

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA
RECHERCHE SCIENTIFIQUE
جامعة عمّار تليدجي بالأغواط
UNIVERSITE AMAR TELIDJI LAGHOUAT
كلية العلوم
FACULTE DES SCIENCES
قسم علوم المادة
DEPARTEMENT Sciences de la Matière



Mémoire de Master

Domaine : Sciences de la matière

Filière : Chimie

Option : Chimie Organique Appliquée

Par :

TEGGAR Naoual.

BEN AISSA Fatima Zohra.

THEME

Détermination par la méthode de surface de réponse les conditions optimales sur l'extraction de l'albumine des fruits de Pistachier de l'Atlas et leur activité antiradicalaire.

Soutenu publiquement devant le jury composé de :

Présidente :	Mme. HAMIA Chahrazed	MCB	UATL
Examinatrice :	Mme. HADBAOUI Zineb	MCB	UATL
Examinatrice :	Mme. AOUISSI Hadjer	MCB	ENSL
Encadreur :	Mr. YOUSFI Mohammed	Professeur	UATL

Année Universitaire : 2018- 2019

Remerciements

*T*out d'abord nous remercions le Dieu, notre créateur d'avoir donné à l'homme les pouvoirs mentaux d'exploiter les vérités de l'univers.

*N*ous adressons nos plus sincères remerciements à nos deux encadreurs **Mr M. YOUSFI** et **Mr Z. BEN-AHMED** du Département des Sciences de la Matière à l'Université Ammar Teligi-Laghout, qui ont dirigé et orienté du début pour la réalisation ce travail avec patience et leurs judicieux conseils. Vous êtes des exemples à suivre. Merci

*N*ous remercions également **Mlle F. Hfaeid** pour sa précieuse aide et sa gentillesse.

*N*otre vif remerciement à tous les membres du jury pour avoir accepté de lire et d'évaluer ce travail **Mme C. HAMIA** comme présidente du jury et **Mmes Z. HADBAOUI** et **H. AOUISSI** d'avoir accepté de faire partie du jury de notre mémoire.

*N*ous tenons à saisir cette occasion et adresser nos profonds remerciements aux responsables et au personnel du département sciences de matière. pour la richesse et la qualité de leur enseignement et qui déploient de grands efforts pour assurer à leurs étudiants une formation actualisée.

*E*nfin, nous remercions chaleureusement nos familles et les collègues, et à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à accomplir ce modeste travail.



Dédicaces

Je dédie ce modeste travail à :

À mes très chers parents

À ma précieuse SARAH

À mes chers frères : YAHIA, ISMAIL et ISHAK.

À toute ma famille pour leur soutien tout au long de mon parcours universitaire.

À mes très chères amies, surtout ROFIDA, HADDA, KHADIJA, Karima & ZOULIKHA pour les beaux moments et les souvenirs précieux.

À mon Binôme Fatima qui a partagé avec moi les moments difficiles de ce travail.

Sans oublier mes collègues du Département SM

Je vous souhaite à tous mes meilleurs vœux de bonheur et de succès.

-Nawel





Dédicaces

À l'aide de Dieu tout puissant, qui m'a tracé le chemin de ma vie,

J'ai pu réaliser ce travail que je dédie :

À la lumière de mes yeux, l'ombre de mes pas et le bonheur de ma vie

ma

*mère Fatima qui ma apporté son appui durant toutes ces années
d'étude, pour son*

sacrifice et soutien qui m'ont donné confiance, courage et sécurité.

À mon cher père qui ma appris le sens de la persévérance tout au long

de

mes études, pour son sacrifice, ses conseils et ses encouragements.

À ma grand-mère Yamina , et A toute ma famille :Hasna ,Chikha,

Assia, lila ,spécialement à ma chère tante Zineb.

À mes très chères frères : Abd rahmane, Othmane

À toute ma famille,

*À mes amies avec lesquelles j'ai vécu avec elles des beaux moments au
cours de mon cursus à l'université : Samira, Naoual, Imane et Zineb.*

Fatima zohra



Sommaire

Liste des abréviations	IV
Liste des figures	V
Liste des tableaux	VII
Introduction	1
I. Partie I: Synthèse bibliographique	4
I.1 Le Pistachier de l'Atlas	4
I.2 Généralités	4
I.3 Description botanique	4
I.3.1 La tige (tronc).....	4
I.3.2 Les feuilles	5
I.3.3 Les fleurs	6
I.3.4 L'inflorescence.....	6
I.3.5 Les fruits.....	6
I.4 Classification	7
I.5 Distribution du Pistachier de l'Atlas	7
I.5.1 Dans le monde :.....	7
I.5.2 En Algérie :	8
I.6 Les études Antérieures de <i>Pistacia atlantica</i>	8
I.6.1 Applications en médecine traditionnelle	8
I.6.2 La Phytochimie du Pistachier de l'Atlas :.....	9
I.7 Les Protéines	10
I.7.1 Définition	10
I.7.2 Les acides aminés.....	10

I.7.3	La liaison peptidique	10
I.7.4	Structure des protéines	11
I.7.5	Propriétés des protéines.....	11
I.7.6	Fonctions biologiques des protéines	12
I.8	L'albumine.....	12
I.8.1	Généralités.....	12
I.8.2	Structure biochimique de l'albumine.....	12
I.8.3	Les acides aminés formant l'albumine.....	13
I.8.4	Les propriétés de l'albumine	13
I.9	Méthodes d'extraction des molécules bioactives végétales.....	14
I.9.1	Principe :	14
I.9.2	Méthodes d'extraction solide-liquide.....	14
I.10	Stress oxydant et radicale libre	15
□	Antioxydants	16
I.11	Plans d'expériences.....	16
I.11.1	Définition.....	16
I.11.2	Outils et quelques notions préliminaires	16
I.11.3	Plans de surfaces et de réponse (MSR)	18
II.	Partie II : Expérimentale	23
II.1	Matériel et méthodes	23
II.1.1	Matériel végétale	23
II.2	Méthode d'analyse	25
II.2.1	Extraction d'Albumine	25
II.2.2	Le dosage d'albumine.....	25
II.2.3	Evaluation de l'activité antiradicalaire	28
II.2.4	Optimisation des conditions d'extraction.....	31

II.2.5	Application du plan d'expérience.....	32
II.2.6	Dosage de l'albumine et l'évaluation de capacité antiradicalaire dans les différents échantillons:	33
II.3	Résultats et Discussion.....	34
II.3.1	Extraction d'albumine par ultrason	34
II.3.2	Etudes préliminaires	34
II.3.3	Optimisation des conditions d'extraction des albumines.....	37
II.3.4	Validation du modèle	37
II.3.5	Modèle mathématique	39
II.3.6	Effet des facteurs (coefficients).....	39
II.3.7	Analyse des surfaces de réponse	41
II.3.8	Paramètres optimaux	44
II.3.9	Test d'évaluation de la capacité antiradicalaire	44
II.3.10	Dosage de l'albumine et l'évaluation de la capacité antiradicalaire dans les différents échantillons	48
II.4	Conclusion générale.....	51
II.5	Références bibliographiques	53
II.6	Résumé.....	59

Liste des abréviations

A: Absorbance

DPPH': le 2,2-diphényl-1-picryl-hydrazyl (DPPH').

EA: Equivalent Albumine

ERO: Les espèces réactives de l'oxygène.

MSR: méthodologie de surface de réponse.

P. atlantica: *Pistacia atlantica*.

PBB: Plan de Box-Behenken.

P: probabilité

R²: Le coefficient de détermination.

R² ajusté: Le coefficient de détermination ajusté.

VCEAC: La capacité antioxydante en équivalent de vitamine C

X: Facteur.

Y: La réponse.

SA : Solution A.

SB : Solution B.

EAU: Extraction Assistée par Ultrasons.

Alb : Albumine

Liste des figures

Figure I-1: Tronc du Pistachier de l'Atlas.	5
Figure I-2: Feuilles du <i>P. atlantica</i>	6
Figure I-3: Fleurs de <i>P. atlantica</i> , a) Mâle, b) Femelle.	6
Figure I-4: Fruits du <i>P. atlantica</i>	7
Figure I-5: Distribution de <i>P. atlantica</i> en Algérie.	8
Figure I-6: Formation d'une liaison peptidique.	10
Figure I-7: Structure tridimensionnelle de l'albumine avec ses 3 domaines et ses ponts disulfures.	13
Figure I-8: Génération des bulles de cavitation par l'action des ultrasons.	15
Figure I-9: Représentation graphiques des axes présentant les facteurs et l'espace expérimental.	17
Figure I-10: Représentation graphique d'un domaine du facteur .	17
Figure I-11: Représentation d'un point expérimental.	18
Figure I-12: Représentation de domaine d'étude.	18
Figure I-13: L'ensemble des réponses qui correspond à tous les points du domaine d'étude forme la surface de réponse.	19
Figure I-14: Le plan PBB pour trois facteurs.	20
Figure II-1: Carte de la zone d'étude.	23
Figure II-2: Les échantillons (Fruits de Pistachier de l'Atlas).	24
Figure II-3: Complexe de Biuret.	26
Figure II-4: La courbe d'étalonnage de l'albumine (Biuret).	27
Figure II-5: La courbe d'étalonnage (Lowry)	28
Figure II-6: Courbes cinétiques de la variation de l'absorbance en fonction du temps dans le test du DPPH.	29
Figure II-7: Réduction du radical libre DPPH.	29
Figure II-8: La courbe d'étalonnage de la vitamine C (g/L)	30
Figure II-9: La courbe d'étalonnage de la vitamine C (μM)	31
Figure II-10: Effet du temps sur l'extraction de l'albumine de fruit de <i>P. atlantica</i>	35
Figure II-11: Effet de température sur l'extraction de l'albumine de fruit de <i>P. atlantica</i> .	36
Figure II-12: Effet du rapport (solide-liquide) sur la teneur d'albumine.	37
Figure II-13: Graphique des valeurs observées (A) Biuret et (B) Lowry en fonction des valeurs prévues.	38

- Figure II-14:**Surface de réponse pour les effets temps/température (A), temps/rapport (B) et température/rapport (C) sur le rendement des albumines des fruits du *P.atlantica*. 43
- Figure II-15:**Graphique des valeurs observées DPPH en fonction des valeurs prévues. 45
- Figure II-16:**Surface de réponse pour les effets temps/température (A'), temps/rapport (B') et température/rapport (C') sur la capacité antiradicalaire des fruits du *P.atlantica*. 47

Liste des tableaux

Tableau I-1: Classification botanique de <i>Pistacia atlantica</i> Desf	7
Tableau I-2: Composés chimiques isolés de <i>Pistacia atlantica</i> Desf.....	9
Tableau I-3: Méthodes d'extraction solide-liquide.....	14
Tableau I-4: Les avantages et les inconvénients de l'ultrason.....	15
Tableau I-5: La matrice expérimentale du plan de Box-Behnken pour 3 facteurs	19
Tableau II-1: Différents niveaux des paramètres choisis pour l'optimisation.....	32
Tableau II-2: La matrice expérimentale de Box-Behnken pour trois facteurs (X1, X2 et X3) et leurs réponses des teneurs d'albumine et le VCEAC.....	33
Tableau II-3: L'analyse de la variance des modèles polynomiaux de second ordre.....	39
Tableau II-4: Coefficients de régression et leurs significations statistiques.....	40
Tableau II-5 : Conditions optimales d'extraction des albumines par ultrason	44
Tableau II-6: Coefficients de régression et leurs significations statistiques.....	45
Tableau II-7: Conditions optimales de la capacité antiradicalaire par DPPH par ultrason	48
Tableau II-8: La teneur, Concentration et l'activité de différents échantillons.....	49
Tableau II-9: Coefficients de corrélations de fruits de Pistachier de l'Atlas mature	50
Tableau II-10: Coefficients de corrélations de fruits de Pistachier de l'Atlas immature	50
Tableau II-11: Teneur en albumine de quelques céréales, graines oléagineuses et les fruits de Pistachier de l'Atlas	51

INTRODUCTION GENERALE

Introduction générale

La relation végétale est ancienne, nécessaire à l'homme pour survivre pour subvenir à ses besoins médicaux et alimentaires. Historiquement, les humains ont utilisé 3000 espèces de plantes pour se nourrir, mais la majeure partie de la population mondiale dépend d'une vingtaine de cultures différentes; sachant que les plantes fournissent 65% de l'offre mondiale de protéines comestibles **(1)**.

De tous les temps, les besoins en protéines sont énormes et les protéines végétales sont de plus en plus demandées. Le déficit mondial en protéines est chiffré en millions de tonnes. Il devient intéressant d'améliorer et d'intensifier les sources actuelles **(2)**, d'autre part le monde a vu un débordement d'information sur le stress oxydatif dans le déclenchement de certaines maladies graves (cancers, maladie cardio-vasculaire...etc.) **(3)**.

Les plantes sont des réservoirs de molécules bioactives encore peu explorées. L'étude de l'extractibilité des protéines des tourteaux de Pistachier de l'Atlas pourrait probablement contribuer à satisfaire les besoins en protéines rendus croissants par l'expansion de la population locale, et d'autre part peuvent être une nouvelle ressources d'antioxydants.

Les métabolites dans les végétaux peuvent sensiblement varier, quantitativement et qualitativement en fonction des différents facteurs; physiologiques (le développement d'organes, cycle d'activité des pollinisateurs, type de matériel végétal, variation saisonnière, et blessures mécaniques ou chimiques), environnementales (climat, pollution, maladies et ravageurs et facteurs édaphiques), variation géographique, facteurs génétiques et l'évolution **(4)**.

La procédure d'extraction des protéines à partir des tissus végétaux est influencée par plusieurs paramètres tels que: pH, le temps, le rapport solvant / biomasse (concentration de biomasse) et la température. Une température élevée provoque la dénaturation des protéines et augmente également l'apport d'énergie pour l'ensemble du processus; par conséquent, le traitement thermique est indésirable dans les processus d'isolement des protéines **(5)**.

En fonction de l'intensité de ces grandeurs, il n'est pas recommandé d'utiliser un protocole universel mais il est préférable d'optimiser des procédures utilisant des techniques statistiques multivariées **(6)**.

Parmi les techniques les plus utilisées en optimisation analytique est la méthodologie de surface de réponse (MSR), il peut être bien appliqué lorsqu'une réponse ou un ensemble de

réponses d'intérêt est influencé par plusieurs variables. Le but est d'optimiser simultanément les niveaux de ces variables pour obtenir les meilleures performances du système (6).

L'objectif du présent travail consiste à optimiser les conditions d'extraction des albumines à partir des tourteaux des fruits de *Pistacia atlantica* par la technique ultrason (EAU) en utilisant des plans d'expériences permettant la modélisation mathématique pour obtenir les valeurs optimales de ces conditions afin de maximiser le rendement des teneurs en albumines et l'activités antiradicalaires et minimiser le nombre des essais sans toutefois sacrifier la qualité. Si les fruits du Pistachier de l'Atlas ont été l'objet de plusieurs études par la détermination de la composition en acides gras, en triglycérides, en stérols et en tocophérols (7)-(8)-(9). A notre connaissance aucune étude n'a été entreprise sur les protéines des tourteaux de ces fruits. Donc il nous a parus intéressant de déterminer pour la première fois la quantité de l'albumine dans les tourteaux des fruits.

Le plan adopté pour explorer cet objectif est subdivisé en deux parties :

- La première partie concerne tout d'abord une synthèse bibliographique, qui comporte la description de la plante, la méthode d'extraction, des données sur le stress oxydatif, les protéines et notions des plans d'expériences.
- La deuxième partie de ce travail est consacrée à l'étude expérimentale de l'ensemble des techniques et méthodes d'optimisation, l'extraction et le dosage d'albumine à partir des fruits du Pistachier de l'Atlas, ainsi que l'évaluation de l'activité antiradicalaire des extraits albumines. En outre une sous partie contient des résultats et discussion obtenus au cours de l'optimisation de l'extraction en utilisant la méthode de surface de réponse (MSR) développée par le plan de Box-Behnenken (PBB), et la comparaison de l'effet du climat et de la maturité sur l'extraction et l'activité antiradicalaire.

PARTIE I :

SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

I. Partie I: Synthèse bibliographique

I.1 Le Pistachier de l'Atlas

Le Pistachier est originaire d'Asie Centrale. Présent en Turquie depuis 7000 ans avant J. C, et en Italie dès le premier siècle avant J. C. et par la suite, sa culture s'est étendue aux autres pays méditerranéens et aux *USA* en 1854 (10).

Jusqu'à présent, la plus complète taxonomie étudiée a été faite par (D.ZOHARY en1952) (11), qui comprenait 11 espèces du genre *Pistacia* à savoir:

P. terebinthus, *P. palaestina*, *P. khinjik*, *P. chinensis subsp Integerrima*, *P. vera*, *P. chinensis*, *P. mexicana*, *P. texana*, *P. weinmannifolia*, *P. lentiscus*, *P. lentiscus vat emarginata*, *P. weinmannifolia* et *P. atlantica*.

I.2 Généralités

Le mot de « *bétoum* » est un substantif arabe collectif dont le singulier est *botma*, *betouma* ou *btouma* ou encore *boutmaia* (en Afrique du Nord) et *boutmela* au Proche-Orient.

Le nom botanique de l'espèce est «*Pistacia atlantica* Desf», ou «Pistachier de l'Atlas» (12), «*Iggh*» en langue berbère , «*Mt. Atlas mastic tree* »en anglais, également appelé Pistache sauvage ou faux pistachier. Il existe aussi d'autres appellations comme «*btem*, *igg*, *ijj* et *atnu*» (13, 14).

Cet arbre présente une silhouette impressionnante à l'âge adulte. Son feuillage, serré, se développe dans des stations au plus faible indice d'évapotranspiration. Cette résistance à la sécheresse pourrait être son caractère principal, le Pistachier de l'Atlas est un arbre de climat naturel (12).

I.3 Description botanique

C'est une espèce dioïque, ligneuse et spontanée de hauteur pouvant atteindre 20m de long dans les conditions favorables, d'un diamètre de 1 mètre, l'arbre possède un tronc individualisé et à frondaison hémisphérique, le rameau jeune est rougeâtre à feuillage caduc, composé, imparipenné (7 à 9 folioles ovales acuminées, tomenteuses puis coriaces à l'âge adulte) (15).

I.3.1 La tige (tronc)

-Le port de l'arbre : Il est robuste et arrondi à ramification étalée; jeune, le rameau est rougeâtre. Sa croissance est lente et il ne peut produire qu'à partir de 5-7 ans (16), (Figure I-1).



Station de Bou Yala (Béni-ouanf), 19 Avril 2008 (Cliché Benaradj A.)

Figure I-1:Tronc du Pistachier de l'Atlas.

-**L'écorce** : est lisse à l'âge jeune et squameuse à un âge très avancé. Elle est d'abord rouge puis grisâtre assez claire avant de devenir dure, crevassée et noirâtre (16).

-**Le bois**: Monjauze (1980) décrit le bois du *P. atlantica* comme un bois lourd, peu résilient et de bonne conservation (16).

I.3.2 Les feuilles

Elles sont composées, stipulées, à rachis finement ailé et à folioles lancéolées obtuses au sommet(17), les feuilles sont caduques et chutent en automne, elles sont de couleur vertes pâle et sont imparipennées, glabres et sessiles (18), (Figure I-2).



