

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

ليم العالي

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

تليد

UNIVERSITE AMAR TELIDJI LAGHOUAT

كلية العلوم

FACULTE DES SCIENCES

DEPARTEMENT Sciences de la Matière



Mémoire de Master

Domaine : Sciences de la matière

Filière : Chimie

Option : Chimie organique appliquée

Par:

BOUFATAH Souad

THEME

Valorisation des lipides et des composés phénoliques du gland Local de la région de Medjédal (M'sila)

Le jury composé de :

Mr. BENALIA Mouhamed

M.C.B

Président

Mme. HAMIA Chahrazed

M.C.B

Examinatrice

Mme. BENGHECHOUA Imane

M.A.A

Examinatrice

Mr. YOUSFI Mouhamed

Professeur

Encadreur

Année Universitaire 2016/2017

Dédicaces

J'exprime ma gratitude et mes remerciements les plus sincères et les plus Profonds à Dieu tout puissant qui m'a donné la force et la patience pour pouvoir accomplir ce travail à terme.

Je dédie ce travail à :

- *Mes parents*
- *Mes sœurs (Amina, Fatima Zohra, soumaia)*
- *Mes frères (Mahmoud, Ali, Adel, et Mabrouk)*
- *Mes oncles et tantes.*
- *Mes cousins et cousines.*
- *Mes compagnes (Sara, Kheira).*
- *Mes ami(e)s*
- *Mes professeurs.*
- *Mon encadreur (Yousfi Mohamed).*
- *A tous ceux qui me sont chers.*

Souad

REMERCIEMENTS

La réalisation de ce travail a été achevée au Laboratoire des Sciences Fondamentales LSF à l'université de Laghouat sous la direction du professeur Mohamed Yousfi.

- Je remercie infiniment mon promoteur Monsieur **Mohamed YOUSFI** pour sa proposition de ce sujet et pour sa disponibilité durant la réalisation de ce travail.
- je voudrais remercier les membres du jury Monsieur **BENALIA Mohamed**, Madame **HAMIA Chahrazed** et Madame **BENGHECHOUA Imane** d'avoir accepté de juger ce travail.
- Un grand merci à nos enseignants qui ont été toujours disponibles pour répondre à nos questions.
- J'exprime toute ma gratitude à mes ami(e)s pour leur soutien et leurs conseils.
- Je ne saurais clôturer cette liste de remerciements et de reconnaissances, sans exprimer ma profonde gratitude à tous ceux qui ont contribué à la réalisation de ce travail.

LISTE DES ABREVIATIONS

AGIS: acides gras saturés

AGS: acides gras insaturés

DPPH: (1,1-diphényl-2-picrylhydrazel)

EAG : équivalent d'acide gallique

EC50: concentration efficace pour réduire 50% des radicaux libres (Efficience concentration)

EMAG: esters méthyliques des acides gras

PI % : pourcentage d'inhibition

Liste des Figures

Figure II.1: Fruits du chêne.....	3
Figure III.2. Forme libre et réduite du DPPH.....	9
Figure IV.3 : Courbe d'étalonnage de la vitamine E.....	14
Figure IV.4 : la courbe d'étalonnage du cholestérol	15
Figure IV.5 : la courbe d'étalonnage d'acide gallique.....	16
Figure IV.6 : Courbes représentant la variation des pourcentages d'inhibition en fonction de la concentration des extraits phénoliques dans le test DPPH.....	19
Figure Annexe .1 : Chromatogrammes des esters méthyliques d'acides gras.....	22
Figure Annexe.2 : Structure chimique des tocophérols.....	22
Figure Annexe.3 : Structure chimique des stérols	23
Figure Annexe.4 : la courbe d'inhibition de l'extrait hexanique.....	24
Figure Annexe.5 : la courbe d'inhibition de vitamine C en fonction de concentration (g/l).....	24

Liste des tableaux

Tableau II.1 : Réactifs chimiques utilisés.....	4
Tableau IV.2 : Aspect physique : couleur et les teneurs en lipides.....	10
Tableau IV.3 : Composition en acide gras de l'huile des fruits.....	12
Tableau IV.4 : Quantité des composés phénoliques et les EC50 des extraits	16

SOMMAIRE

Dédicaces	
Remerciements	
Liste des abréviations	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
I. Introduction	1
II. Matériel	3
II.1. Taxonomie.....	3
II.2. Récolte et séchage.....	4
II.3. Réactifs chimiques.....	4
III. Méthodes	4
III.1.Extraction des lipides.....	4
III.2. Préparation des EMAG.....	5
III.3. Dosage spectrophotométrique des tocophérols totaux.....	5
III.4. Dosage spectrophotométrique des stérols totaux.....	6
III.5.Extraction des composés phénoliques.....	6
III.6. Dosage des composés phénoliques totaux.....	8
III.7. Evaluation l'activité d'antiradicalaire.....	8
IV. Résultats et discussion	10
IV.1. Teneur en lipides.....	10
IV.2. Analyse qualitative et quantitative des acides gras.....	11
IV.3. Dosage des tocophérols totaux.....	13
IV.4. Dosage des stérols totaux.....	14
IV.5. Extraction des composés phénoliques et teneurs des composés phénoliques.....	15
IV.6. Activité antioxydante des extraits phénoliques.....	17
V. Conclusion	20
Références bibliographiques	
Annexe	22

I. Introduction

Le chêne est un arbre appartenant à la famille des fagacées, et un des arbres les plus caractéristiques du bassin méditerranéen, de taille qui atteint une hauteur de 20 à 25 m. Son tronc est souvent tortueux et branchu. Sa cime est arrondie et son écorce est de couleur noire brunâtre ou noire, légèrement craquelée en petites plaques carrées, minces, sèches et souvent recourbées. Les feuilles sont caduques et alternes sauf chez le chêne vert et le chêne-liège, elles sont persistantes (pendant 2 ou 3 ans) en général une plus grande largeur vers le tiers supérieur du limbe (Charef, 2011).

Le Chêne vert (*Quercus ilex*) est un arbre au feuillage persistant. Les feuilles caduques sont vert foncé sur le dessus et d'une teinte grise en-dessous. Il aime les sols calcaires et peut grandir jusqu'à 25 mètres de haut par 20 m de large. Ses glands sont bruns, de dimension variant de 1 à 3 centimètres de long C'est une espèce monoïque (Charef, 2011).

Le chêne-liège (*Quercus suber*) est un arbre à la cime arrondie et au feuillage persistant. Il produit une écorce épaisse de liège et ses feuilles sont ovales. Le feuillage est vert foncé sur le dessus et grises en-dessous. Il est assez rustique et va jusqu'à 22 mètres de hauteur (Charef,2011).

L'analyse phytochimique des différentes parties de l'arbre du chêne *Quercus* a été l'objet de quelques études via la composition en acides gras, en triglycérides, en tocophérols de l'huile extraite des fruits (Charef, 2011).

Peu de travaux ont été consacrés à l'étude comparative des populations de chêne *Quercus*, on trouve l'étude comparative de la micromorphologie de l'épiderme des feuilles dans huit populations de chêne *Quercus* issus de différentes régions algériennes, qui montre l'existence d'une variabilité qui pourrait être due aux conditions écologiques (Allal , 2006) .

La valeur nutritive les fruits du *Quercus* (gland) est élevée et selon les espèces, les glands peuvent contenir jusqu'à 18% de matières grasses, 6% de protéines et 68% de glucides, le reste étant de l'eau, des minéraux et de la fibre. Les variétés modernes de maïs et de blé, en comparaison, ont environ 2% de matières grasses, 10% de protéines et 75% de glucides (Mayer et al, 1976).

Les glands sont également de bonnes sources de vitamines A et C et de nombreux acides aminés essentiels. Une limitation du gland est sa teneur élevée en acide tannique, ce qui rend amère et désagréable pour les humains sans lixiviation substantielle (**Mayer et al, 1976**).

Ce présent travail comporte deux parties principales :

- L'une est l'étude des lipides de fruits du *Quercus* (composition en acides gras, les tocophérols et les stérols totaux) en utilisant l'hexane et le chloroforme comme solvants.
- L'autre est l'étude des composés phénoliques des tourteaux des fruits et l'évaluation de leur activité antioxydante.

