

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET LA RECHERCHE  
SCIENTIFIQUE

جامعة باجي مختار عنابة

Université Badji Mokhtar Annaba

FACULTE DES SCIENCES

DEPARTEMENT DE CHIMIE



## THESE

En vue de l' obtention du titre de diplôme de doctorat en sciences  
Option Chimie Analytique

### *THEME*

***CARACTERISATION DE LA PELLICULE DU PISTACIA  
LENTISCUS L DE L' EST ALGERIEN , REGION DE COLLO  
PAR SEA-ICP , SAA-F ET CPG/SM***

Présentée par : Mme Boudiaf Nassima

Devant le jury composé :

Présidente:	ZEROR Saoussen	Pr	Universite Badji Mokhtar
Encadreur:	MIZI Abdelkader	Pr	Universite Badji Mokhtar
Examinatrice:	BERREDJEM Yamina	Pr	Université cherif Messaidia souk ahras
Examineur:	GHEID Abdelhak	Pr	Université cherif Messaidia souk ahras
Examineur:	CHEFROUR Azzedine	Pr	Université cherif Messaidia souk ahras
Membre invitée :	FERCHICHI Loubna	Pr	Université Badji Mokhtar

Année 2022

## **Remercîment**

*Les travaux de recherche qui ont fait l'objet de cette thèse ont été réalisés au Laboratoire de LM2PM sous la direction de Monsieur **MIZI Abdelkader** Professeur à l'Université Bdji Mokhtar Annaba.*

*e profite de cette occasion pour exprimer mes sincères reconnaissances et ma profonde gratitude à Monsieur **BACCOUCHE Mostefa** pour l'opportunité et l'honneur qu'il m'a accordé en m'accueillant dans son laboratoire.*

*Je tiens à remercier Madame **ZEROR Saoussen** Professeure à la Faculté des sciences(UBM) pour m'avoir honoré de présider le jury .Qu' elle veuille trouver ici l'expression de mes sincères remerciements.*

*J'adresse mes respectueux remerciements à Monsieur **GHEID Abdelhak** et Monsieur **CHEFFROUR Azzedine** et Madame **BERREDJEM Yamina** Professeurs de l'Université Mohamed Cherif Messaadia à la Faculté des sciences (UBM) pour l'intérêt qu'ils portent pour cette thèse en acceptant d'être dans le jury , qu'ils veuillent trouver ici mes vifs remerciements .*

*J'adresse aussi mes respectueux remerciements à Madame **HATTAB Zhour** Professeure à la faculté des sciences (UBM) d'avoir accepté d'être membre du jury.*

*Je remercie également Madame **FERCHICHI Loubna** Professeur à l' Faculté des sciences d'avoir accepté mon invitation et m'honorer par sa présence.*

*J'adresse également mes vifs remerciements à **Monsieur Jean Pierre Charles** et **Monsieur Patrice Bourson** Professeurs au Laboratoire LMOPS à l' Université de Lorraine pour leur collaboration et assistance technique Qu' il me soit permis de témoigner mon respect et ma reconnaissance à tous les membres du laboratoire.*

## Liste des tableaux

Page

<b>Tableau 1 :</b> Classification taxonomique du <i>Pistacia Lentiscus</i> .....	5
<b>Tableau 2 :</b> Différenciation de espèces de <i>Pistacia Lentiscu L</i> .....	7
<b>Tableau 3 :</b> Quelques acides gras saturés linéaires (Hayat et all 1997- Gaussen et all 1982). .....	27
<b>Tableau 4 :</b> Principaux acides gras insaturés.....	28
<b>Tableau 5 :</b> Classification des huiles végétales selon le degré d'instauration.....	29
<b>Tableau 6 :</b> Quelques applications relatives à la determination des metaux dans les vegetaux .....	40
<b>Tableau7 :</b> Composition en acides gras de l'huile de <i>Pistacia lentiscus L</i> par CPG/SM .....	43
<b>Tableau 8 :</b> Les acides gras de gras de l'huile de <i>Pistacia lentiscus L</i> .....	44
<b>Tableau 9 :</b> Composition en Triglycérides de l'huile de <i>Pistacia lentiscus L</i> par HPLC .....	46
<b>Tableau 10 :</b> Composition en Tocophérols de l'huile de <i>Pistacia lentiscus L</i> .....	47
<b>Tableau 11 :</b> Composition en stérols de l'huile de <i>Pistacia lentiscus L</i> .....	48
<b>Tableau 12 :</b> Quantification des composés polyphénoliques totaux dans les extraits de <i>Pistacia Lentiscus L</i> .....	49
<b>Tableau 13 :</b> Composition en éléments minéraux du fruit de <i>Pistacia lentiscus L</i> .....	50
<b>Tableau14 :</b> <b>Comparaison</b> de l'analyse des métaux dans les végétaux après minéralisation par SAA-F et par colorimètre .....	50
<b>Tableau15 :</b> Analyse par SEA-ICP à balayage de quelques éléments métalliques dans le fruit de <i>Pistacia Lentiscus L</i> (Djedaia, thèse 2018). .....	51
<b>Tableau 16 :</b> Résultats des analyses du K et Na par SEA-F à double faisceau et étalon interne .....	51
<b>Tableau 17 :</b> Récapitulative des conditions de récolte.....	69
<b>Tableau 18 :</b> Paramètres expérimentaux. SEA-ICP.....	73
<b>Tableau 19 :</b> Longueur d'onde des raies étudiées des éléments chimiques .....	73

<b>Tableau 20</b> : Paramètres expérimentaux de SAA-F .....	75
<b>Tableau 21</b> : Caractérisation de la matière grasse .....	91
<b>Tableau 22</b> : <b>Caractérisation</b> de la pellicule.....	92
<b>Tableau 23</b> : <b>Analyse</b> SEA-ICP de quelques éléments minéraux .....	94
<b>Tableau 24</b> : Teneurs autorisées de quelques éléments minéraux dans les végétaux .....	95
<b>Tableau 25</b> : Couleurs complémentaires .....	97
<b>Tableau 26</b> : Composition en pourcentage des acides gras de la pellicules de <i>Pistacia Lentiscus L.</i> ....	98
<b>Tableau 27</b> : Rendement de lentisque en huile essentielle .....	99
<b>Tableau 28</b> : Profil chromatographique de l'huile essentielle du lentisque analysée.....	100
<b>Tableau 29</b> : <b>Structures</b> des composés majoritaires dans l'huile essentielle des feuilles de <i>Pistacia Lentiscus L</i> 30Structures de Collo .....	101
<b>Tableau30</b> : Profil chromatographique de l'huile essentielle de lentisque.....	102
<b>Tableau 31</b> : <b>Comparaison</b> des Chemotypes .....	103

## Liste des figures

## Page

<b>Figure1:</b> Distribution des 11 espèces de <i>Pistacia Lentiscus L</i> .....	6
<b>Figure 2 :</b> <i>Pistacia LentiscusL</i> ( fleurs, feuilles, fruit, résineux mastic).....	9
<b>Figure 3 :</b> Fleurs femelles verdâtre.....	10
<b>Figure4 :</b> Aire de répartition du <i>Pistacia Lentiscus L</i> autour du bassin méditerranéen .....	12
<b>Figure 5 :</b> Structures des glycérides .....	18
<b>Figure 6 :</b> Structure des tocopherols.....	20
<b>Figure 7:</b> Structure schématisée du $\alpha$ carotène.....	21
<b>Figure 8 :</b> Structure schématisée du $\beta$ carotène .....	21
<b>Figure 9:</b> Structure de la chlorophylle" a" et de la chlorophylle" b" .....	21
<b>Figure 10 :</b> Composition panoramique des corps gras .....	22
<b>Figure 11 :</b> La composition de l'huile végétal .....	25
<b>Figure 12 :</b> Emulsion de l'huile dans l'eau .....	30
<b>Figure 13:</b> Réaction De la Liaison Ester .....	32
<b>Figure 14:</b> Principe du spectrophotomètre UV-visible double faisceau.....	34
<b>Figure 15 :</b> Schéma simplifié du chromatographe en phase gazeuse.....	35
<b>Figure 16 :</b> Principe de spectroscopie d'absorption atomique (SAA).....	37
<b>Figure 17:</b> Représentation schématique de la synthèse et de l'exportation des AG .....	45
<b>Figure18:</b> Exemples d'huiles Essentielles issues de différentes parties de plantes.....	53
<b>Figure 19 :</b> Différents extraits aromatiques obtenus à partir de matière végétale.....	57
<b>Figure 20 :</b> Diversité des monoterpènes .....	61
<b>Figure21:</b> Diversité des sesquiterpènes .....	61

<b>Figure 22:</b> Exemple des structures tri-tétraterpéniques et leur dérivés .....	62
<b>Figure 23:</b> Exemples de composés aromatiques dans les huiles essentielles .....	63
<b>Figure 24 :</b> Lieu ou se situe le <i>Pistacia Lentiscus L</i> .....	69
<b>Figure 25 :</b> Coupe longitudinale du fruit .....	70
<b>Figure 26 :</b> Section du fruit .....	70
<b>Figure 27 :</b> Extracteur Soxhlet pour extraire la matière grasse .....	77
<b>Figure 28 :</b> Réaction de saponification et méthylation des triglycérides.....	82
<b>Figure 29:</b> Appareil d'extraction de type Clévenger .....	87
<b>Figure 30 :</b> Appareillage CPG/SM pour l'identification des huiles essentielles .....	90

## Liste d'abréviations

<b>ADN</b>	Acide désoxyribonucléique
<b>AGMI</b>	Acide gras mono insaturé
<b>AG</b>	Acides Gras
<b>AGE</b>	Acide gras essentiel
<b>AGI</b>	Acides Gras Insaturés
<b>AGS</b>	Acides Gras Saturés.
<b>AGPI</b>	Acide gras polyinsaturé
<b>A<math>\lambda</math></b>	Absorbance à la longueur d 'onde $\lambda$
<b>ACT</b>	Acides gras totaux
<b>AST</b>	L'aspartate aminotransférase
<b>CI</b>	Ionisation chimique
<b>CCl<sub>4</sub></b>	Tetrachlorure de Carbone
<b>CCM</b>	Chromatographie Sur Couche Mince.
<b>CPG</b>	Chromatographie en Phase Gazeuse.
<b>CPG/SM</b>	Chromatographie en Phase Gazeuse couplé à la spectrométrie de masse
<b>EEPL</b>	Extrait Ethanolique de Pistacia lentiscus L.
<b>EI</b>	Ionisation électronique
<b>FID</b>	Détecteur par Ionisation de Flamme
<b>HPS</b>	Colonne capillaire
<b>HPLC</b>	Chromatographie Liquide Haute Performance.
<b>HPLC/SM</b>	Chromatographie Liquide Haute Performance couplée au spectrométrie de masse
<b>HRMS</b>	Spectrométrie de masse à haute résolution
<b>HDL</b>	bon cholestérol

I	Indice d'iode
I <sub>A</sub>	Indice d'acide
I <sub>imp</sub>	Indice d'impureté
I <sub>s</sub>	Indice de saponification
IK	Indice de kowaks
I <sub>p</sub>	Indice de peroxyde
K'	Caractérise la rétention d'un composé
LDL	Mauvais cholestérol
MHZ	Mégahertz
OOL	dioléinelinoléine
OOO	trioléine
PLL	palmito-dilinoléine
POO	palmito-dioléine
POL	palmito-oléo-linoléine
PPL	dipalmito-linoléine
PPO	dipalmito-oléine
R <sub>f</sub>	Rapport frontal.
SAA	Spectroscopie d'absorption atomique
SEA	Spectroscopie d'émission atomique
SEA-ICP	spectroscopie d'émission atomique à source de plasma inductive
SM	Spectrométrie de masse
Sr*	Ecart- type
TAG	Triglycéride acide gras trans
TG	Triglyceride

## Résumé

La singularité de ce travail s'articule autour de deux volets à savoir l'analyse physico-chimique de l'huile extraite de la pellicule (épicarpe) du fruit mur du *Pistacia Lentiscus L* et la caractérisation des acides gras et la détermination de la composition chimique de l'huile essentielle extraite à partir des feuilles cueillies à l'état précoce.

Après une présentation de la plante du *Pistacia Lentiscus L* ; la partie qui fera l'objet de cette étude est (l'épicarpe). On a déterminé les paramètres analytiques et ses éléments minéraux par deux techniques de pointe à savoir la SEA-ICP et la SAA-F puis on a cherché à poser une mise au point d'une technique d'extraction de l'huile extraite de la pellicule cette dernière a été caractérisée par CPG/SM qui a donné une composition en acide gras dont les majoritaires sont: palmitiques 28,15% ; oléiques 26,56% et linoléique 24,57%. L'huile contient une quantité appréciable d'acides gras insaturés 67,77%.

Dans le deuxième volet les feuilles du *Pistacia Lentiscus L* cueillies de la région de Collo ont été soumises à une hydrodistillation pour extraire son huile essentielle, et caractériser ses composés chimiques par CPG/MS, dont les principaux constituants sont :

$\beta$ -Linalool 52,8% en chemotype, P-Cymène. 37,92%,  $\beta$ -pinènes 6,85%.et Terpène-4-ol, le D-Limonène et le 4-Carène avec des pourcentages qui sont respectivement : 1,08%, 1,05% et 1,02%.

Mots clés : *Pistacia Lentiscus L*, pellicule (épicarpe), extraction, l'huile végétale, huile essentielle, CPG/MS, SEA-ICP, SAA-F.

## Summary

The singularity of this work lies in its division into two parts, namely the physico-chemical analysis of the vegetable oil extracted from the skin of the ripe fruit of *Pistacia Lentiscus L* and the characterisation of its fatty acids, and in the second part we were interested in extracting and identifying the chemical composition of its essential oil extracted from its leaves in the early stage.

After a presentation of the plant of *Pistacia Lentiscus L* and more precisely the part which will be the subject of this study, in the first part the analytical parameters of the film and its mineral elements were determined by two advanced techniques, namely the SEA-ICP and the SAA-F, then we tried to develop a technique of extraction of the oil extracted from the film. The latter was identified by the CPG/MS for the characterization of the fatty acids, which proved to be successful.

In the second part, the leaves of *Pistacia Lentiscus L* collected from the region of Collo were subjected to a hydrodistillation to extract its essential oil, and to characterize its chemical compounds by GC/MS, whose main constituents are.

*B*-Linalool 52.8% in chemotype, *P*-Cymene. 37.92%, *B* -pinenes 6.85%. and Terpene-4-ol, *D*-Limonene and 4-Carene with percentages which are respectively: 1.08%, 1.05% and 1.02%.

Keywords: *Pistacia Lentiscus L* , skin (epicarp) , extraction, vegetal oil, essential oil , GC/MS , SEA-ICP, SAA-F

## ملخص

ينفرد هذا العمل بانه ينقسم إلى جزأين هما التحليل الفيزيائي والكيميائي للزيت النباتي المستخرج من قشر الثمرة الناضجة من *Pistacia Lentiscus L* والتعريف بأحماضها الدهنية كما اهتمنا ايضا باستخلاص وتحديد المركبات الكيميائية للزيت العطري المستخرج من أوراقه في حالة ما قبل النضج.

بعد التعريف بالنبتة *Pistacia Lentiscus L* وبدقة التي هي موضوع هذه الدراسة، سعينا في الجزء الأول إلى تطوير تقنية لاستخراج الزيت النباتي من *Pistacia Lentiscus L*. من منطقة شرق الجزائر (Collo) من خلال اقتراح كتقنية التي اثبتت نجاعتها CG / MS في تعريف وتحليل الأحماض الدهنية التي لهذه الزيوت النباتية، تلتها دراسة كيميوية تحليلية لإبراز قيمتها الغذائية والتأكد من جودتها لاحتوائها على العناصر المعدنية، باستعمال أحدث الاجهزة، SEA -ICP و SAA-F.

في الجزء الثاني، خضعت أوراق *Pistacia Lentiscus L* التي تم قطفها من منطقة Collo لعملية التقطير المائي لاستخراج الزيت العطري الخاص بها، والكشف عن تركيبها الكيميائي عن طريق CPG / MS، وقد أثبتت هذه الخطوة أهميتها لاستنباط النمط الكيميائي لهذه الشجيرة من شرق الجزائر (القل) والتي لها دور أساسي في التعرف على النبات في نوعه وتصنيفه في المملكة النباتية.

لينالول 52.8% في النمط الكيميائي، P-Cymene. 37.92 %، B pinenes 6.85 %، Terpene-4-ol ، Carene-4 و D-Limonene بنسب مئوية هي على التوالي : 1.08 %، 1.05 % و 1.02 %.

الكلمات الرئيسية: *Pistacia Lentiscus L* - استخلاص - زيت نباتي - زيت عطري - - CPG / MS  
SEA-ICP - SAA-F

# SOMMAIRE

Liste des Tableaux .....	I
Liste des Figures .....	II
Liste des Abréviations .....	III
Remerciements Résumé .....	IV

<b>Introduction Générale.....</b>	<b>1</b>
-----------------------------------	----------

## **PARTIE 1 : ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE**

<b>CHAPITRE 1. GENERALITES SUR LE <i>PISTACIA LENTISCUS L</i> .....</b>	<b>4</b>
---	----------

1.1 Historique.....	4
1.2. Caractérisation botanique.....	5
1.2.1. Taxonomie .....	5
1.2.2. La provenance du genre <i>Pistacia</i> .....	6
1.3. Aspect botanique du <i>Pistacia Lentiscus L</i> .....	7
1.4. Composition du fruit du <i>Pistacia Lentiscus L</i> .....	8
1.5. Répartition géographique du <i>Pistachier Lentiscus</i> .....	11
1.6. Nomenclature .....	12
1.7. Effets thérapeutiques du <i>Pistacia Lentiscus L</i> .....	13
1 .7.3. L’Huile extraite de la pulpe.....	13
1 .7.4. L’huile essentielle de <i>Pistacia Lentiscus L</i> .....	13
1 .7.5. La résine .....	14
1 .8. Activités biologiques et pharmacologiques .....	14
1 .8.1. Activités antimicrobiennes .....	14
1 .8.2. Activité antioxydante .....	14
1 .8.3. Activités anti-hépatotoxique .....	15
1 .9. Composition chimique du <i>Pistacia Lentiscus L</i> .....	15
1 .9.1. Huile végétales .....	15
1 .9.2. Huiles essentielles .....	15
1.10. <i>Lentiscus L</i> dans le domaine socio-économique .....	16

## **CHAPITRE 2 : LES HUILES VEGETALES**

2.1. Introduction .....	17
2 .2. Définition .....	17
2.3. Composition d’un corps gras .....	18
2 .4. Principaux constituants d’un corps gras.....	18
2 .4.1. Les lipides simples.....	18
2 .4.1.1. Les glycérides .....	18
2 .4.1.2. Acides gras .....	19
2 .4.1.3. Les cérides .....	19
2 .4.1.4. Les stérides .....	19
2.4.2.les lipides complexes .....	19
2 .4.3. Les insaponifiables.....	19
2 .4.3.1. Les hydrocarbures.....	19
2 .4.3.2. Les tocophérols.....	20

2.4.4. Les pigments colorés.....	20
2.4.4.1. Caroténoïdes .....	20
2.4.4.2. Carotène.....	20
2.4.4.3. Chlorophylles. ....	21
2.4.4.4. Les produits odorants .....	22
2.4.5. Les traces métalliques .....	22
2.5. Les huiles végétales .....	23
2.5.1. Généralités.....	23
2.5.2. Définition .....	23
2.5.3. Composition des huiles végétales.....	23
2.5.3.1. La fraction saponifiable .....	24
2.5.3.2. La fraction insaponifiable.....	24
2.5.4. Acides gras .....	25
2.5.4.1. Acides gras saturés.....	26
2.5.4.2. Acides gras insaturés.....	27
2.6 Classification des huiles végétales .....	28
2.6.1. Origines des huiles.....	28
2.6.1.1. Les huiles de fruits.....	28
2.6.1.2. Les huiles de graines.....	29
2.7. Mode d'extraction .....	29
2.7.1. Les huiles vierges .....	29
2.7.2. Les huiles raffinées .....	29
2.7.3. Le degré d'insaturation.....	29
2.8. Propriétés physico-chimiques.....	30
2.8.1. Propriétés physiques .....	30
2.8.1.1. Aspect.....	30
2.8.1.2. Solubilité .....	30
2.8.1.3. Densité.....	30
2.8.1.4. Viscosité .....	30
2.8.1.5. Le point de fusion .....	31
2.8.1.6. Conductibilité électrique .....	31
2.9. Propriétés chimiques.....	31
2.9.1. Propriétés dues aux acides gras .....	31
2.9.2. Propriétés dues aux glycérides .....	32
2.9.2.1. L'hydrolyse .....	32
2.9.2.2. La transestérification. ....	32
2.10. Techniques d'extraction des huiles végétales .....	32
2.10.1. Extraction physique .....	33
2.10.2. Méthodes chimiques .....	33
2.10.2.1. Hydrodistillation ou l'entraînement à la vapeur .....	33
2.10.2.2. Extraction par solvant.....	33
2.10.2.3. Extraction par fluides supercritiques.....	33
2.11. Analyse des corps gras.....	34
2.11.1. Analyse par colorimétrie UV-Visible .....	34
2.11.2. Analyse par Chromatographie CPG/SM.....	35
2.11.3. Analyse par spectroscopie Infra Rouge .....	35
2.12. Analyse des éléments minéraux .....	36
2.13. Spectrométrie d'absorption atomique (SAA).....	36
2.14. Les métaux dans les végétaux .....	37
2.15. Nature des éléments minéraux étudiés.....	38

2.16. Méthodes d' analyses utilisées .....	38
2.16.1. La methode SEA-ICP.....	38
2.16.2. Méthode spectrométrique moléculaire.....	38
2.16.3. Méthode électrochimique.....	39
2.17. Minéralisation des échantillons .....	39
2.17.1. Minéralisation par voie sèche.....	39
2.17.2. Minéralisation par voie humide .....	40

### **CHAPITRE 3 : HUILE DE FRUITS DE *PISTACIA LENTISCUS L* :**

3.1. Définition .....	41
3.2. Etat naturel et localisation.....	41
3.3. Mode de préparation .....	41
3.4. Composition chimique.....	42
3.4.1. Acides Gras .....	42
3.4.2. Triglycérides.....	46
3.5. Composition en insaponifiables de l'huile de Pistacia Lentiscus.....	46
3.5.1. Tocophérols .....	46
3.5.2. Phytostérols .....	47
3.5.3. Composés phénoliques.....	48
3.6. Composition en éléments minéraux des fruits .....	49

### **CHAPITRE 4 : LES HUILES ESSENTIELLES**

4.1. Définition .....	52
4.2. Localisation dans le végétal .....	53
4.3. Les sites des essences chez les plantes aromatiques.....	53
4.4. Rôle dans la plante.....	54
4.5. Facteurs intervenant au cours de l'élaboration chez le végétal et de la production d'une huile essentielle .....	54
4.5.1. La récolte de matériel végétal.....	54
4.5. 2. Transformation du matériel végétal.....	55
4.5.3. Origine géographique da la plante .....	55
4.5.4. Traumatismes provoqués par des agents oxygènes .....	55
4.5.5. Culture de la plante.....	55
4.5.6. Chémotype.....	55
4.5.6. Conservation.....	56
4.6. Procédé d'obtention .....	56
4.6.1. Distillation par entraînement à la vapeur d'eau à basse pression.....	57
4.6.2. Extraction par expression à froid.....	58
4.6.3. Distillation à haute pression et haute température.....	58
4.6.4. Distillation à la vapeur d'eau avec entraînement par les huiles essentielles.....	58
4.6.5. Entraînement avec les solvants.....	58
4.6.6. Extraction par enfleurage .....	58
4.6.7. Extraction au CO <sub>2</sub> .....	59
4.7. Caractérisation et dosage .....	59

4.8. Contrôle analytique des huiles essentielles .....	59
4.8.1. Caractéristiques chromatographiques et spectrométriques .....	59
4.8.1.1. Chromatographie en phase gazeuse (CPG) .....	59
4.8.1.2. Chromatographie sur couche mince (CCM) .....	59
4.9. Caractéristiques chimiques des huiles essentielles .....	60
4.10. Composition chimique .....	60
4.10.1. Composition chimique de l'huile essentielle .....	60
4.10.1.1. Composés terpéniques .....	60
4.10.1.2. Composés aromatiques dérivés du phényle propane .....	62
4.10.1.3. Composés divers .....	63
4.10.2. Composition chimique Huiles essentielles des feuilles de <i>Pistacia Lentiscus L</i> .....	63
4.11. Propriétés physique .....	65
4.12. Propriétés physiologiques .....	67
4.13. Emplois de l'huile essentielle de <i>Pistacia Lentiscus L</i> .....	67
4.13.1. En pharmacie .....	67
4.13.2. Dans l'industrie .....	68
4.14. Toxicité .....	68

## **PARTIE 2 : ETUDE EXPERIMENTALE DE L'HUILE VEGETALE**

### **MATERIEL ET METHODES**

1 Préparation de l'échantillon végétal .....	71
1.1. Séchage .....	71
1.2. Broyage .....	71
2. Analyse physico-chimique de la pellicule .....	71
2.1. Détermination du pourcentage d'humidité par la méthode physique d'étuvage .....	71
2.2. Estimation du taux de cendres .....	71
3. Détermination de la teneur en éléments métalliques .....	72
4. Analyse des éléments métalliques .....	72
4.1. Appareillage .....	72
4.2. Produit et réactifs .....	73
4.3. Minéralisation de l'échantillon par voie sèche .....	74
4.4. Dosage du Zn, Mg, Fe, Cu par SAA-F .....	74
4.4.1. Réactifs .....	74
4.4.2. Appareillage Réactifs .....	74
4.4.3. Solutions étalons .....	75
4.5. Minéralisation par voie humide .....	75
5. Mise au point d'une méthode d'extraction de l'huile extraite de la pellicule (travail personnel au laboratoire) .....	75
5.1. Extracteur de Soxhlet .....	76
5.2. Protocole expérimental .....	78
6. Détermination des indices caractéristiques de l'huile de <i>Pistacia Lentiscus L</i> .....	78
6.1. Indice d'iode .....	78
6.2. Indice de Saponification .....	79

6.3. Indice d 'Acide .....	79
6 .4. Indice de Peroxyde .....	79
6 .5. Indice de Réfraction.....	80
7. Détermination de la Couleur Lovibond .....	80
8. Extinction spécifique UV.....	80
9. Préparation des esters méthyliques des acides gras.....	81
10Analyse par chromatographie à phase gazeusephase. gazeuseCPG/SM .....	83
11.Evaluation de la Teneur en.....	83
12.Densité .....	84
13. Détermination du Point de Goutte.....	84
14.Evaluation de la teneur en protéines de la pellicule méthode de KHEDJAL .....	84
14.1. Principe et Mode opératoire .....	84
15.Indiced' Ester .....	85
16.Pourcentage d'Impureté.....	85
17.Insaponifiable (méthode à l 'hexane) .....	85
17.1. Mode opératoire .....	86

## **PARTIE 2 : ETUDE EXPERIMENTALE DE L'HUILE ESSENTIELLE**

1. L'extraction de l'huile essentielle .....	87
1.1. Préparation des échantillons .....	87
1.2. Mode opératoire .....	88
2. Caractérisation physico-chimique de l'huile essentielle .....	88
2.1 Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse.....	88
2.1.1. Chromatographie en phase gazeuse.....	88
2.1.2. Spectrométrie de masse.....	89
2.1.3. Avantage de couplage CPG-SM .....	89
2.1.4. Protocole opératoire CPG-SM .....	89
2.1.5. L'injection de l'échantillon dans l'appareil .....	89
2.1.6. Conditions opératoires .....	90
<b>Résultats et Discussion .....</b>	<b>91</b>
<b>Conclusion .....</b>	<b>104</b>
<b>Références Bibliographiques.....</b>	<b>106</b>
<b>Annexes .....</b>	<b>117</b>

# Introduction Générale

## **Introduction générale**

Le manque de médicaments essentiels, et leurs couts élevés, l'insuffisance des soins de santé, et les habitudes socioculturelles des populations expliquent le recours aux pratiques traditionnelles à bases des plantes médicinales.

L'art de guérir est connu et pratiqué depuis bien longtemps, car il exploite des savoirs transmis oralement de génération en génération à certaines catégories d'individus initiés que sont les tradipraticiens de santé et d'herboristes. Aujourd'hui encore, la phytothérapie demeure le recours principal dans de nombreux pays en voie de développement.

Une plante médicinale est une plante utilisée pour ses propriétés thérapeutiques. Cela signifie qu'une de ses parties (feuille, bulbe, racine, graines, fruits, fleurs) peut être employée dans le but de guérir. Leur utilisation remonte à des milliers d'années, où l'homme utilisait les plantes pour se soigner (Catier et al , 2007).

C'est vers la fin du 7 siècle est l'émergence de la chimie analytique , le choix des plantes se faisait instinctivement, ce qui a permis de déceler petit à petit celles qui pouvaient être utilisées, et celles qui s'avéraient toxiques. Aujourd'hui, elles sont à la base de la phytothérapie et de l'homéopathie (Gilles, 1976 et al 2001).

Il existerait plusieurs centaines de milliers d'espèces différentes, que l'on peut cueillir ou récolter. On distingue les plantes herboristes qui sont utilisées telles quelles, de manière « traditionnelle », et les plantes qui constituent une matière première pour l'industrie pharmaceutique.

Enfin, il faut savoir que la matière principale de la pharmacopée est restée végétale. Certaines plantes sont des indicateurs biologiques. En effet, selon leur lieu de pousse, elles acquièrent une morphologie particulière et une composition chimique spécifique, ce qui explique la diversité de leur réservoir. Ainsi, chaque plante est composée de milliers de substances actives, présentes en quantité variable.

La flore algérienne est caractérisée par sa diversité florale: Méditerranéenne, Saharienne et une flore paléo tropicale, estimée à plus de 3000 espèces appartenant à plusieurs familles botanique (Ozenda, 1977).

## Introduction générale

---

Ces espèces sont pour la plupart spontanées avec un nombre non négligeable (15%) d'espèces endémiques (Ozenda, 1977). Ce qui a donnée à la pharmacopée traditionnelle une richesse inestimable.

L'espèce de *Pistacia Lentiscus L* appartient à la famille des *Anacardiaceae* composée de plus de onze espèces (Trabelsi et al.,2012) est largement distribué dans les écosystèmes du bassin méditerranéen (Zohary, 1952).

En Algérie le *Pistacia Lentiscus L* se trouve souvent dispersé à travers l'ensemble du littoral et se développe également dans la zone semi- aride. (Charef et al.,2008)

Les fruits et les feuilles sont utilisés dans le traitement de l'eczéma, la paralysie, la diarrhée, infection de la gorge, des calculs rénaux, la jaunisse, l'asthme et les maux d'estomac, et comme astringent, anti-inflammatoire, antipyrétique, antibactérien, antiviral, pectorales et stimulant.

Plusieurs travaux de recherche ont montré la richesse du *Pistacia Lentiscus L* en molécules bioactives.

Dans la littérature divers travaux ont étudié, l'extraction de l'huile de *Pistacia Lentiscus L* issue du fruit entier et mur et ses feuilles aussi mais aucun travail n a été réalisé sur la pellicule et les feuilles a l'état précoce.

L'objectif général de ce travail est d'étudier ; 'analyse physico-chimique de la pellicule et son profil en acide gras et définir les paramètres analytiques par SEA-ICP, SAA-F et CPG/MS. En deuxième temps on a définit la composition chimique de l'huile essentielle des feuilles du *Pistacia Lentiscus L* par la CPG/SM.

Et en vue de rendre compte de la démarche scientifique ; ce manuscrit se subdivise en deux grandes parties :

La première partie regroupe quatre chapitres auquel on a fait un tour d'horizon sur la bibliographie qui sera présentée sur la plante de *Pistacia Lentiscus L*, les éléments minéraux , les huiles végétales , les acides gras et son huile essentielle .

## **Introduction générale**

---

La deuxième partie du manuscrit présentera le matériel et les méthodes utilisées à savoir caractérisation de la pellicule, des acides gras et l'extraction des huiles essentielles.

Les résultats obtenus suivis de la discussion puis la conclusion et les perspectives.

# **PARTIE 1**

## **ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE**

## 1.GENERALITES SUR LE *PISTACIA LENTISCUS L* :

### 1.1.Historique :

Le lentisque vient principalement de l'île de Chios en Grèce. La légende dit que ces arbres se sont mis à pleurer à la vue du martyr infligé à Isidore, saint patron de l'île, torturé par les Romains pour sa foi chrétienne.