Figure I-2: Feuilles du *P. atlantica*

I.3.3 Les fleurs

Les fleurs mâles en inflorescence terminales, à calice de 3-5 sépales pubescents, 5-7 étamines à filaments très courts fleurs femelles en grappes paniculées, à calice très petit. Ovaire supère, uniloculaire, surmonté de 3 styles pourpres (13), (Figure I-3).



Figure I-3: Fleurs de *P. atlantica*, a) Mâle, b) Femelle.

I.3.4 L'inflorescence

Le Pistachier de l'Atlas a une inflorescence en grappe rameuse. La floraison qui apparaît juste avant la feuillaison débute la mi-mars (18).

I.3.5 Les fruits

Les fruits appelés « EL khodiri » par les populations locales en raison de la prédominance de la couleur verte foncée à la maturité. La fructification débute vers la fin du mois de Mars et les

fruits atteignent leur maturité au mois de Septembre. Ce sont des drupes (ne dépassant pas le centimètre) légèrement ovales quelque fois allongés à épiderme qui se ride en séchant sur un endocarpe induré mais très mince abritant deux cotylédons, riches en huile dense très énergétique (12), (Figure I-4).



Figure I-4: Fruits du *P. atlantica*.

I.4 Classification

La classification botanique de Pistachier de l'Atlas est dans le tableau (I-1).

Tableau I-1: Classification botanique de *Pistacia atlantica* Desf (18).

Règne	Plante
Embranchement	<i>Tracheobionta</i>
Super-division	<i>Spermatophyta</i>
Division	<i>Magnoliophyta</i>
Classe	<i>Magnoliopsida</i>
Sous-classe	<i>Rosidae</i>
Ordre	<i>Sapindales</i>
Famille	<i>Anacardiaceae</i>
Genre	<i>Pistacia</i>
Espèce	<i>Pistacia atlantica</i>

I.5 Distribution du Pistachier de l'Atlas

I.5.1 Dans le monde :

Au sud de la méditerranée et dans Moyen-Orient, elle est répandue depuis les Canaries (Gomera, teneriffe,) jusqu'au Pamir, en passant :

-Par l'Afrique du nord, le Sahara septentrional et Tripolitaine, avec relique au Hoggar.

-Par Chypre, Chio, Rhodes, la Grèce, la Turquie, la Bulgarie, la Crimée, le Caucase, la Transcaucasie et l'Arménie.

-Par la Palestine, la Syrie, la Transjordanie, l'Iraq et l'Iran.

-Par l'Arabie, le Baloutchistan et l'Afghanistan.

Le type de l'espèce (selon ZOHARY) est d'habitat occidental. On le rencontre depuis les Atlantide jusqu'à la Syrie en passant par les trois pays d'Afrique du Nord (19).

I.5.2 En Algérie :

Dans les forêts chaudes du Tell méridional mais surtout dans la région steppodésertique des hauts plateaux et du Sahara septentrional. On le rencontre parfois en montagne dans l'Atlas saharien (région *Ain Sefra*) et sur les hauts plateaux oranais. Le *Bétoum* est un arbre par excellence du dayas du piedmont méridional de l'Atlas saharien, sa limite extrême se trouve en pleine cœur du Hoggar où il existe à l'état de relique (12). Il se trouve surtout dans la zone de transition entre la steppe et le Tell (Figure I-5).

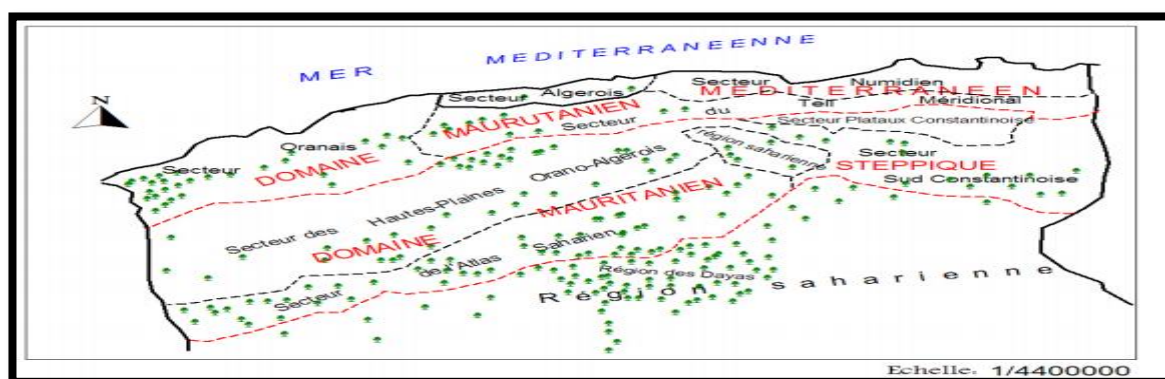


Figure I-5: Distribution de *P. atlantica* en Algérie(19).

I.6 Les études Antérieures de *Pistacia atlantica*

I.6.1 Applications en médecine traditionnelle

Les différentes parties de l'arbre du Pistachier de l'Atlas ont été largement utilisées par la population locale à des utilisations médicinales traditionnelles pour le traitement de plusieurs maladies, on peut citer les applications suivantes (14):

-Effets gastro-intestinaux.

-Effets hépatiques et spléniques.

-Effets neurologiques.

-Usages du cœur et psychologiques.

-Avantages respiratoires.

-Bienfaits dermatologiques.

I.6.2 La Phytochimie du Pistachier de l'Atlas :

Beaucoup d'études ont été menées sur la valorisation phytochimique de l'arbre du Pistachier de l'Atlas, ces études ont été réalisées sur la composition chimique des extraits de leurs fruits, les gales, les feuilles et les champignons. Les études ont été focalisées sur la composition chimique en acides gras, en stérols et en tocophérols des fruits, les huiles essentielles des feuilles et des gales, les composés phénoliques des feuilles et des fruits. De même les activités antioxydantes et biologiques de plusieurs extraits des différentes parties de l'arbre ont été aussi évaluées, le tableau (I-2) résume quelques études (14),(20).

Tableau I-2: Composés chimiques isolés de *Pistacia atlantica* Desf.

Le composé	Partie de plante
Terpénoïdes : Monoterpénoïdes, sesquiterpénoïdes, Triterpénoïdes et les huiles volatiles. exemple: (α -pinène, limonène, Terpinolène, Terpinène-4-ol, sabinène..)	Les fruits, feuilles, fleurs, résines et des gales.
Les composés phénoliques: -Acide gallique. -Flavonoïdes (quercétine-3-glucoside, 3-méthoxy-carpachromène.	Les parties aériennes ; les feuilles, les fruits et les tiges.
Acides gras : -Acide oléique. -et autre telques : linoléique, palmitique, palmitoléique, stéarique, myristique. Stérols : -stigmastérol, brassicastérol et cholestérol. Aussi : les Tocophérols et les Tocotriénols .	Les fruits sont les principales sources.

I.7 Les Protéines

Les protéines ont été mises en évidence en 1838 par le chimiste hollandais Gerhard Mulder (1802-1880). Le terme protéine vient du grec *prôtos* qui signifie premier, essentiel. Ceci fait probablement référence au fait qu'elles sont indispensables à la vie et qu'elles constituent souvent la part majoritaire du poids sec des organismes (plus de 60% du poids sec de la cellule) (21).

I.7.1 Définition

Les protéines sont des macromolécules constituées d'un enchaînement d'acides aminés unis par des liaisons peptidiques (22). Il existe quatre grandes familles de protéines d'origine végétale, classées selon leur solubilité: les albumines, les globulines, les glutélines et les prolamines.

I.7.2 Les acides aminés

Les acides aminés sont des molécules que l'on a dénombrées à vingt. Ils ont tous en commun une structure formée par un groupe d'atomes dans lequel on distingue une fonction amine (NH_2) et une fonction acide carboxylique (COOH) portées par le même carbone, le tableau (Annexe1) présente les principaux acides aminés.

I.7.3 La liaison peptidique

La liaison entre deux acides aminés, appelée liaison peptidique, elle se forme par une réaction de condensation entre le groupe α -carboxyle d'un acide aminé et le groupe α -amine d'un autre acide aminé donnant lieu à une liaison amide. Il en résulte une chaîne d'acides aminés constituant des peptides ou des protéines suivant le nombre d'acides aminés impliqués (Figure I-6)(22).

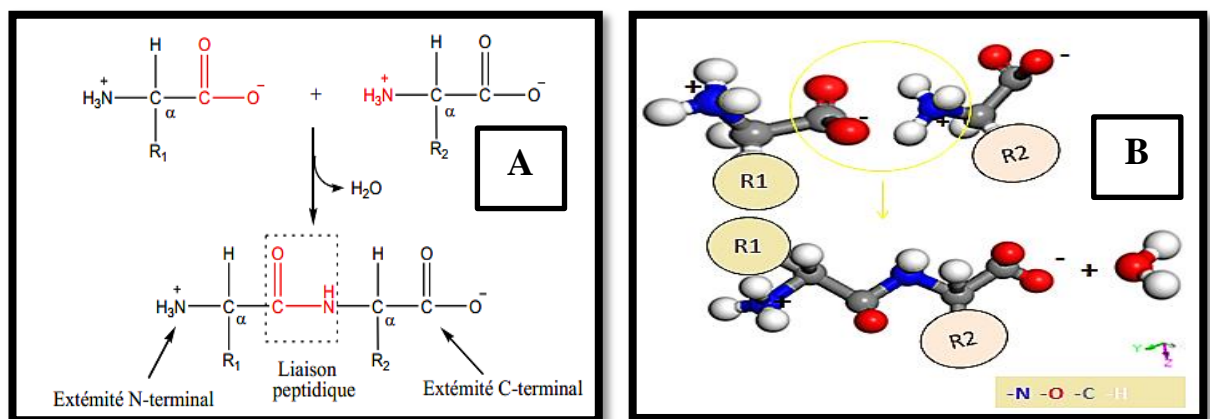


Figure I-6: Formation d'une liaison peptidique, (en 2D et 3D).

Le terme protéine désigne les chaînes polypeptidiques dont le nombre de résidus est supérieur à 100. Lorsque le nombre de résidus est inférieur à 50, on parle de peptides, entre 50 et 100, on parle indifféremment de peptides, de petites protéines ou de polypeptides. Les groupes libres situés aux extrémités opposées d'une chaîne peptidique sont appelés le groupe N terminal pour le groupe amine et le groupe C-terminal pour le groupe carboxyle (23).

I.7.4 Structure des protéines

I.7.4.1 Structure primaire

C'est la séquence linéaire des acides aminés, c'est le niveau de base de la structure des protéines, mais ce dernier ne garde jamais une forme strictement linéaire.

I.7.4.2 Structure secondaire

Elle résulte des liaisons hydrogène entre les groupements $-CO$ et $-NH$ des liaisons peptidiques d'une chaîne d'acides aminés.

I.7.4.3 Structure tertiaire

Les molécules deviennent encore plus compactes en adoptant une structure tertiaire. La structure tertiaire décrit la structure tridimensionnelle d'une protéine et se forme à la suite de distorsions de structures secondaires.

I.7.4.4 Structure quaternaire

Lorsqu'une protéine est constituée de plus d'une chaîne polypeptidique, associées par des liaisons non covalentes et dans certains cas, par des ponts disulfure par exemple : l'hémoglobine et certaines enzymes, on dit qu'elle a une structure quaternaire.

La structure primaire d'une protéine détermine une conformation spatiale unique décrite par la structure tertiaire ou quaternaire. D'une façon générale, la fonction d'une protéine dépend de sa conformation et repose sur sa capacité à interagir avec une autre molécule (23).

I.7.5 Propriétés des protéines

I.7.5.1 Solubilité :

Les protéines sont généralement insolubles dans les solvants organiques (sauf quelques alcool), donc une solubilité aqueuse, mais elle varie selon le milieu (acide, alcalin, effet de température...), et leurs facteurs sont conditionnés par la proportion des groupements polaires et leurs répartitions (24).

I.7.5.2 Propriétés des solutions protéiques:

Les protéines solubles forment avec l'eau des solutions macro moléculaires. Ces solutions présentent des propriétés différentes.

-La viscosité: les solutions protéiques sont visqueuses, leur viscosité dépend de la forme, la taille et la concentration des molécules (24).

-Propriétés optiques: Les solutions protéiques ne sont pas limpides, elles absorbent et diffusent de la lumière (25).

I.7.6 Fonctions biologiques des protéines

Chez les êtres vivants les protéines présentent une extraordinaire diversité de fonctions (26).

- **Protéines de structure :** Telles que le collagène et la kératine, qui permettent à la cellule de maintenir son organisation dans l'espace.
- **Enzymes :** Plus de 2000 décrites, activité catalytique spécifique (biocatalyseurs).
- **Hormones :** L'insuline joue un rôle dans la communication cellulaire.
- **Protéines de transport :** dans le sang (transferrine, hémoglobine, albumine) ou au travers de membranes cellulaires.
- **Protéines de réserve :** (ovalbumine, glycinine, gliadine, zéine).
- **Protéines allergènes.**

I.8 L'albumine

I.8.1 Généralités

Le terme « albumine » vient du latin *albus*: blanc, du fait de la couleur que prennent les albumines lorsqu'elles coagulent.(27)

L'albumine est une protéine plasmatique produite par le foie, l'intervalle normal de concentration en albumine dans le sang est 35 à 50 g/l, et elle représente habituellement environ 60% des protéines plasmatiques, toutes les autres protéines du plasma sont désignées collectivement sous le nom de globulines (23).

I.8.2 Structure biochimique de l'albumine

La structure de l'albumine permet d'expliquer ses fonctions multiples et son rôle dans l'organisme, cette structure est identique chez tous les individus de l'espèce humaine. Il s'agit d'une protéine de 585 acides aminés en forme de « cœur », constituée de 3 domaines homologues

divisés en 9 boucles (sous domaines) dont la stabilité est assurée par les 17 ponts disulfures, son poids moléculaire est de 66 KDa (28), (Figure I-7).

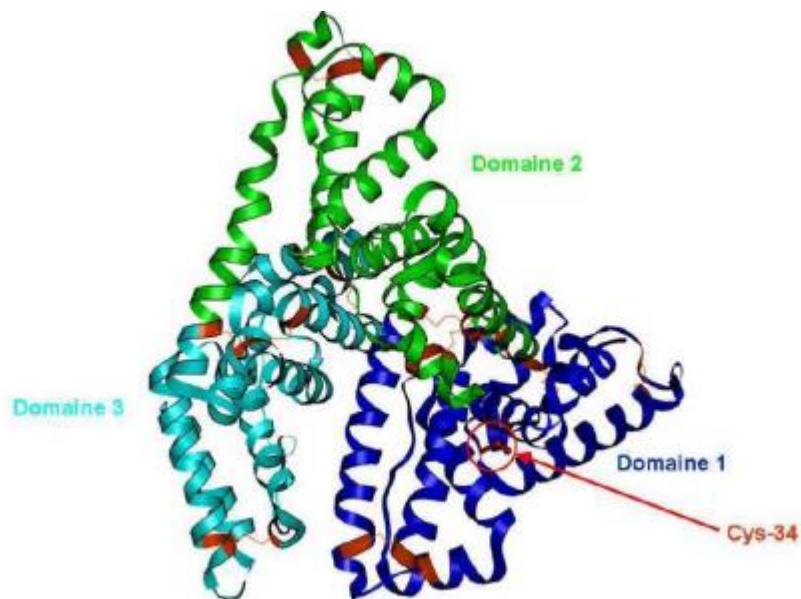


Figure I-7: Structure tridimensionnelle de l'albumine avec ses 3 domaines et ses ponts disulfures d'après (Carter et al).

I.8.3 Les acides aminés formant l'albumine

La molécule de l'albumine consiste en une seule chaîne polypeptidique et contient 585 résidus d'acides aminés qui sont :

Lysine₅₉, Histidine₁₆, Arginine₂₄, Aspartate₅₃, Thréonine₂₈, Sérine₂₄, Glutamate₈₂, Proline₂₄, Glycine₁₂, Alanine₆₂, Cystéine₃₅, Valine₄₁, Méthionine₆, Isoleucine₈, Leucine₆₁, Tyrosine₁₈, Phénylalanine₃₁, Tryptophane₁ (29).

I.8.4 Les propriétés de l'albumine

L'albumine est une composante importante du bon fonctionnement du corps humain. De ce fait, elle est douée de plusieurs propriétés, parmi ces propriétés on peut citer, la fonction de transport, propriétés anti-inflammatoires et propriétés antioxydantes .

De par sa composition en acides aminés, l'albumine possède un pouvoir antioxydant constitutionnel. En effet, l'albumine possède un groupement thiol libre sous forme réduite porté par la cystéine 34, (Figure I-7). qui par l'effet quantitatif de l'albumine dans le plasma, représente 80% des thiols plasmatiques. Le groupe thiol réduit peut capter les radicaux libres de l'oxygène, anion superoxyde, peroxyde d'hydrogène et groupe hydroxyle, ou radicaux azotés et aboutir à une oxydation massive de l'albumine détectée in vivo (30).

I.9 Méthodes d'extraction des molécules bioactives végétales

I.9.1 Principe :

L'extraction solide-liquide est une opération physique de transfert de matière entre une phase solide, qui contient la substance à extraire et une phase liquide (le solvant d'extraction) (31).

Au cours de l'extraction plusieurs étapes successives peuvent être distinguées :

- Pénétration du solvant dans la matrice solide.
- Dissolution de soluté dans le solvant.
- Diffusion de soluté vers l'extérieur de la matrice solide.
- Transfert de soluté vers le cœur de la phase liquide.

I.9.2 Méthodes d'extraction solide-liquide

Les opérations d'extraction solide-liquide regroupent plusieurs méthodes différentes, le tableau (I-3) résume quelques méthodes.

Tableau I-3:Méthodes d'extraction solide-liquide

Méthodes classiques	Méthodes alternatives d'extraction
-Macération. -Extraction Soxhlet.	-Extraction assistée par ultrasons (EAU). -Extraction assistée par micro-ondes (EAM). -Extraction par fluides supercritiques (EFS).

I.9.2.1 Extraction assistée par ultrasons

L'extraction assistée aux ultrasons a été employée avec succès pour récupérer les composés bioactifs de diverses matrices végétales dans un temps court.

Les ultrasons sont des ondes mécaniques avec la gamme de varie approximativement de 10 kilohertz à 20 mégahertz. L'utilisation de la pression dans cette technique peut mieux favoriser des effets ultrasoniques de cavitation, créant de ce fait les forces de cisaillement qui cassent les parois des cellules et produisent des bulles, Au moment où la dimension critique est atteinte les bulles implosent pendant le cycle de compression. Ce processus de compression-raréfaction des molécules du milieu et le collapse de bulles est appelé « cavitation »(Figure I-8) (32).

Ces bulles peuvent faciliter la pénétration du solvant dans la matière végétale crue ou le matériel intracellulaire pour améliorer le transfert de matière.

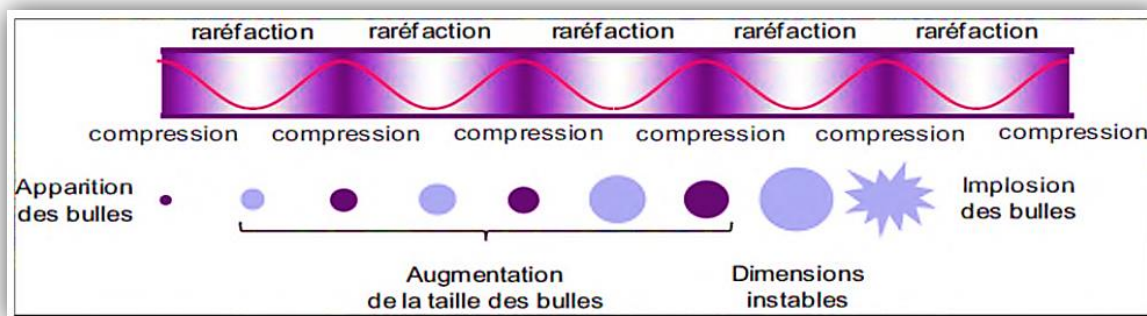


Figure I-8:Génération des bulles de cavitation par l'action des ultrasons. (Mason et al., 2000).