II. Matériel

II.1. Taxonomie de l'espèce

La classification de l'espèce est la suivante :

- Règne : Plantea
- Sous règne : Tracheobionta
- Sous règne : Tracheobionta
- Division : Magnoliophyta
- Classe : Magnolipsida
- Sous-classe : Hamamelidae
- Ordre : Fagales
- Famille : Fagaceae
- Genre : Quercus
- Nom vernaculaire
 - Arabe :
 - Français : Chêne
 - Anglais : Oak (Medjmadj, 2014).

La figure II.1 montre la forme des fruits de *Quercus* utilisés dans cette étude.



Figure II.1: Fruit de chêne (photos prises par S.BOUFATAH).

Matériel et méthodes

II.2.Récolte et séchage

Les fruits du *Quercus* étudiés ont été récoltés en octobre 2016 à la région Medjédal (Sud de la wilaya de M'sila). Avant tout traitement de ces fruits ils sont séchés à l'étuve à 60°C pendant 24 heures.

II.3.Réactifs chimiques

Tous les produits utilisés dans ce travail sont d'un grade analytique.

Tableau II.1: Réactifs chimiques utilisés.

Produits	Fournisseur
Chloroforme, méthanol, acétone, éthanol, acide gallique, Folin-Ciocalteu, trifluorure de bore, DPPH(1,1-diphényl-2-picrylhydrazol), -Tocophérol, Cholestérol, anhydride acétique, acide acétique, acide sulfurique), carbonate de sodium Na_2CO_3 , hydroxyde de sodium KOH, chlorure de fer (III)	Sigma -Aldrich
Hexane, acétate d'éthyle	Prolabo
Reactif orthophenantroline	Fluka
sulfate de sodium anhydre,	Biochem

Nous avons utilisé un spectrophotomètre **UV-1601** de type **SHIMADZU**, et les résultats sont traités par **Microsoft Office Excel 2007**.

III .Méthodes

III.1. Extraction des lipides

-Protocole expérimental

Après le séchage, les fruits décortiqués ont été réduites en poudre fine suite au broyage et au tamisage successif. Deux prises d'essai de 100g de la poudre ainsi obtenus ont été macérées dans 500ml d'hexane et 500 ml de chloroforme à température ambiante pendant vingt quatre heures. Les extraits sont filtrés puis les résidus sont repris pour une deuxième fois avec un volume de 250 ml des mêmes solvants pendant vingt quatre heures à température ambiante. Après filtration sur papier filtre, le séchage du filtrat est effectué par l'ajout du sulfate de sodium anhydre, après filtration les solvants sont évaporés sous pression réduite à une température de

Matériel et méthodes

40°C. Chaque extrait est pesé et nous avons calculé la teneur en huile de chaque échantillon à l'aide de relation (1).

$$\text{Teneur}\% = \frac{\text{Masse de l'extrait} \times 100}{\text{Masse de la prise d'essai matière végétale}} \quad (1)$$

III.2. Préparation des esters méthyliques des acides gras (EMAG) et analyse

Vue l'existence de plusieurs méthodes de la préparation des EMAG, nous avons utilisé la méthode générale de trifluorure de bore.

Saponification : dans deux ballons en pèse environ 200 mg des deux échantillons d'huile. On ajoute 10 ml de solution méthanolique de KOH (2%), celui-ci est adapté au réfrigérant, et porté à ébullition à reflux pendant 30 minute.

L'estérification est réalisée par l'ajout par le haut du réfrigérant un volume de 5 ml d'une solution méthanolique à (10 %) de BF₃. Le mélange est maintenu encore à reflux pendant 10min. Après refroidissement on ajoute 35ml de l'eau distillée. Les esters méthyliques sont récupérés deux fois par une extraction liquide- liquide par deux fractions de 35 ml d'hexane, cette extraction a été effectuée deux fois. La fraction organique est lavée cinq fois par de l'eau distillée jusqu'à neutralisation, après séchage par le sulfate du sodium anhydre, le solvant est filtré puis évaporé à 40°C sous pression réduite.

les EMAG sont purifiés, par un flash chromatographie à l'aide d'une (pipette pasteur) utilisée comme colonne remplie de gel de silice et en utilisant le chloroforme comme éluant. Les EMAG ainsi purifiés sont conservés +4°C jusqu'à leur analyse.

L'analyse des EMAG été faite selon les conditions suivantes :

Le détecteur utilisé est un détecteur à ionisation de flamme FID et relié à un intégrateur. La séparation a été faite sur une colonne capillaire 30mm de longueurs 0.32mm*0.25UM de diamètre avec un intervalle de température qui varie de 190°C à 280°C avec une vitesse de 0.5cm/mn. Le gaz vecteur utilisé dans cette analyse est l'azote (N₂).

III.3. Dosage spectrophotométrique des tocophérols totaux

Nous avons adopté la méthode de dosage colorimétrique d'Emmerie-Engel. Cette méthode est basée sur la réaction d'oxydoréduction entre les tocophérols et le fer ferrique (Fe³⁺) qui est réduit en fer ferreux (Fe²⁺). 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 (Emmerie et Engel, 1939).

-Protocole expérimental

Une droite d'étalonnage est tracée à partir d' -tocophérol commercial, permet de relier la densité optique et la concentration de tocophérol exprimée en g/l. à partir d'une solution commerciale de la vitamine E de (0.1g/l), nous avons préparé dans 100 ml de éthanol des solutions ayant des concentrations bien déterminées, 1 ml de chaque solution fille plus 1ml de réactif orthophénantroline (0.4 % solution éthanolique) et 0.5 FeCl₃ (0.12% solution éthanolique). Les tocophérols forment un complexe rouge-orangé stable avec les réactifs spécifiques. Après 3mn on mesure l'absorbance à 510nm.

Nous avons effectué le dosage des tocophérols totaux à partir des extraits sur l'huile obtenue de la même manière. La teneur en tocophérols totaux sera déterminée à partir de la courbe d'étalonnage. La masse de prise essai étant 0.1g d'extrait.

III.4.Dosage spectrophotométrique des stérols totaux

Il s'agit d'une absorption spectrophotométrique suivant le test de Liebermann-Bouchard (**Barreto, 2005**) basée sur une réaction colorée spécifique des 3 -hydroxystéroïdes possédant une double liaison en position 5-6. Les stérols forment un complexe vert 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 30 ml d'acide acétique).

La masse de prise d'essais étant 0.1g pour l'extrait hexanique et 0.5g pour l'extrait chloroformique.

III.5. Extraction des composés phénoliques

Deux méthodes d'extraction ont été faite :

-Extraction par sonication

Les procédures d'extraction ont été effectuée sur quatre échantillons séparément dans un bain à ultrasons pendant 60min à 50 °C à une vitesse d'agitation de 50 Hz et 70 tr / min.les solvants polaires utilisés sont :

- le méthanol et l'eau (8/2 : v/v).
- Acétone et l'eau (7/3 : v/v).

Méthode suivie :

2g de chaque tourteau dans 50 ml est placé dans un erlenmeyer, ces préparations ont été soumises à une extraction par ultrason à 50 °C pendant 60 minutes. Les macéras sont filtrés sur un papier filtre puis évaporés à 50 °C sous pression réduite pour éliminer le solvant. Ensuite extraction liquide- liquide en utilisant l'hexane comme un solvant (dépigmentation) après on récupère la phase aqueuse. Cette dernière est traitée par l'acétate d'éthyle pour la purification des composés phénoliques. Le séchage de la phase organique est effectué par l'ajout du sulfate de sodium anhydre ensuite elle est filtré sur papier filtre, et évaporée sous pression réduite jusqu'à siccité. Enfin les résidus récupéré et solubilisé dans 2 ml du méthanol.

Dans un souci de simplicité nous avons attribué des codes à nos extraits

MHS : tourteaux hexanique dans un mélange (méthanol/eau) avec sonication.

ACS : tourteaux chloroformique dans un mélange (acétone/ eau) avec sonication.

MCS : tourteaux chloroformique dans un mélange (méthanol/eau) avec sonication.

AHS : tourteaux hexanique dans un mélange (acétone/ eau) avec sonication.

-Extraction à température ambiante (macération)

2g de chaque tourteaux est macérée dans 50 ml .Nous utilisons les solvants polaires : méthanol et l'eau distillée (8/2: v/v), acétone et l'eau distillée (7/3: v/v) pendant vingt quatre heures à température ambiante. Les macéras sont filtrés sur un papier filtre.