Depuis l'antiquité, on utilise le mastic du lentisque, Hippocrate en avait déjà découvert les vertus thérapeutiques. Pline a laissé de nombreux écrits sur l'utilisation de cet arbuste.

A l'époque de l'empire romain, l'empereur Nigavalose aromatisait son vin avec de l'essence de mastic et l'appelait " Vin de mastic ". Les romains utilisaient le bois du lentisque comme blanchisseur pour les dents. Habitude qui a perduré jusqu'au Moyen-âge.

Le commerce de cette résine est si important qu'une fondation a été créée en 1938 à Chios pour protéger les producteurs du mastic de Chios. Cette fondation a pour nom " L'union de producteurs de mastic de Chios " créée par le Dr Georgios Stagkoulis.

Dans l'Égypte ancienne, on se servait de l'essence de mastic lors des momifications et elle servait de gomme à mâcher pour purifier l'haleine et les gencives.

En Afrique du nord, les femmes l'utilisent comme tonique en cas de fatigue.

On note aussi que, dans la région de la méditerranée, l'utilisation de *Pistacia Lentiscus L* comme un agent antibactérien a été annoncée par plusieurs groupes de recherche. Il a été aussi trouvé comme un agent antiulcéreux puissant (Janakat S. et al2002)(Al-dit Met al1986) .

Ainsi que, les feuilles sont largement utilisées dans la médecine populaire pour le traitement d'eczéma, la diarrhée et les infections de gorge. Les parties aériennes ont aussi une action hypotensive et l'huile essentielle est largement utilisée dans la parfumerie, industries alimentaires et pharmaceutiques.

## 1.1. Etude botanique

## 1.2.1. Taxonomie :

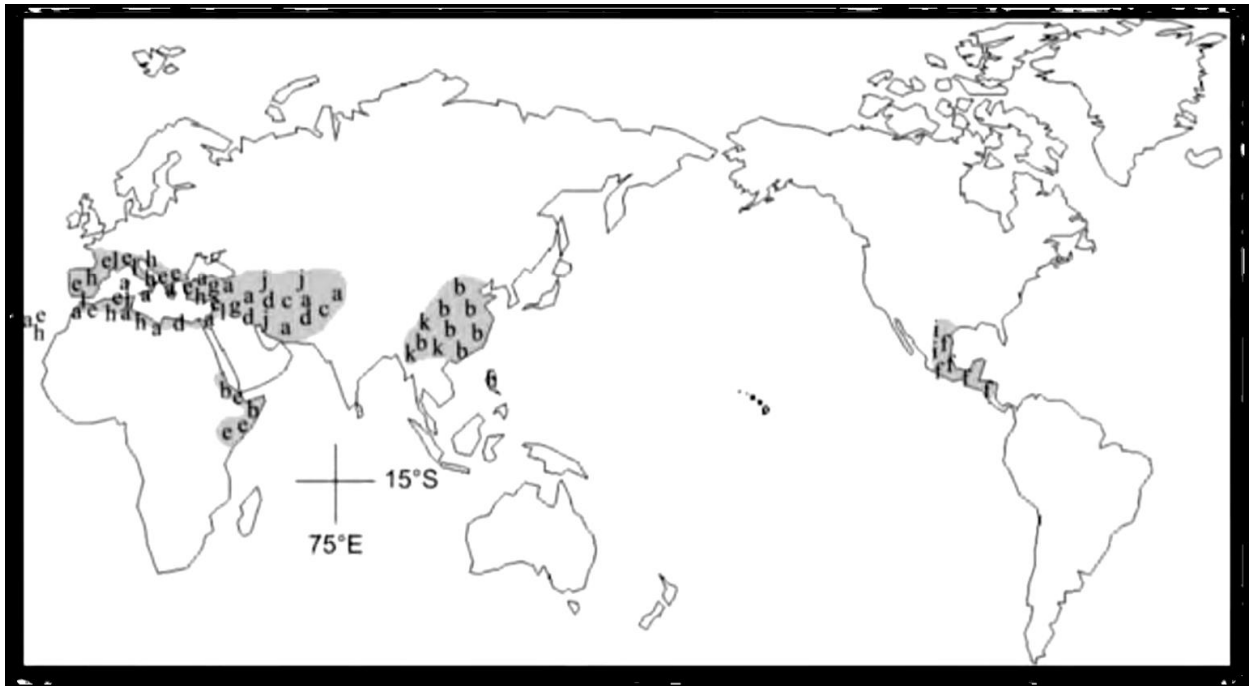
Très réparti sur le bassin méditerranéen, on retrouve *Pistacia Lentiscus L* à l'état sauvage dans la garrigue et sur le sol en friche, c'est une plante de la famille *Anacardiaceae* (Iserin, 2007)

**Tableau 1** : Classification Taxonomique du *Pistacia Lentiscus L* . (Ansari, S.H et al., 2012)

<b>Règne</b>	<b>Végétal</b>
<b>Embranchement</b>	Spermaphytes
<b>Sous embranchement</b>	Angiospermes
<b>Classe</b>	Dicotylédones
<b>Ordre</b>	Sapindales
<b>Famille</b>	<i>Anacardiaceae</i>
<b>Genre</b>	<i>Pistacia</i>
<b>Nom latin</b>	<i>Pistacia lentiscus</i>
<b>Nom vernaculaire</b>	<i>Derou</i>

La composition de cette famille en genres et espèces diffère selon les auteurs. Les travaux de Watson et Dallwitz, ont prouvé que cette famille compte 600 espèces et renferme 70 genres principalement tropicales, subtropicale et qui s'entendent aux zones tempérées selon (Roger C 1984).

La distribution des 11 espèces de *Pistacia* est illustrée dans la figure ci-dessous:



**Figure1:** Distribution des 11 espèces de *Pistacia*

### 1.2. 2 .La provenance du genre *Pistacia Lentiscus L*

Ces espèces ont des provenances différentes *P atlantica* et *P vera* ( Iran ) , *P chinensis* de l'Australie , *P lentiscus* ( France ) et *teribenthus* ( Turquie ). En Algérie, le genre *Pistacia* est représenté par quatre espèces, en l'occurrence *Pistacia LentiscusL*, *Pistacia terebinthus*, *Pistacia vera*, et *Pistacia atlantica* (Pardé 1934).

**Tableau 2 :** Différenciation des 5 espèces de *Pistacia*  
(Hayat A 1997 et Gausson et al 1982 )

Espèces	Hauteur des arbustes	Forme des fruits	couleurs des fruits
<i>Pistacia terebenthus</i>	10 à 14m	Caducue pétrolées	Rouge puis brun
<i>Pistacia lentiscus</i>	3 à 6 m	Persistantes par-pennées	Rouge puis noir
<i>Pistacia Atlanta</i>	10 à 20 m	Caducues impair- pennées	Bleuâtre à maturité
<i>Pistacia chinensis</i>	10 à 20 m	Pennées	Rouge
<i>Pistaciavera</i>	6 à 10 m	Caducue 1,2 ou dioles	Rougeâtre

### 1.3 Aspect botanique du *Pistacia Lentiscus L*

Se sont les feuilles, les fleurs, les fruits et les graines qui distinguent les différents genre des *anacardiaceés*.

C'est un arbrisseau de 1 à 3 mètres de hauteur, est courant en sites arides de la région méditerranéenne (de l'Asie, l'Europe, l'Afrique, jusqu'aux Canaries) .

(Belakhdar, 2003), voir figure 2.

#### 1.3.1. Les feuilles

Sont persistantes, paripennées, avec 4 à 10 folioles elliptiques, coriaces et luisantes et le pétiole est nettement ailé. On trouve des pieds mâles et femelles distincts (espèce dioïque) qui fleurissent en grappes denses en mois de Mai (Hans,2007) voir (figure 2b).

#### 1.3.2. Les fleurs

Brunâtres, constituent des denses grappes spiciformes. Elles sont à l'origine de petites drupes rouges, puis noires à maturité (figure 2a).

#### 1.3 .3.Morphologie floral

Le lentisque est dioïque, les fleurs mâles et femelles poussent sur des arbustes différents. Elles forment des racèmes de petite taille à l'aisselle des feuilles. Les fleurs sont apétales.

- ✓ Les mâles ont cinq petits sépales dont émergent cinq étamines rougeâtres reposant sur un disque nectarifère.
- ✓ Les femelles, à trois ou quatre sépales, ont un ovaire supère (au-dessus des autres pièces florales) avec un style court à trois stigmates. La floraison a lieu de mars à mai-juin. (Figure3)

**I.4. Le fruit** : Est une baie globuleuse (de 2 à 3 mm), monosperme, remplie par nucléole de la même forme; d'abord rouge, il devient brunâtre à sa maturité, qui est complète à l'automne.

**1.3 .5.La résine** : La production de résine jaune clair (entre 4 à 5 kg par arbre) appelée 'le mastic' qui est un suc résineux obtenue en été par incision du tronc de ce végétal. La distillation de cette résine permet l'extraction d'une essence utilisée en parfumerie (Belfadel, 2009).(figure2d)

#### 1.4.Composition du fruit du *Pistacia Lentiscus L*

##### **Le péricarpe**

Est la paroi du fruit issue de la transformation après la fécondation de la paroi de l'ovaire. Il est formé de trois couches : l'épicarpe, ou exocarpe généralement coloré, usuellement nommé la peau ou écorce ; est en botanique la paroi extérieure d'un fruit. Il recouvre la couche appelée mésocarpe .

##### **Le mésocarpe**

Constitue la partie intermédiaire du fruit communément appelée pulpe et qui donne la partie juteuse des fruits charnus .

##### **.L'endocarpe**

L'endocarpe, parfois lignifié et appelé noyau. Il dérive de la transformation du parenchyme de la paroi de l'ovaire. Dans le cas particulier des agrumes, la partie externe du mésocarpe, blanche et spongieuse, se nomme albédo. Est le feuillet le plus

interne du péricarpe, tissu du fruit entourant la graine. Il permet des fruits charnus. S'il est clarifié, il forme un noyau autour de la graine (le fruit sera une drupe), s'il ne l'est pas, la graine sera nommée pépin (le fruit sera une baie)..notamment pour différencier une baie d'une drupe parmi les fruits charnus...(David Dilcherjuin 2000).



**Figure 2 :** *Pistacia Lentiscus L* : a. fleurs, b. feuilles, c. fruit, d. résineux mastic gum



**Figure 3** : Fleurs femelles verdâtres, calice à 3 lobes, style très court à 3 stigmates arqués en dehors

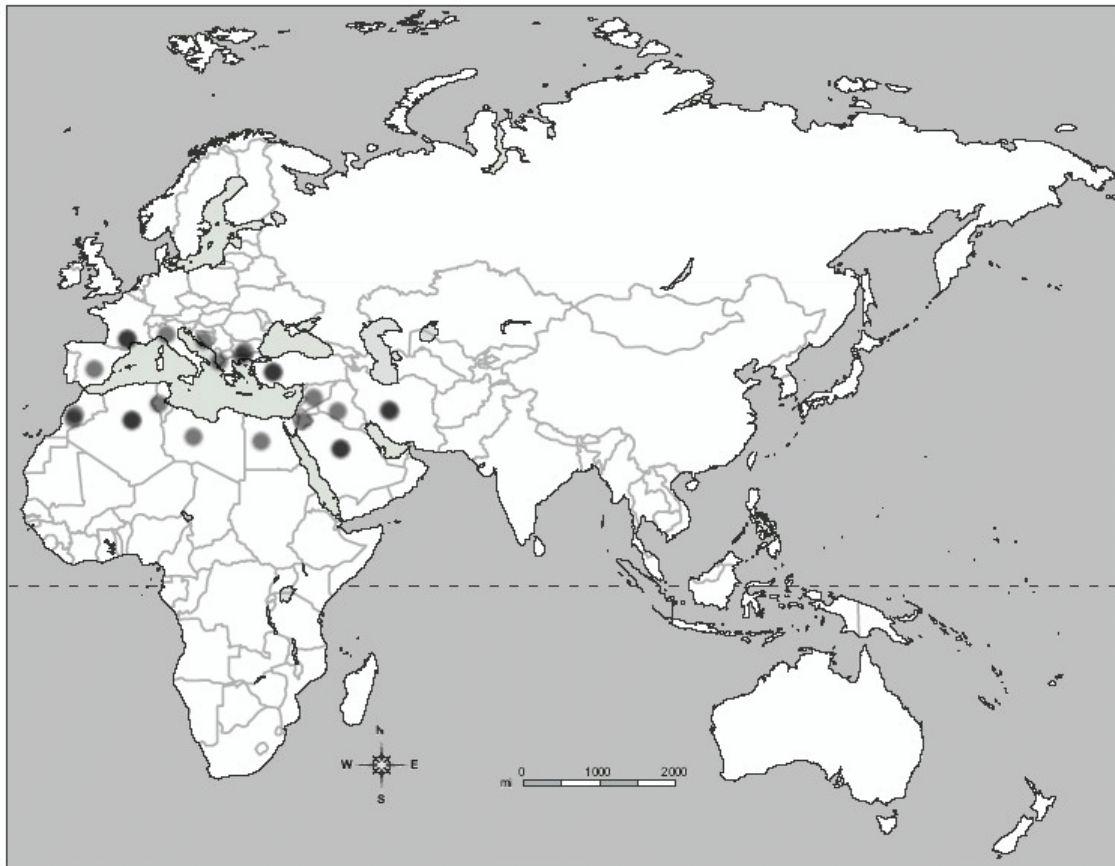
## I. Répartition géographique du pistachier *Lentiscus L*

### 1.5.1. Répartition dans le monde

Dans le monde *Pistacia Lentiscus L.* occupe une distribution circumméditerranéenne (Zohary, 1952) et généralement considérée comme une espèce thermophile (Lopez-Gonzalez, 2001). C'est un arbuste que l'on trouve dans les sites arides de l'Asie et dans la région méditerranéenne de l'Europe et d'Afrique, jusqu'aux Canaries (Bellakhdar, 2003)

### 15.2. Répartition En Algérie

En Algérie, le lentisque est largement distribué dans le Tell, participant ainsi à la strate arbustive de ces formations forestières dans le bassin de la Soummam et les zones semi-arides (Belhadj, 2007). Il se retrouve sur tout type de sol dans l'Algérie subhumide et semi-aride (Smail-Sadoun, 2002). Sa limite méridionale se situe aux environs de Saida, sa présence au sud de l'Atlas saharien n'est pas signalée (Ait Said, 2011)



**Figure4 :** Distribution de *Pistacia terebinthus* dans le bassin méditerranéen (AL-Saghir, 2006)

### 1.6. Nomenclature

Cet arbre possède plusieurs noms qui diffèrent d'une société à une autre. Parmi ces noms on trouve le *térébinthe* oriental, le *térébinthe* de mastic, *Addarou*, *Elgathoum*. En amazigh on donne à cet arbre plusieurs noms: *Tadist*, *Imtek*, *Meski* et *Itk*. D'autres populations donnent le nom d'*Addarou* aux fruits verts et le nom de *khamkham* aux feuilles du lentisque (Battendier.J.A., 1910). Tandis que les habitants des zones rurales aux environs de la région d'El Kala et ceux de la Tunisie donnent au fruit de lentisque le nom *Gathoum*(Battendier 1970). Dans les pays du Cham et de la Turquie le fruit du lentisque de couleur rose clair est appelé *pistache*. Le *lentisque* yéménite est nommé *Elkhamkham*(Al Razzi, 1955). En Grèce et en Egypte on lui donne le nom du *mastic*.

### 1.7. Effet thérapeutiques du *Pistacia Lentiscus L*

*Pistacia Lentiscus L* est connue pour ses propriétés médicinales depuis l'antiquité (Palevitchand Yaniv, 2000). Le Pistachier lentisque Lest utilisé de façon empirique dans les campagnes de façon traditionnelle car aucune étude scientifique n a été prouvée concernant ses vertus .

#### 1.7 .1.Les feuilles

Brûlées puis broyées sont utilisées pour le traitement de la conjonctivite (utilisé en khôl) et comme du talc chez les bébés pour les protéger contre l'érythème fessier. Elles sont conseillées comme un traitement pour l'eczéma, la diarrhée, les infections de gorge et comme un agent antiulcéreux puissant(Bouchahdene. S et al 1998). (Abdelwahed Aet al .2007). Les décoctions des feuilles de *Pistacia Lentiscus L* possèdent une activité hépato protective.

#### 1.7.2.Les tanins

Ils sont d'une action astringente.la partie aérienne de *Pistacia Lentiscus L* a été utilisée d'une manière traditionnelle dans le traitement d'hypertension ; elle possède des propriétés diurétiques (Chryssavgi G. et al 2008) .

#### 1 .7.3. L'Huile extraite de la pulpe

Elle est utilisée pour le traitement des brûlures, le rhumatisme et la toux (Bouchahdene S., et al 1998.)

#### 1 .7.4. L'huile essentielle de *Pistacia Lentiscus L*

possède plusieurs propriétés pharmacologiques :

- ✓ Décongestionnante circulatoire, prostatique et lymphatique.
- ✓ Action de vasodilatation.\*Régulatrice du système nerveux autonome. (Benhamou N 2008)
- ✓ Syndrome des jambes lourdes, varices, hémorroïdes externes et internes, résorption des œdèmes, stases veineuses et escarres.

- ✓ Le lentisque a une action directe sur les glandes digestives, antispasmodique.
- ✓ Régule les sécrétions vaginales, décongestionnants prostatique, stimule les glandes sudoripares.
- ✓ Action expectorante, sinusite , forte décongestionnante. Elle régule les sécrétions pour l'emphysème, elle réactive la circulation autour des alvéoles.
- ✓ En dentisterie : Caries, gingivites, pyorrhées.(Predrag L. et al., 2005).

### **1 .7.5.La résine**

Est analgésique, antitussive, carminative, diurétique, expectorante, stimulante et anti diarrhéique chez les enfants, et par voie externe, elle est appliquée contre la teigne et la raideur musculaire .Son efficacité contre la bactérie *Helicobacterpylori* a été récemment confirmée par plusieurs études scientifiques (Huwez f.u et al 1998).

## **1 .8.Activités biologiques et pharmacologiques**

### **1 .8.1.Activités antimicrobiennes**

L'activité antimicrobienne de l'extrait éthanolique de *Pistacia Lentiscus L.* a été établie vis-à-vis des souches de *staphylococcus aureus* et *salmonella typhi* à 5 µl a un effet très important à 10 µl.

L'activité antifongique de l'extrait Ethalonique de *Pistacia Lentiscus* (E E P L) (1ml) montre une inhibition d'activités des souches de *trichodermsp* et *fusariumsp* (8.25% à 28.81 %). (Benhamou N 2008)

L'huile essentielle de la résine s'est révélée très active contre les micro-organismes et les champignons, alors que l'huile à partir des feuilles possède une légère activité contre les bactéries et elle est inactive contre les champignons (Abdelwahed A., et al .2007).

### **1 .8.2.Activité antioxydante**

Un certain nombre d'extrait et de constituants de *Pistacia Lentiscus L.* ont une activité antioxydante.

La présence d'acides phénoliques et des flavonoïdes contribue à une activité antioxydante de l'extrait méthanolique, qui inhibe la production d'anion super oxyde produit dans le système. Xanthine / Xanthine oxydase, ils inhibent aussi complètement la peroxydation des lipides mitochondriales et microsomaux ou la chélation des ions métalliques.

L' $\alpha$ -tocophérol (vitamine E) présent dans les feuilles de *Pistacia Lentiscus L.* est largement utilisé comme un antioxydant naturel (Benhamou N et al 2008) ( Predrag L. et al., 2005).

### **1.8.3. Activités anti-hépatotoxique**

Un extrait aqueux de *Pistacia Lentiscus L.* a montré une activité anti-hépatotoxique contre le CCl<sub>4</sub> en réduisant l'activité des deux enzymes ( A L T, A S T) et le taux de bilirubine, selon les expériences faites sur les extraits de *Pistacia Lentiscus L* qui ont été administrés oralement à des rats intoxiqués à une dose de 4 ml/Kg de poids corporel (Janakat S. et al -2002).

#### **❖ Autres activités**

La présence des anthocyanines dans les baies de *Pistacia Lentiscus Lest* à l'origine de leurs propriétés antioxydante, anticancéreuse, anti-inflammatoires et vasoprotective.

Les extraits des tiges de *Pistacia Lentiscus L* contiennent l'acide mastica diénonique, qui joue un rôle dans l'inhibition de l'ADN polymérase bêta et par conséquent, utilisés dans le traitement des cancers, tumeurs et des maladies neurodégénératives.

## **1.9. Composition chimique du *Pistacia Lentiscus L***

### **1.9.1. Huile végétales (fixes)**

Les fruits matures de *P. Lentiscus* produisent une huile végétale caractérisée par sa richesse en acides gras monoinsaturés Ces derniers présentent 53% des acides gras totaux. Le principal acide gras est l'acide oléique suivie de l'acide palmitique (23,2%) et l'acide linoléique (21,75%) (Trabelsi et al., 2012). Donc cette huile constitue un apport en acides gras essentiels. Elle contient 5.6 % d'insaponifiable. (Eugène U., 1995).

### **1.9.2. Huiles essentielles**

La composition chimique de l'huile essentielle de *Pistacia Lentiscus L* révèle la présence de plusieurs composés principaux :

Un haut pourcentage d'hydrocarbures de monoterpène (45 – 68.3%), suivie par des monoterpènes oxygénés (13.3 – 23.1 %) et des hydrocarbures sesquiterpènes (9.2 – 28.1 %). (Boelens M.H. et al 1991).

**Constituants divers**

-Les anthocyanines : Sont un groupe de composés de flavonoïdes qui sont responsables de la couleur des baies de *Pistacia Lentiscus L*. (Longo L2007).

-Les  $\alpha$ -tocophérols (la vitamine E) : se trouve naturellement dans les feuilles de *Pistacia Lentiscus L* (0.004334%). (Akay S et al 2007).

-La Résine ,Les Tanins , Les feuilles de *Pistacia Lentiscus L*. contiennent jusqu'à 19% de tanins(Grieve A., 1931).

**1.10.Utilisation du *Pistacia Lentiscus L* dans le domaine socio-économique**

Son bois, à aubier jaunâtre, à cœur rosé, lourd, dur, se polissant bien est propre à la menuiserie et à l'ébénisterie. C'est aussi un excellent combustible .

Les feuilles servent quelque fois à préparer une matière tannante, en plus elles sont utilisées comme détergent (usage traditionnel).(Pardé L., 1934).

La résine connue sous le nom de mastic de Chio est parfois exploitée pour la fabrication des vernis de haute qualité, comme fixative dans les parfums, dans la colle (en particulier pour les fausses barbes), pour sceller les bords de montures et de microscope et pour la fabrication de fils chirurgicaux résorbables. En Grèce, on utilise l'essence de mastic pour faire une liqueur appelée « Mastika » pour parfumer les gâteaux, les confitures, les confiseries, les gommes à mâcher, et les pastilles. (Huwez f.u et al 1998).

L'huile végétale est utilisée pour l'éclairage, la fabrication de savon et pour l'alimentation. (Grieve A., 1931).

# CHAPITRE 2

## GENERALITES SUR HUILES VEGETALES

## 2. les huiles végétales

Les huiles végétales sont des corps gras, largement répandus dans l'environnement, considérés comme des produits complexes dont les différents constituants jouent de façon directe ou indirecte, immédiate ou retardée, un rôle énergétique, structural et fonctionnel.

Par définition, les lipides sont des composés d'origine animale ou végétale constitués essentiellement de triglycérides, d'esters, d'acides gras et de glycérol.

Un corps gras est une molécule soit complètement apolaire (lipide neutre) soit bipolaire ou molécule amphiphile avec une tête polaire liée à une chaîne fortement apolaire.

Les graisses et les huiles, qui ne se distinguent que par leur point de fusion, constituent les matières grasses ou corps gras, les lipides sont caractérisées par une propriété chimique qui est la solubilité.

Ces composés ont une solubilité nulle ou faible dans l'eau mais élevée dans les solvants organiques de type apolaire (chloroforme, cyclohexane, éther éthylique...). Ils sont présents dans la plupart des organismes animaux marins ou terrestres et les végétaux en contiennent une grande variété dans leurs graines, feuilles, fleurs et fruits.

### 2.1. Définition

Une huile végétale est un mélange à consistance liquide ou semi-liquide à température ambiante, de substances majoritairement hydrophobes, solubles dans les solvants organiques apolaires ou peu polaires, non volatiles.

Elle est essentiellement constituée de triglycérides, c'est-à-dire des esters de glycérine (ou glycérol) et d'acides gras qui se différencient par la nature et le pourcentage relatif d'acides gras.

### 2.2. Généralités sur les corps gras

Les corps gras, qui correspondent à la partie « graisses neutres » de la fraction lipidique totale sous forme de microgouttelettes dans certains tissus animaux et végétaux, ont surtout un rôle nutritionnel sur les plans énergétique et métabolique. La partie grasse des aliments est

également appelée lipides (du grec lipos, « gras »). Les corps gras alimentaires comprennent les huiles et les graisses d'origine végétale ou animale, les beurres et les margarines (J. GORNAY, 2006).

### 2.3.Composition d'un corps gras

Les corps gras alimentaires comprennent les huiles et les graisses d'origine végétales ou animales. Un corps gras brut, à l'état naturel, est constitué essentiellement de lipides environ 99%, de phosphatides et des insaponifiables. Les lipides sont des dérivés naturels, qui résultent de l'estérification d'acide gras avec un alcool ou une amine ( Graille, 2003).

### 2.4.Principaux constituants d'un corps gras

On distingue couramment les *lipides simples* – composés uniquement de carbone, d'hydrogène et d'oxygène – et les *lipides complexes*, qui renferment en outre de l'azote, du phosphore ou du soufre dans leurs molécules.

#### 2.4.1.Les lipides simples

##### 2.4.1.1.Les glycérides

Les glycérides sont des esters d'acides gras et de glycérol, ils sont très hydrophobes insolubles dans l'eau. L'estérification des trois groupements hydroxyyles du glycérol avec les acides gras forme des triglycérides. On trouve également les di-glycérides, et les mono-glycérides.

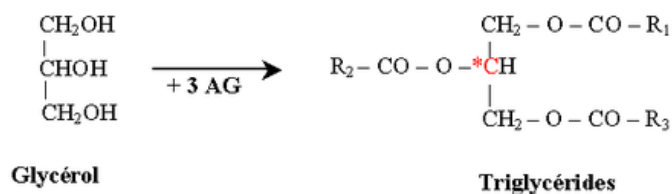


Figure 5 : Structures des glycérides.

**2.4.1.2. Acides gras**

Les acides gras sont des acides carboxyliques à chaîne aliphatique hydrophobe saturée ou insaturée. Ce sont les composants majoritaires des glycérides sur le plan pondéral, les acides gras connus sont extrêmement nombreux, en particulier dans le règne végétal

**2.4.1.3. Les cérides**

Ce sont les esters acides gras et de monoalcools à poids moléculaire élevé et qui existent dans les huiles comme celle de tournesol, elles précipitent après refroidissement des huiles. (Medjeldi S., 1994).

**2.4.1.4. Les stérides**

Ce sont les esters de phytostérols et d'acides gras.

**2.4.2. les lipides complexes**

Les lipides complexes renferment dans leurs structures, d'autres que les acides gras et les alcools des composés tel que : acide phosphorique, composés azotés et oses.

Les principaux lipides complexes sont les phospholipides: qui sont divisés en deux grandes classes : Les glycérophospholipides et les sphingolipides.

**2.4.3. Les insaponifiables**

Les insaponifiables représentent généralement une teneur de 1 % des corps gras. Ils sont constitués de composés qui après hydrolyse basique, sont très peu solubles dans l'eau mais solubles dans des solvants traditionnels des corps gras.

Nous distinguons :

**2.4.3.1. Les hydrocarbures**

Saturés tel que l'ecosane  $C_{20}H_{42}$  et insaturés tel que le squalène (64- Wolff J R., 1981).

### 2.4.3.2. Les tocophérols (Vitamine E)

Il existe quatre isomères de tocophérols dérivant d'une même molécule de base, ce sont l'alpha, beta, gamma de tocophérols dont l'alpha tocophérol (vitamine E) est le plus actif. Ils n'existent que dans les huiles végétales, ce sont des substances stables à la chaleur, sensibles à l'oxygène, aux oxydants et au ultra-violet (figure 4).

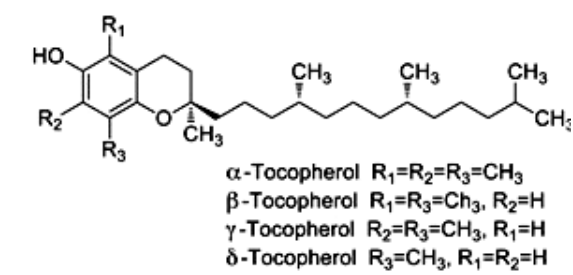


FIGURE 6 : STRUCTURE DES TOCOPHEROLS

### 2.4.4. Les pigments colorés

Les principaux pigments naturels appartiennent à trois grandes catégories :

- Pigments porphyriniques, parmi lesquels les chlorophylles.
- Les caroténoïdes, parmi lesquels le  $\beta$ -carotène.
- Les flavonoïdes et leurs dérivés.

Les carotènes et les chlorophylles qui sont respectivement responsables de la couleur jaune/rouge ou verte des huiles brutes, leur concentration dans les huiles est de l'ordre 0,04% .

#### 2.4.4.1. Caroténoïdes

Les caroténoïdes sont des pigments naturels, largement répandus dans la nature. Ils sont à l'origine de teintes brillante, jaune, orange et rouge. Ce sont des tétra-terpènes provenant de l'évolution du lycopersène, ils comprennent les carotènes et les xanthophylles (Odile Morin, 2012).

#### 2.4.4.2. Carotène :

Le carotène est un terpène, pigment de couleur orange, important pour la photosynthèse. Le carotène est le dimère de la vitamine A et se présente sous deux formes :  $\alpha$  et  $\beta$ -carotène.

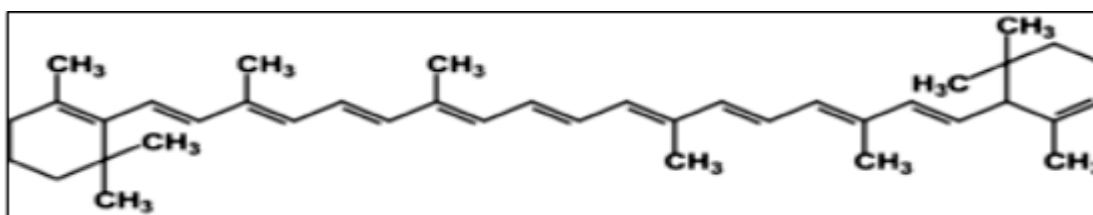


Figure 7: Structure schématisée du  $\alpha$  carotène.

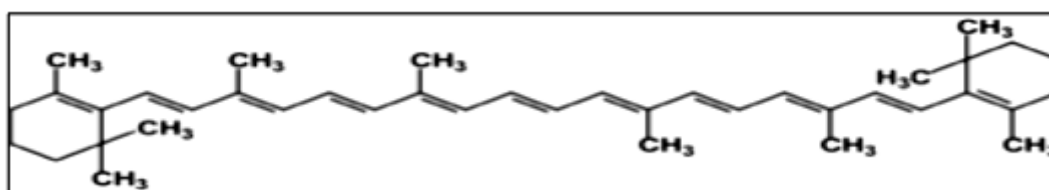


Figure 8 : Structure schématisée du  $\beta$  carotène

#### 2.4.4.3. Chlorophylles

Les chlorophylles font partie d'un groupe de pigments tétra-pyrroliques avec des fonctions et des éléments structuraux communs. Elles sont caractérisées par un *iso*-cycle à cinq membres et par la présence d'un atome de magnésium complexé à leur centre. Les plus répandues et également les plus étudiées sont les chlorophylles "a" et "b" (figure 7). La formule de la chlorophylle "a" est  $C_{55}H_{72}N_4Mg$  et celle de la chlorophylle "b" est  $C_{55}H_{70}O_6N_4Mg$ , le maximum d'absorption des chlorophylles a et b se situe respectivement à 660 nm et 643 nm (Odile MORIN, 2012).

