



Faculté des Sciences de la Matière
كلية علوم المادة
Département de Chimie
قسم الكيمياء

Mémoire

Présenté par :

M^{elle} Benkralifa Hadjer Amina

M^{elle} Khelil Fadoua Rouaya

Pour obtenir le diplôme de

Master

Filière : Chimie

Spécialité: Chimie organique

Sujet :

*Contribution à l'étude phytochimique et activité
biologique des extraits naturels de certain plantes
médicinales*

Soutenu le : 02/07/2023

Devant le jury:

M^r DEBDAB	MANSOUR	Prof	Président	UNIV .Tiaret
M^{elle} SEHIL	HAFIDA	MCA	Examinatrice	UNIV .Tiaret
M^{elle} HENNI	MERIEM	MCA	Encadreur	UNIV .Tiaret
M^{me} MABREK	HOURIA	MAA	Co-encadreur	UNIV .Tiaret

REMERCIEMENT

Le grand merci s'adresse au bon DIEU, le Tout Puissant, qui nous a donné le courage, la force et la volonté pour réaliser ce modeste travail.

*Nous exprimons nos profondes gratitude et reconnaissances à notre encadreur M^{elle} **Henni Meriem** maitre de conférences A, à l'université de Tiaret, pour avoir proposé et accepté de diriger, avec beaucoup de patience, ce sujet de mémoire de Master et nous ne pouvons pas jamais oublier ses encouragements et ses conseils.*

*Nous remercions les plus sincères s'adressent également à M^{me} **Mabrek, Horia** maitre assistant, à l'université de Tiaret pour son aide et son soutien moral, ses conseils, ainsi qu'à ses qualités relationnelles et humaines.*

*Nos vifs remerciments vont à M^r **Debdab, Mansour** Professeur à l'université de Tiaret pour l'honneur qu'il nous a fait d'accepter de présider ce jury.*

*Nous exprimons nos remerciments à M^{elle} **Sehil Hafida** maitre de conférences A, à l'université de Tiaret, d'avoir accepté d'examiner ce travail.*

*Nous exprimons nos remerciments à Monsieur **Yesref Djamel**, chef du département de chimie pour son aide précieuse.*

*Nous tenons à exprimer nos profondes reconnaissances a toute l'équipe de laboratoire de graduation de chimie et plus notamment: M^r **A.Larbi** ainsi que M^{me} **Somia** et M^{me} **Fatih**.*

*Nous adressons nos remerciments à tous les ingénieurs de laboratoires de biochimie de Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie notamment M^{me} **Fatima** et M^{elle} **Mebarka**, pour leurs aides à réaliser ce travail.*

*Nous exprimons nos remerciments à toute l'équipe de laboratoire de synthèse et catalyse et plus notamment: M^r **Belarbi EL Habib** et M^{elle} **Nadia***

Enfinement, nous tenons à exprimer nos remerciments a nos personnalités, Nous étudiants pour nos efforts et persévérances pour la réalisation de ce travail

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

اهداء

(وَقُلِ اعْمَلُوا فَسَيَرَى اللَّهُ عَمَلَكُمْ وَرَسُولُهُ وَالْمُؤْمِنُونَ)

الحمد لله حبا و شكرا و امتنانا ما كنت لأفعل هذا لو لا فضل الله

الحمد لله ما تم جمد ولا ختم سعى إلا بفضله

وما تخطى عبد صعوبات و عقبات إلا بتوفيقه

(وَآخِرُ دَعْوَاهُمْ أَنِ الْحَمْدُ لِلَّهِ رَبِّ الْعَالَمِينَ)

لم يكن الرحلة قصيرة و لا ينبغي لها أن تكون لم يكن الحلم قريبا ولا الطريق كان محفوا بالتسهيلات لكني فعلتها

أهدي هذا العمل الى نفسي اولاً ثم الى من سعى معي لإتمام هذه المسيرة دتم لي سندا لا عمر له

الى مأمني الدائم أبي و أمي طريقي الى الجنة .. اللهم اعني على برهما و ارزقني رضاها و اجزل لها الخير و المغفرة

الى صديقتي موضع الانتكاء في عثرات حياتي

الى نفسي الطموحة ها أنتي قد حققتي ما كان بالأمس حلما , شكرا لنفسي التي صبرت الى ان حققت

Hadjer Amina

اهداء

وَقَالُوا الْحَمْدُ لِلَّهِ الَّذِي هَدَانَا لِهَذَا وَمَا كُنَّا لِنَهْتَدِيَ لَوْلَا أَنْ هَدَانَا اللَّهُ

الحمد لله الذي أكرم و انعم و اتم
الحمد لله على البلاغ ثم الحمد لله على التمام
ما كنت لأفعل هذا لولا ان الله مكنني
اللهم انفعني بما علمتني و اجعله حجة لي لا علي

أهدي هذا العمل الى:

ابي و امي الذين دعماي ووقفنا بجانبني
الى سندي و الكنف الذي استند عليه اخوتي
الى كل من كان له يد العون في مذكري الى كل من شاركني لحظات كتابتها و تحضيرها
الى كل من تعلقت بهم قلوبنا قبل عقولنا
الى صديقتي صديقة النجاح شريكة الصبا ملجأ في هذه الرحلة
لم تكن الرحلة قصيرة و لم تكن الامور يسره و لكن بحول الله...فعلتها.

Fadoua Rouaya

Liste des Abréviations

BB	<i>Bain Bouche</i>
BC	<i>Bacillus cereus</i>
DMSO	<i>Dimethylsulfoxyde</i>
DPPH	<i>2, 2-diphényle-1- picrylhydrazyl</i>
EAG	<i>Equivalente acide gallique</i>
EC	<i>Escherichia Coli</i>
ECT	<i>Equivalent catéchine</i>
EQ	<i>Equivalents Quercétine</i>
FVT	<i>Flavonoïdes totaux</i>
GN	<i>Gélose nutritive</i>
HPLC	<i>Chromatographie en phase liquide à haute performance</i>
IC50	<i>Concentration inhibitrice de 50% des radicaux libres</i>
MH	<i>Muller- Hinton</i>
OE	<i>olivier eau</i>
OET	<i>olivier éthanol</i>
PE	<i>Pistacia eau</i>
PET	<i>Pistacia éthanol</i>
PPT	<i>Polyphénols totaux</i>
ST	<i>Staphylococcus aureus</i>
TC	<i>Tannins condensés</i>
UFC	<i>Unité Faisant Colonie</i>
UV	<i>UV. Visible</i>
ZE	<i>Zizyphus eau</i>
ZET	<i>Zizyphus éthanol</i>

Liste des figures

Partie théorique

Chapitre I Présentation des plantes étudiées

<i>Figure I.1 : Présentation des parties de l'olivier Olea europaea</i>	2
<i>Figure I.2 : Présentation des parties de Zizyphus lotus</i>	6
<i>Figure I.3: Pistacia lentiscus</i>	9
<i>Figure I.4 : Présentation des parties de Pistacia lentiscus</i>	11

Chapitre II Généralité sur les polyphénols

<i>Figure II.1 : Structure des alcools formant la lignane et la lignine</i>	19
<i>Figure II.2: Exemple d'alcaloïde la morphine</i>	19
<i>Figure II.3 : Structure de base des flavonoïdes</i>	20
<i>Figure II.4 : Structure des différentes classes de flavonoïdes</i>	20
<i>Figure II.5 : Structures chimiques typiques des tanins</i>	22

Partie expérimentale

Chapitre I Matériels et Méthodes

<i>Figure I.1 : Représentation des trios espèces</i>	27
<i>Figure I.2: Préparation des échantillons</i>	28
<i>Figure I.3 : Test de détermination de taux d'humidité</i>	28
<i>Figure I.4: Protocole d'extraction</i>	30
<i>Figure I.5: Dosage des composés phénoliques</i>	33
<i>Figure I.6: Structure du radical DPPH et de sa forme réduite</i>	37
<i>Figure I.7 : Protocole de l'activité antioxydant</i>	38
<i>Figure I.8 : Repiquage des souches bactériennes</i>	40
<i>Figure I.9 : Préparation de l'inoculum</i>	40
<i>Figure I.10 : La méthode de diffusion des disques</i>	42
<i>Figure I.11 : Protocole de préparation d'une crème</i>	43
<i>Figure I.12 : Préparation et mesure du pH du Bain bouche</i>	44

Figure I.13 : <i>Activité antibactérienne des bains de bouche méthode des puits</i>	46
--	----

Chapitre II Résultat et discussion

Figure II.1 : <i>Teneur en humidité des trois plantes</i>	47
Figure II.2 : <i>Rendements d'extraction des composés phénoliques</i>	48
Figure II.3 : <i>Spectre IR de l'extrait Zizyphus eau</i>	49
Figure II.4 : <i>Spectre IR de l'extrait Zizyphus éthanol</i>	49
Figure II.5 : <i>Spectre IR de l'extrait olivier eau</i>	50
Figure II.6 : <i>Spectre IR de l'extrait olivier éthanol</i>	50
Figure II.7 : <i>Spectre IR de l'extrait Pistacia eau</i>	51
Figure II.8 : <i>Spectre IR de l'extrait Pistacia éthanol</i>	51
Figure II.9 : <i>Courbe d'étalonnage de l'acide gallique</i>	54
Figure II.10 : <i>Teneurs en polyphénols totaux des extraits</i>	54
Figure II.11 : <i>Courbe d'étalonnage de quercitrine</i>	55
Figure II.12 : <i>Teneur en flavonoïdes des différents extraits</i>	56
Figure II.13 : <i>Teneur en Tannins des différents extraits</i>	57
Figure II.14 : <i>Résultats de l'activité antioxydant</i>	58
Figure II.15 : <i>IC50 d'activité antioxydant des extraits</i>	59
Figure II.16 : <i>Résultats de l'activité antibactérienne des extraits des vis-à-vis B. cereus</i>	60
Figure II.17 : <i>Résultats de l'activité antibactérienne des extraits vis-à-vis S. Aureus</i>	60
Figure II.18 : <i>Résultats de l'activité antibactérienne des extraits vis-à-vis E. Coli</i>	61
Figure II.19 : <i>Diamètres des zones d'inhibition des extraits</i>	62
Figure II.20 : <i>Résultats de l'activité antibactérienne de BB vis-à-vis B. Cereus</i>	64
Figure II.21 : <i>Résultats de l'activité antibactérienne de BB vis-à-vis S. Aureus</i>	65
Figure II.22 : <i>Résultats de l'activité antibactérienne de BB vis-à-vis E. Coli</i>	65
Figure II.23 : <i>Diamètres des zones d'inhibition des bains de bouches</i>	66

Liste des tableaux

Partie théorique

Chapitre I Présentation des plantes étudiées

Tableau I.1 : Classification botanique de l'arbre de l'olivier.....	3
Tableau I.2 : Composition chimique global des feuilles d'olivier.....	4
Tableau I.3: Place de <i>Zizyphus lotus</i> L. dans la systématique.....	6
Tableau I.4 : Pourcentage des compositions primaires des <i>Zizyphus lotus</i>	7
Tableau I.5 : Les composants chimiques des différents organes du <i>Zizyphus lotus</i>	8
Tableau I.6 : Classification du <i>Pistacia Lentiscus</i> L.....	10

Chapitre II Généralité sur les polyphénols

Tableau II.1 : Structure des squelettes des polyphénols.....	15
Tableau II.2 : Structures chimiques des principaux acides hydroxycinnamiques.....	16
Tableau II.3 : Structures chimiques des principaux acides hydroxybenzoïques.....	16
Tableau II.4 : Structure chimique des acides coumariques.....	17
Tableau II.5 : Structure chimique des stilibènes.....	18
Tableau II.6 : Structures des anthocyanidols et anthocyanes.....	18
Tableau II.7 : Quelque actif naturel.....	26

Partie expérimentale

Chapitre I Matériels et Méthodes

Tableau I.1: Préparation des dilutions d'acide gallique.....	33
Tableau I.2: Préparation des dilutions de la quercitine.....	34
Tableau I.3: Préparation de la gamme des dilutions d'extraits.....	37
Tableau I.4: Les différentes souches bactériennes testées.....	39
Tableau I.5 : Les composants de la formulation de la crème.....	43
Tableau I.6 : Les composants du bain de bouche.....	45

Chapitre II Résultat et discussion

Tableau II.1 : Rendement et l'aspect organoleptiques des différents extraits.....	47
Tableau II.2 : Principales bandes caractéristiques des extraits.....	52
Tableau II.3 : Résultats des tests phytochimiques d'extraits de <i>Zizyphus Lotus</i>	53
Tableau II.4: Teneur en polyphénols, flavonoïdes et tannins des différents extraits.....	56
Tableau II.5: IC50 des différents extraits des plantes étudiées.....	59
Tableau II.6 : Caractéristique du bain de bouche.....	64

Sommaire

<i>Introduction générale</i>	1
Partie théorique	
Chapitre I Présentation des plantes étudiées	
<i>I.1 Introduction</i>	2
<i>I.2 L'olivier Olea europea</i>	2
<i>I.2.1 Présentation</i>	3
<i>I.2.2. Description botanique</i>	3
<i>I.2.3 Classification botanique</i>	3
<i>I.2.4 Origine et distribution géographique</i>	3
<i>I.2.5. Composition chimique</i>	4
<i>I.2.6 Activités biologiques</i>	5
<i>I.3 Zizyphus lotus</i>	5
<i>I.3.1 Présentations</i>	5
<i>I.3.2 Description botanique</i>	5
<i>I.3.3 Classification botanique</i>	6
<i>I.3.4 Origine et distribution géographique</i>	6
<i>I.3.5 Composition chimique</i>	7
<i>I.3.5.1 Métabolites primaires</i>	7
<i>I.3.5.2. Métabolites secondaires</i>	7
<i>I.3.6. Activité biologique</i>	8
<i>I.4. Pistacia lentiscus</i>	9
<i>I.4.1 Présentation</i>	9
<i>I.4.2 Classification botanique</i>	9
<i>I.4.3 Description botanique</i>	10
<i>I.4.3.1 Feuilles</i>	10
<i>I.4.3.2 Fleurs</i>	10
<i>I.4.3.3 Fruits</i>	11
<i>I.4.3.4 Mastique ou résine</i>	11
<i>I.4.4. Origine et répartition géographique</i>	11
<i>I.4.5 Composition chimique de l'espèce Pistacia lentiscus</i>	12
<i>I.4.5.1 Partie aérienne</i>	12
<i>I.4.5.2 Les feuilles</i>	12

<i>I.4.5.3 Fruits</i>	12
<i>I.4.5.4 La résine</i>	12
<i>I.4.5.5 L'huile essentielle</i>	12
<i>I.4.6 Activités biologiques de Pistacia lentiscus</i>	13

Chapitre II Les composés phénoliques

<i>I.1 Généralités</i>	14
<i>I.2 Classification des polyphénols</i>	14
<i>I.2.1. Les non flavonoïdes</i>	15
<i>I.2.1.1 Acides phénoliques</i>	15
<i>I.2.1.2 Acides hydroxy cinnamiques</i>	16
<i>I.2.1.3 Acides hydroxy benzoïques</i>	16
<i>I.2.1.4 Acides coumariques</i>	17
<i>I.2.1.4 Les Stilbènes</i>	17
<i>I.2.1.5 Anthocyanes</i>	18
<i>I.2.1.6 Lignines et lignanes</i>	19
<i>I.2.1.7 Alcaloïdes</i>	19
<i>I.2.2 Les flavonoïdes</i>	19
<i>I.2.3 Tanins</i>	21
<i>I.2.3.1 Classification</i>	21
<i>I.3 Biosynthèse des polyphénols</i>	22
<i>I.3.1. Voie de l'acide shikimique</i>	22
<i>I.3.2 Voie de l'acétate / malonate</i>	22
<i>I.4 Méthodes de dosage et d'identification des composés phénoliques</i>	23
<i>I.5 Activité biologique des composés phénoliques</i>	23
<i>I.5.1 Activité antioxydant</i>	23
<i>I.5.2 Activité anti-inflammatoire</i>	24
<i>I.5.3 Activité antimicrobienne</i>	24
<i>I.5.3.1 Les souches bactériennes testées</i>	24
<i>I.6 Formulation des produits cosmétiques biologique</i>	25
<i>I.6.1 Bio bain de bouche</i>	25
<i>I.6.1.1 La compositions de bain de bouche</i>	25
<i>I.6.2 Les bio-crèmes</i>	25
<i>I.6.2.1 Les crèmes hydrophobes</i>	26

I.6.2.2 Les crèmes hydrophiles.....	26
I.6.2.3 Les ingrédients bios appliqués dans une crème	26

Partie expérimentale

Chapitre I Matériel et méthodes

I.1 Matériel végétal.....	27
I.1.1 Récolte et séchage.....	27
I.1.2 Taux d'humidité	28
I.2 Extraction des polyphénols	29
I.2.1 Mode opératoire	29
I.2.2 Conservation de l'extrait.....	29
I.2.3 Détermination du rendement d'extraction.....	29
I.3 Analyse qualitatif.....	31
I.3.1 Analyse des extraits par infrarouge IR.....	31
I.4 Analyse chimique	31
I.4.1. Screening phytochimique.....	31
I.5 Analyses quantitatives des extraits.....	32
I.5.1 Dosage des phénols totaux	32
I.5.2 Dosage des flavonoïdes totaux.....	34
I.5.3 Dosage de tanins condensés.....	35
I.6.1 Détermination de l'activité antioxydante.....	36
I.6.1 Principe.....	36
I.6.2 Préparation de la solution mère de DPPH.....	37
I.6.3 Préparation des dilutions d'extraits.....	37
I.6.4 Mode opératoire.....	37
I.6.5 Détermination de la concentration inhibitrice IC50%	38
I.7 Évaluation de l'activité antibactérienne des extraits.....	38
I.7.1 Origine et choix des souches bactériennes.....	39
I.7.2. Préparation des milieux de culture.....	39
I.7.3 Préparation des disques.....	39
I.7.4 Stérilisation du matériel	39
I.7.5 Repiquage des souches bactériennes.....	40
I.7.6 Préparation de l'inoculum	40
I.7.7 Ensemencement et dépôt des disques	41

<i>I.7.8 Méthode de diffusion sur disque.....</i>	<i>41</i>
<i>I.8 Formulation d'une crème.....</i>	<i>42</i>
<i>I.8.1 Mode opératoire.....</i>	<i>43</i>
<i>I.8.2 Caractéristique de la crème.....</i>	<i>44</i>
<i>I.9 Formulation de bains de bouche à base de plantes.....</i>	<i>44</i>
<i>I.9.1 Caractéristique de bains de bouche.....</i>	<i>45</i>
<i>I.9.2 Test de croissance microbienne dans les formules de bain bouche.....</i>	<i>45</i>
<i>Chapitre II Résultats et discussion</i>	
<i>I.1 Détermination de Taux d'humidité.....</i>	<i>47</i>
<i>I.2 Rendement de l'extraction.....</i>	<i>47</i>
<i>I.3. Caractérisation des extraits par spectroscopie infrarouge.....</i>	<i>48</i>
<i>I.4 Screening phytochimiques.....</i>	<i>52</i>
<i>I.5 Analyse quantitative.....</i>	<i>54</i>
<i>I.5.1 Dosage des polyphénols totaux.....</i>	<i>54</i>
<i>I.5.2 Dosage des flavonoïdes.....</i>	<i>55</i>
<i>I.5.3 Teneur en tannins totaux.....</i>	<i>56</i>
<i>I.6 Activité antioxydant des extraits.....</i>	<i>57</i>
<i>I.7 Pouvoir antibactérien des extraits.....</i>	<i>59</i>
<i>I.8 Caractéristique du bain bouche.....</i>	<i>63</i>
<i>I.9 Évaluation antibactérienne des formulations du bain de bouche.....</i>	<i>64</i>
<i>Conclusion.....</i>	<i>67</i>

Introduction Générale

Introduction générale

Ces dernières années, les plantes médicinales et aromatiques ont fait l'objet d'une attention particulière, que ce soit par les chercheurs ou par les utilisateurs. Cela est dû, d'une part, à l'efficacité et à la facilité d'extraction de leurs composés chimiques (principes actifs) et, d'autre part, aux risques posés par de nombreuses substances chimiques de synthèse. Les plantes médicinales sont utilisées dans différentes préparations de la médecine populaire pour traiter des infections variées et guérir des conditions mortelles. Selon l'organisation mondiale de la santé, plus de 80 % des populations mondiales dépend de la médecine traditionnelle à base de plantes pour leur prodiguer des soins de santé primaires. Même maintenant, ils sont économiquement importants et utilisés dans différentes industries pharmaceutiques [1].

Ces plantes ont toujours eu une place importante dans l'arsenal thérapeutique de l'humanité. Elles sont une source potentielle de molécules bioactives à savoir les polyphénols, les alcaloïdes, les terpènes, les flavonoïdes, les tanins, les stéroïdes, qui sont à l'origine de plusieurs activités biologiques tels que l'activité anti-inflammatoire, antimicrobienne, antiseptique, diurétique et antioxydant[2]. L'Algérie, offre une végétation riche et diverse avec un grand nombre de plantes aromatiques spontanées. L'intérêt porté à ces plantes n'a pas cessé de croître au cours de ces dernières années [3]. Dans cette optique la valorisation des plantes médicinales qui ont des utilisations thérapeutiques intéressantes, et d'étudiées de nouvelles préparations à base des extraits de ces plantes. L'objectif de ce travail est de mettre en évidence et l'identification des métabolites secondaires par réalisation des tests phytochimiques et dosage des polyphénols des différents extraits ainsi que d'évaluer les activités antioxydant et antibactérienne des extraits organiques des trois espèces. Le présent document est réparti en deux parties principales:

➤ Partie bibliographique de ce mémoire est consacrée à une synthèse bibliographique sur L'olivier *Olea europea*, *Pistacia lentiscus* et *Zizyphus lotus*, la répartition géographique, sa composition chimique, ces activités biologiques, les composés phénoliques, leur propriété physicochimique,

La partie expérimentale dans laquelle nous abordons les méthodes utilisées pour l'extraction des composés phénoliques, les tests photochimiques et le dosage des polyphénols. Cette partie est suivie par une évaluation, de l'activité antioxydant et des tests d'activité antibactérienne des extraits organiques vis-à-vis des souches sélectionnées. Cette étude est complétée par une formulation du bain bouche et testé son activité antibactérienne à la fin une conclusion générale.

Partie théorique

Chapitre I

Présentation des plantes étudiées

1.1 Introduction

Les plantes médicinales constituent un patrimoine précieux pour l'humanité et plus particulièrement pour la majorité des communautés démunies des pays en voie de développement qui en dépendent pour assurer leurs soins de santé primaires et leur subsistance. Ainsi, ces populations utilisent la plupart des espèces végétales, tant ligneuses qu'herbacées, comme médicaments. En effet, une croyance bien répandue est que toute plante soigne [4]. Cependant, la flore algérienne avec ses 3000 espèces appartenant à plusieurs familles botaniques, dont 15% d'endémiques, reste très peu explorée sur le plan phytochimiques comme sur le plan pharmacologique [5]. Cette richesse et cette originalité font que l'étude de la flore d'Algérie présente un intérêt scientifique fondamental dans le domaine de l'ethnobotanique, de la pharmacopée traditionnelle mais également un intérêt scientifique appliqué dans le domaine de la valorisation des substances naturelles [5].

1.2 L'olivier *Olea europaea*

1.2.1 Présentation

L'olivier (*Olea europaea* L) est une espèce largement cultivée dans le bassin méditerranéen depuis la plus haute antiquité. L'utilisation la plus connue de l'olivier est sans nul doute la production de l'huile d'olive qui est utilisée à des fins alimentaires, cosmétiques et thérapeutiques [6]. Par ailleurs, les propriétés médicinales de l'olivier sont également attribuées à ses feuilles qui font aujourd'hui l'objet de nombreuses recherches scientifiques. L'olivier est considéré donc comme étant une plante aromatique et médicinale, réservoir de composés naturels aux effets bénéfiques [7]. Les feuilles d'olivier sont connues par leurs vertus bénéfiques pour la santé humaine, due à leurs richesses en composés phénoliques comme l'oleuropéine, l'hydroxytyrosol et d'autres flavonoïdes [8].



a. fleurs



b. feuilles



c. rameaux



d. fruits

Figure I.1 : Présentation des parties de l'olivier *Olea europaea*

1.2.2. Description botanique

L'olivier sauvage est un arbuste toujours vert et vivace qui croît spontanément dans les bois méditerranéens. Ses rameaux sont épineux et de section presque carrée. Les feuilles sont simples, ovales, persistantes et opposées, elles sont blanc argenté à la face inférieure, vert grisâtre à la face supérieure. Elles sont plus petites que celles de l'olivier cultivé. Les fleurs sont petites et blanches, à quatre pétales, sont réunies en grappes dressées [9]. Les fruits, olives, sont des drupes ovoïdes, vertes puis noires à maturité, à noyau dur fusiforme [10]. Ils sont également plus petits, avec une faible épaisseur de pulpe, et ils donnent donc peu d'huile. De par sa faible hauteur, les fruits de l'oléastre sont facilement consommés par les animaux [11].

1.2.3 Classification botanique

L'olivier appartient à la famille des oléacées. Le genre est appelé "Olea" et comporte 30 espèces différentes réparties sur la surface du globe. La classification botanique de l'arbre de l'olivier selon Ghedira est la suivante :

Tableau I.1 : Classification botanique de l'arbre de l'olivier [12]

Règne	Plantae
Embranchement	Magnoliophyta
Sous embranchement	Magnoliophytina
Classe	Magnoliopsida
Sous classe	Asteridae
Ordre	Scrophulariales
Famille	Oleaceae
Genre	Olea
Espèces	Olea europea L.

1.2.4 Origine et distribution géographique

L'olivier sauvage pousse à une altitude de 1000 à 3000 m dans la zone aride qui s'étend, en arc de cercle, du Tibet au Cap de Bonne-Espérance, en passant par le Cachemire, l'Arabie Saoudite, le Soudan, l'Éthiopie et l'Afrique du Sud-est [13]. L'olivier occupe les zones les plus chaudes de la région méditerranéenne [14], il pousse abondamment dans une forêt épaisse. Par ailleurs ces populations d'olivier sauvage sont limitées à quelques secteurs isolés des forêts natales de la méditerranée [15], ces formes spontanées sont répandues

notamment en Espagne, au Portugal, en Afrique du Nord, en Sicile, en Crimée, au Caucase, en Arménie et en Syrie. Il a été également retrouvé en Italie et dans le sud de la France pendant l'Holocène [16]. Bien qu'il soit originaire d'Asie mineure, l'olivier s'est rapidement étendu à tout le bassin méditerranéen grâce aux Grecs et aux Romains lors de leur colonisation, actuellement il est retrouvé même au Japon [17]. Pour Tassin (2012), les limites géographiques de l'olivier s'étendent de l'ouest (Maroc, Espagne) vers l'est du bassin méditerranéen [18].

1.2.5. Composition chimique

Les feuilles sont particulièrement riches en carbohydrates. La matière organique est constituée par des protéines, des monomères et polymères phénoliques tels que les tannins et principalement par des polysaccharides tels que cellulose et l'hémicelluloses. La teneur en protéine est faible dans les feuilles d'olivier. La teneur en matières azotées totales (MAT) des feuilles varie de 9 à 13%, alors que les rameaux ne dépassent guère 5 à 6%. Le teneur en matière grasse est environ 5 à 7% [19]. La feuille d'olivier est riche en triterpènes, flavonoïdes, sécoiridoïdes dont l'oleuropéoside et en phénols. Elle exerce des activités antioxydants, hypotensives, spasmolytiques, hypoglycémiantes, hypocholestérolémiantes et antiseptiques, outre les propriétés diurétiques pour lesquelles elle est utilisée sous forme de spécialité phytothérapeutique [12]. Le Tableau ci-dessous montre sa composition chimique globale. La composition chimique des feuilles varie en fonction de nombreux facteurs : variété, conditions climatiques, époque de prélèvement, âge des plantations [20].

Tableau I.2 : Composition chimique global des feuilles d'olivier [21]

Composants	Pourcentages (g par 100 g)
Proteins	5,0-7,6a
Minéraux	2,8-4,4a
Cellulose	11,4b
Hemicelluloses	13,3b
Lignine	14,2b
Polyphénols totaux	1,3-2,3b
Tannins solubles	0,3b
Tannins condensés	1,0b

- a. correspond aux valeurs exprimées par rapport à la masse fraîche des feuilles d'olivier.
- b. correspond aux valeurs exprimées par rapport à la masse sèche des feuilles d'olivier.

1.2.6 Activités biologiques

L'olivier et ses dérivés peuvent être considérés comme une source potentielle d'antioxydants naturels et qui peut être utilisé dans l'industrie pharmaceutique [22]. La feuille d'olivier est riche en triterpènes, flavonoïdes, sécoiridoïdes dont l'oleuropéoside et en acides phénols. Elle exerce des activités antioxydants, hypotensives, spasmolytiques, hypoglycémiantes, hypocholestérolémiantes et antiseptiques, outre les propriétés diurétiques pour lesquelles elle est utilisée sous forme de spécialité phytothérapeutique [12].

1.3 Zizyphus lotus

1.3.1 Présentation

Zizyphus Lotus (*Z. Lotus*), également connu sous le nom de jujube, appartient à la famille des angiospermes Rhamnacées. Cette famille comprend 900 espèces auprès de 58 genres. Ce sont des arbres, des arbustes, des lianes ou des plantes herbacées [23]. Zizyphus lotus est une plante médicinale fruitière épineuse largement utilisée en médecine traditionnelle, cultivée dans des régions tropicales et subtropicales de l'Asie, particulièrement en Chine, en Amérique et en Europe. Sa présence dans le nord africain est aussi documentée. C'est une espèce polyvalente : ses fruits, ses feuilles et ses racines présentent plusieurs intérêts sur le plan nutritif, cosmétique et médicinal [24]. Le Zizyphus est utilisé en médecine traditionnelle algérienne pour ses activités antidiabétiques, sédatives et hypoglycémiantes [25].

1.3.2 Description botanique

Zizyphus lotus (jujubier) est une sorte de fruit appartenant à la famille des Rhamnacées, un arbuste épineux [26]. Communément appelé "Sedra" en Afrique du Nord [27] Il forme des touffes de quelques mètres de diamètres jusqu'à 2m de hauteur. Les feuilles sont petites, alternes, obtuses, crénelées, à trois nervures, glabres, faiblement rigides, de 7 à 9 mm de large et de 9 à 13 mm de long, à pétiole court [28]. Les fruits sont des drupes sphériques dont les noyaux osseux biloculaires, petits et ronds sont recouverts d'une pulpe demi-charnue, très vite sèche, riche en sucre [28]. Les fleurs sont solitaires ou groupées avec un seul pédicelle court. Le calice est en forme d'entonnoir et pentamère. La corolle est petite à cinq pétales, cinq étamines épipétales avec deux styles courts [28].

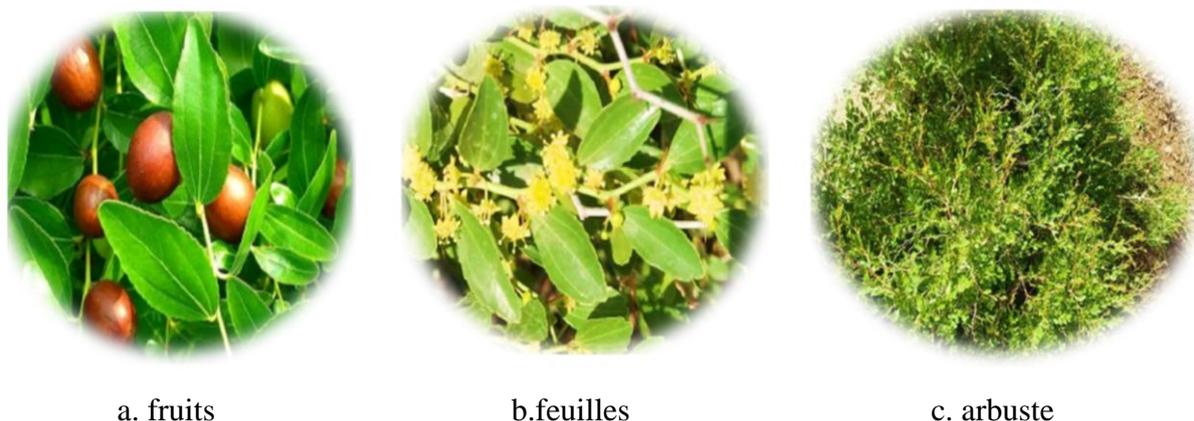


Figure I.2 : Présentation des parties de *Zizyphus lotus*

1.3.3 Classification botanique

La classification systématique de *Zizyphus lotus* selon Cronquist [29] est indiquée dans le tableau ci-dessous.

Tableau I.3: Place de *Zizyphus lotus* L. dans la systématique.

Règne	Plantae
Sous-règne	Tracheobionta
Division	Magnoliophyta
Classe	Magnoliopsida
Sous-classe	Rosidae
Ordre	Rhamnales
Famille	Rhamnaceae
Sous-famille	Paliureae
Genre	<i>Zizyphus</i>
Espèce	<i>Zizyphus lotus</i>

1.3.4 Origine et distribution géographique

Zizyphus lotus est une espèce méditerranéenne, généralement dans les pays arides et semi-arides, elle est largement distribuée en Chine, Iran, Afrique, en Corée du Sud et en Europe dans des pays tels que Chypre, et la Sicile" [30]. Elle est très répandue dans le nord et le nord-est de l'Algérie [31]. Dans le monde elle se trouve dans les pays de Berberie depuis la

tripolitaine et la côte Est de Tunisie jusqu'au Maroc occidentale, sud de l'Égypte, Asie mineur, Arabie, Afghanistan est cultivée et naturalisée dans le sud de Portugal et de l'Espagne (à Terracine), Spontanée en Grèce. C'est le Sedra des arabes, le Tazoura des Berbères. Elle est aussi présente au Sahara centrale [32].

1.3.5 Composition chimique

Les études phytochimiques menées sur le *Zizyphus lotus* montrent la présence de métabolites primaires et secondaires [33].

1.3.5.1 Métabolites primaires

Le *Zizyphus lotus* contient les différents métabolites primaires, le tableau ci-dessous indique le pourcentage des différents métabolites primaires dans le *Zizyphus lotus*.