Les filtrats obtenus sont évaporés au moyen d'un évaporateur rotatif muni d'une pompe à vide à une température de 50°C. Ensuite extraction liquide- liquide en utilisant l'hexane comme un solvant après on récupère la phase aqueuse qui sera traitée par acétate d'éthyle pour la purification des composés phénoliques. Le séchage de la phase organique est effectué par l'ajout du sulfate de sodium anhydre ensuite elle est filtré sur papier filtre, et évaporée sous pression réduite jusqu'à siccité.

Enfin les résidus récupéré et solubilisé dans 2 ml du méthanol.

Dans un souci de simplicité nous avons attribuée des codes à nos extraits

MC : tourteaux chloroformique dans un mélange (méthanol/eau).

AC : tourteaux chloroformique dans un mélange (acétone/eau).

AH : tourteaux hexanique dans un mélange (acétone/eau).

III.6. Dosage des composés phénoliques totaux

-Principe de la méthode

Le dosage des phénols totaux a été effectué par une méthode adaptée avec le réactif de Folin-Ciocalteu (Djeridane, 2008). 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 à 760 nm dont l'intensité est proportionnelle à la quantité de polyphénols présents dans l'échantillon.

-Protocole expérimental

Pour réalisation de la courbe d'étalonnage, différentes concentrations de l'acide gallique de 0.0313g/l. par la suite, un volume de 500 µl du réactif du folin-ciocalteu (1%) est mélangé avec 100 µl de chaque solution préparée, et après environ 2 min, 2 ml de bicarbonate de sodium (2%) ont été ajoutés au mélange. Le tout est laissé réagir pendant 30 min à l'obscurité. La lecture de la densité optique est effectuée à 760nm contre blanc réactif, les résultats ainsi obtenus ont permis de tracer la courbe d'étalonnage de l'acide gallique.

Les composés phénoliques totaux sont dosés de la manière suivante :

On prend 100 µl de chaque extrait dans un tube à essai on ajoute 2 ml de méthanol (dilution). A partir de cette solution, on prend 100 µL qui seront traités selon les étapes du protocole suivies lors de la préparation de la courbe d'étalonnage de l'acide gallique, et les résultats obtenus sont exprimés en g/l.

III.7. Evaluation de l'activité d'antiradicalaire (Piégeage du radical libre DPPH (2,2diphényl-1-picrylhydrazyl) :

Le DPPH est un radical libre stable de couleur violacée qui absorbe à 517 nm. En présence des composés anti-radicalaires, le radical DPPH est réduit et change de couleur en virant au jaune. Le DPPH réagit avec un antioxydant par arrachement d'un hydrogène, il se forme alors le 2,2-diphénylhydrazine DPPH₂.

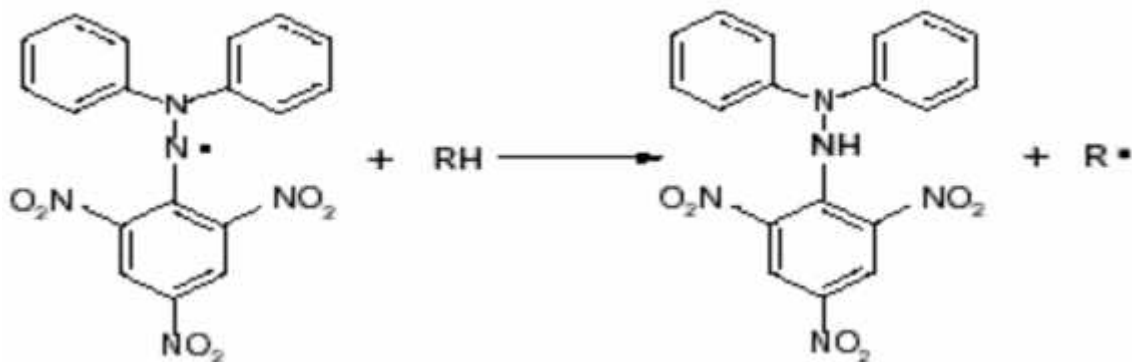


Figure III.2. Forme libre et réduite du DPPH (Zirar, 2014).

-Protocole expérimental

-Calcul des pourcentages d'inhibitions

Le pourcentage est calculé selon la formule suivante :

$$\text{PI}\% = ((\text{Ac}-\text{At})/\text{Ac})\cdot 100$$

Ac : absorbance du contrôle

At : absorbance de l'extrait testé

-Détermination EC₅₀ :



EC₅₀ : concentration efficace pour réduire 50% des radicaux libres (Efficence concentration).

IV. Résultats et discussion

IV.1. Teneur en lipides

Après extraction nous avons calculé les teneurs en lipides dans les fruits du *Quercus*. Le (Tableau IV.2) regroupe les résultats obtenus. Nous remarquons que la couleur des huiles dépend du solvant d'extraction car la couleur de l'huile obtenue par le chloroforme est plus foncée marron jaunâtre par rapport à l'huile obtenue par l'extraction par l'hexane jaune claire et cela peut être expliqué par le fait que le chloroforme est plus polaire que l'hexane et par conséquent le chloroforme a pu extraire d'autres composés colorés et peu polaires. Pour l'état physique des extraits ils sont visqueux et on remarque la décantation d'une fraction solide au fond des flacons qui les contiennent et ils prennent les couleurs des huiles. En ce qui concerne les teneurs en lipides on remarque une légère différence entre les deux valeurs des teneurs 5.77% m/m pour l'extrait chloroformique et 5.23% m/m pour l'extrait hexanique. Cette petite différence peut être due à l'extraction d'autres composés peu polaires par le chloroforme et cela est accord avec la remarque signalée sur la couleur des extraits lipidiques. Si nous comparons nos résultats avec d'autres travaux on peut conclure que les fruits étudiés sont pauvres en matière grasse par rapport aux autres graines oléagineuses. Il est à noter que le rendement de l'olivier est de 20%, pour le tournesol 45 à 50%, pour soja 18% et le palme 25%. (Matallah, 2006). Toutes fois le fruit de *Quercus* ne peut être considéré comme une source d'huile végétale. L'huile du fruit de *Quercus* peut servir à des applications cosmétiques ou pharmaceutiques à cause de leur utilisation à faible teneur.

Tableau IV.2. Aspect physique : couleur et les teneurs en lipides.

Extraits	Aspect	Rendement d'extraction	Couleur
Chloroformique	visqueux	5.77%	 Marron jaunâtre
Hexanique	visqueux	5.23%	 Jaune claire

IV.2. Analyse qualitative et quantitative des acides gras

L'analyse des esters méthyliques par chromatographie en phase gazeuse a détecté la présence de douze pics, chaque pic correspond à un acide gras. Les profils chromatographiques des EMAG confirment une similitude entre les deux extraits lipidiques. Les pourcentages relatifs des acides gras identifiés sont consignés dans le (Tableau IV.3). Les acides gras insaturés sont majoritaires environ 83,12% par rapport aux acides gras saturés dont ils présentent des pourcentages de 16,67 et 16,81% et cela dans les deux extraits que ce soit hexanique ou chloroformique. Les acides gras oléique et linoléique sont les plus dominants dans la fraction des acides gras insaturés avec des pourcentages de 65 % et 16% respectivement. L'acide palmitique et l'acide majoritaire des acides gras saturés avec un pourcentage de 12 % suivi par l'acide stéarique dont son pourcentage ne dépasse pas une valeur de 3.3%. Les huiles étudiées contiennent aussi d'autres acides gras saturés et insaturés mais avec des pourcentages faibles ou sous forme de trace comme les acides gras laurique, myristique et linoléique.

Les quotients entre la somme des pourcentages des acides gras insaturés par rapport à celle des acides gras saturés sont 4,88 pour l'extrait hexanique et 4,98 pour l'extrait chloroformique. Ce rapport donne aux extraits lipidiques une bonne prévention contre l'oxydation.

Si on compare la composition en acides gras des lipides étudiés par rapport à d'autres lipides végétaux, on peut remarquer que nos extraits lipidiques sont de type oléo-linoléique comme les huiles de l'olivier, arachide (**Feeter, 1974**). Pistachier lentisque (**Charef, 2011**). Pistachier de l'atlas (**Guenane, 2016**). Soja et tournesol (**Cuvelier et al, 2004**).

Tableau IV.3.Composition en acide gras de l'huile des fruits.

