

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



Université Abderrahmane Mira de BEJAIA
Faculté des Sciences de la nature et de la vie
Département des sciences alimentaires

MEMOIRE DE FIN DE CYCLE
En vue de l'obtention d'un diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie
Filière : Sciences Alimentaires
Spécialité : Qualité des Produits et Sécurité Alimentaires

Thème

**L'enrichissement de l'huile de tournesol avec les écorces de la
citrouille pour l'amélioration de sa stabilité oxydative**

Présenté par :

SADDI MAHAMADOU Abdoul Nasser & GHABIDINE MOHAMED Torat

Soutenu le : 04 Juillet 2024

Devant le jury composé de :

M ^{me} Tazart Karima	MCB	Présidente
Mme Boubechir Kahina	MAA	Examinatrice
Mme Brahmi Fatiha	Pr.	Promotrice

Année universitaire

2023/2024

REMERCIEMENTS

Avant tout, nous remercions Allah, le tout puissant, pour nous avoir accordé la force, le courage et la patience pour achever ce travail. La réalisation de ce mémoire a été possible grâce à la participation de plusieurs personnes à qui nous voudrions adresser toute notre reconnaissance.

*Nous voudrions tout d'abord adresser toute notre gratitude à notre promotrice, **Mme BRAHMI Fatiha** pour sa patience, sa disponibilité, sa gentillesse et surtout ses judicieux conseils et ses encouragements qui nous ont beaucoup aidés et assistés lors de ce modeste travail.*

Nos remerciements vont également à :

***Mme T. Karima** pour l'honneur qu'elle nous fait de présider notre jury et à **Mme B. Kahina** d'avoir accepté d'examiner notre travail.*

*Nous tenons à remercier **Mr Drahi** et tout le personnel du laboratoire d'analyse instrumental et sans oublier bien sûr les membres du laboratoire 3BS.*

*Nous tenons également à remercier **Mr Bouchta** et **Mr Hajal** responsables (Cévitel) respectivement du laboratoire central et R&D sans oublier aussi leurs personnels.*

Nos sincères remerciements à toute personne ayant contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail

Enfin, nous tenons à remercier nos parents, pour tout l'amour et le soutien qu'ils nous ont apporté à tous les moments de notre vie. Ils ont toujours été une source de tendresse et un modèle de travail, de sagesse et d'humilité.

Nos sincères remerciements aussi :

A nos frères.

A nos sœurs.

A nos amies et camarades.

Merci à vous tous



Dédicaces

C'est avec un énorme plaisir, un cœur ouvert et une immense joie que je dédie ce travail :

A mes chers Parents, pour leurs sacrifices, leurs encouragements, leurs soutiens, leurs précieux conseils et leurs prières durant toute ma vie

Qu'Allah vous accorde le PARADIS !!!

A mes chers frères pour leurs encouragements qui m'ont été d'un grand soutien, Merci d'être toujours à mes côtés.

A mon binôme « Lamine » et toute sa famille.

A Mme BRAHMI Fatiha pour sa patience, sa disponibilité, sa gentillesse et surtout ses judicieux conseils et ses encouragements qui nous ont beaucoup aidé et assisté lors de ce modeste travail.

A tous mes partenaires de classes, mes enseignants, mes professeurs de la maternelle jusqu'à l'université.

Aux meilleurs et aux plus merveilleux amis du monde (Rambé).

A tous ceux qui m'ont soutenu, de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Des fois, les mots ne suffisent pas pour exprimer tout le bien qu'on ressent !

Juste : MERCI à vous

Abdoul Nasser SADDI



Dédicace

Grâce à Dieu, je dédie ce modeste travail :

À ma très chère mère, la lumière de mes yeux, ZAHRATOU

À La mémoire de mon père que Dieu l'accueille dans son vaste paradis

À mon cher beau-père, EBATAK merci pour vous. Qu'ALLAH vous protège toujours.

À mon oncle, ma tante, mes cousins et cousines surtout : Acheck, Tinnana, Aisha, Faical, Baye, Azahra.

