

Pistacia lentiscus extracts as a valuable source of antioxidant compounds

Les extraits de *Pistacia lentiscus* comme source de molécules antioxydantes

S. RGUEZ^{1,2}, I. BETTAIEB REBEY^{1*}, S. BOURGOU¹, M. HAMMAMI¹, I. HAMROUNI SELAMI¹

¹ Laboratory of Aromatic and Medicinal Plants, Center of Biotechnology of Borj Cedria, BP 901, Hammam-Lif 2050, Tunisia.

² Faculty of Sciences, University of Tunis El Manar, Campus Universitaire Farhat Hached B.P. n° 94 - Rommana 1068 Tunis, Tunisie.

*Corresponding author: rosainess@yahoo.fr

Abstract - Medicinal plants produced many secondary metabolites which constituted an important source of bioactive molecules. This study aims to determine organic extracts (EOs) antioxidant activity extracted from terminal branches of *Pistacia lentiscus* (*P. lentiscus*) collected at three different phenological stages (vegetative, flowering and fructification). For this, different extracts were prepared by maceration in various solvents with increasing polarity notably diethyl ether, ethyl acetate, dichloromethane, methanol and water. Antioxidant activity was reported by DPPH free radical scavenging, iron reducing capacity and total antioxidant capacity tests. Results showed that phenological stages and solvent polarities affected significantly *P. lentiscus* antioxidant activity. Furthermore, aqueous and methanolic extracts from vegetative stage present the highest total polyphenols, total flavonoids and condensed tannins contents. Methanolic extract from vegetative stage exhibited the greatest antioxidant activity and even exceeded that of synthetic antioxidants BHT and ascorbic acid. In this study, *P. lentiscus* represents an important source of antioxidant molecules. As a result, extracts of this plant could replace synthetic antioxidants in e food, pharmaceutical and cosmetic fields.

Key words: *Pistacia lentiscus*; organic extracts; solvent polarities; phenological stages; antioxidant activity.

Résumé - Les plantes médicinales produisent de nombreux métabolites secondaires qui peuvent être une source importante de molécules bioactives. Le but de ce travail est de déterminer l'activité antioxydante des différents extraits organiques (EOs) des branches terminales de *Pistacia lentiscus* (*P. lentiscus*) collectée à trois stades phénologiques différents (végétatif, floraison et fructification). Pour se faire, les différents extraits ont été préparés par macération dans différents solvants de polarité croissante notamment le diéthyle-éther, l'acétate d'éthyle, le dichlorométhane, le méthanol et l'eau. L'activité antioxydante a été déterminée par les tests de piéger le radical libre DPPH, la capacité réductrice du fer et la capacité antioxydante totale. Les résultats montrent que les stades phénologiques et les solvants d'extraction affectent significativement l'activité antioxydante du *P. lentiscus*. D'autre part, les extraits aqueux et méthanolique du stade végétatif présentent les teneurs les plus importantes en polyphénols totaux, flavonoïdes totaux et tannins condensés. L'extrait méthanolique du stade végétatif présente l'activité antioxydante la plus importante et qui dépasse même celles des antioxydants synthétiques BHT et acide ascorbique. Dans cette étude, *P. lentiscus* représentent une source importante de molécules antioxydantes. De ce faite, les extraits de ces plantes pourraient remplacer les antioxydants synthétiques dans les domaines agroalimentaire, pharmaceutique et cosmétique.

Mots clés : *Pistacia lentiscus* ; extraits organiques ; polarité des solvants ; stades phénologiques; activité antioxydante.

1. Introduction

Les plantes médicinales ont été utilisées pendant des siècles comme remèdes contre les maladies humaines, grâce à leurs vertus thérapeutiques (Rawat et al., 2010). En effet, ces plantes contiennent des composés bioactifs qui peuvent être utilisés pour le traitement de nombreuses maladies et par conséquent ils peuvent substituer les médicaments synthétiques.

Les maladies qui résultent du stress oxydatif représentent une vraie menace pour la santé humaine (Tay et al., 2011). Couramment, le contrôle de ces maladies est réalisé par l'utilisation des médicaments synthétiques.

Cependant, au cours du temps, ces produits peuvent devenir inefficaces en plus de leur toxicité (EL-Djeussi et al., 2013). Pour cette raison, des restrictions plus fortes ont été appliquées à l'utilisation de ces produits chimiques et il existe une tendance à les remplacer par des antioxydants naturels. Un grand nombre des espèces végétales a été étudié pour la recherche de nouveaux antioxydants naturels plus efficaces (Kim et al., 1994). Par exemple, le romarin et la sauge sont déjà commercialisés comme additifs antioxydants ou suppléments nutritionnels (Schuler, 1990). En effet, les plantes médicinales sont connues pour leur activité antioxydante qui est attribuée en grande partie, à leur richesse en composés phénoliques. Ces métabolites jouent un rôle important dans la protection des plantes contre les dommages oxydatifs en agissant comme capteurs des radicaux libres, donneurs d'hydrogènes et comme agents réducteurs et chélateurs (Razzaghi-Asl et al., 2013).