Acide gras	Dénomination	Extrait chloroformique	Extrait hexanique
C12 :0	Acide Laurique	0.08	0.07
C14 :0	Acide Myristique	0.04	0.02
C16 :0	Acide palmitique	12.67	12.85
C16 :1 9	Acide hypogéique	0.05	0.05
C17 :0	Acide margarique	0.10	0.09
C17 :1 8	Acide margaroléique	0.09	0.07
C18 :0	Acide stéarique	3.34	3.31
C18 :1 9	Acide oléique	65.27	65.31
C18 :2 6	Acide linoléique	16.17	15.59
C18 :3 3	Acide linoléinique	0.80	0.33
C20 :0	Acide arachidique	0.44	0.47
C20 :1 9	Acide gondique	0.74	0.76
Acides gras saturés		16.67	16.81
Acides gras monoinsaturés		66.15	66.19
Acides gras polyinsaturés		16.97	15.92
AGIS/AGS		4.98	4.88

IV.3. Dosage des tocophérols totaux

Afin de quantifier les tocophérols totaux dans nos huiles, nous avons adopté la méthode colorimétrique d'Emmerie et Engel qui est basée sur les propriétés réductrices des tocophérols.

Pour ce faire nous avons tracé une courbe d'étalonnage de la vitamine E (Figure IV.3). A partir de cette courbe nous avons calculé les quantités des tocophérols totaux dans les huiles étudiées. Les résultats montrent que l'extrait chloroformique contient une quantité de tocophérols totaux de 107.43 mg/100g d'huile qui est légèrement supérieure à celle de l'extrait hexanique 96.75 mg/100g d'huile. Ce résultat est attendu car le chloroforme est plus polaire que l'hexane et par conséquent les tocophérols seront plus extractibles par le chloroforme car ils contiennent une fonction hydroxyle OH qui lui donne la propriété polaire.

Les valeurs des quantités des tocophérols totaux trouvées dans cette étude sont supérieures à celle trouvées par **(Charef, 2011)** (35,8-57,0 mg/100g).

Si on compare la quantité des tocophérols totaux de nos extraits à d'autres huiles végétales alimentaires, on peut classer l'huile du fruit de *Quercus* parmi les huiles végétales riches en tocophérols comme les huiles : olive (6,8-24,4mg/100g), palme (9-150mg/100g), soja (56-340 mg/100g), tournesol (40-160 mg/100g) **(Harwood J.L et al, 2000)**. Pistachier de l'atlas (45,68-68,59 mg/100g) **(Guenane, 2016)**. Pistachier lentisque (15,2-35,68 mg/100g) **(Charef, 2011)**.

La richesse de l'huile du fruit du *Quercus* en composés tocophéroliques lui attribue une bonne conservation à l'oxydation et des applications thérapeutiques et notamment la propriété vitaminique E.

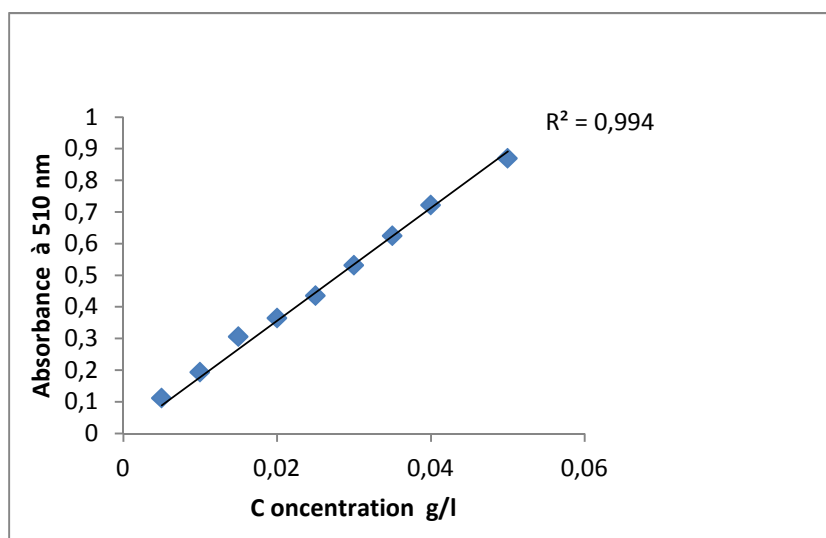


Figure IV.3 : Courbe d'étalonnage de la vitamine E.

IV.4. Dosage des stérols totaux

Pour doser les stérols totaux dans nos extraits lipidiques, nous avons utilisé la méthode colorimétrique de Libermann-Buchard (**Barreto, 2005**). Cette méthode nécessite la construction d'une courbe d'étalonnage d'un stérol standard comme le cholestérol (Figure IV. 4). A partir d'une courbe d'étalonnage du cholestérol commercial, nous avons calculé les quantités des stérols totaux dans les deux extraits lipidiques. Les valeurs trouvées sont 27,46 mg/100g d'huile dans l'extrait chloroformique et 462,78 mg/100g d'huile pour l'extrait hexanique. D'après ces résultats, on remarque que l'extrait hexanique contient une quantité importante de stérols totaux par rapport à l'extrait chloroformique, cette quantité est environ 17 fois plus supérieure. Ce résultat confirme que l'hexane qui est moins polaire que le chloroforme est capable d'extraire une quantité très importante de stérols totaux par rapport au chloroforme ce qui est peut être expliqué par le fait que les stérols contiennent des structures terpéniques apolaires qui auront des affinités avec les solvants apolaires comme les hydrocarbures (hexane dans notre cas).

Si on compare ces résultats aux valeurs trouvées par (**Hamia, 2007**). Dans l'huile d'Arganier (505,8 à 845,0 mg/100g d'huile), on peut dire que nos extraits lipidiques sont pauvres en stérols. Par contre les quantités des stérols totaux dans nos extraits lipidiques sont très faibles de celles calculées par (**Benalia, 2016**) dans les huiles de plusieurs cultivars des graines de cucurbitacées (1160-2130mg/100g d'huile).

Un point qui attire l'attention est l'influence du solvant d'extraction sur les quantités totales des tocophérols et des stérols, car nous remarquons que la polarité des solvants d'extraction varie en sens inverse de ces quantités et par conséquent, on peut conclure que l'hexane est un bon solvant pour l'extraction d'une quantité importante des stérols, par contre le chloroforme sera le meilleur solvant pour l'extraction des tocophérols et cela est peut être due à l'affinité des solvants utilisés pour l'extraction et les structures chimiques des composés à extraire (les tocophérols sont des composés plus polaires de les stérols et donc seront mieux extractibles par le chloroforme que par l'hexane).

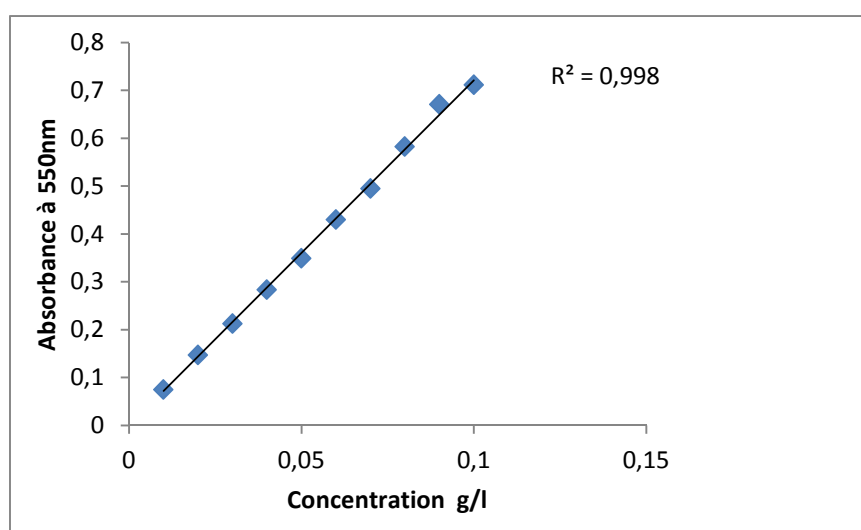


Figure IV.4 : la courbe d'étalonnage du cholestérol.