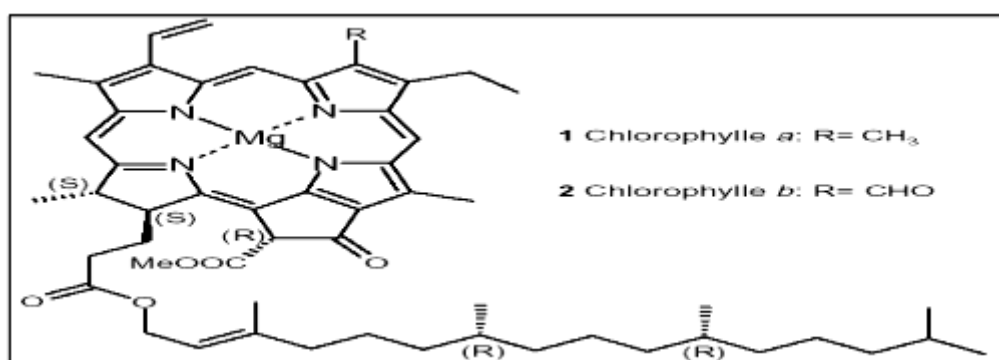


Figure 9: Structure de la chlorophylle "a" et de la chlorophylle "b"

2 .4.4.4 Les produits odorants

Sont des corps volatils d'odeur agréable comme le diacétyl responsable de l'arome de l'huile d'olive et les huiles essentielles responsables de l'odeur de l'huile de lentisque , ou désagréable comme les isothiocyanates responsables de l'odeur caractéristique de l'huile de colza (Medjeldi S., 1994).

2 .4.5. Les traces métalliques

Sont pour la plupart des huiles des constituants naturels tel que : le calcium, le magnésium, le fer, le cuivre et le zinc (Medjeldi S, 1994).

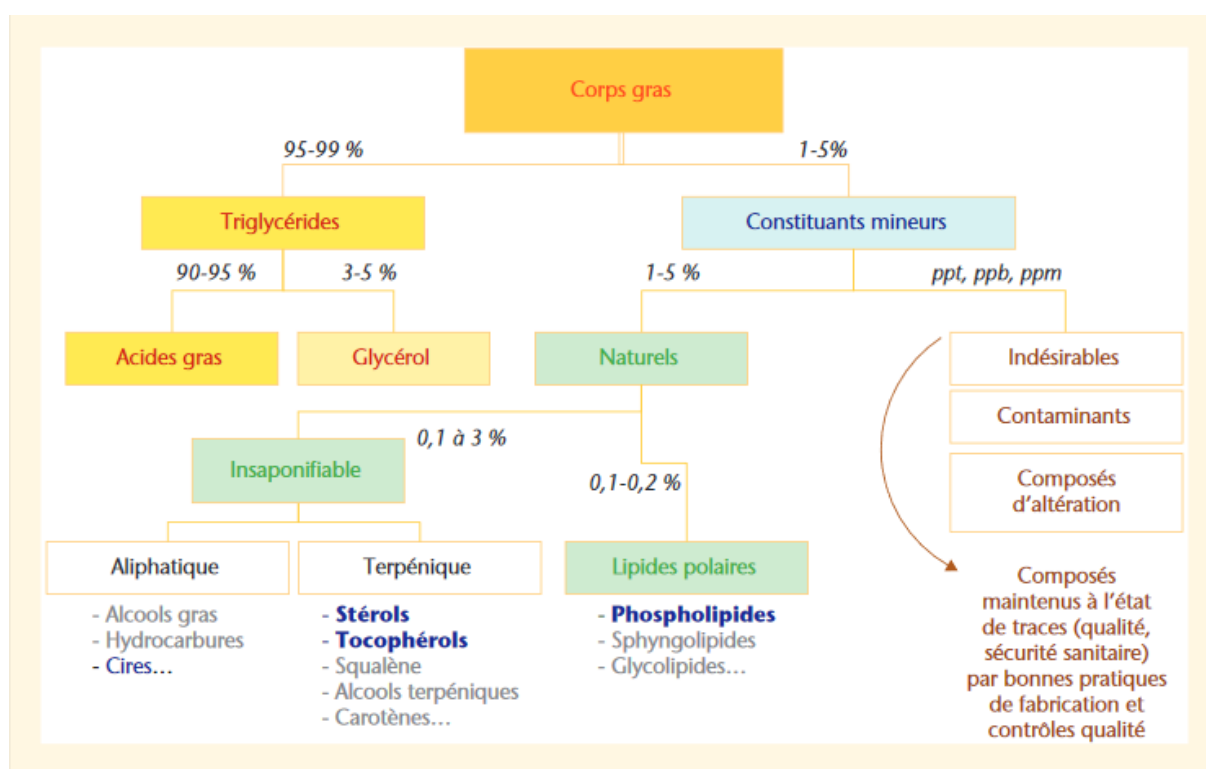


Figure 10 : Composition panoramique des corps gras (Odile MORIN, 2012)

## 2 .5.Les lipides

Un lipide est un composé d'origine animale ou végétale constitués essentiellement de triglycérides, d'esters, d'acides gras et de glycérol. Un corps gras est une molécule soit complètement apolaire (lipide neutre) soit bipolaire ou molécule amphiphile avec une tête polaire liée à une chaîne fortement apolaire. Les graisses et les huiles, qui ne se distinguent que par leur point de fusion, constituent les matières grasses ou corps gras, les lipides sont caractérisées par une propriété chimique: la solubilité. Ces composés ont une solubilité nulle ou faible dans l'eau mais élevée dans les solvants organiques de type apolaire (chloroforme, cyclohexane, éther éthylique...). Ils sont présents dans la plupart des organismes animaux marins ou terrestres et les végétaux en contiennent une grande variété dans leurs graines, feuilles, fleurs et fruits .

### II.5.2. Définition

Une huile végétale est un mélange à consistance liquide ou semi-liquide à température ambiante, de substances majoritairement hydrophobes, solubles dans les solvants organiques apolaires ou peu polaires, non volatiles. Elle est essentiellement constituées de triglycérides, c'est-à-dire des esters de glycérine (ou glycérol) et d'acides gras qui se différencient par la nature et le pourcentage relatif d'acides gras.

### 2.5.3.Composition des huiles végétales

Les corps gras d'origine végétale sont essentiellement des glycérides (98-99 %), appelées fractions saponifiables. Une fraction quantitativement mineure, appelée fraction insaponifiable, est également présente dans ces corps gras. D'autres composés, n'appartenant pas à ces deux catégories, peuvent y être présents dans de faibles proportions : les phospholipides, les cires, les chlorophylles, les caroténoïdes et les produits d'altération, issus de la dégradation des triglycérides durant le stockage (figure 9) (A. KARLESKIND, 1992).

**2.5.3.1. La fraction saponifiable :** La fraction saponifiable d'une huile végétale représente un pourcentage massique de 98 à 99 %, elle contient :

-les glycérides

- Les triglycérides.

- Glycérides partiels.

-Les acides gras

- Les acides gras saturés.

- Les acides gras mono-insaturés.

- Les acides gras polyinsaturés.

- Les phosphatides.

### **2.5.3.2.La fraction insaponifiable**

La fraction insaponifiable d'une huile végétale représente 1 à 2 % d'un lipide non raffiné. Elle comprend les constituants qui sont recueillis après saponification du corps gras par un hydroxyde alcalin (hydrolyse basique) et extraction à l'aide d'un solvant spécifique, cette fraction contient :

- Les hydrocarbures.

- Les stérols.

- Les pigments colorés (les chlorophylles et les caroténoïdes).

- Les tocophérols.

- Les alcools terpéniques.

- Les composés phénoliques.

- Les cires.

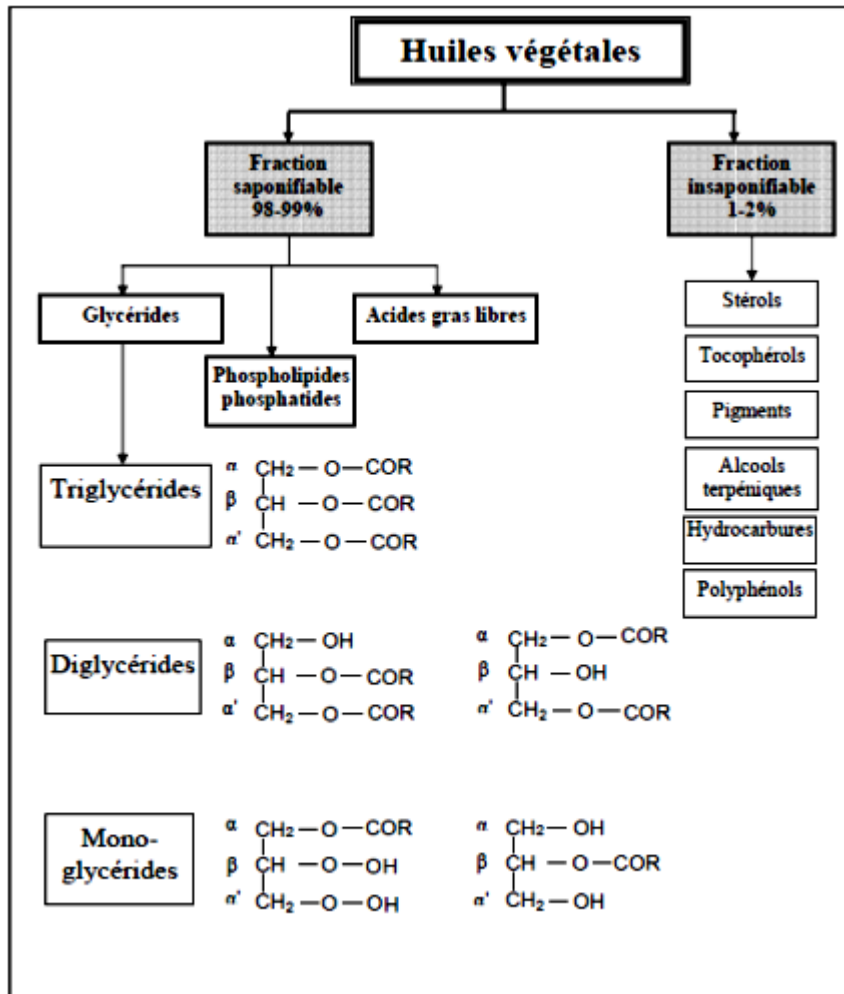


Figure 11 : La composition de l'huile végétal.

### 2.5.4. Acides gras

Les **acides gras** ont généralement un goût aigre et une odeur prononcée. Ils sont *insolubles dans l'eau*, mais *solubles entre eux et dans les solvants organiques* comme l'éther. Les **acides gras** diffèrent entre eux par la *longueur de la chaîne carbonée* (de 4 à 18 atomes de carbone pour les acides gras les plus connus, généralement un nombre paire) et par le *type de liaisons qui réunissent leurs atomes de carbone* : on dit qu'ils sont **saturés** lorsqu'ils ne contiennent que de simples liaisons carbone-carbone, et **insaturés** lorsqu'ils comptent au moins une double liaison carbone=carbone.

Malgré leur importance quantitative comme constituants des **lipides**, ils se trouvent en très faible quantité à l'état libre. Dans le corps humain, l'essentiel des **acides gras** provient de la dégradation enzymatique (moyennant les enzymes lipases) des lipides au niveau du système digestif.

On connaît une quarantaine d'acides gras naturels, dont les plus importants sont l'*acide butyrique* (ou butanoïque), que l'on trouve dans le beurre, l'*acide palmitique* (huile de palme), l'*acide stéarique* (suif), l'*acide linoléique* (huile d'arachide) duquel est dérivé l'*acide arachidonique*, et l'*acide linoléique* (huile de bourrache).

Les *acides linoléique et linoléique* sont des acides gras dits essentiels : les animaux sont incapables de les synthétiser et doivent donc obligatoirement les trouver dans leur alimentation.

Dans l'industrie, les acides gras sont fabriqués par l'hydrolyse des liaisons ester de triglycérides (lipides constitués de glycérol et de trois acides gras).

#### **2.5.4.1. Acides gras saturés**

Un acide gras saturé est un acide gras totalement saturé en hydrogène : toutes les liaisons entre les carbones sont simples (pas de liaisons doubles). Les acides gras saturés sont généralement solides à température ambiante (sous forme de graisse) à l'exception des acides butyrique ( $C_4H_8O_2$ ) et caproïque ( $C_6H_{12}O_2$ ). On les trouve dans les aliments d'origine animale comme le beurre, le lait et le fromage.

Pour les plantes supérieures et les animaux, les acides gras les plus communs ont 12 à 24 carbones, avec une majorité de ceux à 16 ou 18 carbones.

Les acides dont le nombre est inférieur à 12 sont retrouvés dans le lait des mammifères et le beurre. Les acides gras dont le nombre de carbones est supérieur à 24 (Tableau 2) sont essentiellement des composants des cires protectrices fabriqués par les plantes, les bactéries et insectes ((karleskind, 1992)

Tableau 3 : Quelques acides gras saturés linéaires

Longueur relative	Cn	Nom courant	Origine
<b>Chaîne courte</b>	4	Butyrique	Beurre
	6	Caproïque	Lait de chèvre
	8	Caprylique	...
	10	Caprique	...
<b>Chaîne moyenne</b>	12	Laurique	Huile, graisses
	14	Myristique	animales et
	16	Palmitique	végétales.
	18	Stéarique	
<b>Chaîne longue</b>	20	Arachidonique	Animale
	22	Béhénique	
	24	Liglocérique	Cires des
	26	Cérotique	plantes
	28	Montanique	bactéries
	30	Mélistique	Insectes
	32	Lacérique	

Cn : nombre de carbone

#### 2.5.4.2. Acides gras insaturés

Acides gras insaturés Ils représentent plus de la moitié des acides gras des plantes et des animaux, possédant une ou plusieurs doubles liaisons (Tableau 4). La plupart des acides gras insaturés ont des longueurs de chaînes de 16 à 20 carbones et souvent, la première double liaison est établie entre les C9 et C10, les doubles liaisons multiples ne sont pas conjuguées mais séparées par un groupe méthylène et les doubles liaisons sont de configuration cis. Les acides gras mono-insaturés sont relativement rares, les chaînes comportant moins de 16 carbones se retrouvent dans le lait et les graisses de poissons alors que les chaînes à plus de 18 carbones sont présentes chez les animaux marins.

Les acides gras polyinsaturés sont beaucoup plus répandus, ils comportent au moins 18 carbones.

**Tableau 4 : Principaux acides gras insaturés**

Cn	Nom courant	Symbole	Origine
16	Palmitoléique	C16 : 1(9)	Animale, végétale
18	Oléique	C18 : 1(9)	Animale, végétale
	Vaccinique	C18 : 1(11)	Bactéries
	Linoléique	C18 : 2(9, 12)	Graines
	Linoléinique	C18 : 3(9, 12, 15)	Graines
20	Arachidonique	C20 : 4(5, 8, 11, 14)	Animaux
	AcideEcosapentanoïque	C20 : 5(5, 8, 11, 14, 17)	Huiles de poissons
22	acidedocosahexaénoïque	C22:6 $\omega$ 3(4,7,10,13,16,19)	
24	Nervonique	C24 : 1(15)	Cerveau

Cn : nombre de carbone

## 2.6 Classification des huiles végétales

Les huiles végétales sont classées selon les critères suivants: origine des huiles, mode d'extraction et le degré d'insaturation.

### 2.6.1. Origines des huiles

Selon l'origine végétale des huiles nous distinguons :

#### 2.6.1.1. Les huiles de fruits

Qui sont obtenues par pression à froid des fruits murs comme l'huile d'olive et l'huile de palme.

### 2.6.1.2. Les huiles de graines

Qui sont obtenues après broyage et extraction par des solvants organiques comme l'huile de soja, de maïs, d'arachide de coton. (Jacob B. et al 1983).

### 2.7. Mode d'extraction

D'après le mode d'extraction, il existe :

#### 2.7.1. Les huiles vierges

Sont des huiles brutes utilisées en alimentation sans aucun traitement préalable. Elles sont caractérisées par leurs goûts et leurs odeurs spécifiques, nous pouvons citer dans ce groupe l'huile d'olive.

#### 2.7.2. Les huiles raffinées:

Sont des huiles brutes ayant obligatoirement un traitement technologique approprié, afin d'éliminer toutes substances toxiques ou capables de les altérer, fournissant ainsi un produit final incolore, inodore et sans saveur comme l'huile de tournesol. (Lecoq R., 1965).

#### 2.7.3. Le degré d'insaturation :

En fonction d'indice d'iode, les huiles végétales sont classées en huiles siccatives, semi siccatives et non siccatives (tableau 4). (François R., 1974). (Medani H., 1992).

**Tableau 5 :** Classification des huiles végétales selon le degré d'insaturation

Indice d'iode	Nombre approximatif de double liaison	Famille	Exemple
<60	0,5	Graisse végétales solides	Coco, palme, beurre de cacao
80-100	1,0	Huile de type oléique	Arachide, Olive
100-130		Huiles insaturées	Tournesol ; soja, coton, colza, maïs
>130		Huiles siccatives	Lin

## 2.8. Propriétés physico-chimiques

### 2.8.1. Propriétés physiques

#### 2.8.1.1. Aspect

Les huiles végétales sont plus ou moins colorées en jaune ou en brun. Renferment toujours de la chlorophylle. Elles n'ont ni saveur ni odeur mais en général, à l'état de pureté possèdent l'odeur des matières qui les ont fournis. Leur consistance est variable.

#### 2.8.1.2. Solubilité

Toutes les huiles sont insolubles dans l'eau, ce qui conditionne l'existence de nombreuses émulsions qui sont constituées par la dispersion en très fines gouttelettes d'huile dans un autre liquide qui n'est pas miscible mais sont solubles dans les solvants organiques tels que le benzène, le chloroforme, l'éther, ...etc (Trémolières J. et al 1980). (Figure 10).

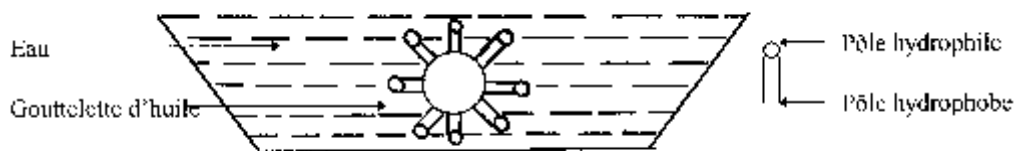


Figure 12 : Emulsion de l'huile dans l'eau

#### 2.8.1.3. Densité

Leur densité est inférieure à celle de l'eau. Elle est représentée par la masse de l'unité de volume exprimée en gramme par centimètre cube à la température ambiante, elle varie de 0,915 à 0,964.

#### 2.8.1.4. Viscosité

Les corps gras, en particulier les huiles, sont plus ou moins visqueuses et leur viscosité dépend de la température.

### **2.8.1.5.Le point de fusion**

Qui détermine la température à partir de laquelle une substance fluide passe à l'état liquide. Il est inversement proportionnel au nombre croissant de double liaison et varie proportionnellement avec la longueur de chaîne d'acide gras.

Exemple: L'acide laurique 44,3° C, l'acide myristique 53,9° C et l'acide palmitique 63,1° C.

### **2.8.1.6.Conductibilité électrique**

Les huiles sont des bons conducteurs d'électricité à l'exception de l'huile d'olive.

## **2.9.Propriétés chimiques**

Les propriétés chimiques des glycérides dépendent essentiellement de celle des acides gras qui les constituent.

### **2.9.1.Propriétés dues aux acides gras**

Les acides gras possèdent un groupement carboxyle (COOH) et une chaîne latérale.

- La fonction carboxylée: cette fonction est responsable de l'acidité des acides gras, elle subit une saponification et une estérification.

#### **La saponification**

C'est une réaction que subit l'huile avec la soude ou la potasse et qui aboutira à un sel d'acide gras appelé savon. (Trémolières J., et al 1963).

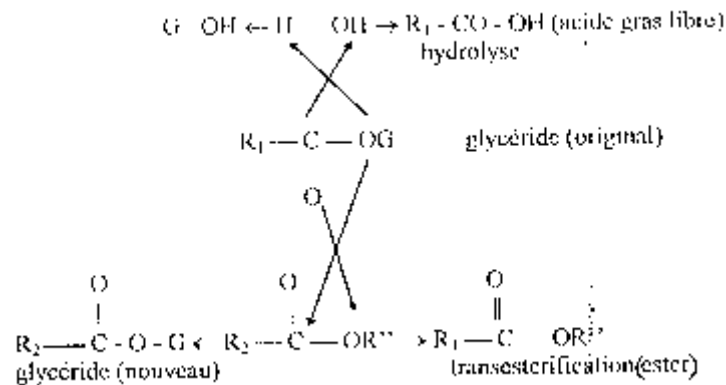
L'estérification : c'est une réaction entre la fonction carboxylée de l'acide gras et la fonction hydroxylée d'un alcool (stérol ou glycérol formant un ester d'acide gras).( Alais C. et al et 1987).

#### **La chaîne latérale des acides gras**

le radical des acides peut contenir des doubles liaisons qui peuvent subir une oxydation en contact de l'oxygène de l'air libérant des peroxydes et des dérivés aldéhydiques responsables des mauvaises odeurs , ce processus est accéléré par l'exposition à la lumière (Derach R., 1976).

### 2.9.2. Propriétés dues aux glycérides

La liaison ester dans les glycérides subit une hydrolyse et une transestérification (Figure 11).



**Figure 13:** Réaction De la Liaison Ester

#### 2.9.2.1. L'hydrolyse

C'est une cession des glycérides en présence d'un catalyseur libérant du glycérol et des acides gras responsables de l'acidification des huiles.

#### 2.9.2.2. La transestérification

C'est une réaction entre une glycéride et un autre ester simple en présence d'un catalyseur (méthylate de sodium) permettant d'avoir la glycéride et de nouveaux esters.

### 2.10. Techniques d'extraction des huiles végétales

Les huiles sont extraites de la matière végétale par plusieurs procédés. Le choix de la technique dépend de la localisation histologique de l'huile dans le végétal et de son utilisation dans les diverses industries. Classiquement trois procédés sont utilisés pour extraire l'huile à partir des végétaux qui sont la pression unique ou double, l'extraction directe par solvants et le procédé mixte, couplant le pressage à une extraction par solvant sur le tourteau.

### **2.10.1.Extraction physique (Extraction mécanique par pression)**

Elle est réalisée dans des presses à barreaux qui permettent l'extraction continue de l'huile. Ce type d'extraction est moins efficace que l'extraction au solvant mais nettement plus pure puisqu'elle fait appel à une action mécanique et non à des solvants organiques issus des produits pétroliers. Les matières premières oléagineuses subiront un broyage par presse à vis qui permet de séparer d'une part l'huile brute qui devrait subir une centrifugation et une filtration pour éliminer les particules solides et les traces d'eau. Les autres résidus sont nommés tourteau contenant des fibres, protéines, amidon, mais aussi de l'huile. Comme la méthode se fait à froid, les huiles ainsi obtenues sont généralement concrètes.

### **2.10.2.Méthodes chimiques**

#### **2.10.2.1.Hydrodistillation ou l'entraînement à la vapeur**

Les méthodes d'extraction par l'entraînement à la vapeur d'eau sont basées sur le fait que la plupart des composés volatils contenus dans les végétaux sont entraînaables par la vapeur d'eau, du fait de leur point d'ébullition relativement bas et de leur caractère hydrophobe. Sous l'action de la vapeur d'eau introduite ou formée dans l'extracteur, l'essence se libère du tissu végétal et entraînée par la vapeur d'eau.

#### **2.10.2.2.Extraction par solvant**

L'extraction directe des plantes par des solvants organiques entraîne divers constituants telles que les lipides, les pigments. L'extracteur de Soxhlet permet alors le traitement de solides (matériel végétal) avec des solvants en phase liquide ou partiellement vaporisés.

#### **2.10.2.3.Extraction par fluides supercritiques**

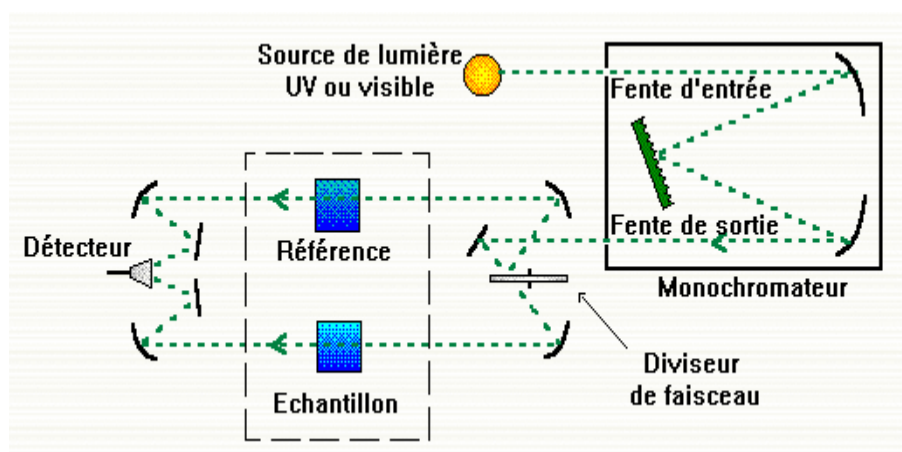
Cette technique permet l'extraction des produits à basse température et d'isoler des produits thermosensibles dans des conditions douces, ce qui ne dénature pas les qualités organoleptiques et les extraits actifs. L'extrait reste proche du naturel (Rout et al., 2007).

## 2.11. Analyse des corps gras

L'étude des corps gras, (caractérisation et composition), occupera une place prépondérante dans la chimie analytique. Les informations globales des huiles désirées concernent la longueur de chaîne carbonée, l'insaturation et la présence de fonctions secondaires qui peuvent être fournies par la détermination de certains indices comme celui de saponification, d'iode, d'hydroxyle, d'ester, etc. Ces caractéristiques sont suffisantes pour rendre compte de la nature des différents acides gras présents, de leurs proportion ; ce sont des caractéristiques d'identité du corps gras et permettant ainsi de juger de sa pureté et de son intérêt, tant sur le plan alimentaire qu'industriel. Pour ce faire certaines méthodes analytiques et matériels sont nécessaires pour déterminer ces caractéristiques à savoir les techniques chromatographiques et spectrométriques (UV-VIS, CPG, RMN, IR/FT...) (Tomi et al., 2006).

### 2.11.1. Analyse par colorimétrie UV-Visible :

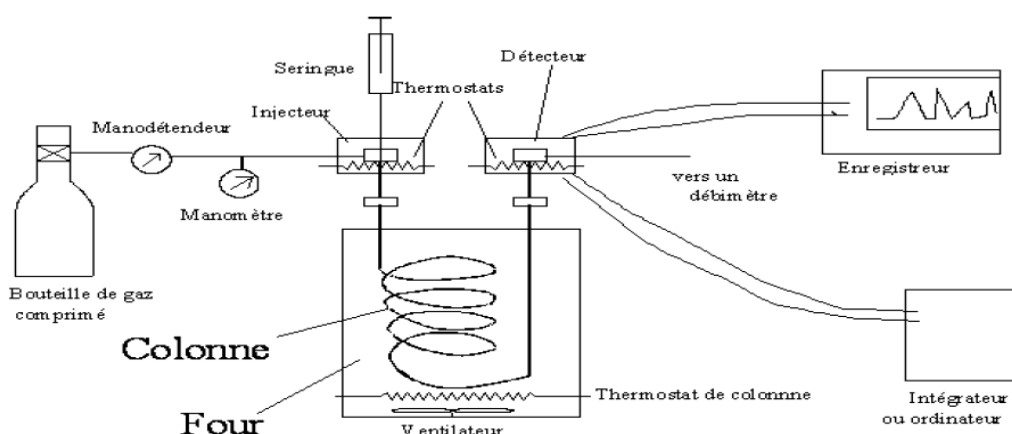
La spectroscopie d'absorption dans l'UV et le visible est la méthode la plus ancienne très commune dans les laboratoires. Elle est basée sur la propriété des molécules d'absorber des radiations lumineuses de longueur d'onde déterminée provoquant des transitions électroniques entre les différents niveaux d'énergie des molécules. Les spectres UV-Vis fournissent généralement peu de renseignements sur la structure moléculaire des composés comparés aux spectres IR. Néanmoins, on les utilise soit pour une confirmation soit pour une identification grâce aux règles empiriques. Loi d'absorption de la lumière est basée sur la loi de Beer-Lambert. Le principe de fonctionnement d'un spectrophotomètre UV-Vis est illustré dans la figure 14.



**Figure 14:** Principe du spectrophotomètre UV-visible double faisceau.

### 2.11.2. Analyse par Chromatographie en phase gazeuse (GC) couplée à la spectrométrie de masse

La chromatographie gazeuse est la technique la plus utilisée pour la détermination des composés volatiles thermiquement stables tels que les terpénoïdes, les acides gras et les phytostérols. Il existe différents types de détecteurs (FID, MS). Le détecteur FID : Détecteur à Ionisation de flamme et le détecteur MS est le spectromètre de masse. L'appareillage est constitué de trois modules: un injecteur, une colonne capillaire et un détecteur (**Figure 13**). Elle est basée sur l'ionisation de molécules sous l'action d'une énergie élevée qui conduit à la rupture des liaisons interatomiques d'où l'apparition de fragments chargés caractérisés par des rapports  $m/z$  qui sont différents.



**Figure 15.** Schéma simplifié du chromatographe en phase gazeuse

### 2.11.3. Analyse par spectroscopie Infra Rouge

La spectroscopie infrarouge est basée sur l'absorption de radiations infrarouge par la molécule. Les longueurs d'onde absorbées s'étalent de  $2.5 \mu$  à  $25 \mu$ . Les énergies mises en jeu sont principalement des énergies de vibrations et de rotation (vibrations de déformation et les vibrations d'allongement ou de valence). La spectroscopie infrarouge renseigne sur les fonctions chimiques présentes dans les molécules et permet également de différencier les isomères par l'examen de la partie de spectre dite « des empreintes digitales ». En effet, elle

est particulièrement instructive en ce qui concerne la stéréochimie des molécules (stéréochimie des doubles liaisons ou dans certains cas, celle des jonctions de cycles).

### **2.12. Analyse des éléments minéraux**

Quand on parle de la teneur en éléments minéraux d'une plante, il s'agit de la totalité des éléments présents, dosés après destruction complète de la matière organique. Les minéraux sont souvent classifiés en deux classes: les macro-minéraux (Calcium, Phosphore, Sodium, Magnésium, Potassium, Chlore, Soufre) et les micro minéraux (Iode Cuivre, Fer, Cobalt Manganèse, Molybdène, Zinc et Sélénium). Il existe une large gamme de méthodes et de technologies d'analyse des métaux dans les fruits et légumes. Dans ce travail, le dosage des métaux a été effectué, selon la norme NF EN ISO 15587-1, par Spectroscopie d'Absorption Atomique (AAS) avec une source d'atomisation (four à graphite) et la spectroscopie d'émission atomique (SEA) à flamme et la spectroscopie à source de plasma inductive (SEA-ICP).

### **2.13. Spectrométrie d'absorption atomique (SAA)**

Son principe repose sur le fait qu'un élément atomisé absorbera la lumière d'une longueur d'onde caractéristique, le faisant quitter de l'état fondamental vers un état excité.

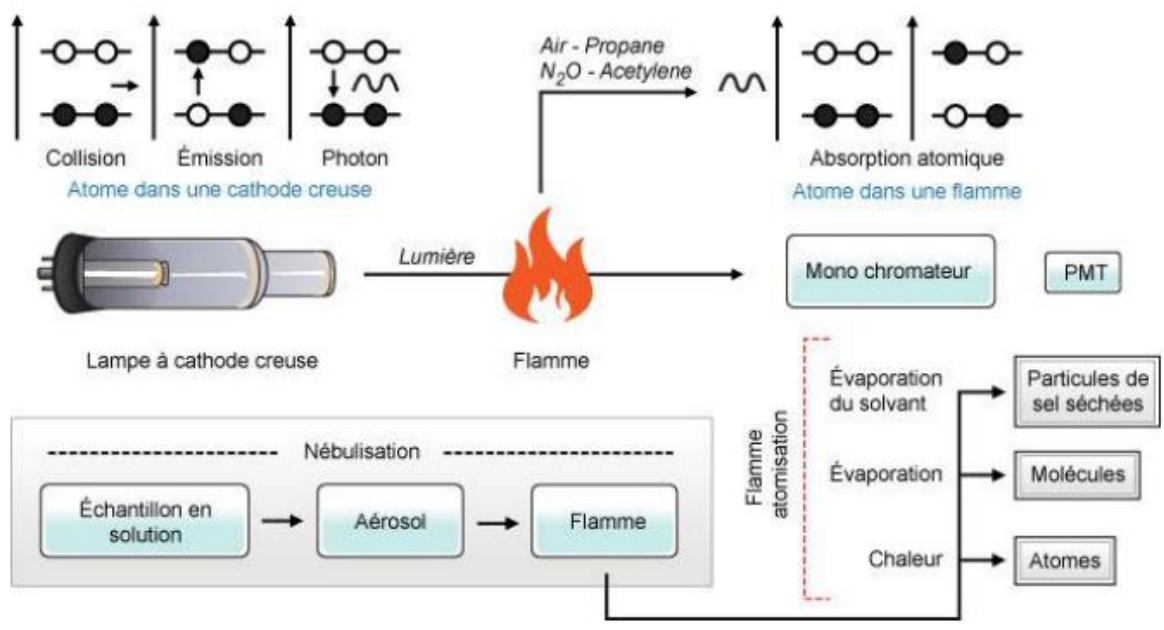
Ainsi analyser un échantillon pour voir s'il contient un élément particulier signifie utiliser la lumière de cet élément.