Tableau I.4 : Pourcentage des compositions primaires des *Zizyphus lotus* [34]

Composition	Pourcentage
protéines	19,11%
Carbohydrates	40,87%
Lipides	32,92%
Sucres	20%

1.3.5.2. Métabolites secondaires

Le *Zizyphus* est connu par son contenu en molécules biologiquement actives tels que les polyphénols (flavonoïdes, tanins), les triterpènes, les anthraquinones, les alcaloïdes (cyclopeptides et isoquinolides), les saponosides [35]. Le tableau I.5 présente Les composants chimiques majeurs et leur quantité dans les différents organes végétaux du *Zizyphus lotus*.

Tableau I.5 : Les composants chimiques des différents organes du *Zizyphus lotus*[36] .

Organe de <i>Z.lotus</i>	Composés majeurs	Quantité(en mg/g)
Fruit	Polyphénols totaux	297-4078,2
	Flavonoïdes	122
	Tanins	33
Feuilles	Saponines	340
	Flavonoïdes	130-199
	Polyphénols totaux	664
Graines	Protéines	14220
	Polyphénols totaux	14,68
Pulpes	Protéines	1180
	Tanins	922
	Polyphénols totaux	325
	Flavonoïdes	173

1.3.6. Activité biologique

Le *Zizyphus* est connu par son contenu en molécules biologiquement actives tels que les polyphénols (flavonoïdes, tanins), les triterpènes, les anthraquinones, les alcaloïdes (cyclopeptides et isoquinolides), les saponosides [35]. Le *Zizyphus lotus* utilisées en médecine traditionnelle et ancestrale, à la fois en Afrique du Nord et au Moyen-Orient, pour le traitement de plusieurs pathologies (l'obésité, les troubles urinaires, le diabète, les infections cutanées, la fièvre, la diarrhée, l'insomnie, l'inflammation et les peptisateurs [37]. Les feuilles des espèces de *Zizyphus* ont un effet hypoglycémiant et une activité antiseptique. L'infusion de fleurs est utilisée comme fébrifuge et désinfectant pour les yeux [38]. Le fruit de *Z. lotus* est une source précieuse de nutriments ainsi que des composés antioxydants, antimicrobiens et antifongiques, immunosuppresseurs, anti-inflammatoires et antiulcérogènes. Les fruits ont également des effets antitumoraux [39] tandis que l'extrait de racines a des activités anti-inflammatoire ; analgésique antifongiques et antibactériennes [38,40]. Borgi et Chouhane ont montrés que les extraits aqueux des racines, des feuilles et des fruits de *Zizyphus lotus L.* possèdent une activité anti-ulcérogénique grâce à la présence des tanins et des flavonoïdes connus par leur effet gastro protecteur [40].

I.4.Pistacia lentiscus (L.)

I.4.1 Présentation

Le lentisque, ou pistachier lentisque (*Pistacia lentiscus* L.), est un arbrisseau du genre *Pistacia* appartenant à la famille des Anacardiaceae qui comprend environ 70 genres et plus de 600 espèces [41]. Le genre *Pistacia* comprend onze espèces à travers le monde. Son aire est discontinue et compte quatre régions phytogéographiques: méditerranéenne, irano-touranienne, sino-japonaise et mexicaine [42]. *Pistacia lentiscus* L., pistachier lentisque, ou lentisque est appelé aussi arbre au mastic car sa sève est utilisée pour la réalisation d'une gomme à odeur prononcée. Le pistachier lentisque peut s'adapter à des conditions pédoclimatiques difficiles, comme la sécheresse ou un sol calcaire [43].

I.4.2 Classification botanique

D'après Quézel et Santa [44], la position des lentisques dans la systématique du règne végétal est donnée par l'arbre phylogénique représenté dans le tableau suivant [45].



Figure I.3: *Pistacia lentiscus*[46]

Tableau I.6 : Classification du *Pistacia Lentiscus* L

Règne	Plantae
Embranchement	Spermaphytes
Sous embranchement	Angiospermes
classe	Dicotylédone
Sous classe	Dialypétales
série	Diacifores
ordre	Sapindale
famille	Anacardiaceés
Genre	<i>Pistacia</i>
Espèce	<i>Lentiscus</i>

1.4.3 Description botanique

P.lentiscus est un petit dioïque à feuilles persistantes ligneuses pennées et à folioles lancéolées, à écorce résineuse à odeur de résine fortement âcre, atteignant 1 à 8 m de haut. Il a un fort arôme caractéristique, produisant des brillants bais globuleux rouges. Floraison des plants mâles et femelles se chevauchent, généralement entre mars et mai et il pousse sur des sols alcalins. Tous les arbres de *P. lentiscus* partagent un rachis alternatif, coriace, et ailé, mais la morphologie peut varier : folioles oblongues, lancéolées ou elliptiques, mésocarpe mou ou sec, endocarpe osseux ou coriace [47]

1.4.3.1 Feuilles

Les feuilles de *Pistacia lentiscus* sont persistantes, possédant quatre à dix folioles assez étroites, coriaces, composées, elliptiques et lisses colorées en vert. Les feuilles du *Pistacia lentiscus* ont une durée de vie de 2 ans [48].

1.4.3.2 Fleurs

Les fleurs mâles et femelles du pistachier lentisque poussent sur différents arbustes, ces fleurs sont toutes très petites de 2-3 mm de large, vertes ou rougeâtres et denses, elles sont disposées en épis courts, serrés, latéraux à l'aisselle des feuilles. Les fleurs femelles sont de couleur vert jaune et les fleurs mâles sont rouge foncé [49].

I.4.3.3 Fruits

Les fruits de l'arbre de lentisque sont des drupes de petite taille d'environ cinq millimètres, globuleux qui renferment un seul noyau à une seule graine contenant une pulpe de bon goût et d'une odeur embaumée [50]. Les fruits présentent plusieurs couleurs aux différents stades de maturité en effet, ils sont de couleur verte, au début, puis se transforment en rouge à mi-maturité et à la maturité ils sont noirâtres.

I.4.3.4 Mastique ou résine

Une substance résineuse de couleur jaune claire (transparente) obtenue par l'incision répétée des tiges (figure 4) en émietant une odeur balsamique relativement forte qui durcit au contact avec l'air, est appelée mastic ou gomme-mastic d'où son nom commun d'arbre à mastic, généralement la production est d'environ 4 à 5 kilos par arbuste [51,52].



Figure I.4 : Présentation des parties de Pistacia lentiscus [53]

I.4.4 Origine et répartition géographique

Pistacia. lentiscus L. est un arbre spontané qui pousse sur tout le bassin méditerranéen en sites subhumide, semi-aride et arides de l'Europe, d'Afrique et d'Asie, jusqu'aux Canaries et au Portugal [54]. Il se trouve à l'état sauvage, sur tout type de sols dans les maquis et les garrigues [55]. En Algérie, le lentisque occupe l'étage thermo-méditerranéen en sites subhumide et semi-aride sur tout type de sol [56], plus précisément dans le bassin du Soummam en association avec le pin d'Alep, le chêne vert et le chêne liège [57], et se trouve sur le long du tell et dans les zones forestières [55]. Sa limite méridionale se situe aux environs de Saïda, sa présence au sud de l'Atlas saharien n'est pas signalée [58].

1.4.5 Composition chimique de l'espèce Pistacia lentiscus

Cette plante révèle la présence de plusieurs composés principaux: myrcène (19-25%) ; α -pinène (16%),; terpinène-4-ol (22%) ; d-3- carène (65%) , myrcène, limonène, terpinène-4-ol , α -phellandrène, sabinène, para-cymène et gterpinène[59].

1.4.5.1 Partie aérienne

L'analyse phytochimique des extraits de P.lentiscus a révélé que les parties aériennes sont atteintes dans sa composition chimique comme l'huile essentielle, alcaloïdes, produits phénoliques, tanins et saponines [60].

1.4.5.2 Les feuilles

Des études précédentes ont montré que l'extrait éthanoïque de feuilles est une source riche de flavonoïdes, acides phénoliques et tanins avec une forte concentration de composés phénoliques [61]. Elle est également riche de polyphénolscomposés (7/5% du poids sec des feuilles) en particulier le galloyl des dérivés comme l'acide mono, di et tri-O-galloylquinique et monogalloyl glucose . 1,2,3,4,6-Pentagalloyl glucose. Des dérivés de la myricétine ont été déterminés comme 20% de la quantité totale de polyphénols de feuilles de P. lentiscus [62].

1.4.5.3 Fruits

Les analyses ont montré que les principaux composants des extraits de fruits de P. lentiscus étaient les flavonoïdes, les tanins et les anthocyanes et triterpène [63].

1.4.5.4 La résine

L'analyse phytochimique de la gomme de mastic a révélé qu'elle contient un pourcentage élevé (30%) d'un polymère insoluble (poly- β -myrcène), une fraction acide contenant principalement des acides triterpéniques et une fraction de mastic neutre contient plusieurs composés triterpéniques neutres possédant une structure de type phytostérol [64] . Il contient 90% d'hydrocarbure monoterpénique ,79% d' α -pinène et 3% de β -myrcène [60].

1.4.5.5 l'huile essentielle

Pastacia. lentiscus est une riche source d'huiles essentielles composant les acides gras tels que les acides oléique, palmitique et linoléique et les polyphénols et comprennent le glucuronide de myricétine, myricétine 3-O-rutinoside et myricétine 3-O-rhamnoside , quercétine 3-O-rhamnoside, delphinidine 3-O-glucoside, cyanidine 3-Oglucoside, acides phénoliques comme l'acide gallique et le 5-Ogalloyl quinic acide [65].

1.4.6 Activités biologiques de Pistacia lentiscus

Les feuilles sont pourvues d'activités anti-inflammatoire, antibactérienne, antifongique, antipyrétique, astringente, hépatoprotective, expectorante et stimulante [66,67]. Elles sont également utilisées dans le traitement d'autres maladies telles que l'eczéma, infections buccales, diarrhées, lithiases rénales, jaunisse, maux de tête, ulcères, maux d'estomac, asthme et problèmes respiratoires [68]. L'écorce du P.lentiscus est largement utilisé contre l'hypertension dans certaines régions d'Espagne, les gens préparent la partie aérienne de la plante en décoction à 1% et prennent 150 ml, une fois par jour à jeun [68]. La résine de cette plante possède des activités antioxydant et antimicrobienne [69].

Chapitre II

Généralité sur les polyphénols

I.1 Détermination de Taux d'humidité

Les résultats des teneurs d'humidité des plantes étudiées sont présentés dans la figure ci-dessous. On observe une teneur très forte dans les feuilles de Zizyphus lotus avec une valeur de 56 % par contre un pourcentage plus faible est enregistré dans les feuilles de Pistacia lentisques avec une valeur de 45%. Cette teneur en eau est conforme à celle observée par la pharmacopée Européenne 1999. La teneur élevée en eau, chez les plantes, est en relation étroite avec l'activité métabolique. Elle fournit l'hydrogène indispensable aux réactions de biosynthèse [152].

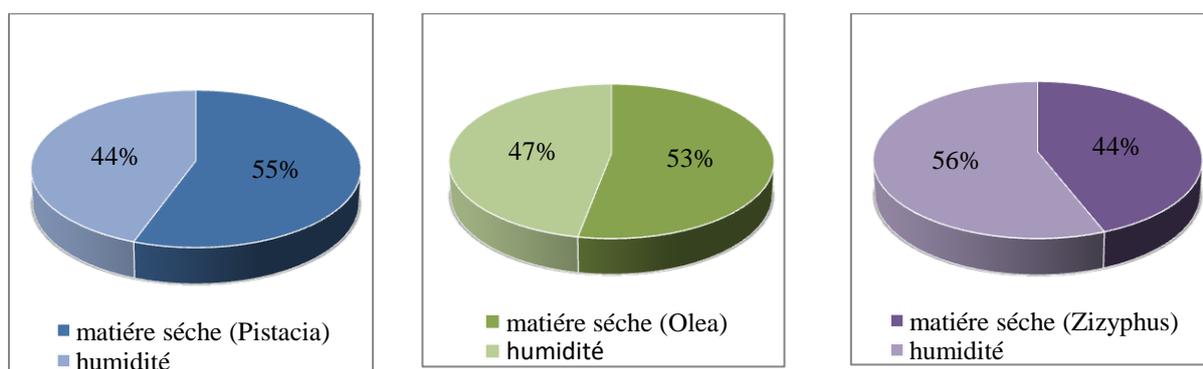


Figure II.1 : Teneur en humidité des trois plantes

I.2 Rendement de l'extraction

Après extraction et récupération des extraits sous forme de poudre, l'aspect physique, la couleur et le rendement (exprimés en g/100 g de matière sèche) de chacun des extraits ont été déterminés et représentés dans le tableau ci-dessous :

Tableau II.I : Rendement et l'aspect organoleptiques des différents extraits

Les extraits	Aspect	Couleur	La masse (g)	Rendement(%)
Zizyphus eau ZE	Poudre	Vert clair	1.0616	21.23
Zizyphus éthanol ZET	Poudre	Vert foncé	0.904	18.08
Olivier eau OE	Poudre	Marron	1.2187	24.37
Olivier éthanol OET	Poudre	Vert foncé	1.0951	21.90
Pistacia eau PE	Poudre	Miel	1.6057	32.11
Pistacia éthanol PET	Poudre	Vert foncé	1.513	30.26

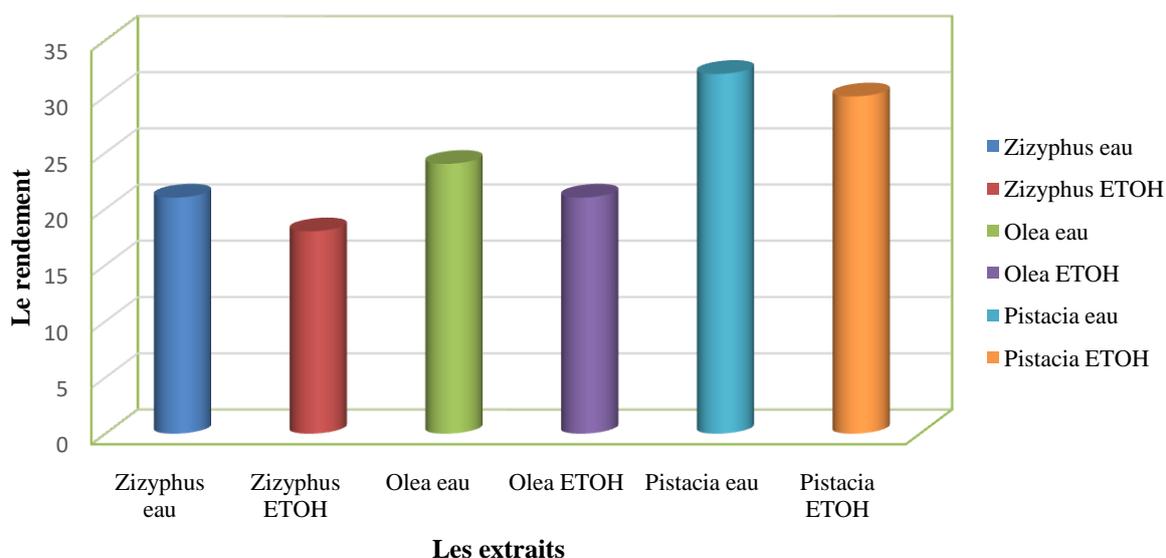


Figure II.2: Rendements d'extraction des composés phénoliques

D'après la figure(II.2) on constate que les rendements d'extraction varient en fonction de l'espèce et en fonction du solvant;

- Les résultats obtenus révèlent que l'extrait Pistacia eau donne clairement le meilleur rendement de 32,11 % suivie par l'extrait Pistacia éthanol avec un rendement de 30,26 %. Le rendement le plus faible est celui de Zizyphus éthanol de l'ordre de 18,08 %.
- Le rendement des extraits dépend de plusieurs facteurs, tels que l'origine de la plante [153], la variété, la saison de récolte, les conditions climatiques et environnementales, la situation géographique, les différentes maladies qui peuvent affecter la plante, la maturité de la plante [154] et la méthode d'extraction.

1.3. Caractérisation des extraits par spectroscopie infrarouge

Les spectres IR obtenus confirment la présence des bandes caractéristiques dont chacun correspond à un groupement fonctionnel donnée, les résultats sont rapportés dans les figures ci-dessous.

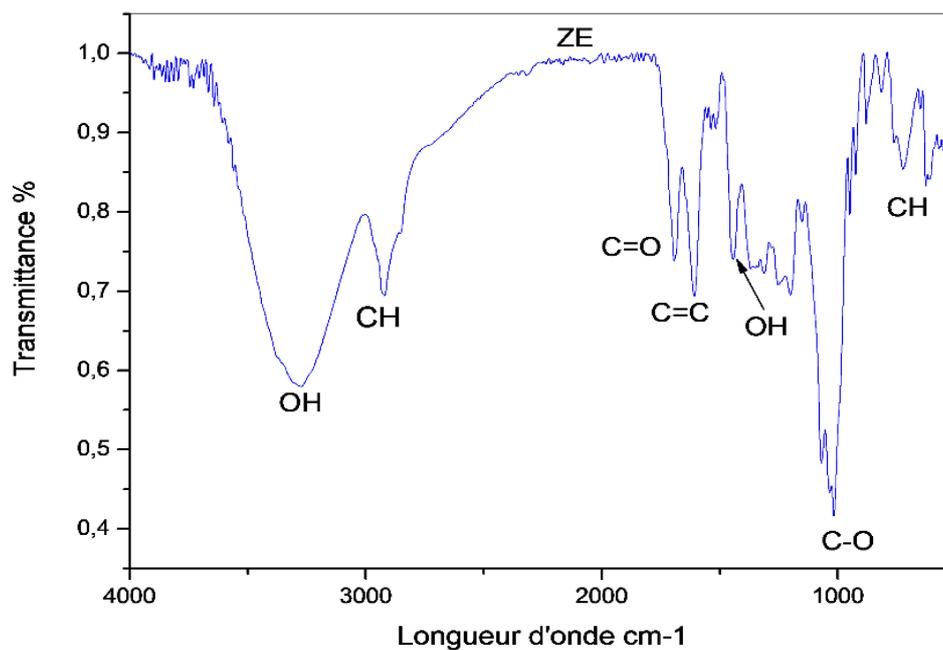


Figure II.3 : Spectre IR de l'extrait Zizyphus eau

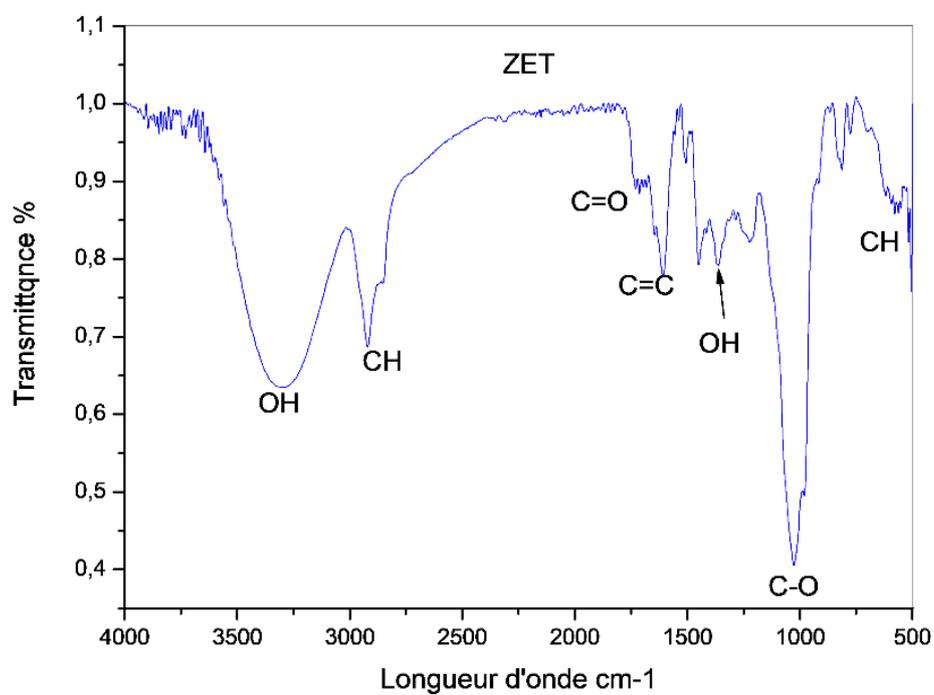


Figure II.4 : Spectre IR de l'extrait Zizyphus éthanol

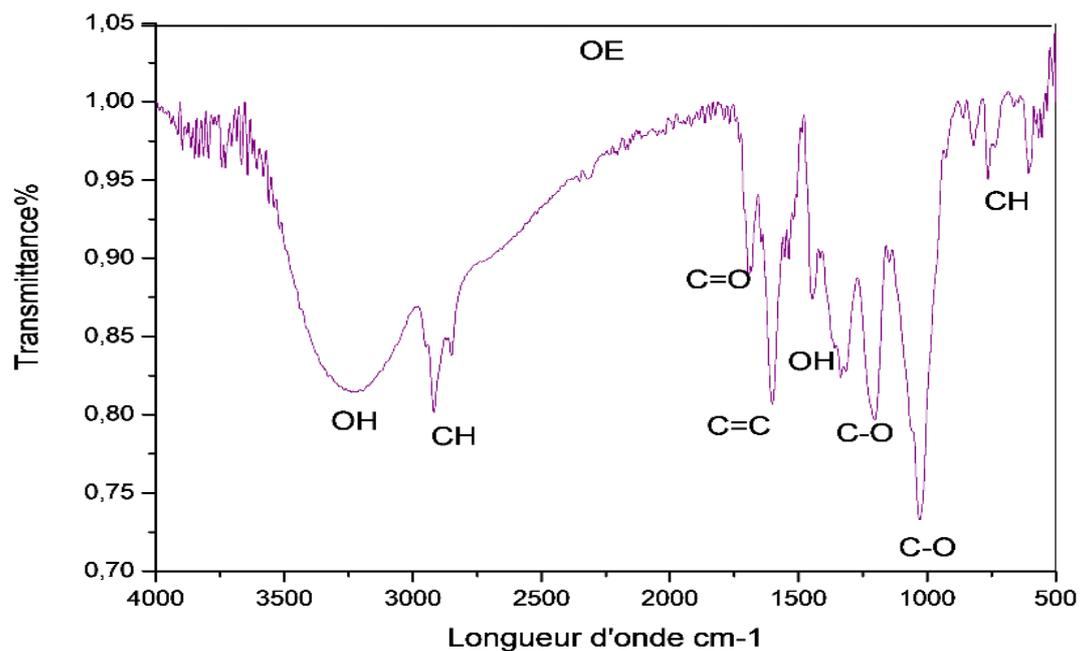


Figure II.5: Spectre IR de l'extract olivier eau

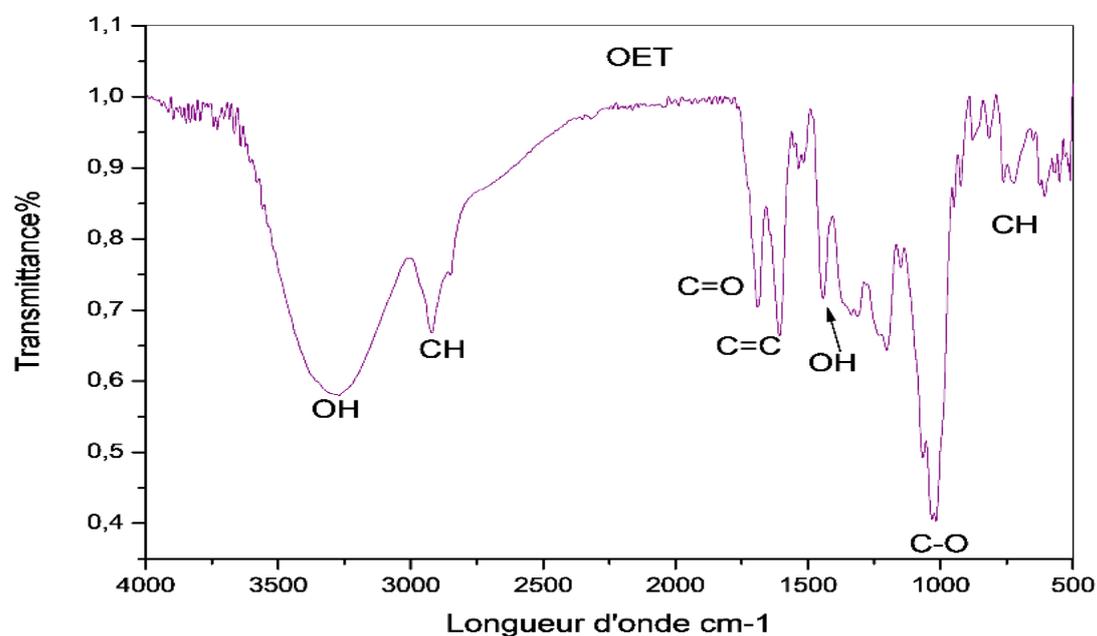


Figure II.6 : Spectre IR de l'extract olivier éthanol

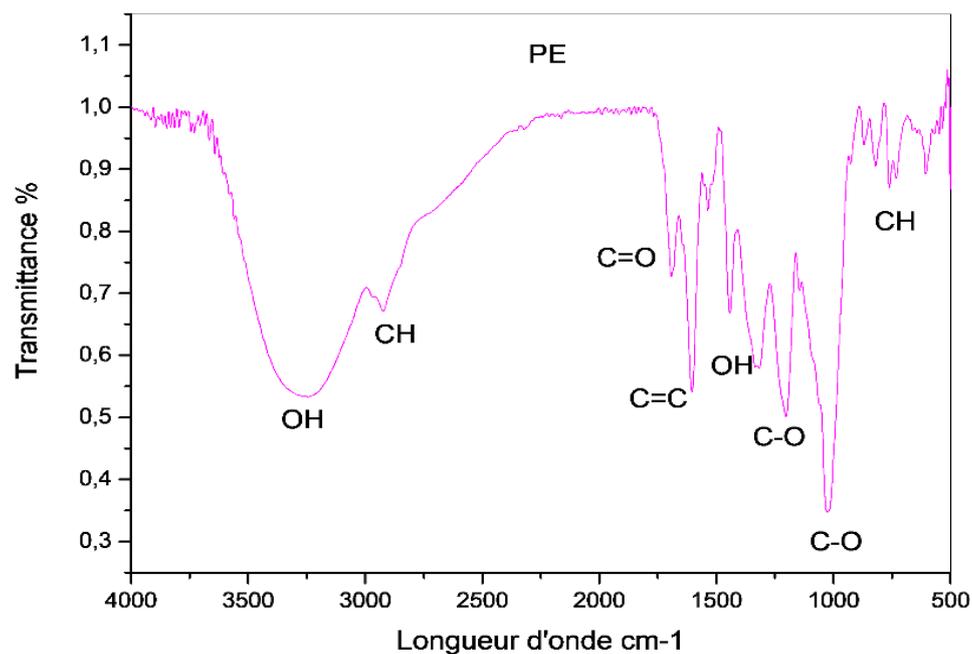


Figure II.7 : Spectre IR de l'extrait Pistacia eau

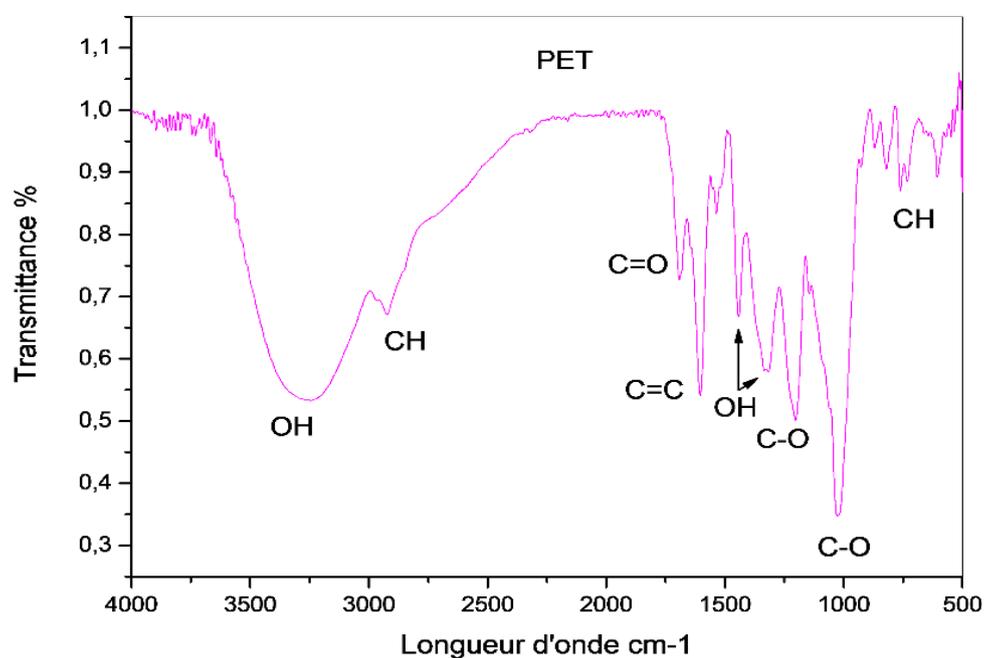


Figure II.8 : Spectre IR de l'extrait Pistacia éthanol

Les spectres présentent une large bande vers ($3270\text{--}3240\text{ cm}^{-1}$) est due aux vibrations d'élongation OH caractéristique des acides organiques, et deux bandes d'intensité moyennes vers 2853 cm^{-1} et 2924 cm^{-1} , caractéristique des vibrations d'élongation

symétriques C-H des groupes aliphatiques CH₂ et CH₃, respectivement. Une bande au voisinage de 1698 à 1713cm⁻¹ de groupe carbonyle (C=O) caractéristiques d'acides phénoliques. On observe aussi des bandes intenses à 1605 cm⁻¹ et ceux à 1517cm⁻¹ sont attribués à la vibration d'élongation de la liaison C=C du cycle aromatiques. Les bandes au voisinage 1444- 1316 cm⁻¹ sont attribuées à la vibration de déformation de groupe OH. On note une bande intense vers 1017 cm⁻¹ qui est attribué au C-O phénolique. Les bandes au voisinage de 949 à 511cm⁻¹ sont attribuées à la vibration de déformation de la liaison CH insaturé. La détection de ces bandes d'absorption caractéristiques confirme la richesse des extraits de feuilles en composés phénoliques.

Tableau II.2 : principales bandes caractéristiques des extraits

Nombre d'onde (cm ⁻¹)	Vibration des groupes fonctionnels
3270 –3240	OH des acides organiques
2853- 2924	C-H des groupes aliphatiques
1698-1713	C=O d'acides phénoliques
1605-1517	C=C du cycle aromatiques
1415-1336	vibration de déformation de groupe OH
1017	C-O phénolique.
949-511	vibration de déformation de CH insaturé

1.4 Screening phytochimiques

Les tests phytochimiques réalisés ont permis de mettre en évidence la présence ou l'absence des différents principes actifs, ils sont exprimées par (+) et (-) respectivement. Ces tests préliminaires sont reportés dans le tableau ci-dessous et annexe II.1 :

Tableau II.3 : Résultats des tests phytochimiques d'extraits de Zizyphus Lotus

Métabolites secondaires	Réactifs	Les différents extraits			
		Extraits aqueux		Extraits éthanol	
		Observation	Résultat	Observation	Résultat
Flavonoïdes	NaOH		++++		++++
Tannins	Chlorure ferrique		++++		+++
Phénols	Chlorure ferrique		-		++
Quinones	Acide sulfurique concentré		++++		++++
Stéroïdes	Chloroforme -Anhydride acétique -Acide sulfurique		-		-
Alcaloïdes	Réactif de Mayer + HCL		+		+++
Saponines	Eau distillé		++++		-
Terpénoïdes	Chloroforme +acide sulfurique		-		+
Coumarines	Hydroxyde de sodium		++++		-

L'ensemble des résultats enregistrés révèlent une composition riche et variée en métabolites secondaires où les flavonoïdes, les tanins, Quinones et les phénols sont présents en quantité importantes, avec l'absence de coumarines, alcaloïdes, Stéroïdes, Saponines et de terpénoides dans certains extraits. On constate que l'eau distillée est le meilleur solvant d'extraction avec une quantité plus grande des différentes familles chimiques

I.5 Analyse quantitative

I.5.1 Dosage des polyphénols totaux

La teneur des polyphénols totaux des différents extraits est déterminée par l'équation de régression $y = 0,0178x - 0,0581$, de la courbe de calibration de l'acide gallique et exprimée en milligramme équivalent d'acide gallique par g de la matière sèche (mg EAG/ g).

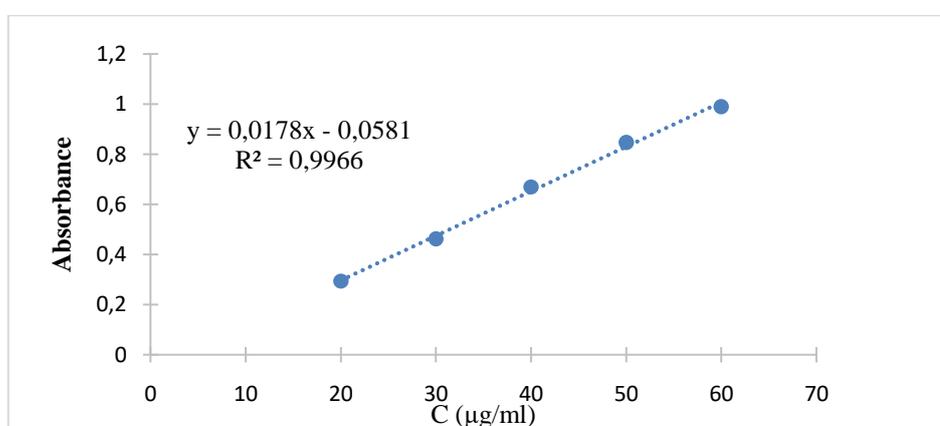


Figure II.9 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique

Les résultats du dosage des PPT obtenus sont illustrés dans la figure suivante et (annexes II.2)

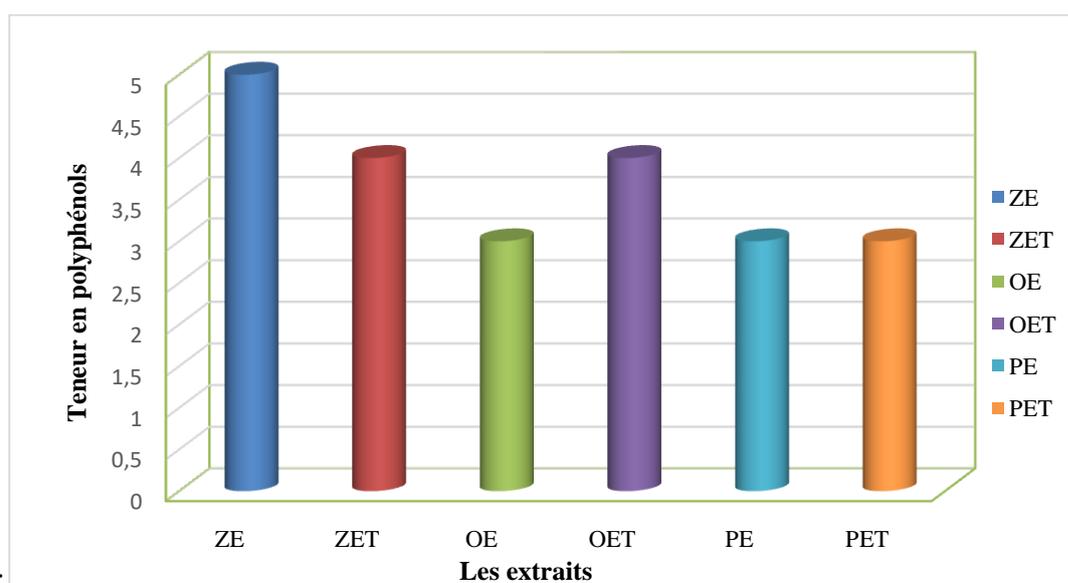


Figure II.10 : Teneurs en polyphénols totaux des extraits

- ✓ Les analyses quantitatives des extraits préparés confirment la richesse de nos plantes par les groupes chimiques ciblés (polyphénols)
- ✓ Les résultats en terme de teneurs en polyphénols totaux montrent que l'extrait Zizyphus eau, olivier éthanol et l'extrait Zizyphus éthanol étaient les plus riches en polyphénols avec des teneurs de 5.02, 4.897 et 4.44 mg EAG /g, alors que l'extrait Pistacia éthanol ne contient que 3.33 mg EAG /g).