Aujourd'hui, il est nécessaire que les scientifiques se concentrent sur le développement de nouvelles alternatives aux pesticides chimiques, plus sûres pour les cultures majeures. Le contrôle biologique des maladies phytopathogènes par les microorganismes et les composés bioactifs, y compris les huiles essentielles est considéré comme une alternative plus naturelle et plus acceptable par rapport aux méthodes de traitement chimique existantes pour gérer les maladies des plantes (Stenberg et al., 2015). Les extraits de plantes sont des substances organiques complexes, biosynthétisés par les plantes et interviennent dans la défense de ces dernières contre les agresseurs, notamment les insectes nuisibles, les champignons, les bactéries et les virus (Rehmana et al., 2016). D'autre part, il a été démontré que les extraits exercent une activité biologique contre les champignons phytopathogènes *in vitro* et *in vivo* et peuvent être utilisés comme produits biofongicides. Les extraits de plantes médicinales ont été proposés comme nouvelles classes d'agents de lutte contre les maladies végétales et qui possèdent une biodégradabilité par rapport aux fongicides de synthèses.

Parmi les différents arbres médicinaux et aromatiques existant le genre *Pistacia* qui appartient à la famille des Anacardiaceae et comprend de nombreuses espèces largement distribuées dans les régions méditerranéennes (Vidrich et al., 2004 ; Yemmen et al., 2019). Ce genre végétal se trouve dans tous les types de sols, en particulier dans les sols siliceux (More et White, 2005 ; Zaouali et al., 2019). Parmi ces espèces, *P. lentiscus* (lentisque), qui est connue pour sa large utilisation en médecine traditionnelle. En effet, les parties aériennes de cette espèce de plante sont traditionnellement utilisées dans certaines régions comme remède populaire contre l'hypertension (Villar et al., 1997 ; Abdelwahed et al., 2009). La résine obtenue à partir des tiges était également utilisée en médecine populaire comme remède pour diverses maladies notamment la gastralgie, la dyspepsie et l'ulcère en plus de son effet diurétique (Al Said et al., 1986).

Le but principal de la présente étude est d'étudier pour la première fois l'effet du stade phénologiques et de solvants d'extraction sur l'activité antioxydante des extraits organiques de *P. lentiscus*.

2. Matériel et méthodes

2.1. Matériel végétal

Les parties aériennes de *P. lentiscus* (branches terminales, feuilles, fleurs et cônes) ont été collectées sur des arbres situés dans la région de Sawaf (Centre Tunisien/Latitude 35° 53' 33. 54" N/Longitude 10° 34' 19. 58" E /climat semi aride). Les prélèvements ont été effectués au cours de l'année 2016 durant trois stades phénologiques (végétatif, floraison et fructification). Le matériel végétal récolté a été séché à l'air libre et à la température ambiante à l'abri du soleil puis a été broyé grossièrement et directement utilisé pour les extractions.

2.2. Extraction par macération

Les composés phénoliques ont été extraits par macération dans les solvants purs selon la méthode de Mau et al. (2001). Pour cela, 1 g de la matière végétale sèche et broyée a été mis dans 10 ml de solvants organique purs à différentes polarités. Pour cette raison, cinq solvants ont été utilisés : diéthyle éther, acétate d'éthyle, dichlorométhane, méthanol et eau et les suspensions ont été agitées pendant 24 h à l'obscurité et à 4°C. Les macérats obtenus ont été filtrés sur papier filtre sans cendre (Wattman N° 4) et évaporés sous vide avant le stockage à 4°C.

2.3. Dosage spectrophotométrique des composés phénoliques

2.3.1. Polyphénols totaux

Le dosage des polyphénols totaux a été réalisé avec le réactif de Folin-Ciocalteu (Dewanto et al., 2002) qui en milieu alcalin est réduit en oxyde de tungstène et de molybdène donnant une couleur bleue en présence de polyphénols. Le mélange est constitué d'une prise de 125 µl de l'extrait dilué et de 125 µl de réactif de Folin-Ciocalteu. Après une agitation vigoureuse suivie d'un repos de 3 min, une prise de 1250 µl de CO₃(Na)₂ à 7% est additionnée et le mélange obtenu est ajusté à 3 ml avec de l'eau distillée. Après un repos

de 90 min à l'obscurité, la lecture de l'absorbance est effectuée à une longueur d'onde de 760 nm. La gamme étalon est préparée avec de l'acide gallique à des concentrations de 50, 100, 200, 300, 400 et 500 mg/l. Les teneurs en polyphénols totaux sont exprimées en mg d'équivalent acide gallique par microgramme de matière sèche ($\mu\text{g EAG/g MS}$).

2.3.2. Flavonoïdes totaux

Les flavonoïdes totaux ont été dosés par une méthode colorimétrique selon Dewanto et al. (2002). Une prise de 125 μl de l'extrait convenablement dilué est mélangée avec 37,5 μl de NaO_2 (5%). Après un repos de 6 min, nous ajoutons 75 μl d' $\text{AlCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (10%) fraîchement préparé et 5 min plus tard. 250 μl de NaOH (1M) sont additionnés au mélange et le volume est ajusté à 1,2 ml avec de l'eau distillée. La lecture de l'absorbance a été faite à 510 nm. La gamme étalon est préparée avec la catéchine à des concentrations croissantes allant de 50 à 500 $\mu\text{g/ml}$. Les teneurs en flavonoïdes totaux sont exprimées en mg d'équivalent catéchine par gramme de matière sèche ($\mu\text{g EC/g MS}$).