Par exemple pour doser le plomb, une lampe contenant du plomb sera utilisée qui émettra de la lumière à partir d'atomes de plomb excités (ils produiront un mélange de longueurs d'onde pour être absorbé par les atomes de plomb de l'échantillon).

La quantité d'énergie lumineuse absorbée est proportionnelle au nombre d'atomes analytes dans le trajet optique. La technique est étalonnée en introduisant des concentrations connues d'atomes analytes dans le trajet optique et en faisant un graphique absorbance par rapport à la concentration sur le plan pratique, la solution contenant l'élément à doser est aspirée à travers un capillaire et dirigée vers le nébuliseur.

Elle est ensuite pulvérisée à très grande vitesse à travers une chambre où s'éliminent les grosses gouttes grâce à une bille brise-jet. La solution ainsi vaporisée est entraînée par le

combustible à travers le brûleur à la sortie duquel a lieu la combustion. Après dissociation thermique (atomisation) dans la flamme, générée par la combustion d'un mélange air/acétylène à 2500°C ou un mélange protoxyde d'azote/acétylène à 3100°C pour les éléments réfractaires comme Al, Mo et Sr, les radiations incidentes qui sont fournies par une lampe à cathode creuse qui émet le spectre de l'élément que l'on veut doser sont absorbées. La mesure de cette absorption permet de déterminer la concentration de l'élément à doser.



**Figure 16 :** Principe de spectroscopie d'absorption atomique (SAA)

## 2.14. Les métaux dans les végétaux

presque tous les métaux sont présents naturellement dans le règne végétal cependant certains comme le plomb le Zinc, l'étain et le mercure se retrouvent à des teneurs majorées sous l'effet de la pollution. Les éléments métalliques ont été fréquemment étudiés pour leur aspect et rôle de marqueur de l'origine géographique ( R.Eder S, et al 1994)(E.N Frankel et al 1995) et leur effet catalytique sur les phénomènes d'oxydation.

## 2.15. Nature des éléments minéraux étudiés

les minéraux sont présents dans les produits agroalimentaires à faible concentration, Certains sont toxiques même à faible dose comme le cadmium et le mercure .

Les éléments métalliques sont désignés par deux types :

### a) les oligo éléments

Expression créée au début du 20ème siècle qui désignent les éléments métalliques que l'on rencontre à faible dose et d'une façon constante dans l'organisme.

### b) les éléments majeurs

Ce sont les alcalins et les alcalino-terreux sont ceux dont les concentrations sont supérieures à 1ppm.

### c) Oligoélément dans la pulpe

Dans les végétaux maintenus à l'abri de l'air, le milieu étant réducteur le fer passe à l'état ferreux ( $Fe^{2+}$ ) renfermant de l'oxygène dissous à la suite de l'aération, le fer s'oxyde et passe à l'état ferrique ( $Fe^{3+}$ ) capable de précipiter les composés phénoliques .

## 2.16. Méthodes d'analyses utilisées

### 2.16.1. La méthode SEA-ICP

L'utilisation de cette méthode SEA-ICP permet une analyse rapide et multielementaire des métaux qui nécessite une minéralisation de l'échantillon (matrice complexe et riche en matière organique).

### 2.16.2. Méthode spectrométrique moléculaire

Elle représente la première méthode mise au point ayant une sensibilité permettant de doser les éléments traces dans les végétaux, cette sensibilité reste insuffisante. De plus il est nécessaire qu'après minéralisation soit ajouté un réactif produisant la coloration spécifique nécessaire au dosage, ou ajouter un réactif formant un complexe qui peut être extrait par un solvant organique ce qui complique la préparation de l'échantillon.

### 2.16.3.Méthode électrochimique

Ces méthodes sont très peu utilisés, la littérature rapporte des résultats intéressants sur les méthodes volumétriques par l'emploi de certaines électrodes spécifiques pour la détermination de quelques éléments ; parmi les électrodes utilisées d'amalgames de métaux lourds cd (O.Mikkelsen et al1999)(I.Wang et al 2001).

Récemment la littérature rapporte l'utilisation des électrodes d'amalgame dentaire solide pour la détermination du ZINC , plomb , nickel et cobalt . D'autres alliages d'argent avec des pourcentages de mercure de plomb ont été employés pour la détermination volta métrique des métaux dans les végétaux .( O.Mikkelsen et al 2002)

### 2.17.Minéralisation des échantillons

La minéralisation permet de limiter ou de faire disparaître les interférences liées aux matières organiques et de réaliser en outre une prèconcentration des éléments métalliques qui améliore la sensibilité des mesures . Cette minéralisation peut se faire par deux voies .

#### 2.17.1.Minéralisation par voie sèche

C'est une caractérisation appliquée en milieu végétal .les éléments minéraux liés à la matière organique sont libres et passent sous forme ou d'oxydes .

Deux types de minéralisation :

##### a) Minéralisation par calcination et reprise acide

C'est le procédé le plus simple qui consiste en une calcination suivi d'une reprise de cendres avec l'acide chlorhydrique.

##### b) Minéralisation par calcination oxydation et reprise acide

C'est le temps nécessaire pour l'obtention des cendres blanches à une température de 450°C qui peut être diminué par une oxydation de l'échantillon.

### 2.17.2. Minéralisation par voie humide

Pour éviter les inconvénients de la minéralisation par voie sèche (perte d'éléments volatils) de nombreux auteurs ont étudié et ont mis au point des méthodes de minéralisation par voie humide.

Le tableau résume quelques applications relatives à la détermination des métaux dans les végétaux.

**Tableau6** : quelques applications relatives à la détermination des métaux dans les végétaux .

Elements	$\lambda$ (nm)par SAA-F	Traitement du vegetal
<b>Cu</b>	324,8	Dilution avec eau bidistillée
<b>Mg</b>	769,9	Dilution au 1/100eau bidistillée
<b>Na</b>	589,0	Ajout d'un tampon spectrochimique $\text{LaCl}_3$
<b>Ca</b>	422,7	Ajout d'un tampon spectrochimique $\text{LaCl}_3$
<b>K</b>	769,9	Dilution avec eau bidistillée
<b>Fe</b>	248,3	Dilution avec eau bidistillée
<b>Zn</b>	213 ,9	Dilution avec eau bidistillée
<b>Cu</b> <b>Zn</b> <b>Fe</b>	SAA-F	Dilution par HCl dimineralisation $\text{HNO}_3+\text{H}_2\text{O}_2$

# Chapitre 3

**Huiles de fruits de *Pistacia lentiscus* L.**

### 3. HUILE DE FRUITS DE *PISTACIA LENTISCUS L*

#### 3.1. Définition

La flore algérienne regorge de nombreuses espèces végétales utilisées par les populations depuis fort longtemps comme sources d'alimentation, de bois d'œuvre, d'énergie et de remèdes contre divers maux somatiques ou spirituels. *Pistacia lentiscus* est une plante très connue des populations grâce à ses richesses en vertus curatives.

L'huile de lentisque est extraite à partir du fruit comestible, est de couleur verte foncée; elle n'est entièrement liquide qu'à la température de 32 à 34 C°; en-dessous, elle laisse déposer une matière blanche, susceptible de cristallisation, qui bientôt envahit la totalité de l'huile et la solidifie complètement (Leprieur, 1860).

Cette huile est couramment utilisée pour l'alimentation, l'éclairage et elle entre aussi dans la confection de savons. Cette huile est produite en Algérie, surtout dans le nord du pays où l'espèce abonde.

#### 3.2. Etat naturel et localisation

Les lipides se trouvent surtout dans les graines oléagineuses représentant de 10-70 % du poids sec, ce sont des substances de réserve pour la germination formées au dépend des glucides, mais il en existe également dans les fruits oléagineux (olive, noix de palme, avocats,...etc.).

Ils sont présents dans les cellules végétales sous forme de granulation de complexes lipoprotéiques, ou de gouttelettes (cytoplasme), ils sont mis en évidence insitu au moyen du soudan III (coloration rouge).

#### 3.3. Mode de préparation

Actuellement en Algérie, seuls les procédés traditionnels sont utilisés. Les fruits atteignent leur maturité vers la fin de l'automne, début d'hiver. Les baies prennent alors une coloration noire au lieu du rouge ; elles sont récoltées à la main, macérées dans de l'eau chaude et puis écrasés à l'aide de deux pierres.

La pate est ensuite séparée du liquide par filtration ; ce liquide est un mélange d'eau et d'huile épais de couleur jaune vert. A la fin l'huile est récupérée par décantation. Cette méthode est très proche de la méthode d'extraction dans les îles de Sardaigne (Lafranchi, 1998).

### **3 .4.Composition chimique**

L'huile de lentisque est constituée majoritairement par des acides gras insaturés (mono et polyinsaturés)et acides gras saturés, accompagnés de substances lipidiques auxiliaires dites constituants mineurs, tels que les tocophérols, les phytostérols et des composés phénolique (Dhifi et al.,2013).

#### **3 .4.1.Acides Gras**

La classe la plus importante des acide gras dans l'huile de *Pistacia Lentiscus Lest* représentée par les acides gras monoinsaturés (AGMI), suivie par les (AG) saturée (AGS) et polyinsaturés (AGPI) (Tableau 5).

Le principal AG de l'huile de lentisque est de l'acide oléique (C18: 1) ; Cet AG est réputé pour son rôle dans la préservation des maladies cardiovasculaires et de sa valeur nutritive (Corbett, 2003).

L'huile de *Pistacia Lentiscus Lest* aussi riche en acide linoléique (C18: 2 ω 6) qui est un AG essentiels (AGE), ce dernier avaient des incidences nutritionnelles favorables et des effets physiologiques bénéfiques dans la prévention des maladies coronariennes et le cancer (Oomah et al., 2000)

**Tableau.7:** composition en acides gras de l'huile de *Pistacia Lentiscus L* identifié par CPG.

Acides gras	(%)d' acides gras totaux selon(Dhifiet al.,2013)	(%)d' acides gras totaux selon(Charefet al.,2008)
<b>C16:0</b>	23.52 ± 3.01	19.5 ± 0.2
<b>C16 :1</b>	1.19 ± 0.12	2.1 ± 0.2
<b>C17:0</b>	0.10 ± 0.01	/
<b>C18:0</b>	1.41 ± 0.02	1.7 ± 0.1
<b>C18 :1</b>	51.06 ± 4.37	55.3 ± 0.8
<b>C18 :2</b>	20.71 ± 2.25	21.4 ± 0.3
<b>C18 :3</b>	0.47 ± 0.10	/
<b>C20:0</b>	0.14 ± 0.02	/
<b>C20:1</b>	0.15 ± 0.01	/
<b>C22:0</b>	1.25 ± 0.02	/
<b>AGS</b>	26.42	21.2
<b>AGI</b>	74.92	78.8

Une autre composition en acide gras de l'huile extraite de la pulpe de *Pistacia Lentiscus L* a été faite par Dr. Djedaia en utilisant la chromatographie en phase gazeuse.

Au total, cinq acides gras (tableau 6) ont été identifiés dans l'huile du lentisque; dont un acide est à caractère saturé : (acide palmitique) et quatre acides gras sont insaturés à savoir les acides: acide palmitoléique, linoléique ( $\omega 6$ ), oléique et linolenolique ( $\omega 9$ ).

**Tableau 8:** Les acides gras de gras de l'huile de *Pistacia Lentiscus L* (Djedaia, thèse 2018)

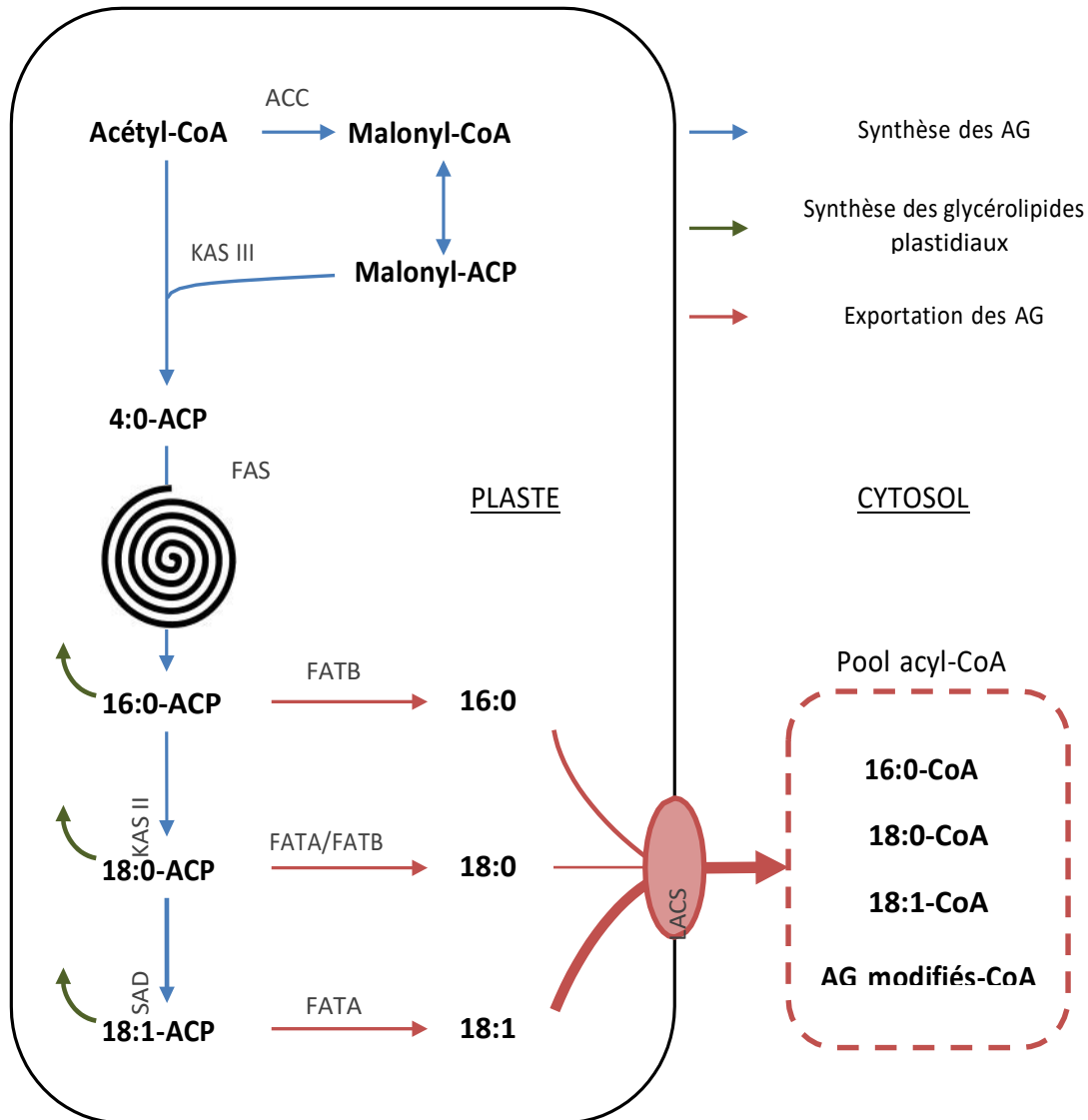
PI	standards T <sub>R</sub> (min)	Acide gras identifié	(%)
1	10,70	A. palmitique C16 :0	2,039
2	11,33	A. palmitoléique C16 :1	27,189
3	14,66	A. oléique C18 :1	19,832
4	15,03	A. linoléique C18 :2 (ω6)	49,163
5	15,33	A. linolénoïque (ω9)	1,775

On remarque que la composition en acides gras de l'huile de *Pistacia Lentiscus L* varie fortement avec le type de sol, le climat et l'origine géographique.

### Biosynthèse des acides gras

Les acides gras indispensables de tous les lipides sont synthétisés dans les chloroplastes qui est du au complexe protéique appelé « Fatty acid synthase »(FAS)

Le cycle de l'élongation par le complexe FAS se déroule par des réactions enzymatiques successives .Deux acides gras saturés peuvent conduire à des saturations qui conduisent à la biosynthèse des acides gras polyinsaturés à très longue chaîne .Les transformations enzymatiques se font par FAS « Fatty acid synthase » KAS : « keto acyl –ACP Synthase,FAD « Fatty acid desaturase « ,CP : CoenzymA, FATB :Fatty Acid thioestrase B »



**Figure 17** Représentation schématique de la synthèse et de l'exportation des AG activés du plaste vers le cytosol. Abréviations : **ACC**, acétyl-CoA carboxylase ; **ACP**, acyl carrier protein ; **AG**, acide gras ; **CoA**, coenzyme A ; **FAS**, fatty acid synthase ; **FATA/B**, fatty acyl- ACP thioesterase **KAS**, ketoacyl-ACP synthase ; **LACS**, long-chain acyl-CoA synthetase ; **MCAT**, malonyl-CoA : ACP transacylase ; **SAD**, stearyl-ACP désaturase. (Phung Jean N guen 2014)

### 3.4.2. Triglycérides

La composition en TAG de l'huile de Lentisque a montré que la majorité des Triglycérides de cette huile sont les formes mono et poly-insaturés (Tableau 7),vu la composition en acides gras,les principaux constituants sont : SOL+POO suivie par SLL+ POL.

**Tableau 9** : composition en Triglycérides de l'huile de *Pistacia lentiscus L* par HPLC.

TAG	(%) de TG totaux selon (Dhifi et al.,2013)
LLL <sub>n</sub>	-
LLL	1.32 ± 0.28
OLL <sub>n</sub>	-
OLL	5.67 ± 1.62
PLL	7.97 ± 1.86
OOL	9.83 ± 2.03
SLL+ POL	21.50 ± 2.06
PPL	5.58 ± 1.12
OOO	12.05 ± 1.43
SOL+POO	27.58 ± 2.36
PPO	8.51 ± 1.09

### 3 .5.Composition en insaponifiables de l'huile de *Pistacia Lentiscus L*

- ✓ La fraction insaponifiable de cette huile contient des tocophérols, des stérols et des composés phénoliques.

#### 3 .5.1.Tocophérols

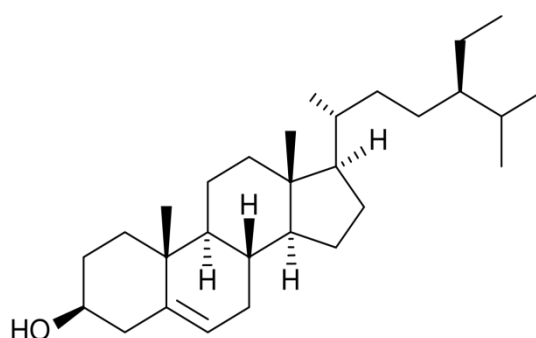
Selon (Dhifi et al 2013),l'huile de *Pistacia Lentiscus L* est très riches en α- tocophérols; elle contient 8111.137 mg de tocophérols / kg d'huile de lentisque, α-tocophérol qui a la plus forte

activité antioxydante représentaient 93,62% de tocophérols entiers de l'huile Lentisque. Les isomères  $\beta$  et  $\gamma$  ont été détectés avec respectif des quantités de 5,79 et 0,59% (tableau 8) alors que le  $\delta$ -tocophérol n'a pas été détecté. Cette richesse en  $\alpha$ -tocophérol protège l'huile de lentisque contre l'oxydation lors de sa conservation.

**Tableau 10:**Composition en Tocophérols de l'huile de l'huile de *Pistacia lentiscus L* (Dhifi et al,2013).

Tocophérols	Quantité (mg / g de l'huile)	% de Tocophérols totaux
$\alpha$ -tocophérol	7.59 $\pm$ 0.61	93.62
$\beta$ -tocophérol	0.47 $\pm$ 0.02	5.79
$\gamma$ -tocophéro	0.48 $\pm$ 0.04	0.59
$\delta$ -tocophérol	-	-

### 3 .5.2.Phytostérols :



Sitostérol

D'après le **tableau 11**, L'huile de lentisque contient : le  $\beta$ -sitostérol comme le phytostérol majeur, suivi du cholestérol. Cependant, le stigmastérol et d'autres stérols n'ont pas été détectés. Ils peuvent disparaître pendant la maturation. Ces dernières années, les phytostérols sont capables de réduire le cholestérol des lipoprotéines de basse densité (LDL-Cholestérol), de diminuer la mortalité coronaire ; c'est pour cela qu'ils sont utilisés diététiquement naturels préventifs (Gul et al, 2006). Il a été trouvé que les plantes qui ont des propriétés cicatrisantes, ont souvent un niveau élevé de stérols végétaux (Dweck,2002).

**Tableau 11** :Composition en stérols de l'huile de *Pistacia lentiscus L*(Dhifi et al,2013)

Stérols	Quantité (mg/100g de l'huile)	% des Stérols totaux
<b>β-Sitostérol</b>	231.67 ± 10	55.55
<b>Cholesterol</b>	185.35 ± 22	44.45

### 3 .5.3.Composés phénoliques

Les composés phénoliques représentent une famille de molécules qui ont tous en commun un noyau benzénique qui porte au moins un groupement hydroxyle qui peut être libre ou engagé dans une autre fonction. Les composés phénoliques sont primordiaux pour la vie de la plante, ils interviennent dans sa défense et sa coloration. Ils sont aussi bénéfiques pour l'homme grâce à leurs propriétés antioxydantes permettant de lutter contre plusieurs maladies. Les polyphénols sont présents dans presque toutes les plantes, mais leurs natures et teneurs varient largement d'une espèce à l'autre, et d'un tissu à un autre (Grolier et al., 2001). D'après les résultats de l'étude fournie par Hamad et ses collaborateurs (tableau 10), les tests colorimétriques du lentisque ont montré de fortes teneurs en composés phénoliques essentiellement en tanins condensés et en polyphénols totaux (Hamad et al, 2011).

**Tableau 12** : Quantification des composés polyphénoliques totaux dans les extraits de *Pistacia Lentiscus L*

Solvants d'extraction	Phénols totaux (mg.Eq catéchine/ g d'extrait)	Flavonoïdes (Eq quercétine/ g d'extrait)	Tannins (mg.Eq acide tannique / g d'extrait)
Ethanol	136,25 ± 18,9	12,93 ± 1,69	909,4 ± 42,61
<u>Acétate d'éthyle</u>			
Fraction organique	75,01 ± 9,18	13,12 ± 0,12	632,1 ± 45,37
Fraction aqueuse	40,65 ± 11,39	18,45 ± 1,2	852,2 ± 41,14
<u>Hexane</u>			
Fraction organique	24,12 ± 8,3	10,06 ± 0,59	830,40 ± 62,19
Fraction aqueuse	452,95 ± 15,9	41,5 ± 0,91	773,9 ± 75,71
<u>Chloroforme</u>			
Fraction organique	47,49 ± 16,88	7,74 ± 0,25	579,1 ± 34,84
Fraction aqueuse	407,73 ± 1,53	44,25 ± 0,87	997,8 ± 39,08

### 3.6.Composition en éléments minéraux des fruits

Les fruits matures de *Pistacia Lentiscus L* sont riches en éléments minéraux. L'élément minéral le plus abondant est Na, suivi par K, Ca, Mg, Fe et Cu (Tableau 13).

Ces minéraux sont essentiels et indispensables pour l'organisme humain ; ils jouent un rôle important comme : activateurs d'enzymes, régulateurs de la pression osmotique et du pH, substances fondamentales dans la structure du squelette (Broocker, 2001).

**Tableau 13 :** Composition en éléments minéraux du fruit de *Pistacia lentiscus.L*

Eléments Minéraux	Quantité (mg/100g du l'huile)(Dhifi,2013)	Quantité(mg/g du fruit) (Hamad et Hasan,2011)
Na	25.36 ± 3.25	0.46
K	2.17 ± 0.05	2.67
Ca	0.25 ± 0.04	0.37
Mg	0.19 ± 2.23	-
Fe	0.004 ± 0.00tr	-
Cu	0.0001 ± 0.00tr	-
phosphores	-	0.004

**Tableau14 :** comparaison de l'analyse des métaux dans les végétaux après minéralisation par SAA-F et par colorimètre.

Métal	méthodes	[ c ] moyenne	Ecart-type
Cu	Colorimétrie SAA-F	6,13	6,9
		6,82	2,7
Zn	Colorimétrie SAA-F	19,1	35,2
		19	4,2
Ni	Colorimétrie SAA-F	1,32	25 ,6
		1,37	38,2
Pb	Colorimétrie SAA-F	3,53	38,2
		4,26	16,6

Suite aux résultats des travaux de Dr. Djedaiaa qui ont montré que les fruits de *Pistacia Lentiscus L* provenant de El kala sont riches particulièrement en fer (17,3 µg/g M.S), phosphore (10, 3 µg/g M.S) et manganèse (30,5 µg/g M.S), (tableau 15)... Il a aussi noté que l'élément Na possède la quantité la plus élevée (92 µg/g) (tableau 16).

Selon (Kegley 1994) la concentration en éléments minéraux des plantes varie fortement avec le type de sol, le climat, l'origine géographique et le stade de la maturité.

**Tableau 15** : Analyse par SEA-ICP à balayage de quelques éléments métalliques dans le fruit de *Pistacia Lentiscus L* (DjedaiaS, 2018).

Element	Ca	Mg	Fe	Zn	P	Mn	Cu
Teneur en ( $\mu\text{g/g M.S}$ )	2,283	1,301	17,3	15,4	10,359	30,5	12,3

**Tableau 16** : Résultats des analyses du K et Na par SEA-F à double faisceau et à tallon interne ( $\mu\text{g/gM.S}$ ) *L* (Djedaia, thèse 2018).

Element	K	Na
Teneur en ( $\mu\text{g/g M.S}$ )	8,081	92

# Chapitre 04

## Huiles Essentielles du Pistacia Lentiscus L

#### **4 . LES HUILES ESSENTIELLES**

Depuis des milliers d'années, les plantes aromatiques, puis les huiles essentielles, ont été utilisées par l'Homme pour se soigner. La connaissance de leurs propriétés s'est affinée au fil des siècles de manière empirique. Aujourd'hui, le développement des techniques d'analyse permet de connaître la composition chimique détaillée de chaque extrait.

Ce changement a permis d'affiner notre connaissance de l'activité des huiles essentielles, ce qui a considérablement fait évoluer la pratique de l'aromathérapie .(Descheppe Robin 2017)

##### **4 .1. Définition**

Les huiles essentielles, également appelées huiles odoriférantes volatiles , sont des liquides huileux aromatiques extraits de différentes parties de plantes ; les feuilles , les écorces, les fleurs, les bourgeons , les graines ,etc (Tongnuanchan et al, 2014) voire résinoïdes , volatiles, souvent colorées et plus légères que l'eau.

Elles se distinguent des huiles fixes et des principaux lipides en ce sens qu'elles se volatilisent sous l'action de l'air et de la chaleur. (Fabrice B., 1976)

Actuellement, leur utilisation en parfumerie et en alimentation est considérable ; il existe au moins 150 types d'huiles essentielles commercialisées sur le marché international (kusuma et al 2017) c'est pourquoi certaines organismes de normalisation (A.F.N.O.R et I.S.O) ont donné une définition beaucoup plus précise des huiles essentielles .

Ce sont des produits généralement odorants, obtenus soit par entraînement à la vapeur d'eau de végétaux ou de parties de végétaux, soit par expression du péricarpe frais de certains citrus. Cette définition est restrictive : elle exclut d'une part les produits odorants d'origine animale, et d'autre part les essences obtenues selon d'autres procédés d'extraction. (Paris M. et al1981).

## 4.2. Localisation dans le végétal

Les Huiles peuvent se rencontrer dans tous les organes végétaux : sommités fleuries (Lavande, Menthe), écorces (Cannelier), racines (Vétiver), rhizomes (Gingembre), fruits (Anis, Fenouil, Badianier), bois (Camphrier), etc.... Dans une même plante, elles peuvent être présentes à la fois dans différents organes ; la composition des essences peut alors varier d'un organe à l'autre (ex : huiles essentielles de fleurs, de feuilles et de fruits de divers citrus). (Paris M. et al 1981).



**Figure18:**Exemples d'huiles Essentielles issues de différentes parties de plantes Robin Deschepper. 2017

## 4.3. Les sites des essences chez les plantes aromatiques

Le stockage et la synthèse des huiles essentielles peuvent s'effectuer dans des cavités, alvéoles ou poches (cas des hespéridés) comme elles peuvent être localisées dans les cellules sécrétrices isolées (Lauracées), mais on les trouve le plus souvent dans des organes sécréteurs : poche sécrétrices schizogènes ou schizolysigènes (Myrtacées, Rutacées), poils sécréteurs (Labiées, Composées), canaux sécréteurs (Conifères, Ombellifères). (Paris M. et al 1981) (cas des Pinus, des Commiphora, des Boswilli) se situent soit à la périphérie du fruit,

soit dans les tissus plus profonds des racines, des tiges ou des feuilles. Mais il arrive que ces sites consistent en formation très superficielles (poils ou trichomes glandulaires). (Garnero J., 1991).

#### **4 .4. Rôle dans la plante**

pour certains auteurs, les huiles essentielles auraient un rôle attractif vis-à-vis des insectes et favoriseraient donc la pollinisation. Pour d'autres, elles exerceraient une action antiseptique vis-à-vis de certains microorganismes (champignons) et auraient donc un rôle protecteur. (Paris M. et Murabielle M., 1981) Les essences jouent également un rôle pour la plante elle-même. On estime que certains de leurs composants seraient des messagers internes ou encore des intermédiaires du métabolisme de la plante. Enfin, les essences pourraient être des sources d'énergie lorsque l'activité de photosynthèse n'est plus suffisante . (FigueredoG 2007)

#### **4 .5. Facteurs intervenant au cours de l'élaboration chez le végétal et de la production d'une huile essentielle**

Quand on examine une huile essentielle, il faut avoir à l'esprit deux préoccupations principales :

- Le matériel botanique d'où est issue l'huile essentielle.

Le mode d'obtention de l'huile essentielle et les transformations chimiques qui l'accompagnent(Belaïche P., 1991).

##### **4 .5.1.La récolte de matériel végétal**

Le ramassage du matériel végétal pose très souvent le problème de la contamination par d'autres espèces végétales surtout s'il s'agit de plantes à croissance rapide ou de végétaux qui poussent dans des lieux où se trouvent de nombreuses autres espèces végétales (Garnero J., 1991).

Influent également sur la qualité des huiles essentielles la météologie au moment de la récolte, l'heure de la récolte et la période de la végétation. Il ne faut pas récolter par temps couvert ou humide, sous peine de nuire à la qualité (Henri V., 1993).

#### **4 .5. 2. Transformation du matériel végétal**

Le matériel végétal qui va subir l'extraction n'est pas toujours traité immédiatement, des modifications physiques et biochimiques dues à l'action de l'air, du soleil, de l'échauffement peuvent se produire et se révéler fâcheuse pour la qualité de l'huile essentielle, surtout s'il s'agit de fleurs.

Au contraire, on peut utiliser la dessiccation dans certaines conditions pour provoquer l'apparition de constituants olfactivement intéressants. (Garnero J., 1991).

#### **4 .5.3. Origine géographique de la plante**

Une même plante suivant son biotope (composition du sol, conditions climatiques) donne des chémotypes différents (Henri V., 1993).

La connaissance de l'origine géographique de la plante et donc de l'huile essentielle qui en est issue est primordiale pour la traçabilité et pour contrer d'éventuelles fraudes, volontaires ou non.

#### **4. 5.4. Traumatismes provoqués par des agents oxygènes**

La composition de l'huile essentielle varie, selon qu'il s'agit de la plante saine ou de la plante parasitée (Henri V., 1993).

#### **4. 5.5. Culture de la plante**

Il faut noter s'il s'agit de plantes sauvages donnant des produits généralement plus actifs, récoltées loin de régions polluées, ou de plantes cultivées, ces dernières devant être de culture naturelle ou biologique, car les produits organiques utilisés comme pesticides ou désherbants, passent à la distillation. (Garnero J., 1991).

