



République Algérienne Démocratique et Populaire  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche  
Scientifique



**Université Amar Thelidji-Laghouat**

**FACULTE : TECHNOLOGIE**

**DEPARTEMENT:GÉNIE DES PROCÉDÉS**

**MEMOIRE DE MASTER**

**Présenté par : Mabrouk Oumelkhir**

**Largote Fatima zahra**

**DOMAINE : Sciences et Technologies**

**FILIERE : Génie des Procédés**

**OPTION: Génie Pharmaceutique**

**Thème**

**L'effet du temps et de la température de rotissage  
sur la composition chimique et l'activité  
antioxydante des huiles fixes de Pistachier de l'Atlas**

**Jury de soutenance:**

<b>Nom et Prénom</b>	<b>Grade</b>	<b>Qualité</b>
M.MAHDJOUBI Hadj Aissa	MAA	Président
M.MERIGUI Khaled	MAA	Examineur
M.TOUNSI Aissa	MCB	Rapporteur
M. MECHRAOUI Omar	MCB	Co-rapporteur

**Promotion:JUIN2022**

## Remerciement

*Nous tenons tout d'abord à remercier ALLAH de tout puissant et miséricordieux qui nous a donné la force et la patience d'accomplir ce travail.*

*En premier lieu nous remercions vivement notre encadreur et co\_encadreur:*

*M.TOUNSI Aissa, M.MECHRAOUI Amar;*

*Nous tenons également à remercier les membres de jurys qui ont accepté d'évaluer et examiner notre modeste travail.*

*Nous tenons également à exprimer nos plus vifs remerciements à tous nos enseignants de département de Génie des Procédés et toutes personnes qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.*

## Dédicace

*Avant tout je remercie ALLAH pour tout, Je dédie ce modeste  
travail :*

*A mes parents. Aucun hommage ne pourrait être à la hauteur*

*De l'amour dont ils ne cessent de me combler. Que dieu leur*

*Procure bonne santé et longue vie*

*A ceux que j'aime beaucoup et qui m'ont soutenu tout au long*

*De ce travail : mes très chers amis*

*G. Ilyes, B.Sallaheddine, N.Yousef, T.Ahmed et G.Hammou*

*Bien sûr A mes frères sans oublier A l'arme de mon frère*

*(Lazhari)*

*A mon binôme, et tous ceux qui ont contribué de près ou de loin pour que  
ce travail*

*Soit possible ,je vous dis merci*

Mabrouk Oumelkhir

## Dédicace

*Je dédie ce modeste travail:*

*A ceux qui ont attendu ce jour depuis longtemps:*

*A Mr GAFSI NourEddin et ça femme Mme Fatiha que je  
considère comme mes vrais parents*

*Que dieu vous garde, sans vous je ne peux être ce que je suis;*

*A l'âme de mon père adoptif Mr Mohammed HAMADI (paix a  
son âme)*

*A l'âme de mes parents biologique (Paix à leurs âmes)*

*A mes chères sœurs et frères;*

*A mes collègues dans toutes les étapes  
d'étude ; A ma binôme MABROUK*

*Oumelkhir*

*A tous mes amis, et spécialement à les plus chères à mon cœur*

*:Sonia , Imane , Thouraya , sanaa .*

*Largote Fatima zahra*

# Sommaire

Liste des figures	i
Liste des tableaux	ii
Liste des abréviations	iii
Introduction générale	01

## Chapitre I : Matériel et méthodes

I.1. Description botanique du pistachier de l'Atlas	03
I.1.1. Dénomination	03
I.1.2. Classification botanique	03
I.2. Matériels et méthodes	04
I.2.1. Matériels	04
I.2.2. Matériel végétal	04
I.2.3. Les produits	04
I.3. Extraction des huiles	04
I.3.1. Rotissage de grain	04
I.3.2. Extraction par soxhlet	04
I.4. Dosage des stérols par UV-Visible	05
I.5. Extraction des polyphénols de l'huile fixe	06
I.5.1. Dosage spectrophotométrique des phénols totaux	07
I.6. Dosage spectrophotométrique des tocophérols	07
I.7. Méthode d'évaluation de l'activité anti oxydante	08
I.7.1. Test de DPPH	08

## Chapitre II : Résultats et discussion

II.1 Rendement et aspect de la fraction lipidique	11
II.2. Résultats de l'analyse quantitative	12
II.2.1. Analyse Quantitative des fractions minoritaires des lipides	12
II.2.1.1. Taux des stérols totaux	12
II.2.2. Analyse Quantitative des composés phénoliques	14
II.2.2.1. Taux des phénols totaux	14
II.2.3. Dosage spectrophotométrique des tocophérols	16
II.3. Evaluation de l'activité anti oxydante de l'huile fixe	18
II.3.1. Teste DPPH	18
Conclusion générale	22
Références bibliographiques	23

# Liste des figures

<b>FigureI.1</b>	Montage d'extraction(Soxhlet) à chaud (solide-liquide) de l'huiles fixe	
<b>FigureI.2</b>	Schéma d'extraction des polyphénols de l'huile fixe de Pistachier de l'Atlas	<b>06</b>
<b>FigureI.3</b>	Courbes cinétiques représentant la variation de la densité optique en Fonction du temps dans le test de DPPH	<b>09</b>
<b>FigureI.4</b>	Réduction du radical libre DPPH	<b>09</b>
<b>FigureII.1</b>	Les rendements des extraits lipidiques des graines du Pistachier	<b>12</b>
<b>FigureII.2</b>	La courbe d'étalonnage de stérols totaux	<b>13</b>
<b>FigureII.3</b>	La teneur de stérols des extraits lipidiques des graines du Pistachier	<b>14</b>
<b>FigureII.4</b>	La courbe d'étalonnage de l'acide gallique	<b>14</b>
<b>FigureII.5</b>	La teneur de polyphénol des extraits lipidiques des graines du Pistachier	<b>15</b>
<b>FigureII.6</b>	Courbe d'étalonnage de la vitamine E	<b>16</b>
<b>FigureII.7</b>	La variation de la teneur en tocophérols totaux d'huile fixe des graines de Pistachier de l'Atlas en fonction du temps de rôtissage	<b>18</b>
<b>FigureII.8</b>	La variation des valeurs d'ARP du test du DPPH en fonction des Concentrations en tocophérols de l'huile fixe des graines torrifiées	<b>20</b>
<b>FigureII.9</b>	La variation des valeurs d'ARP du test du DPPH en fonction des Concentrations en tocophérols de l'huile fixe des graines traitées	<b>21</b>

# Liste des tableaux

<b>TableauII.1</b>	Aspect et rendement des extraits lipidiques des graines du Pistachier	<b>11</b>
<b>TableauII.2</b>	Quantité des stérols totaux dans les huiles de Pistachier de l'Atlas	<b>13</b>
<b>TableauII.3</b>	Quantité en phénols totaux des différents extraits étudiés	<b>15</b>
<b>TableauII.4</b>	Le taux des tocophérols totaux dans l'huile fixe des graines de Pistachier De l'Atlas torréfiées	<b>17</b>
<b>TableauII.5</b>	Les valeurs d'EC <sub>50</sub> des différentes huiles des graines torréfiées pendant Différents temps dans le test du DPPH	<b>19</b>

# Liste des abréviations

<b>DPPH</b>	:1,1-diphényl-2-picrylhydrazyl
<b>EC<sub>50</sub></b>	:Concentration de substrat qui inhibe50%duradical DPPH
<b>UV/VIS</b>	:Radiation ultraviolette/ visible
<b>ARP</b>	:Puissance anti radicalaire
<b>Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub></b>	:Carbonates de sodium
<b>Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub></b>	:Sulfate de sodium anhydre
<b>AG</b>	:Acide gallique
<b>BHA</b>	: butylhydroxyaisole
<b>BHT</b>	:butylhydroxytoluène

# Introduction générale

De nombreuses recherches ont mis en évidence le rôle des phénomènes oxydatifs dans l'initiation de maladies aussi différentes que l'artériosclérose, les problèmes inflammatoires, cardiaques, pulmonaires, les cancers, le processus de vieillissement. De telles maladies apparaissent lorsque les mécanismes de défense contre les radicaux libres, dont dispose l'organisme, sont submergés. Il est donc nécessaire, à ce moment-là, d'aider le corps à lutter contre ces agressions [1].