À ma grande sœur et son mari : Minatou, Baye.

À mes très chers frères et sœurs, Adnan, Hashim, Zainab, Ahmad, Hammadi, Sofiane, Nouri, Douman, Hamza, Khtari, Ghissa, Fattou, Ftimama, Ali, Aisha..

À mes adorables neveux et nièces : Hammada, Abdallahi, Nana, Younouss, Baba, Hanoune, Loula, Doumane, Fahad, Nouri

À ma famille élargie, à mes tantes, oncles, cousins et cousines, dont le soutien et les encouragements ont été une source de force et de courage

À Mme Fatiha Brahmi, mon encadrante, dont les conseils avisés, les orientations précieuses et le soutien constant ont été d'une aide inestimable dans l'élaboration de ce mémoire.

À mes chers amis(es), Lamine, Khalid, Hashemi Yasmine, Ahmed, Marwan, Aboubacar, Seydou, Hannafi, Mohamed, Youssouf, Ahmoudou, Soumana.

À mon Binôme, Abdoul Nasser, avec qui j'ai partagé ce voyage académique. Merci pour notre collaboration fructueuse et notre soutien mutuel. À toute la section QPSA II 2023/24, pour l'esprit d'entraide et de solidarité qui nous a unis.

Ghabidine Mohamed Torat

Table des matières

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction générale 1

PREMIERE PARTIE : SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

Chapitre I : Généralités sur la citrouille : *Cucurbita pepo* L.

1. Historique 3

2. Description botanique 3

3. Répartition géographique 4

4. Utilisations de la citrouille 4

5. Composition chimique de la citrouille 4

Chapitre II : Huile de tournesol : entre tradition et innovation

1. Définition du tournesol et son huile 7

2. Caractéristiques physiologiques et botaniques de tournesol 7

3. Production mondiale 8

4. Composition générale de l'huile 9

5. Procédés de fabrication de l'huile de tournesol 10

5.1. Traitement des graines 10

5.2. Traitement de l'huile : RAFFINAGE 10

6. Intérêt diététique et nutritionnel de l'huile de tournesol 12

Chapitre III : Oxydation et application alimentaire

1. Oxydation lipidique 13

1.2. Types d'oxydations lipidiques 13

1.3. Prévention de l'oxydation lipidique 14

1.3.1. Définition de l'antioxydant 14

1.3.2. Antioxydants naturels : polyphénols 14

2. Enrichissement des huiles végétales avec les produits naturels 16

Chapitre IV : Présentation du complexe Cévitral

1. Présentation du complexe Cévitral 19

1.1. Historique 19

1.2. Implantation 19

1.3. Activités 19

1.4. Raffinerie 19

1.5. Approvisionnement 20

1.6. Contrôle de qualité 20

1.7. Capacité de production 21

1.8. Organisation de Cévital	21
------------------------------------	----

DEUXIEME PARTIE : ETUDE EXPERIMENTALE

MATERIELS ET METHODE

1. Analyses phyto-chimiques	23
1.1. Optimisation des paramètres d'extraction des composés phénoliques.....	23
1.1.1. Préparation du solvant d'extraction.....	23
1.2. Facteurs influençant l'extraction	24
1.3. Stratégie d'optimisation par la méthode des plans d'expériences.....	24
1.4. Application du plan d'expérience.....	24
1.5. Dosage des composés phénoliques.....	25
1.6. Dosage des flavonoïdes	25
1.7. Dosage des flavonols.....	26
1.8. Dosage des tannins condensés.....	26
1.9. Evaluation de l'activité antioxydante	26
1.9.1. Test au radical DPPH	26
1.9.2. Test au phosphomolybdate d'ammonium	27
1.10. Préparation de la matrice végétale (Poudre de la citrouille).....	27
1.11. Préparation des huiles enrichies	28
2. Analyses physico-chimiques des huiles.....	29
2.1. Détermination de l'indice de peroxyde	29
2.2. Détermination de l'acidité	30
2.3. Détermination de l'ndice d'iode.....	31
2.4. Détermination de la couleur	31
2.5. Test de stabilité oxydative Rancimat (ISO 6886, 2006).....	32
➤ Principe	32
3. Analyse statistique.....	33