#### **4. 5.6. Chémotype**

Les composés chimiques présents dans une huile essentielle ne sont pas constants. Deux plantes identiques, morphologiquement et caryologiquement, peuvent produire des essences différentes. Ces différences de composition peuvent être extrêmement importantes et changer

les propriétés de l'huile essentielle du tout au tout. De ce fait, il est primordial pour le thérapeute de respecter cette notion (Franchomme Pet al 2001).

Ces entités chimiques distinctes au sein d'une seule et même espèce sont le fruit de l'expression de différentes voies métaboliques présentes chez les individus, elle-même sous l'influence de nombreux facteurs extérieurs (Faucon M(2012)). Les facteurs influençant la composition chimique ne sont pas toujours faciles à appréhender. Des études menées par Granger et Passet sur *Thymus vulgaris L.* ont montré que des plants chimiquement distincts peuvent grandir côte à côte (Granger R., Passet J. 1973).

#### **4.5.7. Conservation**

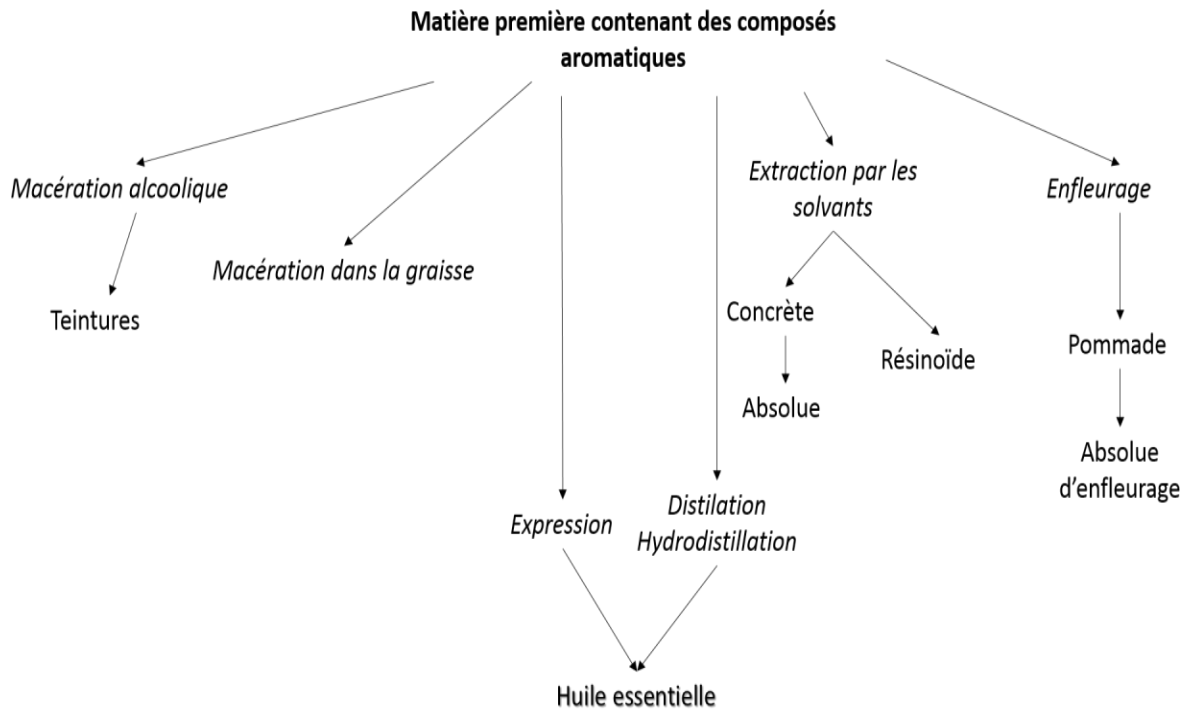
Il est recommandé de stocker les huiles essentielles dans des flacons de faible volume en aluminium, en acier inoxydable ou en verre ambre ou foncé, de manière à les protéger de la lumière (afin d'empêcher les huiles essentielles de s'oxyder et de se transformer ensine). Il faut éviter les forts écarts de température et le contact avec l'air. Dans ces conditions les huiles essentielles se conservent plusieurs années.

Les flacons doivent être stockés en position verticale (en position horizontale, il ya un risque que le bouchon soit attaqué par l'huile essentielle).(Brunton J., 1993.)

#### **4.6. Procédé d'obtention**

Une fois la matière première végétale identifiée, il convient d'utiliser une méthode d'extraction adaptée pour son obtention. La neuvième édition de la Pharmacopée européenne indique que les huiles essentielles sont obtenues par : - Hydrodistillation - Distillation sèche - Procédé mécanique sans chauffage.

Parmi les divers procédés d'extraction des huiles essentielles, deux seulement sont admis par la pharmacopée française (ainsi que par l'A.F.N.O.R et l'I.S.O). La composition chimique d'une huile essentielle obtenue par hydro distillation n'est pas identique à celle qui résulte par une extraction à l'aide des solvants volatils (Henri V., 1993).



**Figure 19 :** Différents extraits aromatiques obtenus à partir de matière végétale (Robin Descheppe 2017)

#### 4. 6.1. Distillation par entraînement à la vapeur d'eau à basse pression

Les plantes sont traversées par de la vapeur d'eau. A la sortie du récipient, cette vapeur qui s'est chargée d'huile essentielle, est condensée dans un serpentín refroidi par un courant froid. Un séparateur ou essencier recueille l'eau et l'huile et permet de retirer cette dernière par différence de densité. (Henri V., 1993).

Une variante de cette méthode appelée hydrodistillation consiste à placer la drogue directement dans l'eau portée ensuite à ébullition. (Paris M. et Murabielle M., 1981).

#### **4 . 6.2. Extraction par expression à froid**

Ce procédé ne peut convenir que pour des écorces fraîches, très riches en essence.

L'expression se fait au moyen de presses hydrauliques, mais on utilise des procédés plus primitifs comme à l'éponge ou à l'écuelle, qui donnent un produit de qualité bien supérieure. (Henri V., 1993).

#### **4 . 6.3. Distillation à haute pression et haute température**

Ce mode de distillation utilisé industriellement pour la parfumerie permet une extraction plus complète des produits volatils en un temps plus court et avec moins de vapeur.

#### **4 .6.4. Distillation à la vapeur d'eau avec entraînement par huiles essentielles**

C'est le seul procédé compatible avec un usage médical. Deux procédés de distillation sont possibles. Ou bien distillation d'un mélange de plantes, ou bien addition d'huiles essentielles naturelles à la plante à distiller. (Henri V., 1993.)

#### **4 . 6.5. Entraînement avec les solvants**

Ce mode d'obtention est à proscrire pour les huiles essentielles à destinations thérapeutiques. Les solvants organiques utilisés sont très dangereux, aussi bien pour l'ouvrier qui les manipule, que pour celui qui absorbe les produits ainsi obtenus. (Henri V., 1993.)

#### **4 . 6.6. Extraction par enfleurage**

Les fleurs sont mises en contact à la température ambiante avec un corps gras (saindoux) qui se sature en essence au bout de quelques jours. La pommade obtenue est épuisée par l'alcool absolu dans lequel les corps gras sont très peu solubles ; puis l'alcool est ensuite évaporé sous vide. (Belaïche P., 1991).

#### 4.6.7. Extraction au CO<sub>2</sub> supercritique :

Dans cette technique, un courant de CO<sub>2</sub> à forte pression fait éclater les poches à essence et entraîne les huiles que l'on récupère. (Belaïche P., 1991).

#### 4.7. Caractérisation et dosage de l'huile essentielle :

La mise en évidence de l'huile essentielle dans les coupes d'organes des végétaux, elle s'effectue à l'aide des colorants lipophiles comme le soudan III qui colore en rouge les gouttelettes d'essence.

Extraction de l'huile essentielle par entraînement à la vapeur d'eau consiste à séparer par hydrodistillation l'essence contenue dans une quantité déterminée du matériel végétal. (Pharmacopée française, 1985).

#### 4.8. Contrôle analytique des huiles essentielles

Les déterminations analytiques les plus courantes sont classées en :

##### 4.8.1. Caractéristiques chromatographiques et spectrométriques

##### 4.8.1.2. Chromatographie sur couche mince (CCM)

La chromatographie sur couche mince est une méthode analytique complémentaire de la CPG, intéressante par sa simplicité et sa mouillabilité. Elle autorise également une analyse sans chauffage et permet donc d'éviter d'éventuelles dégradations qu'il entrainerait.

Dans la CCM, le support utilisé est une plaque en verre ou en aluminium sur laquelle est déposée une fine couche d'un absorbant (par exemple la silice) qui joue le rôle de phase stationnaire et sur laquelle l'échantillon sera déposé. La partie inférieure de la plaque est immergée dans un solvant (phase mobile) qui remonte par capillarité le long de la plaque entraînant les constituants de l'échantillon à des vitesses différentes. Le traitement de la plaque après séchage par un révélateur permet de mettre en évidence les composés séparés qui formeront de petites taches visibles (à la lumière naturelle ou aux ultra-violets), et ainsi de réaliser une analyse qualitative à l'œil nu, l'intérêt de la chromatographie sur couche mince réside dans le très grand nombre de révélateurs pouvant lui être appliqués, permettant de

mettre en évidence un très grand nombre de produits dans les échantillons D'une manière générale, l'adaptation de cette méthode aux technologies actuelles a grandement augmenté sa résolution, bien qu'elle reste inférieure à celle de la CPG (Robin Deschepper 2017).

On cite aussi

- Chromatographie liquide haute performance (HPLC) ;
- Couplage chromatographie en phase gazeuse et spectrométrie de masse (CPG / SM) ;
- Couplage chromatographie en phase liquide et spectrométrie de masse (HPLC / SM) ;

Spectrométrie UV (dans le cas des huiles essentielles d'agrumes). (Garnero J., 1991.)

#### **IV.9. Caractéristiques chimiques des huiles essentielles**

- Indice d'acide.
- Indice d'esters.
- Indice de saponification.
- Alcool libres pour 100 (calculés en alcool le plus important).
- Alcool combinés pour 100 (calculés en alcool le plus importants).
- Indices de carbonyle.

Quelques dosages chimiques particuliers. (Garnero J., 1996).

#### **4.10. Composition chimique de l'huile essentielle**

La composition chimique d'une huile essentielle est assez complexe.

On y trouve généralement de nombreux constituants. Ceux-ci appartiennent principalement à deux grands types chimiques :

- Les composés terpéniques.
- Les composés aromatiques dérivés du phénylpropane.

##### **4.10.1.1. Composés terpéniques**

Ils sont formés d'unités isopréniques (en C<sub>5</sub>)

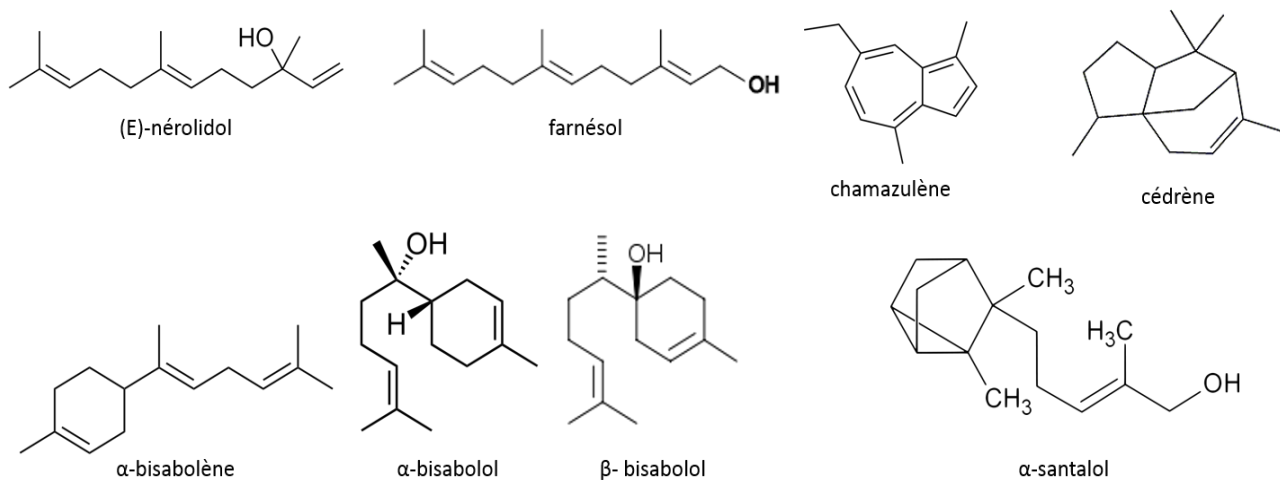
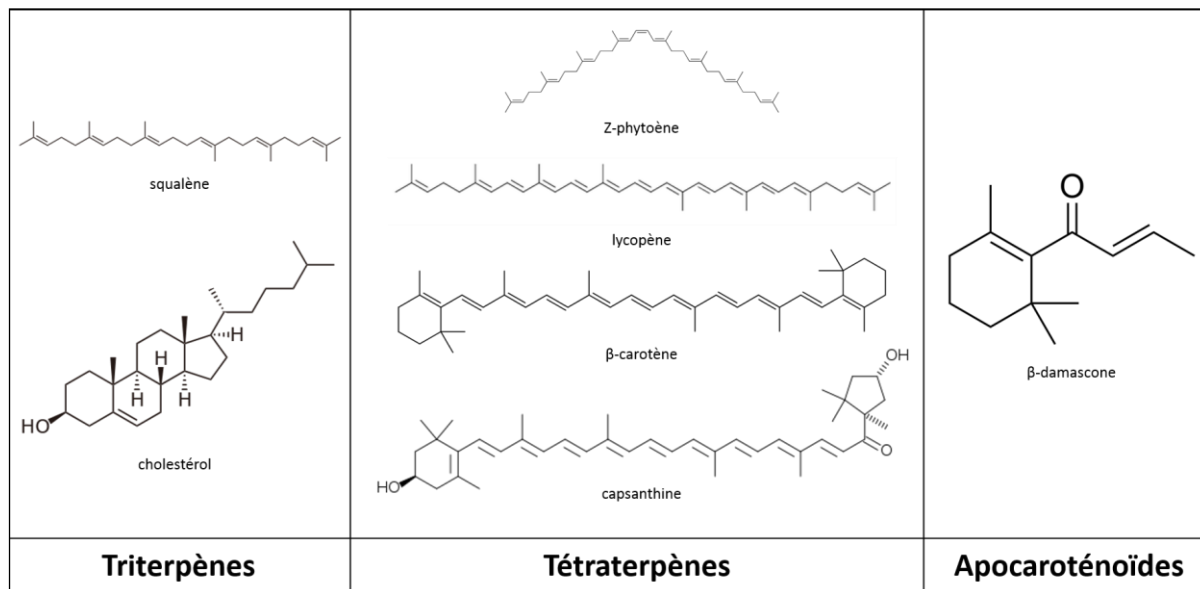


Figure 20 : Diversité des monoterpènes

Structures acycliques	<p>Z-β-ocimène    E-β-ocimène      géranol      linalol      citronellol</p>
Structures monocycliques	<p>p-menthane    limonène    α-terpinène    β-terpinène    γ-terpinène    terpinolène    p-cymène    thymol    carvacrol</p>
Structures bicycliques	<p>bornane    carane    isocamphane    fenchane    pinane    α-pinène    β-pinène</p> <p>thujane    α-thujone    β-thujone    1,4-cinéol    1,8-cinéol    ascaridol</p>
Structures tricycliques	<p>tricyclène</p>

Figure21: Diversité des sesquiterpènes

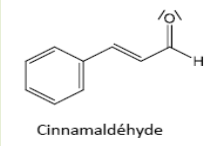
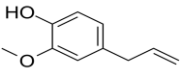
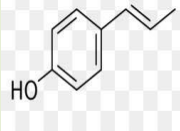
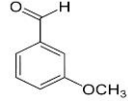


**Figure22:**Exemple des structures tri-tétraterpéniques et leur dérivés

#### 4.10.1.2. Composés aromatiques dérivés du phényl propane

Les huiles essentielles renferment aussi des composés aromatiques plus particulièrement des composés « phénylpropanoïdes » dont la biogenèse est différente de celle des terpènes. On peut citer :

- L'acide et l'aldéhyde cinnamiques (Essence de Cannelle) ;
- L'eugénol (Essence de Girofle) ;
- L'anéthol et l'aldéhyde anisique (huiles essentielles de Badiane, d'Anis et de Fenouil) ;
- L e safrole (huile essentielle de Sassafras)

Composé	Structure
Aldéhyde cinnamique	 Cinnamaldéhyde
Eugénol	
Anéthol	
Aldéhyde anisique	

**Figure 23:** Exemples de structures de composés aromatiques rencontrés dans les huiles essentielles ( Paris M. et Murabielle M., 1981)

#### 4.10.1.3. composés divers

Entrent également en faible proportion dans la constitution des huiles essentielles :

Des acides organiques de faible poids moléculaire : acides acétiques, valériques et isovalériques, ...etc... etc.

Des cétones de faible poids moléculaire, des coumarines volatiles (ex : bergaptène). (Paris M. et al1981)

#### 4.10.2. Composition chimique Huiles essentielles des feuilles de *Pistacia Lentiscus L*

composition chimique de cette huile comme pour toutes les plantes aromatiques, varie selon la provenance du végétal et selon le mode d'extraction.

Une étude bibliographique sur les huiles essentielles de *Pistacia Lentiscus L* a montré la richesse en monoterpènes et en sesquiterpènes, les diverses études sur la composition chimique des huiles essentielles (fruit et feuille) de cette espèce ont été décrites

et (Derwiche E et al 2010) – (Koutsoudaki Cet al 2005). une grande variabilité chimique a été rapportée.

Elhoussine Derwich et coll. (Maroc) ont identifié 23 composés représentant (77.22 %) de la composition chimique totale, les principaux constituants sont: les monoterpènes ( $\alpha$ -pinène 24.25 %, bêta- pinène 12.58 %, limonène 7.56 %), terpinene-4-ol 6.98 %, caryophellene 3.15 %, camphene 2.32 %, myrcene 2.09 % (Derwiche E et al 2010) .

Hassan Amhamdi et coll. (Maroc) ont trouvé que l'huile essentielle de *Pistacia lentiscus L* contient 57.9 % des mono terpènes où les principaux composés sont: myrcene (39.2 %), limonène (10.3 %),  $\beta$ -gurjunene (7.8 %), germacrene D (4.3 %),  $\alpha$ -pinène (2.9 %), alpha-murolene (2.7 %), epi bicyclosesquiphellandrene (2.5 %), cadinene (2.5 %),  $\beta$ -pinène (2.2 %), terpinen-4-ol (1.6 %), cadinol (1.2 %),  $\beta$ -elemene (1.0 %) (Amhamdi H.et al 2009).

L'étude réalisée par Barazani et coll. sur l'extrait t-butyle méthyl éther d'huile des feuilles de *Pistacia Lentiscus L* a montré la présence de 12 monoterpènes, 7 sesquiterpènes et un seul monoterpène linéaire,  $\alpha$ -pinène, sabinene, limonène, caryophyllene et D-germacrene sont des composés majoritaires (Barazani O.et al , 2003).

Le travail de Castola et al, effectué sur 105 échantillons des huiles essentielles des feuilles de *Pistacia lentiscus L*, a révélé la présence de constituants majoritaires comme myrcene, limonène, terpinen-4-ol,  $\alpha$ - pinène, et  $\alpha$ -phellandrene (Castola V et al. 2000).

L'étude physico-chimique (CPG et GC-MS) réalisée par Duru et coll. a prouvé la présence de  $\alpha$ -pinène,  $\beta$ -pinène, limonène, terpinén-4-ol, et  $\alpha$ -terpinéol comme constituants majoritaires des huiles essentielles des feuilles de *Pistacia Lentiscus* (Duru M.E. et al 2003), Une autre étude réalisée par Ana Fernandez et coll. (Espagne) a montré la composition chimique des huiles essentielles de *Pistacia lentiscus* et a identifié 73 composés (85.4 % de l'huile) et de (35 %) monoterpènes hydrocarbonés, parmi ces composés majoritaires:  $\alpha$ -pinène (13.0 %),  $\beta$ -caryophyllene (6.9 %), limonène et p-phellandrene, (5.4 %),  $\beta$ -pinène (4.9 %) et p-cymene (4.7 %)(Fernandez A. et al 2000).

En Algérie, une étude phytochimique (Dob. et coll.) a été effectuée sur les huiles essentielles obtenues à partir des parties aériennes de *Pistacia Lentiscus L* des régions d'Alger, Tizi-Ouzou et Oran) par l'utilisation des méthodes CPG, GC-MS.

Les résultats indiquent la présence de longifolene comme composé majoritaire dans les huiles d'Alger (12.8 %) et de Tizi Ouzou (16.4%), tandis que  $\alpha$ -pinène (19.0 %) constitue le principal constituant de l'huile d'Oran. Les autres composés étaient présents en quantités moins importantes, l'huile d'Alger:  $\gamma$ -cadinene (6.2 %), trans- $\beta$ -terpinéol (5.0 %) et  $\alpha$ -acomeol (4.6 %), l'huile de Tizi-Ouzou: trans  $\beta$ -terpinéol (15.6 %), terpinén-4-ol (7.0 %) et  $\gamma$ -murolole (5.7 %), l'huile d'Oran: trans- $\beta$ -terpinéol (13.1 %), sabinene(12.6 %) et  $\beta$ -pinène (6.5 %) ( Dahmane Tet al 2006).

L'analyse réalisée par Benyoussef et coll. (Algérie) a indiqué la présence de terpinen-4-ol,  $\alpha$ -terpineol et D-germacrene comme composés majoritaires( Benyoussef E et al 2005). L'étude d'Amri et coll. (Tunisie) sur la composition des huiles essentielles de feuilles de *Pistacia Lentiscus L* a montré la présence de 27 composés, dont 63.9 % sont des monoterpènes où les principaux constituants sont:  $\alpha$ -pinène 20.6 %, limonène 15.3 %, bêta-pinène 9.6 %, terpenen-4-ol 8.2 % et 19.6 % de sesquiterpènes représentés par

D-germacrene 8.4 %, (Amri I et al 2012).,  $\neg$  Les huiles du chemotype  $\alpha$ -pinène ont été signalées au Maroc(Derwiche E.et al 2010), en Espagne, en Algérie (Oran), et en Tunisie.

#### 4.11. Propriétés physiques

les huiles essentielles ont des propriétés physiques communes, qui peuvent cependant varier en fonction de leur composition chimique (Franchomme P., Et al 2001.).

À température ambiante, les huiles essentielles sont liquides. Il existe cependant des exceptions. Par exemple, l'huile essentielle est visqueuse chez la myrrhe (*Commiphora myrrha* (T. Nees) Engl.), pâteuse pour le bois de gaiac (*Bulnesia sarmienti* Lorentz ex. Griseb.), solide pour le cèdre de Virginie (*Juniperus virginiana* L.) ou parfois la rose (*Rosa x damascena* Mill.) ou encore un mélange solide-liquide lorsqu'elle est extraite de la badiane (*Illicium verum* Hook. F.) (Fernandez X. et al 2012, ).

C'est ce qui les rend entraînaibles à la vapeur et particulièrement odorantes. Ce caractère les différencie aussi des huiles végétales grasses ou « fixes ». La volatilité étant très liée à la composition chimique, les monoterpènes sont par exemple beaucoup plus volatiles que les sesquiterpènes (Kaloustian J. et al, 2012 )

La plupart des huiles essentielles ont une couleur jaune presque imperceptible. Elles foncent au cours de leur vieillissement (oxydation). Dans certains cas extrêmes, les huiles essentielles vieilles et oxydées présentent un risque toxique important (Kaloustian J. et al, 2012 ) (Faucon M 2012).

La densité ou densité relative d'une huile essentielle est le rapport de sa masse volumique à la masse volumique de l'eau distillée, à 20°C. Cette grandeur sans dimension est mesurée selon la norme NF T 75-111 à l'aide d'un pycnomètre. La densité des huiles essentielles est très souvent inférieure à 1 (densité de l'eau) et varie en fonction de leur composition chimique.

Elle en est parfois très proche comme celle du zeste de mandarinier (*Citrus reticulata* Blanco: 0,9929), de santal blanc (*Santalum album* L.: 0,9741), ou d'écorce de cannellier (*Cinnamomum verum* J.Presl. : 1,0027).

Quelques huiles essentielles ont même une densité très supérieure à l'eau, par exemple celle de gaulthérie couchée (*Gaultheria procumbens* L.: 1,1807) ou d'oignon (*Allium cepa* L.: 1,54 à 1,58) (Franchomme P. et, 2001).. (Fernandez X. et, 2012).

L'indice de réfraction reflète le changement de direction subi par un rayon lumineux passant d'un milieu optique à un autre (par exemple de l'air à l'huile essentielle), à 20°C. Il s'agit d'une grandeur sans unité, qui se mesure avec un réfractomètre d'après la norme NF T 75-112. Dans le cas des huiles essentielles, l'indice de réfraction est généralement élevé. On peut donner comme exemple l'huile essentielle d'écorce de cannellier (*Cinnamome verum* J.Presl.) dont l'indice de réfraction est compris entre 1,573 et 1,591 (Franchomme P. et al 2001).. (Fernandez X. et al 2012).

Peu soluble dans l'eau, elles lui communiquent cependant leur odeur ; elles sont solubles dans les alcools de titres élevés, l'éther, le chloroforme, les huiles fixes, les émulsifiants et dans la plupart des solvants organiques. Leur solubilité est totale dans les huiles grasses qui représentent leurs meilleurs solvants, elle est très grande dans les alcools à titres élevés et dans les solvants organiques (Franchomme P. et 2001)

Elles sont très altérables, sensibles à l'oxydation (mais ne rancissent pas). Elles ont tendance à se polymériser. Elles ont donc une conservation limitée (Fabrice B., 1976).

#### **4.12. Propriétés physiologiques**

La diversité des constituants présents dans les huiles essentielles entraîne des activités physiologiques variées :

- Au niveau du tube digestif : certaines huiles essentielles sont des stomachiques, eupeptiques, carminatifs ; d'autres sont cholagogues ou cholérétiques ; d'autres encore sont vermifuges.
- Au niveau du système nerveux central : quelques-unes ont des propriétés stimulantes ; d'autres sont sédatives.
- Au niveau des voies urinaires et respiratoires : certaines ont des propriétés antiseptiques.
- Au niveau du système endocrinien : certaines ont des propriétés oestrogéno-stimulantes ; d'autres stimulent les hormones mâles.
- Au niveau du système cardio-vasculaire : certaines ont un effet vaso-constricteur (hypertensives) d'autres encore ont effet vaso-dilatateur (hypotensives).

En usage externe, d'autres, enfin, sont actives comme anti inflammatoire, cicatrisant. (Henri V., 1993).

#### **4.13. Emplois**

##### **4.13. .1. En pharmacie**

Les huiles essentielles peuvent être utilisées :

- Pour leurs actions physiologiques.
- Pour l'isolement de certains constituants (eugénol, pinènes, etc....).

Comme excipients de nombreux médicaments (adjuvants ou aromatisants).

(Paris M. et al. 1981)

#### **4.13. 2. Dans l'industrie**

- Parfumerie et cosmétologie : Préparation des parfums, des produits cosmétiques et des produits d'hygiène.
- Les industries agro-alimentaires : Les huiles essentielles sont très utilisées comme aromatisants des aliments (jus de fruits, pâtisseries).

Dans diverses industries : Surtout chimique, qui utilisent des isolats comme matières premières pour la synthèse de principes actifs médicamenteux, de vitamines...etc.(Bruneton J., 1987).

#### **4.14. Toxicité**

Les huiles essentielles contiennent des milliers de composants : elles sont très efficaces, mais aussi très dangereuses. Certains composants aromatiques peuvent être dangereux : nocifs, allergisants, tératogènes, ou cancérigènes. L'emploi de solvant peut se révéler dangereux : certains solvants comme le Benzène sont extrêmement dangereux.

# PARTIE 2

## ETUDE EXPERIMENTALE

# Huiles Végétales

du *PISTACIA LENTUSCUS L*

## 1. MATERIEL ET METHODES



**Figure 24 :** l'endroit de la récolte du *Pistacia Lentiscus L*

Les conditions de recolte des fruits de Pistaciaea Lentiscus sont consignées dans le tableau 17.

**Tableau 17 :** recaptulatif des conditions de recolte

Nom botanique	Date de la récolte	Lieu	Organes	Stade de développement	Milieu végétatif
<b>Pistacia</b>	Décembre 2016	Collo	Fruits entiers	Fruits murs	Foret

Immédiatement après la récolte les fruits sont lavés à l'eau de robinet au niveau du laboratoire et essuyés pour l'enlèvement des débris cellulaires responsables de leur qualité.

On a fait une coupe longitudinale de la pulpe du *Pistacia Lentiscus L* voir schémas 25 et 26 afin d'énumérer les différents tissus tout en précisant la partie sur laquelle on a projeté notre orientation de notre étude sur l'épicarpe .

Après pelage on récupéré le tissu qui est l'épicarpe cette dernière est plongée dans l'azote liquide pour avoir une stabilisation de point chimique cette cryogenation est primordiale dans car elle évite la formation des cristaux de glace en provoquant l'éclatement des cellules.

Les résultats de nos expériences à savoir l'analyse physico-chimique de la pellicule du fruit du Pistacia Lentiscus L et la détermination de la matière grasse sont consignés dans les tableaux suivants :

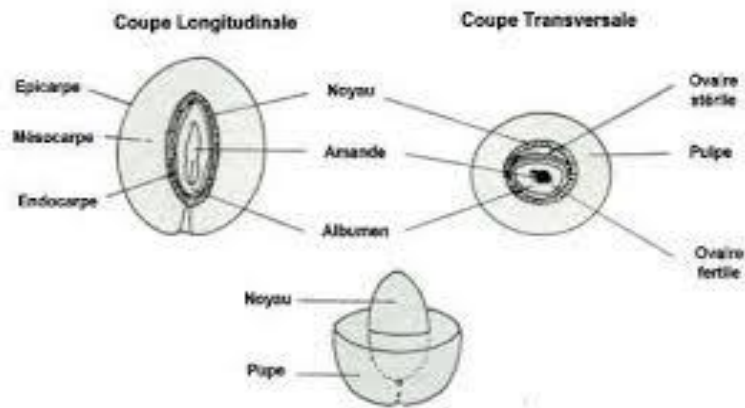


Figure 25 : coupe longitudinale du fruit

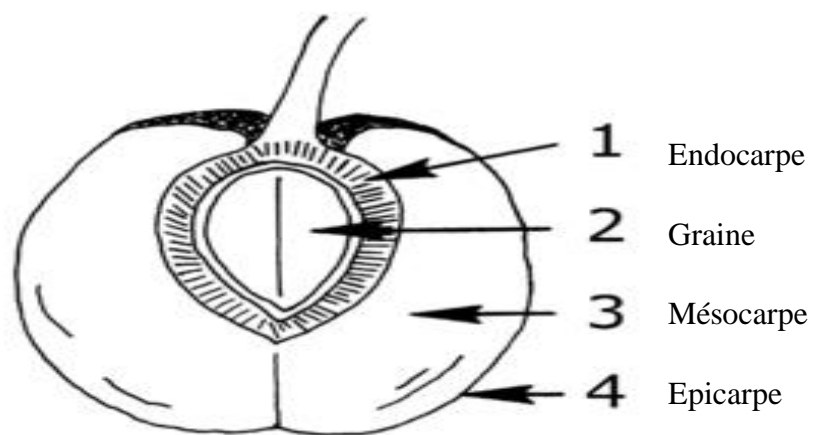


Figure 26 : Section Du Fruit

## 1 Préparation de l'échantillon végétal

### 1.1. Séchage

notre échantillon a été étalé sur une paillasse et séché à l'aire libre pendant une journée .

### 1.2. Broyage

la pellicule(épicarpe) a été broyé à l' aide d' un moulin à café pour une uniformisation d'une poudre homogène puis c' est avec une tamiseuse qu'on a subi une répartition granulométrique afin de récupérer des granulés à 25µm de diamètre .

## 2. Analyse physico-chimique de la pellicule

### 2.1. Détermination du pourcentage d'humidité par la méthode physique d'étuvage(Norme AOAC 950.11 1990 )

Un gramme d'échantillon est séché par étuvage à 105°C pendant 4 heures ( jusqu à masse constante ) puis refroidit pendant 1 heure au dessiccateur la perte de masse observée à l'étuvage est assimilée à la masse d'eau contenue dans le produit les résultats sont en gramme d' eau /pour 10 g d' échantillon.