L'usage des grains ou des plantes pour leurs vertus curatives s'est créé, répondu et transmis dans la plus ancienne civilisation connue. Il s'agit d'une des manifestations d'effort immémorial de l'homme pour comprendre et utiliser la nature, répondant ainsi à une de ses plus anciennes inquiétudes, celle qui naît de la maladie et la souffrance.[2]

Le consommateur cherche une alimentation saine et naturelle et préfère les aliments ne contenant pas d'additifs de synthèse. Les extraits végétaux qui présentent un pouvoir anti oxydant intéressant sont pour la plupart riche en polyphénols [3], or ces substances ont une activité contre les radicaux libres, qui s'exprime aussi bien au niveau de la protection d'un aliment contre l'oxydation qu'au niveau de la protection des cellules animales contre le vieillissement et le cancer[4].

Une préparation à base de yaourt, se sont avérées être efficaces dans les nausées, les pertes d'appétit, dans les œdèmes et maladies liées au post-partum. En combinaison avec d'autres produits, les graines sont utilisées pour traiter l'obésité, l'asthme et pour prévenir des calculs biliaires. La plante est considérée comme médicament des troubles digestifs et hépatiques, elle est également indiquée dans les céphalées chroniques et les migraines. En dermatologie, la graine traite l'alopecie, l'eczéma et l'acné ; par ailleurs on lui reconnaît des propriétés anthelminthiques et anti-infectieuses[5].

De nombreuses recherches sur la phytochimie et la bio-activité de *Pistachier de l'Atlas* ont confirmé ces propriétés qui sont dues en majorité aux huiles fixes et aux polyphénols extraites. L'huile fixe des graines de *Pistachier de l'Atlas*. A de nombreuses propriétés pharmacologiques et peut être considérée comme agent anti oxydant, anti-inflammatoire, immunomodulateur, antitumoral, antidiabétique et elle joue un rôle non négligeable dans les systèmes cardio-vasculaire et gastro-intestinal[6].

Durant ces vingt dernières années, de nombreuses équipes de chercheurs se sont intéressées à *Pistachier de l'Atlas*. La plupart des indications revendiquées en médecine traditionnelle ont été confirmées et d'autres propriétés sont venues se greffer.

L'objectif principale de ce mémoire est d'étudier les huiles fixes des graines de Pistachier de l'Atlas. À travers la détermination des compositions chimiques en Stérols, en tocophérols et en polyphénols, en utilisant des techniques colorimétriques. Par la suite nous avons étudié l'influence de la température et le temps de rôtissage sur la composition des huiles de *Pistachier de l'Atlas* et sur leurs propriétés anti oxydante.



# Chapitre I

## Matériel et méthodes

L'objectif de notre travail vise à déterminer la composition chimique de l'huile fixe et des extraits phénoliques des graines de pistachier de l'Atlas. Pour cela notre étude englobe deux aspects ,dont le premier est d'ordre photochimique basé principalement sur l'extraction et l'analyse de l'huile fixe et des polyphénols par l'utilisation de technique colorimétrique. Il porte également sur l'évaluation de leurs activités antioxydantes. Le second aspect est consacré à l'étude de l'effet de rôtissage sur la composition chimique et le pouvoir antioxydant de l'huile fixe des graines de Pistachier de l'Atlas.

### **I.1. Description botanique du pistachier de l'Atlas:**

*Pistacia atlantica*, également connu sous le nom de pistachier atlantique ou pistachier de l'Atlas ou El Betoum, est une espèce ligneuse et spontanée endémique d'Afrique du Nord. Arbre puissant peut atteindre 20 m de hauteur, il dispose d'un tronc bien individualisé. Les grands sujets de pistachiers de l'Atlas peuvent atteindre facilement les 1000 ans d'âge, sa floraison apparait juste avant la feuillaison qui débute à la mi-mars, il se contente d'une faible pluviométrie et se développe dans les endroits les plus arides ou d'espèce d'arbres[7].

#### **I.1.1. Dénomination:**

Nom arabe: El betoum البطم

Nom botanique :Pistachier de l'Atlas

Nom en Anglais: *Pistacia atlantica*

#### **I.1.2. Classification botanique:**

Famille : Anacardiaceae

Catégorie: Arbre fruitier

Climat: Océanique, semi-océanique, méditerranéen

Cycle de vie:1000ans

Végétation: Vivace

Feuillage: Caduc (dure toute l'année)

Couleur des fleurs et feuilles : vert frais / rouge

Type de sol: Calcaire , Sableux, Caillouteux.

Utilisation: Médicinale , Environnementale, Ornementale.

**I.2. Matériels et méthodes:****I.2.1. Matériels:**

Becher, erlenmeyer, flacon, éprouvette graduée, pissette, ballon fond rond 100ml /250ml, verre de montre, balance, papier filtre, mortier et pilon, fiole, tube à essai + support, burette + support, agitateur, moulin, chauffe ballon électrique, barreau, réfrigérant à boules, ampoule à décanter, spatule, pince, micropipette, cuve en quartz.

**I.2.2. Matériel végétal:**

La plante étudiée a été récoltée de la région de Tadjmout wilaya de Laghouat.

**I.2.3. Les produits:**

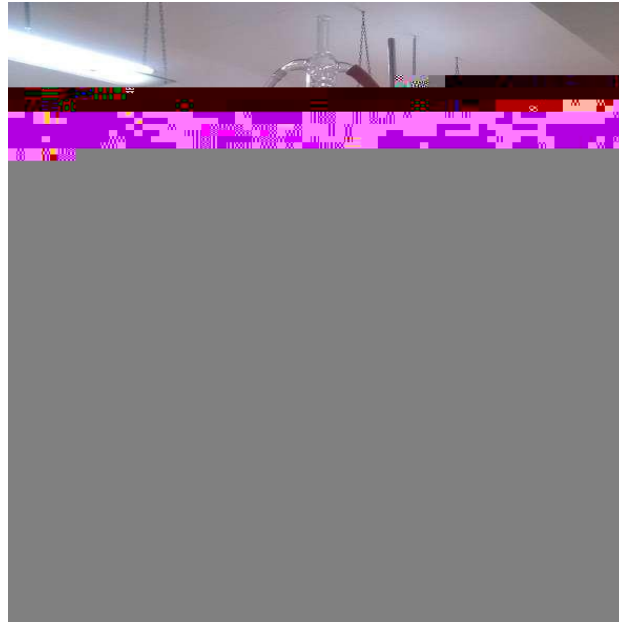
Hexane, chloroforme, acétate d'éthyle, folin, acide gallique, méthanol, éthanol, Liebermann, DPPH, vitamine E, FeCl<sub>3</sub>, anhydride acétique, acide sulfurique, acide acétique.

**I.3. Extraction des huiles:****I.3.1. Rotissage de grain:**

Dans ce travail nous avons voulu étudier un facteur important celui de torréfaction (rotissage) et leur influence sur la composition chimique et l'activité biologique de l'huile fixe des graines de Pistachier de l'Atlas. Le temps et la température sont les principaux facteurs contrôlés lors de la torréfaction dans ce contexte on a fixé comme but l'étude cinétique du rôtissage des graines de Pistachier de l'Atlas. Pour ce faire un échantillon de 50 g a été étalé sur un plateau en aluminium pour assurer une épaisseur de 1 cm et placé dans un four réglé à des différentes températures 120,150 et 180 °C. Les échantillons rôtis pendant 5, 15 et 25 min ont été immédiatement refroidi à la température ambiante et stocké à 4 °C dans des sacs en plastique.

**I.3.2. Extraction par soxhlet :**

Afin d'extraire et de déterminer la teneur en matières grasses, nous avons adopté la méthode de l'extraction par Soxhlet (figure I.1) en utilisant les graines de Pistachier de l'Atlas complètement broyées comme matière végétale et l'hexane comme solvant.



**Figure I.1:** Montage d'extraction (Soxhlet) à chaud (solide-liquide) de l'huiles fixe

L'extrait est ensuite séché par le sulfate de sodium anhydre. Après filtration, le solvant est évaporé sous pression réduite à 40°C. L'extrait obtenu représente un aspect huileux de couleur jaune. L'extrait est pesé et la teneur en huile a été calculée par la relation suivante

$$\text{Teneur en huiles} = \frac{\text{Poids de l'huile extraite}}{\text{Poids total des graines}} \times 100$$

#### **I.4. Dosage des stérols par UV-Visible:**

Ils s'agit d'une absorption spectrophotométrique suivant le test de Liebermann-Burchard [8] basé sur une réaction colorée spécifique des 3  $\beta$ -hydroxystéroïdes possédant une double liaison en position 5-6. Les stérols forment un complexe stable avec l'anhydride acétique en milieu acide qui absorbe dans le visible à une longueur d'onde de 550 nm. Le réactif spectral de Liebermann est constitué par 60 ml d'anhydride acétique et 10 ml d'acide sulfurique concentré et 30ml d'acide acétique.