RESULTATS ET DISCUSSION

1. Paramètres phyto-chimiques.....	34
1.1. Optimisation des conditions d'extraction des composés phénoliques	34
1.1.1. Etude préliminaire	34
1.1.2. Application des plans d'expériences	37
1.1.3. Validation du modèle	38
1.2. Teneurs en composés phénoliques de l'extrait optimisé.....	42
1.2.1. Polyphénols totaux	42
1.2.2. Teneurs en Flavonoïdes totaux	43
1.2.3. Teneurs en flavonols.....	43
1.2.4. Teneurs en tannins totaux.....	43
1.3. Activité antioxydante de l'extrait optimisé	44

2. Enrichissement de l'huile de tournesol par l'écorce de citrouille	44
2.1. Qualité physico-chimiques de l'huile	44
2.2. Test de stabilité oxydative (test de Rancimat).....	46
2.3. Couleur	47

Conclusion

Références bibliographiques

Annexes

Résumé

Liste des abréviations

A% : Acidité de l'huile en pourcentage

ABTS : acide 2,2'-azino-bis (3-éthylbenzothiazoline-6-sulphonique)

Ac : Acidité

AFNOR : Association Française de Normalisation

AG : Acide gras

AGI : Acides gras insaturés

AGS : Acides gras saturés

ANOVA : Analysis of variance

C.O.I : Conseil oléicole international

CCM : Chromatographie sur couche mince

CPG : Chromatographie en phase gazeuse

CPT : Composés phénoliques totaux

DPPH : 2,2-diphényl-1-picryl-hydrazyl

EC : Écorce de citrouille

EDTA : Ethylène diaminetétra acétique

FAOSTAT: Food and Agriculture Organization Corporate Statistical Database

HPLC : Chromatographie liquide à haute performance

I2 : Iode

IC₅₀ : Concentration d'inhibition à 50%

Ip : Indice de peroxyde.

ISO: International Standards Organization

J/R : Jaune/Rouge

Meq O₂/Kg MG : Milliéquivalent d'oxygène par kilogramme de matière grasse

Mg EAG/ g MS : Milligramme équivalent de l'acide gallique par gramme de matière sèche

Mg EAG/g : Milligramme équivalent d'acide gallique par gramme d'extrait

Mg EC/100 g MS : Milligramme équivalent de catéchine par 100 grammes de matière sèche

Mg EQ/100 g MS : Milligramme équivalent de quercétine par 100 grammes de matière sèche

ODF : Oléine doublement fractionnée

PPT : Polyphénols totaux

ROS : Espèces réactives de l'oxygène

rpm : Rotation par minute

T.I.R : Temps d'induction au test Rancimat

Liste des figures

N°	Titre	Page
1	Photographies de la morphologie de la citrouille (A) et de ces graines (B)	3
2	Photographies de la plante de tournesol (A) et de l'huile de tournesol (B)	7
3	Appareil végétatif aérien d' <i>Helianthus annuus</i> L.	8
4	Production de l'huile de graines de tournesol par région	9
5	Schéma général des procédés de production d'huile de tournesol	10
6	Etapas du raffinage chimique des huiles végétales brutes	11
7	Mécanismes généraux de l'oxydation des lipides	14
8	Organigramme du complexe Cévital	22
9	Photographie de la poudre de citrouille	28
10	Photographie des huiles enrichies	28
11	Photographie des flacons dans un bain ultrason à 30°C	29
12	Photographie des huiles filtrées	29
13	Choix du temps d'extraction de l'écorce de la citrouille	34
14	Choix de la vitesse d'extraction pour l'écorce de la citrouille	35
15	Choix du ratio d'extraction de l'écorce de la citrouille	36
17	Valeurs prédites en fonction des valeurs expérimentales	38
18	Diagramme de surface de réponse de l'écorce de citrouille	40
19	Teneur prévue en polyphénols totaux et niveau de désirabilité pour les différentes variables d'optimum extraction de polyphénols à partir d'EC	41
20	Courbes de la stabilité oxydative au test Rancimat de l'huile de tournesol témoin (A) et enrichie avec l'écorce de la citrouille à 2,5% (B), 5% (C) et 10 % (D)	47