IV.5. Extraction des composés phénoliques et teneurs en composés phénoliques

Pour l'extraction des composés phénoliques, nous avons utilisé deux systèmes de solvants de polarité différentes à savoir : Méthanol/eau et acétone /eau avec des rapports volumiques 8/2 et 7/3 respectivement et dans deux conditions différentes à température ambiante pendant 24 heures et dans un bain marie à ultrason pendant 1 heure et à température 50°C. Nous avons calculé à partir de la courbe d'étalonnage de l'acide gallique les teneurs en composés phénoliques contenus dans les différents extraits (Figure IV.5). Les résultats obtenus sont consignés dans le (Tableau IV.4). A la lumière de ces résultats, on peut remarquer que les teneurs des extraits en composés phénoliques s'échelonnent de 241,0 jusqu'à 776,4 mgEAG/100g de tourteaux. La plus grande valeur 776,4mgEAG/100g est enregistrée dans l'extrait hydrométhanolique des tourteaux chloroformique avec sonication, par contre la plus faible valeur été 241mgEAG/100g pour l'extrait hydracétonique des tourteaux hexanique obtenu par macération à température ambiante. Il faut noter que les teneurs en composés phénoliques

Résultats et discussion

sont plus importantes dans les extraits obtenus par sonication à température 50°C et pendant une heure de temps et cela quelque soit la nature des tourteaux. Par exemple la teneur en composés phénoliques dans l'extrait AHS est 1,8 fois supérieure à celle de l'extrait AH, de même pour les deux extraits MCS et ACS, les teneurs sont plus importantes que celles des extraits MC et AC de 1,8 et 1,3 respectivement.

Tableau IV.4. Quantité des composés phénoliques et les EC₅₀ des extraits.

Extraits	EC ₅₀	Teneur (mgEAG/100Tourteaux)
MHS	110,71 ± 0,70	458,2
ACS	100,25 ± 0,50	616,4
MCS	25,00 ± 0,01	776,4
AHS	139,92 ± 0,90	457,7
MC	105,52 ± 1,70	420,3
AC	90,09 ± 1,84	471,6
AH	82,81 ± 0,95	241,0
Vitamine C	4700 µg/l	

Si on compare nos résultats a ceux trouvés par des études menées dans le laboratoire des sciences fondamentales de l'université de Laghouat, on peut conclure que les quantités des phénols totaux dans les tourteaux du fruit de *Quercus* sont supérieures à celles trouvées dans les graines de cucurbitacées (26,68- 46,39 mgEAG/100g) (Benalia, 2016), et inférieures à celles trouvées dans les tourteaux du fruit de pistachier de l'atlas (2670 mgEAG/100g) (Guenane, 2016).

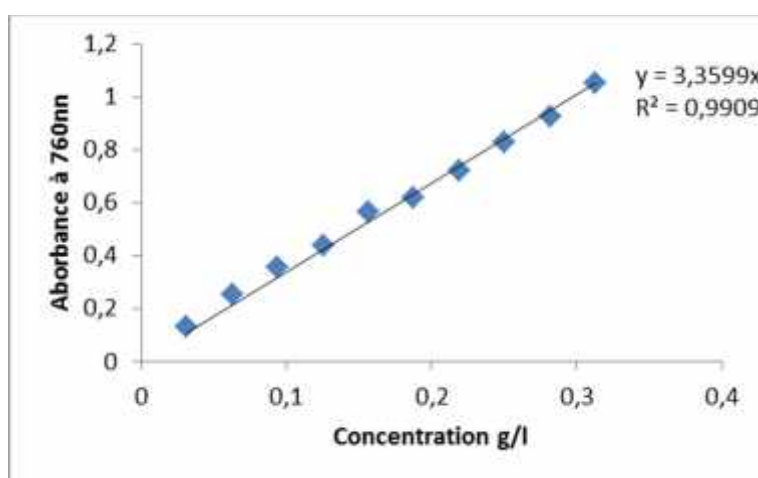


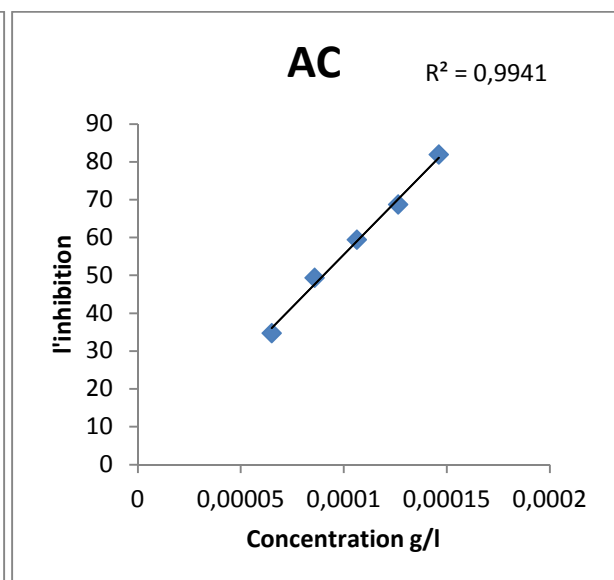
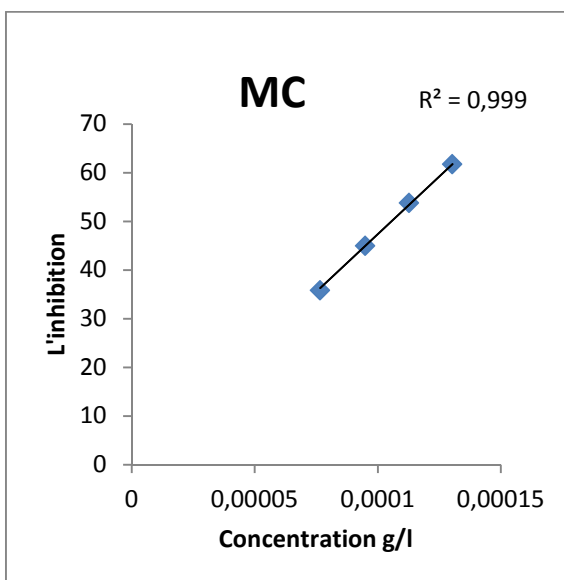
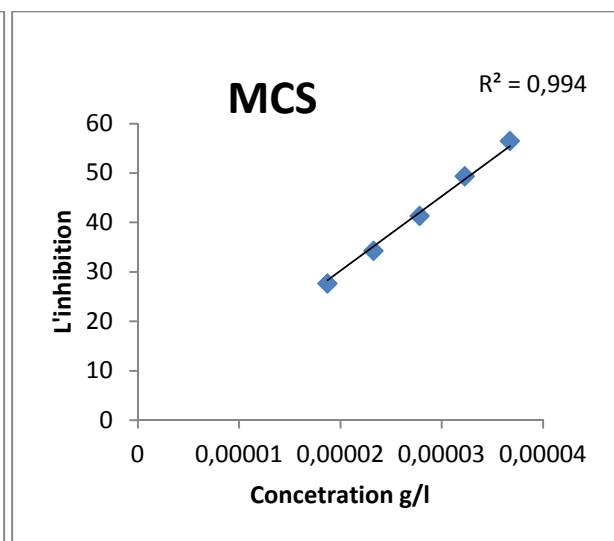
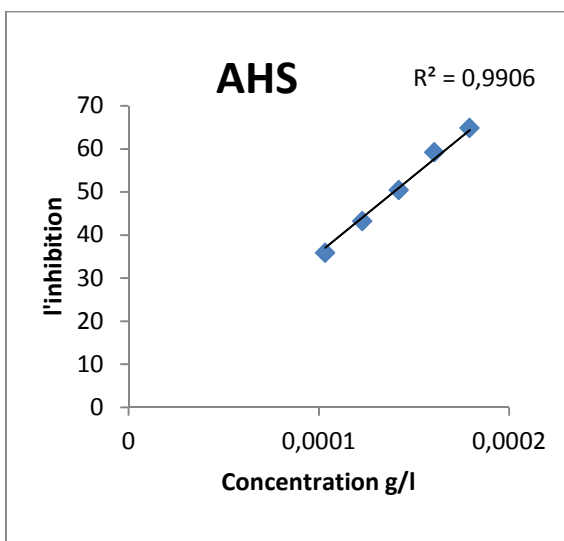
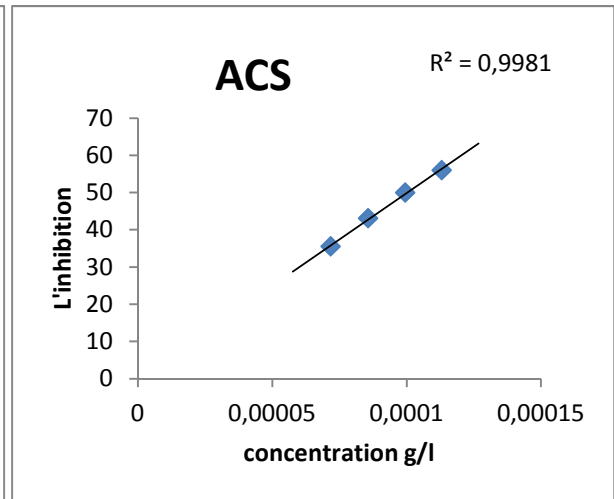
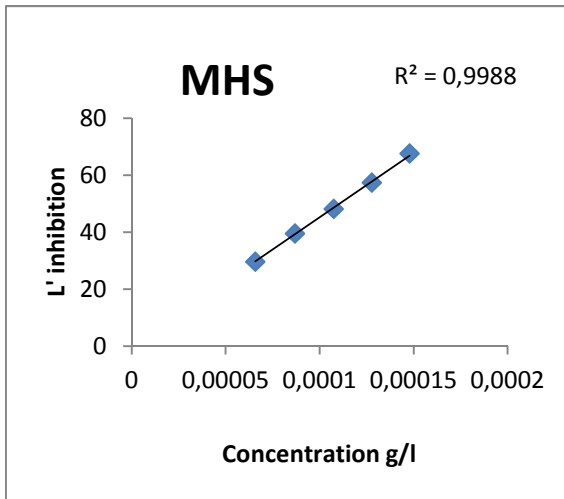
Figure IV.5 : La courbe d'étalonnage d'acide gallique.