A partir d'une solution chloroformique du cholestérol, de concentration 1g/L, nous avons préparé une série de gamme de solutions afin de tracer une courbe d'étalonnage liant la densité optique en fonction de concentration. On prend 1ml de chaque solution et on ajoute 2ml du réactif de Liebermann puis on laisse la coloration se développer et se stabilise pendant 25 min. En mesurant l'absorbance à 550 nm de chaque solution, nous obtenons la courbe

d'étalonnage. L'échantillon est traité de la même manière et la teneur en stérol sera déterminée à partir de la courbe d'étalonnage.

### I.5. Extraction des polyphénols de l'huile fixe:

Pour extraire les composés phénoliques (figure I.2), 1g d'huile a été pesé dans un tube à essai en verre et 4 ml de méthanol : eau (80:20, v/v) mélange a été ajouté. Le tube a été vortexé pendant 1 min et la couche aqueuse a été recueillie après centrifugation à vitesse de 3000 rpm. Cette procédure a été répétée trois fois et les extraits aqueux ont été combinés. Pour enlever l'huile résidu, les extraits ont été lavés deux fois avec 2 ml d'hexane. On obtient donc l'extrait hydro-méthanolique brut. Après élimination du méthanol de l'extrait précédent, la phase aqueuse restée est ensuite lavée plusieurs fois avec un même volume d'acétate d'éthyle en présence d'un mélange de deux solutions aqueuses de 2% de sulfate d'ammonium et de 2% d'acide orthophosphorique.

L'extrait organique ainsi obtenu est évaporé à sec après séchage par le sulfate de sodium anhydride [9]. Les extraits phénoliques ainsi obtenus présentent généralement un aspect visqueux de couleur marron jaunâtre. Le résidu est repris dans 10 ml de méthanol pur et conservé à 5°C donnant l'extrait phénolique purifié.

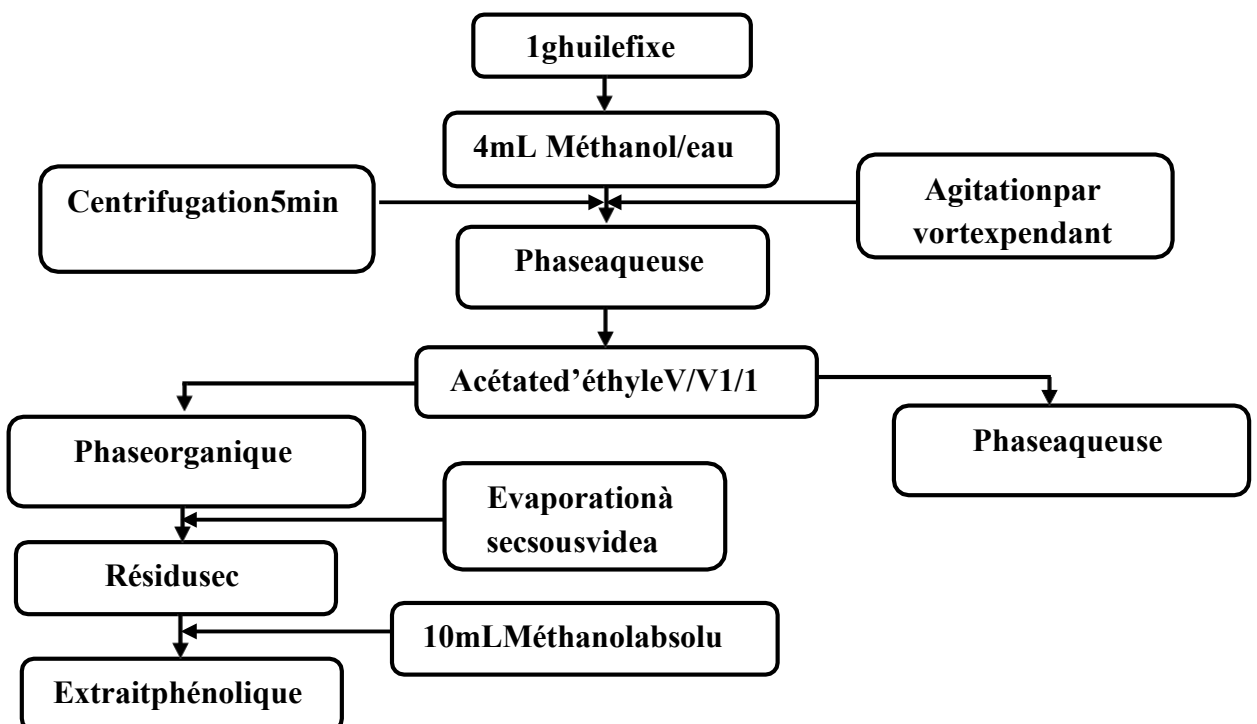


Figure I.2: Schéma d'extraction des polyphénols de l'huile fixe de Pistachier de l'Atlas

### I.5.1. Dosage spectrophotométrique des phénolstotaux:

Le dosage des phénols totaux a été effectué par une méthode adaptée de Singleton et Ross [10]. En milieu basique, le réactif de Folin-Ciocalteu oxyde les groupements oxydables des composés polyphénoliques présents dans l'échantillon. Les produits de réduction de couleur bleue, présentent un maximum d'absorption dont l'intensité est proportionnelle à la quantité de polyphénols présents dans l'échantillon. La concentration massique des constituants utilisés dans la préparation des réactifs, a été optimisée pour obtenir la réponse analytique la plus linéaire possible en respectant le rapport réactifs/ polyphenols totaux. Pour réaliser ce dosage, en bref, 1 ml de réactif de Folin-Ciocalteu dilué à dix et 1 mL de  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  à 2% a été ajouté à 1 mL d'extrait polaire de l'huile diluée de manière appropriée dans l'eau. L'absorbance à 760 nm a été mesurée après 1 heure d'incubation à température ambiante et les résultats exprimés en équivalent d'acide gallique (GAE).

### I.6. Dosage spectrophotométrique des tocophérols:

Nous avons adopté la méthode de dosage colorimétrique d'Emmerie-Engel [11], cette méthode colorimétrique est basée sur la réaction d'oxydoréduction entre les tocophérols et le fer ferrique ( $\text{Fe}^{3+}$ ) qui est réduit en fer ferreux ( $\text{Fe}^{2+}$ ). Ce dernier, en présence de réactifs spécifiques comme l'orthophénantroline, forme un complexe rouge-orangé stable dont le coefficient d'extinction molaire à 510 nm et est très élevé. Ce dosage peut être réalisé soit à partir de l'insaponifiable [12], soit à partir de l'huile [13].

Chacun de ces dosages a ses avantages et inconvénients. Lorsque l'on effectue l'analyse à partir de l'huile brute, on ne tient pas compte des composés tocophéroliques engagés dans des combinaisons de type esters. En effet, la réaction d'oxydo-réduction, conduisant à des composés de type quinonique, ne peut avoir lieu. L'analyse effectuée ne tient compte que des tocophérols libres. Dans le cas du dosage à partir de l'insaponifiable, on dose les tocophérols totaux, initialement libres et estérifiés.

Lors des différentes manipulations nécessaires, une dégradation partielle de ces composés peu avoir lieu, sauf cas particulier des huiles végétales pauvres en esters tocophéroliques. En fin de compte, les deux méthodes de dosage donnent des résultats assez proches.

Une droite d'étalonnage tracée à partir d' $\alpha$ -tocophérol commercial, permet de relier la densité optique et la concentration de tocophérol exprimée en  $\text{g.L}^{-1}$ . A partir d'une solution

commerciale de la vitamine E, nous avons préparé dans l'hexane des solutions ayant des concentrations bien déterminées, 1ml de chaque solution fille plus 1 ml de réactif (Ortho-phenantroline) et 0.5 ml FeCl<sub>3</sub> (solutions éthaloniques). Après 3min on mesure l'absorbance à 510 nm. Nous avons effectué le dosage des tocophérols totaux à partir des extraits sur l'huile extraite de la même manière et la teneur en tocophérols totaux sera déterminée à partir de la courbe d'étalonnage.

### **I.7. Méthode d'évaluation de l'activité anti oxydante:**

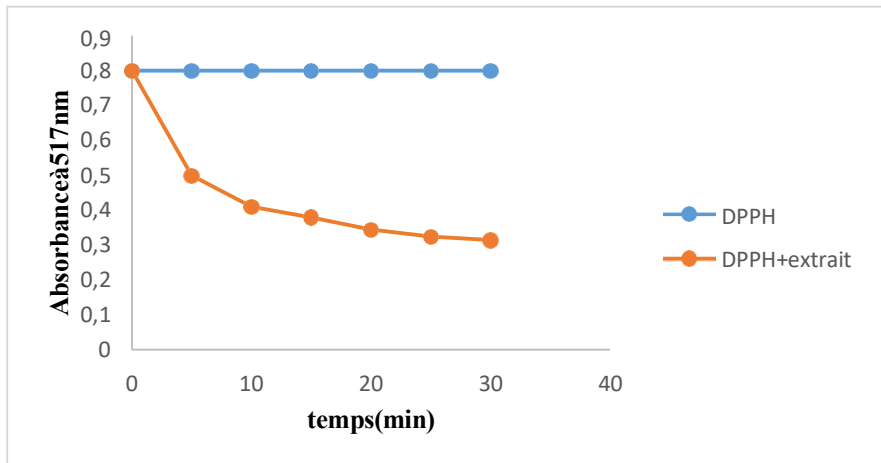
Des nombreuses méthodes sont utilisées pour l'évaluation de l'activité anti oxydante des composés phénoliques purs ou des extraits. La plupart de ces méthodes sont basées sur la coloration ou décoloration d'un réactif dans le milieu réactionnel.