Cette technique présente de nombreux avantages mais aussi des inconvénients, des exemples sont cités dans le tableau (I-4).

Tableau I-4:Les avantages et les inconvénients de l'ultrason.

➤ Avantages	➤ Inconvénients
Technique de faible coût. Fort rendement d'extraction. Réduction du temps d'opération. Peut-être utilisée avec différents solvants. La réduction du volume de solvant utilisé.	Le rendement et la vitesse sont liée à la nature de la matière végétale. On ne peut pas renouveler le solvant pendant le processus d'extraction.

I.10 Stress oxydant et radicale libre

Stress oxydant, signifie une situation où la cellule ne contrôle plus la présence excessive de radicaux oxygénés toxiques, situation que les chercheurs les impliquent dans la plupart des maladies humaines. Ces radicaux libres sont des atomes ou des molécules qui possèdent un électron libre sur leur couche externe (3).

Les espèces réactives de l'oxygène (ERO) incluent les radicaux libres (RL) et des composés réactifs oxydants non radicalaires (sans électrons libres dans leur couche externe) comme le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2), l'acide hypochloreux (HOCl), l'oxygène singulet et l'ozone (O_3) (3).

- **Antioxydants**

Notre organisme est équipé de tout un système complexe de défenses antioxydants enzymatiques et non enzymatiques, localisé dans les compartiments intra- et extracellulaire.

Un antioxydant (AOX) est une substance qui inhibe ou retarde significativement l'oxydation d'un substrat, alors qu'elle présente une concentration très faible dans le milieu où elle intervient (3). Il existe plusieurs mécanismes pour lutter contre le stress oxydant:

- Le piégeage direct des ERO.

- L'inhibition des enzymes et la chélation des traces métalliques responsables de la production d'ERO.

- La protection des systèmes de défense antioxydants.

I.11 Plans d'expériences

I.11.1 Définition

Le plan d'expérience est une technique qui permet de quantifier les effets de divers facteurs sur une réponse dans des domaines expérimentaux bien déterminés dans le but de les optimisés (33).

I.11.2 Outils et quelques notions préliminaires

I.11.2.1 Facteur (X)

Sont des grandeurs supposées influencer sur les variations des réponses (34).

I.11.2.2 Réponse (Y)

Une réponse expérimentale ou variable dépendante, est une manifestation mesurable que l'on observe lorsqu'on fait varier les facteurs étudiés (35).

I.11.2.3 Erreur

Variation non expliquée d'un ensemble d'observations (35).

I.11.2.4 Espace expérimental

Est définie par un repère cartésien à deux ou plusieurs dimensions (Figure I-9), cet espace comprend tous les points du plan (facteur1 * facteur2). S'il y a un troisième facteur, il est représenté aussi par un axe orienté et gradué, et positionné perpendiculairement aux deux premiers (36).

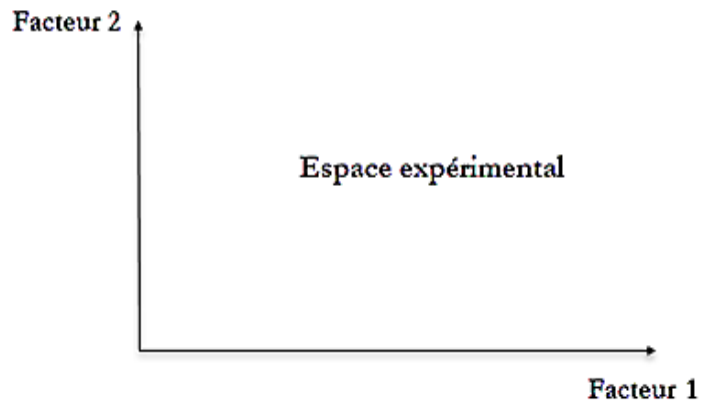


Figure I-9:Représentation graphiques des axes présentant les facteurs et l'espace expérimental (36).

I.11.2.5 Domaine du facteur

La valeur donnée à un facteur pour réaliser un essai est appelée **niveau**. Le domaine de variation du facteur est l'espace qui constitue toutes les valeurs comprises entre deux bornes; niveau bas (-1) et haut (+1) (36),(Figure I-10).

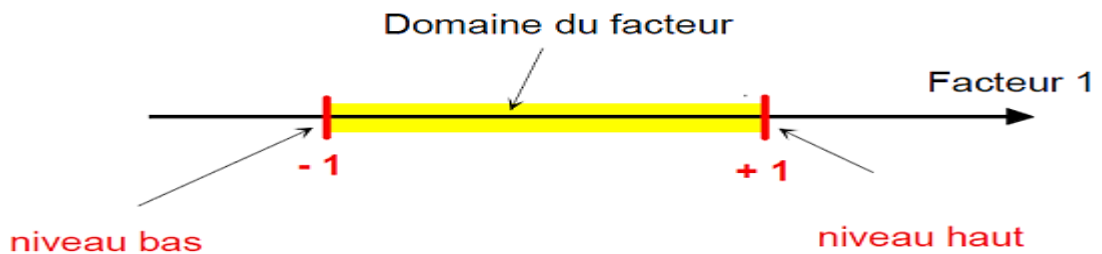


Figure I-10:Représentation graphique d'un domaine du facteur (36).

I.11.2.6 Point expérimental

L'intersection du niveau X1 du facteur 1 et le niveau X2 du facteur 2 dans un espace expérimental donne un point expérimental (37), (Figure I-11).

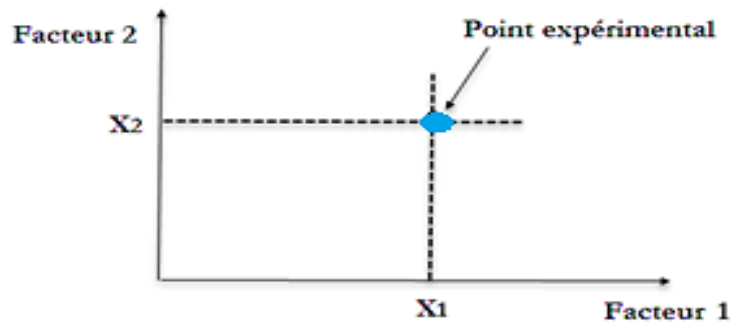


Figure I-11:Représentation d'un point expérimental (37).

I.11.2.7 Domaine d'étude

Est l'espace où tous les points expérimentaux se regroupent, ce domaine d'étude est délimité par les niveaux bas et haut de chaque facteur (35), (Figure I-12).

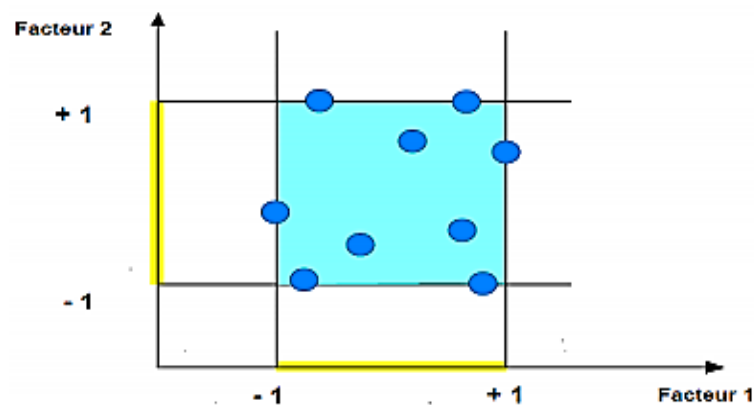


Figure I-12:Représentation de domaine d'étude (36).

I.11.3 Plans de surfaces et de réponse (MSR)

La localisation de l'ensemble des points du domaine d'étude correspond un ensemble de réponses sur une surface (Figure I-13), dans le but d'optimisation (36).

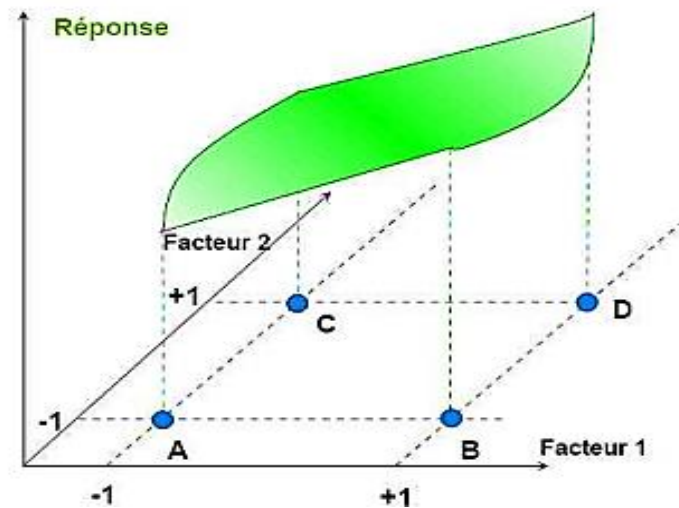


Figure I-13:L'ensemble des réponses qui correspond à tous les points du domaine d'étude forme la surface de réponse (36).

Un plan à deux facteurs utilise un espace à trois dimensions pour être représenté: une dimension pour la réponse, deux dimensions pour les facteurs.

I.11.3.1 Plans de Box-Behnken

Box et Behnken ont proposé en 1960 ces plans qui permettent d'établir directement des modèles du second degré. Tous les facteurs ont trois niveaux : -1 , 0 et $+1$. Le tableau (I-5) présente la matrice expérimentale du plan de Box-Behnken pour 3 facteurs (35).

Tableau I-5:La matrice expérimentale du plan de Box-Behnken pour 3 facteurs (37).

n° essai	Facteur1	Facteur2	Facteur3
1	0	-1	-1
2	+1	0	-1
3	0	+1	-1
4	-1	0	-1
5	-1	-1	0
6	+1	-1	0
7	+1	+1	0
8	-1	+1	0
9	-1	-1	+1
10	+1	0	+1
11	0	+1	+1
12	-1	0	+1
13	0	0	0

Le plan de Box-Behnken pour trois facteurs est construit sur un cube (Figure I-14).

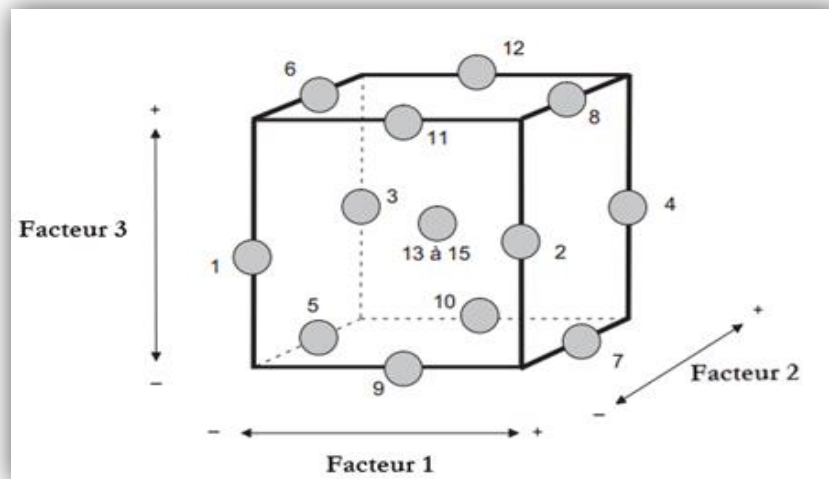


Figure I-14: Le plan PBB pour trois facteurs (36).

Les points expérimentaux du plan Box-Behnken sont représentés au milieu des arêtes de chacun des côtés d'un cube. C'est un plan qui peut comporter jusqu'à douze essais, auxquels on peut ajouter des points au centre (37).

I.11.3.2 Modèle mathématique postulé :

Sachant que la MSR est une série de techniques mathématiques se basant sur la conception expérimentale pour déterminer la portée des variables d'entrée indépendantes.

La formulation mathématique la plus générale qui relie la réponse aux facteurs est (36):

$$y = f(X_1, X_2, X_3 \dots \dots \dots X_k) \dots \dots \dots (01)$$

- f : est la fonction-réponse qui dépend des variables aléatoires Xi indépendantes.

Si la réponse doit être linéaire à l'ensemble des facteurs, la forme du modèle s'écrit comme suite (38) :

$$y = a_0 + \sum_{i=1}^n a_i X_i + \sum_{j>i} \sum_{i=1}^{n-1} a_{ij} X_i X_j \dots \dots \dots (02)$$

Mais Si l'on suppose que la réponse est une fonction plus compliquée, un polynôme d'ordre 2 (38) :

$$y = a_0 + \sum_{i=1}^n a_i X_i + \sum_{j>i} \sum_{i=1}^{n-1} a_{ij} X_i X_j + \sum_{i=1}^n a_{ii} X_i^2 \dots \dots \dots (03) :$$

OÙ :

-Y : la réponse .Elle est mesurée au cours de l'expérimentation et elle est obtenue avec une précision donnée **(36)**.

-X_i : représente le niveau du facteur i,

-X_j : représente le niveau du facteur j,

-a₀a_ia_{ij}a_{iii} sont des coefficients du modèle mathématique adopté a priori. Ils ne sont pas connus et doivent être calculés à partir des résultats des expériences **(36)**.

I.11.3.3 Le modèle de l'expérimentateur

Deux compléments doivent être apportés au modèle purement mathématique.

-Le premier complément est le « manque d'ajustement (lack of fit en anglais). Il représente l'écart entre le modèle a priori choisi par l'expérimentateur et le modèle réel qui régit le phénomène étudié **(36)**.

-Le second complément est la prise en compte de la nature aléatoire de la réponse. En mesurant plusieurs fois une réponse en un même point expérimental, les résultats seront dispersés. Cette différence est appelée erreur aléatoire ou expérimentale (pure error en anglais). Donc la formule générale **(01)** doit être modifiée ainsi **(36)** :

$$y=f(X_1,X_2,X_3.....X_k)+\Delta+\varepsilon(04)$$

Où

Δ : Le manque d'ajustement

ε : L'erreur aléatoire

PARTIE II :
EXPÉRIMENTALE

II. Partie II : Expérimentale

II.1 Matériel et méthodes

Le présent travail est divisé en deux parties :

- Evaluer les extraits des tourteaux de fruits du Pistachier de l'Atlas en terme de quantité protéiques (albumine) par deux méthode Lowry, Biuret et la capacité antiradicalaire en utilisant l'ultrason, après optimisation des conditions d'extraction par MSR, une comparaison est effectuée afin de choisir la meilleure procédure d'extraction de ces composés par rapport au taux d'extraction.
- Appliquer ces conditions optimales à différents échantillons de fruits de Pistachier de l'Atlas collectés à partir de deux régions pour étudier l'effet du climat et le degré de maturité des fruits.

II.1.1 Matériel végétale

Les échantillons ont été récoltés le 06/10/2018 et 13/09/2018 au niveau des régions d'Aflou (nord de Laghouat) et Telghimet (Sud de Laghouat) respectivement (Figure II-1).

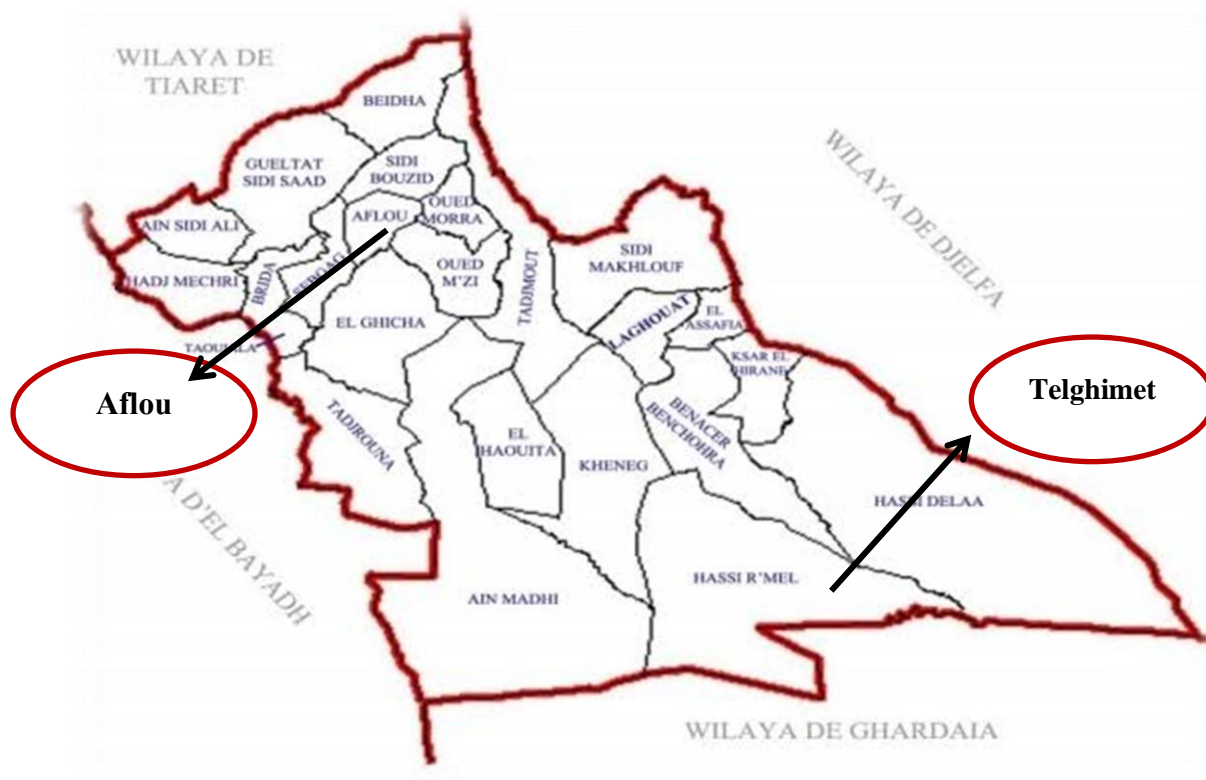


Figure II-1: Carte de la zone d'étude.

- Les coordonnées des arbres d'études de la région d'Aflou (semi-aride) sont:

Arbre 1: Latitude : 33°42'35" Nord, Longitude: 2° 01'05" Est, Altitude: 1351m.

Arbre 6: Latitude:33°59'15"Nord, longitude:2°01'45" Est, Altitude:1419m Oued.

Arbre 9: Latitude:33°59'39"Nord, longitude:2°04'49"Est, altitude:1443m Terrain Rocheux.

Arbre 8: Latitude:33°59'15" Nord, longitude: 2°01'45"Est, Altitude:1419m Oued.

Arbre 10: Latitude:33°59'18"Nord, longitude: 2°05'34"Est, Altitude: 1422m Oued.

Arbre 3:Latitude:33°58'22" Nord, longitude: 2°02'04"Est, Altitude:1456m Terrain rocheux.

- Les coordonnées des arbres d'études de la région de Telghimet (aride) sont:

Latitude : 33°09'17,84"N, longitude:3°21'16,07"E, Altitude:736m.