IV.6. Activité antioxydante des extraits phénoliques

Nous avons évalué l'activité antioxydante de nos extraits par le test du radical DPPH. Ce radical est stable qui donne dans le méthanol une couleur violette ce qui permet de suivre sa disparition par spectrophotométrie visible. Le DPPH absorbe fortement à une longueur d'onde 517 nm, en présence d'un antioxydant son absorbance diminue. La mesure de l'absorbance du radical en absence et en présence de l'antioxydant permet de calculer le pourcentage d'inhibition PI% et par conséquent exprimer l'activité antioxydante des extraits en calculons la valeur de EC₅₀ (µg/l), qui est définie comme la concentration de l'extrait qui inhibe 50% du radical DPPH. Nous tracé pour chaque extrait la courbe de la variation du pourcentage d'inhibition PI % en fonction de la concentration des composés phénoliques contenus dans les extraits. (µg/l) (Figure IV.6).

A partir de ces courbes nous pu calculer les valeurs des EC₅₀ (µg/l). Les résultats sont donnés dans le (Tableau IV.4).

Les Valeurs des EC₅₀ (µg/l) s'échelonnent de 25 à 110,71 µg/l pour l'extrait MCS et MHS respectivement. On remarque que tous les extraits phénoliques des tourteaux de fruit de *Quercus* sont plus actif que la vitamine C qui a enregistré une valeur de EC₅₀ de l'ordre 4,7 mg/l. Rappelons que plus la valeur de EC₅₀ est petite plus l'extrait est un antioxydant fort, par conséquent on peut déduire que l'extrait MCS est l'extrait le plus antioxydant, en revanche l'extrait MHS sera l'extrait le moins antioxydant. On remarque que l'extrait le plus antioxydant MCS possède la teneur la plus élevée en composés phénoliques (25 µg/l contre 776,4mgEAG/100g). Cette règle n'est pas généralisée dans l'ensemble des extraits car le coefficient de corrélation entre les valeurs de EC₅₀ et les teneurs en phénols totaux est négatif de l'ordre -0,54, mais si on traite les résultats en groupes c'est-à-dire prendre les extraits obtenus dans les mêmes conditions et notamment les extraits de la sonication, on remarque que l'activité antioxydante dépend de la concentration des composés phénoliques , plus l'extrait est actif (faible valeur de EC₅₀) plus la teneur en composés phénoliques est importante et par conséquent les valeurs de EC₅₀ et les teneurs en composés phénoliques varient en sens inverse, ce qui donne un coefficient de corrélation négatif entre ces deux grandeurs de l'ordre de -0,94. Ce résultat confirme que les composés phénoliques sont responsables à l'activité antioxydante quand l'extraction est réalisée dans les conditions de la sonication. Par contre cette constatation n'est pas valable pour les extraits obtenus dans les conditions de la macération à température ambiante et pendant 24 heures de temps (coefficient de corrélation positif de l'ordre 0,85).



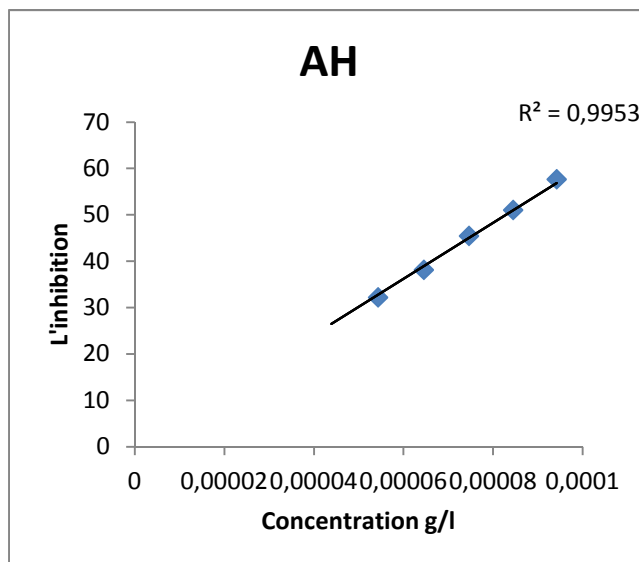


Figure IV.6 : Courbes représentant la variation des pourcentages d'inhibition en fonction de la concentration des extraits phénoliques dans le test DPPH.

V. Conclusion

Le *Quercus* est un arbre très répandu en Algérie et notamment dans les régions des hauts plateaux. Cet arbre aux vertus multiples pour les populations locales, ne cesse de livrer ses mystères à la communauté scientifique. A côté du bois et du liège, qui sont utilisés en industries, le *Quercus* fourni aussi des feuilles et des fruits qui sont utilisés par la population locales à des fins médicinales et alimentaires.

Nous nous sommes intéressés à travers ce travail à la valorisation du fruit de *Quercus*, cette valorisation consiste à déterminer la composition en acides gras des lipides des fruits et doser les tocophérols et les stérols totaux. Nous avons aussi évalué l'activité antioxydante des extraits phénoliques des tourteaux.

Les résultats obtenus montrent que la polarité du solvant influe légèrement sur la teneur en lipides (5,77% m/m dans le cas du chloroforme et 5,23 % m/m dans le cas de l'hexane).

Les résultats de l'analyse qualitative et quantitative par chromatographie en phase gazeuse des esters méthyliques des acides gras montrent que la composition en acides gras des lipides du fruit est indépendante de la polarité du solvant. Les acides gras insaturés représentent la fraction majoritaire des lipides environ 83,64%, dont l'acide oléique est dominant avec un taux 65,27% suivi par l'acide linoléique avec un pourcentage de 16,17%. Cette composition en acides gras permet de classer les lipides du fruit de *Quercus* parmi les huiles végétales alimentaires de type oléo-linoléique. L'acide palmitique est l'acide gras le plus dominant parmi les acides gras saturés avec un taux de 12,67%.

Le dosage des stérols et des tocophérols totaux montre que les extraits lipidiques du fruit de *Quercus* sont riches en ces deux classes de composés et que les quantités de ces composés dépendent de la polarité du solvant.

L'étude des extraits phénoliques des tourteaux du fruit, nous a permis de quantifier les composés phénoliques totaux et d'évaluer leurs activités antioxydantes. La quantité des phénols totaux dans les extraits dépend de la nature du solvant et de la méthode utilisée dans l'extraction. Les résultats nous permettent de conclure que les tourteaux du fruit sont riches en composés phénoliques.

L'évaluation des activités antioxydantes des extraits phénoliques montre que les tourteaux du fruit sont une source importante d'antioxydants naturels et qu'ils sont plus actifs que la vitamine C utilisée comme antioxydant dans l'industrie agro-alimentaire.