Dans notre étude, nous avons choisis le test du piégeage du radical (DPPH), c'est le test le plus fréquemment rencontré dans la littérature.

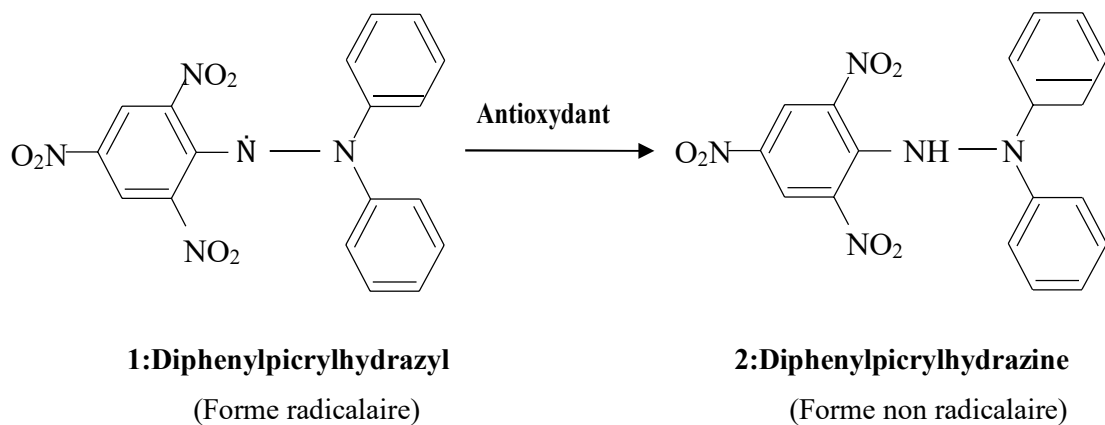
#### **I.7.1. Test de DPPH:**

La méthode de DPPH a été largement appliquée pour estimer l'activité anti oxydante ces dernières années [14], mais ses applications doivent être effectuées de telle façon que l'activité anti oxydante soit liée à la structure de la molécule anti oxydante. De même, dans le cas d'un mélange complexe, la présence présumée au moins d'un principe actif dans l'extrait de vrait être identifiés pour pouvoir travailler en termes d'équivalences de la molécule de DPPH.

1,1-diphényl-2-picrylhydrazyle (DPPH<sup>\*</sup>) est un radical stable qui absorbe dans l'UV-visible à la longueur d'onde de 517 nm et réduit à la forme d'hydrazine (non radical) en acceptant un atome d'hydrogène selon (Figures I.3 et I.4) [15]. La réduction du radical libre DPPH<sup>\*</sup> par un antioxydant est suivie par spectrophotométrie UV-visible, en mesurant la diminution de l'absorbance provoquée par la présence des extraits. Plusieurs facteurs influent sur le potentiel antioxydant et la cinétique de réduction, notamment les conditions de la réaction(temps, rapport antioxydant/DPPH<sup>\*</sup>, type de solvants, pH...).



**Figure I.3.** Courbes cinétiques représentant la variation de la densité optique en fonction du temps dans le test de DPPH



**Figure I.4.** Réduction du radical libre DPPH

Le pouvoir d'inhibition est exprimé en %, et déterminé en appliquant la formule suivante:

$$I(\%) = \left[ 1 - \left( \frac{A_1}{A_0} \right) \right] \times 100$$

I(%): pouvoir d'inhibition en% (l'activité anti radicalaire).

A<sub>0</sub>: absorbance de la solution de DPPH en absence de l'extrait.

A<sub>1</sub>: absorbance de la solution de DPPH en présence de l'extrait testé.

Les valeurs EC<sub>50</sub> présentent les concentrations d'inhibiteurs nécessaires pour diminuer 50% du taux des radicaux libres. Ce paramètre a été présenté par Brand-Williams et ses collaborateurs [16].

Pour réaliser ce test, On met 0.1 ml de chaque extrait dilué dans le méthanol et Additionné à 2.9 ml d'une solution de DPPH\* (0.033 g/L) préparé dans le méthanol. Le mélange réactionnel a été secoué immédiatement, puis il est maintenu à l'obscurité pendant 30 min et à une température ambiante pour que la réaction s'accomplisse. L'absorbance du milieu réactionnel a été mesurée à 517 nm contre un blanc qui ne contient que du méthanol (Un contrôle négatif a été préparé en mélangeant 0.1 ml de méthanol avec 2,9 mL de la solution de DPPH). Les mesures de densités optiques en présence de chaque solution d'extrait à différentes dilutions nous ont permis de calculer le paramètre  $EC_{50}$  (autrement appelé la valeur  $IC_{50}$ ).

Nous avons également, testé BHT et le BHA, pris comme antioxydants de référence, le test est répété 2 fois.

Les  $EC_{50}$  sont calculées graphiquement par les régressions linéaires des graphes tracés; pourcentages d'inhibition en fonction de différentes concentrations des fractions testées et les standards.



# Chapitre II

## Résultats et Discussion

## II.1 Rendement et aspect de la fraction lipidique:

Les rendements d'extraction ont été déterminés par la formule suivante:

$$R\% = \frac{\text{masse de huile}}{\text{masse de la poudre végétale}} * 100$$

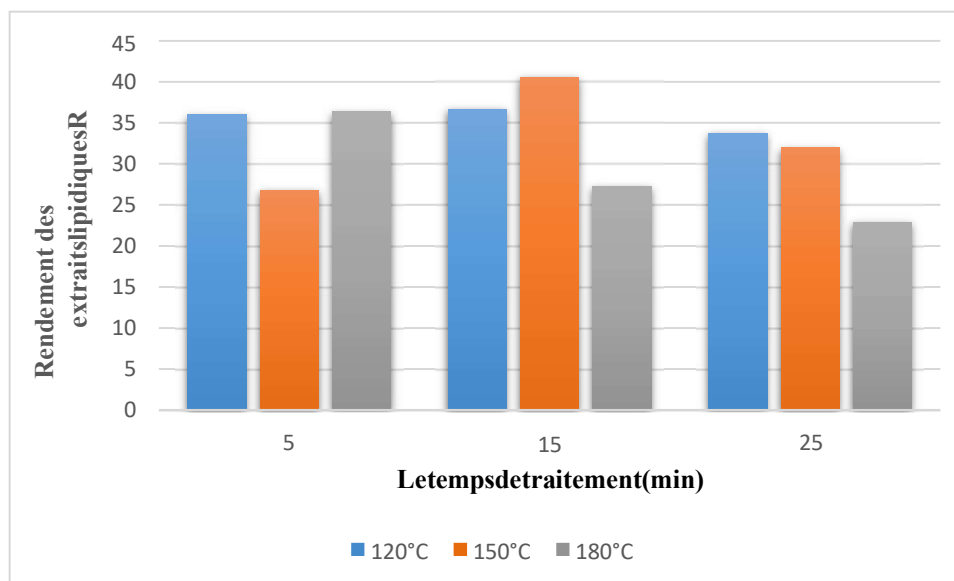
Nous avons calculé le rendement de l'extraction des lipides des échantillons grillés pendant 5, 15 et 25 min à différentes températures (120, 150 et 180°C), les résultats obtenus sont représentés dans le tableau II.1.

**Tableau II.1:** Aspect et rendement des extraits lipidiques des graines du Pistachier

Température De Rôtissage (°C)	Le temps de Traitement (min)	m(grain) en(g)	Temps d'extraction	Couleur de l'extrait	m (huiles) en g	R%
120	5	100	6h	Jaune	36	36%
	15	100	6h	Jaune	36.69	36.69%
	25	100	6h	Jaune foncé	33.77	33.77%
150	5	100	6h	Jaune	26.8	26.8%
	15	100	6h	Jaune	40.53	40.53%
	25	100	6h	Jaune	31.93	31.93%
180	5	100	6h	Jaune foncé	36.34	36.34%
	15	100	6h	Jaune foncé	27.26	27.26%
	25	100	6h	Jaune foncé	22.91	22.91%

D'après le tableau II.1, une extraction générale dont le plus grand rendement est observé avec l'extrait de la durée 15 min à température de 150°C (40.53%) par contre le plus faible rendement a été obtenue avec l'extrait de la durée 25 min à température de 180°C (22.91%).