On distingue deux types des échantillons de fruits de Pistachier de l'Atlas selon leurs maturités.

Dans un souci de simplicité, nous avons attribué des codes aux échantillons tels que ;

R_j : Rouge jaunâtre (fruits immatures).

V_f : Vert foncé (fruits matures).

N_r : Noir rougeâtre (fruits immatures).

N : Noir (fruits matures).

La figure (II-2) montre les différents fruits de Pistachier de l'Atlas étudiés.

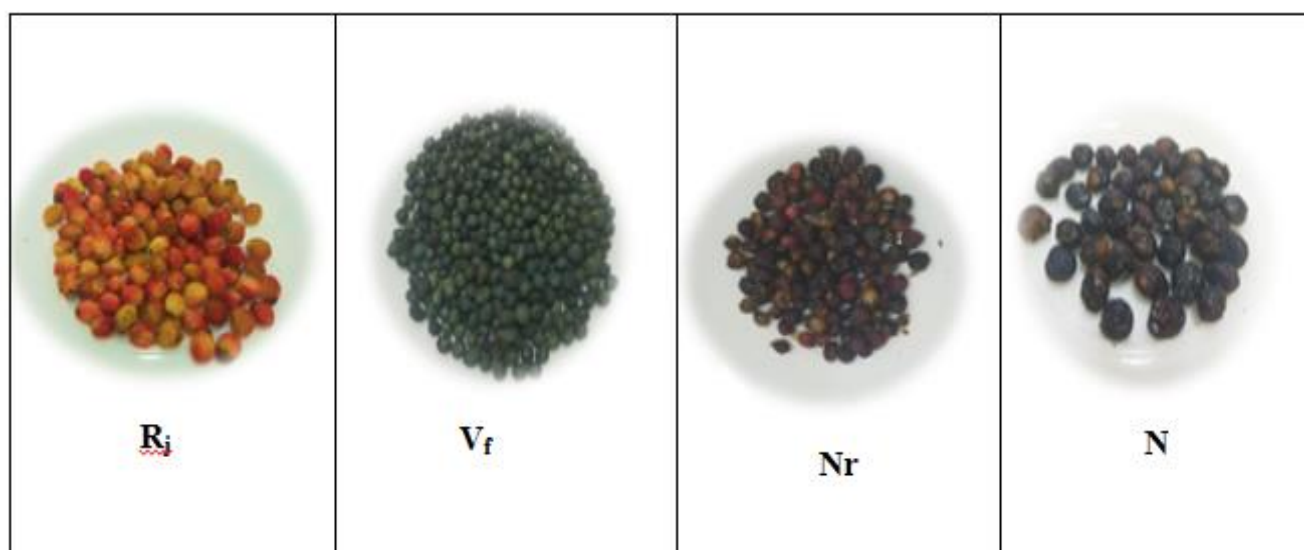


Figure II-2:Les échantillons (Fruits de Pistachier de l'Atlas).

II.2 Méthode d'analyse

II.2.1 Extraction d'Albumine

II.2.1.1 Prétraitement de fruits de Pistachier de l'Atlas

Le matériel végétal a été nettoyé, étalé sur papier. Une fois séché, les fruits ont été broyées, et conservées dans des sacs en papier jusqu'à leurs utilisation.

II.2.1.2 Délipidation

La délipidation des échantillons a été faite par la méthode d'extraction de soxhlet utilisant le dichlorométhane comme un solvant pendant 6 heures ensuite on récupère les tourteaux délipidés. Les tourteaux ont été tamisés, en utilisant un tamis de 250µm de diamètre.

II.2.1.3 Les procédures d'extraction

Notre extraction est de type solide-liquide, à partir des tourteaux délipidés des fruits de Pistachier de l'Atlas, nous avons utilisé l'ultrason comme technique d'extraction et l'eau distillée comme solvant. Aussi on utilise le papier filtre (standard à plat - Ø.250 mm) pour la séparation.

II.2.2 Le dosage d'albumine

Pour déterminer la concentration de l'albumine dans un mélange complexe par spectrophotométrie d'absorption, des méthodes colorimétriques sont souvent employées. Ces méthodes sont basées sur la réaction d'agents chromophores avec les liens peptidiques ou avec certains acides aminés des protéines.

Cette réaction donne lieu à une coloration (dans la région visible) dont l'intensité (l'absorbance) est directement proportionnelle à la concentration de l'albumine.

Parmi les méthodes de quantification de l'albumine; deux méthodes ont été choisies : la méthode de Biuret et la méthode de Lowry.

II.2.2.1 Méthode du Biuret

- **Le réactif**

Le réactif de Gornall composé de sulfate de cuivre (coloration bleu du réactif due aux ions Cu^{2+}), hydroxyde de sodium et le tartrate double de sodium et potassium qui chélate les ions de Cu^{2+} pour éviter leur précipitations, en milieu très alcalin d'hydroxyde de cuivre insoluble et en présence de l'iodure de potassium pour éviter la réduction du cuivre. Le réactif de Gornall est préparé comme suit : On mélange 1,5 g de sulfate de cuivre avec 6 g de tartrate double de

sodium et potassium et 1 g d'iodure de potassium et 15 g d'hydroxyde de sodium, le tout est solubilisé dans 1 litre d'eau distillée.

- **Le principe**

Sous l'action d'une solution alcaline forte de sulfate de cuivre, l'albumine donne un complexe coloré bleu à violet pourpre (Figure II-3). Cette réaction, dite du Biuret.

Cette méthode a été développée par (Gornall et al 1949) qui ont appliqué la réaction du Biuret à cause de sa simplicité, et la rapidité, et relativement spécifique de la liaison peptidique qui forme avec le réactif de Gornall un complexe stable de coloration violette qui absorbe de la lumière visible à 540nm (39).

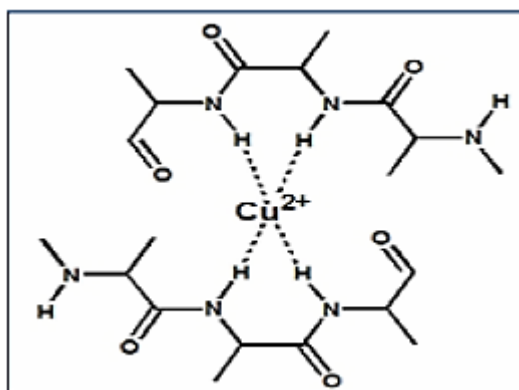


Figure II-3:Complexe de Biuret.

- **Le protocole**

À partir d'une solution mère d'albumine d'œuf de concentration 15g/L préparée dans une solution de NaCl 0,5M, nous avons préparé des solutions filles à des concentrations bien connues. À une quantité de 1 mL de chaque solution on ajoute 3 mL de réactif de Gornall, après agitation et incubation pendant 30 min à l'obscurité, les valeurs de l'absorbance sont lues contre un blanc à l'aide d'un spectrophotomètre UV-Visible de type UV-1601(Shimadzu, Kyoto, Japon) à 540nm.

Une courbe d'étalonnage de l'albumine a été obtenue en traçant la variation de l'absorbance en fonction de la concentration (Figure II-4).

Pour le dosage de l'albumine dans les extraits, la même procédure a été suivie en remplaçant la quantité d'albumine par l'extrait. La teneur d'albumine a été calculée à partir de la courbe d'étalonnage d'albumine et exprimée en milligrammes par gramme de tourteaux équivalent en albumine (mg EA/g). Le dosage a été répété 3 fois pour calculer la moyenne.

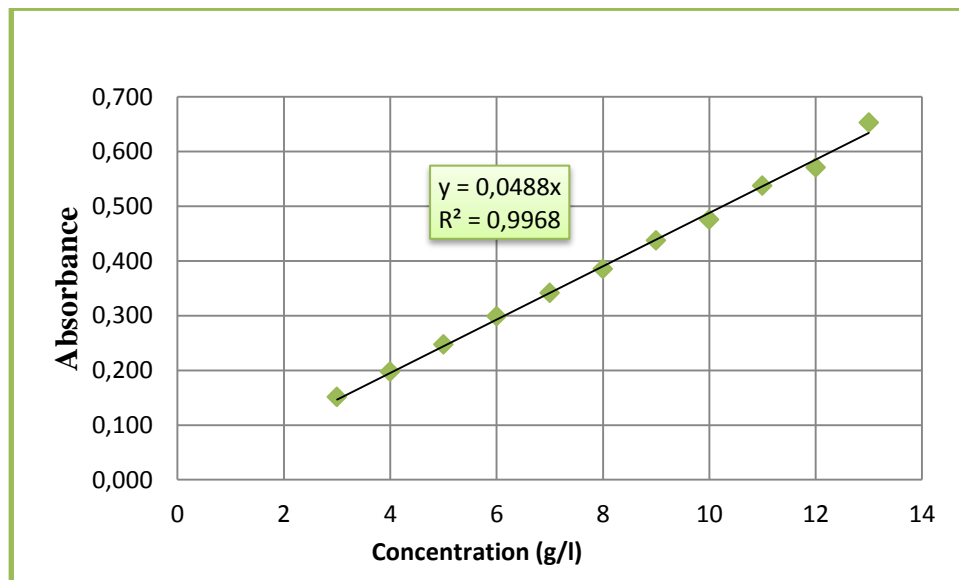


Figure II-4:La courbe d'étalonnage de l'albumine (Biuret).

II.2.2.2 Méthode de Lowry

- **Le réactif**

Le réactif de Lowry est le mélange de deux solutions (A) et (B). La solution (A) est préparée par 1g d'hydroxyde de sodium et de 5g de carbonate de sodium dans 250 mL d'eau distillée, et la solution B est le mélange de 25mg de sulfate de cuivre avec 50mg de tartrate de sodium et potassium dans 25 mL d'eau distillée.

- **Le principe**

La méthode de Lowry a été décrite pour la première fois en 1951 par Lowry et autre qui ont combiné une réaction au biuret, et une réaction de Folin-Ciocalteu. Dans cette méthode, le mélange d'acide phosphomolybdique et phosphotungstique (réactif de Folin-Ciocalteu) réagit avec le tryptophane ou phénol de la tyrosine pour donner avec les protéines un complexe bleu de molybdène dont le maximum d'absorption se situe autour de 640 nm (40).

- **Le protocole**

À partir d'une solution mère d'albumine d'œuf de concentration 2g/L préparée dans une solution de NaCl 0,5M, nous avons préparé des solutions filles à des concentrations bien connues, à une quantité 0,5ml de chaque solution et on ajoute 2,5 mL de réactif de Lowry (50mL (SA) +1mL (SB)), après agitation et incubation pendant 10 min à l'obscurité. Puis on ajoute 0,25 mL du réactif de Folin- Ciocalteu (10%) et incubation pendant 35 min à l'obscurité. Les valeurs de l'absorbance sont obtenues à l'aide d'un spectrophotomètre à une longueur d'onde de 640 nm.

Une courbe d'étalonnage a été obtenue en traçant la variation de l'absorbance en fonction de la concentration (Figure II-5).

Les extraits de fruits de Pistachier de l'Atlas sont traités de la même manière, on remplaçant le volume d'albumine par le même volume d'extraits, les teneurs d'albumine sont quantifiées à partir de la courbe d'étalonnage. Ce dosage aussi a été répété 3 fois pour calculer la moyenne.

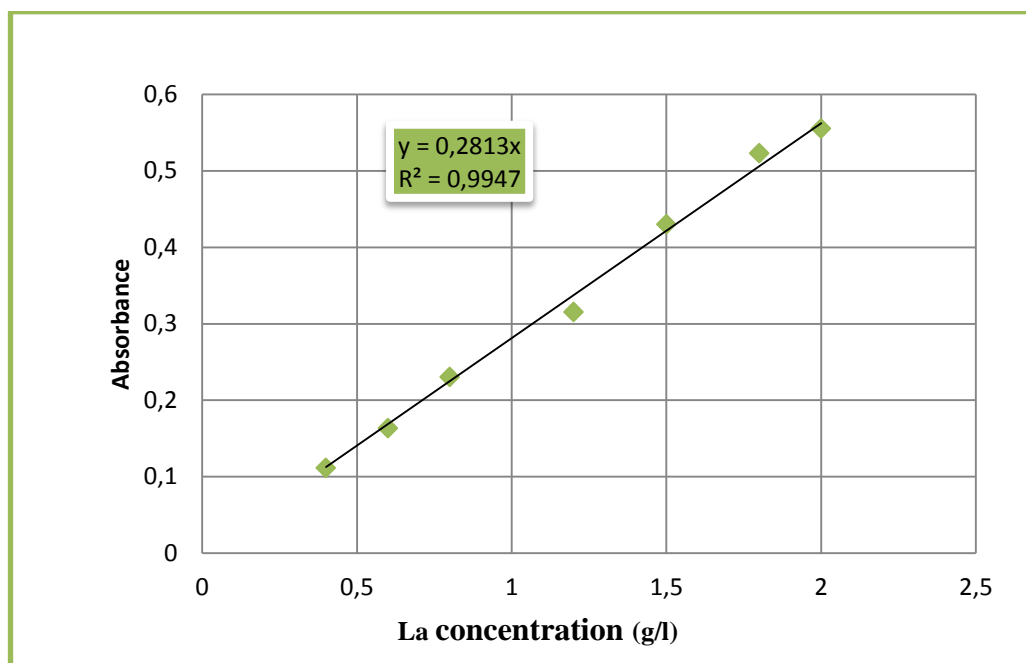


Figure II-5:La courbe d'étalonnage (Lowry)

Afin d'éviter les interférences entre les couleurs des extraits et des complexes résultant des réactions albumine et réactifs, nous avons corrigé l'absorbance de l'extrait par la soustraction selon la relation suivante : ($A_{\text{corr}} = A_{(\text{ext}+\text{reac})} - A_{\text{ext}}$) et cela pour les deux méthodes de dosage.

II.2.3 Evaluation de l'activité antiradicalaire

La capacité antiradicalaire a été exprimée en g/L en équivalent de la vitamine C.

II.2.3.1 Test DPPH

Le 2,2-diphényl-1-picryl-hydrazyl (DPPH') est un radical stable et présente une absorption spécifique à 517 nm qui confère une couleur violette. Un antioxydant aura la capacité de donner un électron singulet au radical synthétique DPPH' de coloration violette pour le stabiliser en DPPH de coloration jaune-verte (41), la réduction du radical libre DPPH' par un antioxydant peut être suivi par spectrophotométrie UV-Visible, en mesurant la diminution de l'absorbance provoquée par la présence des extraits, (Figure II-6).

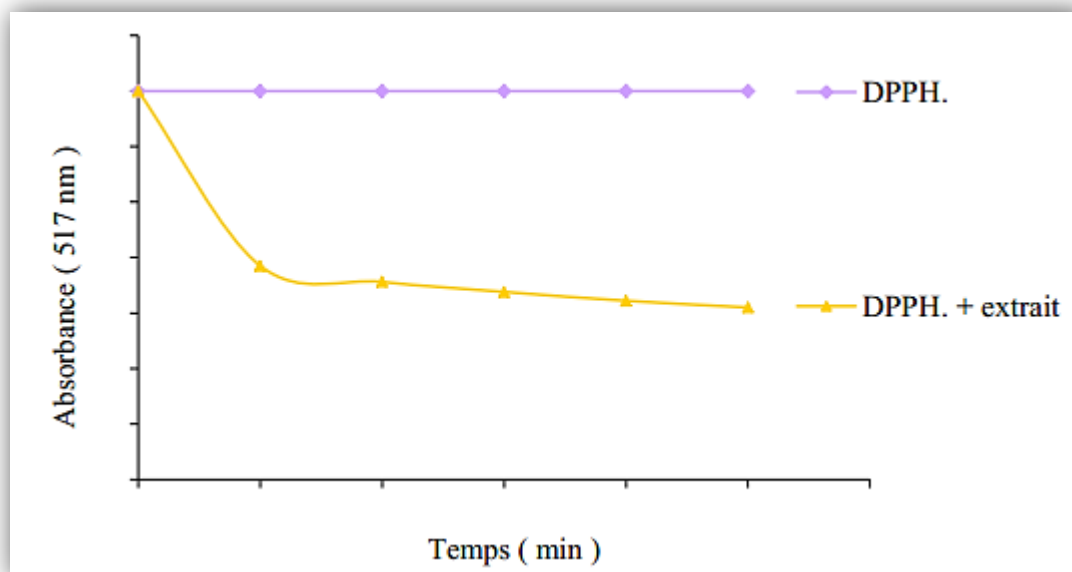


Figure II-6: Courbes cinétiques de la variation de l'absorbance en fonction du temps dans le test du DPPH.

Le DPPH[•] est initialement violet, se décolore lorsque l'électron célibataire s'apparie (Figure II-7). Cette décoloration est représentative de la capacité des extraits à piéger ces radicaux libres indépendamment de toutes activités enzymatiques. Ce test permet alors, d'obtenir des informations sur le pouvoir antiradicalaire direct de différentes substances de nos extraits. Il est donc prévu à fournir un lien avec les réactions ayant lieu dans un système d'oxydation, tel que l'autoxydation d'un lipide ou de toute autre substance insaturée.

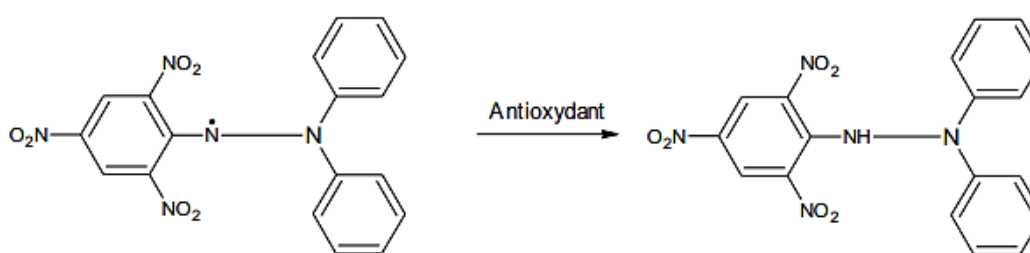


Figure II-7: Réduction du radical libre DPPH.

II.2.3.2 Protocole

1mL de chaque extrait est mélangé avec 1mL d'une solution de DPPH[•] (0,25mM) préparée dans le méthanol, on met le mélange à l'obscurité pendant 30 minutes à une température ambiante après une agitation. L'absorbance du milieu réactionnel a été mesurée à 517 nm contre un blanc. (Du et al. (2013)). L'expérience a été répétée 3 fois pour calculer la moyenne.

On prend la vitamine C comme référence d'antioxydant la figure [(II-8) et (II-9)], on le traite avec la même manière que l'extrait.

La relation d'inhibition :

$$I\% = \frac{A_0 - A_i}{A_0} \times 100$$

A₀ : Absorbance moyenne du radical seul.

A_i : Absorbance du radical libre en présence d'antioxydant après 30 minutes de contact.

I% : pourcentage d'inhibition.