2.3.3. Tannins condensés

En présence d'acide sulfurique concentré, les tanins condensés se dépolymérisent et par réaction avec la vanilline se transforment en anthocyanidols de couleur rouge spécifique, mesurable par spectrophotométrie (Sun et al., 1998). Une prise de 25 μl de l'extrait convenablement dilué est mélangée avec 1,5 ml de vanilline (4%) puis additionnée de 1,5 ml de HCL concentré. Après 15 min de repos, l'absorbance est mesurée à 500 nm. La gamme étalon est préparée avec de la catéchine à des concentrations allant de 50 à 600 mg/ml. Les teneurs en tanins condensés sont exprimées comme pour les flavonoïdes en mg d'équivalent catéchine par gramme de matière sèche ($\mu\text{g EC/g MS}$).

2.4. Activité antioxydante des extraits organiques

2.4.1. Capacité de piéger le radical libre DPPH

*Principe : L'activité antiradicalaire est mesurée par la dégradation du DPPH : 2,2'-diphényl-1-picrylhydrazyl qui est un radical synthétique présentant une intense coloration violette. La couche électronique de ce radical est saturée en contact d'antioxydants ce qui explique la disparition de sa coloration. Cette décoloration explique le pouvoir de l'extrait de la plante à piéger ce radical.



*Mesure de l'activité : L'estimation de l'activité antiradicalaire est mesurée selon la méthode de Hanato et al. (1988). Un aliquote de 500 μl de l'extrait à différentes concentrations (5, 10, 25, 50 et 100 $\mu\text{g/ml}$) est mélangé avec 250 μl d'une solution de DPPH (0,06 mM). Après une agitation vigoureuse du mélange, ce dernier est conservé au repos pendant 30 min à l'obscurité. L'absorbance est mesurée à 517 nm à l'aide d'un spectrophotomètre-UV visible en se référant à un témoin sans extrait. Pour chaque concentration, le test est répété 3 fois. L'activité antiradicalaire est estimée en pourcentage d'inhibition grâce à la formule suivante :

$$\text{PI} = (\text{DO témoin} - \text{DO extrait} / \text{DO témoin}) * 100$$

PI : pourcentage d'inhibition de la dégradation du DPPH.

DO témoin : absorbance du DPPH sans extrait.

DO extrait : absorbance du DPPH en présence de l'extrait.

Finalement, les résultats ont été exprimés en CI_{50} qui représente la concentration de l'extrait qui est capable d'inhiber 50% du radical DPPH.

2.4.2. Capacité réductrice du fer

*Principe : L'activité réductrice est basée sur la réaction d'oxydoréduction entre l'extrait et les ions métalliques de transition notamment le fer et le cuivre (Huang et al., 2005). En effet, le $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ fournit des ions Fe^{3+} qui seront réduits par la capacité antioxydante de l'extrait de plantes à céder des électrons :



*Mesure de l'activité : Le pouvoir réducteur est déterminé par la méthode décrite par Oyaizu (1986). Cette méthode consiste à mélanger 100 μl de l'extrait à différentes concentrations (50, 100, 200, 400 et 600 $\mu\text{g/ml}$) avec 250 μl de tampon phosphate (0,2 mol/l, pH 6,6) et 250 μl de $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ (1%). Le mélange obtenu est

incubé pendant 20 min à 50°C. Par la suite, 250 µl de TCA (10%) sont additionnés pour arrêter la réaction et le milieu est ensuite centrifugé à 650 g pendant 10 min à la température ambiante. Enfin, au surnageant (250 µl), 250 µl d'eau distillée et 50 µl FeCl₃ (0,1%) sont additionnés. La lecture de l'absorbance se fait à 700 nm (le blanc est le solvant d'extraction). Le témoin positif est l'acide ascorbique (10-1000 µg/ml). Les résultats sont exprimés en concentration efficace (CE50 en µg/ml) qui est la concentration de l'extrait correspondant à une absorbance égale à 0,5. La valeur de CE50 est obtenue par interpolation de la courbe de régression linéaire (Mau et al., 2001).

2.5. Traitements statistiques des données

Les analyses statistiques de la variance (ANOVA, $p \leq 0,05$) et la comparaison des moyennes ont été effectuées en utilisant le logiciel de statistiques SPSS version 13. Les moyennes ont été comparées à l'aide du test de Student-Newman-Keuls à $p \leq 0,05$. L'analyse de la variance (ANOVA) à deux facteurs a été utilisée pour l'étude des effets combinés des solvants d'extraction et des teneurs en polyphénols et l'activité antioxydante.