L'histogramme dans la figure II.1 montre clairement les rendements des extraits lipidiques des graines du Pistachier traitées :



**Figure II.1:** Les rendements des extraits lipidiques des graines du Pistachier

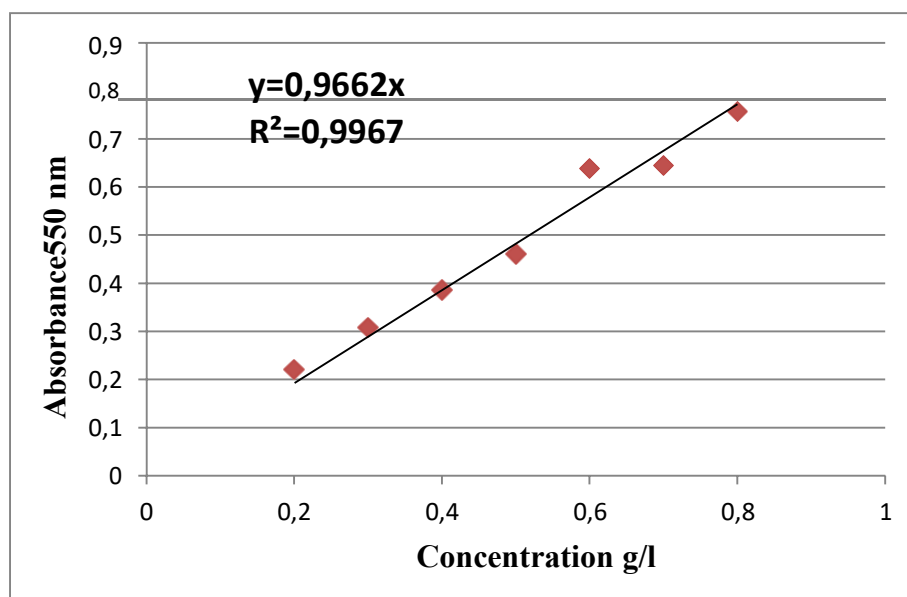
Les résultats figure nt ci-dessus ne présentent aucune signification ils peuvent être expliqués par un phénomène de transfert de matière et ceci sera l'objet d'éventuelle étude.

## II.2. Résultats de l'analyse quantitative:

### II.2.1. Analyse Quantitative des fractions minoritaires des lipides:

#### II.2.1.1. Taux des stérols totaux:

La teneur en stérols totaux dans les échantillons d'huiles a été déterminée à partir de la courbe d'étalonnage de cholestérol (Figure II.2) qui exprimée en milligrammes par gramme d'huile en équivalent de cholestérol.



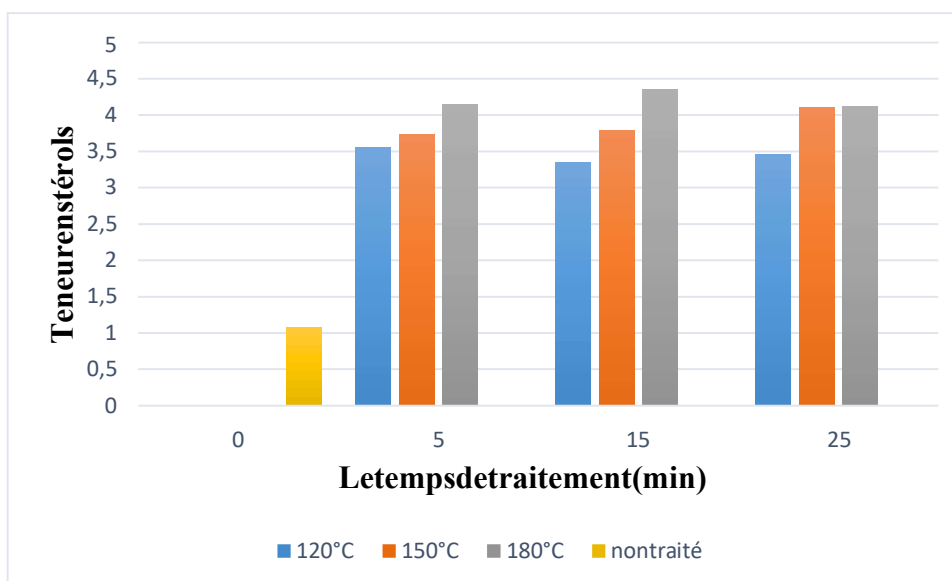
**Figure II.2:** La courbe d'étalonnage de stérols totaux

**Tableau II.2:** Quantité des stérols totaux dans les huiles de Pistachier de l'Atlas

Température de rôtissage	Temps de rôtissage(min)	Teneur en stérols(mg/g)
/	Non traité	1.08
120°C	5	3.55
	15	3.35
	25	3.46
150	5	3.73
	15	3.79
	25	4.11
180	5	4.15
	15	4.35
	25	4.12

D'après le tableau II.2 on peut constater que les teneurs pour chaque durée de traitement est la même (4 mg/g) sauf dans le cas de l'extraits lipidique brut (0 min) ou on enregistre une faible teneur (1.08mg/g) parce que la température affectée sur la quantité de stérols.

L'histogramme dans la figure II.3 montre clairement la teneur de stérols des extraits lipidiques des graines du Pistachier.



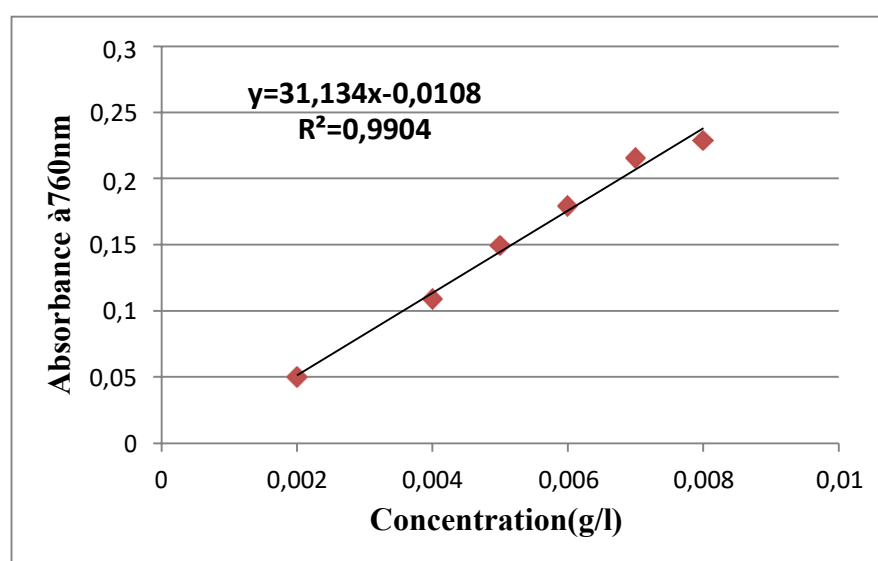
**Figure II.3:** La teneur de stérols des extraits lipidiques des graines du Pistachier

D'après les résultats obtenus on remarque que la valeur des stérols progresse en fonction du temps de séjour à température de 150°C et ceci corrèle avec la littérature.