### 2.2. Estimation du taux de cendres(AOAC 923.03)

5g d'échantillon ont été introduit dans un creuset puis mis dans un four à moufle de type heraeus jusqu' à calcination complète (600°C) pendant 3 heures les cendres obtenues sont pesées et le résultat est exprimé en % poids de cendres par la teneur en rapport au poids initial de l'échantillon.

$$\% \text{ du cendre} = \frac{\text{masse de la capsule avec cendre} - \text{masse de la capsule vide}}{\text{masse du fruit séché}}$$

### 3. Détermination de la teneur en éléments métalliques

les méthodes spectrométriques atomiques ont permis de doser la plupart des éléments minéraux dans notre échantillon avec un maximum de rapidité et précision, parmi ces techniques nous avons utilisé la spectrométrie d'absorption atomique à flamme (SAA-F) et la spectrométrie d'émission atomiques à source à plasma inductive (SEA-ICP).

### 4. Analyse des éléments métalliques

la SEA-ICP est une technique relativement récente permettant d'analyser en une seule acquisition plusieurs éléments dans un échantillon, le fruit du *Pistacia Lentiscus L* est une substance complexe et riche en matière organique son analyse par SEA-ICP nécessite la minéralisation de l'échantillon.

#### 4.1. Appareillage

L'appareil utilisé est un spectromètre d'émission atomique avec une source plasma à couplage inductif (ICP- SEA) de type JOBIN YVON (JY38) cet appareil est constitué<sup>1</sup>

- ✓ Un générateur qui fournit l'énergie nécessaire à l'obtention et au maintien du plasma/argon.
- ✓ Une alimentation en gaz d'argon.
- ✓ Système d'introduction de l'échantillon.
- ✓ Système optique composé d'un système d'éclairage et d'un dispersif pour séparer les

**Tableau 18** : paramètres expérimentaux de la SEA-ICP

Paramètre expérimental	Valeur
<b>Puissance</b>	100W
<b>Débit gaz auxiliaire</b>	1,5L/mn
<b>Pression nébulisation</b>	200Kpa
<b>Débit gaz plasmagène</b>	12L/mn
<b>Délai de stabilisation</b>	20s
<b>Temps de lecture par réplique</b>	5s
<b>Vitesse de pompe</b>	15tour/mn

**Tableau19** : longueur d'onde des raies étudiées des éléments chimiques

élément	$\lambda(\text{nm})$
<b>Al</b>	396,12
<b>B</b>	208,59
<b>Ca</b>	317,933
<b>Cu</b>	327,396
<b>Fe</b>	374,556
<b>K</b>	766,480
<b>Mg</b>	279,806
<b>Mn</b>	280,106
<b><sup>2</sup>Na</b>	330,237
<b>Zn</b>	213,856

#### 4 .2.Produit et réactifs

-acide nitrique 30%(V/V) de marque prolabo.

-eau oxygénée 30%(V/V)de marque sigma

### 4.3. Minéralisation de l'échantillon par voie sèche

On pèse 0,5g de cendre que l'on introduit dans 50ml d'eau bi distillée et 20ml d'acide nitrique puis on agite jusqu'à dissolution **complète** ; puis on transvase le contenu dans une fiole de capacité de 100ml et compléter à l'eau bidistillée jusqu' au trait de jauge .on prélève 1ml de cette solution et l'on introduit dans une fiole de capacité 50ml et on ajoute 2ml d'acide concentré et compléter au trait de jauge avec de l'eau bi distillée , cette solution sera analysée Par SEA-ICP, on a utilisé un étalon interne  $\text{Li}_2\text{CO}_3$ .

La solution étalon est SPEX-QC 19 contenant 10 0 mg de(Al,Ag,As, Zn ,Pb, Fe,Cu, Mg Mn, Cd ,Ni ,Ca ).

### 4.4.Dosage du Zn, Mg , Fe , Cu par SAA-F

selon le journal officiel de la communauté européenne (03/10/1990) on a utilisé la spectrométrie d'absorption atomique à flamme pour analyser les éléments suivants (Zn ,Mg ,Fe, Cu).

#### 4.4.1. Réactifs

- Acide chlorhydrique et acide nitrique marque prolabo.
- Zinc en métal de *Riedel-de-Haën*.
- Magnésium (98%) Janssen chimica .
- Chlorure de Fer (III) anhydre pourcentage 41%et densité  $d=1,45$  marque prolabo .
- Cuivre en métal Fluka .

#### 4.4.2. Appareillage

l'appareillage utilisé est un spectromètre absorption atomique de marque PERKLIN ELMER menu de lampes à cathode creuse de Zinc .

Les paramètres expérimentaux de la SAA-F sont regroupés dans le tableau.

Tableau 20 : paramètres expérimentaux de SAA-F

	<b>Zn</b>	<b>Mg</b>	<b>Fe</b>	<b>Cu</b>
<b>λ nm</b>	214	285,2	248,3	325,1
<b>Courant lampe mA</b>	18	14	28	34
<b>Nature de la flamme</b>	Air acétylène	Air acétylène	Air acétylène	Air acétylène
<b>Domaine de linéarité mg/l</b>	0,1 - 0,8	0,2 - 1	1 - 4	0,1 - 1

#### 4.4.3. Solutions étalons

les solutions concentrées à 1mg/ml sont préparées à partir de Triti-sol Merck, les dilutions ultérieures sont effectuées à l'eau distillée additionnée de 5% d'acide nitrique concentré de densité 1,38. Pour Cu, Zn, Fe, les solutions à 1mg/ml sont utilisées sans dilution : 1µl correspond à 1µg.

Pour Mg on préparé une solution à 0,1mg/ml par addition de la solution concentrée ( 20ml complété à 200ml) : 1µl correspond à 0,1µg.

#### 4.5. Minéralisation par voie humide

l'attaque de l'acide nitrique HNO<sub>3</sub> de notre échantillon est nécessaire avant les mesures d'absorbances est commune pour les quatre métaux = Zn, Mg, Fe, Cu elle a pour but de détruire la matière organique et de mettre les éléments à analyser dans leur état ionique le plus oxydé.

### 5. Mise au point d' une méthode d' extraction de l huile extraite de la pellicule ( travail personnel au laboratoire)

La séparation des constituants organiques d'un matériel végétal exige en général le passage par une phase d'extraction solide- liquide .c 'est le cas de l'huile extraite de la pellicule issu du *Pistacia Lentiscus L.*

Avant toute considération il convient de définir l'état de la matière végétale .c'est ainsi le *Pistacia Lentiscus L* peut être soit à l'état vert , soit en cours de transformation , soit stabilisé, ces états correspondent aux stades de la récolte, du séchage et de la fermentation .

Les facteurs qui influencent l' extraction sont nombreux certains entre eux sont prépondérants c' est ainsi que la solubilité des composés à extraire est une caractéristique de première importance par contre d 'autres n ont qu une action complémentaire en ce sens que en mise en œuvre permet seulement d optimiser le rendement , il s'agit des paramètres physiques telle que la température le mode d'agitation la durée de traitement il est difficile d' étudier chaque effet individuellement d autant plus certains d entre eux sont liés.

Donc nous nous sommes intéressés à une méthode d'extraction qui a été mise au point au laboratoire sur un échantillon stabilisé à l'aide d'un extracteur Soxhlet permet un excellent rendement en utilisant un solvant apolaire (AWARD 1979) ce mode opératoire proposé a un avantage qui réside dans la possibilité d'effectuer l'extraction de l'échantillon et la purification de l'extrait en une seule opération ,grâce à un solvant apolaire .

### **5.1. Extracteur de Soxhlet**

Réactifs Pentane 99% pour analyse de marque prolabo, adsorbant de purification des échantillons on a utilisé le florisil (60-100 mesh astmi) traité au four à 600°C pendant 4 heures puis désactive partiellement à 2% d'eau.

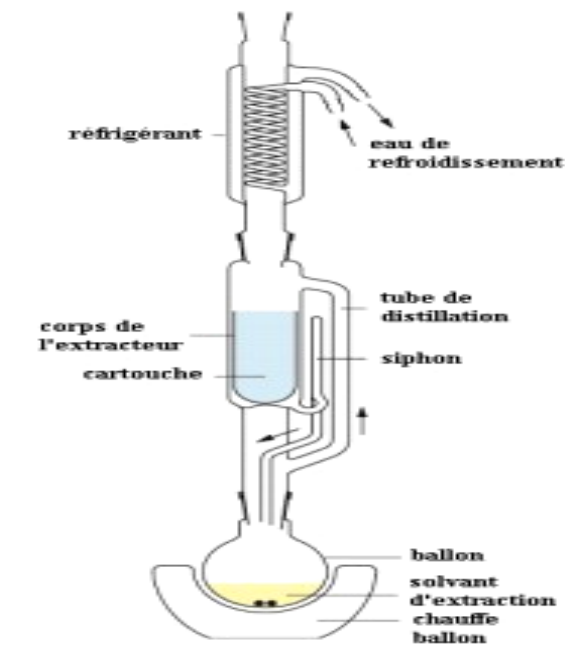


Figure 27 : extracteur Soxhlet pour extraire la matière grasse

## 5.2. Protocole expérimental

On pèse 10g de notre échantillon que l'on introduit dans une cartouche puis 5g de Florisil dans la nacelle et 250ml de pentane dans ballon rode de capacité de 300ml on fixe la température à 50°Cet on laisse l'extraction pendant 6h on arrête l'extraction puis on retire le ballon que l'on lui introduit une pincée de Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhydre et on fait une évaporation à l'aide d'un rotavap pour chasser le solvant .

L'expression de la teneur en huile est donnée par la relation suivante

$$\%M_G = M_1 / M_0 \times 100$$

M<sub>0</sub> = masse en gramme de la prise d 'essai .

M<sub>1</sub> = masse de l'extrait.

## 6 .Détermination des indices caractéristiques de l'huile de Pistacia Lentiscus L

### 6 .1.Indice d'iode (AOAC 920,159 ,1997)

L' indice d' iode est le nombre de grammes d' iode fixé sur les doubles liaisons de 100g de corps gras , ils nous éclaire sur les quantités d' acides gras insaturés présents dans un corps gras le dosage consiste à faire réagir une solution halogénante le réactif de WIJS sur l' échantillon dissous dans CCl<sub>4</sub> puis on ajoute une solution de KI afin d extraire l'iode en excès dans la phase aqueuse et l'on titre par Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub>à 0,1N , la réaction est accélérée par l'emploi d' un catalyseur d' acétate mercurique dans l'acide citrique .

$$I = (V_0 - V) \times N \times 12,69/g \text{ de matière grasse}$$

V<sub>0</sub> = Volume titre Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub> à blanc

V = volume Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub> à titrer l'essai

N = Normalité de Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub>

### 6.2. Indice de Saponification AOAC norme 920, 160 ,1997

L'indice de saponification correspond au nombre de mg de KOH nécessaire pour estérifier 1g de matière grasse , il indique la quantité d'acides gras totaux présents dans un corps gras 1g d'échantillon dissous dans une solution de KOH (0,5 M) dans l'éthanol sont introduits dans un erlenmeyer qui est connecté à un condensateur à air et porté à ébullition pendant 30minutes , l'excès de KOH est titré par HCl (0,5N) en présence de la phph.

$$I_s = 28,05 (V_0 - V)/g \text{ de matière grasse}$$

### 6.3. Indice d'Acide AOAC Norme (969,17 ,1997)

L'indice d'acide c'est le nombre de mg de KOH nécessaire pour neutraliser l'acidité libre 1g de matière grasse , 0,5g est dissous dans un mélange d'éthanol/ éther di éthylique (1 : 1 vol /vol ) le titrage est réalisé avec KOH ( 0,1 N )en présence de phénolphtaléine l'indice d'acide se détermine alors .

$$I_A = V \times N \times 56.11/g \text{ de matière grasse}$$

V : volume de KOH(ml) à la neutralisation des acides gras libres.

N : normalité de KOH.

l'acidité correspond en pourcentage d'acide gras libres exprimé en pourcentage d'acides gras libres exprimé en pourcentage d'acide oléique

$$(\% \text{acide oléique}) = (I_A \times 282) \div 56,11) \times 100$$

### 6 .4.Indice de Peroxyde norme 965,33 , 1997

Il correspond à la quantité d'oxygène actif du peroxyde contenu dans une certaine masse de produit capable d'être libéré dans les conditions d'expérience, 1g de produit sont dissous dans CHCl<sub>3</sub> est CH<sub>3</sub>COOH, l'iode libère avec Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub> (0,02 N) en présence d'empois d'amidon.

$$I_P = ( V - V_0 ) \times N / g \text{ de matière grasse}$$

### 6.5. Indice de Réfraction

Ce paramètre dépend en premier de la composition chimique et deuxièmement de la température, il croît avec l'instauration sur les chaînes grasses. Sa mesure se fait à l'aide d'un réfractomètre de type ABRE (AFNORE 1984) une petite quantité d'huile prélevée à l'aide d'une pipette que l'on dépose sur la face horizontale du prisme réfractométrique et on rabat avec précaution le prisme mobile.

L'indice de réfraction est donnée par la relation suivante

$$\eta^{20}_D = \eta^t_D + (t - 20) \times 0,004$$

t : température ambiante de laboratoire

D: la raie de sodium 0,004 Indice de réfraction quand la température varie de 1 °C

### 7. Détermination de la Couleur Lovibond

C'est la détermination des pigments responsables de la couleur d'huile.

Le Lovibond possède trois types de verres à savoir, bleu, rouge, jaune. Chaque verre porte une énumération de son unité Lovibond et ses indicatives additives par comparaison entre la couleur de notre échantillon placé dans la cuve avec celle des verres à l'aide d'un monoculaire par superposition des verres en série. Jaune, bleu, rouge existe une égalité des séries jaune, rouge, bleu donc la couleur de notre échantillon doit correspondre au moins à l'une des couleurs.

### 8. Extinction Spécifique en UV

L'absorption dans UV est l'un des méthodes d'évaluation de l'état d'oxydation de l'huile extraite de la pellicule. Les méthodes UV reposent sur la détermination de l'extraction à 232nm et à 270nm qui correspond à l'absorption maximale de la décomposition de l'huile.

**a) Mode opératoire**

0,20g d'huiles sont dissous dans 25ml cyclohexane l'absorbance de la solution est assurée dans une cuve à Quartz à l'aide d'un spectrophotomètre UV/Visible le de type UNTCAM HELIOS aux longueurs d'onde spécifique 232 nm et 270nm .

Les coefficients d'extinction  $K_{232}$  et  $K_{270}$  sont exprimés par l'équation.

$$K = A\lambda / C * I.$$

K : extinction spécifique à la longueur d'onde  $\lambda$ .

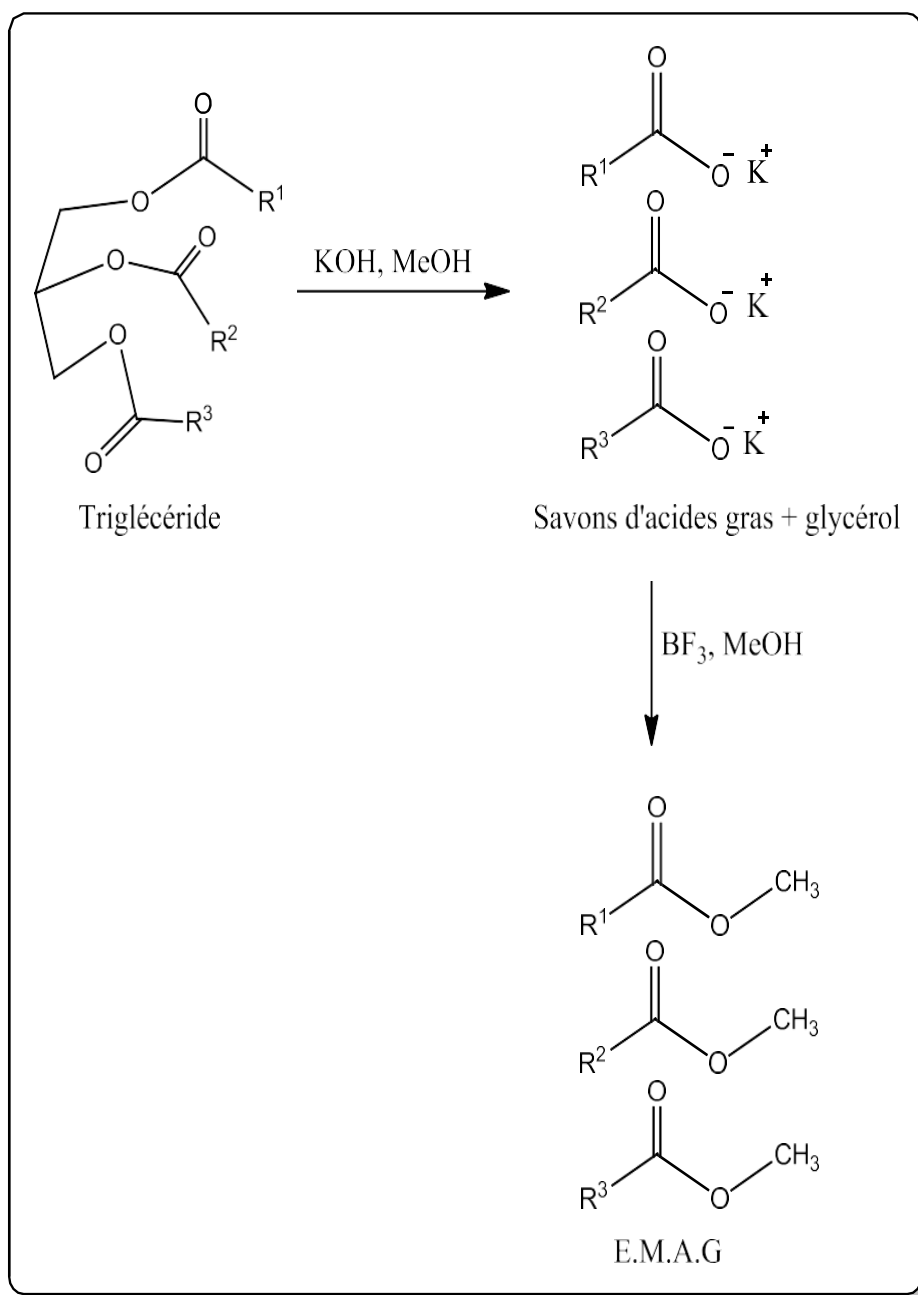
$A\lambda$  : Absorbance mesurée à la longueur d'onde  $\lambda$  .

I : épaisseur de la cuve en cm.

C : concentration de la solution g/100ml.

**9 .Préparation des esters méthyliques des acides gras**

La méthode que nous avons utilisés est la transesterification à froid au moyen d' une solution méthanolique de sodium dans un tube à vis de 10ml on introduit 0,5ml d' huile plus 1ml d heptane et on agite puis on ajoute 0,1 ml de méthanolique de sodium à 2N suivi par une forte agitation puis on procède à une décantation pour récupérer la couche supérieure renfermant les esters méthyliques .



**Figure 28 :** Réaction de saponification et méthylation des triglycérides, Aurélie EUDE

### 10. Analyse par chromatographie à phase gazeuse GC-MS

une masse de 0,5 mg de l'extrait dilué dans 50ml d'hexane sont injectés (0,2 $\mu$ l à l'aide d'une micro seringue ) dans le dispositif d'introduction directe d'échantillon de l'appareil GC-MS .

La programmation de T° suivante appliquée en plateau d'une minute à une T° constante de 70°C puis un chauffage rapide de 20°C /mn jusqu'à on atteint 200°C et un plateau de 260°C .

Les analyses ont été faites sur le chromatographe Hewlett Packard 5890, équipé d'une colonne HPS (30m de 0,025mm, 0,25 $\mu$ m) le débit d'un gaz vecteur Helium a été réglé à 20 ml/mn en sortie de la colonne et la durée totale de l'analyse est de 30mn .

Le spectromètre de masse a été réglé en mode par analyse complète ( Full Scan) entre 50 et 600 unités de masse atomiques à une vitesse de scan 0,5scan/s

On applique le mode d'ionisation à 70eV , avec un courant de 10  $\mu$ A .

Les composants ont été identifiés en se basant sur les données et en comparaison de leur temps de rétention et aux spectres de masse avec ceux des normes de la base NBS75K du système GC-MS et de données de littérature ADAMS 2001 .

### 11. Evaluation de la Teneur en P

la teneur en phosphore a été déterminé par la méthode MISTON après minéralisation d'un gramme de notre échantillon pendant une nuit à 560°C dans des creusets en porcelaine , le phosphore est alors transformé en ortho phosphate inorganique les cendres sont solubilisés dans 5 ml de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> concentré , cette solution est versée dans une fiole de capacité de 250ml complétée à l'eau distillée , on fait réagir en milieu réducteur du molybdate d'ammonium en formant la phosphomolibdate d'ammonium de couleur bleue , l'absorbance est mesurée à 650nm contre un gramme allant de 0 à 8 mg /l en 10 points .

## 12. Densité

c'est le rapport de la masse du corps gras à son volume à T° donnée ,elle dépend de la composition chimique et de la taille nous indique le groupe auquel' huile , sa détermination se fait à l'aide d'un pycnomètre selon la norme ( NF 130 6883,1995).

$$D_{20}^{20} = \frac{M_2 - M_0}{M_1 - M_0}$$

$M_0$  = masse en gramme du pycnomètre

$M_1$  = masse en gramme du pycnomètre rempli d'eau

$M_2$  = masse en gramme du pycnomètre d'huile

## 13. Détermination du Point de Goutte

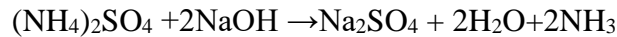
Cette détermination se fait à l'aide d'un appareil ayant un récipient à cellule photoélectrique de type Mettler Toledo Max 400°C, Max 20°C/mm/ on remplit le récipient avec de l'huile puis on chauffe sur une échelle bien définie par 1°C/mm .La première goutte d'huile qui s'esquive par une ouverture au bas du récipient est détectée par la cellule photoélectrique qui affiche la température correspondante

## 14. Evaluation de la teneur en protéines de la pellicule méthode de KHEDJAL (AOAC 960,52. 1997)

### 14.1. Principe et Mode opératoire

On introduit dans un matras (tube de minéralisation) un échantillon de pellicule les échantillons alors sont minéralisés sur une rampe de minéralisation de type Kjeldatherm à 420°C pendant 2heures.

Le produit de minéralisation des substances azotées contient (matières azotées +H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>→(NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), on ajoute dans les matras de la soude 10N en volume égal au volume de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>utilisé pour la minéralisation soit 2ml de façon automatique à l'aide d'un appareil de type microanalyse.



Une combinaison de  $\text{NH}_3$  dégagé avec vapeur de  $\text{H}_2\text{O}$  pour former  $\text{NH}_4\text{OH}$  celui-ci entraîné par la vapeur d'eau se condense dans le réfrigérant est récupéré dans une solution d'acide borique il se forme de  $(\text{NH}_4)\text{BO}_3$  la solution est titrée de façon automatique par  $\text{H}_2\text{SO}_4$  à 0,01N

L'azote total:

$$N_t = (V_1 - V_0) \times M_{N_2} \times N(\text{H}_2\text{SO}_4) \times 100 / 1000 m_e$$

$V_1$  = volume nécessaire à la titration de l'échantillon  $V_0$  = volume nécessaire à la titration du blanc  $M_{N_2}$  = Masse molaire de l'azote 14g/mole  $N(\text{H}_2\text{SO}_4)$  = normalité de  $\text{H}_2\text{SO}_4$   $m_e$  = masse de l'échantillon de départ en g

Il est alors converti en g de protéines en multipliant le résultat par le facteur protéique 6,35 (RROZAN 1997)

### 15. Indice d'Ester

Il se définit comme la masse de potasse exprimée en mg nécessaire pour saponifier les esters contenus dans 1g d'acide .

$$I_{\text{ester}} = I_{\text{sap}} - I_{\text{acide}}$$

### 16. Pourcentage d'Impuretés

C'est le pourcentage d'impuretés en moles d'acides gras libre pour 100 moles d'acide gras libre pour 100 moles d'acides gras totaux ( libres et combinés)

$$\% I_{\text{mp}} = I_{\text{acide}} \times 100 / I_{\text{sap}}$$

### 17. Insaponifiable (méthode à l'hexane)

On appelle insaponifiable l'ensemble des constituants qui ne réagissent pas avec la soude.

**17.1.Mode opératoire :**

Pesons 5 grammes d'huile que l'on introduit dans un erlenmeyer puis 50 ml réfrigérant est mis à une moyenne ébullition pendant 45 mn puis on ajoute 30 ml de potasse alcoolique à 15% dans l'alcool éthylique le tout est muni d'un eau distillée sur le embout haut du réfrigérant on agite et on laisse refroidir.

Le contenu est transvasé dans une ampoule à décanter de capacité de 250 ml ajoutons 5 ml hexane pour avoir 2 phases une phase aqueuse et une phase hexanique(1).Après décantation nous retirons la phase aqueuse et nous rinçons avec 40 ml d'hexane (2) on laisse décanter l'opération est renouvelée 3 fois.

Les 3 phases (1,2,3) sont réunies dans une ampoule à décanter les phases alcooliques sont éliminées.

On introduit une fine pincée de sulfate anhydre de sodium et on fait une filtration et une évaporation puis on pèse jusqu'à poids constant.

la relation qui permet de calculer le % de l'insaponifiable est :

$$\% \text{ insaponifiable} = P_1 \times 100/P$$

P: poids prise essai

P<sub>1</sub> : poids de insaponifiable

# HUILE ESSENTIELLE

du *PISTACIA LENTUSCUS L*

### 1.1'extraction de l'huile essentielle

L'extraction des huiles essentielles a été effectuée par hydrodistillation, en utilisant un appareil d'extraction de type Clévenger (figure 29), à partir des feuilles sélectionnées et séchées.



**Figure 29:** appareil d'extraction de type Clévenger

#### 1.1.Préparation des échantillons

Quantité de feuilles à l'état précoce ont été récoltées séchées à l'air libre et à l'abri de la lumière pendant 7 jours .

## 1.2. Mode opératoire

100 g de drogue sèche (feuilles) est introduite dans un ballon à 1 L, imprégnée jusqu'au trois quarts d'eau distillée, l'ensemble est porté à ébullition pendant 3 heures, les vapeurs chargées des huiles essentielles, en traversant un réfrigérant, se condensent et chutent dans une ampoule à décanter, l'eau et les huiles essentielles se séparent par différence de densité.

L'huile est séparée du distillat par décantation après addition de 100 ml d'éther diéthylique séché avec  $\text{MgSO}_4$  anhydre puis conservé dans des flacons opaques dans le réfrigérateur à une température  $T = 4^\circ\text{C}$  dans le réfrigérateur.

7 extractions ont été réalisées le rendement moyen en HE est exprimé en % par la quantité d'huile essentielle obtenue par 100 g de matière sèche .

$$R\% = \frac{\text{VHE}}{S} \times 100$$

## 2. Caractérisation physico-chimique de l'huile essentielle

Dans le but de séparer et d'identifier les composantes chimiques de l'huile essentielle de *Pistacia Lentiscus L.*, on a réalisé deux méthodes de chromatographies :

### Chromatographie sur couche mince (voir Annexe)

#### 2.1 Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse

##### 2.1.1. Chromatographie en phase gazeuse

C'est un procédé de séparation chromatographique où la phase mobile est un gaz (gaz vecteur) et la phase stationnaire est un solide ou un liquide dont est imprégné un support solide approprié, contenue dans une colonne, et à la sortie de la colonne, le gaz vecteur passe à travers un détecteur approprié.

L'ordre de sortie des différents produits sera en fonction de deux paramètres : polarité de la colonne et de la température de volatilisation de chaque constituant.

### 2.1.2.Spectrométrie de masse

Le principe de spectrométrie de masse consiste à provoquer l'ionisation d'une molécule et d'en analyser les fragments, qui seront séparés en fonction de leur masse. L'ionisation peut se faire selon deux mécanismes : l'impacte électronique

Cette opération aboutit à la formation des fragments, qui seront accélérés jusqu'à un analyseur ; ce dernier permettra de les séparer.

Un détecteur va visualiser le spectre de masse, et l'ensemble est piloté par une informatique puissante.

### 2.1.3.Avantage de couplage CPG-SM

L'identification d'un composé par la SM nécessitait des travaux de séparations et de purifications très longs, qui sont par le couplage à la CPG, en partie supprimés.

Le spectre de masse obtenue, montre plusieurs pics, dus à l'ionisation de la substance ; ces pics correspondent à un fragment de masse relative de l'ion sur le numéro atomique de ce dernier ( $m/Z$ ) et à un temps de rétention donné, alors que le chromatogramme montre un pic correspondant à une substance isolée, et qui est caractérisée par le temps de rétention.

### 2.1.4.Protocole opératoire CPG-SM

L'analyse chromatographique de l'huile essentielle du lentisque étudiée est réalisée avec un appareil de type : **GCMS-QP20 10 S**. Shimadzu. (Figure 30).

### 2.1.5.L'injection de l'échantillon dans l'appareil

L'échantillon est injecté à l'aide d'une micro-seringue à travers une membrane d'élastomère qui obture la chambre d'injection. Le mode d'injection (Split) ne doit pas être rapide pour éviter les élargissements des pics.

La température de la chambre d'injection doit être maintenue à une valeur élevée, en général de 10 à 30° C supérieur à celle de la colonne, sans toutefois entraîner la décomposition thermique des substances à analyser.

### 2.1.6. Conditions opératoires

- Gaz vecteur hélium débit 1,6ml/mn
- Température injecteur 250°C (55)
- Le volume injectés est de 0.3 µl dans 1 hexane ;
- Mode d'injection split.
- Colonne capillaire SE longueur 25m , diamètre interne 0,25mm et épaisseur 0,25µm.
- détecteur spectromètre de masse.
- courant d'ionisation 70 eV
- 60° C pendant 2 min (isotherme) .
- Puis augmentation de 1° C/minute afin d'atteindre 240° C.
- Puis en isotherme pendant 4 min .
- L'appareil GC/MS est piloté par un ordinateur menu d'un logiciel approprié pour ce genre d'analyse et d'une banque de données *Nist* qui permet l'identification des composés .

**Figure 30** : appareillage CPG/SM pour l'identification des huiles essentielles



# Résultats et discussions

## Résultats et discussions

---

### Résultat et discussions

Les résultats de nos expériences à savoir l'analyse physico-chimique de la pellicule et la détermination de la matière grasse sont consignés dans les tableaux suivants :

**Tableau 21** : caractérisation de la matière grasse

<b>Point de fusion</b>	<b>27,5±0,1</b>
<b>Indice de réfractons</b>	<b>1,4±0,2</b>
<b>Densité</b>	<b>1,3±0,5</b>
<b>Indice de saponification(mg KOH/g d'huile)</b>	<b>191,90±0,5</b>
<b>Indice d'acide (AOAC) (mg KOH/g d'huile)</b>	<b>2,70±0,21</b>
<b>Insaponifiable méthode à l'hexane</b>	<b>3,14±0,15</b>
<b>Indice d'iode (wijs) (g I<sub>2</sub>/100 g d'huile)</b>	<b>69 ,50±0,30</b>
<b>Indice de peroxyde µg O<sub>2</sub>/g d'huile</b>	<b>3,8±0,2</b>
<b>Couleur lovibond</b>	Bleu=0,6 Rouge=2,7 Jaune= 80,7

**Tableau 22** : caractérisation de la pellicule

<b>Teneur en eau(%)</b>	<b>24,50±0,21</b>
<b>Matière grasse extraite par n pentane(%)</b>	68,50±0,05
<b>Cendre (%)</b>	2,70±0,01
<b>Protéine N . 6,25 (%)</b>	10,50±0,45

Une analyse globale de la pellicule ayant pour but de définir l'ensemble des caractéristiques de cette dernière a tout d'abord été réalisée.

### **Conservation de la pellicule**

La pellicule a été conservée sous de très faibles concentrations en oxygène au sein d'un emballage thermique et mis dans le réfrigérateur à 4°C on peut supposer que la conservation a eu lieu dans des conditions favorables visant à limiter le flux de carbone afin d'obtenir des paramètres physico-chimiques de la pellicule constants sur l'étalement de nos études.

### **Détermination du pourcentage d'humidité de la pellicule par étuvage**

La teneur en eau évaluée de l'ordre de  $24,50 \pm 0,21$  est très élevée en la comparant avec du Colza (17,64%) et le tournesol (19,77%) émis par (François R 1974) .si on veut s'approcher de la valeur vraie de l'humidité de la pellicule on doit utiliser une méthode de Karl Fischer pour déterminer la teneur en eau qui permette une appréciation précise de l'eau réactif(non liée) à la pellicule .