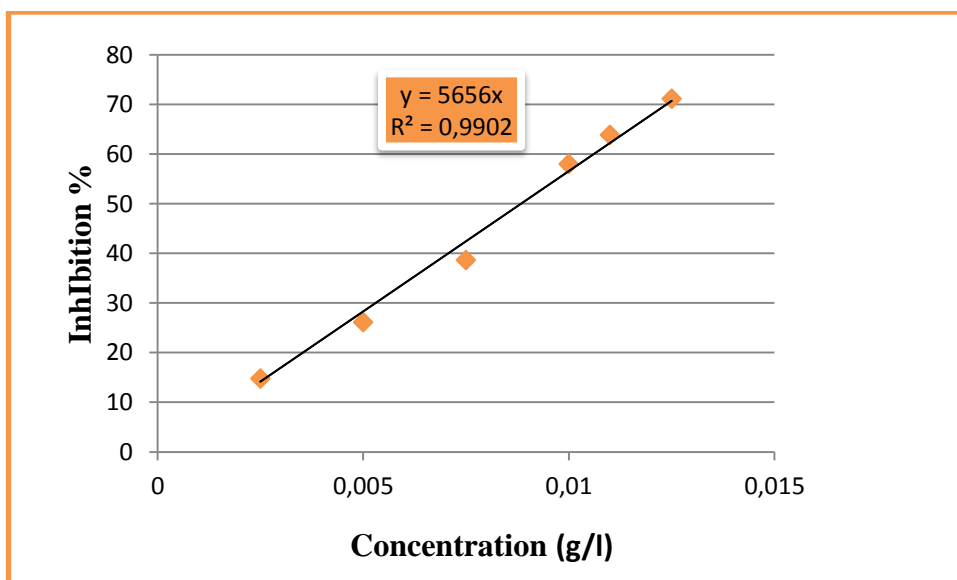


Figure II-8:La courbe d'étalonnage de la vitamine C (g/L)

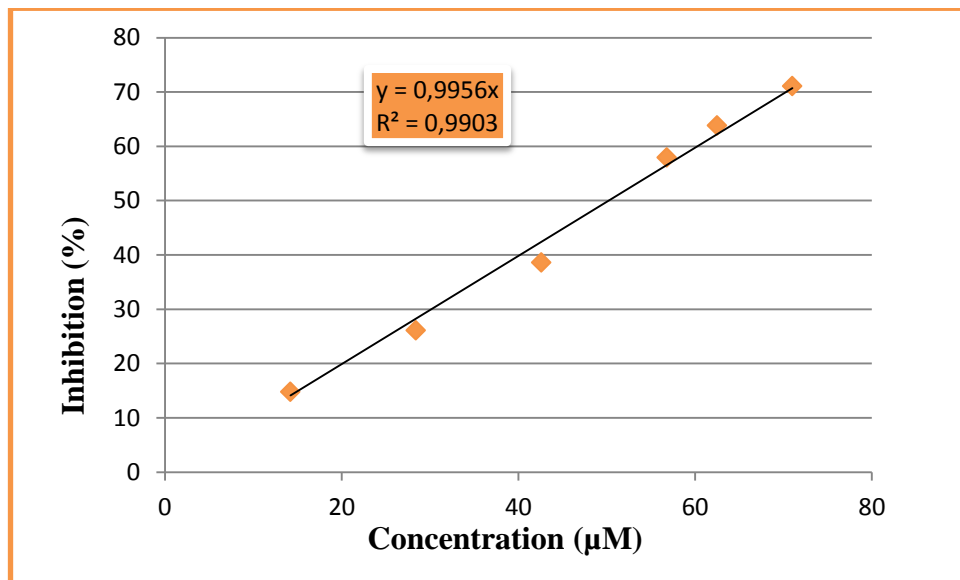


Figure II-9:La courbe d'étalonnage de la vitamine C (µM)

II.2.4 Optimisation des conditions d'extraction

II.2.4.1 Etude préliminaire

Avant de procéder à l'optimisation, une étude préliminaire a été réalisée afin de pouvoir sélectionner l'intervalle de chaque facteur, la valeur qui permet de donner le maximum de rendement des composés d'albumines,

Cette étape a été faite en fixant tous les paramètres et n'en faire varier qu'un seul. L'effet de chaque paramètre est évalué par la détermination de la teneur d'albumine. Les résultats obtenus sont utilisés dans le but d'optimiser les conditions d'extraction à l'aide de la méthodologie de la surface de réponse. L'étude préliminaire a été répétée trois fois.

- **Le temps d'extraction**

1g de poudre des tourteaux du *P. atlantica* été mélangée avec 20 mL d'eau distillée et placée dans un appareil ultrasonique (JoidentUltrasonic - Cleaner, METO 5, Ningbo, Chine) à une température de 25°C avec un temps d'extraction qui varie entre (10 min à 60 min).

- **La température**

L'extraction a été effectuée en plusieurs séries de température d'extraction dans un intervalle (20-70°C). Tandis que le temps et le rapport solide/liquide sont fixés à 20 min et 1:20 g/mL respectivement.

- **Le rapport solide/liquide**

A un temps de 20 min et température d'extraction à 50°C les échantillons ont été extraits avec rapport qui varie de 1:5 à 1:80 g/mL.

Les études préliminaires effectuées, ont permis de déterminer les niveaux bas, moyen et haut pour les variables influençant l'expérimentation.

II.2.5 Application du plan d'expérience

L'optimisation de la méthode d'extraction est réalisée sur un échantillon des tourteaux des fruits mature (Noir) de Pistachier de l'Atlas et en employant le plan de Box-Behnken de trois niveaux, pour évaluer l'effet combiné de trois variables indépendantes : le temps (min), la température (°C) et le rapport (g/mL), et qui sont désignés par X1, X2 et X3 respectivement. Les études préliminaires effectuées, ont permis de déterminer les niveaux bas et haut pour les variables influençant l'expérimentation. Ces derniers sont illustrés dans le tableau (II-1).

Tableau II-1: Différents niveaux des paramètres choisis pour l'optimisation.

Variables	Niveau		
	-1	0	1
Temps (min) X1	10	20	30
T (°C) X2	40	50	60
m/v (g/mL) X3	30	40	50

Ces paramètres ont été étudiés de manière à optimiser trois réponses : les teneurs d'albumine, et la capacité antiradicalaire par le test d'inhibition du radical DPPH, et ceci en réalisant le nombre d'essai suivant (42):

$$N = 2k(k - 1) + 3Cp$$

15 essais ont été réalisés ; de manière à pouvoir estimer le modèle mathématique des réponses investiguées. Où : **N**: est le nombre d'expériences, **k** : est le nombre de facteurs et **Cp** le nombre de points centraux. Chaque expérience a été répétée 3 fois pour calculer la moyenne.

La méthodologie des surfaces de réponses permet de modéliser les réponses étudiées sous forme d'une équation polynomiale du second degré présentée ci-dessous :

$$Y = b_0 + b_1x_1 + b_2x_2 + b_3x_3 + b_{12}x_1x_2 + b_{13}x_1x_3 + b_{23}x_2x_3 + b_{11}x_1^2 + b_{22}x_2^2 + b_{33}x_3^2 \dots (5)$$

Y : représente la réponse ;

b_0 : représente la valeur moyenne théorique de la réponse (interception)

$b_1b_2b_3$: sont les coefficients des termes linéaire.

$b_{11}b_{22}b_{33}$: sont les coefficients des termes quadratiques.

$b_{12}b_{13}b_{23}$: sont les coefficients des termes d'interaction.

Tableau II-2: La matrice expérimentale de Box-Behnken pour trois facteurs (X1, X2 et X3) et leurs réponses des teneurs d'albumine (mg/g de tourteaux) et le VCEAC exprimé en (g/L).

Expéri mentale	Facteurs			Réponse		
	X ₁ (min)	X ₂ (°C)	X ₃ (g/ml)	Biuret	Lowry	VCEAC
1	10 (-1)	40 (-1)	1/40 (0)	264,75	422,80	1,00
2	30 (1)	40 (-1)	1/40 (0)	271,04	436,78	1,04
3	10 (-1)	60 (1)	1/40 (0)	364,85	424,46	1,16
4	30 (1)	60 (1)	1/40 (0)	321,40	526,37	1,47
5	10 (-1)	50 (0)	1/30 (-1)	262,70	468,90	1,50
6	30 (1)	50 (0)	1/30 (-1)	326,37	558,12	1,45
7	10 (-1)	50 (0)	1/50 (1)	361,79	553,83	1,02
8	30 (1)	50 (0)	1/50 (1)	377,39	659,44	1,14
9	20 (0)	40 (-1)	1/30 (-1)	279,51	422,50	1,42
10	20 (0)	60 (1)	1/30 (-1)	296,86	522,75	1,57
11	20 (0)	40 (-1)	1/50 (1)	283,47	492,36	1,19
12	20 (0)	60 (1)	1/50 (1)	351,55	570,57	1,24
13	20 (0)	50 (0)	1/40 (0)	283,42	522,34	1,37
14	20 (0)	50 (0)	1/40 (0)	373,41	601,49	1,25
15	20 (0)	50 (0)	1/40 (0)	394,90	645,34	1,28

II.2.6 Dosage de l'albumine et l'évaluation de capacité antiradicalaire dans les différents échantillons:

On a fait l'extraction des échantillons de deux régions Aflou et Telghimet selon les conditions suivants: le temps, la température et le rapport masse /liquide (24 minutes, 53 °C et 1/40 (g/mL).

La teneur d'albumine et la capacité antiradicalaire de ces échantillons sont déterminées, on utilisant la méthode de dosage par LOWRY et le test de DPPH respectivement. Les résultats présentés sont la moyenne de 3 lectures.

II.3 Résultats et Discussion

II.3.1 Extraction d'albumine par ultrason

Afin d'évaluer les conditions optimales et lancer une extraction par cette méthode, il nous faudra d'abord déterminer des conditions de départ.

II.3.2 Etudes préliminaires

Les études préliminaires permettent la détermination des niveaux inférieurs et supérieurs des variables du plan expérimental utilisés afin de sélectionner un intervalle approprié pour l'extraction d'albumine pour chaque variable indépendante.

II.3.2.1 L'effet de différents temps d'extraction

Le temps de contact entre les deux phases est aussi l'un des paramètres les plus importants à maîtriser. Il correspond au temps pendant lequel le solvant et le matériel végétal sont mis en contact. Ce dernier peut influencer la libération progressive de solutés à partir de la matrice végétale vers le solvant, et de cela influencer l'efficacité de l'extraction. Ce paramètre est étroitement lié à la cinétique de l'extraction. La connaissance de la cinétique permettra d'arrêter l'extraction lorsque le rendement souhaité est atteint. Dans notre cas, les temps d'extraction ont été de l'ordre de 10 minutes jusqu'à 60 minutes, les résultats sont représentés dans le graphe de la figure (II-10). Tandis que les autres conditions d'extraction ont été fixées à une température de 25°C et un rapport de 1g/20mL.

Les teneurs d'albumine des fruits du *Pistacia atlantica* atteint une valeur maximale de 756.83 (mg EA/g de tourteaux) à un temps d'extraction de 20 min pour Biuret. Au-delà de cette période, la teneur n'augmente plus, ce qui veut dire que le temps d'extraction prolongé n'est pas utile pour extraire plus d'albumine. Cependant une exposition prolongée des rayonnements électromagnétiques pendant le processus d'extraction à l'ultrason peut mener à la dégradation thermique des albumines. L'étude statistique révèle une différence significative ($P < 0,05$) entre les teneurs en albumine extraites à différents temps d'extraction (10-30 min).

Le temps de 20 min a été sélectionné pour les essais préliminaires, tandis que la gamme un temps de 10 et 30 min ont été choisie comme bornes inférieure et supérieure respectivement pour les essais de MSR

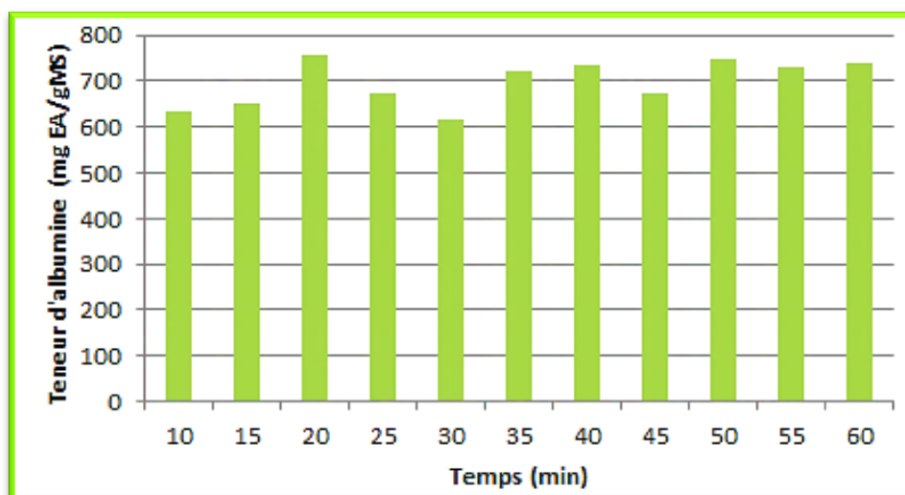


Figure II-10: Effet du temps sur l'extraction de l'albumine de fruit de *P. atlantica*

II.3.2.2 L'Effet de température

La sélection de la température d'extraction est l'une des étapes importantes de l'optimisation. L'augmentation de la température améliore l'extraction des albumines, en rendant les membranes cellulaires plus perméables, et augmente la solubilité et le coefficient de diffusion des composés à extraire. Elle diminue la viscosité du solvant ce qui facilite son passage dans les substrats solides. Dans notre travail, différentes températures d'extraction (20, 30, 40, 50, 60, et 70°C) ont été testées sur l'efficacité de l'extraction. L'influence de la température de l'extraction sur le rendement en albumine des extrais étudiés est illustrée dans la figure (II-11). La teneur en albumine augmente avec l'augmentation de la température de l'extraction de 20 jusqu'à 50°C; où elle atteint son maximum, puis diminue progressivement lorsque la température augmente de 50 à 70°C. La teneur la plus élevée en albumine a été trouvée pour la température d'extraction de 50°C, alors que la teneur la plus faible est enregistrée pour la température de 20°C. Une différence significative à $p < 0,05$ est enregistrée entre les différentes températures. La température d'extraction de 50°C a été sélectionnée pour les essais préliminaires, tandis que la gamme 40- 60°C, a été choisie pour les essais de MSR.

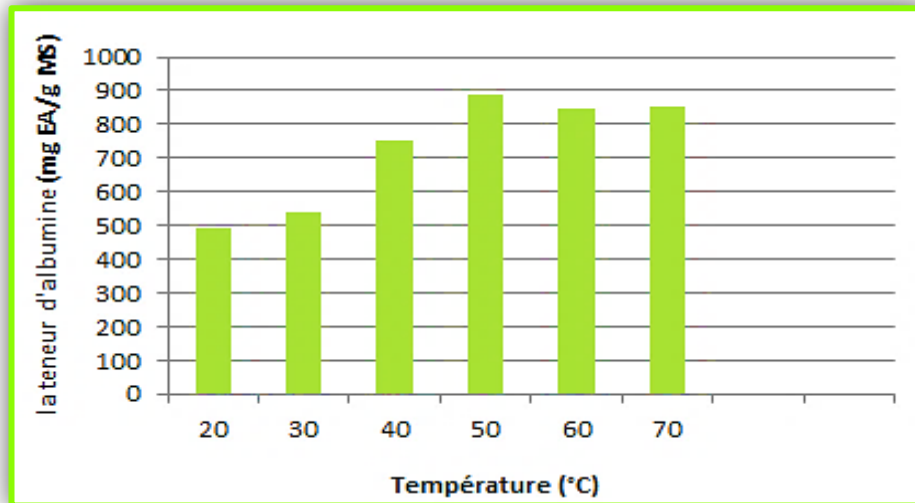


Figure II-11: Effet de température sur l'extraction de l'albumine de fruit de *P. atlantica*.

II.3.2.3 L'Effet du rapport (masse /volume)

Le volume du solvant, ou rapport masse de poudre/volume de solvant, est un facteur influençant sur l'extraction d'albumine, c'est pour ça on a procédé à différentes extractions avec différents volumes de solvant. La figure (II-12) montre les résultats de ces essais. L'effet de rapport sur l'extraction des albumines des fruits du *P. atlantica* a été évalué à l'aide de neuf rapports (1:5, 1:10, 1:20, 1:30, 1:40, 1:50, 1:60, 1:70 et 1:80 g/mL) sur une période d'extraction de 20 min et la température de 50°C. L'analyse statistique révèle une différence significative à $p < 0,05$ entre les différents rapports. Le rapport 1:50 g/mL a donné un meilleur rendement en albumine avec une teneur de 905,05 (mg EA/g de tourteaux), suivie par 1:40 g/mL avec une teneur de 898,91 (mg EA/g de de tourteaux), alors que 1:20 g/mL a donné le taux le plus bas de 401,64 mg EA/g de tourteaux. De 1:50 à 1:60, les teneurs des albumines n'augmentent plus, ce qui veut dire que l'augmentation de solvant n'est pas utile pour extraire plus des albumines. Ces résultats sont compatibles avec la deuxième loi de diffusion de Fick, il y a un équilibre final entre les concentrations de soluté dans la matrice solide et le solvant après une durée particulière. Le rapport 1:40 a été sélectionné pour les essais préliminaires, tandis que la gamme 1:30 à 1:50 g/mL a été choisie pour les essais de MSR.

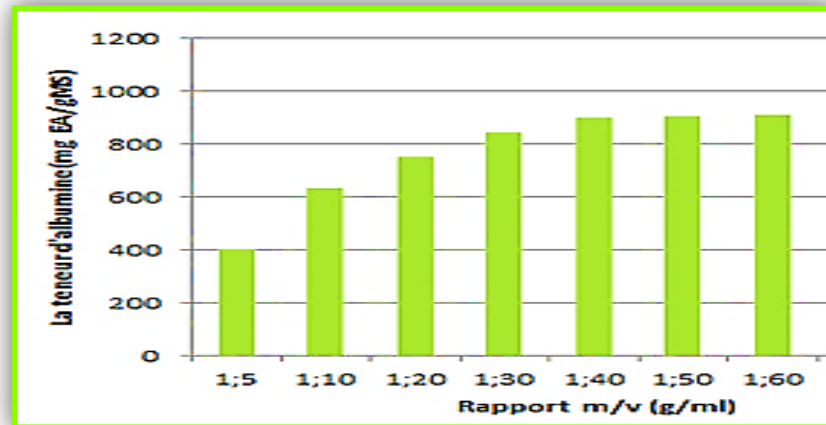


Figure II-12: Effet du rapport (solide-liquide) sur la teneur d'albumine.

II.3.3 Optimisation des conditions d'extraction des albumines

Trois facteurs, qui sont le temps d'extraction (X_1), la température (X_2) et le rapport (X_3), ont été utilisés afin d'optimiser l'extraction des albumines des fruits du *Pistacia atlantica*. Les trois facteurs (X_1 , X_2 , et X_3) à trois niveaux (-1, 0 et +1) ont été appliqués pour optimiser l'extraction des composés sont consignés dans le tableau (II-1).

II.3.3.1 Plan d'expérience Box-Behnken

Basées sur les observations des études préliminaires, les gammes de chaque variable indépendante (temps, température et rapport) influençant sur les réponses étudiées (albumines et inhibition de DPPH) ont été choisies. Les données expérimentales obtenues à partir des 15 essais ont été analysées aléatoirement à l'aide d'un plan d'expérience Box-Behnken Design (BBD), utilisant logiciel Matlab. Les réponses mesurées sont comparées à celles prédites pour l'estimation de l'écart et l'erreur expérimentale afin de vérifier la validité du modèle choisi.

Les résultats ont montré que la teneur en albumines varie entre 262,70 à 394,90 et de 422,50 à 659,44(mg EA/g de tourteaux) pour la méthode Biuret et Lowry, respectivement (tableau II-2), ceux-ci ne font que confirmer que les facteurs (temps, température et rapport) ont une influence sur l'extraction d'albumine.