1.5.2 Dosage des flavonoïdes

La teneur en flavonoïdes des différents extraits a été déterminée à partir de la courbe d'étalonnage de la Quercétine ($y=0.0018x+0.1347$) et exprimé en mg équivalent de Quercétine par gramme de matière sèche (mg EQ/g)

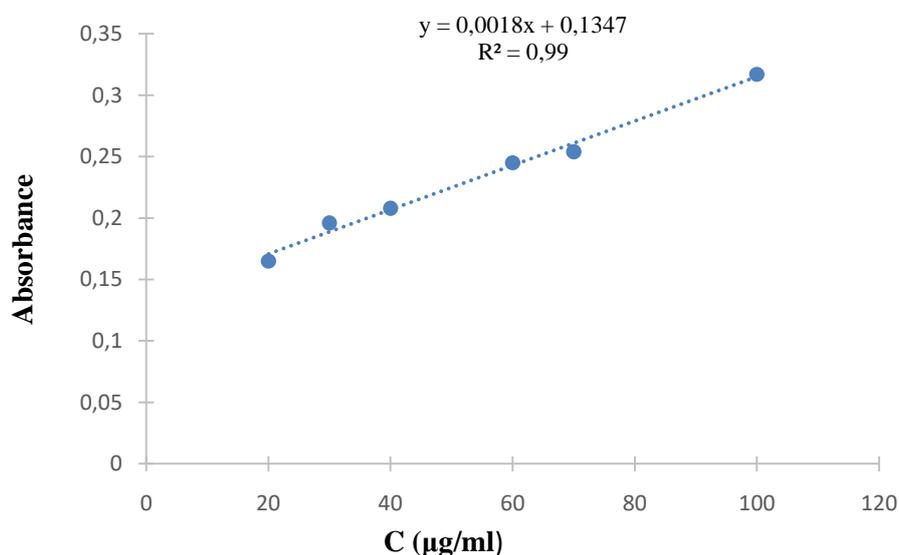


Figure II.11: Courbe d'étalonnage de quercitrine

Les résultats du dosage des flavonoïdes sont représentés dans la figure suivante et (annexes II.2)

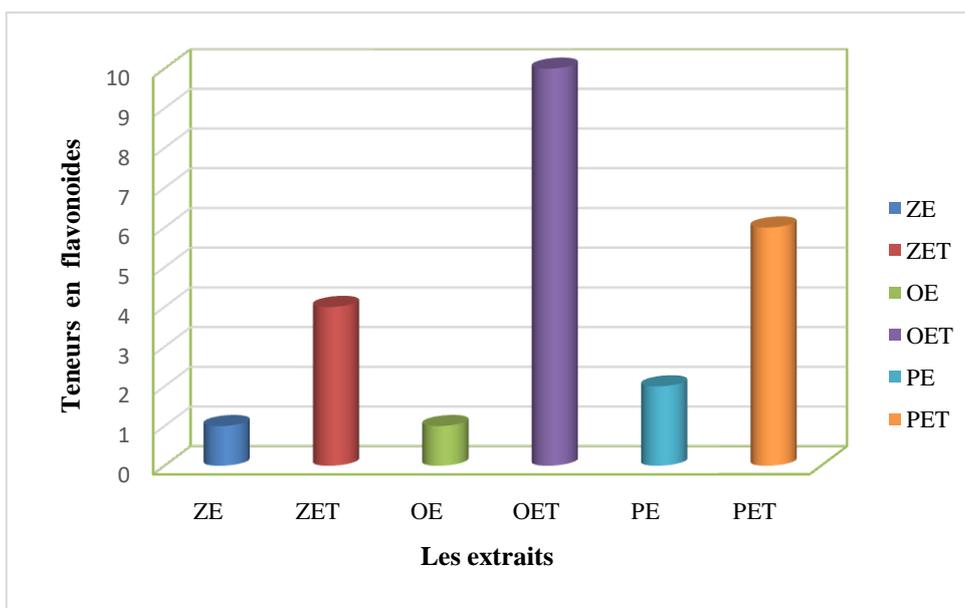


Figure II.12 : Teneur en flavonoïdes des différents extraits

- ✓ On constate que l'extrait olivier éthanol présente la plus grande teneur en flavonoïdes dont la valeur est égales à 10,14mg/g Alors que la plus faible teneur 0,76 (mg/g) est trouvée dans l'extrait Zizyphus eau , ce la confirme que les extraits éthanoïques sont très riche en flavonoïdes.

I.5.3 Teneur en tannins totaux

Les teneurs des tannins sont calculées a partir de la courbe d'étalonnage de catéchine $y=0.00076x-0.0076$ (annexe II.2) [134] et exprimés en mg équivalent de Catéchine/g d'extrait (mg EC/g). Les résultats tanins condensés sont répertoriés dans le tableau suivant et (annexes II.2)

Tableau II.4: Teneur en polyphénols, flavonoïdes et tannins des différents extraits

Extraits	Polyphénols (mg/g)	Flavonoïdes (mg/g)	Tanins (mg/g)
Zizyphus eau ZE	5.015	0.764	14.08
Zizyphus éthanol ZET	4.439	4.995	15.95
Olivier eau OE	3.657	1.609	10.54
Olivier éthanol OET	4.897	10.141	12.39
Pistacia eau PE	3.879	2.120	9.42
Pistacia éthanol PET	3.331	6.385	10.43

- ✓ La figure ci-dessous montre les résultats de la composition en tanins condensés totaux des extraits.

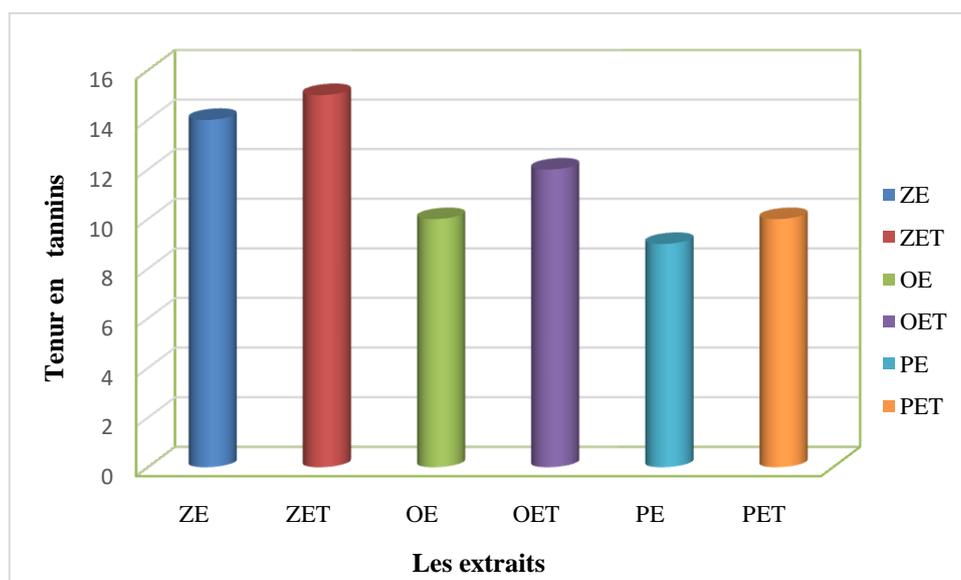


Figure II.13 : Teneur en Tannins des différents extraits

- ✓ A partir des histogrammes illustrés ci-dessus on observe que les teneurs en tannins varient considérablement entre les différents extraits.
- ✓ On remarque que l'extrait Zizyphus éthanol a enregistré une teneur la plus élevée avec une moyenne de 15,95 mg EC/g d'extrait sec cependant l'extrait Pistacia eau à montré une faible valeur de 9,42 mg EC/g d'extrait sec.

1.6 Activité antioxydant des extraits

La méthode de DPPH a été choisie, en raison de sa simplicité, rapidité, sensibilité et de sa reproductibilité [155]. Les résultats obtenus sont exprimés en pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des concentrations des extraits. Le pouvoir antiradicalaire des différents extraits est représenté dans les tableaux et (annexes II.3) et illustré dans les figures ci-dessous :

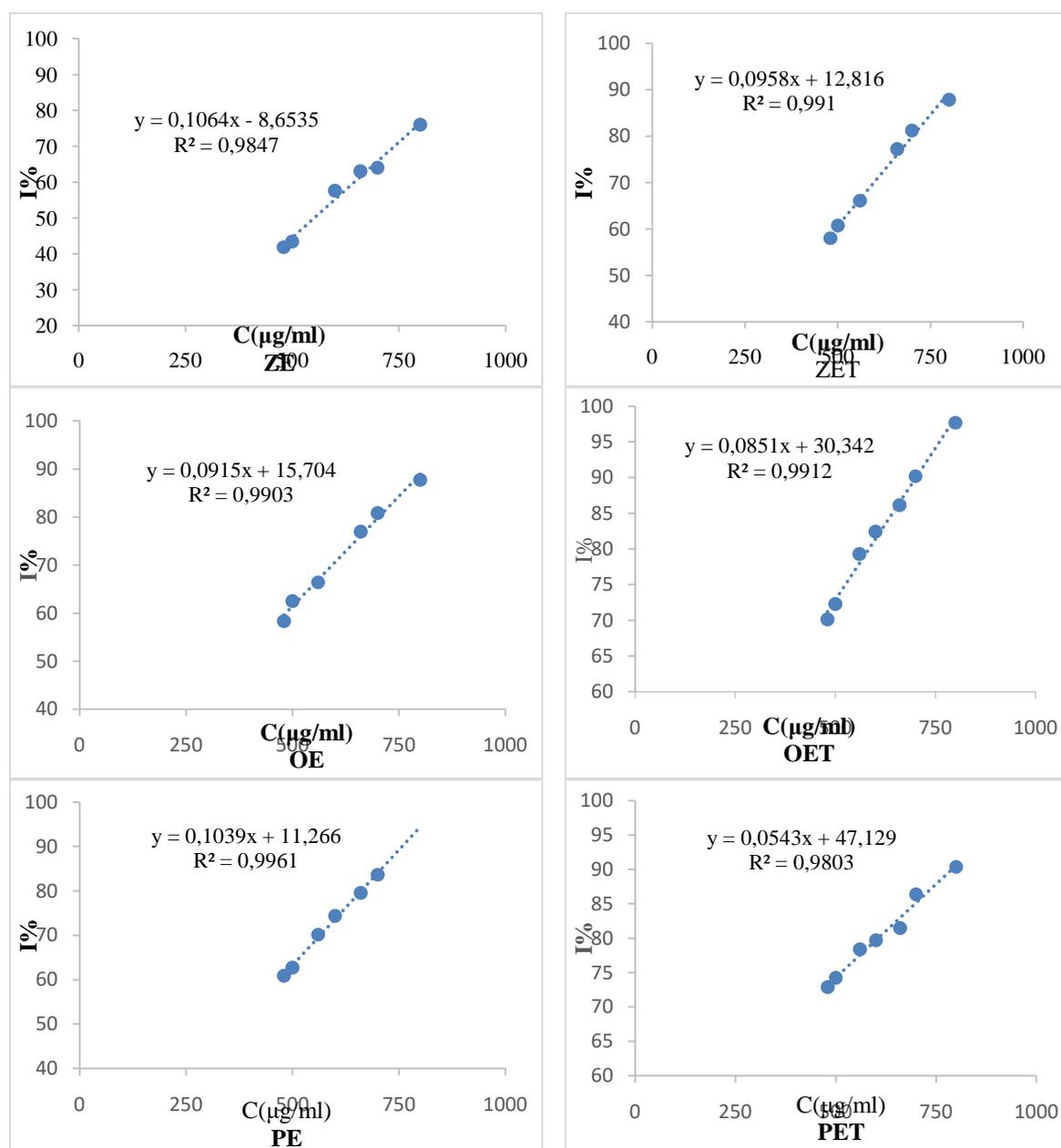


Figure II.14 : Résultats de l'activité antioxydant

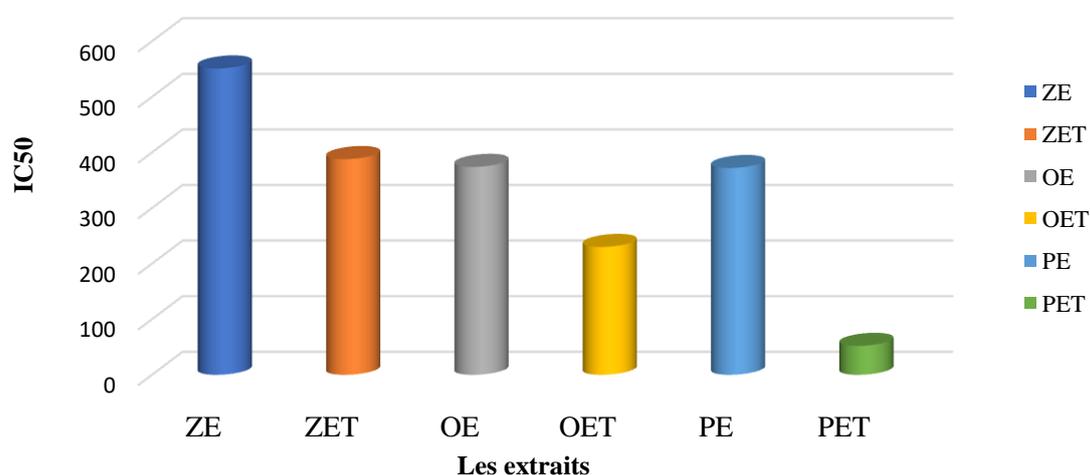
✓ D'après les résultats obtenus, on constate que le pouvoir antiradicalaire est proportionnel à la concentration des extraits préparés.

La détermination des pourcentages d'inhibition IC50 des différents extraits a été réalisée graphiquement sur les courbes de régression qui relient les pourcentages d'inhibition aux concentrations. Les résultats sont regroupés dans le tableau suivant.

Tableau II.5 : IC50 des différents extraits des plantes étudiées

Les extraits	Equation linéaire	IC50 (µg/ml)
ZE	$y = 0,1064x - 8,6535$	551.254
ZET	$y = 0,0958x + 12,816$	388.14
OE	$y = 0,0915x + 15,704$	374.819
OET	$y = 0,0851x + 30,342$	230.998
PE	$y = 0,1039x + 11,266$	372.8
PET	$y = 0,0543x + 47,129$	52.872

Les valeurs IC50 calculées nous ont permis de dessiner la figure suivante:

**Figure II.15 :** IC50 d'activité antioxydant des extraits

- ✓ Les résultats obtenus montrent que les différents extraits présentent une capacité antioxydant importante, ainsi que l'extraits PET possède la meilleure activité antioxydant de l'ordre de 52,87 µg/ml, suivi de l'extrait OET avec une IC50 de 230,99 µg/ml cependant l'extrait ZE possède la plus faible capacité antioxydant de l'ordre de 551,24 µg/ml

1.7 Pouvoir antibactérien des extraits

L'activité des extraits étudiés a été évaluée par la présence ou l'absence d'inhibition de la croissance bactérienne. La présence de l'activité antibactérienne est traduite par l'apparition des zones claires autour des disques imbibés des extraits, l'absence de

l'inhibition se traduit par l'absence d'halos autour des puits. Après 48 heures d'incubation à 37°C. Les résultats obtenus sont présentés sur les figures suivantes :

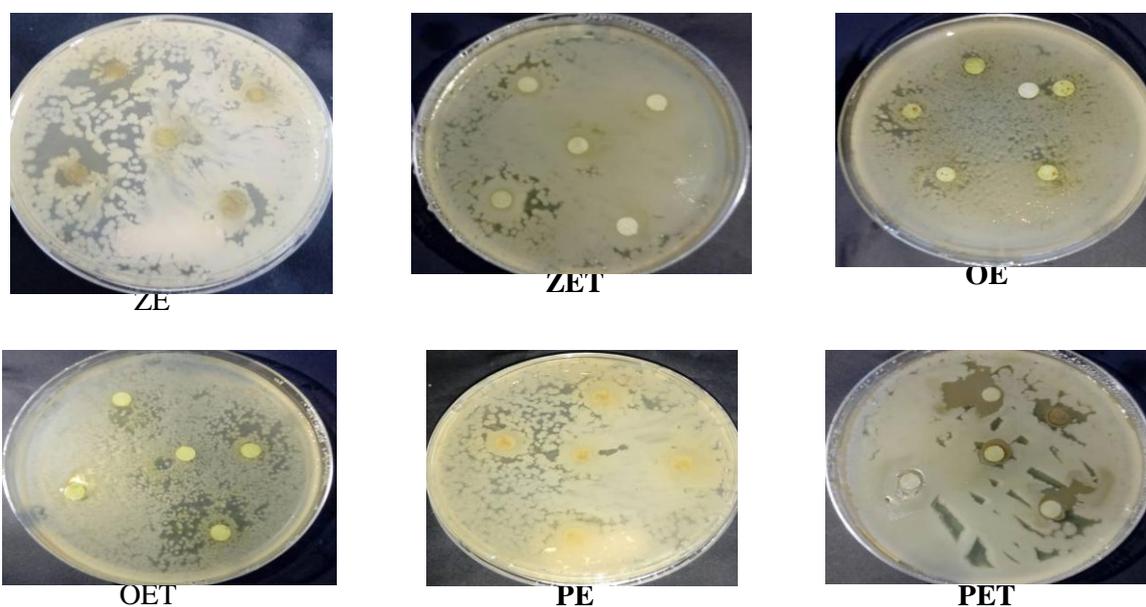


Figure II.16 : Résultats de l'activité antibactérienne des extraits des vis-à-vis Bacillus cereus

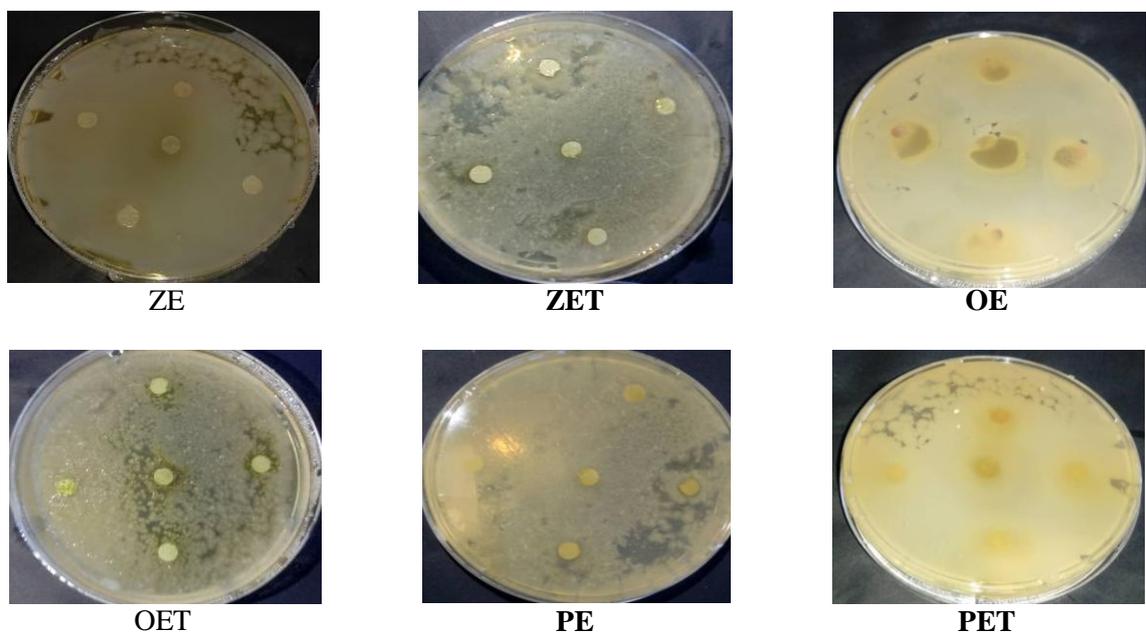


Figure II.17 : Résultats de l'activité antibactérienne des extraits vis-à-vis S. Aureus

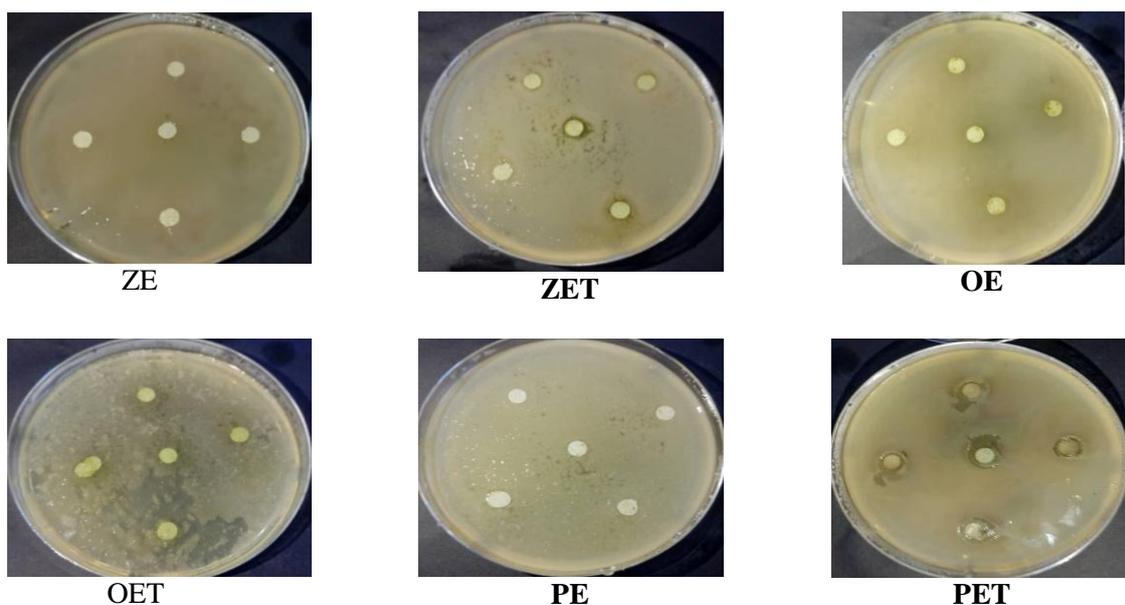


Figure II.18 : Résultats de l'activité antibactérienne des extraits vis-à-vis E. Coli

- ✓ D'après les résultats, il apparaît que toutes les souches bactériennes testées sont inhibées par les extraits phénoliques, avec divers degrés d'activité antimicrobienne.

En effet selon les études réalisées par Hayouni et al ont rapporté que la méthode d'extraction et la nature du solvant peuvent influencer l'activité antimicrobienne des composés phénoliques des plantes. Le diamètre de la zone d'inhibition diffère d'une bactérie à une autre et d'un extrait à un autre. La variation de l'activité antimicrobienne des extraits explique les variations de leurs compositions chimiques [156].

- ✓ Les tests d'activité antibactérienne ont permis de mettre en évidence la présence d'une importante activité des extraits sur les différentes souches testées. Les zones d'inhibition et leurs diamètres sont présentés dans les tableaux (annexe II.4) et les figures ci-dessous.

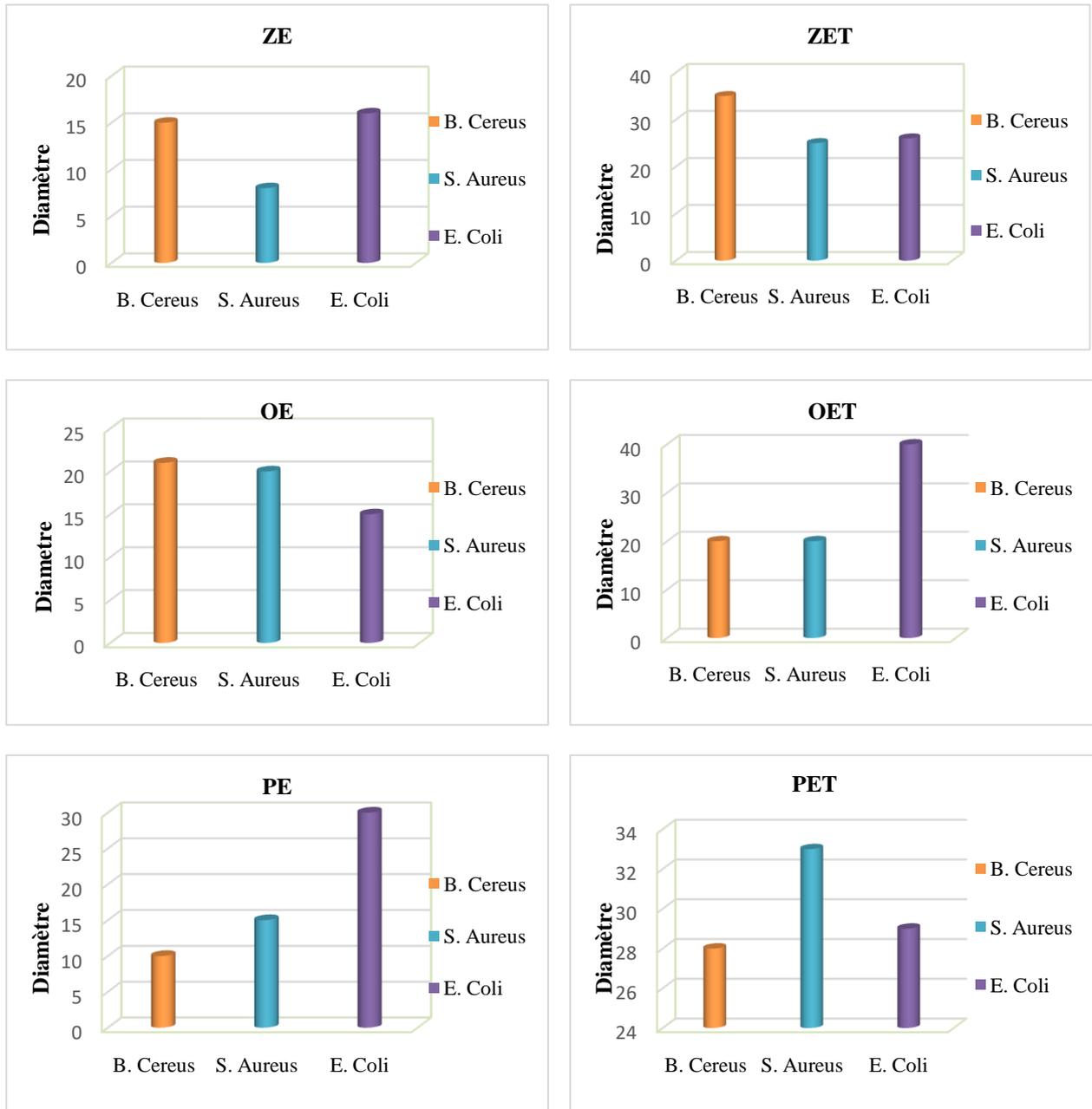


Figure II.19: Diamètres des zones d’inhibition des extraits.

- On remarque que, la croissance des colonies d’Escherichia coli, est fortement inhibées par les extraits olivier éthanol et Pistacia eau avec des zones d’inhibition d’ordre de 40mm et 30mm respectivement.
- ✓ On note aussi que la croissance des colonies de Bacillus Cereus est fortement inhibées par les extraits Zizyphus éthanol et Pistacia éthanol avec des zones d’inhibition d’ordre de 35mm et 29mm respectivement.

- ✓ Les résultats présentés sur les figures ci-dessus montrent que l'extrait éthanoïque d'olivier présente une bonne activité contre *Escherichia coli*, par rapport aux autres extraits.
- ✓ On constate que l'extrait Pistacia éthanol est l'extrait le plus efficace retardant la croissance microbienne de toutes les bactéries pathogènes testées.
Des valeurs similaires ont été enregistrées dans les travaux de Benhamou et al. (2008), Dans l'extrait éthanoïque des feuilles de Pistacia lentisque avec une zone d'inhibition de 21,5 mm contre *S. aureus* [157].

Il apparaît que l'extrait Zizyphus eau semble avoir une action inhibitrice modérée sur la croissance d'*Escherichia coli*, *Bacillus Cereus* et de *Staphylococcus aureus* avec un diamètre d'inhibition varie de 16mm, 15mm à 8mm respectivement.

On pense que différents mécanismes sont responsables de l'activité antimicrobienne de polyphénols. Certaines études de Scalbert montrent que les phénols hautement oxydés [158] ou ceux qui ont plus d'OH sont plus inhibiteurs que ceux qui sont moins oxydés. De plus, les travaux de Sato et al confirme que les flavonoïdes avec plus de groupes (OH) avaient une plus grande activité antimicrobienne [159].

Dans d'autres études, Cowan a signalé que certains composés phénoliques tels que les quinones agissent comme une source de radicaux libres stables et se lient de manière irréversible aux protéines, entraînant leur perte de fonction. D'autres cibles sont l'inactivation des enzymes, la liaison aux adhésions à la surface des cellules microbiennes, la liaison aux protéines de la paroi cellulaire et l'interaction avec les substrats les rendant indisponibles pour le micro-organisme [160].

1.8 Caractéristique du bain bouche

D'après les résultats obtenu on constate que les formulations de bain bouche à base des trois espèces ont montrés un bon résultat de point de vue homogénéité, couleur, odeur, PH, aussi ils ont montrés une bonne stabilité durant le stockage dans le réfrigérateur pendant la période d'étude (35jour).