3. Résultats

3.1. Teneurs en polyphénols totaux, flavonoïdes totaux et tannins condensés des extraits organiques

Les teneurs en polyphénols totaux, flavonoïdes totaux et tannins condensés des EOs de *P. lentiscus* sont présentées dans le tableau 1. Les résultats montrent que les quantités de ces molécules varient significativement ($p < 0,05$) selon les stades phénologiques et selon les solvants d'extraction. D'autre part, la teneur en polyphénols totaux varie avec un maximum détecté dans l'extrait aqueux du stade végétatif (80.25 µg EAG/g MS) suivi par l'extrait méthanolique du stade végétatif avec une teneur de 35.68 µg EAG/g MS. La teneur maximale en flavonoïdes est détectée dans l'extrait méthanolique du stade végétatif (594.73 µg EQ/g MS). La teneur la plus élevée en tannins condensés est attribuée à l'extrait méthanolique du stade végétatif (6.73 µg EC/g MS).

Tableau 1. Variation des teneurs en polyphénols totaux, en flavonoïdes et en tannins condensés dans les extraits organiques de *Pistacia lentiscus* en fonction du stade phénologique et de la polarité des solvants.

Solvants	Polyphénols totaux (µg EAG/g MS)		
	Vg	Fl	Fr
H ₂ O	80.25 ^{Aa} ± 3.22	71.96 ^{Ac} ± 0.64	75.76 ^{Ab} ± 0,29
MEOH	35.68 ^{Ba} ± 0.33	25.69 ^{Bc} ± 0,23	28.35 ^{Bb} ± 0,22
DCM	12.74 ^{Eb} ± 0.27	10.92 ^{Dc} ± 0.22	13.07 ^{Ea} ± 0,08
AE	26.84 ^{Ca} ± 1.85	17.92 ^{Cc} ± 1,22	20.59 ^{Cb} ± 0,20
EE	17.10 ^{Da} ± 1.00	9.99 ^{Dc} ± 0,26	14.79 ^{Db} ± 0,48
		Flavonoïdes totaux (µg EQ/g MS)	
H ₂ O	507.2 ^{Ca} ± 2.29	346.8 ^{Cb} ± 1.65	347.20 ^{Db} ± 0.87
MEOH	594.73 ^{Aa} ± 5.64	440.8 ^{Ac} ± 8.27	500.26 ^{Ab} ± 5.24
DCM	377.60 ^{Da} ± 3.22	188.8 ^{Ec} ± 2.20	214.40 ^{Eb} ± 4.82
AE	550.40 ^{Ba} ± 1.06	352.12 ^{Bc} ± 3.70	401.60 ^{Bb} ± 2.28
EE	284.80 ^{Eb} ± 0.24	227.2 ^{Dc} ± 1.45	387.20 ^{Ca} ± 8.23
		Tannins condensés (µg EC/g MS)	
H ₂ O	5.21 ^{Ba} ± 0.22	2.95 ^{Bc} ± 0.02	3.27 ^{Bb} ± 0.03
MEOH	6.73 ^{Ab} ± 0.25	4.83 ^{Ac} ± 0.36	8.80 ^{Aa} ± 0.48
DCM	3.48 ^{Ca} ± 0.07	2.25 ^{Cb} ± 0.04	2.44 ^{Cb} ± 0.02
AE	1.25 ^{Da} ± 0.04	1.22 ^{Da} ± 0.04	1.03 ^{Eb} ± 0.01
EE	1.01 ^{Db} ± 0.01	1.04 ^{Eb} ± 0.02	1.11 ^{Da} ± 0.01

3.2. Activité antioxydante des extraits organiques

Dans cette étude, l'activité antiradicalaire contre le radical libre DPPH, la capacité réductrice du fer et l'activité antioxydante totale ont été testées pour les différents EOs de *P. lentiscus* des trois stades phénologiques et les résultats obtenus sont résumés dans le tableau 2. L'extrait méthanolique de *P. lentiscus* collectée au stade végétatif montre la capacité antiradicalaire la plus importante (IC₅₀=2.32 µg/ml). D'après nos résultats, l'activité antiradicalaire des extraits méthanoliques et aqueux des trois stades phénologiques est plus importante que celle de l'antioxydant synthétique BHT (IC₅₀ = 16 µg/ml). En ce qui concerne l'effet du solvant d'extraction, l'activité antiradicalaire suit cet ordre : extrait méthanolique > extrait aqueux > extrait à l'acétate d'éthyle > extrait au diéthyle éther > extrait dichlorométhanolique et (Tableau 2).

La capacité réductrice du fer de *P. lentiscus* a été également évaluée. Les résultats montrent que cette activité est significativement affectée par les stades phénologiques et les solvants d'extraction (Tableau 2). En effet, l'extrait méthanolique du stade végétatif possède l'activité la plus importante (CE50 = 2.32 µg/ml) suivie par celle de l'extrait aqueux du stade végétatif (CE50 = 6.32 µg/ml). Les résultats montrent que les extraits aqueux et méthanolique présentent une meilleure activité réductrice du fer comparée avec celle de l'acide ascorbique (CE50 = 34.96 µg/ml). La capacité réductrice du fer suit cet ordre : méthanolique > extrait aqueux > extrait à l'acétate d'éthyle > extrait au diéthyle éther > extrait dichlorométhanolique (Tableau 2).