II.3.4 Validation du modèle

Le modèle mathématique, dans les plans d'expériences, unit la réponse qui est dans cette étude la teneur en albumine aux facteurs qui ont un effet sur elle. Dans l'objectif d'avoir une bonne réponse plusieurs conditions doivent être vérifiées.

II.3.4.1 Le coefficient de détermination (R^2)

L'efficacité d'ajustement globale est exprimée par le coefficient de corrélation R^2 . Dans la présente étude, les valeurs de R^2 sont 0,90 et 0,64 pour la méthode Lowry et Biuret, respectivement. Ce qui signifie que 10% (Lowry) et 36% (Biuret) des variations ne sont pas expliquées par le modèle. De plus, la valeur du coefficient de détermination ajusté est 0,72 et 0,92 pour la méthode Biuret et Lowry, respectivement (Figure II-13).

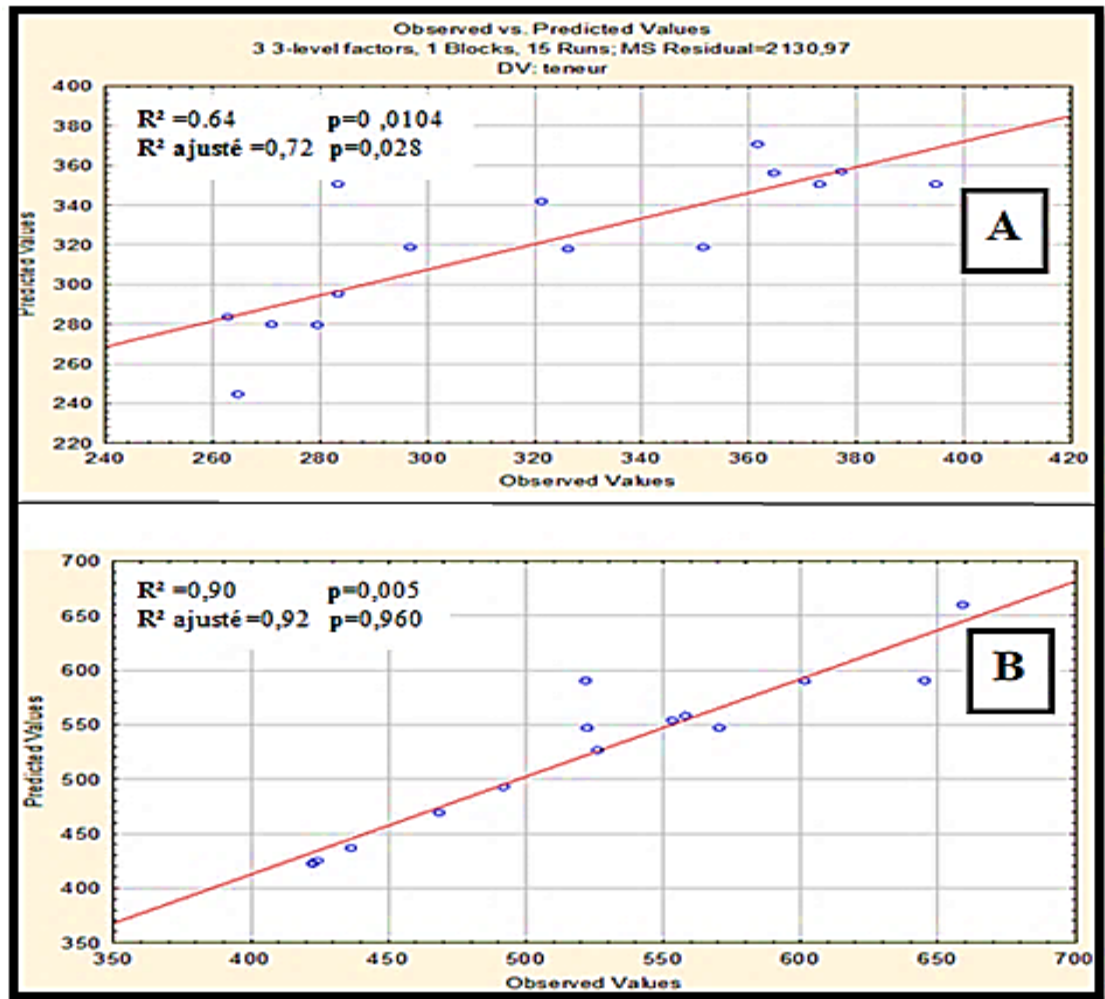


Figure II-13:Graphique des valeurs observées (A) Biuret et (B) Lowry en fonction des valeurs prévues.

II.3.4.2 Model global et manque d'ajustement

L'analyse de la variance de la régression du model (tableau II-3), montre que le model de Lowry est très significatif ($p < 0,005$), et que le défaut d'ajustement n'est pas significatif ($p > 0,05$) par rapport à l'erreur pure, ce qui confirme la validation du modèle ($p > 0,05$). Par contre le model

de Biuret sera rejeté car p-value du défaut d'ajustement est significative (p=0,0208). Quand le R² est faible, ceci indique que certaines variables importantes n'ont pas été prises en compte dans le modèle.

Tableau II-3:L'analyse de la variance des modèles polynomiaux de second ordre.

Régression	R ²	R ² (ajusté)	Rapport F du modèle	Prob.>F	Défaut d'ajustement (Rapport F)	Défaut d'ajust. (Prob.>F)
Y _{Lowry}	0,90	0,92	405,51	<0,005*	0,97	0,88
Y _{Biuret}	0,64	0,72	108,50	0,0104*	14,14	0,028
Y _{DPPH}	0,80	0,44	95,23	0,008*	82,56	0,74

- La valeur-p a été utilisé pour vérifier la signification de chaque coefficient, elle est inférieure.

II.3.5 Modèle mathématique

Le modèle mathématique du plan BBD des 15 essais reliant la teneur en albumine et les paramètres expérimentaux est présenté par la relation suivante :

$$Y_{\text{albumine}} = 512,27 + 95,76 X_1 + 88,19 X_2 + 75,97 X_3 + 85,50 X_1 X_2 + 8,19 X_1 X_3 - 11,02 X_2 X_3 + 28,04 X_1^2 + 88,87 X_2^2 + 2,05 X_3^2 \dots \dots \dots (06).$$

II.3.6 Effet des facteurs (coefficients)

L'analyse de la variance de la régression des coefficients consiste à analyser l'impact des variables (X₁, X₂ et X₃) à P<0,05, afin de déterminer le degré d'influence des facteurs (temps, température et rapport) sur l'extraction des albumines.

Les valeurs de P sont utilisées comme un moyen pour vérifier la signification de chaque coefficient, ce qui indique aussi l'intensité d'interaction de chaque paramètre. Les plus petites valeurs de P présentent la plus grande signification du facteur correspondant. Les résultats obtenus sont représentés dans le tableau (II-4).

Tableau II-4: Coefficients de régression et leurs significations statistiques.

Terme	Coefficients	Erreur standard	Rapport t	Probabilité > t
Lowry				
Constant				
b_0	512,27	13,68	37,20	0,000
Linéaire				
b_1	95,76	34,67	2,76	0,039*
b_2	88,19	35,76	2,46	0,056
b_3	75,97	29,20	2,62	0,048*
Interaction				
b_{12}	85,50	58,40	1,46	0,203
b_{13}	8,19	4,12	0,19	0,850
b_{23}	-11,02	-4,12	-0,26	0,800
Quadratique				
b_{11}	28,04	23,56	1.19	0,287
b_{22}	88,87	23,29	3.81	0,012**
b_{33}	2,05	2,30	2.60	0,930

D'où :

* : Significatif

** : Très significatif

II.3.6.1 Effet linéaire

Les résultats de la présente étude, montre que le facteur qui possède une influence hautement significative sur l'extraction des albumines du tourteau des fruits du *P. atlantica* est le temps d'extraction (X_1) et le rapport (X_3) avec une probabilité de $P=0,039$ et $0,048$ respectivement, cependant l'impact est non significatif pour le facteur (X_2) à savoir la température.

II.3.6.2 Effet quadratique

Il y'a deux effets quadratiques temps d'extraction (X_1*X_1) et le rapport (X_3*X_3) qui ne sont pas significatifs. Par contre l'influence de température (X_2*X_2) est significative avec $P=0,012$. Ces résultats montrent que la température de l'extraction joue un rôle important sur l'extraction des albumines, ce qu'est déjà rapporté par plusieurs auteurs (Abas Wani et al., 2006).

II.3.7 Analyse des surfaces de réponse

Les diagrammes de surface des modèles quadratiques sont obtenus en maintenant une variable constante au niveau central et en faisant varier les deux autres dans les limites expérimentales.

II.3.7.1 Temps –température ($X_1 * X_2$)

La figure **A : (II-14)** montre la surface de réponse qui présente l'effet de l'interaction temps et température sur l'extraction d'albumine.

Les résultats obtenus indiquent que l'interaction temps-température est non significative avec la probabilité supérieure à 0,200. Une augmentation de la teneur en albumines a été observée avec l'augmentation de la température de l'extraction de 40 à 50°C et le temps d'extraction de 10 à 20 min, mais la tendance a été renversée lorsque le rapport a atteint une certaine valeur. En effet, à un temps de 20-30 min et la température de l'extraction de 50 à 60°C une diminution remarquable de la quantité de composé extrait est constatée. Les résultats suggèrent que dans une certaine gamme l'augmentation du temps d'extraction pourrait accélérer la dissolution des composés d'intérêt alors qu'un temps prolongé pourrait induire la dégradation de certains composés bioactifs.

II.3.7.2 Temps –rapport ($X_1 * X_3$)

Les résultats obtenus de l'étude d'interaction entre le temps d'extraction, le rapport et le taux d'extraction des albumines sont représentés dans la figure **B: (II-14)**.

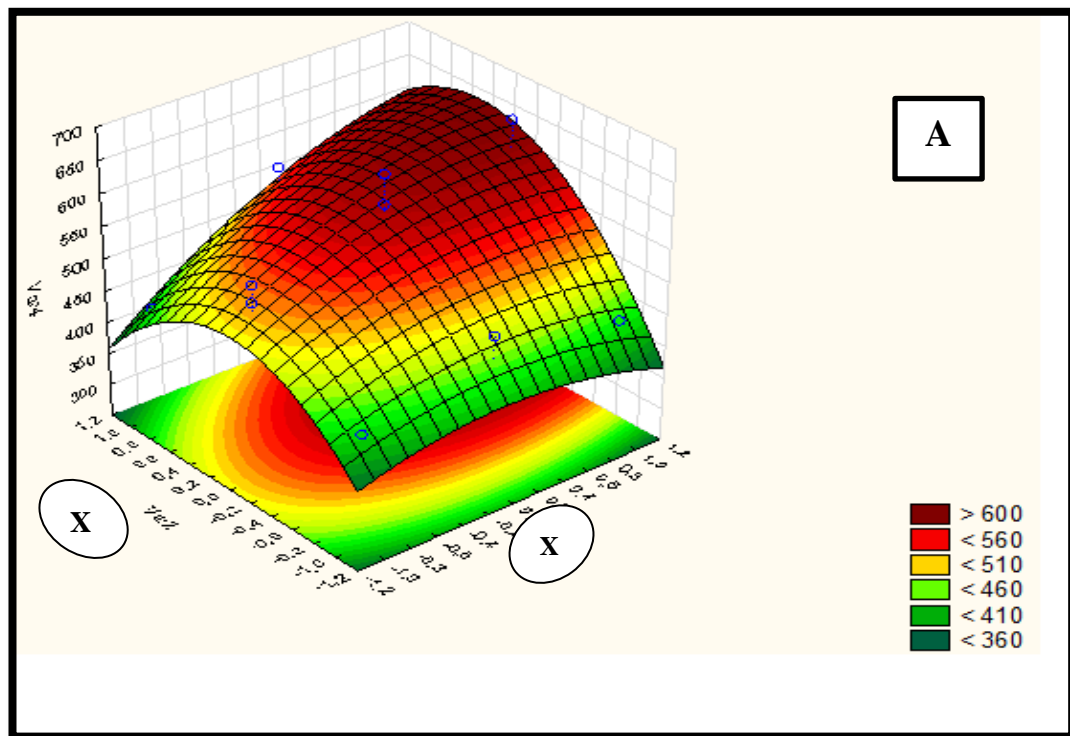
Les résultats obtenus montrent que l'interaction entre le temps et le rapport ($X_1 * X_3$) présente un effet non significatif avec $P=0,850$. Si on fixe la température à 50°C et qu'on varie simultanément les deux paramètres on aura une augmentation d'extraction d'albumine allant de 400 à 660 mg EA/g de tourteaux. Ces résultats sont compatibles avec le principe du transfert de la matière, où la force de transmission durant ce transfert est le gradient de la concentration de soluté entre le solide et le liquide. Cette force accroît lorsque le rapport solide/liquide utilisé est plus élevé bien que le rendement d'extraction puisse être toujours fort.

II.3.7.3 Température –rapport ($X_2 * X_3$)

La figure **C: (II-14)** montre la surface de réponse qui présente l'effet de température et le rapport $X_2 * X_3$ sur l'extraction des albumines.

Les résultats obtenus indiquent que l'interaction température-rapport est non significative avec une probabilité supérieure à 0,8. Une augmentation de la teneur en albumine a été observée avec l'augmentation de température d'extraction 40 à 50°C et le rapport de 1:30 à 1:40 g/mL. Cependant une longue durée d'extraction avec l'augmentation de la température donne une teneur faible. En effet, plusieurs chercheurs ont attiré l'attention que l'extraction par les solvants

à température élevée permettait d'obtenir des rendements plus élevés en extraits secs que lorsqu'ils sont obtenus à température ambiante, mais lorsque le processus de l'ultrason atteint des températures supérieures à 50°C, il y'a risque de dénaturation et donc diminution du contenu protéiques (Goetz and Koehler, 2005). Ce qui explique la valeur maximal de 640 mg EA/g de tourteaux à une température de 50°C et un rapport de 1:40 g/mL, mais si on poursuit l'extraction avec des niveaux très élevés pour chaque paramètre, la valeur en albumine diminue de 640 à 240 mg EA/g de tourteaux.



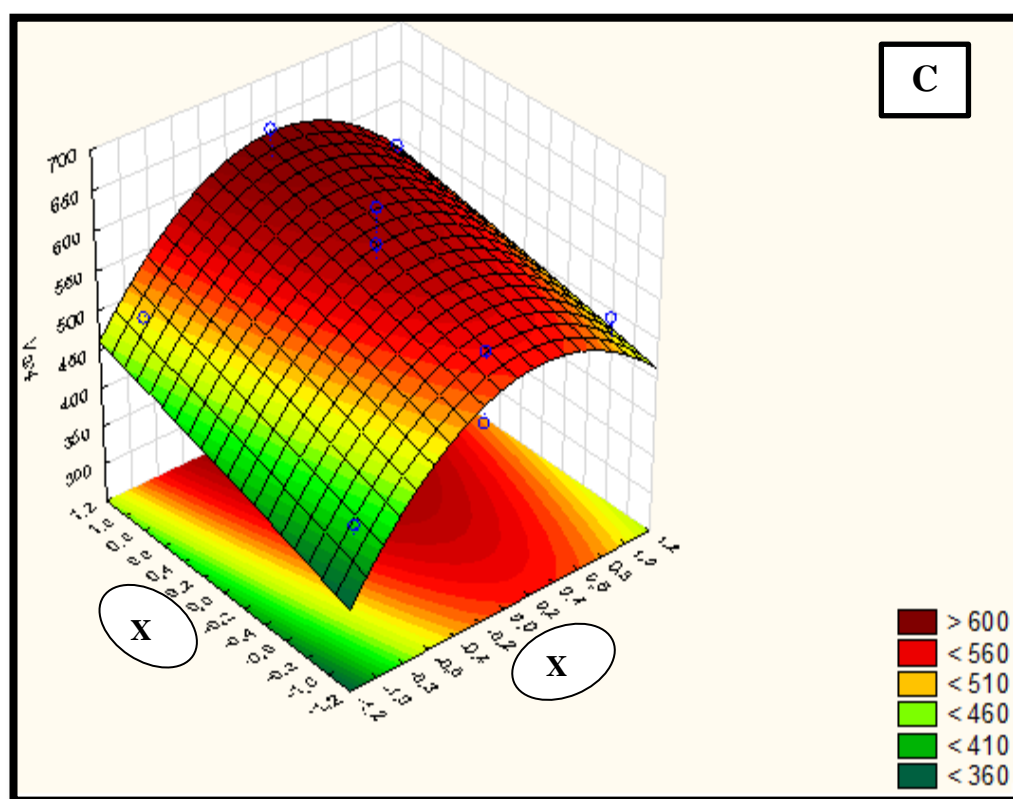
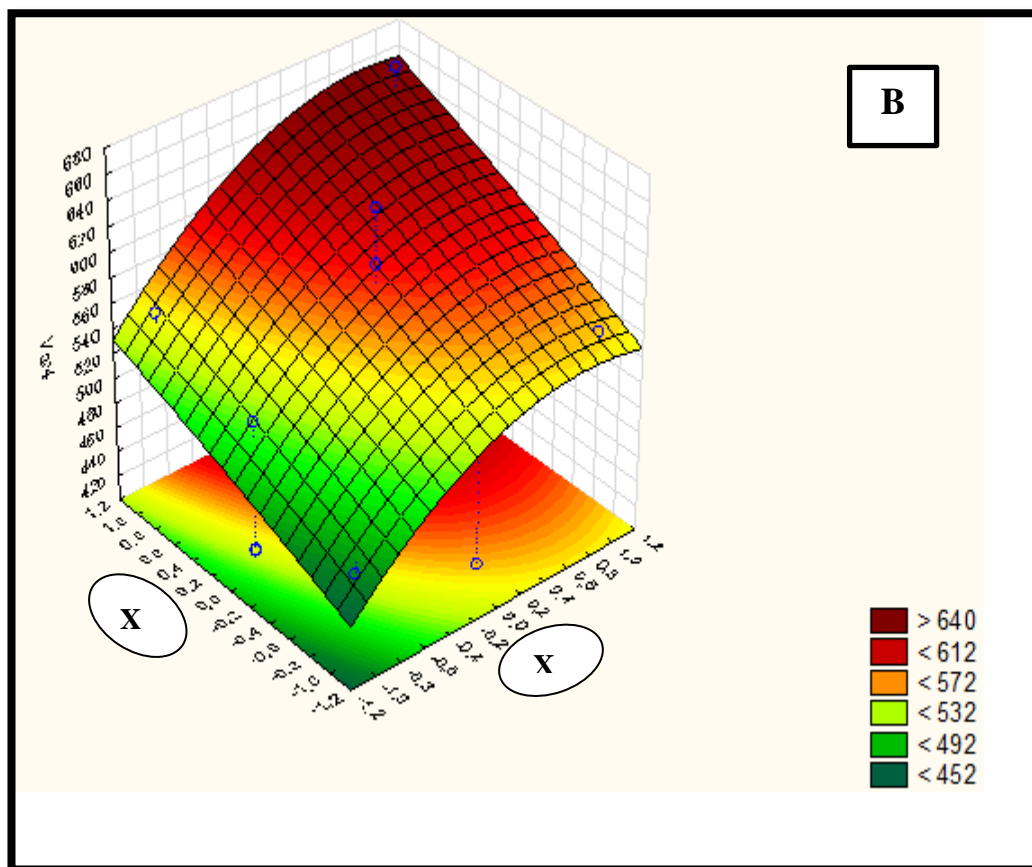


Figure II-14: Surface de réponse pour les effets temps/température (A), temps/rapport (B) et température/rapport (C) sur le rendement des albumines des fruits du *P.atlantica*.