Tableau II.6 : Caractéristique du bain de bouche

Température	Paramètre d'évaluation	Les formulations			
		F1	F2	F3	F4
3-5°C	Couleur	vert foncé	vert foncé	vert foncé	vert foncé
	Odeur	Pas de changement	Pas de changement	Pas de changement	Pas de changement
	Séparation de phases	Aucun	Aucun	Aucun	Aucun
	Homogénéité	bien	bien	bien	bien
	pH	5.55	5.60	4.78	4.65

I.9 Évaluation antibactérienne des formulations du bain de bouche

Après 48 heures d'incubation à 37°C, les zones d'inhibition observées autour des puits imprégnés de différentes formulations ont été mesurées. Les résultats obtenus sont présentés sur la figure suivante et dans les tableaux (annexes II.4) :

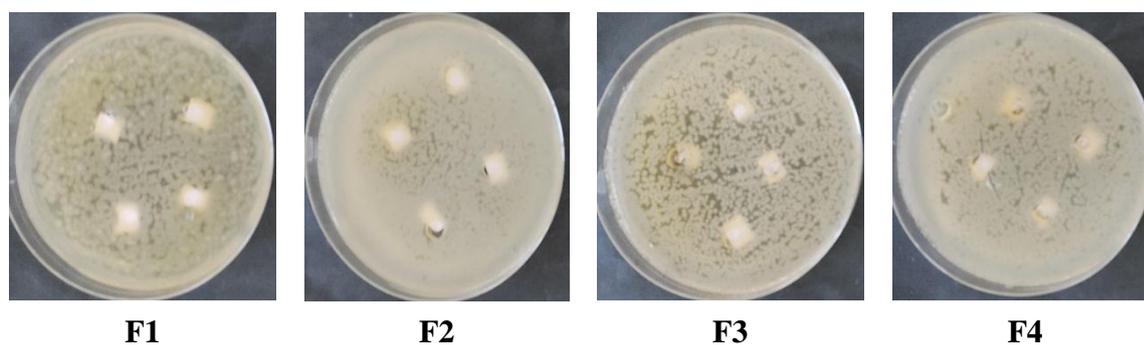


Figure II.20 : Résultats de l'activité antibactérienne de BB vis-à-vis B. Cereus

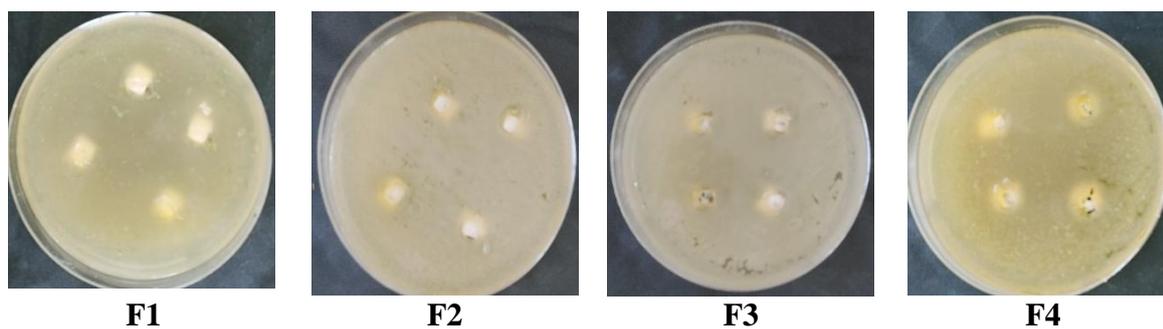


Figure II.21 : Résultats de l'activité antibactérienne de BB vis-à-vis E. Coli

- ✓ On remarque que toutes les formulations ont dénoncé un effet inhibiteur important contre les souches sélectionnées.
- ✓ On note une faible activité inhibitrice des différentes formulations contre la souche

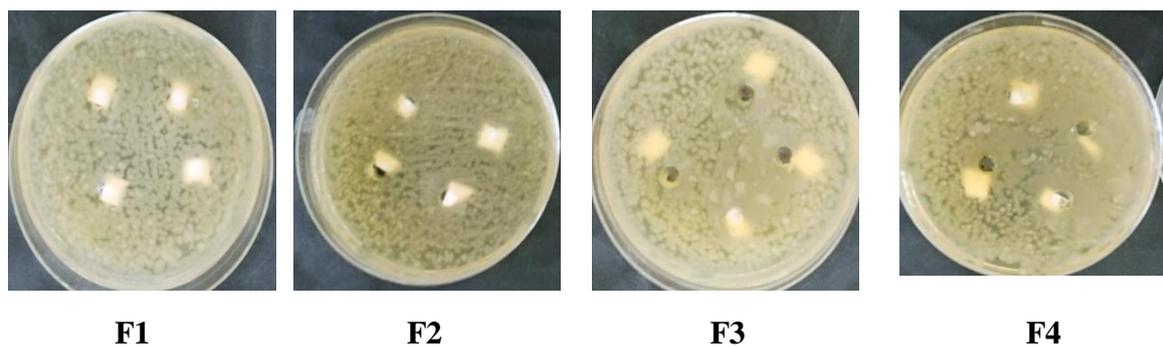


Figure II.22 : Résultats de l'activité antibactérienne de BB vis-à-vis S. Aureus

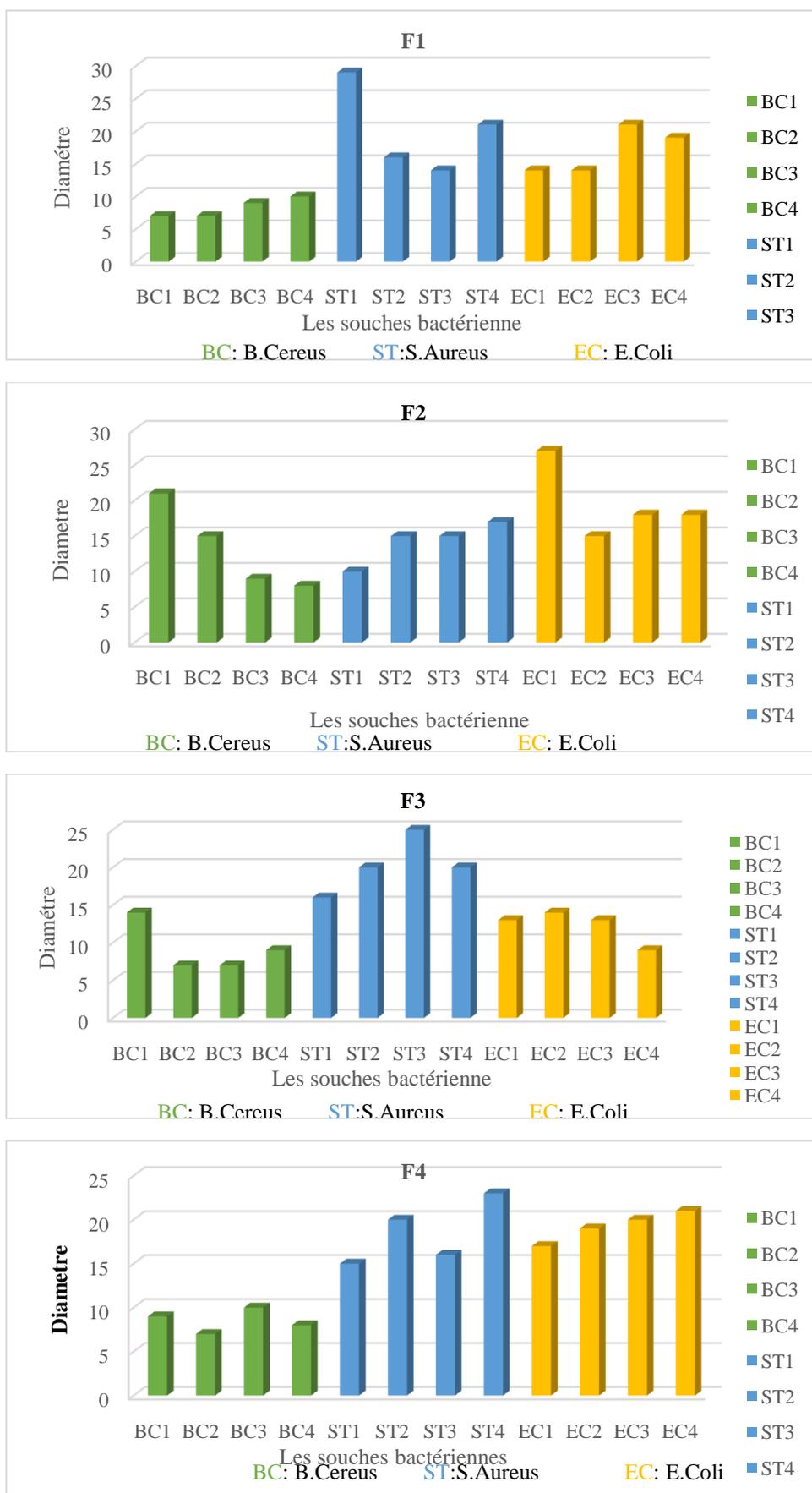


Figure II.23 : Diamètres des zones d'inhibition des bains de bouches

- D'après les histogrammes obtenu on constate que quatre formulations présentes un effet inhibiteur significatif contre *Escherichia coli*, *S.Aureus*, avec un diamètre d'inhibition varie entre 14mm et 27mm.
- On constate que, la croissance des colonies *Staphylococcus aureus*, est fortement inhibées par ces formulations avec des zones d'inhibition vari entre 12 mm et 22 mm
- Les figure ci-dessus affirme que le pouvoir antibactérien des formulations est classer selon l'ordre suivant $F4 > F1 > F3 > F2$.
- On observe que les diamètres des zones d'inhibition diminuent graduellement avec les dilutions préparé.
- On conclue que la formulation F4 à un meilleur effet inhibitrice vis à vis les souches *Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli*, et cela est du probablement à la combinaison des différents métabolites secondaires bioactifs de chaque plante.
- On conclue que bain bouche à base de plantes formulé une alternative abordable pour réduire le nombre de microbes. Cependant, d'autres études cliniques à long terme sont essentielles pour fournir une normalisation et une qualification indispensables des diverses combinaisons de bains de bouche à base de plantes.

Partie expérimentale

Chapitre I

Matériel et méthodes

I.1 Matière végétal

Notre travail s'inscrit dans le cadre de la valorisation de certaines plantes médicinales de la région de Tiaret de point de vue activité biologique et composition chimique de leur principe actif. Dans ce contexte, notre étude est basée sur l'extraction, l'identification et la quantification des composés phénoliques, suivie par l'évaluation des activités biologiques à savoir la capacité antioxydante et l'activité antibactérienne de ces extraits. Ce travail est enrichi par une application de ces composés bioactifs dans une formulation pharmaceutique.

Les feuilles matures des deux espèces *Pistacia lentiscus* et l'olivier ont été collectées de la région de Tagdemt, alors que les feuilles *Zizyphus lotus* ont été récoltées de la région de Tidda, située au Nord-ouest de la wilaya de Tiaret. La collecte des feuilles a été faite en février 2023. L'identification de ces plantes a été effectuée et confirmée par un botaniste du département de biologie de la faculté des sciences de la vie et de la nature de l'université de Tiaret.



Feuilles de *Zizyphus*



Feuilles de *Pistacia*



Feuilles de l'Olivier

Figure I.1 : Représentation des trois espèces

I.1.1 Récolte et séchage

Après récupération des plantes, les feuilles sont nettoyées soigneusement puis bien lavées avec l'eau froide. Le séchage a été effectué naturellement à l'abri de la lumière, à une température ambiante. L'étape de séchage se prolonge environ de 15 à 20 jours, suivie par la conservation des espèces dans des sacs. Le matériel végétal a été broyé dans un moulin électrique en une poudre très fine (1 à 2 mm de diamètre) pour augmenter la surface d'échange entre le solide et le solvant et faciliter l'extraction. Par la suite, la poudre a été conservée dans des flacons à l'abri de la lumière.



Séchage pendant 24h

Figure I.2 : Test de détermination de taux d'humidité



Figure I.3: Préparation des échantillons

I.1.2 Taux d'humidité

Le taux d'humidité de la matière végétale a été déterminé par la méthode décrite par Dean et Stark. On introduisant 5 g d'échantillon dans, une étuve réglée à $103^{\circ} \pm 2^{\circ}\text{C}$. Les échantillons sont ensuite pesés avec précision jusqu'à obtention d'un poids constant (≈ 24 heures), après avoir été refroidis à température ambiante dans un dessiccateur [113].

$$H \% = \frac{(M_1 - M_2)}{M_1} \times 100$$

Où

H% : Taux d'humidité exprimé en pourcentage

M₁ : Poids de l'échantillon « feuilles fraîche »

M₂ : Poids de l'échantillon « feuilles sèche ».

1.2 Extraction des polyphénols

1.2.1 Mode opératoire

Les composés phénoliques contenus dans la poudre des feuilles de Pistacia lentiscus, L'olivier Olea europea et Zizyphus lotus, sont extraits selon la méthode de Emna et al [114] avec une petite modification. 5g de poudre des feuilles sont mis dans un ballon monocol à fond rond surmonté d'un réfrigérant additionnées avec 100 ml de différents solvants à savoir l'éthanol, et l'eau. L'ensemble est porté à température 45°C sous agitation pendant trois heures, Après refroidissement, les extraits ont été centrifugés pendant 20min à 3000tr/min ainsi, concentré par une évaporation dans l'étuve à 45°C pendant 12h. Ensuite, les extraits obtenus ont été pesés et conservés au réfrigérateur à 4°C avant d'être analysés. Les extractions ont été réalisées en triplicata. Cette extraction a permis d'obtenir six extraits bruts: extrait olivier éthanol (OET), olivier eau (OE), Pistacia eau (PE), Pistacia éthanol (PET), Zizyphus éthanol (ZET) et l'extrait Zizyphus eau (ZE).

1.2.2 Conservation de l'extrait

Les extraits obtenus sont conservés dans des flacons à une température de 4°C et à l'abri de la lumière en utilisant un papier d'Aluminium qui empêche le contact de l'extrait avec la lumière.

1.2.3 Détermination du rendement d'extraction

Le rendement d'extraction est calculé en pourcentage du rapport de la masse de l'extrait obtenu sur la masse totale de la poudre végétale utilisée dans l'extraction. Il a été évalué par la formule donnée par Koubaa et al [115].

$$R (\%) = \left(\frac{W_1}{W_2} \right) \times 100$$

R : Rendement de l'extraction en %.

W_1 : Poids de l'extrait après volatilisation du solvant sec(g).

W_2 : Poids de la poudre végétale (g)



5g poudre de chaque espèce + 100ml de solvant (éthanol ou l'eau)



Montage a reflux

Centrifugation



Extraits liquides

Séchage



Extraits solides

Figure I.4: Protocole d'extraction

1.3 Analyse qualitatif

1.3.1 Analyse des extraits par infrarouge IR

La spectroscopie infrarouge (IR) est une technique d'analyse qui sert principalement à déterminer la présence de groupements fonctionnels dans les molécules organiques et les structures dans certaines molécules simples. Elle est basée sur l'absorption d'un rayonnement infrarouge par l'échantillon analysé. Elle permet via la détection des vibrations caractéristiques des liaisons chimiques d'effectuer l'analyse des fonction chimiques présentes dans l'échantillon [118]. La composition chimique des extraits de feuilles des trois espèces ont été scannés dans la gamme entre 400 et 4000 cm^{-1} , avec un spectromètre de type ALPHA-P BRUKER. Les analyses ont été réalisées dans le laboratoire de chimie des matériaux de l'Université d'Oran1.

1.4 Analyse chimique

1.4.1. Screening phytochimique

L'analyse phytochimique qualitative a été réalisée dans le but d'identifier les principaux groupes chimiques de substances bioactives contenues dans les feuilles des trois espèces, en se basant sur des réactions colorimétriques et de précipitation par différents réactifs selon les méthodes classiques [119-123].

a) Test Tanins : 1 ml de l'extrait végétal a été mélangé avec 1 ml de chlorure ferrique (5%). La formation de bleu foncé ou de noir verdâtre indique la présence de tanins.

b) Test Saponines : 2 ml d'extrait végétal, a été mélangé avec 2 ml d'eau distillée puis agités dans un cylindre gradué pendant 15 minutes, la formation dans le sens de la longueur d'une couche de mousse de 1 cm indique la présence de saponines.

c) Test Quinones : 1 ml d'extrait végétal, a été mélangé avec 1 ml d'acide sulfurique concentré (H_2SO_4). La formation de couleur rouge indique la présence de quinones.

d) Test Flavonoïdes

Test(a)-À 1 ml d'extrait aqueux, 1 ml d'hydroxyde de sodium à 10% était ajouté. La présence de flavonoïdes est indiquée par la formation de couleur jaune à orange [104,105].

Test (b) -À 1 ml d'extrait alcoolique, 1 ml de l'acide sulfurique concentré a été ajouté. La présence de flavonoïdes est confirmée par la formation de l'orange au rouge cramoisi [104].

e) Test Alcaloïdes : 2 ml d'extrait avec 2 ml d'acide chlorhydrique concentré (HCl) suivi par l'addition de quelques gouttes de réactif de Mayer. La formation d'un précipité vert ou blanc indique la présence d'alcaloïdes.

f) Test Terpénoïdes : Dans un tube on mélange 0,5 ml de l'extrait avec 2 ml de chloroforme suivi par l'addition lente de 1 ml de l'acide sulfurique concentré. La formation d'une couleur brun rouge à l'interface indique la présence de terpénoïdes.

g) Test Phénols : 1 ml de l'extrait avec 2 ml d'eau distillée suivis de l'addition de quelques gouttes d'une solution de chlorure ferrique à 10 %. La formation de couleur bleue ou verte indique la présence de phénols.

h) Test Stéroïdes : 0,5 ml de l'extrait a été traité avec des gouttes de chloroforme, d'anhydride acétique et d'acide sulfurique concentré. La formation d'une couleur rose foncé indique la présence de stéroïdes.

i) Test Coumarines : 1 ml d'extrait végétal avec 1 ml d'hydroxyde de sodium à 10 % sont rajoutées. La formation de couleur jaune indique la présence de coumarines.

1.5 Analyses quantitatives des extraits

Les méthodes colorimétriques basées sur l'utilisation du spectrophotomètre UV-visible, ont été utilisées pour évaluer la quantité des composés phénoliques : polyphénols totaux (PPT), flavonoïdes totaux (FVT) et tannins condensés (TC) présents au niveau des feuilles des espèces étudiées.

1.5.1 Dosage des phénols totaux

a) Principe de la méthode

Les polyphénols sont dosés par spectrophotométrie selon la méthode de Folin-Ciocalteu. Cette méthode est basée sur les réactions d'oxydoréduction, le réactif de Folin Ciocalteu, acide de couleur jaune, il est constitué d'un mélange d'acides phosphotungsténique et phosphomolybdique. L'oxydation des phénols réduit ce réactif en un mélange d'oxydes bleus de tungstène et de molybdène qui absorbent à 760nm. L'intensité de la couleur est proportionnelle à la teneur en composé phénoliques oxydés [124].

b) Préparation de la gamme détalonnage

La gamme étalon est obtenue en utilisant l'acide gallique comme standard. On prend 5mg de l'acide gallique et on le dissout dans 25 ml de Méthanol pour obtenir la solution mère S_m (200 μ g/ml). On prépare des dilutions dans des tubes à essai allant de 20 à 100 μ g/ml

selon le tableau suivant :

Tableau I.1: Préparation des dilutions d'acide gallique

N° tube	1	2	3	4	5	6	7	8
C (µg/ml)	20	30	40	50	60	70	80	100
V d'acide gallique (µl)	100	150	200	250	300	350	600	500
V méthanol (µl)	900	850	800	750	700	650	400	500

On introduit dans des tubes a essai 10µl de dilutions d'acide gallique avec 20µl de réactif de Folin Ciocalteu et 200µl de l'eau distillé le mélange obtenu est incubé 3minutes à une température ambiante, suivi par l'addition de 100 µl de carbonate de sodium à 20%. Le mélange obtenu est laissé réagir à température ambiante pendant 1 h. L'absorbance est mesurée à 765 nm.

c) Mode opératoire

La teneur totale en polyphénols a été mesurée selon la méthode colorimétrique Folin-Ciocalteu décrite par Dif et Aiyegoro [125,126]. Un volume de 10µl des extraits a été mélangé avec 20 µl de réactif de Folin-Ciocalteu et 200 µl de l'eau distillé, puis incubé à température ambiante pendant 3 min. suivi par l'addition de 100 µl de carbonate de sodium à 20 % au mélange, L'absorbance est mesurée à l'aide d'un spectrophotomètre UV-visible de type Shimadzu UV-1650, à 765 nm après 60 min d'incubation à température ambiante. La quantification a été faite par rapport à la courbe standard de l'acide gallique. Toutes les manipulations sont réalisées en triple. Le blanc est aussi préparé dans les mêmes conditions en remplaçant la quantité de l'extrait par le méthanol.

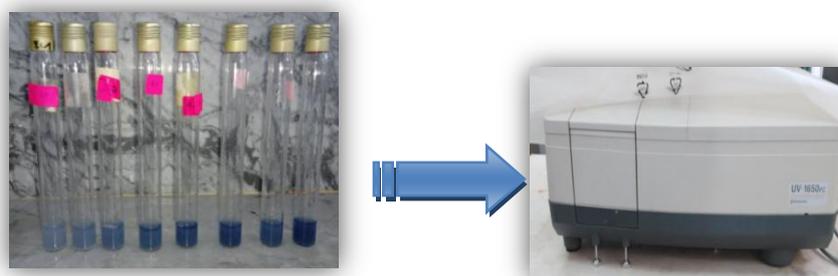


Figure I.5: Dosage des composés phénoliques

d) Expression des résultats

Les concentrations des polyphénols totaux sont calculées à partir de l'équation de régression linéaire de la courbe d'étalonnage établie avec l'acide gallique (20-200µg/ml).

Cette teneur est exprimée en milligramme (mg) d'équivalent d'acide gallique par gramme d'extrait sec (mg d'EAG/g d'extrait). La teneur des polyphénols totaux (PPT) sont calculés selon la formule établie par Nirmala et al [127]:

$$PPT (mg/g) = \left(\frac{C \times V}{m} \right)$$

C : Concentration de l'extrait établit à partir de la courbe d'étalonnage ($\mu\text{g/ml}$).

V : Volume de l'extrait (ml)

m : Masse de l'extrait sec(g) [127].

1.5.2 Dosage des flavonoïdes totaux

a) Principe de la méthode

Le dosage des flavonoïdes totaux est basé sur un test colorimétrique utilisant le trichlorure d'aluminium AlCl_3 comme réactif. Les flavonoïdes possèdent un groupement hydroxyle(OH) libre, en position 5 qui est susceptible de donner avec le groupement CO, un complexe coloré avec le chlorure d'aluminium. Les flavonoïdes forment des complexes jaunâtres par chélation des métaux (aluminium). Le métal (Al) perd deux électrons pour s'unir à deux atomes d'oxygène de la molécule phénolique, agissant comme donneur d'électrons [128].

b) Préparation de la gamme d'étalonnage

La gamme étalon est obtenue en utilisant la Quercétine comme standard de calibration. On prend 5 mg de la Quercétine et on le dissout dans 25ml de méthanol pour obtenir la solution mère (S_m) de concentration $200\mu\text{g/ml}$, on prépare des dilutions dans des tubes à essai allant de 20 à $100\mu\text{g/ml}$ selon le tableau suivant :

Tableau I.2: Préparation des dilutions de la Quercétine

N° tube	1	2	3	4	5	6	7
C ($\mu\text{g/ml}$)	20	30	40	60	70	80	100
V de quercetin (μl)	400	600	800	1200	1400	1600	2000
V ajouté de méthanol (μl)	3600	3400	3200	2800	2600	2400	200

Dans un tube à essai on met 1 ml de chaque dilution de la Quercétine avec $120\mu\text{l}$ de solution de nitrite de sodium NaNO_2 (5%) et $400\mu\text{l}$ d'eau distillé. Suivi par incubation pendant 5 minutes, on ajoute $120\mu\text{l}$ de chlorure d'aluminium 10%. Après 6 minutes un volume de

800µl de NaOH (1M) a été ajouté à la solution. Puis l'échantillon est bien mélangé jusqu'à l'apparition d'une couleur jaunâtre. L'absorbance a été mesurée à 510nm avec un spectromètre UV-Visible.

c) Mode opératoire

Le dosage des flavonoïdes totaux des extraits a été déterminé selon la méthode décrite par Marsoul et Kim [129,130] avec quelques modifications. Dans des tubes on met 1ml de chaque extrait avec 120µl de solution de nitrite de sodium NaNO₂ (5%) et 400µl d'eau distillé. Suivi par incubation pendant 5minutes, puis on ajoute 120µl de chlorure d'aluminium 10%. Après 6 minutes un volume de 800µl de NaOH (1M) a été ajouté à la solution. Ensuite les échantillons sont bien mélangés jusqu'à l'apparition d'une couleur jaunâtre. L'absorbance a été mesurée à 510nm. Tous les tests ont été effectués en triplicata.

d) Expression des résultats

La quantification des flavonoïdes a été établie à partir de l'équation de régression linéaire de la courbe d'étalonnage établie avec la Quercétine. Les résultats sont exprimés en mg d'équivalents de Quercétine par gramme d'extrait (mg EQ/g d'extrait). La teneur en flavonoïdes totaux (FVT) est calculée selon la formule établie par Singh,et al [131]:

$$FVT (mg/g) = \left(\frac{C \times V}{m} \right)$$

où ;

C : Concentration de l'extrait établit à partir de la courbe standard (µg/ml);

V : Volume de solution mère (ml);

m : Poids d'extrait sec (g).

1.5.3 Dosage de tanins condensés

a)Principe

Les tanins condensés sont déterminés par la méthode de la vanilline en milieu acide. Le principe de ce dosage est basé sur la réaction de la vanilline avec le groupement flavonoïde terminal des catéchine et la formation de complexes rouges, cela s'explique par la propriété des tanins à se transformer en anthocyanidols de couleur rouge qui absorbe la lumière à 500 nm [132].

c) Mode opératoire

La teneur en Tanins condensés totaux a été déterminée par la procédure de Sun et al [133]. Cinquante microlitres des différents extraits ont été mélangés avec 3ml d'une solution de vanilline (méthanol) à 4% et 1,5ml d'acide chlorhydrique (1M). Le mélange a été laissé au repos pendant 15 minutes et l'absorbance a été mesurée à 500 nm. La quantité de tanins condensés totaux est exprimée en mg de catéchine par gramme de poids d'extrait sec (mg E CT/g). En utilisant une courbe d'étalonnage de catéchine (10-400µg/ml) annexe II.2.

d) Expression des résultats

Les concentrations des tannins condensé sont calculées à partir de l'équation de régression de la gamme d'étalonnage de la catéchine établie par Vinson : $y = 0,00076x - 0,0076$ (annexe II.2) [134]. La teneur en tannins sont calculés selon la formule établie par Madhav, et al [135]:

$$TC = \frac{C \times V}{m}$$

Avec

TC: Teneur en tanins (mg ECT/g d'extrait sec de la plante) ;

C : Concentration en tannins déterminé à partir de la courbe d'étalonnage (µg/ml).

V : Volume de l'extrait (ml)

m : Poids de l'extrait sec (g) [135].

I.6. Détermination de l'activité antioxydant

L'efficacité d'un antioxydant peut être définie comme sa capacité à fixer des radicaux libres, donc à arrêter la propagation de la réaction en chaîne. Afin d'évaluer cette efficacité, on a utilisé la méthode au diphényl-picrylhydrazyl. Le degré de décoloration indique le potentiel piègeur des antioxydants présents dans les extraits [136].

I.6.1 Principe

La molécule de 1,1-diphényl-2-picrylhydrazyl (DPPH) est un radical libre stable, dont la solution possède une coloration violette et une absorption caractéristique à 517 nm. Quand une solution de DPPH est mélangée avec une substance donneuse d'atomes d'hydrogène, antioxydant, il y'a formation de la forme réduite (Figure I.6). Ceci provoque la perte de la coloration violette en coloration jaune caractérisée par une bande d'absorption dans le visible à 517 nm [137].

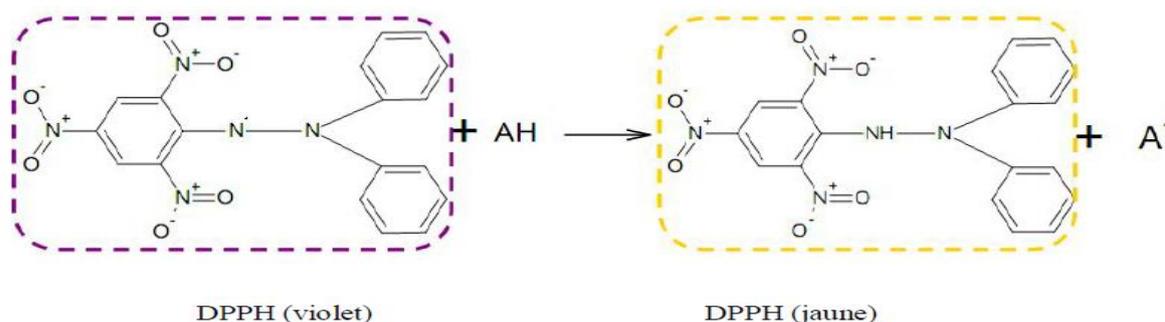


Figure I.6: Structure du radical DPPH et de sa forme réduite

1.6.2 Préparation de la solution mère de DPPH

Le DPPH est solubilisé dans Méthanol à raison de 2,598mg / 100ml, dans un bain d'ultrasons pendant une demi-heure et à l'abri de la lumière.

1.6.3 Préparation des dilutions d'extraits

On pèse 10 mg d'extraits et on le dissout dans 10ml de méthanol pour obtenir une solution mère de concentration 1000µg/ml. Les dilutions sont préparées dans des tubes à essai comme suite

Tableau I.3: Préparation de la gamme des dilutions d'extraits

N° tube	1	2	3	4	5	6	7	8
C (µg/ml)	400	480	500	560	600	660	700	800
V d'extrait (µl)	400	480	500	560	600	660	700	800
V méthanol (µl)	600	520	500	430	400	340	300	200

1.6.4 Mode opératoire

L'activité antiradicalaire des extraits a été mesurée par la méthode décrite par Mansouri et al [138] avec une petite modification. Des solutions mères des extraits (1000 µg/ml) ont été diluées à des concentrations finales comprises entre (400-800µg/ml) dans le méthanol. Un volume de 1500 µl d'une solution de méthanol DPPH ($6,59 \times 10^{-5}$ M) a été ajouté à 60µl de solution d'extrait de différentes concentrations, et laissé réagir à température ambiante à l'abri de la lumière. Après 30 minutes, la lecture des absorbance a été effectuée à l'aide d'un spectrophotomètre UV visible à 515nm. Les tests ont été réalisés en triple. L'inhibition radicalaire DPPH I% a été calculée par la formule suivante :

$$I (\%) = \frac{(A_0 - A_1)}{A_0} \times 100$$

I %: Taux du DPPH piégé ou taux d'inhibitions.

A₀ : Absorbance du contrôle (solution de DPPH –blanc) .

A₁ : Absorbance des extraits d'échantillon.

Les résultats sont exprimés par la moyenne de trois mesures.

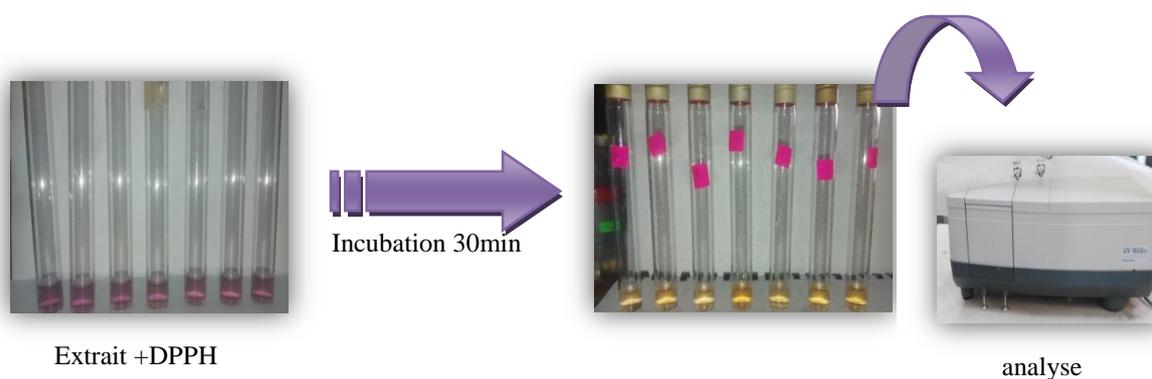


Figure I.7 : Protocole de l'activité antioxydant

1.6.5 Détermination de la concentration inhibitrice IC50%

L'activité antioxydant des extraits est exprimée en IC50. Ce paramètre employé pour estimer le pouvoir antioxydant est défini comme étant la concentration efficace du substrat qui cause la perte de 50% de l'activité de DPPH. Les IC50 sont déterminés graphiquement par les régressions linéaires ou logarithmiques des graphes tracés (pourcentages d'inhibition en fonction de la concentration de l'extrait $y = ax + b$). [139]. Une faible valeur de l'IC50 indique une forte activité antioxydant. La valeur de l'IC50 est exprimée en $\mu\text{g/ml}$.

1.7 Évaluation de l'activité antibactérienne des extraits

L'évaluation qualitative de l'activité antimicrobienne des six extraits sur les trois bactéries a été faite par la méthode de diffusion des disques sur un milieu gélosé Mueller-Hinton. Le pouvoir antimicrobien est obtenu par la mesure des diamètres des zones d'inhibition (mm). Cette partie du travail a été réalisée, au niveau du laboratoire de microbiologie de la faculté des sciences de la nature et de la vie de l'université de Tiaret.

I.7.1 Origine et choix des souches bactériennes

Les tests antibactériens ont été effectués sur des germes couramment responsables de diverses pathologies. Les microorganismes étudiés et leurs références sont rapportés dans le tableau suivant :

Tableau I.4: Les différentes souches bactériennes testées.

Nom de la souche	Gram	Famille	Référence
<i>Escherchia Coli</i>	-	Enterobacteriaceae	25922ATTC
<i>Bacillus Cereus</i>	+	Bacillaceae	10876ATCC
<i>Staphylococcus aureus</i>	+	Micrococcaceae	25925ATTC

I.7.2.1 Préparation des milieux de culture

➤ Milieu gélose nutritif (G.N)

Environ 28 g de poudre de gélose nutritif sont pesés puis dissous dans un litre d'eau distillée. La solution obtenue est ensuite bouillir avec agitation jusqu'à dissolution complète, Le milieu GN est ensuite réparti dans des flacons stériles avant d'être autoclave pendant 1h à 121°C pendant 15 minutes. Le milieu fondu, ensuite coulé dans les boites de Pétri, puis laisser refroidir et solidifier sur la pailasse.

➤ Milieu Mueller Hinton(M.H)

Une masse de 38 g de poudre de gélose Muller Hinton est introduite dans un erlenmeyer additionné avec 1litre d'eau distillée. Le mélange est, porté à ébullition sous agitation pendant 10 min puis autoclave pendant 20min à 121°C avec une pression de 1 bar. Le milieu MH fondue est coulée dans des boîtes de Pétri de 9 cm de façon à obtenir une épaisseur de 4 mm.

I.7.3 Préparation des disques

A l'aide d'un emporte-pièce, des disques de 6mm de diamètre de papier Wattman N°40 sont fabriqués. Ensuite, ces disques sont mis à l'autoclavage à 120°C pendant 20 minutes, puis conservés dans des bouteilles en verre stériles fermés hermétiquement jusqu'a utilisation.

I.7.4 Stérilisation du matériel

L'eau distillée, d'eau physiologique, le milieu de culture, les tubes à essai utilisés dans la préparation des solutions bactériennes et les disques en papier Wattman (6 mm de diamètre) ont été stérilisés à l'autoclave à 121°C pendant 20 minutes.

I.7.5 Repiquage des souches bactériennes

Les souches bactériennes choisies ont été ensemencées par la méthode des stries dans des boîtes de pétri contenant le milieu gélose nutritive GN puis incubés à 37°C pendant 24 heures, afin d'obtenir des colonies jeunes et bien isolées. Ces derniers ont servi à préparer l'inoculum. Les conditions de stérilisation doivent être respectées, à savoir : ne pas dépasser les 20 cm du bec bunsen et utiliser du matériel stérile.

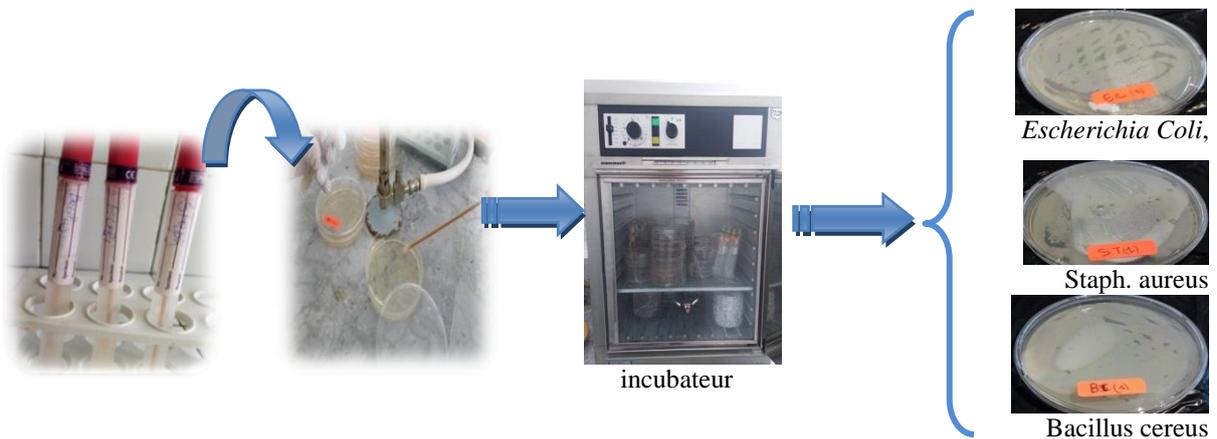


Figure I.8 : Repiquage des souches bactériennes

I.7.6 Préparation de l'inoculum

Les souches microbiennes sont ensemencées par stries dans la gélose nutritive, après incubation 24 h à 37°C, quelques colonies bien isolées et identiques sont prélevées à l'aide d'une anse de platine. Ensuite, on décharge l'anse de platine dans 10 ml d'eau physiologique stérile (0.9 %) et on homogénéise la suspension bactérienne afin de standardiser la suspension bactérienne. L'inoculum est ajusté à 0.5 Mc Farland correspondant à une densité optique de (0.08 à 0.10) à 625 nm. La concentration finale de l'inoculum est de 10^8 UFC/ml [140]. L'inoculum peut être ajusté en ajoutant, soit de la culture s'il est trop faible, ou bien de l'eau physiologique stérile s'il est trop fort.