Enfin, la capacité antioxydante totale des EOs de *P. lentiscus* est évaluée par la méthode de réduction du molybdate. Les résultats montrent que les extraits testés possèdent différentes capacités antioxydantes qui dépendent du stade phénologique et du solvant d'extraction. Les résultats présentés dans le tableau 2 montrent que l'extrait méthanolique du stade végétatif possède la capacité antioxydante totale la plus élevée (687.05 µg EAG/g MS). Contrairement aux extraits méthanolique et aqueux, les extraits dichlorométhanolique, à l'acétate d'éthyle, au diéthyle éther et dichlorométhanolique montrent une capacité antioxydante non importante. L'activité de la réduction du molybdate a été plus importante pour l'extrait méthanolique > extrait aqueux > extrait acétate d'éthyle > extrait diéthyle éther > extrait dichlorométhanolique (Tableau 2).

Tableau 2: Variation de l'activité antioxydante des extraits organiques de *Pistacia lentiscus* en fonction du stade phénologique et de la polarité du solvant.

Solvants	DPPH (CI 50 µg/ml)		
	Vg	Fl	Fr
H ₂ O	6.32 ^{Dc} ± 0.03	7.22 ^{Db} ± 0.01	9.02 ^{Da} ± 0.05
MEOH	2.32 ^{Ec} ± 0.1	4.09 ^{Ea} ± 0.07	3.81 ^{Eb} ± 0.01
AE	277.31 ^{Cb} ± 0.25	279.74 ^{Cb} ± 0.41	296.44 ^{Ca} ± 0.12
DCM	963.88 ^{Ac} ± 8.23	2914.22 ^{Aa} ± 11.23	1802.90 ^{Ab} ± 14.45
EE	755.26 ^{Ba} ± 7.22	656.45 ^{Bb} ± 14.23	645.23 ^{Bb} ± 15.20
BHT		16.00 ± 1.11	
Capacité réductrice du fer (CE 50 µg/ml)			
H ₂ O	19.53 ^{Db} ± 0.52	20.44 ^{Da} ± 0.41	19.62 ^{Db} ± 0.89
MEOH	9.32 ^{Ec} ± 0.09	15.33 ^{Ea} ± 0.24	13.77 ^{Eb} ± 0.34
AE	63.02 ^{Cb} ± 0.51	63.67 ^{Cb} ± 2.91	76.95 ^{Ca} ± 2.28
DCM	238.09 ^{Aa} ± 2.48	150.20 ^{Ab} ± 7.68	238.45 ^{Aa} ± 2.86
EE	102.89 ^{Ba} ± 5.67	93.63 ^{Ba} ± 8.98	108.19 ^{Ba} ± 7.91
Acide ascorbique		34.96 ± 1.37	
Capacité antioxydante totale (µg EAG/g MS)			
H ₂ O	520.87 ^{Ba} ± 6.78	425.10 ^{Bc} ± 2.60	433.22 ^{Bb} ± 3.66
MEOH	687.05 ^{Aa} ± 14.98	628.23 ^{Ab} ± 6.62	601.46 ^{Ac} ± 19.69
AE	121.15 ^{Ca} ± 0.02	91.71 ^{Cc} ± 0.30	100.21 ^{Cb} ± 2.12
DCM	45.22 ^{Ea} ± 0.85	37.83 ^{Ec} ± 0.45	43.41 ^{Eb} ± 0.15
EE	70.66 ^{Db} ± 0.53	70.45 ^{Db} ± 0.73	76.68 ^{Da} ± 0.44

H₂O: eau; MEOH: méthanol; AE: acétate d'éthyle, DCM: dichlorométhane; EE; diéthyle-éther; Vg: stade végétatif; Fl: stade floraison; Fr: stade fructification. Toutes les mesures ont été effectuées en triplet et les résultats ont été exprimés en moyennes ± erreurs standards. La variation entre les solvants pour chaque stade phénologique étudié est significativement différente à $p < 0.05$ selon le test Duncan (lettres minuscules) ; la variation entre les stades phénologiques pour chaque solvant étudié est significativement différente à $p < 0.05$ selon le test de Duncan (lettres majuscules).

4. Discussion

Au cours des dernières années, les extraits des plantes sont apparus sur le marché en tant qu'antioxydants dans différentes industries agro-alimentaire, pharmaceutique, cosmétique. La capacité antioxydante de certains extraits s'est avérée être comparable et parfois plus élevée que celle des antioxydants synthétiques qui causent des maladies dangereuses pour la santé humaine en plus de leur toxicité (Tay et al., 2011). Parmi ces plantes médicinales à propriétés antioxydantes, on cite les Anacardiaceae qui comprennent un grand nombre des plantes qui sont connues pour leurs propriétés antioxydantes (Al-Snafi et al., 2016).

Pistacia lentiscus est considérée une des plus importantes Anacardiaceae méditerranéennes utilisées pour leurs propriétés médicinales et aromatiques (Amri et al., 2012). Le présent travail montre que les teneurs en polyphénols totaux extraits à partir de la partie aérienne de *P. lentiscus* varient en fonction des stades phénologiques avec un maximum détecté dans l'extrait aqueux du stade végétatif suivi par l'extrait

méthanolique du stade végétatif. Le maximum des flavonoïdes est détecté dans l'extrait méthanolique du stade végétatif. Finalement, les teneurs les plus élevées en tannins condensés sont attribuées à l'extrait méthanolique du stade végétatif aussi.