Liste des tableaux

N°	Titres	Page
I	Principaux composants des différentes parties de la citrouille et leurs activités biologiques	5
II	Production de l'huile de graines de tournesol en 2021	8
III	Composition en acides gras de l'huile de tournesol	9
IV	Travaux majeurs sur les huiles naturelles enrichies en antioxydants	16
V	Capacités de production en bouteille en 1999	21
VI	Capacités de production par variétés d'huile	21
VII	Variables indépendantes et les niveaux des facteurs influençant sur l'extraction	25
VIII	Optimisation des conditions par le plan d'expérience de l'EC	37
IX	Analyse de la variance (ANOVA) pour la teneur en polyphénols totaux (Y) des extraits	39
X	Résumé des effets des facteurs dans l'EC	40
XI	Teneurs en composés phénoliques de l'extrait optimisé de l'EC	42
XII	Valeurs d'IC ₅₀ des activités antioxydantes de l'extrait optimisé de l'EC	44
XIII	Qualité physicochimiques de l'huile de tournesol enrichie à la citrouille	45
XIV	Couleur de l'huile de tournesol témoins et celle enrichie par l'écorce de la citrouille	47



Introduction

Introduction générale

Les huiles végétales jouent un rôle essentiel dans notre alimentation. Elles apportent non seulement l'énergie nécessaire à notre organisme, mais elles sont également une source importante d'acides gras essentiels, notamment l'acide linoléique (**Meziane et al., 2021**). Parmi les huiles végétales extraites des graines oléagineuses : l'huile de tournesol. Elle est principalement utilisée dans l'alimentation humaine, notamment comme huile de table (**Cossut et al., 2002 ; Karikal, 2005**).

L'huile de tournesol, comme la plupart des huiles végétales, est principalement constituée de triglycérides (98-99%), avec une petite fraction de phospholipides, de caroténoïdes, de stérols et de cires. L'huile de tournesol classique se distingue par une proportion élevée d'acides gras insaturés, principalement l'acide linoléique, suivi de l'acide oléique (**Groupon, 2005**).

La stabilité oxydative des huiles dépend principalement de leur quantité et de leurs types d'acides gras insaturés (AGI) et de la présence d'antioxydants (**Kamal-Elvin, 2006**). Les huiles très riches en AGI seront les plus sensibles à l'oxydation. Cette stabilité sera également dépendante par la présence de tocophérols, notamment la vitamine E, qui jouent un rôle protecteur en tant qu'antioxydant (**Fränkel, 2007 ; Graille, 2003**). La vitesse d'oxydation dépend de la qualité initiale de l'huile, notamment par sa concentration en hydro peroxydes. Ces composés jouent le rôle d'initiateurs de radicaux, particulièrement en présence d'ions métalliques (**Cuvelier et al., 2020**).

La détérioration oxydative des lipides dans les huiles végétales constitue un facteur majeur limitant la durée de conservation des produits alimentaires. La gestion de ce processus est essentielle pour prévenir les effets indésirables sur la sécurité alimentaire causés par la dégradation des aliments. Parmi les solutions technologiques disponibles, l'ajout d'agents antioxydants aux huiles et aux aliments riches en lipides est une pratique éprouvée depuis longtemps. Toutefois, les antioxydants synthétiques ont des effets négatifs sur la santé humaine et sont sensibles aux températures élevées ; l'ampleur de ce problème conduit à recommander de plus en plus l'utilisation d'antioxydants naturels en remplacement aux antioxydants synthétiques (**Kahouli, 2010**).