## Résultats et discussions

---

### Evaluation de la teneur en cendre de la pellicule

La teneur en cendre mesurée après minéralisation à 552°C s'élève à 2,70%±0,01 ce résultat correspond à la fraction en sels minéraux et en composants inorganiques, comparable aux données de la littérature de la pellicule de l'huile d'olive 3,8g/100g Bell 1984. d'autant plus notre résultat se trouve dans la norme 3% ce qui nous conforte que notre échantillon ne renferme pas des éléments toxiques.

### L'analyse de la teneur en protéine par méthode de KJELDHAL

Elle nous a permis d'évaluer la teneur en protéines qui était de l'ordre de 10,5%. La fraction de conversion protéique utilisé est de 6,25 (RAZAN 1977) quoi que discutés par certains auteurs ce résultat peut s'expliquer par la variabilité de la composition qui est lié à la variété cultivée, et aux conditions agro climatiques. Ce résultat est nettement inférieur à celui de DIMINGAZ et al 1994 qui évalue la teneur en protéine de la pellicule de l'huile d'olive à 23,4% et qui explique l'influence des conditions agro-alimentaire ainsi que le facteur de conversion utilisé qui a un effet de surévaluation sur la quantité de protéines présentes.

### Détermination des éléments minéraux de l'huile de la pellicule de *Pistacia Lentiscus L*

La détermination des éléments minéraux a été effectuée par deux méthodes d'appareillage de pointe à savoir :

- SEA-ICP
- La spectroscopie de masse par ionisation de flamme SAA-F.

## Résultats et discussions

---

**Tableau 23:** analyse SEA –ICP de quelques éléments minéraux

<b>Elément</b>	<b>mg/l</b>	<b>Sr*</b>
<b>Al</b>	0,61	0,002
<b>As</b>	0,02	0,001
<b>Pb</b>	0,28	0,011
<b>Fe</b>	4,27	0,031
<b>Cu</b>	0,07	0,001
<b>Mg</b>	175	0,007
<b>Mn</b>	0,70	0,001
<b>Ca</b>	1,120	0,192
<b>Zn</b>	19,42	0,005
<b>P**</b>	103, 7	

\*Pour cinq répétitions

\*\* a été déterminé par spectrophotométrie

Si on compare nos valeurs expérimentales à celles utilisées dans les teneurs autorisées de quelques métaux dans les végétaux ribereau –gayon on conclut que les teneurs en Al , Fe sont voisines des valeurs autorisées de même le Zn, As et Cu sont dans les normes à l'exception du

## Résultats et discussions

---

Ca qui n'est pas dans les normes, les valeurs calculées de l'écart type sont inférieures à 5% ce qui nous ramène à conclure :

En comparant les deux méthodes utilisées à savoir la SAA-F et SEA-ICP on déduit qu'à l'exception du Fer les teneurs en Zn, Mg et en Cu analysées par SAA-F sont différentes à celles déterminées par SEA-ICP ce qui nous pousse à dire que la technique SEA-ICP par rapport à celle de SAA-F a beaucoup plus d'avantages :

- Résolution des problèmes d'interférences dans la flamme (perturbation d'absorption non spécifique, perturbation spectrale, etc. ....)
- Limitation des interférences liées aux matières organiques et d'éviter une pré-concentration des éléments métalliques.
- La rentabilité de nos résultats et la fidélité de la méthode.

**Tableau 24:** teneurs autorisées de quelques éléments minéraux dans les végétaux (RIBERAU-GAYON)

Elément	Normes mg/L
Fe	≤0,03
Cu	≤ 0,1
Mg	60-150,00
Si	0,1
Pb	0,1
Zn	0,14-4,00
Mg	60-150,00
Mn	1,00-3,00
Ca	Quelques dizaines

## Résultats et discussions

---

### Evaluation de la teneur en phosphore

La teneur en phosphore de la pellicule a été déterminée par une méthode

spectrophotométrique à longueur d'onde de 660nm contre une gamme d'étalons .

Cette mesure nous a permis de trouver un résultat de 103,7mg est qui inférieure à celui obtenu par Mc Kevith pour la pellicule de l'huile d'olive , cette quantité provient de la présence d'acide phytique dans la pellicule (acide myoinositolhexaphosphore)d'autant plus que cette valeur trouve son explication dans la variation de la composition chimique en phosphore inhérente à la pellicule.

### Evaluation de la teneur de la matière grasse

Sur une moyenne de cinq répétitions à l'aide de soxhlet on a trouvé une teneur de  $68,50 \pm 0,05$  qui nous pense à dire qu'elle est riche en matière grasse l'explication de cette dernière est due au renfermement des triglycérides insaturés par rapport aux autres huiles elle se révèle intermédiaire à l'huile de palme et l'huile d'olive qui est insaturé .

### Indice de réfraction

Ce paramètre dépend en premier de la composition chimique et en second de la température ,il croit avec l'instauration sur les chaînes grasses , la valeur trouvée qui est de l'ordre de  $1,4 \pm 0,2$  est supérieure à l'indice de réfraction de l'eau qui est 1.3356 mettant en évidence la richesse des acides gras .

### Evaluation L'indice d'acide et de l'indice de peroxyde

ce sont deux paramètres nous donnent une image de l'état de dégradation de l'huile extraite de la pellicule or les faibles valeurs trouvées à savoir pour l'indice d'acide  $2,70 \pm 0,21$  et de l'indice de peroxyde  $3,8 \pm 0,2$  nous montrent que notre échantillon n'a pas subi d'altération hydrolytique au cours de leur stockage.

## Résultats et discussions

---

### Evaluation des indices de saponification et d'iode

La valeur trouvée de l'iode  $69,50 \pm 0,30$  a une importance sur le caractère des acides gras insaturés par comparaison à l'indice d'iode de l'huile d'olive 75-94 notre indice est inférieur malgré ces deux plantes se trouvent sur une même superficie par contre l'indice de saponification se trouve dans la moyenne par comparaison de l'huile d'olive 184-196 ces deux indices nous indiquent une prépondérance d'acide gras à longue chaîne que la CPG/MS permet de constater.

### La détermination de la couleur Lovibond

Nous avons permis une évaluation de la qualité des pigments responsables de la couleur des huiles. Nos résultats sont  $C = 80,7j + 2,7r + 0,6b$ .

La couleur de notre échantillon dépend de son aptitude à absorber qui est due au rayonnement transmis par la solution colorée, cette dernière est la couleur complémentaire de la couleur du rayonnement absorbé.

**Tableau 25** : Couleurs complémentaires

Couleur complémentaire	$\lambda$ (nm)
jaune	345-480
bleue	490-500
rouge	580-595

Ces longueurs d'ondes sont transformées en unité Lovibond, ce que nous ramène à dire en vu de nos résultats, on confirme que la couleur dominante de notre échantillon est la couleur jaune provenant des caroténoïdes.

**UV visible** : dans la région du visible, l'absorbance du rayon lumineux se situe sur une plage de 400-700nm par contre dans la région UV les composés colorés et non colorés se situent entre 185-400nm à partir de ces longueurs d'onde, nous pouvons avancer des chromophores obéissant à ces longueurs d'ondes qui sont une caractérisation de l'absorption moléculaire d'une part les longueurs  $\lambda_1 = 315\text{nm}$ ;  $\lambda_2 = 316\text{nm}$ ;  $\lambda_3 = 317\text{nm}$  possédant un chromophore

---

## Résultats et discussions

constitué par la molécule conjuguée par contre pour  $\lambda=226\text{nm}$  correspond à des esters et des acides (voir annexe) .

### Infrarouge IR

Au cours de l'extraction un volume pris par une seringue a subi un infrarouge pour confirmation des esters méthyliques dans notre échantillon d'après le spectre on a la bande carbonyle C=O qui se situe à  $1755,99\text{ cm}^{-1}$

### Analyse des acides gras par CPG/SM

La technique que nous avons utilisée nous a permis une identification de six acides gras .

La composition de cette huile est rassemblée dans le tableau suivant :

**Tableau 26:** Composition en pourcentage des acides gras de la pellicule de *Pistacia Lentiscus L*

Nom du composé	RT	%	Masse moléculaire
Acide palmitique C16	12,241	28,150	270
Acide palmitoleique C16 :1 $\Delta^9$	13,010	1,376	268
Acide elaique C18 :1 $\Delta^9$	18,880	26,562	296
Acide cis linoléique C18 :2 $\Delta^{9,12}$	20,860	24,571	294
Acide cis $\alpha$ linoléique C18 :3 $\Delta^{9,12,15}$	23,050	5,991	292
Acide stéarique C18	17,823	4,089	298

## Résultats et discussions

---

Au total, six acides gras ont été identifiés dans l'huile de la pellicule du lentisque; dont deux acides sont à caractère saturés : (acide palmitique, acide stéarique) et quatre acides gras sont insaturés à savoir les acides: acide palmitoléique, linoléique linolenolique et oléique.

Notre huile est composée de trois acides gras dominants qui sont palmitiques 28,15%, oléiques 26,56% et linoléique 24,57%. L'huile contient une quantité appréciable d'acides gras insaturés 67,77%. ('voir annexe)

En raison de son contenu en acides gras insaturé (oléique, linoléique) et d'acides gras saturés, nous pouvons affirmer que notre huile est de bonne qualité nutritive et médicinale.

Sa teneur élevée en acide linoléique. Cet acide gras polyinsaturé est le précurseur de la famille de l'acide gras oméga 3 connu pour leur grand intérêt dans la prévention des maladies cardiovasculaires.

La détermination des acides gras par CPG/SM nous indique l'absence de l'acide érucique jugé indésirable de son effet pathologique sur le muscle cardiaque .

La valeur du taux élevé de l'acide palmitique d'une part et d'autre part de celle de l'acide linoléique permet une ouverture d'une voie pour diverses applications industrielles.

Notre huile étudiée pas toxique et pourrait être consommée sans danger.

### RENDEMENT EN HUILE ESSENTIELLE

Sept répétitions ont été faites pour l'extraction des huiles essentielles, le poids de chaque lot est de 100 g. Les résultats sont représentés dans le tableau VIII :

**Tableau 27:** Rendement du lentisque en huile essentielle (ml/100g de matière sèche).

Lot	N°01	N°02	N°03	N°04	N°05	N°06	N°07	Moyenne	Ecart type
Rendement	0.027	0.027	0.025	0.03	0.023	0.027	0.027	0.027	0,003

On a constaté que ce rendement est inférieur à celui obtenu par , suite à une extraction à partir d'un échantillon du lentisque, récolté de l'est de la Corse, pendant une période de six mois (entre mars et octobre, 1997), avec un rendement de 0.05 ml/100 gr de MS.

## . Résultats et discussions

---

La confrontation de nos données avec celles des travaux réalisés sur des échantillons de feuilles et rameaux Ecorçais (France), à période élargie (6 mois), révèle les effets des conditions géographiques, pédologiques et climatiques sur le rendement en général. Le rendement est aussi en fonction de la période de récolte et le stade de développement de la plante

### A-Chromatographie sur couche mince (voir annexe )

**B-Chromatographie En Phase Gazeuse Couplée A La Spectrométrie De Masse :** D'après le chromatogramme CG-MS obtenu, les principaux composés de l'huile essentielle sont énumérés dans le tableau suivant :

**Tableau 28** : Profil chromatographique de l'huile essentielle du lentisque analysée.

Composés	N° CAS (british pharmacopoeia, 2007)	Temps de rétention (min)	Teneurs(%)
4-Carène	5208-49-1	3,48	1,02
$\beta$ Pinène	127-91-3	4,20	6,85
D-Limonène	5989-27-5	5,02	1,05
P-Cymène	527-84-4	5,30	37,92
$\beta$ Linalol	78-70-6	8,46	52,08
Terpène-4-ol	7299-41-4	8,89	1,08

Parmi les six composés identifiés (Tableau ), on constate que le  $\beta$ Linalool est le composé majoritaire avec une teneur de 52,8%,

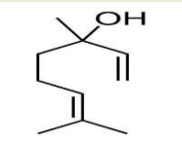
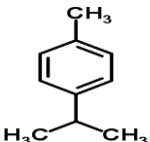
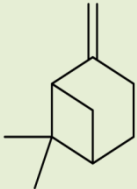
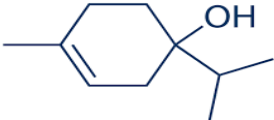
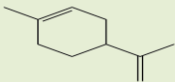
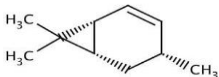
Le deuxième composé dans la gamme de l'huile essentielle du lentisque récolté, est le P-Cymène. avec un pourcentage de 37,92%, suivi par B pinènes avec une teneur de 6,85%.

Les trois derniers composés ayant des taux très faibles, sont le Terpène-4-ol, le D-Limonène et le 4-Carène avec des pourcentages qui sont respectivement : 1,08%, 1,05% et 1,02%.

## . Résultats et discussions

---

**Tableau 29** : structures des composés majoritaires dans l'huile essentielle des feuilles de *Pistacia Lentiscus L* de Collo.

Composé	Structure
B Linalol	
P-Cymene.	
beta pinène	
Terpène-4-ol (forme Alpha)	
D-Limonène	
4-Carène	

## . Résultats et discussions

---

**Tableau 30:** Profil chromatographique de l'huile essentielle de lentisque (Vincent C., et al 1999).

Constituants	Teneurs (%)
Myrcène	2
Limonène	47
Terpinène	11.2
$\alpha$ - pinène	5.2
$\beta$ - pinène	14
$\alpha$ - phellandrene	14
Sabinène	5
<i>P</i> - cymène	0.9
$\gamma$ - terpinène	0.7

Sur la base des résultats fournis par la littérature ,on a deux voies d'huiles qui peuvent être distinguées :

Celle dont la composition est dominée par un seul composé majoritaire et celles caractérisées par la codominance de deux ou plusieurs composés , sur cette base on peut avancer que notre huile se trouve dans cette dernière voie , les composés majoritaires .

Le chemotype de la plante originaire de Collo est le  $\beta$  linalool,

Alors le chemotype de cette plante se trouvant à Jijel est alfa terpinol de Tizi-Ouzou longilofene et d'Oran est alfa pinène.

Dans la littérature divers travaux ont été réalisés de point de vue profil chimique des huiles essentielles de *Pistacia Lentiscus L* .

## . Résultats et discussions

---

Composé	Origine			
	Maroc	Espagne	Collo	Tunisie
Pcimene	0,01	4,7	37,92	1,2
Alpha pinene	12,58	1,36	6,83	20,0
4carene	0,98	0,1	1,02	-
D limonene	7,56	5,4	1,05	15,3
Ter pinene	0,98	2,5	1,08	0,5
Beta linalool	4,89	2,2	52,08	3,3

**Tableau 31** : Comparaison des Chemotypes des pays Maroc , Espagne , Tunisie et Algérie (Collo)

L'examen de ce tableau nous suggère à dire qu' il existe une variabilité à l'intérieur de l'espèce et différents types de chemotype concernant les pays Algérie (Collo), Maroc, Espagne , Tunisie en Alpha pinène.

# Conclusion générale

### Conclusion

Ce travail réside autour de la connaissance de sa composition chimique de point de vue de la pellicule et ses feuilles, a permis d'une part la détermination des caractéristiques physico-chimique et d'autre part sa composition chimique en l'huile essentielle par l'application des méthodes analytiques performantes pour l'analyse de ces derniers.

Dans un premier temps ce travail a été consacré à la détermination , l'humidité , cendre , phosphore, l'azote de Khedjal et plusieurs métaux ont été analysés par deux méthodes la SEA-ICP et la SAA-F les résultats d'analyses SEA-ICP ont données des teneurs qui ne dépassent pas les valeurs autorisées à l'exception du Magnésium puis une mise au point d'extraction de l'huile a été faite au niveau du laboratoire pour déterminer les indices suivants : acide, saponification , iode , couleur lovibond , peroxyde , l'indice de réfraction et la densité . Et aussi on a identifié son profil en acide gras à l'aide de la CPG/MS qui est une méthode de choix après optimisation des paramètres chromatographique trois acides sont majoritaires qui sont palmitiques 28,15%, oléiques 26,56% et linoléique 24,57%. L'huile contient une quantité appréciable d'acides gras insaturés 67,77%.

Dans un deuxième temps les feuilles ont été extraites par un appareil de type Clevenger puis identifiés par la CPG couplée à la spectroscopie de masse , dont les principaux constituants sont Le deuxième composé dans la gamme de l'huile essentielle du lentisque récolté, est  $\beta$ -Linalol est le composé majoritaire avec une teneur de 52,8%.

*P*-Cymène avec un pourcentage de 37,92%, suivi par *B*-pinènes avec une teneur de 6,85%.

## **Conclusion générale**

---

Les trois derniers composés ayant des taux très faibles, sont le Terpène-4-ol, le D-Limonène et le 4-Carène avec des pourcentages qui sont respectivement : 1,08%, 1,05% et 1,02%.

En perspective nous envisagerons deux points particuliers qui feront le prolongement de ces travaux

Premier point

Approfondir sa composition biochimique (l'épicarpe) en étudiant les stérols les triglycérides et les polyphénols .

Deuxième point pour l'huile essentielle attribuer parmi nos composés identifiés ceux qui confèrent à l'arôme des feuilles sa typicité , la caractérisation sensorielle des composés volatils isolés par CPG- Olfactométrie serait une alternative intéressante.

# Références Bibliographiques

## Références bibliographiques

---

### REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Abdelwahed A., Bouhlef I., Skandrani I., Valenti K., Kadri M., Guirand P., Steiman R., Mariotte A.M., Ghedira K., et al .2007.Study of antiantagenic and antioxidant activities of Gallic acid and 1, 2, 3, 4, 6- pentagalloyl glucose from *Pistacia Lentiscus* confirmation by microarray expression profiling.
- Adams RP identification of essential oils by gaz chromatography quadripole mass spectrometry 2001Allured Publishing Corporation Corol stram USA.
- Al-dit M., Ageel A., Parmar N., et Tariq M., 1986. Evaluation of antiulcéreux activity from *Pistacia Lentiscus*. Journal of ethno -pharmacologie 15-3.
- Alais C. et Linden G., 1987. Biochimie alimentaire. Éd : Masson, Paris. P : 51-67.
- Amhamdi H., Aouinti F., Wathelet J. P., and Elbachiri A., Chemical Composition of the Essential Oil of *Pistacia lentiscus* L from Eastern Morocco. Rec. Nat. Prod., 3:2, 90- 95, 2009.
- Amri I., Hamrouni L., Hanana M., Jamoussi B., Chemical composition and herbicidal effects of *Pistacia lentiscus* L, essential oil against weeds. Int. J. Med. Arom. Plants, ISSN, 2249-4340 .Vol. 2, No.4, pp.558-565, 2012.
- AuréliE EUDE, Dosage des omégas 3 et 6 dans les suppléments alimentaires et les poissons gras, laboratoire de chimie analytique,Cedex , p : 9-10 , 200
- Award H 1979 ., Etude comparée de la contamination par les hydrocarbures these Aex Marseille janvier 1979 . Paré JRI et BelangerIMR1990., Extraction de produi par micro ondes .Brevet européen EP 398798
- Baser K.H.C et al. (2009).,Buchbauer G.*Handbookof essentialoils science ,technology and applications*. CRC Press (2009). 1<sup>ère</sup>éd. 991p...

## Références bibliographiques

---

- Barazani O., Dudai N., Golan-Goldhirsh A., Comparison of Mediterranean *Pistacia Lentiscus* genotypes by random amplified polymorphic DNA, chemical, and morphological analysis. *Journal of Chemical Ecology*, 29, 1939-1951, 2003.
- Belaïche P., 1991., *Encyclopédie de médecine naturelle : phytothérapie, aromathérapie*. 1<sup>ère</sup> édition. Paris, France. C – 2 - 20 p.
- Battendier J.A. (1910). *Flore de l'Algérie*, Librairie des Sciences Naturelles de Paris, France
- Al-Razi A.B. (1955). *Alhaoui de médecine*. Imprimerie du conseil de l'arrondissement des connaissances Othoman l'Inde.
- Belfadel F.Z., 2009. *Huile de fruits de Pistacia lentiscus Caractéristiques physico-chimiques effets biologiques (effet cicatrisant chez le rat).mémoire de magister en chimie organiques*, option : phytochimie.
- Bellakhdar, J., 1997. *La pharmacopée marocaine traditionnelle, Médecine arabe ancienne et savoirs populaires*. Ibis Press, Paris, P. 764.
- Bellakhdar J., 2003. *Le Maghreb à travers ses plantes: plantes, productions végétales et traditions au Maghreb*. Eds. Le fennec.
- Benhamou N.,Atik Bekkara F., et Kadifkova Panovska T., Antioxydant activity and antimicrobial activity of *P.lentiscus*, *P.atlantica* extracts.*Journal africain de la pharmacie et pharmacologie*. Pp:22-28 avril 2008 vol.2(2).
- Benhamou N. et al., 2007. Antiradical capacity of phenol content from *Pistacia Lentiscus* L. et *Pistacia atlantica*. *Adv. Food science*, 29(3):155-16.
- Bensegueni, A., 2007. *Les onguents traditionnels dans le traitement des plaies et des brûlures*. Thèse d'Etat en sciences vétérinaires. Université Mebtouri. Constantine. p. 21-22

## Références bibliographiques

---

- Benyahya .Net K.Zein 2003Analyse des problèmes de l'industrie de l'huile d'olive et solutions récemment développées .Contribution Spéciale de Sustainable Business Associates (Suisse) à AESEC II, 2003.
- Benyoussef E., Charchari S., Bey N., Yahiaoui N., Essential Oil of Pistacia lentiscus L from Algeria, Journal of Essential Oil Research, jeor, 2005
- Boelens M.H. et Jimenez R., 1991.Chemical composition of the essential oils from the guma and various parts of *Pistacia lentiscus* L. Flavor and fragrance journal.vol.6, Pp: 271-275.
- Bouchahdene S., Nini L., 1998.Caractérisation physicochimique de l'huile extraite à partir de fruits de *Pistacia lentiscus* L.Mémoire d'études supérieures « option Biochimie »département de la biologie moléculaire et cellulaire, institut : science de la nature.
- Bruneton J., 1987., Éléments de phytochimie et de pharmacognosie.
- Brunton J., 1993., La médecine par les fleurs. Edition Robert Laffont. Paris. Pp : 37 – Pharmacognosie, phytochimie des plantes médicinales. 2<sup>ème</sup>édition. TEC&DOC-Lavoisier. Paris. Pp : 406 - 417.
- C. Brooker. Senior Lecturer in Nursing Studies South Bank University, London. (2001).
- Caroli Linnaei (Linnaeus, Carolus) 1735: *Systema naturae per regna tria naturae : secundum classes, ordines, genera, species cum characteribus, differentiis, synonymis, locis* Tomus I (Regnum animale), Edition, **1735**, Leyde.
- Castola V., Bighelli A., CasanovaJ., Intraspecific chemical variability of the essential oil of Pistacia lentiscus L from Corsica. Biochemical Systematics and Ecology, 28, 79-88, 2000.
- Catier O, Roux D. 2007., Botanique, Pharmacognosie, Phytothérapie, 3eme edition, Ed: Wolkers Kluwer, p. 9.

## Références bibliographiques

---

- Charef M., Yousfi M. & M. Saidi, 2008. Determination of fatty acid composition of acorn (*Quercus*), *Pistacia Lentiscus* seeds growing in Algeria. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 85: 921–924.
- Chenvenger I.F 1928 Apparatus for the determination of volatile or. *Ampharm Assoc* , 17,346
- Chryssavgi G. et al., Essential oil composition of *Pistacia lentiscus* L. and *Myrtus communis* L.: Evaluation of antioxidant capacity of methanolic extracts. *Food Chemistry*, (2007).
- Corbett P (2003)., It is time for an oil change! Opportunities for high oleic vegetables oils. *Information* 14:480-481
- Dahmane T., Chelghoum D., Chemical Composition of the Essential Oils of *Pistacia Lentiscus* L from Algeria. *Journal of Essential Oil Research*, 17, 642-644,2006.
- Danielle V. 2003 Programme antiage Alpen Ed Paris 98p
- David Dilcher., Toward a new synthesis: Major evolutionary trends in the angiosperm fossil record », *PNAS*, vol. 97, n° 13, juin 2000, p. 7
- Derach R., 1976., *Physiologie et biochimie de la nutrition*. Ed. : Doin, Paris, Pp : 17-19.
- Derwiche E., Manar A., Benziane Z. and Boukir A., GC/MS Analysis and In vitro Antibacterial Activity of the Essential Oil Isolated from Leaf of *Pistacia lentiscus* Growing in Morocco. *World Applied Sciences Journal*, 8 (10): 1267-1276, 2010.
- Deschepper .R Thèse 2017., Variabilité de la composition des huiles essentielles et intérêt de la notion de chémotype en aromathérapie

## Références bibliographiques

---

- Dhifi W., Jelali N., & E. Chaabani, 2013., Chemical composition of Lentisk (*Pistacia lentiscus* L.) seed oil. African Journal of Agricultural Research Vol. 8(16):1395-1400.
- P.Diberau –Gayon Yves geonis , Amayean., ( les vegetaux ) Ed dunod Paris 198
- Djedaïai, S., 2016., Etude physico-chimique et caractérisation du fruit de la plante lentisque (*Pistacia Lentiscus* L.). Thèse Doctorat en Sciences. Université Annaba.
- Domingaz H ,M.I.Lema 1995 aqueous progressing of sunflower keonels with enzymatic technology Food Chemistry 53, 427-434
- Duru M.E., Cakir A., Kordali S., Zengin H., Harmadar M., Izumi S., HirataT., Chemical composition and antifungal properties of essential oils of three *Pistacia* species. *Fitoterapia*, 74,170-176, 2003.
- Dweck A.C.,2002. , Herbal medicine for the skin. Their chemistry and effects on skin and mucous membranes. *Personal Care Mag*, 3(2):19-21..Edition Technique et documentation, Lavoisier. P : 442.
- Fabrice B., 1976., La médecine par les fleurs. Edition Laffont. Paris. Pp : 37 – 52.
- Faucon M. *Traité d'aromathérapie scientifique et médicale*. Sang de la terre (2012). 880p.
- Figueredo G.,  
Étude chimique et statistique de la composition d'huiles essentielles d'origans (*Lamiaceae*) cultivés issus de graines d'origine méditerranéenne. Thèse pour le diplôme de docteur d'université (chimie organique). Université Blaise Pascal - Clermont-Ferrand II, 2007.
- François R 1974 les industries des corps gras Ed Tec Lavoisier p 39,64,96,97,98,99,100

## Références bibliographiques

---

- Franchomme P., Pénoël D. L'aromathérapie exactement. Encyclopédie de l'utilisation thérapeutique des huiles essentielles. Roger Jollois (2001). 445p..
- Fernandez X., Chemat F. La chimie des huiles essentielles. Editions Vuibert 2012). 288p.
- Fernandez A., Camacho A., Fernandez C. and Altarejos J., Composition of the Essential Oils from Galls and Aerial Parts of Pistacia lentiscus L, J. Essent. Oil Res., 12, 19-23. 2000.
- Garnero J., 1996. Technique de l'ingénieur : constantes physico-chimiques. Édition Strasbourgeoise. Paris. Pp : 2 - 3,10.
- Garnero J., 1991. Les huiles essentielles, leur obtention, leur composition, leur analyse et leur normalisation. Encyclopédie de médecines naturelles : phytothérapie, aromathérapie. Paris.c-2,20p.
- Gilles W., 1976.- L'Encyclopédie des Médecines Naturelles et des Secrets de Santé, Elina, Lavoisier, Paris, pp 212-222.
- J. GORNAY. 'Transformation par voie thermique de triglycérides et d'acides gras. Application à la valorisation chimique des déchets lipidiques'. Thèse 2006
- J. Graille. Corps gras alimentaires : aspects chimiques, biochimiques et nutritionnels. In : lipides et corps gras alimentaires. Ed : techniques et documentation. Paris Londres New York. 2003.
- Granger R., Passet J. Thymus vulgaris spontané de France : Races chimiques et chemotaxonomie. Phytochemistry, 12 : 1683-1691. 1973.].
- Grieve A., 1931. Amodern Herbal
- Grolier P., Borel P., Scalbert A., & Remesy C. (2001).Les phytomicronutriments. Basdevant A., Laville M., Lerebours E, Traité de nutrition clinique de l'adulte, Éd. Flammarion, Paris, France.
- Guillaumin R., 1983. Huiles alimentaires. Aliment et la vie, vol.2, Pp : 2-12.

## Références bibliographiques

---

- Gul M.K. & S., Amar, 2006.- Sterols and the phytosterol content in oil seed rape (*Brassica napus* L.). *Journal of Cell and Molecular Biology*. 5:71-79.
- Hamad, H., Hasan, I., Habib,H., Mariam, H., Gonaïd and Mojahidul. (2011). Comparative phytochemical and antimicrobial investigation of some plants growing in al jabal al-akhdar. *J Nat Prod Plant Resour*, 1 (1), 15-23.
- Hans W. Koth. , 1000 plantes aromatiques et médicinales. Ed: Terre. 2007. p 242.
- Henri V., 1993. Distillateur, thérapeutiques naturelles.GNOMA.
- Huwez f.u., Thirlwell D., 1998.Mastic gum kills helicobacter pylori, *New England journal of Medicine*. 339.Déc. 24.
- Iserin P., 2001 .-Encyclopédie des Plantes Médicinales, Identification, Préparation, Soin 2ième édition Ed Larousse/VUEF, pp13-16, p 250, pp291-296.
- Jacob B. et Leparç J D., 1983. , Abrégés de nutrition et alimentation. Ed. : Masson, Paris. Pp : 124-126.
- Janakat S. et Al-Merie H. , Evaluation of hepatoprotective effect of *Pistacia Lentiscus* L., *Phillyrea latifolia* and *Nicotiana glanca*.*Journal of ethno-pharmacology* 83(2002) 135-138.
- S.Kalhithreka Is.Aryanitoyannis, P.Kefalas,E.Psavra., *Food Chemistry* 2001 ,73, 501
- Kaloustian J.et al , (2012). Hadji-Minaglou F. La connaissance des huiles essentielles. *Qualitologie et aromathérapie*. Springer (2012). 210p.
- A. KARLESKIND "Manuel des corps gras, tome II, édition Lavoisier, 1992
- Keefover- Beyond [Ring K. et al 2009.), Thompsonb J.D., LinhartY.B. 2] six scents: defining a seventh *Thymus vulgaris* chemotype new to southern France by ethanol extraction. *Flavour and fragrance journal*, 24 : 117-122, 2009..

## Références bibliographiques

---

- Kegley E.B., and Spears J.W., (1994). Bioavailability of feed-grade copper sources (oxide, sulfate, or lysine) in growing cattle, *J. Anim. Sci.*, 72 (10) : 2728-2734.
- Kusuma HS ,Mahfud M.2017 The extraction of essential oils from patchouli leaves using a microwave air-hydrodistillation method as a new green technique the Royal Society of chemistry , 7(3),1336 -1347 .
- Lafranchi. F.D.E., & T.M Bui, 1998. -L'oléastre et le lentisque, plantes oléagineuses sauvages dans l'économie néolithique en Corse et en Sardaigne. *Sardinian and Aegean Chronology: Towards the Resolution of Relative and Absolute Dating in the Mediterranean. Studies in Sardinian Archaeology.*
- Lawrence B.M. . *Essential oils, volume 2012. 9 :2008-2011.*
- Lecoq R., 1965. 46- Lecoq R., 1965. , Manuel d'analyse alimentaire, Tome II. Ed. : Doin-Deren, France. 1077p.
- Leprieur M. ,1860. -Journal de médecine, chirurgie et de pharmacie, 3ème volume, Publié par la société de science médicale et naturelle de brussels, p. 614-615.
- Longo L., Scardino A., Vasapollo ,G Akay S., Kivçak B.  
Quantitative determination of  $\alpha$ -tocopherol in *Pistacia Lentiscus* ,*Pistacia Lentiscus* var. chia, and *Pistacia terebinthus* by TLC-densitometry and colorimetry. *Fitoterapia* 76(2007) 62-66.
- Luque de Castro M.D et Garcia –Ayuso L.E 1998 Soxhlet extraction of solids materials An outdated technique with promising innovative future *Analytica Chimica acta* 369-110
- Manuel d'analyse alimentaire, Tome II. Ed. : Doin-Deren, France. 1077p.
- B. Medina et P. sudraud , *Connaissances ligne* , 1980 , 154,79-46
- Medjeldi S., 1994. , Evolution de quelques nutriments au cours du raffinage des huiles végétales utilisées pour la consommation Algériennes. Thèse de Magistère. Université d'Annaba, Pp : 6-17.

