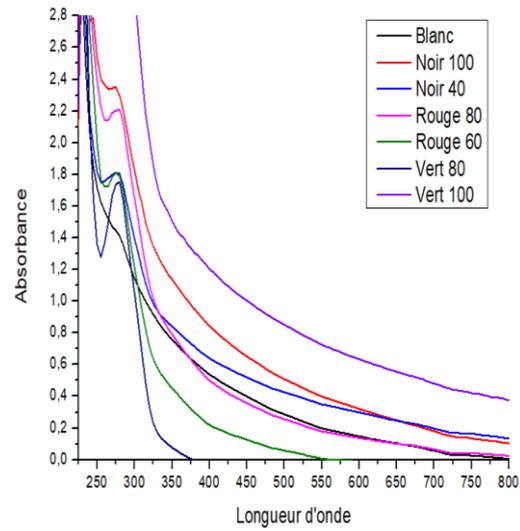
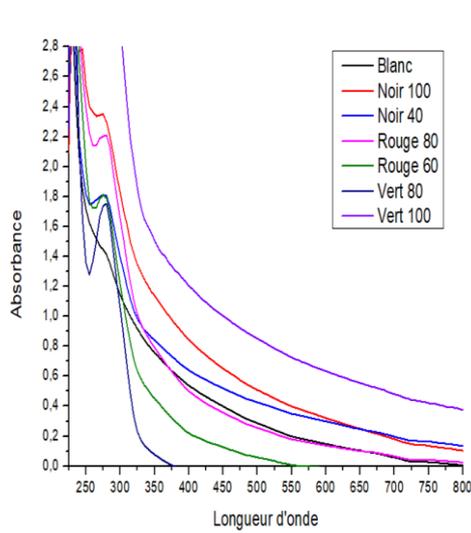
Le tampon A : préparé par une solution de 0,2M d'acide acétique avec 0,17M de NaCl, ajusté à pH 4,9.

Annexe 02 : Résultats de l'activité antimicrobienne des extraits éthanoliques de *Pistacia lentiscus.L.*





Annexe 04 : Spectre de balayage de la solution BSA et l'extrait de *Pistacia lentiscus* L (1), NaCl(2), glucose (3) et du pH (4) respectivement.



Résumé

Cette étude est basée sur la caractérisation phytochimique des fruits de *Pistacia lentiscus* L, à différent stades de maturation (immature et mature), l'étude d'interaction entre les polyphénols et la protéine BSA, et l'évaluation de l'activité antioxydante et antibactérienne de cette plante, et l'effet de l'interaction sur ces activités. Les composés bioactifs des fruits de lentisque ont été extraits par la méthode d'extraction par ultrason. L'analyse phytochimique a révélé la présence d'une forte teneur en polyphénols, flavonoïdes, tannins hydrolysables et proanthocyanidines (206,184± 4,353 mg EQ/g d'extrait), (15,242 ±1,305 mg QE /g), (460,985±6,564 mg EAT/g d'extrait) et (184,525±8,191 mg ECat/mg d'extrait), respectivement. La formation de complexe polyphénols-BSA est fortement influencée par : la concentration de l'extrait de la plante, la concentration de glucose et NaCl et aussi par le pH. L'activité antioxydante *in vitro* a été estimée par le test de décoloration d'ABTS* et le test DPPH, le pourcentage d'inhibition enregistré est de 91.255±1.231% et 78.829±2.809M respectivement. La formation de complexe polyphénols-BSA augmente le pourcentage d'inhibition. L'activité antibactérienne a été testée sur deux souches, Gram+ : *Bacillus subtilis* et Gram- : *Pseudomonas aeruginosa*, la zone d'inhibition la plus remarquable a été attribuée pour l'extrait (5,00±1,00) mm pour la souche de *Bacillus subtilis*, l'effet de l'interaction n'a pas démontré un effet inhibiteur important sur les deux souches.

Mots clés : *Pistacia lentiscus* L, stade de maturation, caractérisation phytochimique, interaction, polyphénols, BSA, complexe, activité antioxydante, activité antibactérienne.

المخلص

تستند هذه الدراسة الى الوصف الكيميائي النباتي لفاكهة *Pistacia lentiscus* L في مراحل مختلفة من النضج (الناضجة وغير ناضجة) ودراسة التفاعل بين البوليفينول وبروتين BSA، وتقييم النشاط المضاد للأكسدة والمضاد للبكتيريا وتأثير التفاعل على هذه الأنشطة. تم استخلاص المركبات النشطة بيولوجيا من ثمار *Pistacia lentiscus* L بطريقة الاستخلاص بالموجات فوق الصوتية. كشف التحليل الكيميائي النباتي عن وجود محتوى من البوليفينول، الفلافونويد، التانينات القابلة للتحلل المائي والتانينات المكثفة وهي على التوالي (4.35 ± 206.184 mg EAG/g d'extrait) (1.305 ± 15.242 mg EAT/g d'extrait) (6.56 ± 460.985 mg ECat/mg d'extrait) (8.191 ± 184.525 mg ECat/mg d'extrait). يتأثر تكوين مركب البوليفينول والبروتين بشدة بما يلي: تركيز المستخلص النباتي، تركيز الجلوكوز وكلوريد الصوديوم وأيضاً بواسطة الرقم الهيدروجيني. تم تقدير نشاط مضادات الأكسدة في المختبر بواسطة اختبار ABTS واختبار DPPH، وكانت نسبة التثبيط المسجلة كما يلي 91.255 ± 1.231%، 78.829 ± 2.809%. يزيد تكوين مركب البوليفينول-BSA من نسبة التثبيط. اختبار النشاط المضاد للبكتيريا من سلالتين، Gram+: *Bacillus subtilis*، Gram-: *Pseudomonas aeruginosa*، يبين ان منطقة التثبيط الأكثر ملاحظة بالنسبة للمستخلص (1.00 ± 5.00) mm لسلسلة *Bacillus subtilis*، ولم يظهر التفاعل بين المستخلصات النباتية والبروتين اي تأثير مثبت على السلالتين.

الكلمات المفتاحية: مرحلة النضج، التوصيف الكيميائي النباتي، التفاعل، البوليفينول، مركب، نشاط مضاد للأكسدة، نشاط مضاد

للجراثيم *Pistacia lentiscus* L، BSA