Parmi les plantes de la flore algérienne aux propriétés antioxydantes se trouve la citrouille, *Cucurbita pepo* L., réputée pour sa richesse en composés phénoliques,

caroténoïdes, vitamines E, phytostérols et aussi pour ces différentes propriétés biologiques, antimicrobiennes et antioxydantes (Caili et al., 2006).

L'objectif de cette étude consiste à déterminer la stabilité oxydative d'une huile de tournesol enrichie par les écorces de la citrouille à des doses respectivement de 2,5%, 5% et 10%, analysée sur le plan physicochimique et en déterminant sa stabilité oxydative ; au préalable, l'optimisation des conditions d'extraction des antioxydants (composés phénoliques) de la citrouille est évaluée et son activité antioxydante est réalisée.

Afin d'atteindre cet objectif nous avons organisé ce travail en deux parties :

La première partie qui est consacrée à la synthèse bibliographique est-elle-même subdivisée en trois chapitres :

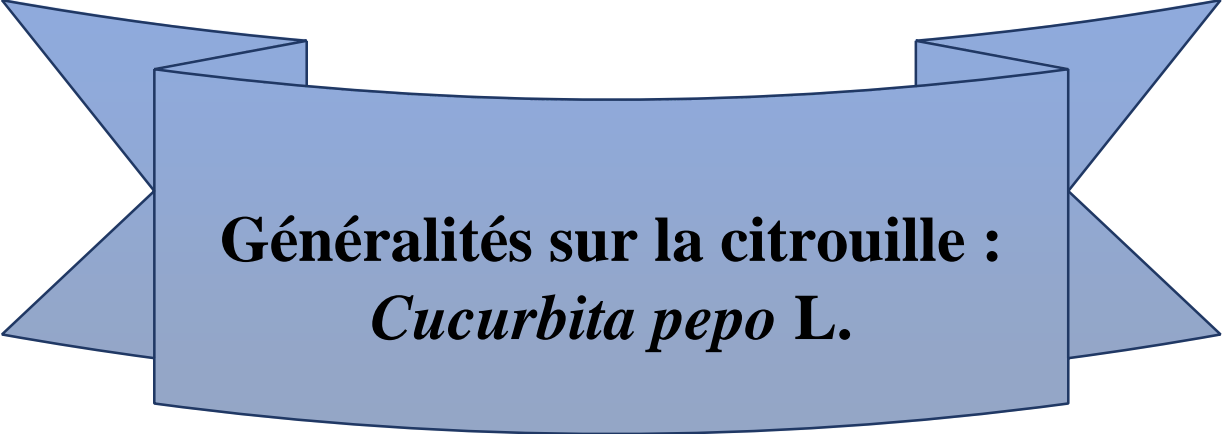
- **Un premier chapitre** consacré à la présentation des généralités de l'espèce de la citrouille *Cucurbita pepo* L., et ses activités biologiques.
- **Un deuxième chapitre** consacré à des généralités sur les huiles végétales telles que les huiles de tournesol, sur leur procédé de fabrication.
- **Un troisième chapitre** comportant tous ce qui concerne l'oxydation des lipides et les applications alimentaires des huiles.

□ La deuxième partie qui est la **partie pratique** consacrée à la présentation du complexe auquel la réalisation de ce travail a eu lieu, aux méthodes et matériel utilisés et à la discussion des différents résultats obtenus.



Partie bibliographique

Chapitre 1



Généralités sur la citrouille :
Cucurbita pepo L.

1. Historique

Cucurbita pepo L. est l'une des plus anciennes espèces connues qui appartient au genre *Cucurbita* et à la famille des *Cucurbitaceae*. Les citrouilles sont cultivées depuis environ 3 500 avant JC, rivalisant avec le maïs comme l'une des cultures les plus anciennes connues dans l'hémisphère occidental. Des preuves archéologiques suggèrent que les citrouilles sont originaires des Amériques, depuis la partie sud-ouest de ce qui est aujourd'hui les États-Unis en passant par le Mexique et l'Amérique centrale et vers le sud jusqu'au Pérou, en Équateur et en Colombie. Plutôt que d'utiliser leurs graines nutritives et facilement disponibles, les indigènes précolombiens cultivaient des citrouilles pour leur chair. Ils ont été parmi les premières cultures destinées à la consommation humaine en Amérique du Nord (Ghedira et al., 2013).