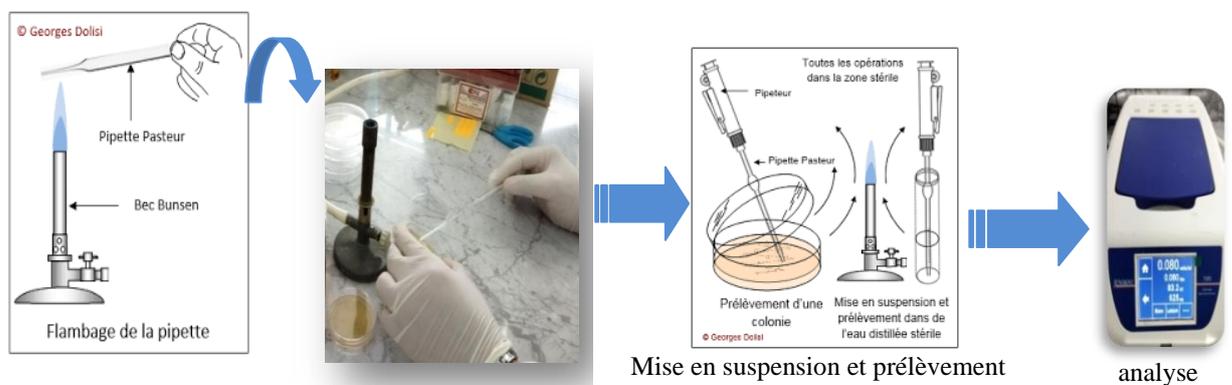


Figure I.9 : Préparation de l'inoculum

1.7.7 Ensemencement et dépôt des disques

Les suspensions bactériennes ont été étalées à la surface de la gélose M.H à l'aide des écouvillons. Les disques imprégnés des extraits sont déposés délicatement sur la surface de la gélose inoculée à l'aide d'une pince stérile. Les boîtes de pétri sont incubées pendant 24 heures à 37°C, l'expérience est répétée deux fois pour chaque extrait et pour chaque espèce bactérienne.

1.7.5 Méthode de diffusion sur disque

La méthode de diffusion des disques est généralement employée comme une analyse préliminaire pour étudier l'activité antibactérienne ensuite viennent des méthodes plus détaillées. Dans cette méthode, les paramètres tels que le volume placé sur les disques de papier, l'épaisseur de la couche de gélose [141,142].

b) Mode opératoire

Les tests de diffusion sur disque des extraits ont été effectués sur la base de la méthode standard de Bauer et Balouiri [143,144], avec une petite modification. L'inoculum 10^8 UFC/ml ont été dilués de 1/100 pour obtenir un nombre approximatif de colonies de 10^6 UFC par millilitre. Un écouvillon stérile est trempé dans la suspension bactérienne, ensuite le frotter sur la totalité de la surface des boîtes contenant la gélose Mueller-Hinton, de haut en bas, en stries serrées. Les disques stériles imbibés avec 20µl d'extraits de concentration 100 mg/ml ont été déposés à l'aide d'une pince stérile sur la surface de la gélose. Ensuite les boîtes de Pétri ont été incubées à 37°C pendant 24 heures. L'activité antibactérienne des différents extraits a été déterminée en mesurant le diamètre de la zone d'inhibition, autour du disque à l'aide d'un pied à coulisse. Tous les tests ont été effectués en deux exemplaires.

➤ Lecture

L'échelle d'estimation de l'activité antimicrobienne est donnée par Ponce et al, Ils ont classé les diamètres des zones d'inhibition (D) de la croissance microbienne en 4 classes :

- Non sensible (-) ou résistante : diamètre moins de 8 mm.
- Sensible (+) : diamètre entre 9 à 14 mm.
- Très sensible (++) : diamètre compris entre 15 à 19 mm.
- Extrêmement sensible (+++) : diamètre plus de 20 mm.[145].

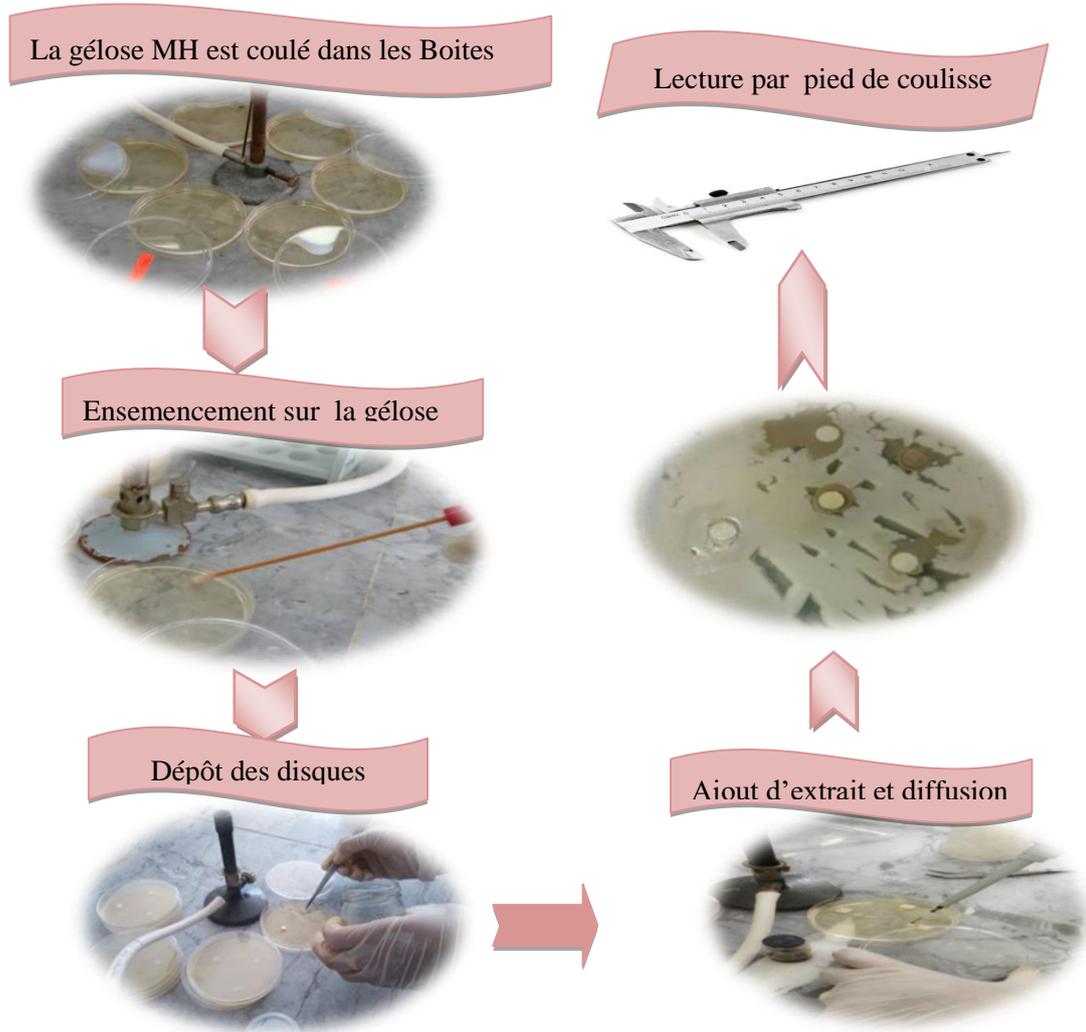


Figure I.10 : La méthode de diffusion des disques

1.8 Formulation d'une crème

1.8.1 Mode opératoire

Une crème à base d'émulsion huile dans eau (H/E) a été formulée selon la méthode de Matangi [146]. Les conservateurs et autres composants solubles dans l'eau ont été dissous dans la phase aqueuse et chauffés à 70-75°C dans un bain-marie. L'émulsifiant et les autres composants solubles dans l'huile ont été dissous dans la phase huileuse et chauffés à 70-75°C. Après chauffage, la phase aqueuse a été ajoutée dans la phase huileuse sous agitation continue jusqu'à refroidissement de l'émulsifiant a eu lieu et la crème a été formulée, l'ingrédient actif (l'extrait) a été ajouté dans le crème et a été remué dans un emballage adapté. Les composants de formulation utilisés sont résumés dans le tableau ci-dessous.

Tableau I.5 : Les composants de la formulation de la crème

	Ingredients	Fonction	Quantité
Partie A	Eau distillée	solvant	50ml
	Glycérol	humectant.	3ml
	borax	tensioactifs	0,1g
	Acide bensoïque	Conservateur,	0,1g
	La cire d'abeille	émulsifiant	1g
Partie B	Huile d'olive	Doucissant et Émollient,	24ml
	Acide citrique	conservateur	2 g
	Gomme arabique	émulsifiant et tensioactifs	2g
	Tween 80	tensioactifs	6ml
Partie C	Extrait Olivier ethanol	Principe actif	1g

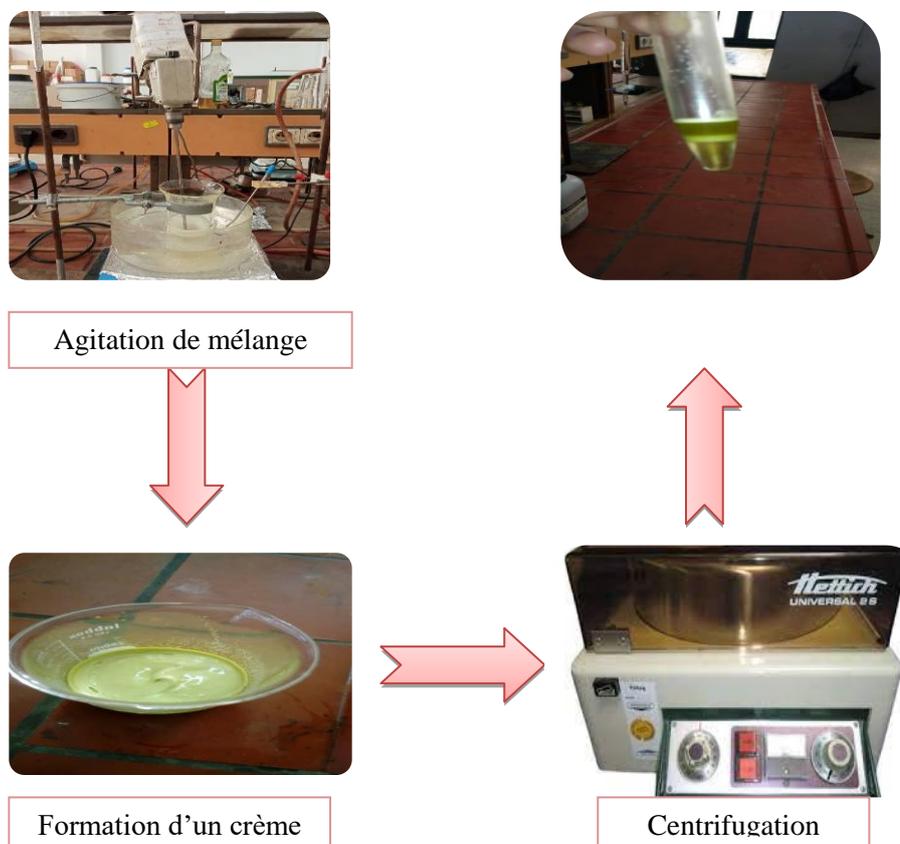


Figure I.11 : Protocole de préparation d'une crème

1.8.2 Caractéristique de la crème

La qualité la plus importante de la crème est la stabilité physique

a) Test de stabilité de la crème

Pour la détermination de la stabilité de la crème. L'échantillon a été testé en pesant une masse 10 g et insérée dans un tube à centrifuger, puis centrifuger à 5000 tr/min pendant 10 min.

b) Observation

Ce test a montré une séparation de la crème en deux phases donc la crème préparé n'est pas stables. Cela peut être dû à des conditions opératoires telles que la température, la vitesse d'agitation et d'humidité élevées ainsi qu'à une grande composition de phase huileuse par rapport à d'autres constituants.

1.9 Formulation de bains de bouche à base de plantes

Les bains -bouche à base de plantes ont été réalisé selon la méthode décrite par Ravi et Zubaidah [147,148] avec une petite modification .Quatre formulations ont été réalisées selon la composant indiquée dans le tableau(I.6). Les ingrédients : l'eau de chloroforme, l'émulsion de menthe, tween80 et l'extrait éthanoïque des trois espèces ont été ajoutées progressivement à l'eau distillée stérile, les mélanges sont mis sous agitation dans une bouteille stérile à température ambiante, puis conserver dans le réfrigérateur.



Figure I.12 : Préparation et mesure du pH du Bain bouche

Tableau I.6 : Les composants du Bain de bouche

Ingrédients	F1	F2	F3	F4
Zizyphus Lotus	0.5g	-	-	0.5
Olea Oreupaea	-	05g	-	0.5g
Pistacia Lentiscus	-	-	0.5g	0.5g
Eau de chloroforme	6 ml	6ml	6ml	6ml
Emulsion de menthe	1.25 ml	1.25ml	1.25ml	1.25ml
Tween 80	3.5 ml	3.5ml	3.5ml	3.5ml
Eau distillée	50 ml	50ml	50ml	50ml

1.9.1 Caractéristique de bains de bouche

a) Couleur et odeur

Les paramètres physiques comme l'odeur et la couleur, selon Chi et al ces paramètres ont été examinés par des examens visuels [149].

b) pH : le pH du bain bouche à base de plantes a été mesuré selon la méthode décrite par weaver et al [150]. Le pH-mètre a été calibré à l'aide d'une solution tampon standard. Environ 1 ml de bain bouche a été prélever et dissous dans 50 ml d'eau distillée et son pH a été mesuré.

1.9.3 Test de croissance microbienne dans les formules de Bain bouche

L'activité antibactérienne a été réalisée en utilisant la méthode de diffusion en puits décrit par Ezemokwe et al [151] avec quelque modification. Des dilutions de 1:0, 1:1, 1:2, 1:4, des différentes formulations ont été préparés. Un volume de 20 ml de gélose Mueller Hinton fondue a été versé dans des boîtes de Pétri stériles (90 mm) et laissé solidifie. Les trois suspensions standardisées (Mc Farland 0,5) ont été dilué à 1/100 .les cultures sont réparties uniformément sur la surface de gélose à l'aide de bâtonnets d'écouvillons stériles. Quatre puits (6 mm de diamètre) ont été réalisés dans chaque boite de Pétri avec des pipettes Pasteur stériles. Egalement 20µl des différentes formulations ont été placés dans chaque puits. Les boîtes pétries ont été laissé diffuser pondant 30min à température 4°C, puis

incubées à 37°C pendant 24 h. Les diamètres des zones d'inhibition ont été mesurés et enregistré

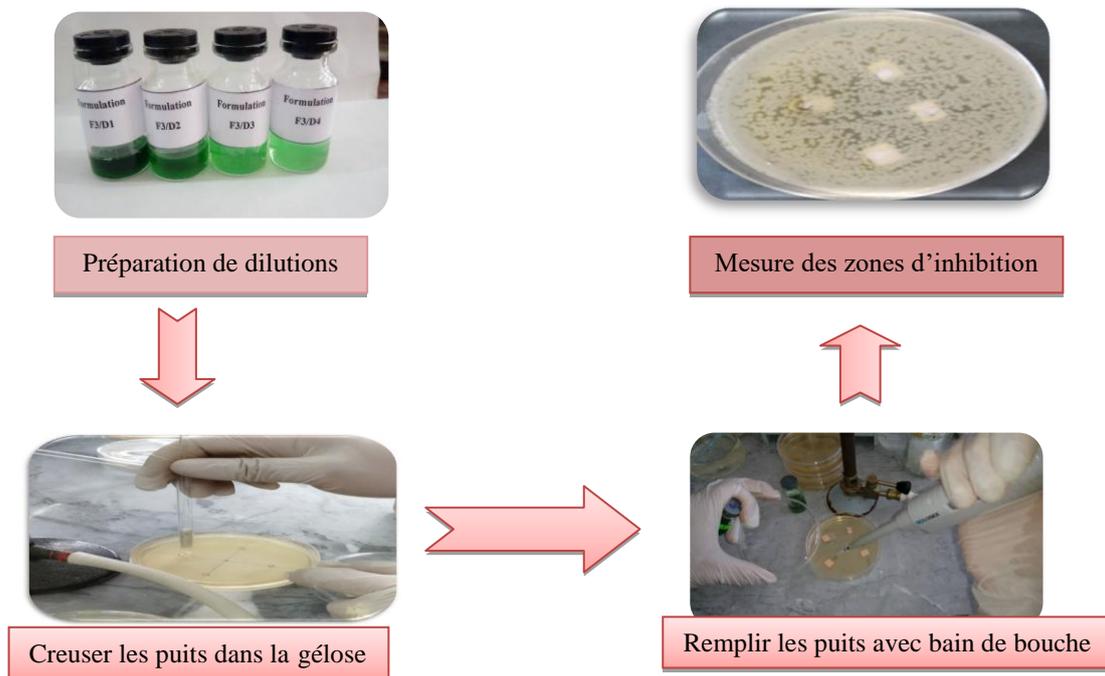


Figure I.13 : Activité antibactérienne des bains de bouche méthode des puits

Chapitre II

Résultats et discussions

I.1 Détermination de Taux d'humidité

Les résultats des teneurs d'humidité des plantes étudiées sont présentés dans la figure ci-dessous. On observe une teneur très forte dans les feuilles de Zizyphus lotus avec une valeur de 56 % par contre un pourcentage plus faible est enregistré dans les feuilles de Pistacia lentisques avec une valeur de 45%. Cette teneur en eau est conforme à celle observée par la pharmacopée Européenne 1999. La teneur élevée en eau, chez les plantes, est en relation étroite avec l'activité métabolique. Elle fournit l'hydrogène indispensable aux réactions de biosynthèse [152].

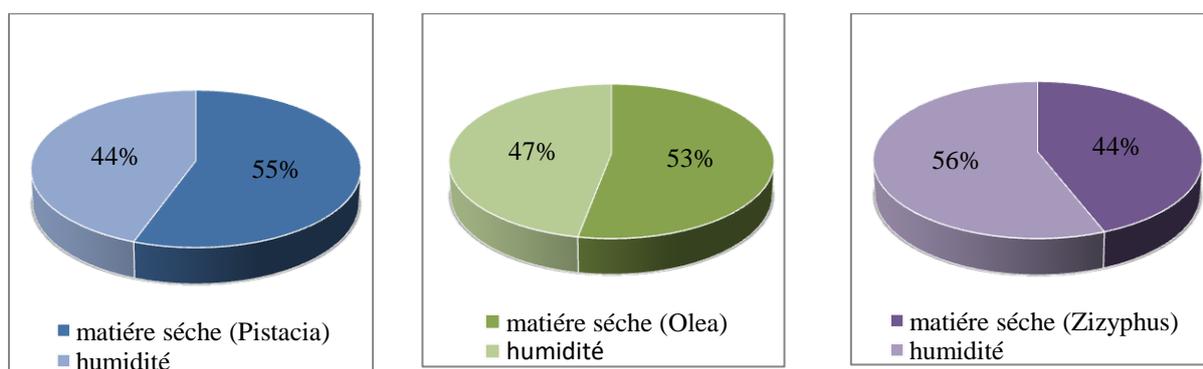


Figure II.1 : Teneur en humidité des trois plantes

I.2 Rendement de l'extraction

Après extraction et récupération des extraits sous forme de poudre, l'aspect physique, la couleur et le rendement (exprimés en g/100 g de matière sèche) de chacun des extraits ont été déterminés et représentés dans le tableau ci-dessous :

Tableau II.I : Rendement et l'aspect organoleptiques des différents extraits

Les extraits	Aspect	Couleur	La masse (g)	Rendement(%)
Zizyphus eau ZE	Poudre	Vert clair	1.0616	21.23
Zizyphus éthanol ZET	Poudre	Vert foncé	0.904	18.08
Olivier eau OE	Poudre	Marron	1.2187	24.37
Olivier éthanol OET	Poudre	Vert foncé	1.0951	21.90
Pistacia eau PE	Poudre	Miel	1.6057	32.11
Pistacia éthanol PET	Poudre	Vert foncé	1.513	30.26

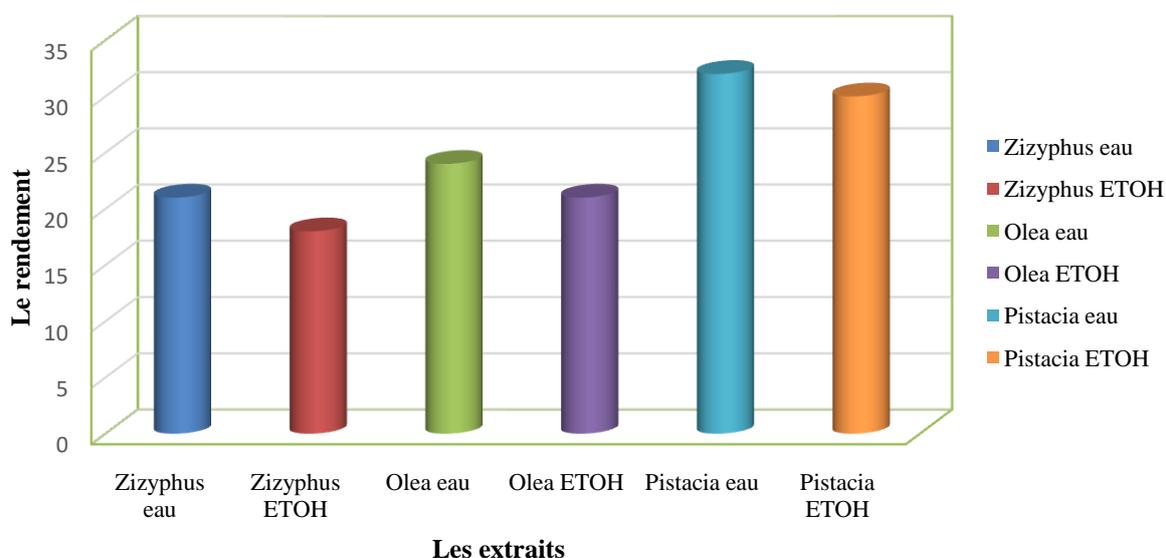


Figure II.2: Rendements d'extraction des composés phénoliques

D'après la figure(II.2) on constate que les rendements d'extraction varient en fonction de l'espèce et en fonction du solvant;

- Les résultats obtenus révèlent que l'extrait Pistacia eau donne clairement le meilleur rendement de 32,11 % suivie par l'extrait Pistacia éthanol avec un rendement de 30,26 %. Le rendement le plus faible est celui de Zizyphus éthanol de l'ordre de 18,08 %.
- Le rendement des extraits dépend de plusieurs facteurs, tels que l'origine de la plante [153], la variété, la saison de récolte, les conditions climatiques et environnementales, la situation géographique, les différentes maladies qui peuvent affecter la plante, la maturité de la plante [154] et la méthode d'extraction.

1.3. Caractérisation des extraits par spectroscopie infrarouge

Les spectres IR obtenus confirment la présence des bandes caractéristiques dont chacun correspond à un groupement fonctionnel donnée, les résultats sont rapportés dans les figures ci-dessous.

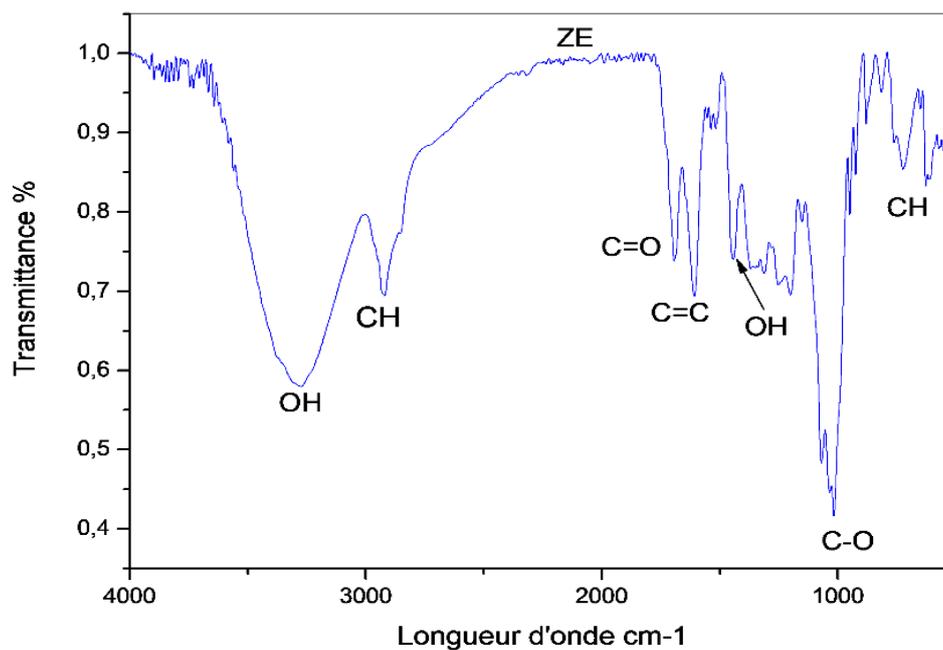


Figure II.3 : Spectre IR de l'extrait Zizyphus eau

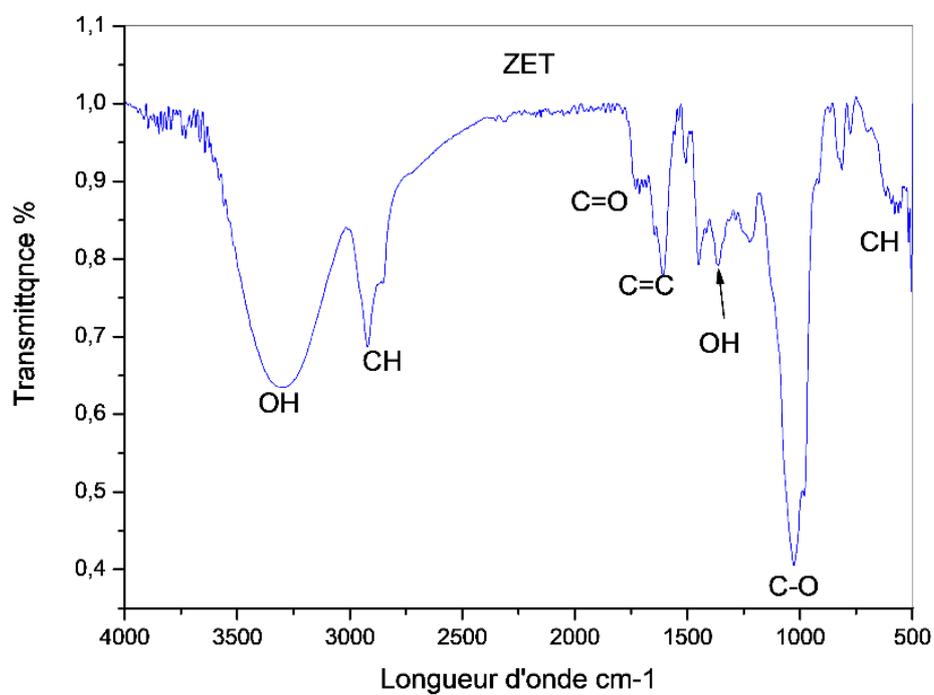


Figure II.4 : Spectre IR de l'extrait Zizyphus éthanol

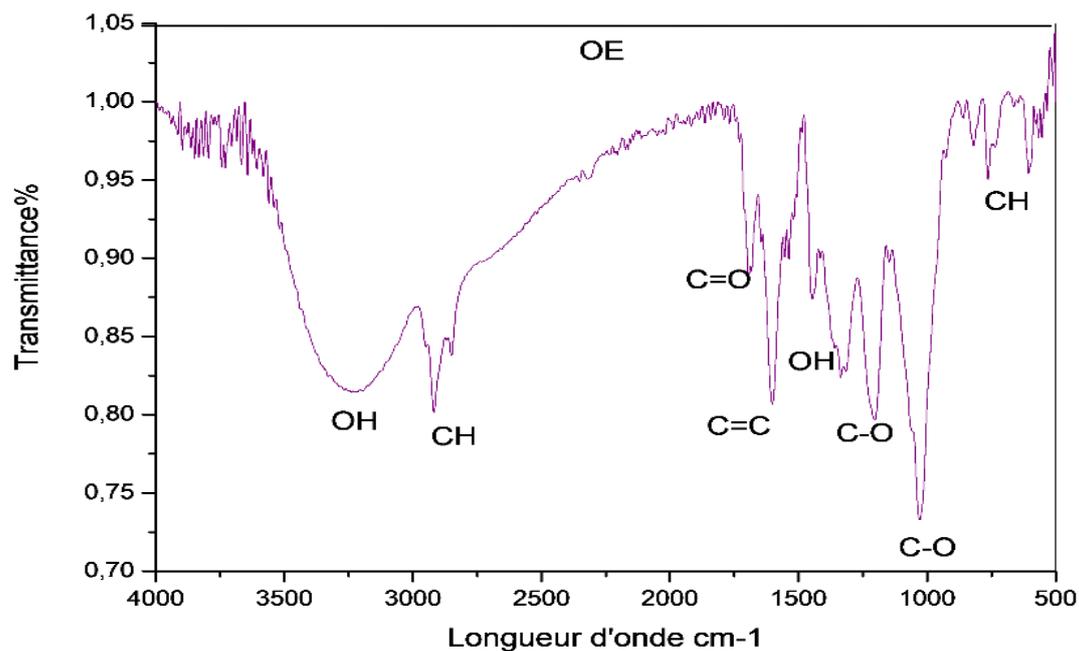


Figure II.5: Spectre IR de l'extract olivier eau

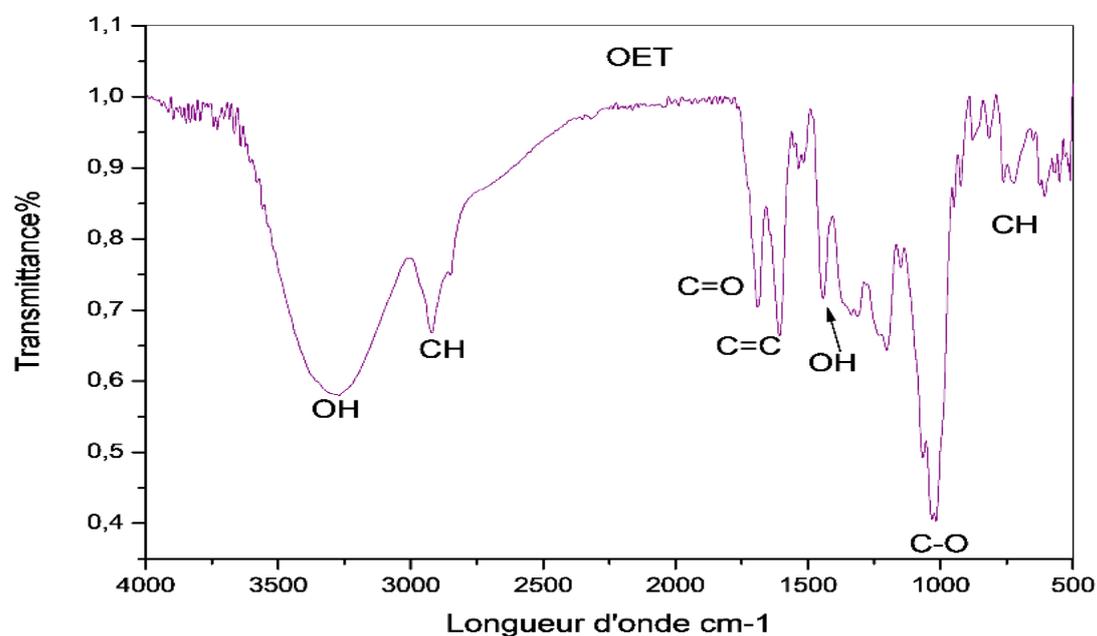


Figure II.6 : Spectre IR de l'extract olivier éthanol

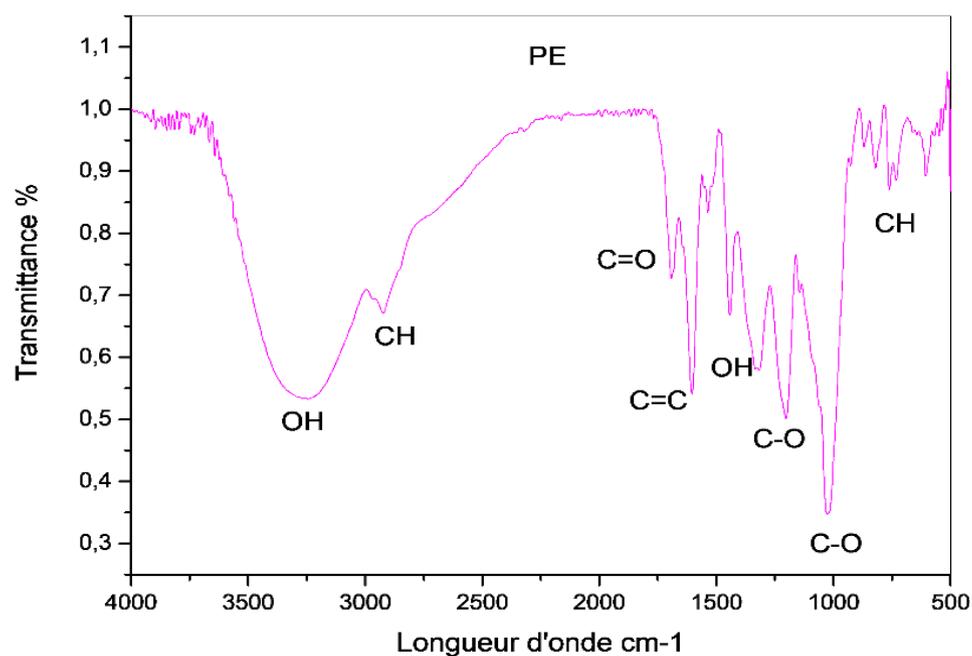


Figure II.7 : Spectre IR de l'extrait Pistacia eau

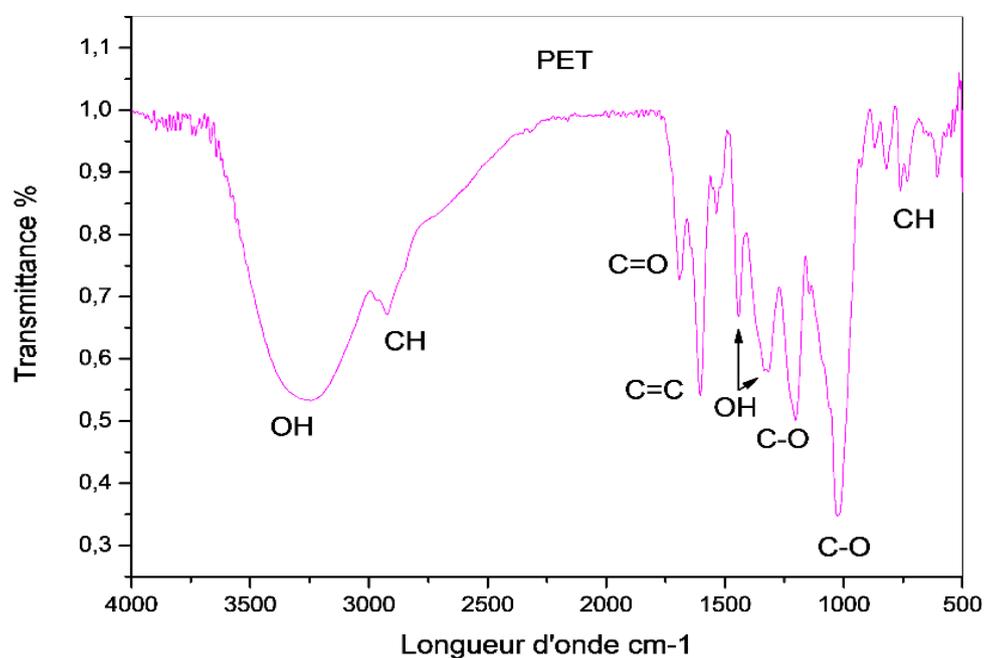


Figure II.8 : Spectre IR de l'extrait Pistacia éthanol

Les spectres présentent une large bande vers ($3270\text{--}3240\text{ cm}^{-1}$) est due aux vibrations d'élongation OH caractéristique des acides organiques, et deux bandes d'intensité moyennes vers 2853 cm^{-1} et 2924 cm^{-1} , caractéristique des vibrations d'élongation

symétriques C-H des groupes aliphatiques CH₂ et CH₃, respectivement. Une bande au voisinage de 1698 à 1713cm⁻¹ de groupe carbonyle (C=O) caractéristiques d'acides phénoliques. On observe aussi des bandes intenses à 1605 cm⁻¹ et ceux à 1517cm⁻¹ sont attribués à la vibration d'élongation de la liaison C=C du cycle aromatiques. Les bandes au voisinage 1444- 1316 cm⁻¹ sont attribuées à la vibration de déformation de groupe OH. On note une bande intense vers 1017 cm⁻¹ qui est attribué au C-O phénolique. Les bandes au voisinage de 949 à 511cm⁻¹ sont attribuées à la vibration de déformation de la liaison CH insaturé. La détection de ces bandes d'absorption caractéristiques confirme la richesse des extraits de feuilles en composés phénoliques.