II.3.8 Paramètres optimaux

Cette étude montre qu'un modèle polynomiale d'ordre deux peut modéliser correctement le phénomène étudié. Il apparaît que les conditions expérimentales optimales qui conduisent à une maximisation de l'extraction des albumines sont obtenues au sein du domaine expérimental. Les conditions d'extraction optimale identifiées par l'utilisation du logiciel Matlab sont représentées dans le tableau (II-5).

Tableau II-5 : Conditions optimales d'extraction des albumines par ultrason (mg EA/g tourteaux).

Temps (min)	Température (°C)	Rapport (g/mL)	Valeur prédite (mg EA/g tourteau)
30	60	1:50	847,60

II.3.9 Test d'évaluation de la capacité antiradicalaire

Les résultats montrent que tous les extraits présentent des capacités anti-radicalaire considérables variant de 1,00 à 1,57 VCEAC g/L (Tableau II-2). Ceci confirme l'influence des paramètres étudiés (temps, température et rapport) sur la capacité antiradicalaire.

II.3.9.1 Coefficient de corrélation

L'analyse statistique a montré que le coefficient de corrélation R^2 et celui d'ajustement sont de 0,80 et 0,50 respectivement qui sont loin de 1 et un manque d'ajustement du model qui est insignificative à $p < 0,05$, indiquant que le modèle pourrait être utilisé pour prédire les résultats obtenus en terme de capacité antiradicalaire (Tableau II-3).

La figure (II-15) montre le graphe des valeurs observées DPPH en fonction des valeurs prévues.

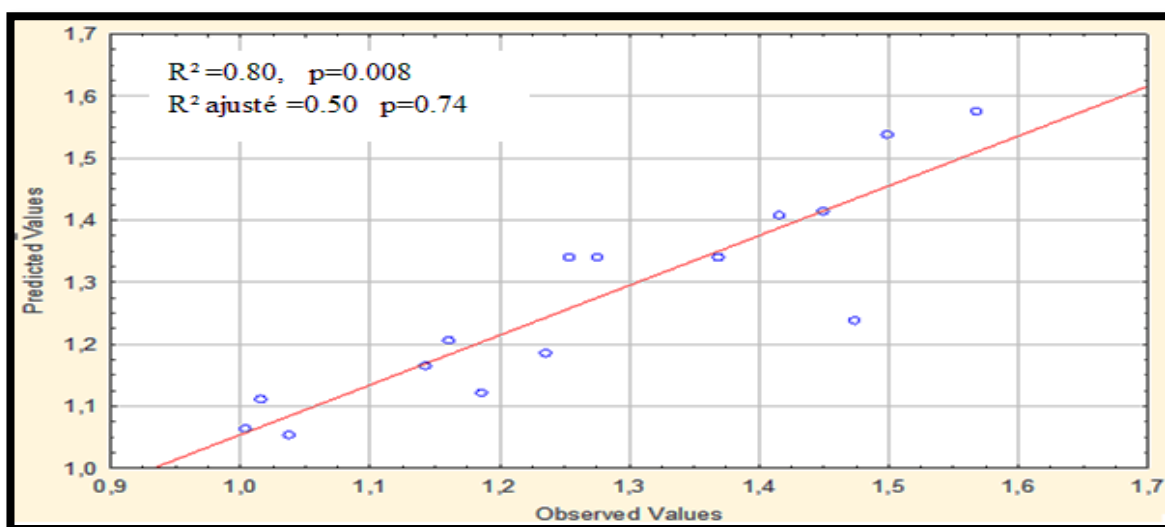


Figure II-15: Graphique des valeurs observées DPPH en fonction des valeurs prévues.

II.3.9.2 Effet des facteurs (coefficients)

Les résultats du calcul des coefficients de régression estimés du modèle polynomial sont représentés dans le tableau (II-6).

Tableau II-6: Coefficients de régression et leurs significations statistiques.

Terme	Coefficients	Erreur standard	Rapport t	Probabilité > t
DPPH				
Constant				
b_0	1,25	0,05	27,55	0,000
Linéaire				
b_1	-0,04	0,01	-0,31	0,768
b_2	0,12	0,01	0,98	0,370
b_3	-0,34	-0,01	-3,50	0,017
Interaction				
b_{12}	-0,03	-0,01	-0,19	0,899
b_{13}	0,09	0,01	0,65	0,546
b_{23}	-0,05	0,01	-0,38	0,722
Quadratique				
b_{11}	0,12	0,08	1,52	0,186
b_{22}	0,10	0,07	1,34	0,236
b_{33}	-0,09	-0,01	-3,50	0,586

II.3.9.3 Analyse du modèle mathématique

Le modèle mathématique du BBD de la présente étude peut être représenté par la relation suivante :

$$\text{DPPH} = 1,248 - 0,0356 X_1 + 0,1164 X_2 - 0,3381 X_3 - 0,0256 X_1 X_2 + 0,088 X_1 X_3 - 0,0513 X_2 X_3 + 0,1192 X_1^2 + 0,1036 X_2^2 - 0,086 X_3^2 \dots\dots\dots (07)$$

- **Effet linéaire**

D'après les résultats de la présente étude, il existe deux facteurs qui possèdent une influence négative sur la capacité antiradicalaire des fruits du *P. atlantica* qui sont : le temps (X_1) qui a un $P=0,768$, et la température (X_2) avec un $P=0,017$.

- **Effet quadratique**

L'effet quadratique le plus prononcé est représenté par le facteur de temps ($X_1 * X_1$) avec $P=0,186$, il est suivi par l'effet quadratique de la température de l'extraction ($X_2 * X_2$) avec $P=0,236$ et l'effet quadratique de rapport ($X_3 * X_3$) avec $p=0,586$.

II.3.9.4 Analyse des surfaces de réponse

- **Temps –température ($X_1 * X_2$)**

La figure A' : (II-16) montre la surface de réponse qui présente l'effet de temps d'extraction et la température sur la capacité par DPPH. Les résultats obtenus montrent que le temps d'extraction, et la température ($X_1 * X_2$) présentent un effet non-significatif avec $P=0,899$. Une diminution de la capacité antiradicalaire a été observée avec l'augmentation du temps d'extraction de 20-30 min et la température de 50 à 60°C. Ce qui est compatible avec les résultats de l'albumine, la figure A : (II-14)

- **Temps –rapport ($X_1 * X_3$)**

Les résultats obtenus indiquent que l'interaction temps-rapport (Figure B' : II-16) : est non significative avec la probabilité supérieure à 0,050. Si on fixe la température à 60°C et qu'on varie simultanément les deux paramètres on aura une augmentation d'extraction d'albumine allant de 1 à 1,62 VCEAC (g/L). Ce résultat est en accord avec les observations de la figure B : (II-14).

- **Température –rapport ($X_2 * X_3$)**

Les résultats obtenus de l'étude d'interaction entre la température - le rapport ($X_2 * X_3$) et la capacité antiradicalaire sont représentés dans la figure C' : (II-16). Les résultats obtenus montrent que le couple température d'extraction et le rapport ($X_2 * X_3$) présente un effet non-significatif

avec $p=0,722$. Une augmentation de la capacité antiradicalaire a été observée avec l'augmentation de la température de l'extraction de 40 à 60°C et le rapport de 1:30 à 1:50 g/mL.

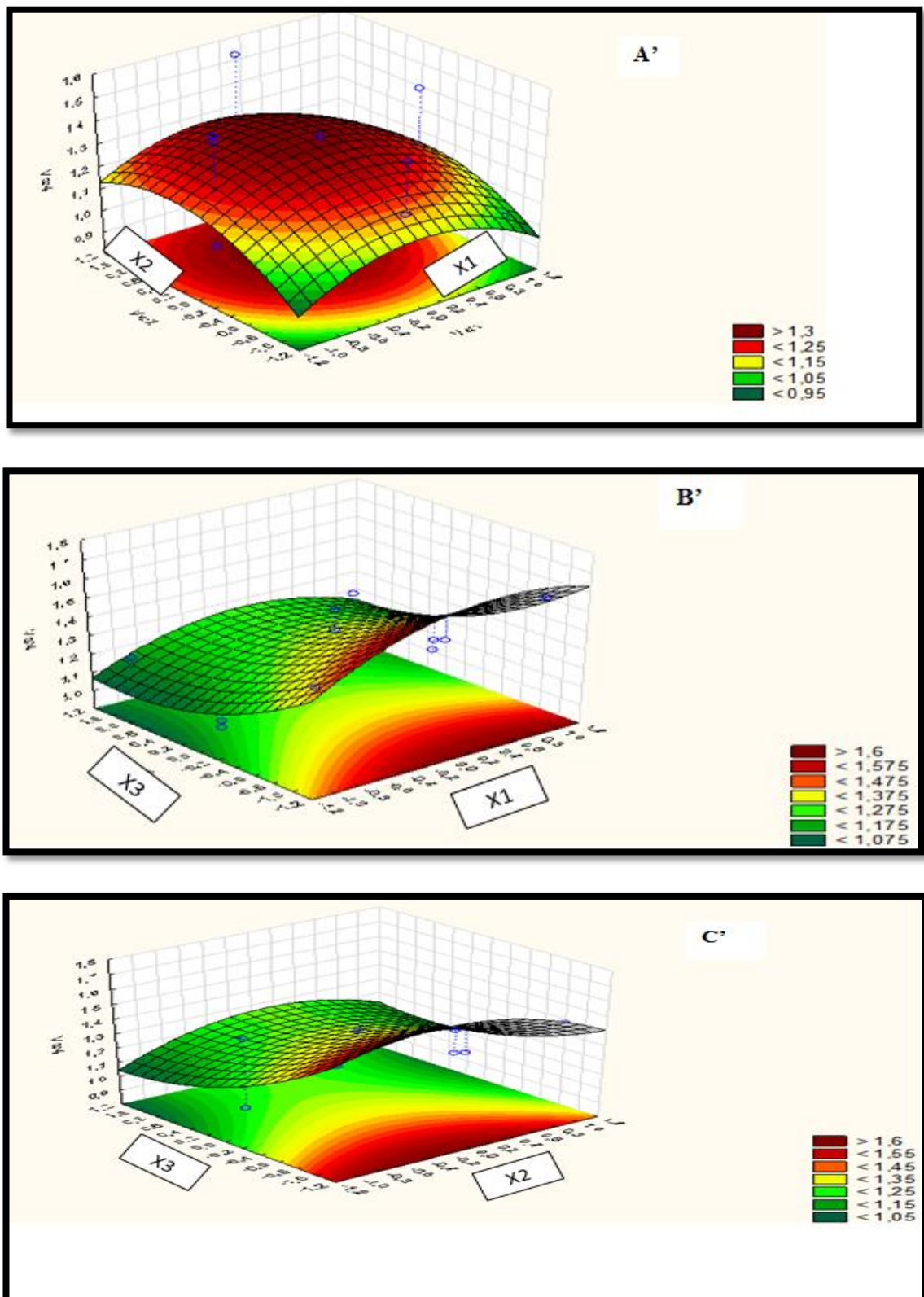


Figure II-16: Surface de réponse pour les effets temps/température (A'), temps/rapport (B') et température/rapport (C') sur la capacité antiradicalaire des fruits du *P. atlantica*.

II.3.9.5 Solution

Cette étude montre qu'un modèle polynomial d'ordre deux peut modéliser correctement le phénomène étudié. Il apparaît que les conditions expérimentales optimales, c'est-à-dire celles conduisant à une maximisation d'activité antiradicalaire sont obtenues au sein du domaine expérimental.

Tableau II-7: Conditions optimales de la capacité antiradicalaire par DPPH par ultrason (VCEAC g/L).

Temps d'extraction (min)	Température (°C)	Rapport (g/mL)	Valeur prédite (VCEAC g/L)
30	60	1:50	1,26

II.3.10 Dosage de l'albumine et l'évaluation de la capacité antiradicalaire dans les différents échantillons

La quantité de l'albumine et la capacité antiradicalaire dans les 18 échantillons ont été évaluées selon les conditions voisines de celles centrales des trois facteurs le temps, la température et le rapport masse /liquide ((24 minutes, 53 °C et 1/40 (g/mL)). Les résultats obtenus sont regroupés dans le (tableau II-8). Les teneurs en albumine ont été calculées à partir de la courbe d'étalonnage de l'albumine (Figure II-5) et exprimés par mg EA/g de tourteaux, les capacités antiradicalaires des extraits sont exprimées par le facteur VCEAC qui désigne la concentration de la vitamine C en μM qui donne la même capacité antiradicalaire d'une solution d'extrait de concentration 1 μM .

D'après les résultats du (tableau II-8). Nous remarquons que les concentrations des extraits bruts calculées par différences de masses sont supérieures à celles des concentrations en albumines déterminées par colorimétrie. À titre d'exemple pour l'échantillon T.F_r.V.F.1, on remarque que la concentration de l'extrait brut égale à 1,80 mg/mL est supérieure à celle de l'albumine 1,74 mg/mL. Ce qui montre que l'eau solvant polaire peut extraire tous les composés polaires autres que l'albumine comme les sucres, les saponines et quelques composés phénoliques glycosidés.

Les quantités de l'albumine dans les échantillons varient de 14,36 (mg EA/g) dans les tourteaux des fruits rouge jaunâtre d'arbre 10 à 410,42mg (EA/g) dans les tourteaux des fruits vert foncés d'arbre 9 de la même région de Aflou. D'une façon générale aucune tendance entre la maturité des fruits et la quantité en albumine n'a été enregistrée.

Tableau II-8:La teneur, Concentration et l'activité de différents échantillons.

Echantillon	La teneur (mg/g)	Concentration Alb (mg/mL)	Concentration Extrait bruts(mg/mL)	VCEAC (µM)
T.Fr.Vf.1	69,83	1,74	1,80	134,95
T.Fr.Vf.2	72,34	1,80	1,90	115,14
T.Fr.Vf.6	83,19	2,08	2,70	220,40
T.Fr.Nr.4	58,49	1,46	1,50	73,89
T.Fr.Rj.8	127,62	3,19	3,30	74,79
T.Fr.Rj.9	202,46	5,06	5,70	75,14
T.Fr.Rj.10	24,88	0,70	1,30	43,33
A.Fr.Vf.6	191,08	4,78	9,70	326,34
A.Fr.Vf.8	154,17	3,85	6,90	252,95
A.Fr.Vf.9	410,42	10,26	11,70	377,35
A.Fr.Vf.10	246,42	6,16	12,30	364,78
A.Fr.N.1	300,40	7,51	13,10	375,88
A.Fr.Nr.3	339,85	8,50	12,70	376,89
A.Fr.N.10	178,99	4,45	7,00	364,96
A.Fr.Rj.1	367,58	9,19	16,40	75,22
A.Fr.Rj.6	156,77	3,92	11,90	75,85
A.Fr.Rj.8	264,01	6,60	15,90	75,86
A.Fr.Rj.10	14,36	0,36	7,80	75,98

Si nous comparons nos résultats avec d'autres sources végétales d'albumine, nous pouvons dire que les tourteaux des fruits de Pistachier de l'Atlas sont riches en albumine par rapport à quelques céréales et graines oléagineuses utilisés comme sources des protéines (Tableau II-11).

En ce qui concerne l'activité antiradicalaire, les valeurs de VCEAC sont comprises entre 43,33 µM dans l'échantillon T.Fr.Rj.10 et 377,35 µM dans l'échantillon A.Fr.Vf.9. Ces résultats montrent que tous les extraits aqueux des tourteaux des fruits de Pistachier de l'Atlas possèdent

des capacités antiradicalaire supérieures à la vitamine C. L'extrait le moins antiradicalaire présente une capacité antiradicalaire 43 fois plus supérieure que la vitamine C. D'une façon générale aucune tendance n'a été observée entre le degré de maturité des fruits et la capacité antiradicalaire.

Des corrélations ont été observées entre les teneurs en albumine, les concentrations des extraits bruts et les valeurs de VCEAC. Les coefficients de corrélations trouvées sont : 0,82 entre les teneurs en albumine et les concentrations des extraits bruts, 0,54 entre les teneurs en albumine et les valeurs de VCEAC et enfin 0,35 entre les concentrations des extraits bruts et les valeurs de VCEAC.

Dans le but d'améliorer les corrélations, nous avons réparti les échantillons en groupes et selon le stade de maturité ; les fruits immatures rouge jaunâtre et les fruits matures vert foncés et noir. Les valeurs des coefficients de corrélations obtenues sont: 0,77, 0,48, 0,57 et 0,89 ; 0,83 et 0,91 tableau (II-10), (II-9) pour les fruits immatures et matures respectivement.

Il est clair d'après les résultats concernant les fruits matures que soit ce vert foncés ou noir, les meilleures valeurs de teneurs en albumine, les concentrations des extraits bruts et les valeurs de VCEAC sont enregistrées dans les échantillons de la région d'Aflou, ce qui explique que les conditions environnementales comme l'altitude, les précipitations annuelles et les rayonnements UV-Visible et autres influent sur la synthèse de l'albumine et la capacité antiradicalaire.

Tableau II-9:Coefficients de corrélations de fruits de Pistachier de l'Atlas mature (vert foncé et noir)

Coef. Corrélation	Albumine(mg/g)	C(extrait brut) (mg/mL)	VCEAC(μ M)
Albumine (mg/g)	1	0,89	0,83
C(extrait brut) (mg/mL)	0,89	1	0,91
VCEAC (μ M)	0,83	0,91	1

Tableau II-10:Coefficients de corrélations de fruits de Pistachier de l'Atlas immature (Rouge jaunâtre)

Coef. Corrélation	Albumine(mg/g)	C(extrait brut) (mg/mL)	VCEAC(μ M)
Albumine (mg/g)	1	0,77	0,48
C(extrait brut) (mg/mL)	0,77	1	0,57
VCEAC (μ M)	0,48	0,57	1

Tableau II-11: Teneur en albumine de quelques céréales, graines oléagineuses et les fruits de Pistachier de l'Atlas (26).

Type	Source végétale (nature)	Albumine (g/100g)
Céréale	Blé	9
	Maïs	4
	L'orge	13
	Avoine	11
	Riz	5
	Sorgho	6
Graine oléagineuse	Soja	10
	Tournesol	22
	Pois	21
	Haricot, lupin	10- 20
	Fève	20
Fruits de Pistachier de l'Atlas	Fruit	1,4 – 41

II.4 Conclusion générale

Le présent travail nous a permis de déterminer les conditions optimales (température, le temps et le rapport masse solvant) de l'extraction de l'albumine des tourteaux des fruits de Pistachier de l'Atlas ainsi l'évaluation de la capacité antiradicalaire des extraits, et de doser la quantité de l'albumine dans plusieurs échantillons de fruits collectés de différentes régions à des différentes stades de maturité.

Pour une extraction efficace et optimale de l'albumine, nous avons utilisé une technique d'extraction assistée aux ultrasons, et un dosage par deux méthodes Biuret et Lowry, l'évaluation de l'activité antiradicalaire a été réalisée par le test DPPH.