2. Description botanique

Cucurbita pepo L., est un fruit issu d'une grande plante herbacée annuelle à très longues tiges rampantes, caractérisée par des vrilles ramifiées, par de grandes fleurs (5 à 10 cm) pentamères, unisexuées, gamopétales, jaunes. Les feuilles, à cinq lobes plus ou moins distincts, sont velues, longuement pétiolées et couvertes de poils raides. Le fruit est une grosse baie volumineuse, charnue, renfermant de nombreuses graines dans une pulpe spongieuse. La graine est aplatie, blanchâtre. Amincie en goulot oblique à l'une de ses extrémités, elle est bordée d'un bourrelet arrondi (Figure 1) (Khennouss, 2015).

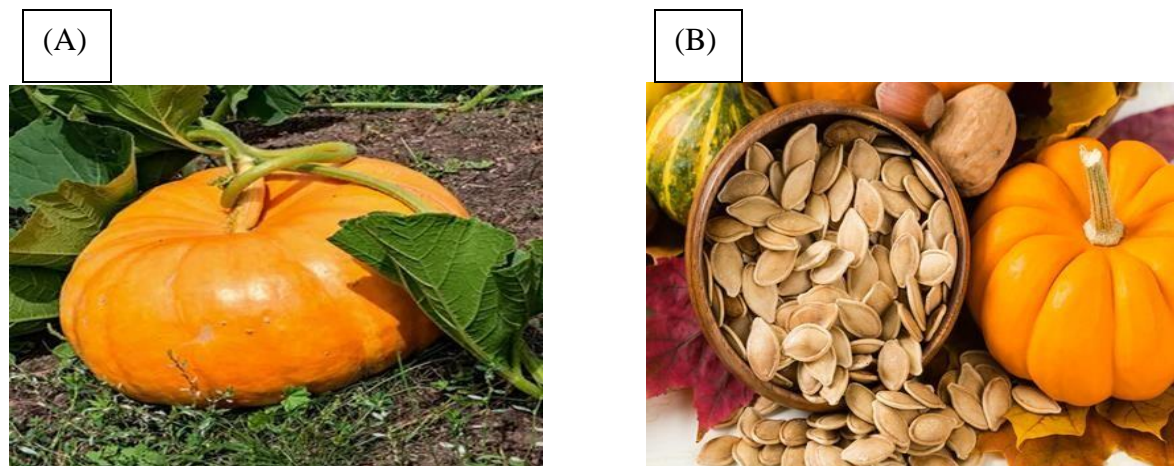


Figure 1 : Photographies de la morphologie de la citrouille (A) et de ces graines (B) (Anonyme 1)

3. Répartition géographique

Au cours des dernières années, différentes espèces de citrouilles sont cultivées dans le monde entier, dans des conditions environnementales variées, avec un rendement de production élevé (**Phillips et al., 2005**).

La consommation mondiale de ce légume est aujourd'hui estimée à 22,8 millions de tonnes par an (**FAOSTAT, 2022**). Selon cette même source, les trois principaux producteurs mondiaux de courges et de citrouilles sont la Chine avec une récolte de 7 325 193 tonnes, suivie de l'Ukraine (1 097 780 tonnes), de la Russie (1 050 034 tonnes) et des Etats Unies (1 025 777 tonnes). Tandis que, l'Algérie (400 490 tonnes) est le deuxième producteur de la citrouille sur le continent Africain après le Malawi (405 020 tonnes). La citrouille est également cultivée dans de nombreuses régions d'Algérie. Le commerce des citrouilles est également actif, les États-Unis étant le premier importateur de citrouilles, suivis par la France, le Japon, l'Allemagne et le Royaume-Uni. D'autre part, le Mexique exporte le plus de citrouilles, suivi par l'Espagne, la Nouvelle-Zélande, les États-Unis et la Turquie (**FAOSTAT, 2022**).