Une corrélation négative à été enregistrée avec un coefficient de corrélation de l'ordre -0,94 entre la teneur en composés phénoliques et l'activité antioxydante dans le cas où l'extraction est réalisée par sonnication, ce qui prouve que l'activité antioxydante des extraits des tourteaux dépend de la quantité en phénols totaux.

Ces résultats restent préliminaires, il serait intéressant d'approfondir les études afin d'identifier d'autres composés dans les lipides et les tourteaux du fruit du *Quercus* et cela en analysant les tocophérols, les stérols et les composés phénoliques individuels. Une étude des protéines et glucides et des composés minéraux sera aussi intéressants.

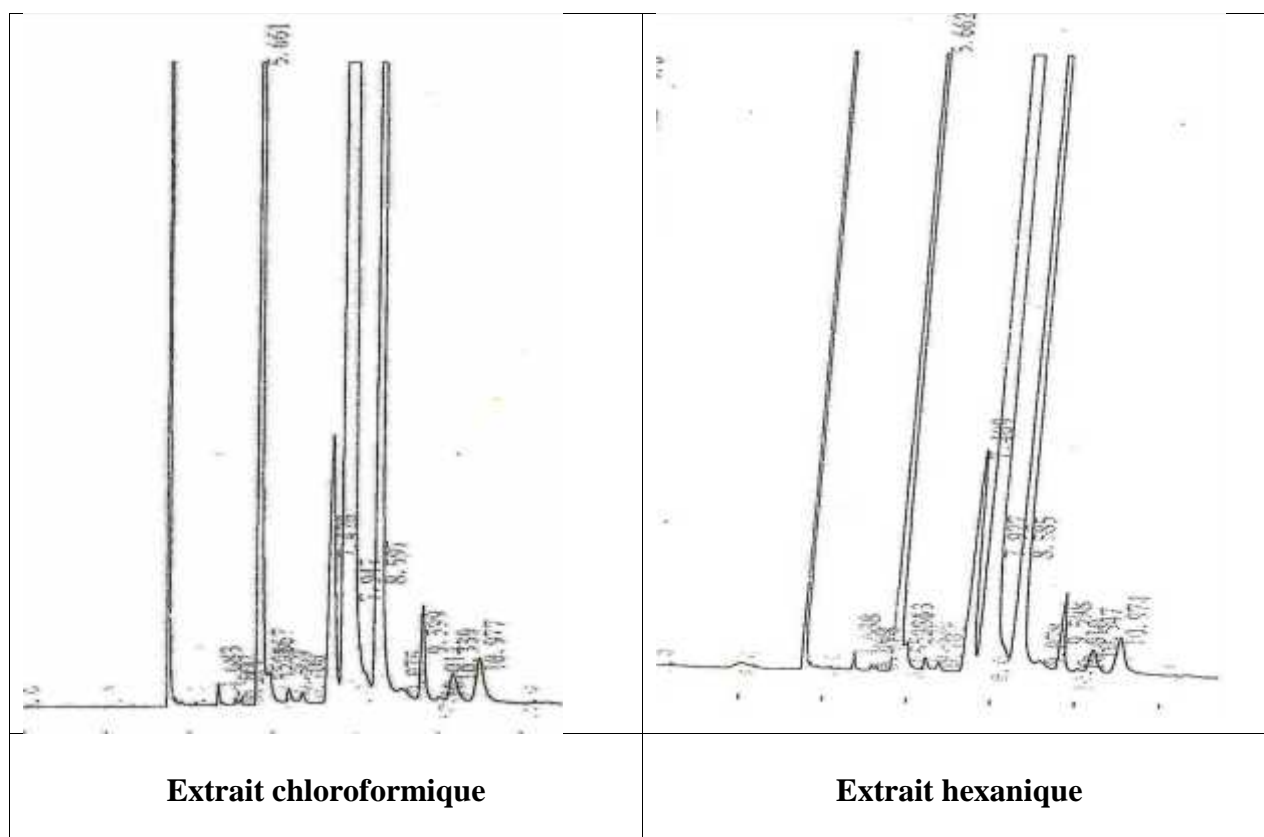


Figure Annexe .1 : Chromatogrammes des esters méthyliques d'acides gras.

-Les tocophérols :

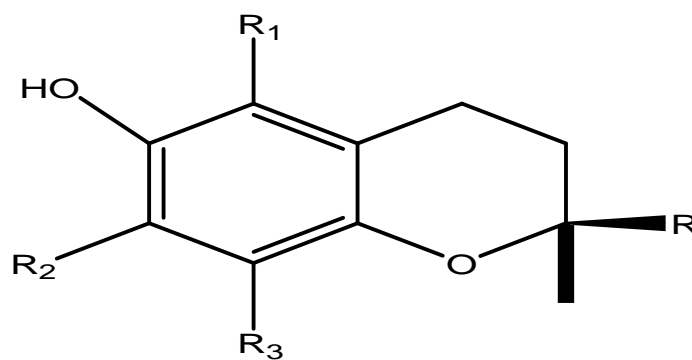


Figure Annexe.2 : Structure chimique des tocophérols.

R1	R2	R3	Nom
CH ₃	CH ₃	CH ₃	
CH ₃	H	CH ₃	
H	CH ₃	CH ₃	
H	H	CH ₃	

-Les propriétés physico-chimiques des tocophérols :

-A la température ambiante, les tocophérols se présentent sous la forme d'une huile visqueuse de coloration jaune pâle.

-Ils sont insolubles dans l'eau.

-Ils sont solubles dans les graisses, les huiles et les solvants organiques (éthers, acétone, alcools méthyliques et éthyliques).

-Ils sont peu sensibles à la chaleur, à la lumière et aux acides, mais très sensibles à l'oxydation et aux bases.

-Les stérols :

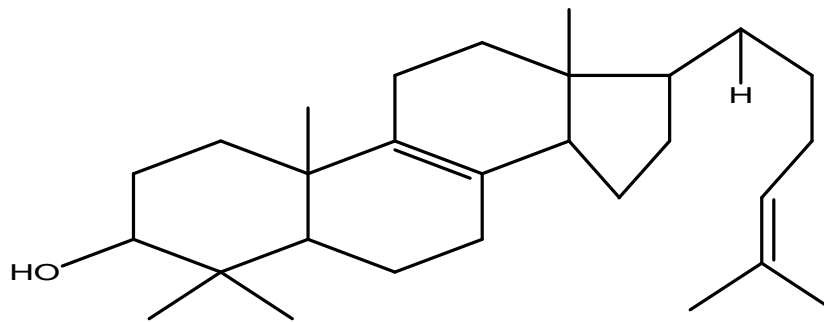


Figure Annexe.3 : Structure chimique des stérols

-Les Propriétés physico-chimiques des cholestérols :

-La température de notre corps c'est des solides blancs cristallin.

-ils sont solubles dans les solvants organiques hydrocarbonés ainsi que les graisses.

- ils sont insolubles dans l'eau.

Annexe

-Activité antioxydante des lipides :

-L'extrait chloroformique : non déterminés.

-L'extrait hexanique :

La masse de prise essai 0.1g

L'EC50 est 4,53 g/l \pm 0.01.

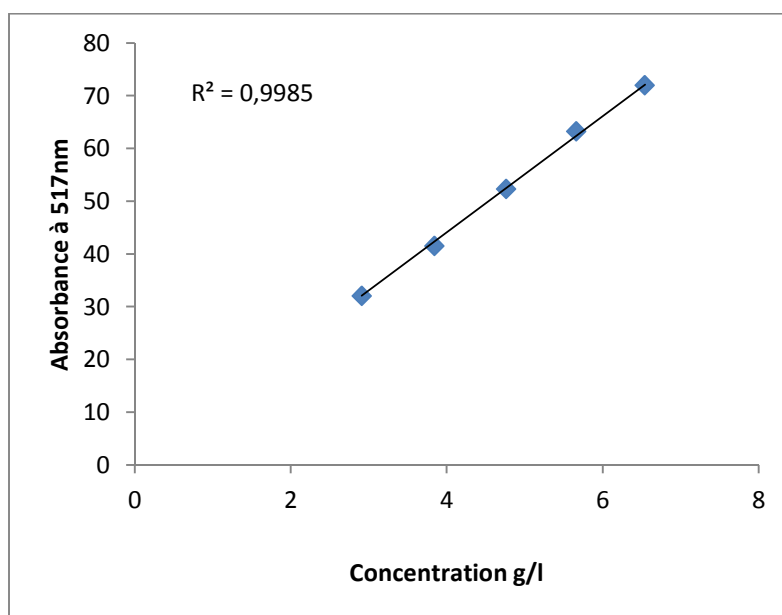


Figure Annexe.4 : la courbe d'inhibition de l'extrait hexanique.