## Références bibliographiques

---

- O.Mikkelsen,K.H Schroder ., Analytica Chimica Acta 2002, p 458-249
- O.Mikkelsen,K.H Schroder ., Electroanalyses 1999 p 11-401.
- Morin O, Pages-Xatart-Pares X. Huiles et corps gras vegetaux : ressources fonctionnelles et intere^t nutritionnel.OCL2012 ;19 (2) : 63-75. doi : 10.1684/ocl.2012.0446
- Oomah D.B, Ladet S, Godfrey V.D, Liang J. & B. Giarard (2000).- Characteristics of raspberry (*Rubus idaeus* L.) seed oil. Food Chemistry, 69:187-193.
- Ozenda, P., 1977. - Flore du Sahara, Ed. CNRS. PARIS, France, 250-259
- Paré JRI et BelangerIMR1990., Extraction de produi par micro ondes .Brevet européen EP 398798
- Pardé L., 1934.Les feuillus.Edition: Maison Rustique, Pp: 250-252.
- Paris M. et Murabielle M., 1981 ., Abrégé de matière médicale (pharmacognosie), tome 1. Edition Masson, Paris. Pp : 182 – 194.
- M.Y. Penez-Jordon , I Soldevilla, A . Salvador , A. Pastor , I .Anal ;At. Spectrum 1998.13.13
- Pharmacopée française, 1985.X<sup>ème</sup> édition tome 1.P : 37.
- Phuong Jean N GUEN 2014  
Intervention de la carnitine au cours du développementnormal ou affecté chez *Arabidopsis thaliana*, en lien avec le métabolisme des lipides.
- Poux M , Cognet P et Courchon 2010 genie des procedes durables du concpt à la contrisitation industrielle IFE 96-225-226

## Références bibliographiques

---

- Predrag L. et al., 2005. , Antioxydant activity and cytotoxicity of eight plants used in traditional Arab medicine in Israel. *Journal of ethno-pharmacology* 99(2005) 43-47.
- Razan P1997 traitements technologiques et prise alimentaire( exemple tartaux du colza industriel) Faculté des sciences these Nancy 1
- Ribero –Gayon Dunod Paris 1998
- Rogeo C1984 les Bordas p 187
- Rout P.K., Naik S.N., Rao Y.R., Jadeja G., & Maheshwari R.C. (2007). Extraction and composition of volatiles from *Zanthoxylum rhesta*: Comparison of subcritical CO<sub>2</sub> and traditional processes. *The Journal of supercritical fluids*, 42(3), 334-341.
- Tomi F.,& Casanova J. (2006, February). <sup>13</sup>C NMR as a tool for identification of individual components of essential oils from Labiatae-a review. In I International Symposium on the Labiatae: Advances in Production, Biotechnology and Utilisation 723 (pp. 185-192).
- Tongnuanchan P , Benjakul S .2014 .Essential Oils :Extraction bioactivities , and their uses for food preservation . *Journal of the Science* ,**79** , 1231-1249
- Trabelsi H., Cherif O.A., Sakouhi F. & al, 2012. -Total Lipid content, Fatty acids and 4-desmethylsterol accumulation in developing fruit of *Pistacia lentiscus* L ,growing wild in Tunisia. *Food Chemistry* ,131:434-440.
- Trémolières J., Serville Y., Jacquot R. et Dupin H., 1980.  
Manuel d'alimentation humaine. « Les bases de l'alimentation ». Ed. : E.S.F., Pp. : 53-55.
- Vidrich V., Fusi P., Alessia G., Elisabetta S., Chemic
- Vigeolas H , Vandangen , I.,T Waldeck , PHulin , Lipid storage metabolism is limited by the prevailing low oxygen concentrations within developing seeds of oilseed rape .*plantphysiol*.133,2048-2060

## Références bibliographiques

---

-Vincent C., Bighelli A. et Casanova J., 1999. , Intraspecific chemical variability of the essential oil of *pistacia lentiscus* L. from Corsica.

- Wolff J R., 1981. , Techniques d'analyse et de contrôle dans les industries agroalimentaire, tome IV. Ed. : Techniques et documentation. Pp : 169-170.

-L. Watson and M. J. Dallwitz (1992 onwards). *The Families of Flowering Plants: Descriptions, Illustrations, Identification, and Information Retrieval* Bellakhdar J., 2003.-Le Maghreb à travers ses plantes: plantes, productions végétales et traditions au Maghreb. Eds. Le fennec.

Zohary M., 1952. -A monographical study of the genus Pistacia . Palestine Journal of Botany Jrusalem, 5 : 187–228.

-R. Zarnowski, Y. Suzuki 2004 Expident Soxhlet extraction lipids- journal of food composition and analyses 17,646-664.

# annexes

## Annexes

---

### Annexe

#### A. CHROMATOGRAPHIE SUR COUCHE MINCE

##### REVELATION PAR LA LAMPE DE WOOD

Lorsqu'on applique une radiation UV à 254 nm, la plaque de CCM devient fluorescente et les composés séparés sont de couleur sombre.

Cette exposition aux radiations UV a permis d'identifier 4 taches : (Figure 23)

- Tache A : pas bien évidente et d'un petit diamètre.
- Tache B : pas bien évidente et d'un petit diamètre.
- Tache C : pas bien évidente et d'un diamètre moyen.
- Tache D: pas bien évidente et d'un diamètre moyen.

Le calcul de rapports frontaux et leurs hauteurs nous a permis d'obtenir les composés mentionnés dans le tableau ..., en les comparants avec les données bibliographiques de [60], les noms des substances sont comme suit :

- Tache A : avec un HRf de 36%, correspond à l'acétate de linalyle.
- Tache B : avec un HRf de 50%, non identifiée.
- Tache C : avec un HRf de 55%, correspond à l'anéthol.
- Tache D: avec un HRf de 80%, non identifiée.

**Tableau IX** : Rapports frontaux et HRf de l'huile essentielle du lentisque révélée par la lampe de Wood.

		Rapports Frontaux		
		Rf	HRf	Composés
Tâches	A	0.36	36	Acétate de linalyle
	B	0.5	50	Non identifiée
	C	0.55	55	Anéthol
	D	0.8	80	Non identifiée

## Annexes

---

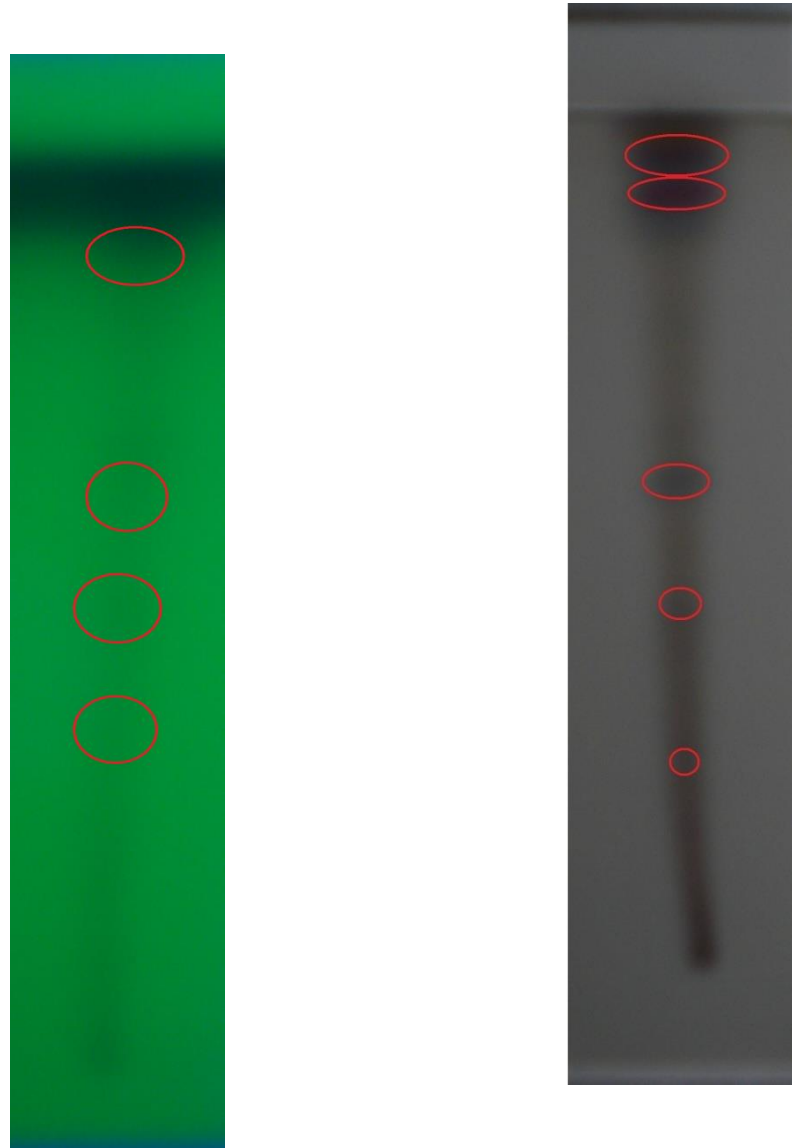
### REVELATION PAR L'ACIDE VANIL- SULFURIQUE

Ce révélateur permet d'identifier les taches avec plus de précision, car il donne une coloration caractéristique, qui différencie les composés présentant des rapports frontaux identiques, et permet de mettre en évidence les taches invisibles sous la loupe de Wood.

Après pulvérisation et chauffage, on a observé l'apparition de 5 taches (Figure 24). Le nouveau calcul des Rf et des HRf et la comparaison par données théoriques réalisées par [60], nous ont permis d'identifier 1 nouveau composé non identifié avec un HRf de 85%.

**Tableau** : les rapports frontaux et HRf de l'huile essentielle du lentisque révélée par l'acide vanil-sulfurique.

		Rapports Frontaux		
		Rf	HRf	Composés
Tâches	A	0.36	36	Acétate de linalyle
	B	0.50	50	Non identifiée
	C	0.55	55	Anéthol
	D	0.80	80	Non identifiée
	E	0.85	85	Non identifiée



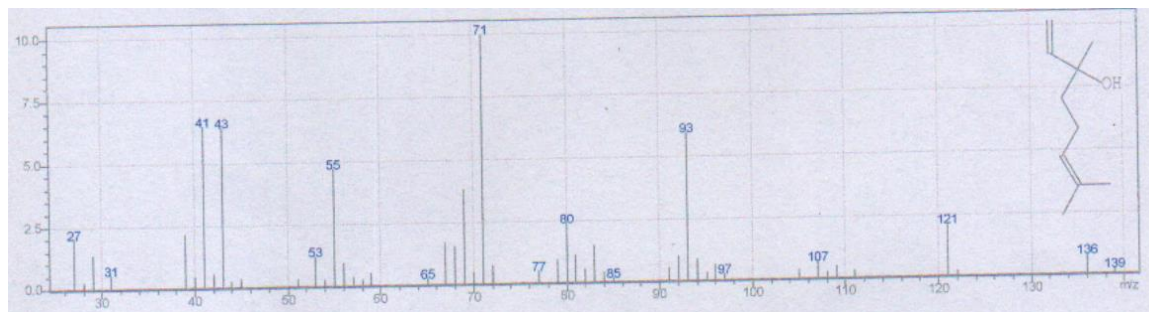
**Figure 29** Révélation de la plaque de CCM de l'huile essentielle par l'acide vanil-sulfurique

les résultats de la CCM restent non satisfaisants, ce qui laisse supposer que les taches peuvent correspondre à d'autres composés non séparés.

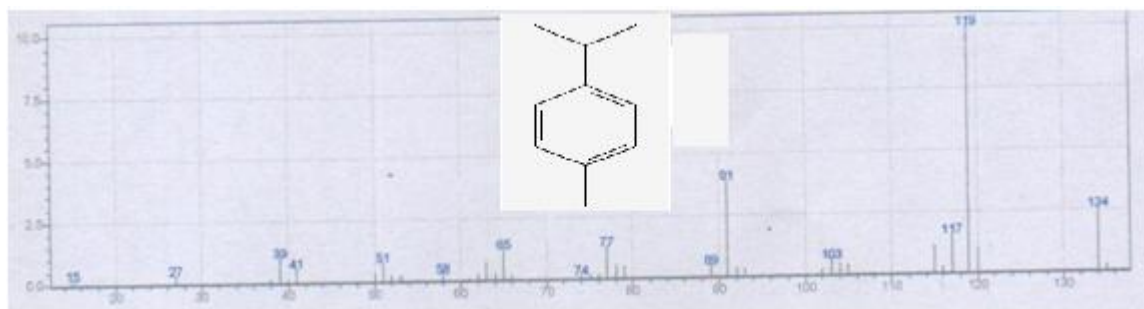
La Chromatographie en phase gazeuse permet de donner plus d'information sur la composition chimique de l'huile essentielle du lentisque.

## Annexes

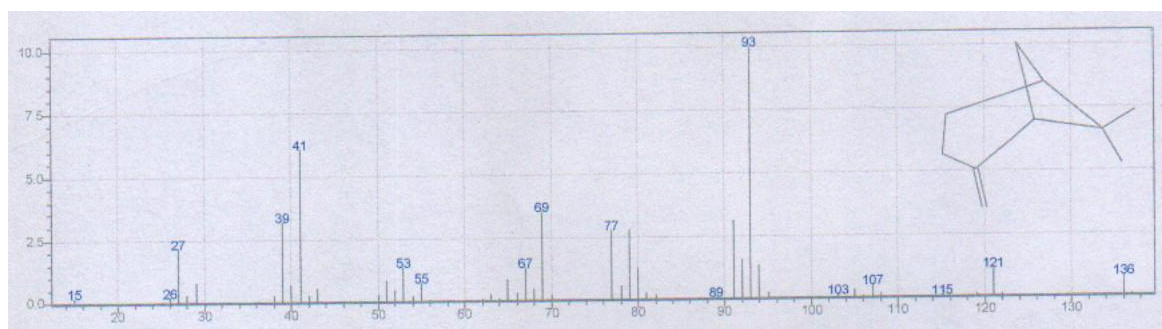
---



*B-Linalol*



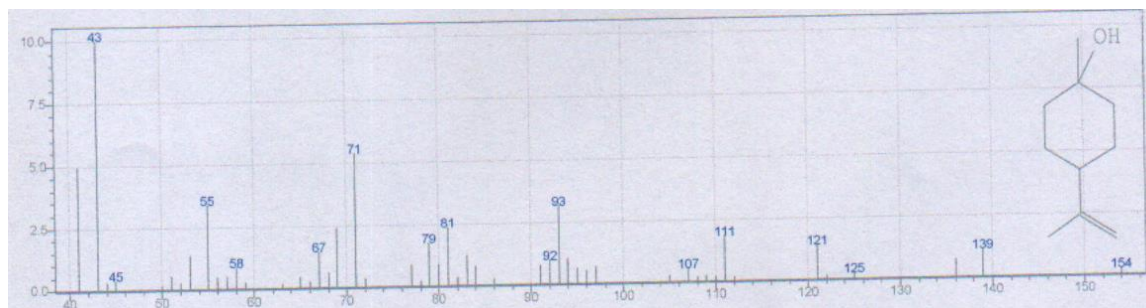
*P-Cymène*



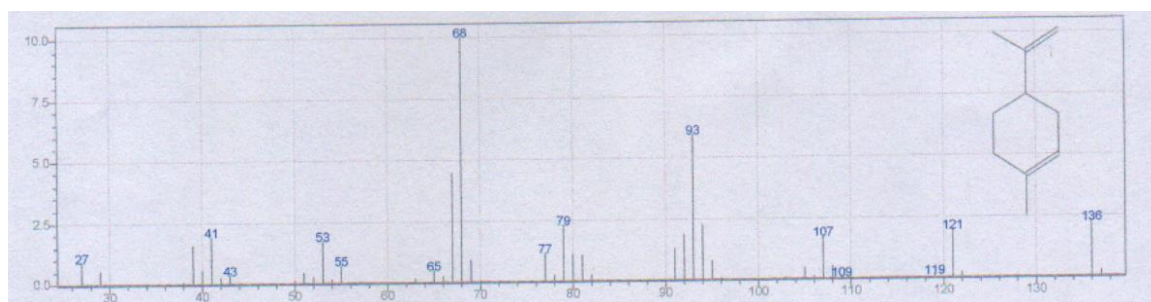
$\beta$ -Pinène

## Annexes

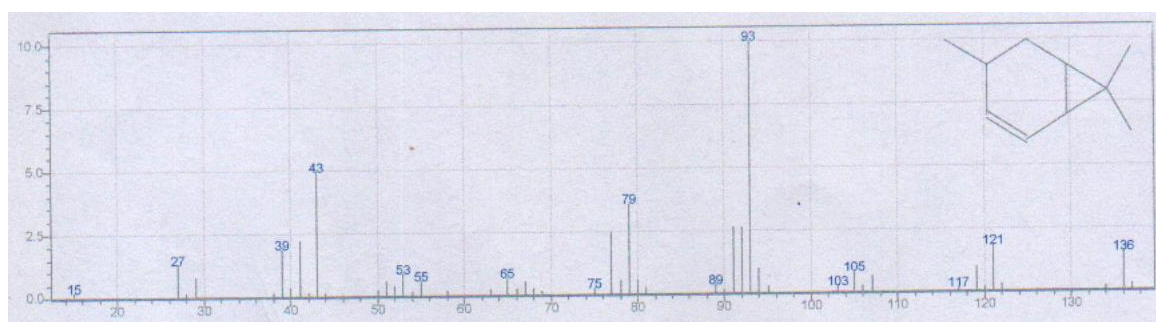
---



Terpène-4-ol



D-Limonène



, 4-Carène

## **CHEMICAL COMPOSITION OF THE ESSENTIAL AND FIXED OIL OF PISTACIA LENTISCUS L. GROWN IN COLLO EAST OF ALGERIA**

Nassima Dlih Boudiaf<sup>1</sup>, Loubna Ferchichi<sup>2\*</sup>, Abderkader Mizi<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Physical Metallurgy and Material Properties Laboratory (LM2PM), Badji Mokhtar Annaba-University, B.P 12, 23000, Annaba, Algeria

<sup>2</sup> Synthesis and Organic Biocatalysis Laboratory, Badji Mokhtar Annaba-University, B.P 12, 23000, Annaba, Algeria

---

### **Abstract**

Essential oil and fixed oil isolated from the aerial parts and the ripe berries of *Pistacia lentiscus* L. growing in Algeria, was evaluated for its chemical composition, this species is used in Algerian folk medicine. The essential oil obtained by hydro distillation was analyzed by GC/MS; the results indicated that the EO of *pistacia lentiscus* L contained the  $\beta$ -Linalool is the major compound with a content of 52.8%, followed by  $\beta$ -Pinene with a content of 6.85%, followed by three compounds with very low levels are Terpene-4-ol, D-Limonene and 4-Carene with percentages that are respectively: 1.08%, 1.05% and 1.02%. While, the fixed oil was obtained by extraction with Soxhlet extractor (solid liquid extraction) with hexane contained three predominant compounds; the trilinolenin with an HRF of 12%, the trilinolein with an HRF of 16%, the triolein with an HRF of 20%, and the waxes with an HRF of 66%,

**Keywords:** *pistacia lentiscus* L, Extraction, Essential oil, Fixed oil, Fatty acids, CG/MS

---

## **Introduction**

The mastic tree (*Pistacia lentiscus* L.), also called *lentiscus pistachio*, mastic tree, "Defoe" or "Tadist", is generally a shrub 1 to 8 m in height [1]. It belongs to the Anacardiaceae family. It differs from other pistachio trees by its evergreen foliage; the compound type leaves are paripinnate, ending in a pair of leaflets, while those of other pistachio trees end in a single leaflet. They are deciduous in winter, pale green and generally larger [2]. In Algeria it is found in the Mediterranean basin of the soummam this species occupies stages bioclimatic wet, it is very popular in traditional medicine. The Essential oils are complex mixtures of lipophilic and highly volatile secondary metabolites formed by aromatic plant, characterized by a strong odour [3], and is used for the following indications heavy legs syndrome, varicose veins, haemorrhoids, sinusitis, resorption of oedemas and bedsores, antispasmodic, expectorant action in dentistry and rheumatism [4, 5]. The study of its essential oil reveals the presence of mono terpenes (45 - 68.3%) followed by oxygenated mono terpenes (13.3-23.1%) and sesquiterpene hydrocarbons (9.2 - 28.1%), however that of fixed oil reveals the presence of oleic, palmitic and linoleic acids [6]. So, it is a source of essential fatty acids and contains 5.6% unsaponifiable matter, it is extracted from the fruit and it is used for the treatment of burns, rheumatism and coughs.

**Figure.1:** *Pistacia lentiscus* were collected from plants in the locality of Collo (East of Algeria)



## Materials and Methods

### ***Plant material***

The plant material was collected from the region of Collo (wilaya of Skikda) on May 2018 during the flowering period, and the ripe berries of *Pistacia lentiscus* L. was collected in September 2018. The aerial parts of the harvested plant were washed, cut into small pieces, and then dried in the dark at room temperature and then ground into a fine powder using a grinder.

### ***Extraction of oil***

The essential oil (EO) was obtained by hydro distillation [7], 100 g of powdered plant was subjected to distillation using an extraction apparatus of Likens Nickerson type for 3h. At the end of this period, the EO was measured at the end of the process and the results were expressed in % (w/w). The OE is collected and stored at (+4°C) until analysis. The fixed oil (FO) of the harvest of ripe berries (black colour) of *Pistacia lentiscus* L was extracted by Soxhlet extractor (solid liquid extraction) with hexane.

### ***Identification of the chemical components of the essential oil***

The chemical compounds of the essential oil of *Pistacia lentiscus* L was obtained by Gas chromatography coupled with spectrometry (GCMS-QP 2010SHIMDZU) was used for the quantitative and qualitative analysis of the essential oil with a carrier gas (helium) as the mobile phase, the injected volume of the sample was

0. 3µl or the temperature of the column (OV-17, 25m, 0,25mm) is maintained isothermally at 60°C for 2min then increase of 1°C/munite in order to reach 240°C in isotherm during 4min [8]. The identification of the compounds was made by the comparison of the retention times of the standard solutions and mass

spectra with those contained in the library of NIST. The percentage of each compound is calculated by the method of internal normalization [9]

### ***Identification of the chemical compounds of the fixed oil***

The chemical compounds of fixed oil was identified by thin layer chromatography

The revelation is done by UV lamp at 254 nm and vanil-sulphuric acid, the theoretical Rf for each compounds is calculated and compared with the experimental Rf on a GF254 plate, the mobile phase is composed of n-hexane - diethyl ether - glacial acetic acid. The solution to be analysed was prepared with 1% chloroform.

## **Results and discussion**

### **The extraction yield**

The EO of Pistacia Lentiscus L. was extracted by hydrodistillation, and the obtained distillate gave yellow oil with a characteristic pungent odour, the extraction yield was 0.0027 ml/100g.

The FO of Pistacia lentiscus L was extracted by extracted by Soxhlet extractor (solid liquid extraction) with hexane and the obtained distillate gave brown oil, and the extraction yield was 43.25 ml/100g. It was found that this yield is much higher than that obtained by: Adjimi R. and Aouchria [10] following an extraction from a sample of lentisk, harvested from the Annaba region, with a yield of 27.25 ml/100 g of berries.

The comparison of our results with the work carried out on an Algerian sample from the Annaba region, reveals the effects of the geographical climatic conditions, the harvesting period and the stage of development.

### ***The chemical compounds of the fixed oil of Pistacia Lentiscus L.***

The FO of the harvest of ripe berries of Pistacia lentiscus L was extracted by Soxhlet extractor (solid liquid extraction) with hexane and the obtained distillate gave brown oil, the extraction yield was 43.25 ml/100g. The FO was analyzed by thin layer chromatography and Revelation by UV Lamp and the results are reported in Table 1 and Table II.

**Table I** : Frontal ratios and HRF of FO from Pistacia lentiscus L. reveled by the Wood's lamp.

Stains	Frontal Reports		
	RF	HRF	compounds
A	0.04	4	Not identified
B	0.12	12	Trilinoléine
C	0.16	16	Trilinoléine
D	0.20	20	Trioléine
E	0.25	25	Not identified
F	0.66	66	Waxes

**Table II** : Frontal ratios and HRF from Pistacia lentiscus L revealed by vanil-sulphuric acid.

Stains	Frontal Reports		
	RF	HRF	compounds
A	0.04	4	Not identified
B	0.12	12	Trilinoléine
C	0.16	16	Trilinoléine
D	0.20	20	Trioléine
E	0.25	25	Not identified
F	0.66	66	Cires
G	0.86	86	Not identified

The Revelation By Wood Lamp allowed the presence of 6 Staines, the calculation of frontal ratios and their heights allowed us to obtain the compounds mentioned in **Table 1** comparing them with the bibliographic data [11], the compounds were identified as: The trilinolenin with an HRF of 12%, the trilinolein with an HRF of 16%, the triolein with an HRF of 20%, and the waxes with an HRF of 66%.

The Revelation with Vanil-Sulphuric Acid allows a more precise identification of the spots, because it gives a characteristic coloration, which differentiates the compounds with identical frontal ratios, and allows the identification of the spots invisible under Wood's lamp.

The recalculation of the Rf and the HRF and the comparison with the theoretical data of [12], allowed us to observe a new spot not identified with an HRF 86%,

In our study, the number of compounds obtained is lower than in the literature [13, 14], **Table III**, the difference is probably due to the operating conditions and the reliability of the separation itself.

Compounds	Percentage %
Palmitic acid	24,5
Palmitoleic acid	1,2
Stearic acid	1,8
Oleic acid	54,8

Linoleic acid	13,9
Linolenic acid	2
Arachidic acid	0,3
Unsaponifiable	5,6

The  
che  
mic  
al  
co

### Compounds of essential oil of *Pistacia lentiscus* L

The EO of the aerial parts of *Pistacia lentiscus* L. was extracted by hydrodistillation, and the obtained distillate gave yellow oil with a characteristic pungent odour, the extraction yield was 0.0027 % (w/w). The EO was analyzed by thin layer chromatography and Revelation by CG/MS and Wood Lamp and the results are reported in Table IV. Comparing them with the bibliographic data [12], the compounds were identified as the linalyl acetate with an HRf of 36%, the anethol with an HRf of 55%.

**Table IV:** Frontal ratios and HRf of the essential oil from *Pistacia lentiscus* L. revealed by the Wood's lamp.

		Frontal Reports		
		RF	HRF	Compounds
Stains	A	0.36	36	Linalyl acetate
	B	0.5	50	Not identified
	C	0.55	55	Anéthol
	D	0.8	80	Not identified

This developer allows for more accurate identification of stains, as it gives a characteristic coloring, which differentiates compounds with identical frontal ratios, and allows for the identification of stains invisible under Wood's lamp.

The recalculation of Rf and HRf and the comparison with theoretical data from [13], allowed us to identify one new unidentified compound with an HRf of 85%.

**Table V:** Frontal ratios and HRf of the essential oil from *Pistacia lentiscus* L. revealed by vanil-sulphuric acid

Stains		Frontal Reports		
		RF	HRF	compounds
A	0.36	36	Linalyl acetate	
B	0.50	50	Not identified	
C	0.55	55	Anéthol	
D	0.80	80	Not identified	
E	0.85	85	Not identified	

### Gas chromatography/mass spectrometry

The compounds of the EO were determined on the basis of retention index (RI) implemented by the injection of the samples and the injection of the reference of a homogeneous series of n-alkanes (C<sub>8</sub>-C<sub>30</sub>), in the same experimental conditions. Supplementary identifications were made by comparing the mass spectra obtained with those of NIST 05 and the Wiley 8th version and a home-made MS library constructed from pure materials and known components of essential oils, and also comparing their retention index with the values of literature. The results were reported in Table IV.

**Table IV:** Chromatographic profile of the analysed essential from *Pistacia lentiscus L*

Compound	N°CAS (British Pharmacopoeia, 2007)	IR (min)	(%)
4-Carene	5208-49-1	3,48	1,02
β-Pinene	127-91-3	4,20	6,85
D-Limonene	5989-27-5	5,02	1,05
P-Cymene	527-84-4	5,30	37,92
β-Linalool	78-70-6	8,46	52,08
Terpene-4-ol	7299-41-4	8,89	1,08

From the TLC and GC/MS results of the essential oils, we can conclude that our sample is composed of: Anethol, 4 - carene, β - pinene, D – limonene, P - cymene, β-Linalool, Terpene - 4 - ol. The number of compounds detected is lower than that mentioned in the bibliography [14], which indicates the presence of 9 representative and characteristic constituents listed in the table: By comparing the results obtained with those mentioned in the bibliography [14], we found common components but with different contents: Limonene, Terpinen-4-ol, β – pinene, P – cymene

## Conclusion

Essential and fixed oils are compounds of medicinal plants with high biological potency used in several fields. Therefore, and in view of the results obtained in our previous carried out on the medicinal plant *Pistacia lentiscus L*. We decided on this work to study the chemical composition of essential and fixed oils, the vegetable oil yield showed an interesting profitability of 43.25 ml / 100 g of berries. The results of the analysis of vegetable oil by thin layer chromatography indicate that the vegetable oil of *Pistacia lentiscus L*. is composed of of triolein, trilinoleine, trilinolenine and waxes, and the yield of essential oils showed a low profitability of  $0.027 \pm 0.003$  ml / 100 of DM., The results of the analysis of the essential oil by thin layer chromatography and gas chromatography coupled with a mass spectrophotometer indicate that the essential oil of *Pistacia lentiscus L*. is constituted of β-Linalool, β-Pinene, Terpene-4-ol, D-Limonene and 4-Carene, when the chemotype of EO is the β- Linalool.

### ACKNOWLEDGMENT

The authors gratefully acknowledge financial support from the Algerian Ministry of Higher Education and Scientific Research

### CONFLICTS OF INTEREST

The authors have no conflicts of interest to declare.

## REFERENCES

- [1] Iauk L, Ragusa S, Rapisarda A, Franco S, Nicolosi VM (1996) In vitro antimicrobial activity of Pistacia lentiscus L. extracts : Preliminary report. Journal of Chemotherapy 8(3): 207-209
- [2] Z. H. Mahmoud. The Magnetic Properties of Alpha Phase for Iron Oxide NPs that Prepared from its Salt by Novel Photolysis Method. Journal of Chemical and Pharmaceutical Research, 2017, 9(8):29-33
- [3] Bakkali, F., Averbeck, S., Averbeck, D., & Idaomar, M. (2008). Biological effects of essential oils—a review. Food and chemical toxicology, 46(2), 446-475.
- [4] Gardeli C., Vassiliki P., Athanasios M., Kibouris M., Komaitis M, 2008. Essential Oil Composition of Pistacia Lentiscus L. And Myrtus Communis L.: Évaluation of Antioxidant Capacity of Methanolic Extracts. Food chemistry : Vol. 107, No. 3, 1120-1130
- [5] Sharaf, H. K., Salman, S., Abdulateef, M. H., Magizov, R. R., Troitskii, V. I., Mahmoud, Z. H., ... & Mohanty, H. (2021). Role of initial stored energy on hydrogen microalloying of ZrCoAl (Nb) bulk metallic glasses. Applied Physics A, 127(1), 1-7.
- [6] Tahmasebi S, El-Esawi MA, Mahmoud ZH, et al. Immunomodulatory effects of Nanocurcumin on Th17 cell responses in mild and severe COVID-19 patients. J Cell Physiol. 2020;1–14. <https://doi.org/10.1002/jcp.30233>
- [7] Clevenger J., J. Am. Pharm. Assoc. 17 (1928) 345.
- [8] Sarikurkcu, C. (2011). Antioxidant activities of solvent extracts from endemic Cyclamen mirabile Hildebr. tubers and leaves. African Journal of Biotechnology, 10(5), 831-839.
- [9] Adams, R. P. (2007). Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectrometry (Vol.456). Carol Stream, IL: Allured publishing corporation.
- [10] Adjmi R. and Aouchria H., 1998., Extraction of oil from lentisk (Pistacia lentiscus L.) using organic solvents and determination of the vitamin content of the oil. D.E.S. thesis, University of ANNABA.
- [11] Stahl E., Dumont E., Jark H., Kraus L., Rozumek K.E. and Schorn P.J. ,1975. Chromatographic and microscopic analysis of drugs. Entreprise moderne d'édition, technique et documentation. Paris, France. Pp: 100-102,143-144.
- [12] Trémolières J., Serville Y., Jacquot R. and Dupin H., 1980. Manuel d'alimentation humaine. "Les bases de l'alimentation". Ed: E.S.F., Pp. : 53-55.

- [13] Wolff J R., 1981. Techniques d'analyse et de contrôle dans les industries agroalimentaire, tome IV. Ed.:Techniques et documentation. Pp: 169-170.