## II.2.2. Analyse Quantitative des composés phénoliques:

### II.2.2.1. Taux des phénols totaux:

La teneur en composés phénoliques de chaque extrait a été calculée à partir de la courbe d'étalonnage de l'acide gallique, et exprimée en milligrammes par gramme de la matière séchée équivalent en acide gallique



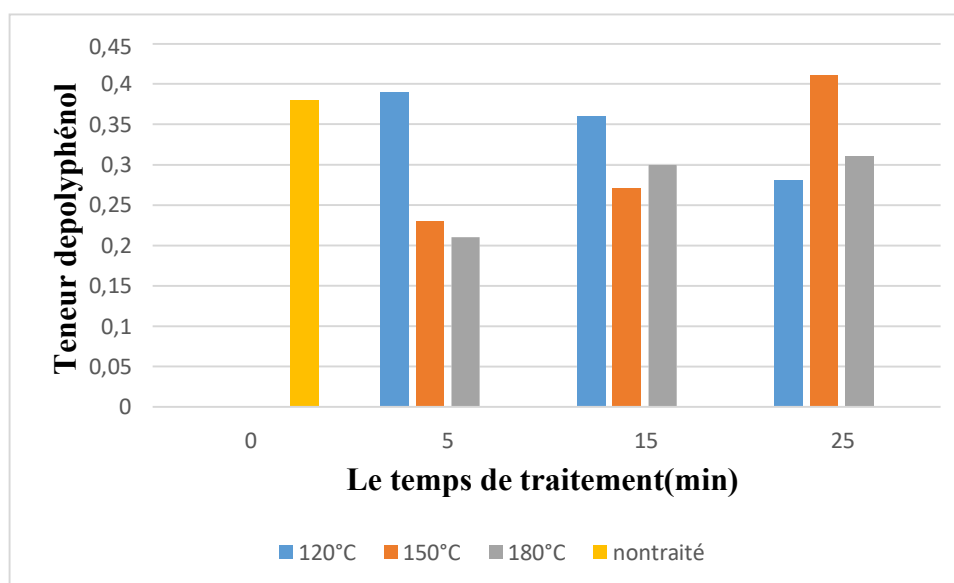
**Figure II.4:** La courbe d'étalonnage de l'acide gallique

**TableauII.3** : Quantité en phénols totaux des différents extraits étudiés

Température de Rôtissage (°C)	Extraits (min)	Teneur polyphénols(mg /g)
Non traité	Brut	0.38
	5	0.39
	15	0.36
	25	0.28
120	5	0.23
	15	0.27
	25	0.41
150	5	0.21
	15	0.3
	25	0.31

D'après les résultats cosignés dans le tableau des composés phénoliques les Teneurs pour chaque durée de traitement sont différentes avec l'extrait brut. Et ceci nous concluons que la température n'affecte pas sur les quantités des composés phénoliques (faible teneur).

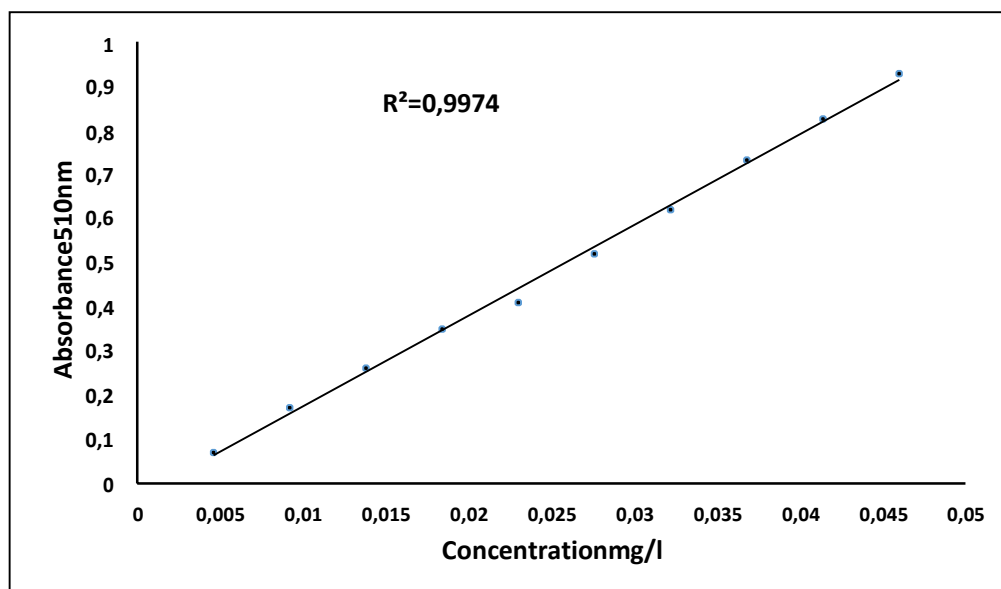
L'histogramme dans la Figure II.5 montre clairement la teneur de polyphénol des extraits lipidiques des graines du Pistachier.

**FigureII.5**:La teneur de polyphénol des extraits lipidiques des graines du Pistachier

Les résultats obtenus montrent que cette meilleure valeur est observée chez les graines traitées pendant 25 min à température de rôtissage de l'ordre de 150 °C. Ces derniers sont expliqués dans la littérature tandis que les autres valeurs des échantillons étudiés n'ont aucune explication.

### II.2.3. Dosage spectrophotométrique des tocophérols:

Une droite d'étalonnage est tracée à partir d' $\alpha$ -tocophérol commercial, permet de relier la densité optique et la concentration de tocophérol exprimée en g/l (Figure II.6). À partir d'une solution commerciale de la vitamine E, nous avons préparé dans l'hexane des solutions ayant des concentrations bien déterminées, 1 ml de chaque solution fille plus 1 ml de réactif (Ortho-phenantroline) et 0,5 ml  $\text{FeCl}_3$  (solution séthaloniques). Après 3 min on mesure l'absorbance à 510 nm.



**Figure II.6:** Courbe d'étalonnage de la vitamine E

Nous avons effectué le dosage des tocophérols totaux à partir de l'huile brute. Les taux des tocophérols totaux dans les échantillons d'huiles ont été déterminés à partir de la courbe d'étalonnage de la vitamine E (Figure II.6). Les résultats de ce dosage sont représentés dans le tableau II.4.

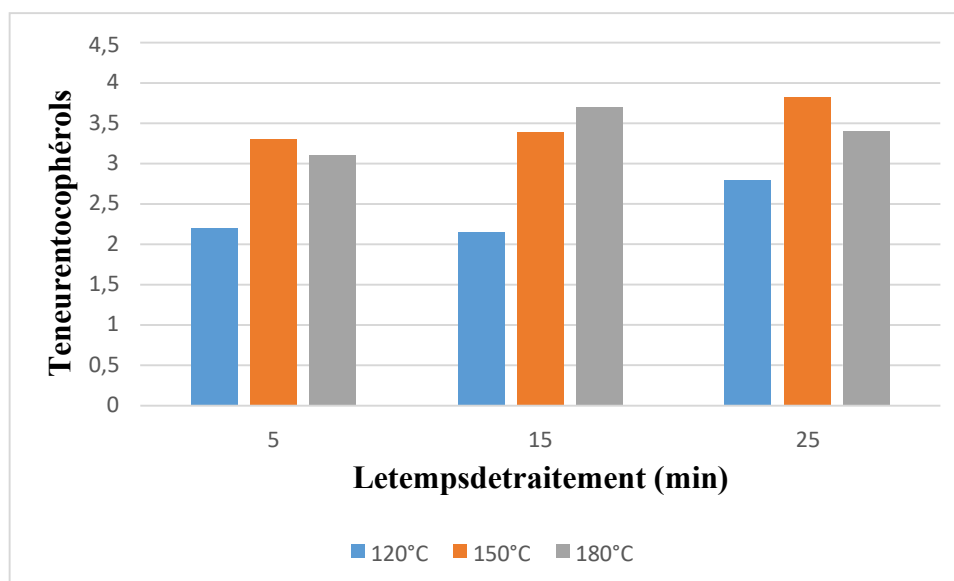
**Tableau II.4:** Le taux des tocophérols totaux dans l'huile fixe des graines de Pistachier de l'Atlas torréfiées

Température de Rôtissage (°C)	Temps de rôtissage	Teneur(mg/g)
Non traité	Non traité	2.2337± 0.0779
120	5min	2.2± 0.1
	15min	2.15± 0.01
	25min	2.79± 0.2
150	5min	3.3± 0.12
	15min	3.39± 0.05
	25min	3.82± 0.2
180	5min	3.1± 0.01
	15min	3.7± 0.02
	25min	3.4± 0.25

La teneur en tocophérols totaux de l'huile fixe est de 2.337 g/kg cette teneur elle est importante par rapport à la teneur d'autres huiles végétales telle que l'huile d'olive (350mg/kg) et l'huile de pépins de raisin (700 mg/kg), ce résultat nous amène à conclure que l'huile fixe des graines de Pistachier de l'Atlas est riche en tocophérols totaux, ce qui leur confère une importante résistance à l'oxydation et une action vitaminique indéniable.

Les taux des composés tocophéroliques les plus élevés ont été détectés dans l'extrait des graines traitées à 150 et 180°C. Tandis que, les teneurs les plus basses sont observées pour les huiles fixes des graines traitées à 120 °C (2.2 et 2.15 mg/g d'huile) respectivement.

Les résultats de cette analyse montrent que les échantillons des huiles étudiées contiennent des quantités importantes en tocophérols totaux ce qui leur confère une importante résistance à l'oxydation et une action vitaminique indéniable. Le résultat obtenu ne s'accorde pas avec d'autres études qui en étaient faites par G. Durmaz et M. Jung sur les noyaux d'abricot et les graines de soja respectivement, ils sont trouvés que la température de rôtissage diminue la teneur en tocophérols dans l'huile.