Dans cette étude, les extraits aqueux de *P. lentiscus* montrent un contenu élevé en polyphénols totaux. Cependant, un taux élevé en sucres peut réagir avec le réactif folin Ciocalteu et par conséquent peut causer une surestimation du contenu en polyphénols totaux (Ramdane et al., 2017). Ces résultats suggèrent que le méthanol est le meilleur solvant pour extraire les polyphénols totaux à partir du *P. lentiscus*. D'autre part, la majorité des composés phénoliques sont solubles dans les solvants polaires et moyennement polaires comme le méthanol et l'acétate d'éthyle. Eventuellement, la composition chimique des différents EOs peut être attribuée à la polarité du solvant d'extraction qui a une grande influence sur la nature phytochimique des composés présents dans l'extrait (Djeridane et al., 2006).

Dans cette étude, l'activité antioxydante de *P. lentiscus* présentée par l'activité antiradicalaire contre le radical libre DPPH a été selon cet ordre pour tous les stades phénologiques : extrait méthanolique > extrait aqueux > extrait acétate d'éthyle > extrait diéthyle éther > extrait dichlorométhanolique. La capacité réductrice du fer peut être aussi utilisé comme un indicateur significatif pour le potentiel antioxydant du lentisque et une absorbance élevée indique une réduction du fer importante (Venkatachalam et al., 2012). Dans cette étude, la capacité réductrice du fer est significativement affectée par le stade phénologique et aussi par le solvant d'extraction. Cette activité a été trouvé selon cet ordre : extrait méthanolique > extrait aqueux > extrait acétate d'éthyle > extrait diéthyle éther > extrait dichlorométhanolique. L'étude de la capacité antioxydante totale des différents EOs de *P. lentiscus* a été évaluée par la méthode de réduction de molybdate et les résultats montrent que cette activité est plus importante dans l'extrait méthanolique > extrait aqueux > extrait acétate d'éthyle > extrait diéthyle éther > extrait dichlorométhanolique.

La présence d'un taux élevé en polyphénols, flavonoïdes et tannin condensés dans les extraits du lentisque a été rapportée dans l'étude de Hemma et al. (2018). Ces auteurs ont démontré que les extraits méthanolique des feuilles et ou fruits sont riches en phénols totaux et tannins et pauvre en flavonoïdes. Le test antioxydant a révélé la présence d'une forte activité réductrice de ces extraits, ces derniers possèdent un pourcentage de réduction du radical libre DPPH supérieur à 73% avec une CI50 égale à 0.12 mg / ml pour les feuilles et 0.26 mg / ml pour les fruits. D'autre part, le test FRAP a aussi montré une forte réduction du fer en fonction de la concentration de l'extrait. De même, les travaux de Barbouchi et al. (2020) ont montré que la teneur en polyphénols dans les extraits méthanoliques de *P. lentiscus* est de l'ordre de 345.95 mg EAG/g MS. De même, les extraits aqueux et éthanolic du lentisque présente une capacité antioxydante totale de l'ordre de 488.16 EAG (Barbouchi et al., 2020) L'extrait éthanolic de *P. lentiscus* montrent une forte capacité réductrice de fer (Benhammou et al., 2008). Les travaux de Hemma et al. (2018) ont prouvé que l'extrait méthanolique du lentisque contient des quantités élevées de polyphénols totaux, flavonoïdes et tannins. Le test antioxydant révèle aussi la présence d'une forte activité antiradicalaire contre le radical libre DPPH avec une CI50 égale à 0.12 mg/ml.

Dans cette étude, en plus du solvant d'extraction, les stades phénologiques affectent largement le taux en polyphénols totaux, flavonoïdes et tannins condensés pour les deux plantes. Ces résultats confirment ceux de Ben-Farhat et al. (2014) qui ont montré que l'origine géographique (localité et habitats) et le temps de récolte affectent le rendement d'extraction ainsi que la composition chimique de l'extrait (Rguez et al., 2018).

Selon nos connaissances, cette étude est la première chez *P. lentiscus* qui porte sur l'étude de la variation de l'activité antioxydante en fonction de la polarité du solvant d'extraction et du stade phénologique. Par contre, différents auteurs ont valorisé l'activité antioxydante des EOs des plantes médicinales. Par exemple, l'activité antiradicalaire contre les radicaux libres DPPH et ABTS des extraits de *Annona Squamosa* suit cet ordre pour le DPPH : extraits chloroformique > extrait méthanolique > extrait hexanique alors que pour l'ABTS, l'activité suit cet ordre : extrait méthanolique > extrait chloroformique > extrait hexanoïque (Bheemagani et al., 2017). Le contenu le plus élevé en polyphénols totaux d'*Echium arenarium* est obtenu pour l'extrait acétate d'éthyle qui montre aussi une meilleure activité de piéger le radical libre DPPH (Kefi et al., 2018). La fraction acétate d'éthyle d'*Asteriscus graveolens* exerce la plus forte activité antioxydante démontrée par les tests DPPH, la réduction du fer et la capacité antioxydante totale. Cette activité est plus importante que celle des extraits méthanoliques, butanolique et éthanolic (Ramdane et al., 2017).