Un plan Box-Behnken, a été mis en place pour étudier l'effet des trois variables indépendantes (le temps d'extraction (min), la température (°C) et le rapport (g/mL)) sur l'extraction de l'albumine afin de définir un modèle mathématique permettant l'optimisation des conditions d'extraction. Une étude préliminaire a permis de définir les niveaux hauts et bas pour chaque facteur. D'après notre étude d'optimisation certaines conclusions s'imposent :

Les résultats de l'étude préliminaire ont montré que la plus grande teneur en albumine a été obtenue à un temps 20 min, une température 50°C et un rapport m/v 1 : 40mL.

Le traitement des résultats par le logiciel MATLAB montre que les conditions optimales obtenues par les combinaisons de toutes les valeurs expérimentales des facteurs et les réponses sont : 30 minute, 60 °C et un rapport m/v 1g/50mL. La teneur de l'albumine dans ces conditions est égale à **847,60 mg EA /g tourteaux** et une activité antiradicalaire égale à **1,26 g/L**.

Aux conditions centrales, la quantité de l'albumine varie entre 14,36 et 410,42 mgEA /g de tourteaux, les valeurs de VCEAC varient entre 43,33 et 377,35 µM.

Tous les extraits présentent des activités antiradicalaires supérieures à la vitamine C. Ces résultats montrent que les tourteaux des fruits de Pistachier de l'Atlas sont une source d'albumine et des antioxydants.

Les échantillons matures de la région d'Aflou ont enregistré les plus grandes quantités en albumine, ainsi la capacité antiradicalaire la plus importante, ce qui montre l'influence de la région de collecte sur la teneur en albumine et la capacité antiradicalaire.

Des bonnes corrélations positives ont été trouvées pour les fruits matures entre la teneur en albumine et la concentration de l'extrait brut, la teneur en albumine et la capacité antiradicalaire et enfin la concentration de l'extrait brut et la capacité antiradicalaire, les coefficients de corrélations calculés sont égales à 0,89, 0,83 et 0,91 respectivement.

En perspective, nous suggérons :

- Appliquer ces conditions d'extraction à d'autres protéines des tourteaux de Pistachier de l'Atlas (prolamine, gluténine...) , et faire des comparaisons.
- D'optimiser d'autres paramètres influençant l'extraction d'albumine, et d'autres réponses.
- Application des résultats du model de Box- Behenken au niveau industriel.
- Analyser et identifier par chromatographie liquide à haute performance les acides aminés de l'albumine.

II.5 Références bibliographiques

1. Young VReP, P.L. Plant proteins in relation to human protein and amino acid nutrition. *The American Journal of Clinical Nutrition*,59, 1203S–1212S. 1994.
2. FAO. Investir dans l'agriculture pour la sécurité alimentaire. Journée mondiale de l'alimentation/Telefood, Rome, Italie. 2006.
3. Favier A. Le stress oxydant. *L'actualité chimique*, 108. 2003.
4. Figueiredo AC, Barroso, J. G., Pedro, L. G., & Scheffer, J. J. Factors affecting secondary metabolite production in plants: volatile components and essential oils. *Flavour and Fragrance journal*, 23(4), 213-226. 2008.
5. Parimi NS, Singh, M., Kastner, J. R., Das, K. C., Forsberg, L. S., & Azadi, P. b. Optimization of protein extraction from *Spirulina platensis* to generate a potential co-product and a biofuel feedstock with reduced nitrogen content. *Frontiers in Energy Research*, 3, 30. 2015.
6. Bezerra MA, Santelli, R. E., Oliveira, E. P., Villar, L. S., & Escaleira, L. A Response surface methodology (RSM) as a tool for optimization in analytical chemistry. *Talanta*, 76(5), 965-977. 2008.
7. Yousfi M, Nadjemi, B., Belal, R., & Bertal, D. B. Étude des acides gras de huile de fruit de pistachier de l'Atlas algérien. *Oléagineux, Corps gras, Lipides*,10(5-6), 425-427. 2003.
8. Yousfi M, Nadjemi, B., Belal, R., Bombarda, I., & Gaydou, E. M. Triacylglycerol composition of oil from *Pistacia atlantica* fruit growing in Algeria. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 82(2), 93-96. 2005.
9. Guenane H, Bombarda, I., OuldElhadj, M. D., & Yousfi, M. (2015). Effect of maturation degree on composition of fatty acids and tocopherols of fruit oil from *Pistacia atlantica* growing wild in Algeria. *Natural product communications*, 10(10).2015.
10. M. M. Comparative survey on the essential oil composition from the leaves and fruits of *Pistacia mutica* Fischer Kerman Province. *Meadle east journal of scientific research*. 2010;Vol.5:291-7.
11. ZOHARY M. A monographical study of the genus *Pistacia*. *Palestine Journal of Botany*. Jerusalem Series. 1952:187-228.

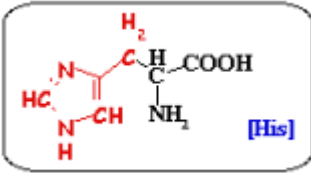
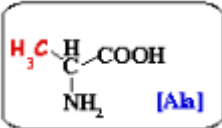
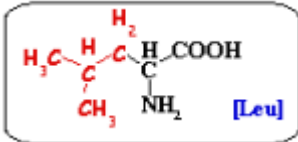
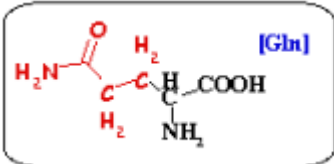
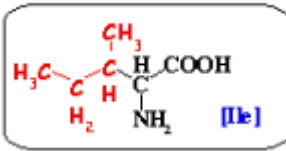
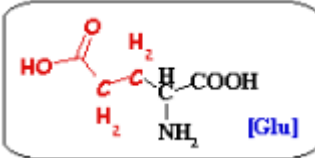
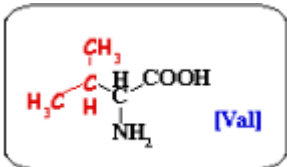
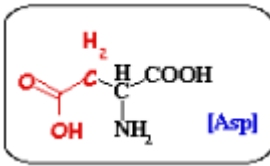
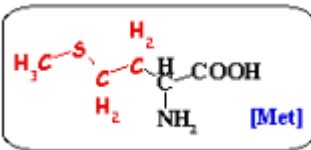
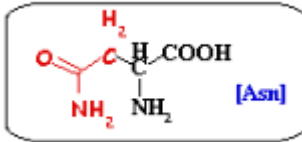
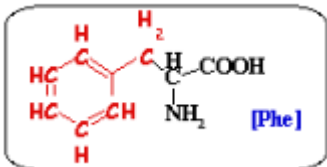
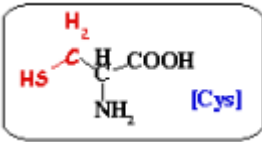
12. A. M. Connaissance du bétoum *Pistacia atlantica* Desf. Biologie et forêt Revue Forestière Française. 1980:357-63.
13. El Oualidi j AMeTA. conception , essai et évaluation des meilleures pratiques de conservation in-situ d'espèces végétales sauvages d'importance économiques. Rapport National du Projet Régional EP/INT/GEF (Commandité par la FAO). 2004.
14. *Pistacia atlantica* Desf. A review of its traditional uses pa, pharmacology. *Pistacia atlantica* Desf. A review of its traditional uses, phytochemicals and pharmacology. Journal of Medicine and Life 2018;Vol. 11,(Issue 3).180–6.
15. Zohra BF. Etude morphologique des feuilles et des fruits du pistachier de l'atlas (*Pistacia atlantica* Desf.)et valorisation des huiles essentielles des feuilles et de l'oléorésine. Université Mohamed KHEIDERBiskra. 2011/2012.
16. Abdelkrim B. Étude phyto-écologique des groupements à *Pistacia atlantica*Desf. dans le sud Oranais (Sud-Ouest algérien. 2017.
17. Fennane M. ITM, Ouyahya A. and El Oualidi J. Flore pratique du Maroc. Manuel de détermination des plantes vasculaires. 2ème éd. Institut Scientifique Rabat p:636 . 2007.
18. YAAQOBI A. EHLeBEbdPaD, de la région orientale du Maroc. Biomatec ECHO V, N° 6, 39-49. Etude biologique de *Pistacia atlantica* Desf. de la région orientale du Maroc. Biomatec ECHO, . 2009;3:39-49.
19. MONJAUZE A. Répartition et écologie de *Pistacia atlantica* DESF. en Algérie. Répartition et écologie de *Pistacia atlantica* DESF en Algérie. 1968 1–127.
20. Bozorgi M, Memariani, Z., Mobli, M., Salehi Surmaghi, M. H., Shams-Ardekani, M. R., & Rahimi, R. Five *Pistacia* species (*P. vera*, *P. atlantica*, *P. terebinthus*, *P. khinjuk*, and *P. lentiscus*): a review of their traditional uses, phytochemistry, and pharmacology. The Scientific World Journal. 2013.
21. ATYQY ME. Acides aminés et protéines, Ingénieur I.A.A. 2007.
22. C. Branden JT. Introduction to protein structure, second edition, Garland Publishing, New-York. 1999.
23. Mekhalif T. ynthese et caracterisation de resines fonctionnalisees et etude de leur affinite Vis-à-vis de l'albumine HSA(Doctoral dissertation). 2018.

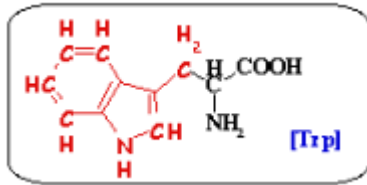
24. MERABET A. INFLUENCE DU pH SUR LE SPECTRE D'ABSORPTION DES PROTEINES FLUORESCENTES: CAS DE LA CERULEAN (Doctoral dissertation).
25. Cody WC, Prasher, D.C. et al. *Biochemistry* 32 1212-1218, . 1993.
26. Cuq JL. Les protéines végétales alternatives aux protéines animales. Comment accroître leur niveau de qualité?. 2018.
27. Hippocrate. *Hippocratic Writings*. Penguin. 1978;232.
28. Carter D.C. HJX. Structure of serum albumin. *Adv Protein Chem.* ;45:153-203. 1994.
29. Meloun B, Moravek, L., & Kostka, V. Complete amino acid sequence of human serum albumin. *FEBS letters*, 58(1-2), 134-137. 1975.
30. Musante L BM, Candiano G, Petretto A, Dimasi N, Del Boccio P, Urbani A, Rialdi G, Ghiggeri. characterization of oxidation end product of plasma albumin 'in vivo', in *Biochem Biophys Res Commun*. 2006;vol 349:668-73
31. Leybros J FP. Extraction solide-liquide aspects théoriques. *Techniques de l'ingénieur. Génie des procédés*. 1990.
32. Ouardia AHeT. Optimisation d'extraction assistée aux ultrasons de composés phénoliques et l'activité antioxydante des différentes parties de *Ziziphus jujuba* (feuilles, pulpe et graines). 2016.
33. Fadil M, Farah,A.,Ihssane,B.,Haloui,T.,Rachiq,S. Optimization of parameters influencing the hydrodistillation of *Rosmarinus officinalis* L. by response surface methodology. *J Mater Environ Sci*. 2015:2346-57.
34. Vivier S. «Stratégies d'optimisation par la méthode des plans d'expériences et application aux dispositifs électroniques modélisés par éléments finis».Thèse de doctorat, spécialité: Génie électrique , Lille (France). 2002.
35. Kimouche K. «Etude de quelques plans d'expériences associées aux surfaces de réponse».Mémoire de Magister, Constantine (Algérie). 2008.
36. Goupy JaC, L. «Introduction aux plans d'expériences». Dunod, Paris, 324p. 2006.
37. Goupy J. «Les plans d'expériences».Revue MODULAD, pp. 74-116. 2006.
38. Ducauze C. *Chimie analytique, analyse chimique et chimiométrie concepts, démarche et méthodes*».Lavoisier Tec and Doc, Paris. 2014:366p.
39. Noll JS. SDaBW. Modified Biuret Reagent for determination of protein. J.A.O.C.S. university of Manitoba, Winnipeg,Canada. 1974.
40. B. G. Protéine végétale, collection science et technique Agroalimentaire. Lavoisier, TEC et DOC, 2ème édition. Paris. 1996.

- 41.** I. C. Contribution à l'étude phytochimique des Saxifracées : isolement d'antioxydants à partir de *Saxifraga stellaris* L. et *Saxifraga cuneifolia* L. et d'un composé antifongique de *Ribes rubrum* L. Thèse de doctorat, Lausanne, PP : 175. 2000.
- 42.** Ferreira SC, Bruns, R. E., Ferreira, H. S., Matos, G. D., David, J. M., Brandao, G. C., ... & Dos Santos, W. N. L Box-Behnken design: an alternative for the optimization of analytical methods. *Analytica chimica acta*, 597(2), 179-186. 2007.

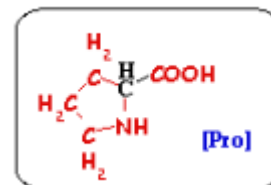
Annexe

Tableau : les principaux acides aminés

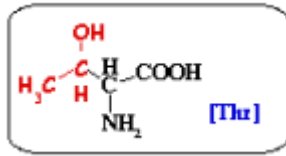
Acides aminés essentiels	Acides aminés non essentiels
<p>Histidine</p>  <p>[His]</p>	<p>Alanine</p>  <p>[Ala]</p>
<p>Leucine</p>  <p>[Leu]</p>	<p>Glutamine</p>  <p>[Gln]</p>
<p>Isoleucine</p>  <p>[Ile]</p>	<p>Glutamate</p>  <p>[Glu]</p>
<p>Valine</p>  <p>[Val]</p>	<p>Aspartate</p>  <p>[Asp]</p>
<p>Méthionine</p>  <p>[Met]</p>	<p>Asparagine</p>  <p>[Asn]</p>
<p>Phénylalanine</p>  <p>[Phe]</p>	<p>Cystéine</p>  <p>[Cys]</p>
<p>Tryptophane</p>	<p>Proline</p>



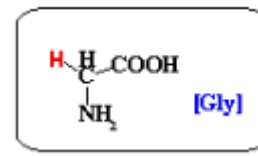
Théronine



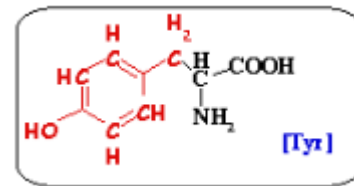
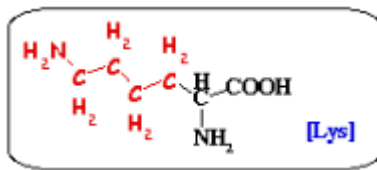
Glycine



Lysine

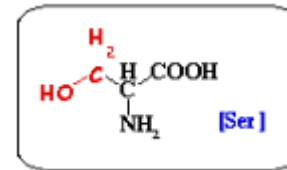
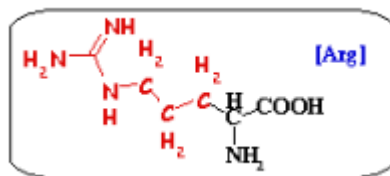


Tyrosine



Arginine

Sérine



II.6 Résumé

ملخص (تحديد الشروط المثلى لاستخلاص باستعمال طريقة الاستجابة المنهجية السطحية للألبومين الناتجة عن فاكهة البطم الأطلسي والنشاط المضاد للأكسدة).

تم تحديد الشروط المثالية لاستخلاص الألبومينات الناتجة عن فاكهة *Pistacia atlantica* (البطم الأطلسي) منزوعة الدسم، باستخدام طريقة الاستجابة المنهجية السطحية (MSR) اعتمادا على نموذج Box-Beknken. تم تقييم ثلاثة متغيرات على ثلاث مستويات: زمن الاستخلاص (10،20 و30 دقيقة) ، درجة الحرارة (40،50 و60 درجة مئوية) ونسبة تركيز المادة /مذيب (1:40، 1:50 و1:60 غ/مل) على استجابة طريقتي التقدير Lowry ، Biuret والنشاط المضاد للجذور الحرة DPPH. وفقا لسطح الاستجابة ثلاثية الأبعاد تم الحصول على الشروط المثالية للاستخلاص عند 60 درجة مئوية، خلال 30 دقيقة و 1 : 50 غ/مل باستعمال تقنية الموجات الصوتية. في هذه الشروط قدرت القيمة العظمى للألبومين ب 847,60 مغ مكافئ الألبومين مغ/غ الوزن الجاف و الفعالية المضادة للجذور الحرة ب 1.26 µM مكافئ فيتامين ج.

أظهرت معالجة 18 عينة من فاكهة البطم الأطلسي أن نسبة كميات الألبومين والنشاط المضاد للجذور الحرة كانت مرتفعة في الفواكه الناضجة، كما أن الظروف البيئية لها تأثير على محتوى الألبومين والنشاط المضاد للجذور الحرة. فاكهة البطم الأطلسي غنية بالألبومينات مقارنة بالحبوب والبنود الزيتية.

الكلمات المفتاحية ، النشاط المضاد للجذور الحرة. Box-Beknke ،فاكهة ،ألبومين ، *Pistacia atlantica*.

Résumé : (Détermination par la méthode de surface de réponse les conditions optimales sur l'extraction de l'albumine des fruits de Pistachier de l'Atlas et leur activité antiradicalaire).

Ce travail est consacré à l'optimisation de l'extraction de l'albumine à partir des tourteaux des fruits du *Pistacia atlantica*, utilisant la méthodologie de surface de réponses développée par le plan de Box–Behnken, par l'étude de les effets de trois variables indépendantes: le temps, la température et le rapport solvant/solide, sur les réponses de la teneur d'albumine par deux méthodes de dosage ; LOWRY et BIURET et sur l'activité anti radicalaire des extraits. L'analyse de cette étude atteint une maximisation d'extraction ultrasonique d'albumine à un rapport 1/50 (g/ml) pendant 30 (min) à T=60°C. Dans ces conditions la teneur d'albumine atteint une valeur **847,60** mg/g tourteaux, et de l'activité anti radicalaire **1,26** g/l en équivalent de vitamine C. Le traitement des 18 échantillons des tourteaux a montré que les meilleurs quantités en albumine et l'activité antiradicalaire sont enregistrées chez les fruits matures et que les conditions environnementales influent sur la ta teneur en albumine et l'activité antiradicalaire. Les tourteaux des fruits de Pistachier de l'Atlas sont riches en albumines comparativement aux céréales et graines oléagineuses.

Mots clés : *Pistacia atlantica*, Fruits, Albumine, Box–Behnken, activité anitradicalaire.

Abstract : (Determination by surface response method the optimal conditions for the extraction of albumin from *Pistacia atlantica* fruits and the antiradical activity.)

This work is devoted to optimize the parameters of albumin extraction from *Pistacia atlantica* oilcake fruits using the response surface methodology developed by the Box–Behnken design BBD, by studying the effect of tree independents variables: Time, temperature and solvent/solid ration, on the responses of albumin quantity by both Biuret, Lowry methods and on antioxidant activity extracts. Analysis of this study showed that the optimal ultrasound extraction parameters that maximized the responses were 30 min, 60°C and 1/50 g/mL. Under these conditions, the albumin content reaches a value 847.60 mg/g oilcake, and antiradical activity 1.26 g / L in vitamin C equivalent. The treatment of the 18 cake samples showed that the best albumin quantity and antiradical activity are recorded in mature fruits, and environmental conditions influence albumin content and antiradical activity. The cakes of *Pistacia atlantica* fruits are rich in albumin compared to cereals and oleaginous seeds.

Key words: *Pistacia atlantica*, Fruits, Albumin, Box-Behnken, antiradical activity.