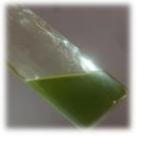
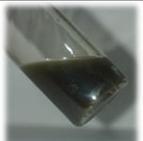
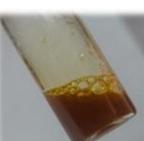
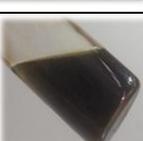
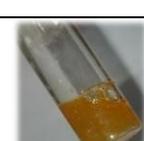
Tableau II.2 : principales bandes caractéristiques des extraits

Nombre d'onde (cm ⁻¹)	Vibration des groupes fonctionnels
3270 –3240	OH des acides organiques
2853- 2924	C-H des groupes aliphatiques
1698-1713	C=O d'acides phénoliques
1605-1517	C=C du cycle aromatiques
1415-1336	vibration de déformation de groupe OH
1017	C-O phénolique.
949-511	vibration de déformation de CH insaturé

1.4 Screening phytochimiques

Les tests phytochimiques réalisés ont permis de mettre en évidence la présence ou l'absence des différents principes actifs, ils sont exprimées par (+) et (-) respectivement. Ces tests préliminaires sont reportés dans le tableau ci-dessous et annexe II.1 :

Tableau II.3 : Résultats des tests phytochimiques d'extraits de Zizyphus Lotus

Métabolites secondaires	Réactifs	Les différents extraits			
		Extraits aqueux		Extraits éthanol	
		Observation	Résultat	Observation	Résultat
Flavonoïdes	NaOH		++++		++++
Tannins	Chlorure ferrique		++++		+++
Phénols	Chlorure ferrique		-		++
Quinones	Acide sulfurique concentré		++++		++++
Stéroïdes	Chloroforme -Anhydride acétique -Acide sulfurique		-		-
Alcaloïdes	Réactif de Mayer + HCL		+		+++
Saponines	Eau distillé		++++		-
Terpénoides	Chloroforme +acide sulfurique		-		+
Coumarines	Hydroxyde de sodium		++++		-

L'ensemble des résultats enregistrés révèlent une composition riche et variée en métabolites secondaires où les flavonoïdes, les tanins, Quinones et les phénols sont présents en quantité importantes, avec l'absence de coumarines, alcaloïdes, Stéroïdes, Saponines et de terpénoides dans certains extraits. On constate que l'eau distillée est le meilleur solvant d'extraction avec une quantité plus grande des différentes familles chimiques

I.5 Analyse quantitative

I.5.1 Dosage des polyphénols totaux

La teneur des polyphénols totaux des différents extraits est déterminée par l'équation de régression $y = 0,0178x - 0,0581$, de la courbe de calibration de l'acide gallique et exprimée en milligramme équivalent d'acide gallique par g de la matière sèche (mg EAG/ g).

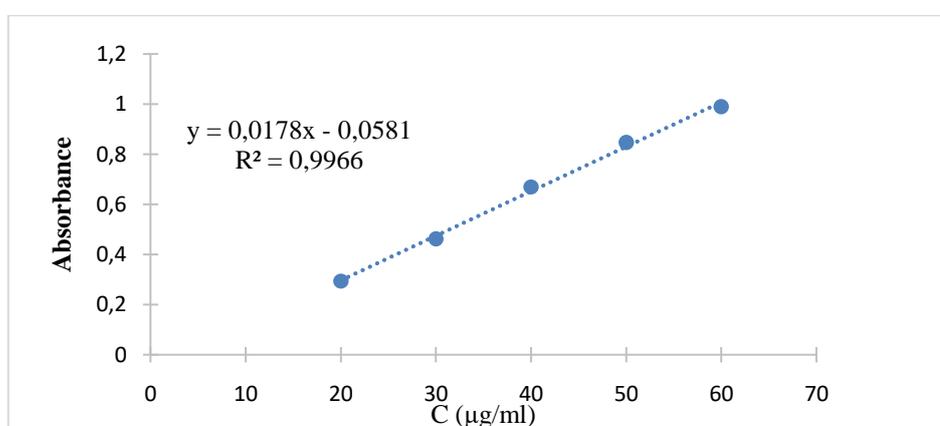


Figure II.9 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique

Les résultats du dosage des PPT obtenus sont illustrés dans la figure suivante et (annexes II.2)

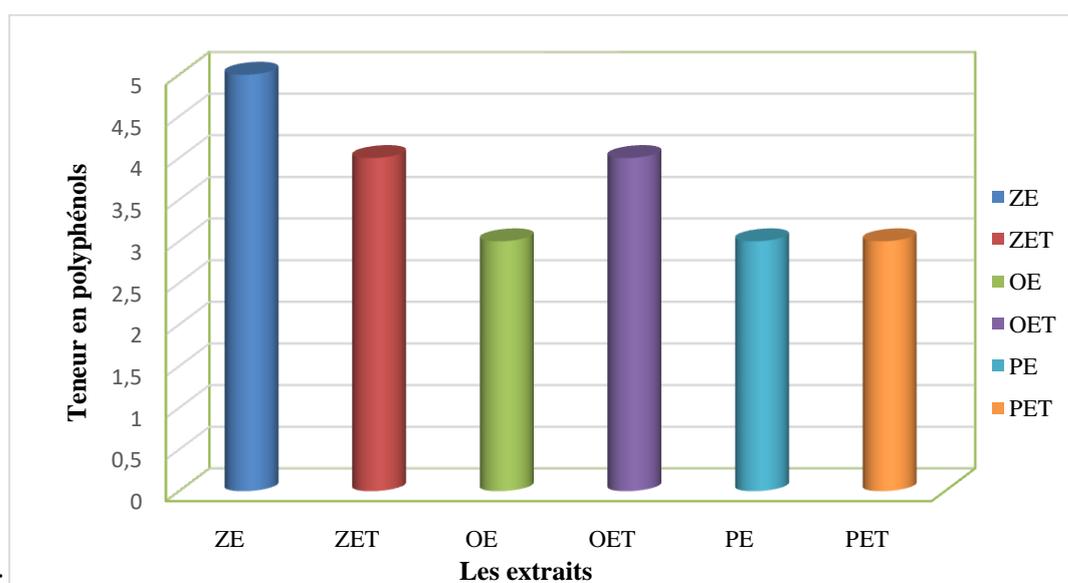


Figure II.10 : Teneurs en polyphénols totaux des extraits

- ✓ Les analyses quantitatives des extraits préparés confirment la richesse de nos plantes par les groupes chimiques ciblés (polyphénols)
- ✓ Les résultats en terme de teneurs en polyphénols totaux montrent que l'extrait Zizyphus eau, olivier éthanol et l'extrait Zizyphus éthanol étaient les plus riches en polyphénols avec des teneurs de 5.02, 4.897 et 4.44 mg EAG /g, alors que l'extrait Pistacia éthanol ne contient que 3.33 mg EAG /g).

1.5.2 Dosage des flavonoïdes

La teneur en flavonoïdes des différents extraits a été déterminée à partir de la courbe d'étalonnage de la Quercétine ($y=0.0018x+0.1347$) et exprimé en mg équivalent de Quercétine par gramme de matière sèche (mg EQ/g)

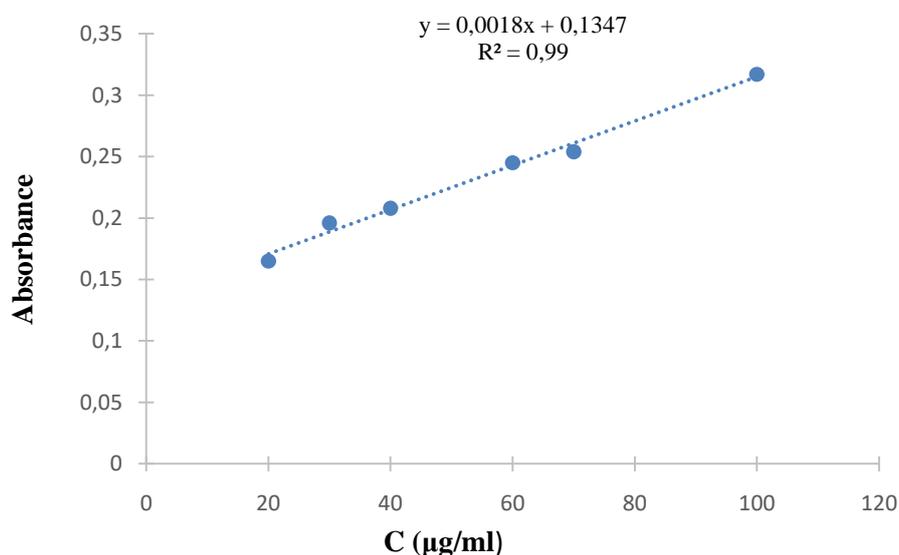


Figure II.11: Courbe d'étalonnage de quercitrine

Les résultats du dosage des flavonoïdes sont représentés dans la figure suivante et (annexes II.2)

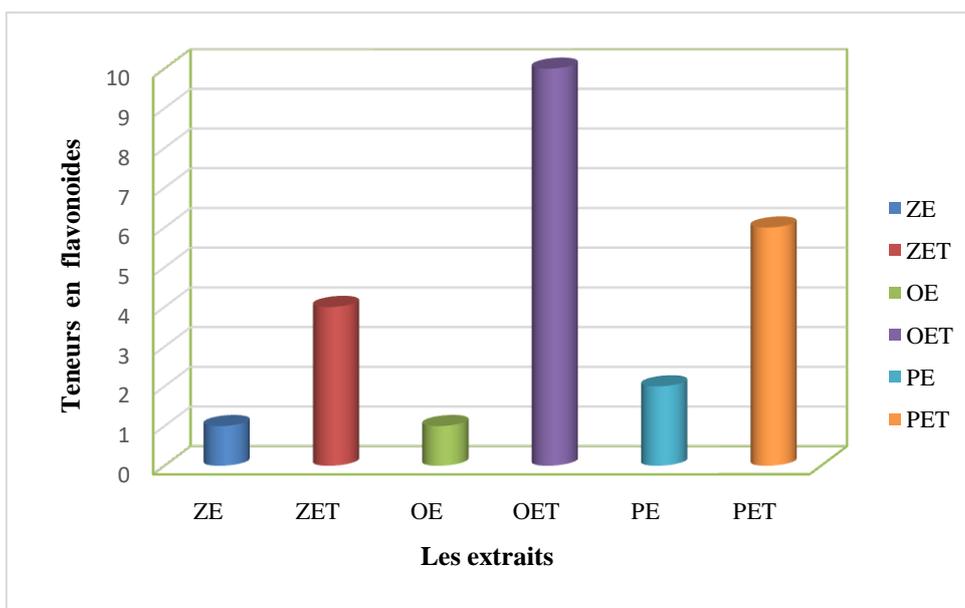


Figure II.12 : Teneur en flavonoïdes des différents extraits

- ✓ On constate que l'extrait olivier éthanol présente la plus grande teneur en flavonoïdes dont la valeur est égales à 10,14mg/g Alors que la plus faible teneur 0,76 (mg/g) est trouvée dans l'extrait Zizyphus eau , ce la confirme que les extraits éthanoïques sont très riche en flavonoïdes.

I.5.3 Teneur en tannins totaux

Les teneurs des tannins sont calculées a partir de la courbe d'étalonnage de catéchine $y=0.00076x-0.0076$ (annexe II.2) [134] et exprimés en mg équivalent de Catéchine/g d'extrait (mg EC/g). Les résultats tanins condensés sont répertoriés dans le tableau suivant et (annexes II.2)

Tableau II.4: Teneur en polyphénols, flavonoïdes et tannins des différents extraits

Extraits	Polyphénols (mg/g)	Flavonoïdes (mg/g)	Tanins (mg/g)
Zizyphus eau ZE	5.015	0.764	14.08
Zizyphus éthanol ZET	4.439	4.995	15.95
Olivier eau OE	3.657	1.609	10.54
Olivier éthanol OET	4.897	10.141	12.39
Pistacia eau PE	3.879	2.120	9.42
Pistacia éthanol PET	3.331	6.385	10.43

- ✓ La figure ci-dessous montre les résultats de la composition en tanins condensés totaux des extraits.

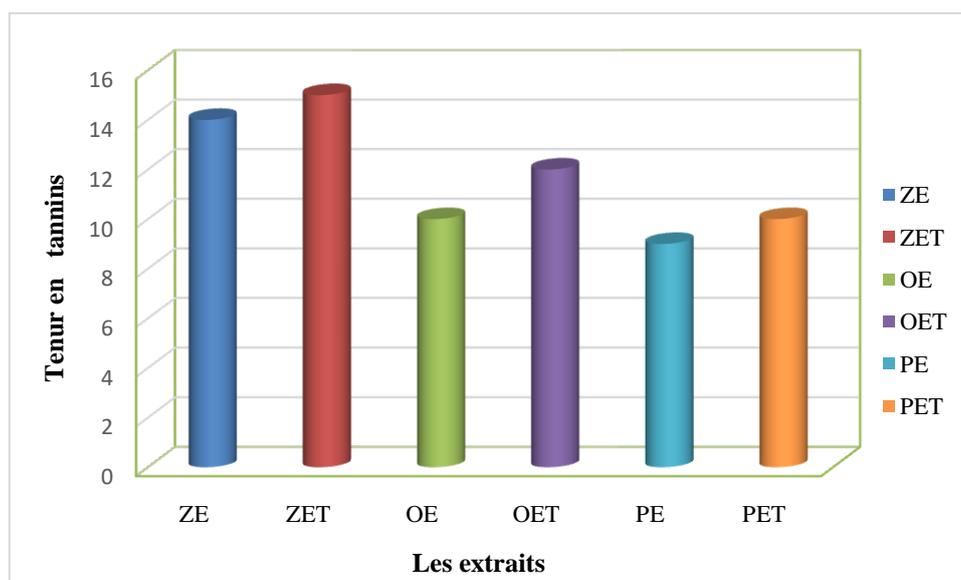


Figure II.13 : Teneur en Tannins des différents extraits

- ✓ A partir des histogrammes illustrés ci-dessus on observe que les teneurs en tannins varient considérablement entre les différents extraits.
- ✓ On remarque que l'extrait Zizyphus éthanol a enregistré une teneur la plus élevée avec une moyenne de 15,95 mg EC/g d'extrait sec cependant l'extrait Pistacia eau à montré une faible valeur de 9,42 mg EC/g d'extrait sec.

1.6 Activité antioxydant des extraits

La méthode de DPPH a été choisie, en raison de sa simplicité, rapidité, sensibilité et de sa reproductibilité [155]. Les résultats obtenus sont exprimés en pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des concentrations des extraits. Le pouvoir antiradicalaire des différents extraits est représenté dans les tableaux et (annexes II.3) et illustré dans les figures ci-dessous :

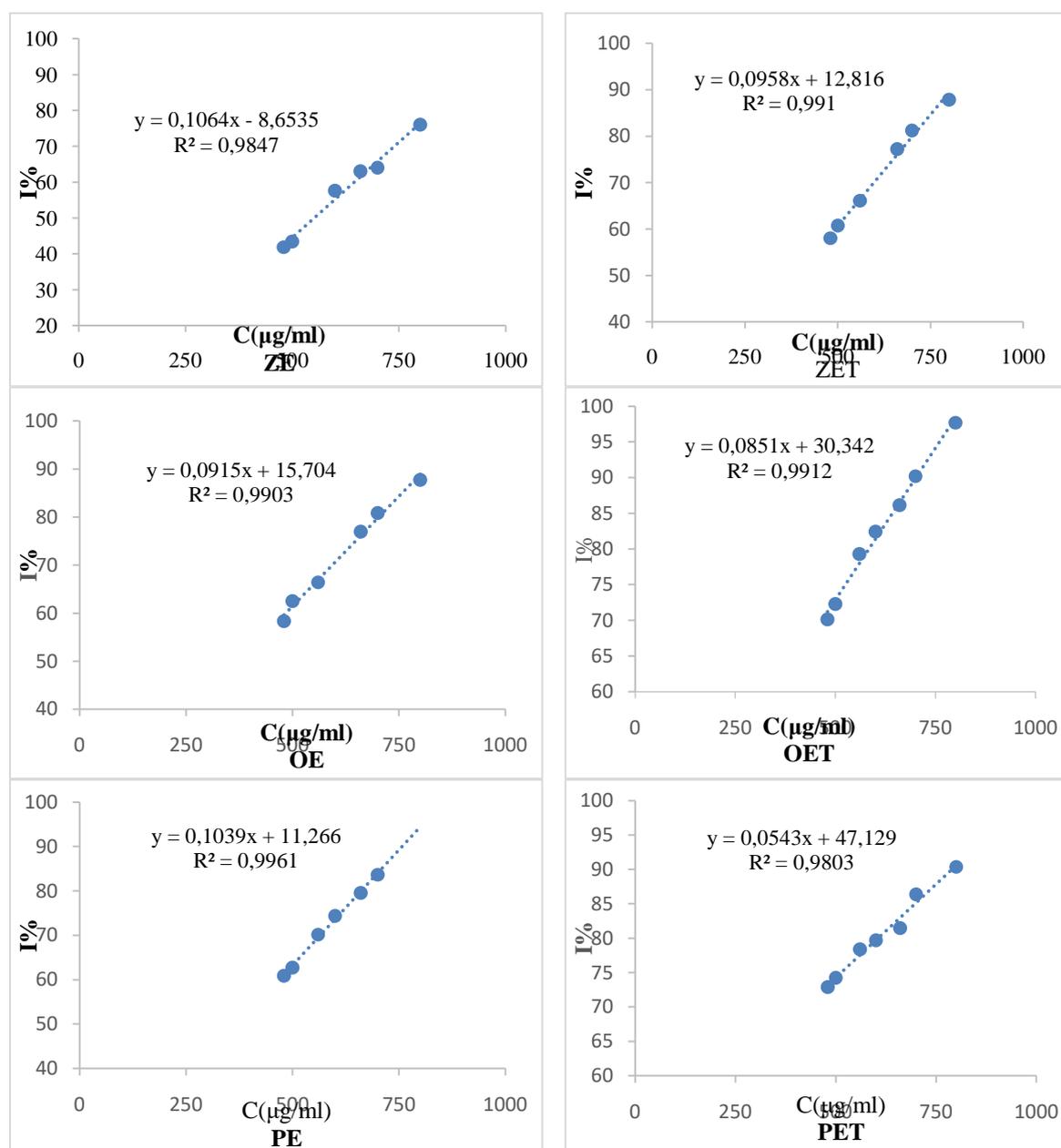


Figure II.14 : Résultats de l'activité antioxydant

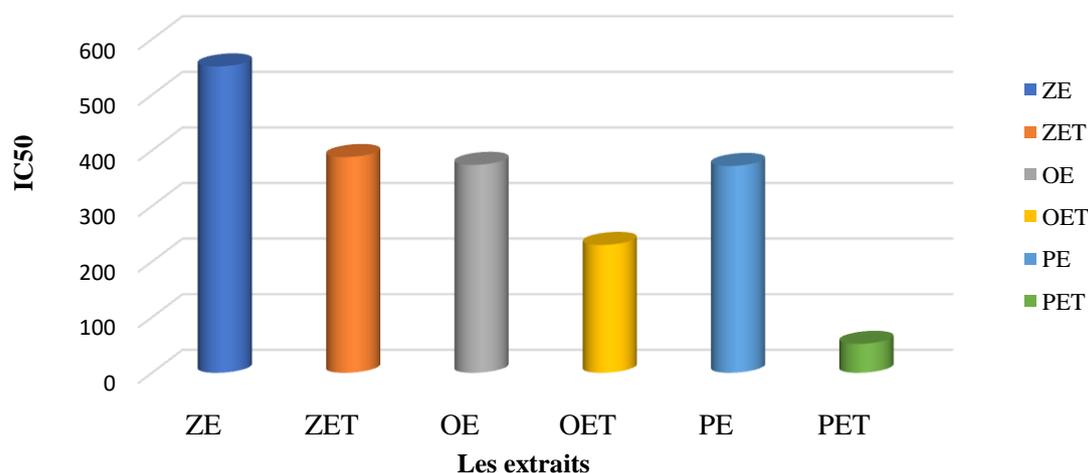
✓ D'après les résultats obtenus, on constate que le pouvoir antiradicalaire est proportionnel à la concentration des extraits préparés.

La détermination des pourcentages d'inhibition IC50 des différents extraits a été réalisée graphiquement sur les courbes de régression qui relient les pourcentages d'inhibition aux concentrations. Les résultats sont regroupés dans le tableau suivant.

Tableau II.5 : IC50 des différents extraits des plantes étudiées

Les extraits	Equation linéaire	IC50 (µg/ml)
ZE	$y = 0,1064x - 8,6535$	551.254
ZET	$y = 0,0958x + 12,816$	388.14
OE	$y = 0,0915x + 15,704$	374.819
OET	$y = 0,0851x + 30,342$	230.998
PE	$y = 0,1039x + 11,266$	372.8
PET	$y = 0,0543x + 47,129$	52.872

Les valeurs IC50 calculées nous ont permis de dessiner la figure suivante:

**Figure II.15 :** IC50 d'activité antioxydant des extraits

- ✓ Les résultats obtenus montrent que les différents extraits présentent une capacité antioxydant importante, ainsi que l'extraits PET possède la meilleure activité antioxydant de l'ordre de 52,87 µg/ml, suivi de l'extrait OET avec une IC50 de 230,99 µg/ml cependant l'extrait ZE possède la plus faible capacité antioxydant de l'ordre de 551,24 µg/ml

1.7 Pouvoir antibactérien des extraits

L'activité des extraits étudiés a été évaluée par la présence ou l'absence d'inhibition de la croissance bactérienne. La présence de l'activité antibactérienne est traduite par l'apparition des zones claires autour des disques imbibés des extraits, l'absence de

l'inhibition se traduit par l'absence d'halos autour des puits. Après 48 heures d'incubation à 37°C. Les résultats obtenus sont présentés sur les figures suivantes :

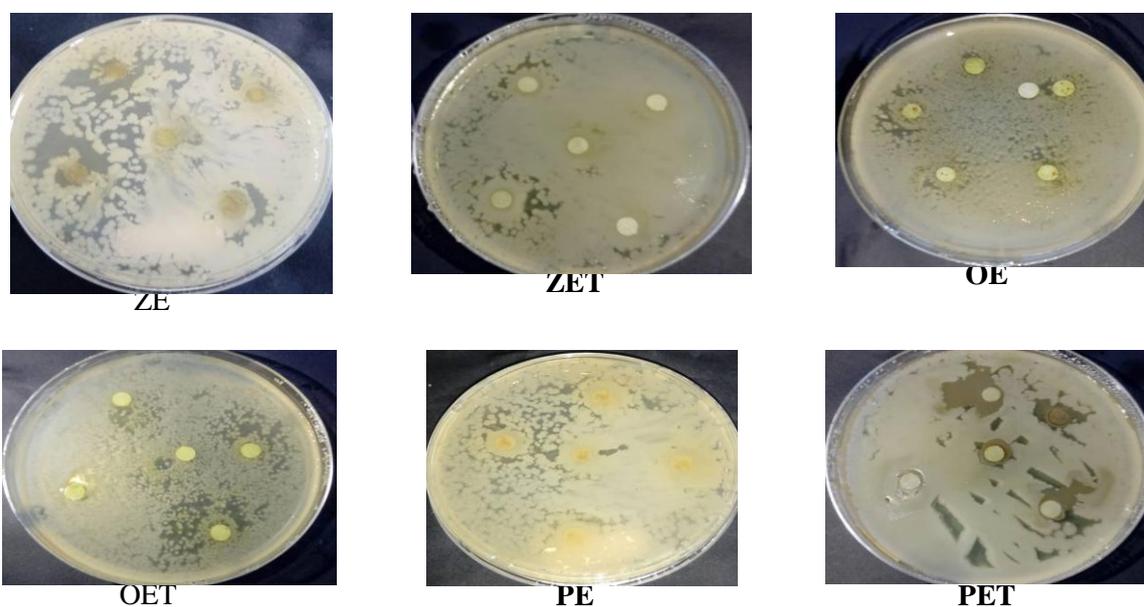


Figure II.16 : Résultats de l'activité antibactérienne des extraits des vis-à-vis *Bacillus cereus*

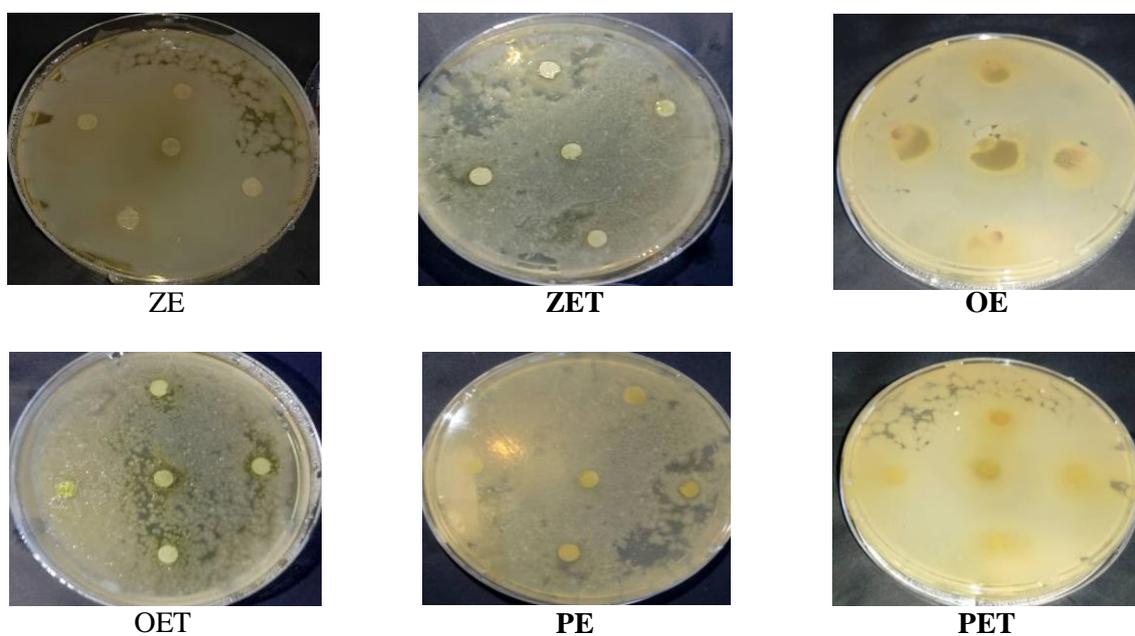


Figure II.17 : Résultats de l'activité antibactérienne des extraits vis-à-vis *S. Aureus*

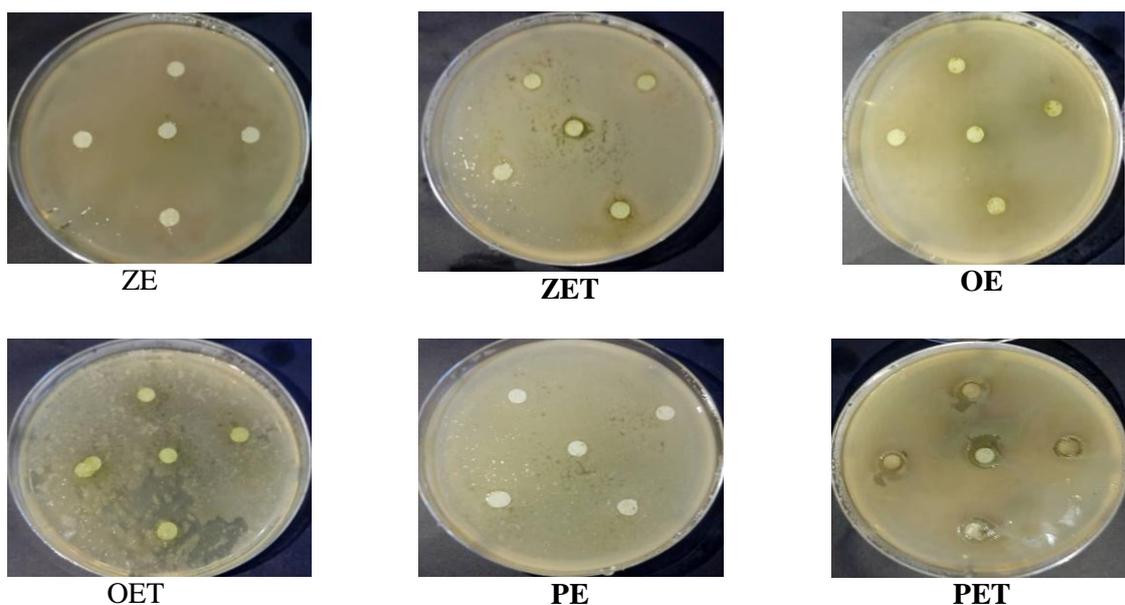


Figure II.18 : Résultats de l'activité antibactérienne des extraits vis-à-vis E. Coli

- ✓ D'après les résultats, il apparaît que toutes les souches bactériennes testées sont inhibées par les extraits phénoliques, avec divers degrés d'activité antimicrobienne.

En effet selon les études réalisées par Hayouni et al ont rapporté que la méthode d'extraction et la nature du solvant peuvent influencer l'activité antimicrobienne des composés phénoliques des plantes. Le diamètre de la zone d'inhibition diffère d'une bactérie à une autre et d'un extrait à un autre. La variation de l'activité antimicrobienne des extraits explique les variations de leurs compositions chimiques [156].

- ✓ Les tests d'activité antibactérienne ont permis de mettre en évidence la présence d'une importante activité des extraits sur les différentes souches testées. Les zones d'inhibition et leurs diamètres sont présentés dans les tableaux (annexe II.4) et les figures ci-dessous.