La composition phytochimique de *P. lentiscus* montre que ces plantes produisent des composés phénoliques qui exercent un important potentiel antioxydant. Cette efficacité peut être attribuée à la présence du groupe hydroxyle qui permet de piéger le radical libre DPPH (Gallardo et al., 2006). D'après Kaewseejan et al. (2015), les composés phénoliques ont la propriété d'un potentiel antioxydant important par leur capacité de piéger le radical libre par le don d'hydrogène ou d'électron.

5. Conclusion

En conclusion, dans cette étude, *P. lentiscus* présente une source importante de molécules antioxydantes qui peuvent réagir pour piéger les radicaux libres marquant cette plante essentielle pour la santé humaine. De plus, la capacité antioxydante des extraits méthanoliques du lentisque s'est avéré respectivement quatre et trois fois plus efficace que les antioxydants synthétiques BHT et acide ascorbique. De ce fait, ce produit chimique à effet néfaste sur la santé humaine peut être remplacé par les extraits de *P. lentiscus* dans les domaines agroalimentaire, pharmaceutique et cosmétique.

6. References

- Abdelwahed, A., Bhourri W A. Neffati Ben Sghaier M Boubaker J. Bouhlel I. Skandrani I Ben Ammar R Ghedira K Chekir-Ghedira L., 2009. Antigenotoxic and Antioxidant Activities of Fruit Extracts from (Tunisian) *Pistacia Lentiscus*. *Food. Sci. Tech. Int.* 15(3) : 215-222.
- Abdelwahed, A., Bhourri W A. Neffati Ben Sghaier M Boubaker J. Bouhlel I. Skandrani I Ben Ammar R Ghedira K Chekir-Ghedira L., 2009. Antigenotoxic and Antioxidant Activities of Fruit Extracts from (Tunisian) *Pistacia Lentiscus*. *Food. Sci. Tech. Int.* 15(3) : 215-222.**
- Al-Said, M. S., Ageel, A. M., Parmar, N. S., Tariq, M. 1986. Evaluation of mastic, a crude drug obtained from *Pistacia lentiscus* for gastric and duodenal anti-ulcer activity. *J. Ethnopharmacol.*, 15: 271-278.
- Amri, I., Hamrouni L, Hanana M., Jamoussi B., 2012. Chemical composition and herbicidal effects of *Pistacia lentiscus* L. essential oil against weeds. *Int. J. Med. Arom. Plants*, 4, 558-565.
- Barbouchi, M., Elamrani, K., El Drissi, M., Choukrad, M., 2020. A comparative study on phytochemical screening, quantification of phenolic contents and antioxidant properties of different solvent extracts from various parts of *Pistacia lentiscus* L. *Journal of King Saud University*: 32(1): 302-306.
- Ben-Farhat, M., Chaouch-Hamada, R., Sotomayor, J., Landoulsi, A., Jordán, M., 2014. Antioxidant potential of *Salvia officinalis* L. residues as affected by the harvesting time. *Ind. Crops. Prod.* 54, 78–85.
- Benhammou, N., Bekkara, F.A., Panovska, T.K., 2008. Antioxidant and antimicrobial activities of the *Pistacia lentiscus* and *Pistacia atlantica* extracts. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*. 2(2): 22-28.
- Bhemagani, A.J., Premkumar, P., Anupalli, R.R., 2017. Evaluation of antioxidant and antimicrobial activity of *Annona squamosa* L seed extracts. *J. Cell. Tissue. Res.* 17(2), 6109-6114.
- Dewanto, V., Wu, X., Adom, K.K., Liu, R.H., 2002. Thermal processing enhances the nutritional value of tomatoes by increasing total antioxidant activity. *J. Agr. Food. Chem.* 50, 3010-3014.
- Djeridane, A., Yousfi, M., Nadjemi, B., Boutassouna, D., Stocker, P., Vidal, N., 2006. Antioxidant activity of some Algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds. *Food. Chem.* 97, 654-60.
- El-Djeussi, D., Noumedem, J., A Seukep, J., G Fankam, A., Voukeng, I., Tankeo, S., Nkuete, A., Kuete, V., 2013. Antibacterial activities of selected edible plants extracts against multidrug-resistant Gram-negative bacteria. *Comp. Alt. Med.* 13, 164.
- Gallardo, L., Jimenez, M.T., Garcia, C., 2006. Hydroxycinnamic acid composition and *in vitro* antioxidant activity of selected grain fractions. *Food. Chem.* 99 (3), 455–463.
- Hanato, T., Kagawa, H., Yasuhara, T., Okuda, T., 1988. Two new flavonoids and other constituents in licorice root: their relative astringency and radical scavenging effect. *Chem. Pharm. Bull.* 36, 1090-1097.
- Hemma, R., Belhadj, S., Celia, O., Fairouz, S., 2018. Antioxidant activity of *Pistacia Lentiscus* methanolic extracts. *Revue Agrobiologia*. 8(1): 845-852
- Kaewseejan, N., Sutthikhum, V., Siriamornpun, S., 2015. Potential of *Gynura procumbens* leaves as source of flavonoid-enriched fractions with enhanced antioxidant capacity. *J. Funct. Foods*. 12, 120-128.
- Kefi, S., Essid, R., Mkadmini, K., Kefi, A., Mahjoub Haddada, F., Tabbene, O., Limam, F., 2018. Phytochemical investigation and biological activities of *Echium arenarium* (Guss) extracts. *Microb. Pathogens*. 5, 472-476.
- Kim, S.Y., Kim, S.K., Oh, M.J., Jung, M.Y., 1994. Antioxidant activity of selected oriental herb extracts. *J. Am. Oil. Chem. Soc.* 71, 633- 640.
- Mau, J. L., Chao, G.R., Wu, K.T., 2001. Antioxidant properties of methanolic extracts from several ear mushrooms. *J. Agr. Food. Chem.* 49, 5461-5467.