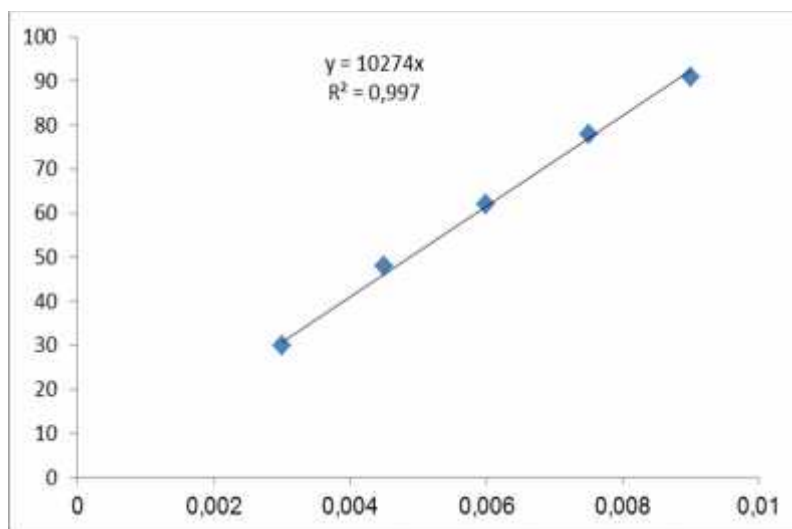


Figure. Annexe .5: la courbe d'inhibition de vitamine C en fonction de concentration (g/l)

Références bibliographiques

- ❖ **ALLAL. Leila. (2006).** Recherches quantitatives sur le criquet migrateur *Locusta migratoria* (Orth. Oedipodinae) dans le Sahara algérien. Perspectives de lutte biologique à l'aide de microorganismes pathogènes et de peptides synthétiques. thèse de doctorat. Université de Limoges-France.
- ❖ **Barreto M Carmo. (2005).** Lipid extraction and cholesterol quantification *J.Chem.Educ.* Vol 82(1): 103-104.
- ❖ **Benalia M. (2016).** Etude de la fraction lipidique de quelques graines de cucurbitacées. Thèse de doctorat. Université Kasdi-merbah-ouargla. Algérie.
- ❖ **Charef M. (2011).** Contribution à l'étude de la composition chimique et étude des propriétés phytochimiques et nutritionnelles des lipides des fruits de *Pistacia lentiscus* et du *Quercus*. Thèse pour obtenir le grade de docteur en sciences chimiques. Université Kasdi merbah-Ouargla. Algérie.
- ❖ **Cuvelier C., Cabaraux J.-F., Dufrasne I., Hornick J.-L., Istasse L. (2004)** ; Acides gras : nomenclature et sources alimentaires *Ann. Méd. Vét.* vol 148 ; 133-140.
- ❖ **Djeridane A. (2008).** Evaluation du pouvoir antioxydant et de l'inhibition d'enzymes (la Carboxylestérase et l'Acylase) par des extraits phénoliques de dix-neuf plantes médicinales locales. Thèse de doctorat. Ecole normale supérieure kouba (Algérie) ; PP : 1-150.
- ❖ **Emmerie A., Engel C. (1939).** Colorimetric détermination of tocopherol (vitamin E). II. Adsorption experiments. *Rec. Trav. Chim.* Vol 58(4): 283-289.
- ❖ **Feeter, D.K. (1974).** Détermination of tocopherols, sterols, and sterol esters in vegetable oil distillates and residues *J.Am. Oil.Chem. Soc.* 51:184-187.

- ❖ **Guenane H. (2016).** Activités biologique des extraits lipidiques des fruits du pistachier de l'atlas (*pistacia atlantica* Desf.). Thèse de doctorat en biologie, option biochimie. Université Kasdi Merbah-Ouargla.Algerie.

- ❖ **Hamia C. (2007).**Contribution à la composition et l'étude de l'huile du fruit de l'Aganier (*Argania spinosa*). Mémoire présentée pour l'obtention du diplôme de magister en chimie. Université Kasdi-merbah-ouargla.Algerie.

- ❖ **Harwood J.L, Quinn, P.J. (2000).** Recent advances in the biochemistry of plant lipids, portand press, London, (eds.).433.

- ❖ **Matallah M. (2006).** Marché mondial des oléagineux. Mémoire de magister. Institut National Agronomique (INA) Alger.

- ❖ **Mayer, Peter J.(1976).**Miwok Balanophagy: Implications for the Cultural Development of Some California Acorn-Eaters. Berkeley: Archaeological Research Facility, Department of Anthropology. Université de California .Amérique.

- ❖ **Medjmadj A. (2014).** Biologie des chênes algériens. Mémoire présentée pour l'obtention du diplôme de magister en Ecologie et Environnement, option Pathologie des Ecosystèmes Forestiers. Université Constantine-Algérie.

- ❖ **Zirar N. (2014).** Contribution à l'étude de l'activité antioxydante de quelques plantes médicinales antidiabétiques. Mémoire de master en biologie, option biochimie appliquée. Université Abou BekrBelkaïd-Tlemcen.Algérie.

Résumé :

La teneur des lipides, la composition en acides gras, le dosage des tocophérols et des stérols totaux des huiles de *Quercus*. La quantification des phénols totaux et leur évaluation de l'activité antioxydante ont été déterminées.

Les résultats indiquent que les fruits sont pauvres en lipides. Les acides gras majoritaires dans les lipides sont : les acides, oléique (65,27%), linoléique (16,17%) et palmitique (12.67%).

Les quantités des stérols et tocophérols totaux sont importantes dans les lipides et dépendent de la polarité du solvant.

Les tourteaux sont riches en composés phénoliques totaux et possèdent des activités antioxydantes importantes par rapport à la vitamine C.

Les mots clés : *Quercus* fruits, acide gras, tocophérols, stérols, phénols, activité antioxydante.

Abstract :

The fat content, the fatty acids composition, the amount of total tocopherols and sterols of *Quercus* fruits were determined. The amount of total phenolics compounds and their antioxidant activity were also evaluated.

The results indicate that the oils are low in fat, and the predominant fatty acids in fat were: oleic acid (65.27%), linoleic (16.17%) and (12.6%).

The total amount of tocopherols and total sterols is dependent on the polarity of the solvent.

The results showed that *Quercus* fruits are rich in phenols and have an important antioxidant activity compared to vitamin C.

Keywords : *Quercus* fruits, fatty acids , tocopherols , stérols, phenols, antioxidant activity.

تقدير كمية الدهون
وتقييمها
تبيد فقيرة من الدهون
(16.17) بالميتيك (12.6).
ية التوكوفيرولات و الستيرولات الكلية للدهون
كما اظهرت ج ان ثمار البلوط غنية بالفينولات
الكلمات المفتاحية :
الدهنية- التوكوفيرولات- الستيرولات- الفينولات- الفعالية ال-
الدهنية و كمية التوكوفيرولات و الستيرولات الكلية لثمار البلوط
تقدير كمية الفينولا
وتقييمها
تبيد فقيرة من الدهون
(16.17) بالميتيك (12.6).
ية التوكوفيرولات و الستيرولات الكلية للدهون
كما اظهرت ج ان ثمار البلوط غنية بالفينولات
الكلمات المفتاحية :
الدهنية- التوكوفيرولات- الستيرولات- الفينولات- الفعالية ال-
الدهنية و كمية التوكوفيرولات و الستيرولات الكلية لثمار البلوط
تقدير كمية الفينولا
وتقييمها
تبيد فقيرة من الدهون
(16.17) بالميتيك (12.6).
ية التوكوفيرولات و الستيرولات الكلية للدهون
كما اظهرت ج ان ثمار البلوط غنية بالفينولات
الكلمات المفتاحية :
الدهنية- التوكوفيرولات- الستيرولات- الفينولات- الفعالية ال-