4. Utilisations de la citrouille

Les espèces de *Cucurbita pepo. L* sont généralement reconnues comme la vraie citrouille, et cultivées pour la consommation humaine et pour une utilisation en médecine traditionnelle (**Caili et al., 2006**). Leur poudre est utilisée comme un agent aromatisant dans de nombreux produits alimentaires notamment les bonbons, le café et les produits de boulangerie (**AlGhamdi et al., 2020**), consommé en particulier dans les soupes ou comme légume cuit (**Bussmann et al., 2019**).

Dans de nombreuses régions, elles sont principalement cultivées pour leurs graines, utilisées soit directement pour la consommation, soit pour produire de l'huile (**Filbrandt et Katelyn, 2012**). Également disponibles dans la gamme des produits cosmétiques, tels que les gommages pour la peau, les masques et les beurres corporels, les huiles et les lotions de massage, et des masques faciaux secs (**Ratnam et al., 2017**). Elles ont été largement utilisées dans la médecine traditionnelle pour traiter diverses maladies, notamment comme remède contre les vers, tels que le ténia (**Younis et al., 2000**).

5. Composition chimique de la citrouille

La valeur énergétique des graines de citrouille varie de 550 à 610 calories par 100 g (**Deimel, 2007**). La couleur jaune à orange foncé des fruits des cucurbitacées résulte d'une forte teneur en caroténoïdes, principalement du β -carotène et/ou de la lutéine ainsi que de la

zéaxanthine (Adebayo et al., 2013, Chilczuk al., 2014). Le trait commun entre les cucurbitacées est la faible teneur en matières grasses de leurs pulpes (environ 2,3% dans *C. pepo*) et un faible index glycémique en raison de la teneur élevée en fibres alimentaires, en particulier les pectines (Kostecka-Gugała et al., 2020).

Les fruits des cucurbitacées sont riches également en composés phénoliques : acides protocatéchuique, chlorogénique, salicylique, *p*-hydroxybenoïque, *p*-cumariques, et enériodictyol-7-néohespéridoside et hespéridine (Kostecka-Gugała et al., 2020).

Le **Tableau I** récapitule la composition chimique principale et les activités biologiques de la citrouille.

Tableau I : Principaux composants des différentes parties de la citrouille et leurs activités biologiques (Ratnam et al., 2017).

Parties	Composants chimiques	Activités biologiques
Fruit	Glucides (66%)	Antidiabétique (Hypoglycémiant aiguë)
	Protéines (3%)	Anticancéreuse
	Oligo-éléments Mn (0,5 mg/kg), Fe (1,37 mg/kg), Cu (mg/kg), Pb (0,29 g/kg), Ni (0,5 mg/kg)	Antioxydants
	Minéraux P (11,38 mg/k), Mg (190 mg/kg), Na (159 mg/kg), K (160 mg/kg)	Antioxydants
Ecorce	Carbohydrates (37 - 19,45 %)	Antidiabétiques
	Protéines (0,92 - 23,95%)	Anticancéreuses
	Lipides (0,47 - 6,57 %)	Antioxydantes
	Fibres (1,23 - 29,62%)	Antioxydante
	Minéraux Macroéléments P 11,38 K 160 Ca 5571 Mg 190	Antioxydantes

	(g/g)	Microéléments Na 159 Fe 91,33 Zn 42,92 Cu 12,91 Se 0,0127 Mn 0,5 Ni 0,5 Pb 0,29	
Feuilles	Vitamines E (Tocophérols)		Antioxydante, antidiabétique
	Tanins		Antioxydante
	Flavonoïdes		Antioxydante
	Saponines		Antimicrobien, antifongique
Graines	Vitamines E (Tocophérols)		Antioxydants, antidiabétique
	Vitamines C		Antioxydante
	Caroténoïdes		Antioxydante
	Triterpénoïdes (Squalène)		Antioxydant, anticancéreux
	L'acide γ-aminobutyrique		Anti-dépression, anti-hypertension
	Acides gras saturés et insaturé		Anti-inflammatoire
	Peptides		Antifongique, antimicrobien
Les Polysaccharides		Antioxydantes, antitumorales, immunorégulatrices, hypoglycémiantes, hépatoprotectrices	