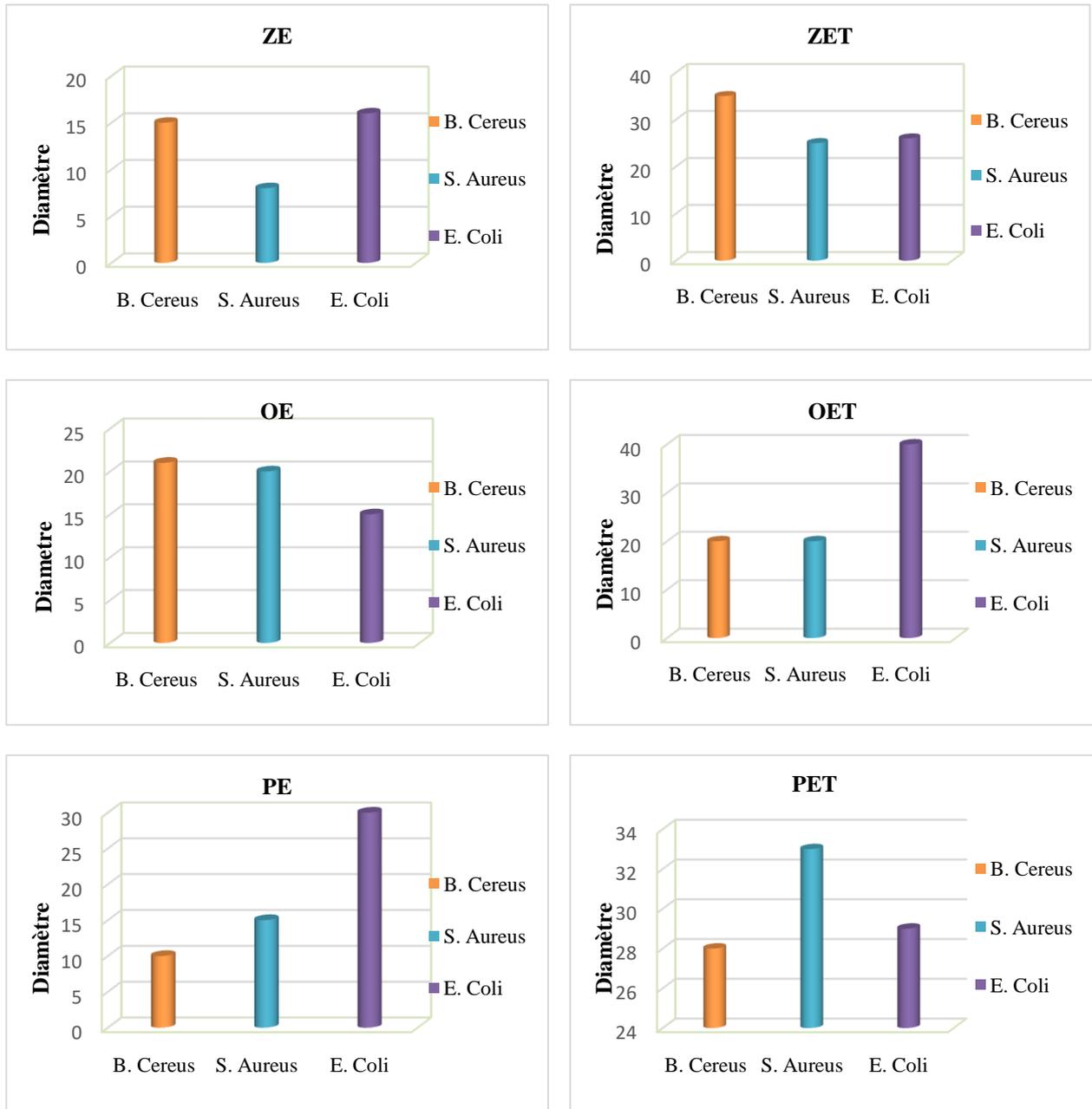


Figure II.19: Diamètres des zones d’inhibition des extraits.

- On remarque que, la croissance des colonies d’Escherichia coli, est fortement inhibées par les extraits olivier éthanol et Pistacia eau avec des zones d’inhibition d’ordre de 40mm et 30mm respectivement.
- ✓ On note aussi que la croissance des colonies de Bacillus Cereus est fortement inhibées par les extraits Zizyphus éthanol et Pistacia éthanol avec des zones d’inhibition d’ordre de 35mm et 29mm respectivement.

- ✓ Les résultats présentés sur les figures ci-dessus montrent que l'extrait éthanoïque d'olivier présente une bonne activité contre *Escherichia coli*, par rapport aux autres extraits.
- ✓ On constate que l'extrait Pistacia éthanol est l'extrait le plus efficace retardant la croissance microbienne de toutes les bactéries pathogènes testées.
Des valeurs similaires ont été enregistrées dans les travaux de Benhamou et al. (2008), Dans l'extrait éthanoïque des feuilles de Pistacia lentisque avec une zone d'inhibition de 21,5 mm contre *S. aureus* [157].

Il apparaît que l'extrait Zizyphus eau semble avoir une action inhibitrice modérée sur la croissance d'*Escherichia coli*, *Bacillus Cereus* et de *Staphylococcus aureus* avec un diamètre d'inhibition varie de 16mm, 15mm à 8mm respectivement.

On pense que différents mécanismes sont responsables de l'activité antimicrobienne de polyphénols. Certaines études de Scalbert montrent que les phénols hautement oxydés [158] ou ceux qui ont plus d'OH sont plus inhibiteurs que ceux qui sont moins oxydés. De plus, les travaux de Sato et al confirme que les flavonoïdes avec plus de groupes (OH) avaient une plus grande activité antimicrobienne [159].

Dans d'autres études, Cowan a signalé que certains composés phénoliques tels que les quinones agissent comme une source de radicaux libres stables et se lient de manière irréversible aux protéines, entraînant leur perte de fonction. D'autres cibles sont l'inactivation des enzymes, la liaison aux adhésions à la surface des cellules microbiennes, la liaison aux protéines de la paroi cellulaire et l'interaction avec les substrats les rendant indisponibles pour le micro-organisme [160].

1.8 Caractéristique du bain bouche

D'après les résultats obtenu on constate que les formulations de bain bouche à base des trois espèces ont montrés un bon résultat de point de vue homogénéité, couleur, odeur, PH, aussi ils ont montrés une bonne stabilité durant le stockage dans le réfrigérateur pendant la période d'étude (35jour).

Tableau II.6 : Caractéristique du bain de bouche

Température	Paramètre d'évaluation	Les formulations			
		F1	F2	F3	F4
3-5°C	Couleur	vert foncé	vert foncé	vert foncé	vert foncé
	Odeur	Pas de changement	Pas de changement	Pas de changement	Pas de changement
	Séparation de phases	Aucun	Aucun	Aucun	Aucun
	Homogénéité	bien	bien	bien	bien
	pH	5.55	5.60	4.78	4.65

I.9 Évaluation antibactérienne des formulations du bain de bouche

Après 48 heures d'incubation à 37°C, les zones d'inhibition observées autour des puits imprégnés de différentes formulations ont été mesurées. Les résultats obtenus sont présentés sur la figure suivante et dans les tableaux (annexes II.4) :

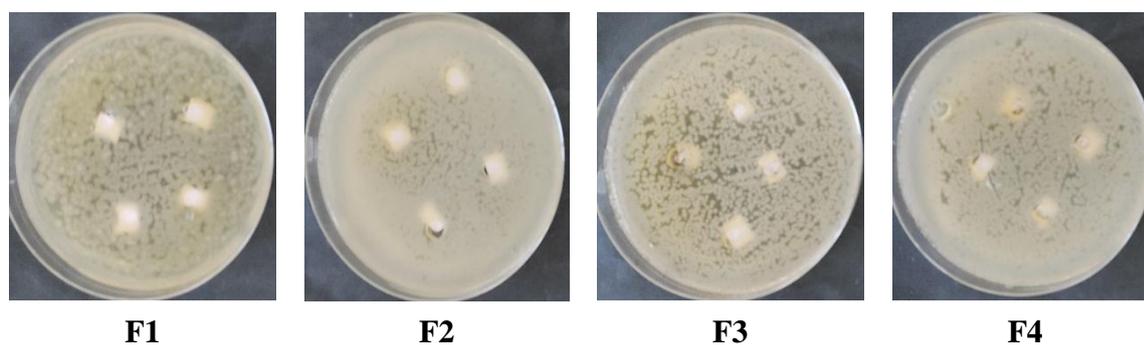


Figure II.20 : Résultats de l'activité antibactérienne de BB vis-à-vis B. Cereus

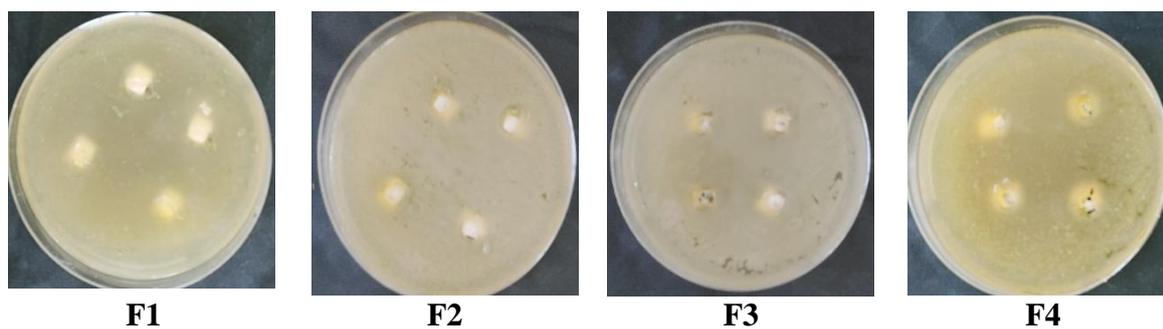


Figure II.21 : Résultats de l'activité antibactérienne de BB vis-à-vis E. Coli

- ✓ On remarque que toutes les formulations ont dénoncé un effet inhibiteur important contre les souches sélectionnées.
- ✓ On note une faible activité inhibitrice des différentes formulations contre la souche

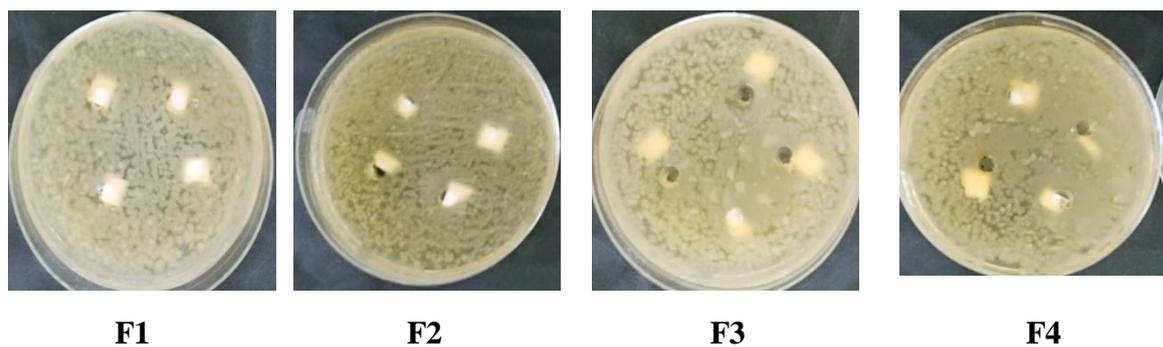


Figure II.22 : Résultats de l'activité antibactérienne de BB vis-à-vis S. Aureus

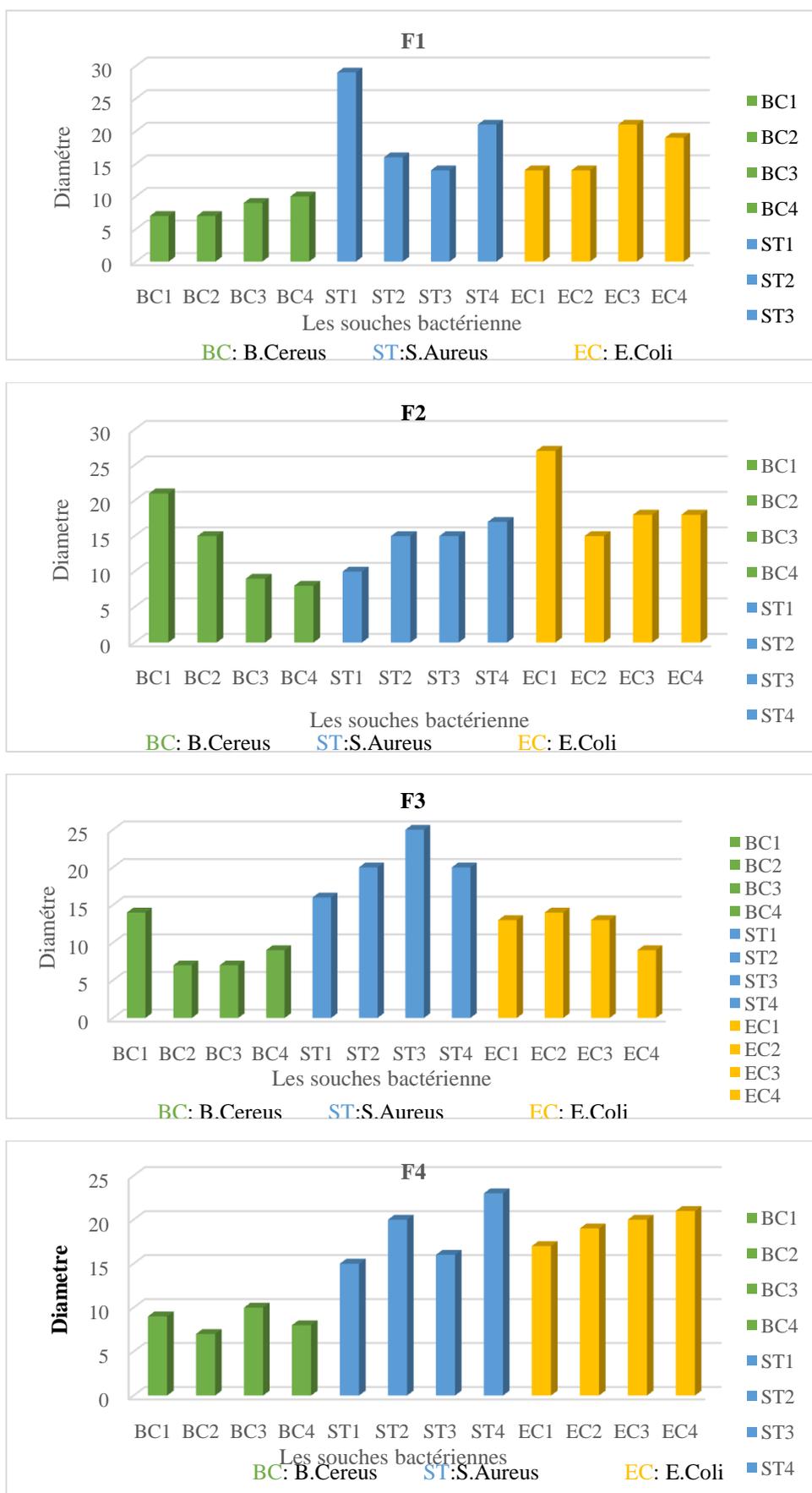


Figure II.23 : Diamètres des zones d'inhibition des bains de bouches

- D'après les histogrammes obtenu on constate que quatre formulations présentes un effet inhibiteur significatif contre *Escherichia coli*, *S.Aureus*, avec un diamètre d'inhibition varie entre 14mm et 27mm.
- On constate que, la croissance des colonies *Staphylococcus aureus*, est fortement inhibées par ces formulations avec des zones d'inhibition vari entre 12 mm et 22 mm
- Les figure ci-dessus affirme que le pouvoir antibactérien des formulations est classer selon l'ordre suivant $F4 > F1 > F3 > F2$.
- On observe que les diamètres des zones d'inhibition diminuent graduellement avec les dilutions préparé.
- On conclue que la formulation F4 à un meilleur effet inhibitrice vis à vis les souches *Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli*, et cela est du probablement à la combinaison des différents métabolites secondaires bioactifs de chaque plante.
- On conclue que bain bouche à base de plantes formulé une alternative abordable pour réduire le nombre de microbes. Cependant, d'autres études cliniques à long terme sont essentielles pour fournir une normalisation et une qualification indispensables des diverses combinaisons de bains de bouche à base de plantes.

Conclusion générale

Conclusion générale et perspective

L'Algérie est riche en plantes aromatiques et médicinales susceptibles d'être utilisées dans différents domaines (pharmacie, parfumerie, cosmétique, et agroalimentaire) pour leurs propriétés thérapeutiques et odorantes. Ces plantes aromatiques sont, donc, la source de produits à forte valeur ajoutée. Dans ce contexte notre étude s'inscrit à l'étude photochimique, dosage des polyphénols, l'évaluation des activités biologiques des extraits, suivie par l'élaboration des formulations de bain bouche à base des extraits éthanoliques des feuilles Pistacia lentiscus, l'Olivier Olea europea et Zizyphus lotus.

A la lumière des résultats expérimentaux obtenus, nous pouvons tirer les conclusions suivantes :

- le criblage phytochimique a révélé la richesse des plantes sélectionnées en métabolites secondaires notamment en composés phénoliques, flavonoïdes et tanins.
- L'estimation quantitative par la méthode colorimétrique a montré que les extraits étudiés constituent une source potentielle de substances phénoliques bioactives.
- L'analyse spectroscopie infrarouge a montré la présence des groupements fonctionnels qui existent au sein des principes actifs
- Les tests de piégeage du radical libre par la méthode DPPH ont confirmé une activité anti radicalaire importante des extraits préparés
- La méthode de diffusion sur disque a confirmé que les extraits organiques sont dotés d'une activité inhibitrice contre les microorganismes testés
- Le test préliminaire de formulation du bain de bouche a donné un produit acceptable de point de vue caractéristique physicochimique (PH, stabilité) et organoleptique (odeur, couleur)
- Les résultats obtenus affirment que les formulations du bain bouche à base d'herbes ont démontré une meilleure activité antibactérienne.

Perspectives

L'ensemble des résultats tirés ne constitue qu'une première étape dans la recherche pour un travail plus vaste et plus approfondi, il serait souhaitable de:

- Utiliser des méthodes avancées dans l'extraction des principes actifs

- Purifier et isoler les molécules contenues dans les extraits organiques afin d'identifier les molécules à l'origine des effets pharmacologiques.
- Identifier les composés phénoliques par la chromatographie en phase liquide couplée à la spectrométrie de masse (HPLC-MS).
- L'évaluation de l'activité antifongique des différents extraits étudiés.
- Effectuer des tests microbiens sur d'autres souches bactériennes.
- Evaluer d'autres activités biologiques in vivo et in vitro tels que : l'activité antidiabétique, analgésique et antibactérienne, inflammatoire.
- Améliorer cette formulation pharmaceutique par des techniques avancées et tester d'autres activités biologiques.

Références Bibliographiques

- [1] Tang, L. I., Ling, A. P., Koh, R. Y., Chye, S. M., & Voon, K. G. (2012). Screening of anti-dengue activity in methanolic extracts of medicinal plants. *BMC complementary and alternative medicine*, 12(1), 1-10.
- [2]. Haddouchi F., Chaouche T.M., KSOURI R. 2014. Phytochemical screening and in vitro antioxidant activities of aqueous-extracts of *Helichrysum stoechas* subsp. *rupestre* and *Phagnalon saxatile* subsp. *saxatile*. *Chin J Nat Med* 12(6), 415–22.
- [3] Adida, H., et al. (2016). "Étude phytochimique et évaluation du pouvoir antiradicalaire des extraits de *Pituranthos scoparius*." *Phytothérapie* 14(4): 207-212.
- [4] Salhi S., Fadli M., Zidane L., Douira A. 2010. Etudes floristique et ethnobotanique des plantes médicinales de la ville de Kénitra (Maroc). *Lazaroa* 31: 133-146.
- [5] Bouzid, A., et al. (2017). "Étude ethnobotanique de la plante médicinale *Arbutus unedo* L. dans la région de Sidi Bel Abbés en Algérie occidentale." *Phytothérapie* 15(6): 373-378
- [6] Djamel Djenane , Javier YangüelA , Fariza Derriche , Lydia BOUARAB1 ,Pedro ,RONCALES. Utilisation des composés de feuilles d'olivier comme agents antimicrobiens; application pour la conservation de la viande fraîche de dinde; revue *Nture et Technologie*(2012), Vol4, N°2; p 53-61
- [7] Bisignano G., Tomaino A., Lo Cascio R., Crisafi G., Uccella N and SAIJA A. (1999). On the in-vitro antimicrobial activity of oleuropein and hydroxytyrosol. *J Pharm Pharmacol*, vol.51, 4-971
- [8] Arab K et Bouchena K O. (2013). Évaluation de l'activité biologique des Feuilles de l'olivier sauvage et cultivé. *Afrique Sci*, 09, 159-166
- [9] Gherib. A. (2014). Caractérisation physicochimique et biochimique d'un extrait d'*Olea europea* var. *oleaster* et détermination de ses effets sur certains paramètres biologiques. Thèse en vue De L'obtention D'un Diplôme De Doctorat En Biochimie Appliquée, Université Badji Mokhtar – Annaba, Algérie
- [10] Bruneton J. (1999). *Pharmacognosie - Phytochimie – Plantes médicinales*, 3^{ème} Ed., Technique et Documentation, Paris. 1999, p. 227-310-312-313-314, 494.
- [11] Comte H. (1990). *Le tour de l'olivier*. Régine Vallée, 2^{ème} Ed., France.
- [12] Kamel Ghedira , Paul Goetz . *Phytothérapie anti-infectieuse. L'olivier ; springer Phytothérapie* (2008) 6: 83–89
- [13] Breton C., Médail F., Pinatal C., Beroillé A. (2006). De l'olivier à l'oléastre: origine et domestication de l'*olea europaea* L. dans le bassin méditerranéen. *Cah. Agr.* 15: 329- 336.
- [14] Carrion Y., Ntinou M., Badal E. (2010). *Olea europaea* L in the North Mediterranean Basin during the Pleniglacial and the Early–Middle Holocene. *Quaternary Science Reviews*. 29: 952-968.
- [15] Lumaret R., Ouazzani N., Michaud H., Vivier G., Deguilloux M.F., Di Giusto F. (2004). Allozyme variation of oleaster populations wild olive tree *Olea europaea* L. in the Mediterranean Basin. *Heredity*. 92, 343–351.
- [16] Boudy L. & Terral J.F. (2016). Archéobiologie et agrobiodiversité de l'olivier : domestication et diffusion dans l'Ouest de la Méditerranée. Montpellier : CIHEAM
(Options Méditerranéennes : série A : Séminaires Méditerranéens, (118). - L'Oléiculture au Maroc de la préhistoire à nos jours : pratiques, diversité, adaptation, usages, commerce et politiques. 17-27.
- [17] Artaud M. (2008). L'olivier sa contribution dans la prévention et le traitement du syndrome métabolique. Ed. C.O.I., p :30 .
- [18] Tassin C. (2012). Paysages végétaux du domaine méditerranéen : Bassin méditerranéen, Californie, Chili central, Afrique du Sud, Australie méridionale. IRD éditions. Institut de recherche pour le développement. Collection : Référence Marseille. 421p.
- [19] Nefzaoui, A., 1991. Valorisation des sous-produits de l'olivier. *Options Méditerranéennes* . 16 : 101-108.
- [20] Nefzaoui A., 1995. Feeding value of Mediterranean ruminant feed resources. *Advanced course*. Syria 12-23 March

- [21] Boudhrioua, N., Bahloul, N., Ben Slimen, I., Kechaou, N. 2009. Comparison on the total phenol contents and the color of fresh and infrared dried olive leaves. *Industrial Crops and Products*, Vol 29, p 412–419
- [22] Savarese TM., Strohsnitter Wc., Low Hp., Liu Q., Baik I., Okulicz W., Chelmow Dp., Lagiou P., Quesenberry Pj., Noller Kl Et Hsieh Cc. (2007). Correlation of umbilical cord blood hormones and growth factors with stem cell potential: implications for the prenatal origin of breast cancer hypothesis. *Breast Cancer Res*, 9, R29.
- [23] Waston, L., and Dallwitz, M.J. (1992). The families of flowering plants. *Heart Disease Risk Factor Study*. *Am J Clin Nutr* 77:133-8. Punt, W., Marks, A., and Hoen, P. (2003). *Rhamnaceae*, Review of palaeobotany and palynology 123:57-66.
- [24] Rsaissi N. et Bouchache M. (2002). la lutte chimique contre le *jujubier*. *Programme Nationale de transfert de technologie en agriculture* 94 :1-4.
- [25] Khare CP (1995) *Zizyphus jujube* In “*Encyclopedia of Indian Medicinal Plants*”. Springer, New York.
- [36] Bamouh A. (2002). La lutte chimique contre le jujubier. *Programme National de transfert de Technologie en Agriculture (PNTTA)*, ed. DERD Rabat, n° 94, p. 1, 4.
- [27] Borgi W., Ghedira K., Chouchane N. (2007(a)). Anti-inflammatory and analgesic activities of *Zizyphus lotus* root barks. *Fitoterapia*, n° 78, p.16-19.
- [28] Ghedira K. (2013). *Zizyphus lotus* (L.) Desf. (Rhamnaceae) : jujubier sauvage. *Ethnobotanique—monographie*, vol.11, p.149-153
- [29] Cronquist A. (1981) An integrated system of classification of flowering plants. *Colombia university*, p. 1256
- [30] Gorai M. ; Maraghni, M. ; Neffati M. (2010) Relationship between phenological traits and water potential patterns of the wild jujube *Zizyphus lotus* (L.) In southern Tunisia. *Plant Ecology & Diversity*, 3, P 273-280.
- [31] Ferhat, R. (2008). Etude de la fraction lipidique et la composition en acides gras des huiles des fruits de: *celtis australis* L., *crataegus azarolus* L., *crataegus monogynajacq.*, *elaegnus angustifolia* L. et *zizyphus lotus* L (Doctoral dissertation, Université de Batna 1-Hadj Lakhder).
- [32] Abdeddaim, M. (2018). Etude de la composition biochimique des fruits de cinq espèces végétales présentes dans la région des aurès en vue de leur utilisation alimentaire ou pharmacologique (*celtis australis* L, *crataegus azarolus* L, *crataegus monogyna* J, *elaegnus angustifolia* L, et *zizyphus lotus* L) (Doctoral dissertation).
- [33] Catoire C., Zwang H., Bouet C. (1999). Les jujubiers ou le *Zizyphus* fruits oubliés. article du n°1
- [34] Chouaibi M., Mahfoudhi N., Rezig L., Donsi F., Ferrari G and Hamdi S. (2011). Nutritional composition of *Zizyphus lotus* L. seeds. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 6 : 1171–1177 p.
- [35] Borgi W., Ghedira K., et Chouchane N. (2006(a)). Anti-inflammatory and analgesic activities of *Zizyphus lotus* root barks. *Fitoterapia*, 78:16-19.
- [36] Souleymane, A. (2016). Potential Benefits of Jujube (*Zizyphus Lotus* L.) Bioactive Compounds for Nutrition and Health. *Journal of Nutrition and Metabolism*.
- [37] Ghedira K., Chemli R., Caron C., Nuzillard J-M., Zeches M., Le Men-Olivier L. (1995). Four cyclopeptide alkaloids from *Zizyphus lotus*. *Phytochemistry* 38 :767-772
- [38] Ourzeddine W., Fadel H., Mechehoud Y., Chalchat J., Figueredo Gi., Chalard P., Benayache F., Benayache S. (2017). Chemical Composition and Antioxidant Activity of the Fruit Essential Oil of *Zizyphus lotus* (L.) Desf. (Rhamnaceae). *International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research* 9(2) : 228-232
- [39] Baba Aissa, F. (1999). Encyclopédie des plantes utilisées. Flore d’Algérie et du Maghreb – Substance végétale, Edition Librairie Moderne, Rouiba, p145.
- [40] Borgi W., Recio M. C., Ríos J. L., et Chouchane N. (2008). Anti-inflammatory and analgesic activities of flavonoid and saponin fractions from *Zizyphus lotus* (L) Lam. *South Afr J Bot*, 74 : 320-324 p.

- [41] Bozorgi, M., Memariani, Z., Mobli, M., Hossein, M., Surmaghi, S., Shams-ardekani, M. R., & Rahimi, R. (2013). *P. khinjuk*, and *P. lentiscus*, A review of their traditional uses, phytochemistry and pharmacology, *The Scientific World Journal* p 1-33.
- [42] Messaoudene, M., Ifticene-Habani, N., (2016). Croissance radiale et sensibilité au climat du pistachier de l'Atlas, *Pistacia atlantica* Desf., en Algérie, p 3- 15.
- [43] Correia O.A., Catarino F.M., 1994. Seasonal changes in soil-to-leaf resistance in *Cistus sp.* And *Pistacia lentiscus*. *Acta Oecologica*, 1994, vol. 15, pp. 289-300.
- [44] Quezel, P., Santa, S., (1963). Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales, Ed centre notre nationale de la recherche scientifique (No. 581.965 Q8).
- [45] Cragg G.M., Newman D.J., & Snader K.M. (1997). Natural products in drug discovery and development. *Journal of natural products*, 60(1), 52-60.
- [46] Bensalem, G. (2015). L' huile de lentisque (*Pistacia Lentiscus*) dans l'est algerien : caracteristiques physico-chimique et compositionn acides .27,34.
- [47] Benhammou, N., Atik B.F., Panovska T.K. (2008). Antioxidant and antimicrobial activities of the *Pistacia lentiscus* and *Pistacia atlantica* extracts . *African Journal of Pharmacy and Pharmacology* , 2 , 23-27
- [48] Onay, A., Jeffree, C.E., 2000. Somatic Embryogenesis in Pistachio (*Pistacia Vera L.*), in: Jain, S.M., Gupta, P.K., Newton, R.J. (Eds.), *Somatic Embryogenesis in Woody Plants: Volume 6, Forestry Sciences*. Springer Netherlands, Dordrecht, pp. 361–390. https://doi.org/10.1007/978-94-017-3030-3_11
- [49] Jordano, P., 1989. Pre-dispersal biology of *Pistacia lentiscus* (Anacardiaceae): cumulative effects on seed removal by birds. *Oikos* 55 :375-386
- [50] Ait youssef M. (2006). *Plantes médicinales de cabylie*. Paris, p 260-263.
- [51] Castola, V., Bighelli, A., Casanova, J., 2000b. Intraspecific chemical variability of the essential oil of *Pistacia lentiscus L.* from Corsica. *Biochemical Systematics and Ecology* 28, 79–88. [https://doi.org/10.1016/S0305-1978\(99\)00038-1](https://doi.org/10.1016/S0305-1978(99)00038-1)
- [52] Duru, M.E., Cakir, A., Kordali, S., Zengin, H., Harmandar, M., Izumi, S., Hirata, T., 2003a. Chemical composition and antifungal properties of essential oils of three *Pistacia* species. *Fitoterapia* 74, 170–176. [https://doi.org/10.1016/S0367-326X\(02\)00318-0](https://doi.org/10.1016/S0367-326X(02)00318-0)
- [53] Chaabani E. 2019. Eco-extraction et valorisation des métabolites primaires et secondaires des différentes parties de *Pistacia lentiscus*. Thèse de doctorat, Université d'Avignon , Université de Carthage, 119P .
- [54] Verdū M., Garcia F. P. 1998. Ecological causes, function, and evolution of abortion and parthenocarpy in *Pistacia lentiscus* (Anacardiaceae). *Can. J. Bot* 76: 134-141
- [55] More D., White J. 2005. *Encyclopédie des Arbres plus de 1800 Espèces et Variétés du Monde*, Flammarion 18-24.
- [56] Saadoun S. N. 2002. Types stomatiques du genre *Pistacia* : *Pistacia atlantica* Desf. ssp. *atlantica* et *Pistacia lentiscus L.* Natural Resources Laboratory, Boukhalfa, Tizi-Ouzou, Algérie. *Options Méditerranéennes, Série A, N°63*. p 369.
- [57] Belhadj S. 2000. Les pistacheraies algériennes: Etat actuel et dégradation, Centre Universitaire de Djelfa, Algérie, p 108.
- [58] Ait Said S. 2011. Stratégies adaptatives de deux espèces du genre *Pistacia* (*P. Lentiscus L.* et *P. Atlantica* Desf.) aux conditions d'altitude, de salinité et d'aridité: approches morpho anatomiques, phytochimiques et ecophysiologiques. Doctorat en sciences biologiques, Université Mouloud Mammeri de Tizi Ouzou, Algérie. 160p.
- [59] Benhammou, N., Atik , B.F., Panovska, T.K. (2007). Antiradical capacity of the phenolic compounds of *Pistacia lentiscus* and *Pistacia atlantica* Desf . *Advances in food sciences* ,29 , 155-161.
- [60] Elgubbi, H., Alfageih, L., Zorab, A., Elmeheshi, F. (2017). *Pistacia lentiscus* Tree and its Role in Riddance of some Environmental Polluters. *ECronicon Open access* , 10 , 8-14 .
- [61] Aziba, L., Debbache, B.N., DaCosta, G., Atmani, K.D., Saidenea, N., Ayounia, K., Richard, T., Atmania, D. (2019). *Pistacia lentiscus* leaves extract and its major phenolic compounds reverse aluminium-induced neurotoxicity in mice. *Industrial Crops & Products* , 137 , 576–584 .

- [62] Bozorgi, M., Memariani, M., Mobli, M., Hossein, M., Salehi S., Reza, M., Ardekani, S., Rahimi, R. (2013). Five Pistacia species (*P. vera*, *P. atlantica*, *P. terebinthus*, *P. khinjuk*, and *P. lentiscus*): A Review of Their Traditional Uses, Phytochemistry, and Pharmacology . *The ScientificWorld Journal* , 10 , 2-28 .
- [63] Belhachata, D., Aidb, F., Mekimene, L., Belhachat , M. (2017).Phytochemical screening and in vitro antioxidant activity of *Pistacia lentiscus* berries ethanolic extract growing in Algeria. *Mediterranean Journal of Nutrition and Metabolism* , 10 , 273–285.
- [64] Derong, L., Mengshi, X., Jingjing, Z., Zhuohao, L., Baoshan, X ., Xindan, L., Maozhu, K. , Liangyu, L., Qing, Z., Yaowen, L., Hong, C., Wen, Q., Hejun, W., Saiyan, C. (2016). An Overview of Plant Phenolic Compounds and Their Importance in Human Nutrition and Management of Type 2 Diabetes . *journal of molecules* , 21, 1-19.
- [65] Dahmoune, F., Spigno, G., Moussia, K., Remini, H., Cherbal, A., Khodir Madani, K. (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 .
- [66] Kordali S, Cakir A, Zengin H and Duru M (2003). Antifungal activities of the leaves of three Pistacia species grown in turkey. *Fitoterapia*, 74, 164-167.
- [67] Janakat S and Al-Merie H (2002). Evaluation of hepatoprotective effect of Pistacia lentiscus, Phillyrea latifolia and Nicotiana glauca. *J Ethnopharmacol*, 83, 135-138.
- [68] Villar, A., Sanz, M.J., Payo, .M. (1987). Hypotensive effect of Pistacialentiscus L. *Int J Crude Drug Res* 25, 1-3.
- [69] Kordali, S.; Cakir, A.; Zengin, IL; Duru, M.E. Antifungal activities of the leaves of three Pistacia species grown in Turkey. *Fitoterapia*, 74: 164-167. 2003.
- [70] Bravo, L. (1998). Polyphenols: Chemistry, dietary sources, metabolism, and nutritional significance. *Nutrition Reviews*. 56 (11): pp 317-333.
- [71] Boubekri, Ch. (2014). Etude de l'activité antioxydante des polyphénols extraits de Solanum melongena par des techniques électrochimiques. Thèse de Doctorat, Université Mohamed Khider – Biskra, p 24.
- [72] Hoffmann, D. (2003). *Medical Herbalism : The Science and Practice of Herbal Medicine*. Edition Inner Traditions / Bear & Co., p 90.
- [73] Pincemail, J., Degruene, F., Voussure, S., Malherbe, C., Paquot, N. & Defraigne, J.-O. (2007). Effet d'une alimentation riche en fruits et légumes sur les taux plasmatiques en antioxydants et des marqueurs des dommages oxydatifs. *Nutrition clinique et métabolisme* 21, 66–75.
- [74] Garcia M., Rues Y., Moumen A., Alcaide M. (2006). Effet of polyethylene glycol, urea and sunflower meal on olive (*Olea europaea* var .*europaea*) leaf fermentation in continuous fomenters. *Small Ruminant Research*, 61,53-61
- [75] Heleno, S.A., Martins, A., Queiroz, M.J.R., Ferreira, I.C., 2015. Bioactivity of phenolic acids: Metabolites versus parent compounds: A review. *Food chemistry* 173, 501-513.
- [76] Macheix, J.J., Fleuriet, A & Jay-Allemand, C. (2005). Les composés phénoliques des végétaux : un exemple de métabolites secondaires d'importance économique. Lausanne, Suisse. Presses polytechniques et universitaires romandes.
- [77] Chanforan, C. (2010). Stabilité de microconstituants de la tomate (composés phénoliques, caroténoïdes, vitamines C et E) au cours des procédés de transformation : études en systèmes modèles, mise au point d'un modèle stoechio-cinétique et validation pour l'étape unitaire de préparation de sauce tomate Thèse de doctorat. Université d'Avignon.
- [78] Cowan, M.M. (1999). Plant products as antimicrobial agents, *Clinical Microbiology Reviews*, 12(4), 564 - 582.
- [79] Lobstein, A. (2010). Substances naturelles et pharmacognosie, les alcaloïdes, pp 3-25.
- [80] Anderson, C. M., Halleberg, A. & Hogberg, T. (1996). Advances in the development of pharmaceutical antioxydants. *Adv. drug Res.*, 28: pp 65-180.
- [81] Heller W., & Forkmann G. (1993). The flavonoïds advances in research since 1986.