**Figure II.7 :** La variation de la teneur en tocophérols totaux d'huile fixe des graines de Pistachier de l'Atlas en fonction du temps de rôtissage

### II.3. Evaluation de l'activité antioxydante de l'huile fixe:

#### II.3.1. Teste DPPH :

L'activité antioxydante des différentes huiles des graines de Pistachier de l'Atlas traitées pendant plusieurs moments par rapport au DPPH• a été évalué à l'aide d'un spectrophotomètre suite à la réduction de ce radical, qui s'accompagne de son passage de la couleur violette (DPPH•) à la couleur jaune (DPPH-H) mesurable à 520 nm. Cette capacité de réduction est déterminée par une diminution de l'absorbance induite par des substances anti radicalaires.

Les résultats du pouvoir antioxydant des huiles des graines traitées sont présentées Les valeurs  $EC_{50}$  déterminées en mg/ml, exprimant la concentration efficace des différents extraits antioxydants de Pistachier de l'Atlas nécessaire pour piéger et réduire 50% de DPPH• dissous dans l'acétate d'éthyle, sont résumés dans le tableau II.5. Les résultats obtenus ont montré que les extraits de Pistachier de l'Atlas présente un pouvoir antioxydant très important par rapport à d'autres huiles tels que l'huile de Noyau d'Abricot et l'huile d'Argon.

➤ **Calcul de ARP :**

L'efficacité antioxydante des extraits phénoliques testés exprimée ensuite par le paramètre  $EC_{50}$  « efficient concentration » qui représente la concentration de l'inhibiteur nécessaire pour diminuer 50% des radicaux libre dans le milieu réactionnel. De même, nous avons calculé un autre paramètre qui exprime la puissance anti radicalaire et qui est calculé à partir du premier paramètre ( $EC_{50}$ ) noté 'ARP' égal  $1/EC_{50}$ . Les valeurs calculées d' $EC_{50}$  (mg/ml) pour les différentes huiles des gaines torrifiées pendant différent temps dans le test de DPPH sont regroupés dans le tableau **II.5**

**Tableau II.5:** Les valeurs d' $EC_{50}$  des différentes huiles des graines Torrifiées pendant différents temps dans le test du DPPH.

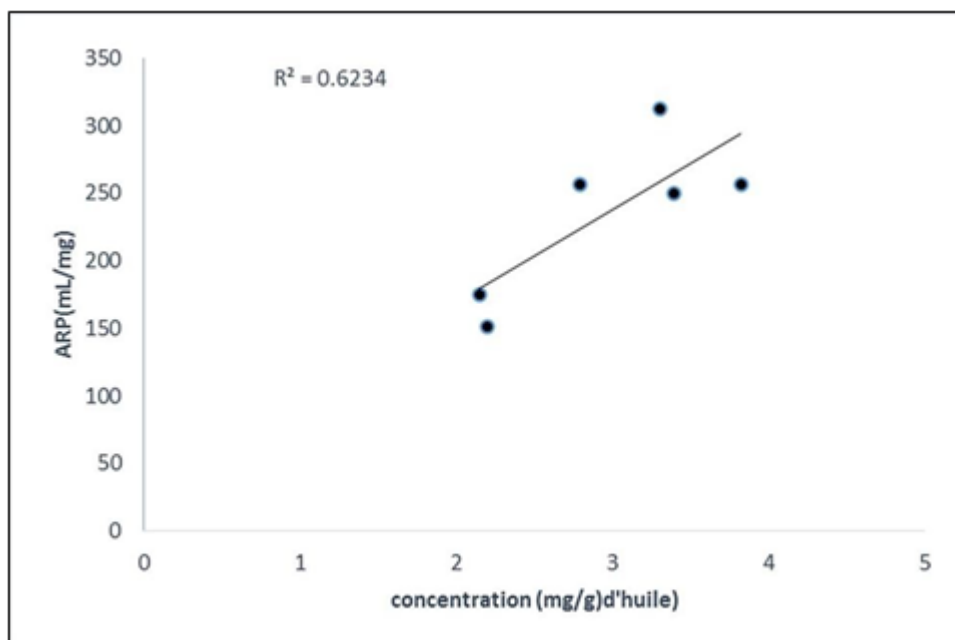
Température de Rôtissage °C	Temps de rôtissage (min)	$EC_{50}$ (mg/mL)	ARP (mL/mg)
Non traité		0.00752±0.0048	132.978
120	5	0.0066±0.0001	151.51
	15	0.0039±0.0004	256.41
	25	0.0032±0.0003	312.5
150	5	0.004±0.0001	250.00
	15	0.0039±0.0002	256.41
	25	0.0057±0.0003	175.44
180	5	0.0038±0.0001	263.157
	15	0.0041±0.0002	243.9
	25	0.0065±0.0003	153.84

D'après les résultats obtenus de ce screening, on peut remarquer que les huiles fixes obtenues à partir des graines de Pistachier de l'Atlas traitées pendant plusieurs températures durant différents temps ont affichés un pouvoir anti radicalaire allant de 151.1 au 312.5 mg/mL. Le rôtissage a entraîné une nette augmentation de l'activité anti oxydante mesurée par les tests DPPH.

L'activité anti oxydante de l'huile de Pistachier de l'Atlas a progressivement augmenté pendant la torrification, atteignant un maximum apparent en moins de 15 minutes. Il y avait une légère diminution de la capacité anti oxydante des échantillons après une durée de torrification de 25 min. Tandis que, l'huile des grainées traitées pendant 5 min présente un

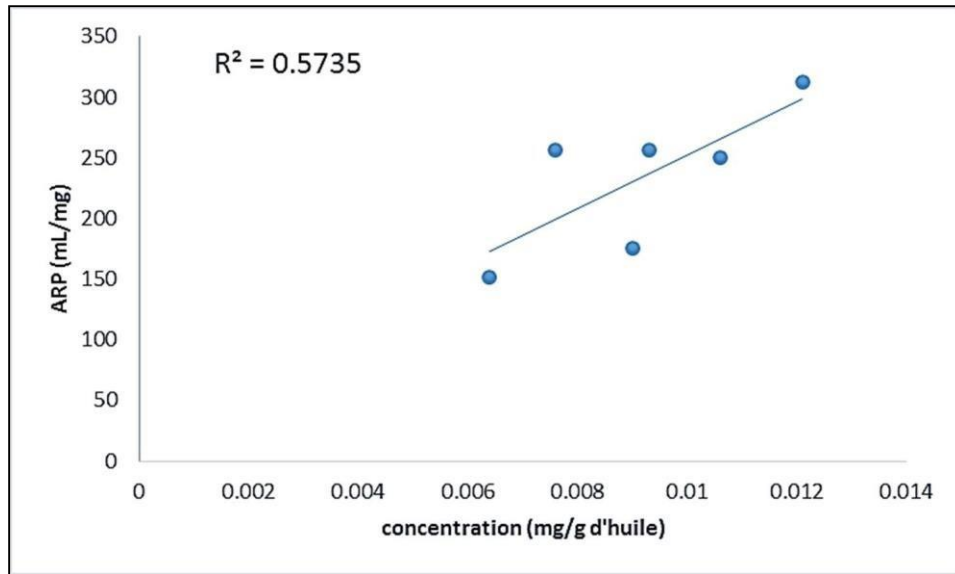
statut anti radicalaire faible. Ce résultat est en accord avec la littérature la plupart des recherches ont trouvé que le temps idéal de la torréfaction est entre 15 et 20 min.

On a essayé de trouver une corrélation linéaire entre les valeurs de ARP et les teneurs en tocophérols totaux, on a obtenu un coefficient de corrélation positif ( $R^2 = 0.62$ ). Ce résultat, décrit que l'efficacité anti radicalaire des extraits varie avec la teneur en tocophérol totaux des huiles étudiées. Une explication possible de ce résultat peut être retirée, par le fait que les extraits possédant une activité réductrice du DPPH. Importante peuvent renfermer que des molécules anti oxydantes tels que les caroténoïdes, les vitamines, des composés phénoliques flavonoïdes , etc.



**Figure II.8 :** La variation des valeurs d'ARP du test du DPPH en fonction des concentrations en tocophérols de l'huile fixe des graines torréfiées

Les résultats obtenus montrent que le test d'étude présente une corrélation linéaire positive. Cette corrélation est comparativement faible à celle enregistrée avec la teneur en tocophérols totaux entre les valeurs d'ARP et la teneur en polyphénols totaux de l'huile des graines torréfiées .A l'issus de ces résultats on peut déduire que l'activité anti radicalaire des huiles étudiées n'est pas forcément due à la présence des polyphénols .Cependant cette activité est affectée par d'autres substances à savoir les caroténoïdes ,les vitamines ,etc.



**Figure II.9.** La variation des valeurs d'ARP du test du DPPH en fonction des concentrations en tocophérols de l'huile fixe des graines traitées.