- More, D., White, J.,** 2005. Encyclopédie des arbres plus de 1800 espèces et variétés du monde. Flammarion 18, 797.
- Oyaizu, M.,** 1986. Studies on products of the browning reaction: Antioxidative activities of browning reaction. Jpn. J. Physiol. 44, 307-315.
- Ramdane, F., Essid, R., Fares, N., El Ouassis, D., Aziz, S., Mahfoud Hadj Mahammed, M-H., Mohamed, D.O., Hadj, M., Limam, F.,** 2017. Antioxidant antileishmanial cytotoxic and antimicrobial activities of a local plant *Myrtus nivellei* from Algeria. Asian. Pac. J. Trop. Biomed. 8, 702-707.
- Ramdane, F., Essid, R., Fares, N., El Ouassis, D., Aziz, S., Mahfoud Hadj Mahammed, M-H., Mohamed, D.O., Hadj, M., Limam, F.,** 2017. Antioxidant antileishmanial cytotoxic and antimicrobial activities of a local plant *Myrtus nivellei* from Algeria. Asian. Pac. J. Trop. Biomed. 8, 702-707.
- Rawat, P., Khan, M.F., Kumar, M., Tamar, M., Tamarak, A.K., Sivastava, A.K., Arya, K.R., Maurya, R.,** 2010. Constituents from fruits of *Cupressus sempervirens*. Fitoterapia. 81(3), 162-6.
- Razzaghi-Asl, N., Garrido, J., Khazraei, H., Borges, F., Firuzi, O.,** 2013. Antioxidant properties of hydroxycinnamicacids: A review of structure-activity relationships. Curr. Med. Chem. 20 (36), 4436-4450.
- Rehmana, R., Hanifa, M.A., Mushtaq, Z., Al-Sadi, A.M.,** 2016. Biosynthesis of essential oils in aromatic plants: A review. Food. Rev. Int. 32, 117-160.
- Rguez, S., Msaada, K., Daami-Remadi, M., Chayeb, I., Bettaieb Rebey, I., Hammami, M., Laarif, A., Hamrouni-Sellami, I.,** 2018. Chemical composition and biological activities of essential oils of *Salvia officinalis* aerial parts as affected by diurnal variations. Plant. Biosys. 1126, 1724-5575.
- Schuler, P.,** 1990. Natural antioxidants exploited commercially. In "Food antioxidants", Hudson B.J.F. Ed. Elsevier, London, pp. 99-170.
- Stenberg, J.A., Heil, M., Åhman, I., Björkman, C.,** 2015, Optimizing crops for biocontrol of pests and disease. Trends. Plant. Sci. 20, 698-712.
- Sun, X. C., Gao, Y. F., Li, H. R., Yang, S.Z., Liu, Y.S.,** 2015. Over-expression of SIWRKY39 leads to enhanced resistance to multiple stress factors in tomato. J. Plant Biol. 58, 52-60.
- Tay, B., Giday, M., Animt, A., Seid, J.,** 2011. Antibacterial activities of selected medicinal plants in traditional treatment of human wounds in Ethiopia. Asian. Pac. J. Trop. Biomed. 1(5), 370-5.
- Venkatachalam, U., Muthukrishnan, S.,** 2012. Free radical scavenging activity of ethanolic extract of *Desmodium gangeticum*. J. Acut. Med. 2, 36-42.
- Vidrich, V., Fusi, P., Graziano, A., Silvestrini, E., Michelozzi, M., Franci, M.,** 2004. Chemical Composition of the Essential Oil of *Pistacia lentiscus* L. Journal of Essent. Oil. Res. 16, 3.
- Villar, A., Sanz, M. J., Paya, M.,** 1987. Hypotensive effect of *Pistacia lentiscus* L. Int. J. Crude Drug Res., 25: 1-3.
- Yemmen, M., Landolsi, A., Ben Hamida, J., Mégardi, F.,** 2017. Antioxidant activities, anticancer activity and polyphenolics profile of leaf, fruit and steam extracts of *Pistacia lentiscus* from Tunisia. Cellular and molecular biology. 63 (9): 87.
- Zaouali, Y., Bel Hadj Yahia, I., Jaouadi, R., Massaoudi, C.,** 2019. Sex-related differences in essential oil composition, phenol contents and antioxidant activity of aerial parts in *Pistacia lentiscus* L during seasons. Ind. Crops. Prod. 121, 151-159.