- [82] Portes E. (2008). Synthèse et études de tétrahydrocurcuminoïdes: propriétés photochimiques et antioxydantes: applications à la préservation de matériaux d'origine naturelle (Doctoral dissertation, Bordeaux 1).
- [83] Mraïhi F., Sidaoui F., Hidalgo M., de Pascual-Teresa S., & Trabelsi-Ayadi M and Chérif J K. (2014). The 4-dimethylaminocinnamaldehyde flavanols quantification assays in Tunisian *Crataegus monogyna* and their HPLC-MS profiling. *Tunis. J. Med. Plants Nat. Prod.* 12: 39-45.
- [84] Buchanan, B., Gruissem, W & Jones, R. (2000). *Biochemistry & molecular biology of plants* (1e éd.). Maryland, USA: American society of plant physiologists.
- [85] Ghnimi, W. (2015). Etude phytochimique des extraits de deux Euphorbiacées: *Ricinus communis* et *Jatropha curcas*. Evaluation de leur propriété anti-oxydante et de leur action inhibitrice sur l'activité de l'acétylcholinestérase (Thèse de doctorat). Université de Lorraine.
- [86] Wichtl M et Anton R. (2009). *Plantes thérapeutiques tradition, pratique officinale, Systematics and Ecology* 3, 255-260.
- [87] Osbourn A., Lanzotti V. (2009). *Plant-derived Naturels Products synthesis, function and application*. Ed Springer, New York, 597.
- [88] Jakupovic, J., Paredes, L., Bohlmann, F. & Watson L. (1988). Prenyl flavanes from *Marshallia* species. *Phytochemistry*. 27(10): p 3273.
- [89] Roux, D. & Catier, O. (2007). *Botanique, Pharmacognosie et Phytothérapie*. Wolters Kluwer France Edition, p 74.
- [90] Pénicaud, C. (2009). Etude et modélisation du couplage entre le transfert d'oxygène et les réactions d'oxydation dans les aliments au cours de leur conservation. Thèse de Doctorat : Université de MONTPELLIER II.
- [91] Jarrige, R. & Ruckebusch, Y. (1995). *Nutrition des ruminants domestiques : Ingestion et digestion*. Editions Quae, p 57.
- [92] Collin, S. & Cruzet, J. (2011). Agence universitaire de la francophonie. Polyphénols et procédés : Transformation des polyphénols au travers des procédés appliqués à l'agro-alimentaire. Edition Lavoisier, p 13.
- [93] Wollgast, J. & Anklam, E. (2000). Review on polyphenols in *Theobroma cacao*: changes in composition during the manufacture of chocolate and methodology for identification and quantification. *Food Research International* 33, 423 - 447.
- [94] Dykes, L. & Rooney, L. W. (2006). Sorghum and millet phenols and antioxidants. *Journal of cereal Sciences* 44, 236 - 241.
- [95] Achat, S. (2013). Polyphénols de l'alimentation : extraction, pouvoir antioxydant et interactions avec des ions métalliques (Thèse de doctorat). Université d'Avignon. 1048.
- [96] Ghasemzadeh, A. & Ghasemzadeh, N. (2011) . Flavonoids and phenolic acids: Role and biochemical activity in plants and human. *Journal of Medicinal Plants Research* 5 (31), 6697-6703.
- [97] Akroum S. (2011) - Etude Analytique et Biologique des Flavonoïdes Naturels. Thèse de Doctorat en sciences. Université Mentouri de Constantine. Algérie. 113 p.
- [98] Naczka, M & Shahidi, F. (2006). Phenolics in cereals, fruits and vegetables: Occurrence, extraction and analysis. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 41(5), 1523-1542.
- [99] Waksmundzka-Hajnos, M & Sherma, J. (2010). *High Performance Liquid Chromatography in Phytochemical Analysis* (vol. 102). Florida, USA: CRC.
- [100] AKROUM S. (2010). Etude Analytique et Biologique des Flavonoïdes Naturels. Thèse de Doctorat : Université Mentouri de Constantine-Algerie.
- [101] Lenoir, L. (2011). Effet protecteur des polyphénols de la verveine odorante dans un modèle d'inflammation colique chez le rat. Thèse de Doctorat : Université D'Auvergne
- [102] Ferrazzano, G.F., Amato, I., Ingenito, A., Zarrelli A., Pinto, G., Pollio, A., 2011. Plant polyphenols and their anti-cariogenic properties: a review. *Molecules*, 16, pp 1486-507.
- [103] Wu, T., Zang, X., He, M., Pan, S., Xu, X., 2013. Structure-activity relationship of flavonoids on their anti-*Escherichia coli* activity and inhibition of DNA gyrase, *J. Agric. Food Chem.*, 6, pp 8185-8190.
- [104] Tsuchiya, H., Linuma, M., 2000. Reduction of membrane fluidity by antibacterial sophoraflavanone G isolated from *Sophora exigua*, *Phytomedicine*, 7, pp 161-165.

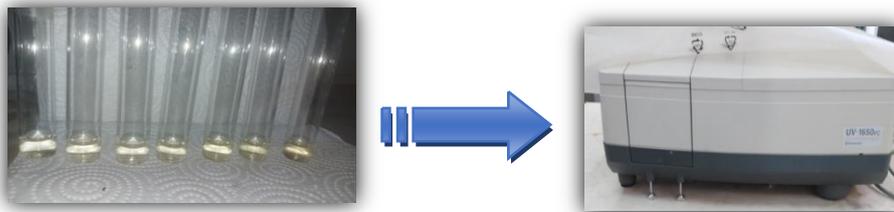
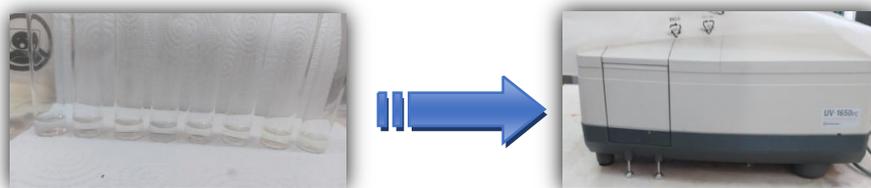
- [105] Gaudy C., Buxeraud J., Antibiotiques : pharmacologie et thérapeutique. Elsevier (Masson), 2005.
- [106] Nataro J. P., Kaper J. B., Diarrheogenic E. coli. Clin Microbiol Rev, 11, 1998, 142-201.
- [107] Boubrit S., Boussad. N., 2007. Détermination "in vitro " du pouvoir antibactérien des huiles essentielles d'eucalyptus, myrte, clous de girofle et sarriette, et leur application à la conservation de la viande fraîche type hachée, Université Mouloud Mammeri de Tiziouzuou, Ingénierat d'état en biologie, option contrôle de la qualité et analyses.
- [108] Baures, C., Bedda, S., Garderes, E., Moreau, L., Raulot, M., & (2009). Delamare-Le Deist, P. F. Les cosmétiques biologiques à la loupe.
- [109] Lamadin, H, Tramini, p. (2007). Plantes médicinales bucco dentaires du Languedoc-Roussillon. Tela-botanica, 1 :179-192
- [110] Muster, D. (2004). Thérapeutique médical bucco-dentaire : moyens et méthode, Elsevier Masson, France, p :19-44.
- [111] Durand, A., & Canselier, J. P. (2020). Méthodes d'encapsulation basées sur une réaction de transacylation Aude Munin, Maité Callewaert, Florence Edwards-Levy. In Procédés et formulations au service de la santé (pp. 94-103). EDP Sciences.
- [112] Hampikian Sylvie ; Créez vos cosmétiques bio ; Éditeur : Terre Vivante ; 2007 , p :224. ISBN-10 : 2914717288.
- [113] Deans S.G. Et Ritchie G., 1987 : Antimicrobial Properties of Plant Essential oils. Int.J. Food Microbiol., Vol. 5, pp : 165-180.
- [114] Emna Chaabani, Maryline Abert Vian, Romain Bott, Christian Ginies, Catherine Defoort, Riadh Ksouri, and Farid Chemat 2019; Extraction of aromas from *Pistacia lentiscus* L. leaves using alternative solvents: COSMO-RS assisted solvent screening and GC-MS metabolites Profiling, j. Separation Science and Technology ; N°20 :1-12. DOI: 10.1080/01496395.2019.1574821.
- [115] Koubaa, M., Ktata, A., Bouaziz, F., Driss, D., Ghorbel, R.E., Chaabouni, S.E., 2015. Solvent extract from *Opuntia stricta* fruit peels: chemical composition and biological activities. Free Radic. Antioxid. 5, 52–59.
- [116] Sanogo, Y., Guessennd, N.K., Tra Bi, H.F., Kouadio, N.J., Konan, F.K., Bamba, M., Danho, N., Bakayoko, A., Yao, K., Dosso, M. (2016). Evaluation *in vitro* de l'activité des écorces de tige de *Anogeissus leiocarpus* (DC) Guill. et Perr. (Combretaceae) sur des bactéries responsables de maladies courantes en Afrique et criblage phytochimique. *Int. J. Biol. Chem. Sci.*, 10(3): 1139-1152.
- [117] Riov, J., Gottlieb, H.E. (2006). Metabolism of auxin in pine tissues: Indole-3-acetic acid conjugation. *Physiologia Plantarum*, 50: 347-352.
- [118] Peter.K.Vollhardt, C. , Schore, N. , « Traité de chimie organique », 4^{ème} Ed, DeBoeck, Bruxelles, 2004, p.444-49.
- [119] Brinda P, Sasikala P, Purushothaman KK. Pharmacognostic studies of *Merugan Kizhangu*. Bull Med. Eth. Bot.1981; Res. 3: 84-96.
- [120] Siddiqui AA, Ali M. Practical Pharmaceutical chemistry. 1st ed. New Delhi, CBS Publishers and Distributors.1997; 126-31.
- [121] Savithamma N, Linga RM, Bhumi G. Phytochemical screening of *Thespesia populnea* (L) Soland and *Tridax procumbens* L.J. Chem. Pharm.2011; Res. 3: 2834
- [122] Firdouse S, Alam P (2011) Phytochemical investigation of extract of *Amorphophallus campanulatus* tubers. International Journal of Phytomedicine 3: 32-35.
- [123] Sangeetha R, Jayaprakash A (2015) Phytochemical Screening of *Punica granatum* Linn. Peel Extracts. Journal of Academic and Industrial Research 4: 160-162.
- [124] Singleton VL, Rossi JA. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic photungstic acid reagents, American Journal of Enology and Viticulture, 16,144-158.
- [125] Dif MM, BenaliToumi F, Benyahia M, Mekhfi N (2015) Optimization of extraction in *Daphne gnidium* L. leaves. Adv in Nat ApplSci 3:5–7
- [126] Aiyegoro OA, Okoh AI (2010) Preliminary phytochemical screening and In vitro antioxidant activities of the aqueous extract of *Helichrysum longifolium*. DCBMC Complement Altern Med 10:21–5

- [127] Nirmala Phuyal , Pramod Kumar Jha, Pankaj Prasad Raturi, and Sangeeta Rajbhandary, Total Phenolic, Flavonoid Contents, and Antioxidant Activities of Fruit, Seed, and Bark Extracts of *Zanthoxylum armatum* DC. Hindawi the Scientific World Journal, Vol 2020 ,pp. 1-7, 2020.
- [128] Ribéreau-Gayon P. 1968. Les composés phénoliques des végétaux. Ed. Dunod, Paris. P 254.
- [129] A. Marsoul, M. Ijjaali, F. Elhajjaji, M. Taleb, A. Boukir, Mater. Today Proc. 27 (2020) 3193–3198.
- [130] D. Kim, O. Chun, Y. Kim, H. Moon, C. Lee, J. Agric. Food Chem. 51 (2003) 6509d
- [131] CB Singh, MC Devi, DS Thokchom, Sengupta M, AK Singh, Phytochemical screening, estimation of total phenols, total flavonoids and determination of antioxidant activity in the methanol extract of *Dendrobium denudans* D. Don stems ; Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry 2015;4(4):06-11
- [132] Julkunen-Titto R., (1985) Phenolic constituents in the leaves of northern willows methods for the analysis of certain phenolics. Journal of Agricultural and Food chemistry, (33), p:213.
- [133] Sun B, Richardo-da-Silvia JM, Spranger I. Critical factors of vanillin assay for catechins and proanthocyanidins [J]. *J Agric Food Chem*, 1998, 46: 4267-4274.
- [134] Vinson JA, Dabbagh YA, Serry MM, et al. Plant flavonoids, especially tea flavonoids, are powerful antioxidants using an in vitro oxidation model for heart disease [J]. *J Agric Food Chem*, 1995, 43 :2800-2802.
- [135] Madhav Poudel and Meena Rajbhandari , Phytochemical Analysis of *Ampelopteris Prolifera* (Retzius) Copeland ; Nepal Journal of Science and Technology ; (NJST) (2020), 19(1) : 78-88.
- [136] Molyneux P. 2004. The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. The Songklanakarin Journal of science and Technology. 26(2):211-219.
- [137] Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E. et Berset, C. (1995). Use of a Free Radical Method to Evaluate Antioxidant Activity. *Lebensm.-Wiss. u.-Technol.* 28: 25-30.
- [138] Mansouri, A., Embarek, G., Kokkalou, E., & Kefalas, P. (2005). Phenolic profile and antioxidant activity of the Algerian ripe date palm fruit (*Phoenix dactylifera*). *Food Chemistry*, 89, 411–420.
- [139] Parekh, J & Chanda, S. (2007). *In vitro* antimicrobial activity of *Trapanatans* Linn. Fruit rind extracted in different solvents. *African Journal of Biotechnology*, 6(6), 766-770.
- [140] Bendahou M., Nenyouchef M., Benkhada D., Elissa Costa J., (2007). Influence of the processes extraction on essential oil of *Origanum glandulosum*. *Journal of Applied Sciences*. Vol 8 :p 1152-1157
- [141] Manou I., Bouillard L., Devleeschouwer M-J. and Barel A-O. Evaluation of the preservative properties of *Thymus vulgaris* essential oil in topically applied formulations under a challenge test. [en ligne]. (1998), vol. 84, n°3 p. 368-376.
- [142] Burt, S., Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods.]. (2004), vol. 94, p.223-253. Disponible sur
- [143] Bauer, AW; Kirby, WMM; Sherris, JC and Turek, M (1966). Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. *Am. J. Clin. Pathol.*, 45: 493-496.
- [144] Balouiri, M., Sadiki, M.; Ibsouda, S.K. Methods for *in vitro* evaluating antimicrobial activity: A review. *J. Pharma. Anal.* 2016, V N°6, 71-79.
- [145] Ponce, A. G., Fritz, R., Delvalle, C. & Roura, S. I. (2003). Antimicrobial Activity Of Essential Oils On The Native Microflora Of Organic Swiss Chard. Vol 36, N° 7, : 2003, P : 679-684. [https://doi.org/10.1016/S0023-6438\(03\)00088-4](https://doi.org/10.1016/S0023-6438(03)00088-4).
- [146] Matangi, S.P., Mamidi, S.A., Gulshan, M.D., Raghavamma, S.T.V., Nadendla, R.R., 2014. Formulation and evaluation of anti-aging poly herbal cream. *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research*. 24, 133-136.
- [147] Ravi K, Divyashree P. *Psidium guajava*: A review on its potential as an adjunct in treating periodontal disease *Pharmacogn Rev*. 2014; 8(16):96-100.
- [148] Zubaidah HA, Sameer S, Wan Nordini Hasnor Wan Ismail, Wan Himratul-Aznita Wan Harun and Fathilah A R. The effect of selected plant extract in the development of single-species Dental Biofilm. *J Coll Physicians Surg Pak*. 2014; 24(11):796-80.
- [149] Chi AC, Day TA, Neville BW. Oral Cavity and oropharyngeal squamous cell carcinoma- an update. *CA Cancer J Clin* 2015;65(5); 401-21

- [150] Weaver A, Fleming SM, Smith DB. Mouthwash and oral cancer; Carcinogen or coincidence? *J Oral Surg* 1979;37(4) : 250-3
- [151] Ezemokwe Ikenna Chiedozie, Onyegbule Felix Ahamefule and Anwachaepa Amarachukwu Ukamaka ; Anti-Inflammatory, Antimicrobial and Stability Studies of Poly-Herbal Mouthwashes against *Streptococcus mutans* ; *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry* 2016; 5(5): 354-361
- [152] Prichard, A.J.N., “The use of essential oils to treat snoring”, *Phytotherapy Research*, V. 18, (2004), 696-699.
- [153] Ebrahimzadeh, M., Pourmorad, F. & Hafezi, S. (2008). Antioxidant activities of Iranian corn silk. *Turkish Journal of Biology*, 32, 43–49.
- [154] Park, H.-J. & Cha, H.-C. (2003). Flavonoids from leaves and exocarps of the grape *Vitis rotundifolia*. *Korean Journal of Biological Sciences*, 7, 327–330. doi:10.1007/s10180-003-9647-7
- [155] Ozkan, G., Franco, P., De Marco, I., Xiao, J., Capanoglu, E., 2019. A review of microencapsulation methods for food antioxidants: Principles, advantages, drawbacks and applications. *Food Chemistry* 272, 494-506.
- [156] Schreier, P. (1987). *Ätherische Öle: Progress in Essential Oil Research*. Proceedings of the International Symposium on Essential Oils. Hrsg. von E. J. Brunke. Walter de Gruyter & Co., Berlin - New York 1986. XVI, 668S., Tab., geb. DM 275,-. ISBN 3-11-010614. *Nachrichten Aus Chemie, Technik Und Laboratorium*.
- [157] Hayouni E.A., Abedrabba M., Bouix M And Hamdi M. (2007). The effects of solvents and extraction method on the phenolic contents and biological activities in vitro of Tunisian *Quercus coccifera* L. and *Juniperus phoenicea* L. Fruit extracts. *Food Chem.* 105: 1126-1134.
- [158] Benhammou, N., Bekkara, F. A., Panovska, T. K. (2008). Antioxidant and antimicrobial activities of the *Pistacia lentiscus* and *Pistacia atlantica* extracts. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*. 2 (2): 022-028.
- [159] Scalbert, A. (1991). Antimicrobial properties of tannins. *Phytochemistry*, 30, 3875-3883.
- [160] Sato, M., S. Fujiwara, H. Tsuchiya, T. Fujii, M. Iinuma, H. Tosa, and Y. Ohkawa. (1996). Flavones with antibacterial activity against cariogenic bacteria. *J. Ethnopharmacol.*, 54, 171-176.
- [161] Cowan, M. (1999). Plant products as antimicrobial agents. *Clinical microbiology reviews*, 12(4), 564-582.

Annexe I.1**1. Matériels et produits chimiques**

Appareillages	Produits	Verreries	Autres matériels
Autoclave.	Folin-Ciocalteu	Erlenmeyer	Papier filtre whatman
Moulin électrique	Chlorure ferrique	Entonnoir	Papier aluminium
Agitateur Magnétique	Trichlorure	Tube à essai	Papier absorbant
Plaque chauffante	d'aluminium	Bécher	Spatule
Balance de précision	Acide gallique	Eprouvette	eppendorf
Etuve	Quercitine	Flacon	Pinces
Centrifugeuse	DPPH	Boite pétri	Anses
Spectrophotomètre	Ethanol	Pipettes Pasteur	Cuve de spectrophotomètre.
Vortex	acide sulfurique	Büchner	Micropipettes
Ph mètre	hydroxyde de sodium	fiolle jaugée	
Incubateur	carbonate de sodium	Verre de montre	
réfrigérateur	nitrite de sodium	Ballon	
ultrasons	methanol	Cristallisoir	
	d'acide chlorhydrique	réfrigérant	
	vanilline		

1. Protocole de dosage des flavonoides et des tannins**Figure 2 : Dosage des flavonoides****Figure 3 : Dosage des tannins**

Annexe II.1

Tableau 1. Résultats des tests photochimiques d'extrait d'Olea Europaea

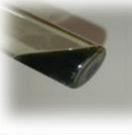
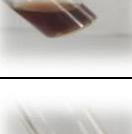
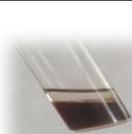
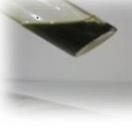
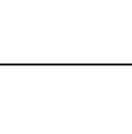
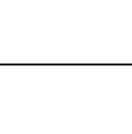
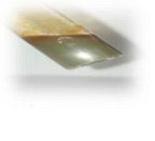
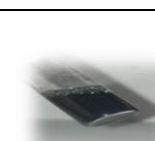
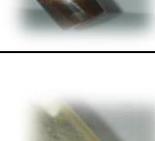
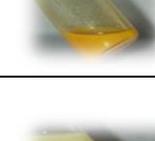
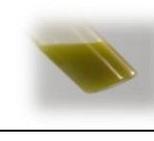
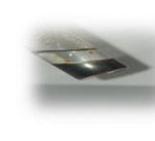
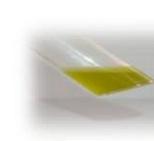
Métabolites secondaires	Réactifs	Les différents extraits			
		Extraits aqueux		Extraits éthanol	
		Observation	Résultat	Observation	Résultat
Flavonoïdes	NAOH		++++		-
Tannins	Chlorure ferrique		+++		+++
Phénols	Chlorure ferrique		+++		+++
Quinones	Acide sulfurique concentré		++++		++++
Stéroïdes	Chloroforme -Anhydride acétique -Acide sulfurique		-		++
Alcaloïdes	Réactif de Mayer + HCL		-		-
Saponines	Eau distillé		++++		-
Terpénoïdes	Chloroforme +acide sulfurique		++++		++++
Coumarines	Hydroxyde de sodium		++		-

Tableau 2 : Résultats des tests phytochimiques d'extrait de Pistacia Lentiscus

Metabolites secondaires	Réactifs	Les different extraits			
		Extraits aqueux		Extraits ethanol	
		observation	Résultats	Observation	Résultat
Flavonoides	NaOH		+		++++
Tannins	Chlorure ferrique		++++		++
Phénols	Chlorure ferrique		+++		-
Quinones	Acide sulfurique concentré		++++		++++
Stéroïds	Chloroforme -Anhydride acétique -Acide sulfurique		++++		++
Alcaloides	Réactif de Mayer + HCL		++++		-
Saponines	Eau distillé		++++		-
Terpénoides	Chloroforme +acide sulfurique		++++		-
coumarins	Hydroxide de sodium		++++		++++

Annexe II.2**1. Dosage des polyphénols totaux****Tableau 1 :** La courbe d'étalonnage d'acide gallique

	20	30	40	60	80
Tube 01	0.046	0.154	0.190	0.253	0.319
Tube 02	0.103	0.130	0.248	0.296	0.3095
Tube 03	0.100	0.179	0.232	0.299	0.362

Tableau 2 : Les résultats de dosage des polyphénols

	ZE	OE	PE	ZET	OET	PET
Tube 1	0.852	0.586	0.971	0.644	0.901	0.971
Tube 2	0.867	0.790	0.744	0.950	0.941	0.989
Tube 3	0.942	0.830	0.285	0.720	0.849	1.00

2. Dosage des flavonoïdes totaux**Tableau 3 :** La courbe d'étalonnage de la Quercétine

	20	30	40	60	70	80	100
Tube 1	0.165	0.161	0.167	0.160	0.150	0.152	0.158
Tube 2	0.195	0.234	0.123	0.192	0.192	0.144	0.151
Tube 3	0.292	0.233	0.135	0.130	0.149	0.152	0.135

Tableau 4 : Les résultats de dosage des flavonoïdes d'extraits

	ZE	OE	PE	ZET	OET	PET
Tube 1	0.151	0.168	0.145	0.158	0.330	0.279
Tube 2	0.154	0.164	0.141	0.165	0.350	0.325
Tube 3	0.143	0.178	0.154	0.165	0.319	0.322

3. Dosage des tannins totaux

Figure 1: Courbe d'étalonnage des tannins condensés

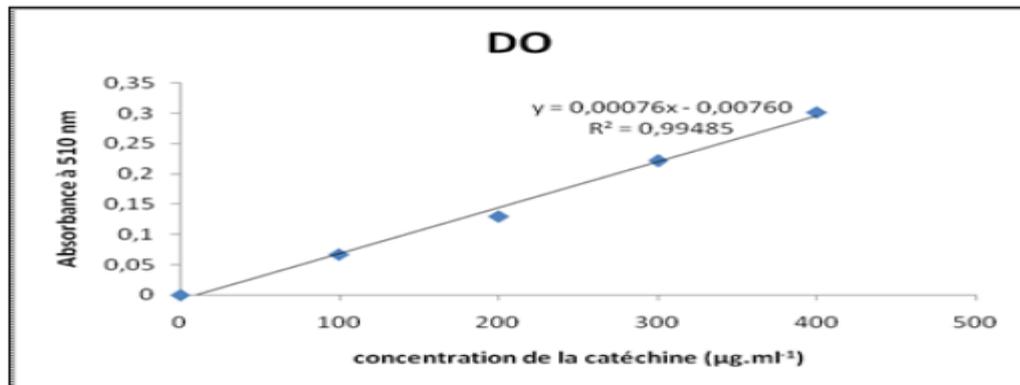


Tableau 5 : Les résultats de dosage des tannins

	ZE	OE	PE	ZET	OET	PET
Tube 1	0.096	0.090	0.0113	0.101	0.093	0.116
Tube 2	0.109	0.089	0.110	0.096	0.095	0.114
Tube 3	0.113	0.091	0.099	0.109	0.094	0.110

Annexe II.3
Résultats de l'Activité antioxydant

Tableau 1 : Résultats d'absorbance de l'activité antioxydant de l'extrait olivier éthanol.

N° tube	1	2	3	4	5	6	7
C (µg/ml)	480	500	560	600	160	700	800
Tube 1	0.098	0.101	0.102	0.099	0.100	0.102	0.104
Tube 2	0.096	0.101	0.103	0.100	0.102	0.102	0.104
Tube 3	0.100	0.100	0.103	0.09	0.101	0.100	0.105

Tableau 2 : Résultats d'absorbance de l'activité antioxydant de l'extrait olivier eau.

N° tube	1	2	3	4	5	6	7
C (µg/ml)	480	500	560	600	660	700	800
Tube 1	0.332	0.320	0.282	0.272	0.232	0.143	0.111
Tube 2	0.341	0.297	0.276	0.253	0.229	0.135	0.112
Tube 3	0.330	0.301	0.266	0.250	0.206	0.120	0.105

Tableau 3 : Résultats d'absorbance de l'activité antioxydant de l'extrait ziziphus éthanol.

N° tube	1	2	3	4	5	6	7
C (µg/ml)	480	500	560	600	660	700	800
Tube 1	0.334	0.310	0.260	0.163	0.175	0.141	0.110
Tube 2	0.322	0.303	0.267	0.185	0.155	0.144	0.093
Tube 3	0.330	0.291	0.260	0.190	0.171	0.144	0.109

Tableau 4 : Résultats d'absorbance de l'activité antioxydant de l'extrait ziziphus eau

N° tube	1	2	3	4	5	6	7
C (µg/ml)	480	500	560	600	660	700	800
Tube 1	0.474	0.448	0.347	0.311	0.299	0.276	0.194
Tube 2	0.454	0.440	0.330	0.318	0.285	0.220	0.189
Tube 3	0.446	0.434	0.339	0.328	0.283	0.209	0.184

Tableau 5 : Résultats d'absorbance de l'activité antioxydant de l'extrait Pistacia éthanol.

N° tube	1	2	3	4	5	6	7
C (µg/ml)	480	500	560	600	660	700	800
Tube 1	0.199	0.199	0.156	0.150	0.148	0.100	0.087
Tube 2	0.152	0.195	0.144	0.155	0.136	0.098	0.072
Tube 3	0.148	0.189	0.169	0.149	0.122	0.097	0.068

Tableau 6 : Résultats d'absorbance de l'activité antioxydant de l'extrait Pistacia eau

N° tube	1	2	3	4	5	6	7
C (µg/ml)	480	500	560	600	660	700	800
Tube 1	0.364	0.268	0.234	0.197	0.170	0.144	0.109
Tube 2	0.330	0.254	0.222	0.193	0.166	0.132	0.099
Tube 3	0.321	0.264	0.219	0.188	0.150	0.120	0.099

Annexes II.4**Résultats de l'activité antibactérienne****1. Résultats de l'activité antibactérienne des extraits****Tableau 1 :** Diamètre des zones d'inhibition des extraits par méthodes des disques

Les différentes souches	Diamètre des zones d'inhibition en mm					
	Les extraits aqueux			Les extraits éthanolique		
	Zizyphus.L	Olea E.	Pistacia L.	Zizyphus.L	Olea E.L	Pistacia L.
B.Cereus	21	10	10	35	20	28
S. aureus	8	20	15	25	20	33
E.Coli	16	15	30	26	40	29

2. Résultats de l'activité antibactérienne de Bain Bouche**Tableau 2 :** Diamètre des zones d'inhibition de bain de bouche F1 par méthode des puits.

Les différentes souches	F1			
	Les dilutions de bain bouche			
	D1	D2	D3	D4
Bacillus Cereus	7	7	9	10
Staphylococcus aureus	29	16	14	21
Escherchia Coli	14	14	21	19

Tableau 3 : Diamètre des zones d'inhibition de bain de bouche F2 par méthode des puits.

Les différentes souches	F2			
	Les dilutions de bain bouche			
	D1	D2	D3	D4
Bacillus Cereus	21	15	9	8
Staphylococcus aureus	10	15	15	17
Escherchia Coli	27	15	18	18

Tableau 4 : Diamètre des zones d'inhibition de bain de bouche F3 par méthode des puits.

Les différentes souches	F3			
	Les dilutions de bain bouche			
	D1	D2	D3	D4
Bacillus Cereus	14	7	7	9
Staphylococcus aureus	16	20	25	20
Escherchia Coli	13	14	13	9

Tableau 5 : Diamètre des zones d'inhibition de bain de bouche F4 par méthode des puits.

Les différentes souches	F4			
	Les dilutions de bain bouche			
	D1	D2	D3	D4
Bacillus Cereus	9	7	10	8
Staphylococcus aureus	15	20	16	23
Escherchia Coli	17	19	20	21

Résumé : L'objectif de ce travail est de valoriser certaines plantes médicinales de la région de Tiaret (*Oleia europea*, *Zizyphus lotus*, *Pistacia lentiscus*). La présente étude se concentre, dans un premier temps, à l'extraction des principes actifs à partir des feuilles des trois espèces, suivie de tests phytochimiques. Les résultats obtenus ont montré un rendement représentatif et l'analyse photochimique a révélé la richesse des espèces en métabolites secondaires. L'estimation des composés phénoliques et l'évaluation de leur activité biologique a dénoncé l'abondance des polyphénols totaux et son pouvoir antioxydant et antibactérien. Cette étude est complétée par une formulation du bain buccal et testée son activité antibactérienne. Les résultats ont confirmé l'obtention d'un produit acceptable et sa capacité d'inhiber la croissance des souches testées.

Mots-clés: Activité antibactérienne, Activité antioxydante, extrait, Olivier, *Pistacia*, *Zizyphus*.

Abstract: The objective of this work is to promote certain medicinal plants from the Tiaret region (*Oleia europea*, *Zizyphus lotus*, *Pistacia lentiscus*). The present study focuses, initially, on the extraction of the active principles from the leaves of the three species, followed by phytochemical tests. The results obtained showed a representative yield and the photochemical analysis revealed the species richness in secondary metabolites. The estimation of phenolic compounds and the evaluation of their biological activity revealed the abundance of total polyphenols. This study is completed by a formulation of the mouthwash and tested its antibacterial activity. The results confirmed the obtaining of an acceptable product and its ability to inhibit the growth of the strains tested.

Keywords: Antibacterial activity, Antioxidant activity, extract, Olive tree, *Pistacia*, *Zizyphus*.

ملخص : الهدف من هذا العمل هو الترويج لبعض النباتات الطبية من منطقة تيارت (*Oleia europea* , *Zizyphus lotus* , *Pistacia lentiscus*). تركز الدراسة الحالية ، في البداية ، على استخراج العناصر الفعالة من أوراق الأنواع الثلاثة ، تليها الاختبارات الكيميائية النباتية . أظهرت النتائج التي تم الحصول عليها محصول تمثيلي وأظهر التحليل الضوئي الكيميائي ثراء الأنواع في المستقلبات الثانوية . كشف تقدير المركبات الفينولية وتقييم نشاطها البيولوجي عن وفرة مادة البوليفينول الكلية وقوتها المضادة للأوكسدة والبكتيريا . اكتملت هذه الدراسة بتركيبية غسول الفم واختبار نشاطه المضاد للبكتيريا , أكدت النتائج الحصول على منتج مقبول وقدرته على تثبيط نمو السلالات المختبرة .

الكلمات المفتاحية: نشاط مضاد للجراثيم ، نشاط مضاد للأوكسدة ، مستخلص ، شجرة الزيتون , الضرر ، السدر .