# Conclusion générale

La présente étude a pour objectif l'étude des fruits de Pistachier de l'Atlas provenant de la région Laghouat à travers leurs teneurs en lipides, et en composés phénoliques puis l'étude l'activité anti oxydante de ces extraits lipidiques.

En effet les résultats d'extraction montrent que les fruits de Pistachier de l'Atlas sont très riches en lipides. L'analyse de ces huiles nous a permis de mettre évidence sa composition en différents constituants biochimiques tels que en tocophérols, en stérols et en polyphénols.

L'analyse de la fraction insaponifiable montre que la teneur en tocophérol totaux dans les l'huile fixe du Pistachier de l'Atlas est importante. Les fruits de *Pistacia Atlantica* matures sont riches en tocophérols totaux.

Les lipides sont des bons marqueurs bio-organique pour l'étude de variabilité biogénétiques de *Pistacia Atlantica*. L'évaluation de l'activité anti oxydante s'est portée sur l'application d'une analyse *in vitro*, comprenant un balayage du radical stable DPPH. Dans le test DPPH l'ensemble des extraits lipidiques et surtout les grains traités à 150°C pendant 15min est plus actifs par rapport aux autres extraits lipidiques. Ce résultat est prévu car les composés phénoliques présentent une activité anti radicalaire certaines. Dans le cas des lipides, nous avons trouvés une corrélation linéaire entre les valeurs d'EC<sub>50</sub> et la teneur en composés phénoliques donc l'activité anti oxydante des lipides dépend principalement de ces composés anti oxydants et de leurs concentrations. À notre connaissance, c'est pour la première fois que l'activité anti oxydante *in vitro* des composés phénoliques et notamment les extraits lipidiques des fruits de Pistachier de l'Atlas traités thermiquement a été étudiée, et pour cela on peut dire que ces résultats importants nous encouragent de sélectionner cette plante comme une source prometteuse pour des études chimiques approfondies afin de caractériser les molécules naturelles responsables à cette activité. De nombreuses perspectives peuvent être envisagées:

- L'activité antioxydante issue des extraits naturels de plantes locales permettent d'isoler et de caractériser d'éventuelles nouvelles molécules ou de trouver des molécules déjà connus responsables à cette activité et qui pourront être utilisées pour des études chimiotaxonomiques.
- Il reste encore beaucoup de plantes locales utiles qui n'ont pas été analysées et qui méritaient de l'être afin de déterminer leur potentialité dans les domaines étudiés.

# Références Bibliographiques

- [1]: **Pham-Huy .L.A, H.He, and Pham-Huy .C**, Free radicals, antioxidants in disease and health. International journal of biomedical science:IJBS,2008.4(2):p.89.
- [2]: **Gurib-Fakim .A**, Medicinal plants: traditions of yesterday and drugs of tomorrow. Molecular aspects of Medicine,2006.27(1):p.1-93.
- [3]: **Galaffu. N, Bortlik .K, and Michel .M**, An industry perspective on natural food colour stability,in Colour additives for foods and beverages2015 ,Elsevier.p.91-130
- [4]: **Pandey .K.B,and Rizvi .S.I**, Plant polyphenols as dietary antioxidants in human health and disease .Oxidative medicine and cellularlongevity,2009.2(5): p.270-278.
- [5]: **Dudtschenko .A, Kos'jakov .A, and Krivenko .V**, Spicy-aromatic and spicy tasting plants.Anencyclopedia.1989.
- [6]: **Salem. M.L**, Immunomodulatory and therapeutic properties of the Nigella sativa L. seed. International immunopharmacology,2005.5(13-14):p.1749-1770.
- [7]:**Monjause .A**,Connaissance du Bétoum *Pistacia atlantica Desf*, Biologie et foret, 1980,pp.357-363.
- [8]: **Laghouiter .O.K, Benalia .M, Djeridane .A, Bombarda .I, and Yousfi .M**, "Chemical characterization and invitro antioxidant capacity of nine Algerian date palm cultivars (Phoenix dactylifera L.) seed oil," *Mediterranean Journal of Nutrition and Metabolism*,2018,pp.1-15.
- [9]: **Durmaz .G,Karabulut .I,Topçu .A,Asiltürk .M,andKutlu .T**, "Roasting-relatedchanges in oxidative stability and antioxidant capacity of apricot kernel oil," *Journal of theAmerican OilChemists'Society*,vol.87,pp.401-409,2010
- [10]: **Singleton .V.L,Orthofer .R,and Lamuela-Raventós .R.M**, "Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent",in *Methods in enzymology*.vol.299,ed:Elsevier,1999,pp.152-178.
- [11]: **Emmerie .AandEngel .C**, "Colorimetric determination of tocopherol (vitaminE):II Adsorption experiments,"*Recueil des Travaux Chimiques des Pays-Bas*,vol.58,pp.283-289,1939
- [12]: **Paquot .C and Mercier .J**, "Résultats expérimentaux sur l'autoxydation des corps gras I.Autoxydationcomparéedesterspurs,"*Rev.Frain. CorpsGras*,vol.9,pp.275-282,1962.
- [13]: **Flanzy .MandDubois .P**, "The Determination of Total Tocopherols. Application to Grape Seeds Oil,"*Ann. Technol. Agr*,vol.13,pp.67-75,1964.
- [14]: **De Marino S, Gala F, Borbone N, Zollo F, Vitalini S, Visioli F, and Iorizzi M**. Phenolic glycosides from *Foeniculum vulgare* fruit and evaluation of antioxidative activity.*Phytochemistry*.2007,68(13),pp1805-1812.
- [15]: **Sendra .J M, Sentandreu E , and Navarro .J L** , Reduction Kinetic of the free stable radical 1,1- diphenyl -2- picrylhydrazyl (DPPH) for determination of the antiradical activity of citrus juices .European Food Research and technology.2006, 223 , pp615-624.
- [16]:**Brand-Williams.W,CuvelierM.EandBerset.C**, Use of a Free Radical Method to Evaluate Antioxidant Activity. *Lebensmittel-Wissenschaft und -Technologie LWT – Food Science and Technology*.1995,28(1),pp25-30.

**عنوان المذكرة:** تأثير الزمن ودرجة حرارة التحميص على المركبات الكيميائية و نشاط مضادات اكسدة الزيوت الثابتة لفسق اطلس

اللقب: الارقط مبروك الاسم: فاطمة الزهراء ام الخير المؤطر: تونسي عيسى

**ملخص:**

في هذا العمل حددنا التركيب الكيميائي للزيت الثابت و المستخلصات الفينولية لبذور الفستق الاطلسي وفق مرحلتين : المركبات الفينولية ثم دراسة النشاط المضاد للاكسدة لهذه المستخلصات الدهنية .

اظهرت النتائج التي تم الحصول عليها ان ثمار الفستق الاطلسي غنية جدا بالدهون.

سمح لنا تحليل هذه الزيوت بتسليط الضوء على تركيبها مثل توكوفيرول , ستيرول و بوليفينول.

**كلمات مفتاحية :** الفستق الاطلسي ، بوليفينول ، توكوفيرول ، ستيرول.

**Memory title :** The impact of time and heat of the roast on the chemical composition and the activity of the fixed oil of the Atlas pistachio

**Name:** LARGOTE MABROU      **First name:** Fatima Zahra Oum elkhir      **Directed by:** TOUNSI Aissa

**Abstract :**

In this work we have determined the chemical composition of the fixed oil and the phenolic extracts of the seede of atlas pistachios according to two stages:

Phenolic compounds then the study of the antioxidant activity of these lipid extracts the results obtained show that the fruits of atlas pistachios are very rich in lipids .

The analysis of these oils allowed us to highlight its composition such as tocopherols , sterols and polyphenols .

**Key words:** Atlas pistachios , polyphenols, tocopherols , sterols .

**Titre du mémoire :** L'effet du temps et de la température de rotissage sur la composition chimique et l'activité antioxydante des huiles fixes de pistachier de l'atlas

**Nom :**LARGOTE MABROUK      **Prénom :** Fatima zahra oum elkhir      **Encadreur :** TOUNSI Aissa

**Résumé :**

Dans ce travail nous avons déterminer la composition chimique de l'huile fixe et des extraits phénoliques des graines de pistaches de l'Atlas selon deux étapes :

Composés phénoliques puis l'étude du l'activité antioxydante de ces extraits lipidiques

Les résultats obtenu montre que les fruits de pistaches de l'Atlas sont très riches en lipide .

L'analyse de ces huiles nous a permis de mettre évidence sa composition tels que en tocophérols en stérols et en polyphénols.

**Mots clés :** pistache de l'Atlas , polyphénols , tocophérols , stérols .