Chapitre II



*Huile de tournesol :
Entre tradition et innovation*

1. Définition du tournesol et son huile

Le tournesol, également appelé "Grand-Soleil", est une plante oléagineuse annuelle (**Figure 2A**) riche en huile, faisant partie de la famille des *Astéracées* et portant le nom scientifique *Helianthus annuus* L. Son appellation scientifique trouve ses origines dans les termes grecs "Helios" et "Anthos", signifiant respectivement "soleil" et "fleur". Le tournesol est souvent désigné comme la "fleur du soleil" (*sunflower* en anglais). L'appellation française provient quant à elle du comportement caractéristique de la plante qui suit la trajectoire du soleil tout au long de la journée (**Fernández-Martínez et al., 2010**).

L'huile de tournesol est une huile végétale extraite des graines de tournesol (**Figure 2B**). Elle est l'une des huiles végétales les plus consommées dans le monde en raison de son goût neutre et de sa haute teneur en acides gras polyinsaturés, en particulier l'acide linoléique. Cette huile est principalement utilisée en cuisine pour la cuisson, la friture et la préparation de vinaigrettes (**Cossut, 2002**).

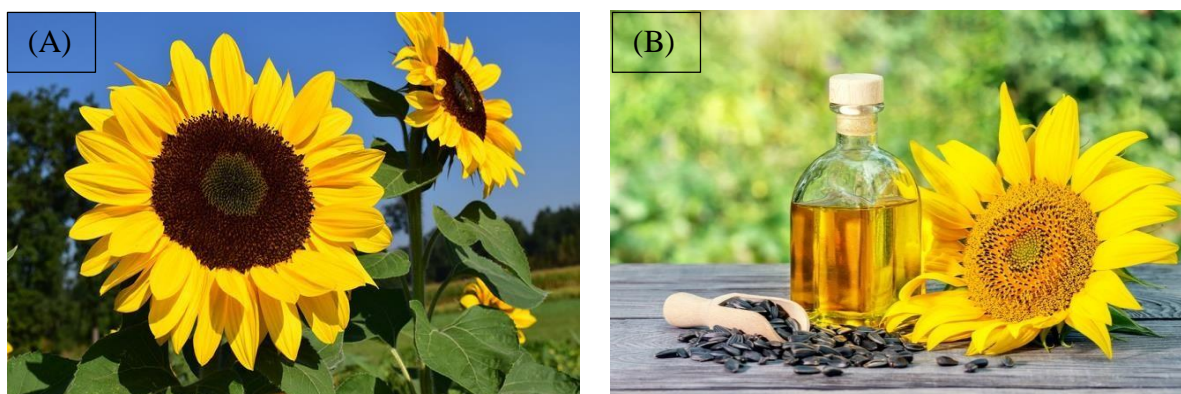


Figure 2 : Photographies de la plante de tournesol (A) et de l'huile de tournesol (B) (**Anonyme 2**).

2. Caractéristiques physiologiques et botaniques de tournesol

Le tournesol est une plante annuelle dont la taille varie entre 1 et 4 m selon les variétés et les conditions de culture (**Figure 3**). Les tiges sont normalement non ramifiées et, comme la plupart des autres parties de la plante, elles peuvent varier de glabres à très pubescentes. Les premières feuilles sont toujours opposées mais, chez certaines variétés, les suivantes deviennent alternes (**Ebrahimi, 2008**). Les capitules, réceptacles floraux charnus, peuvent atteindre 15 à 30 cm de diamètre (**Temagoult, 2009**).

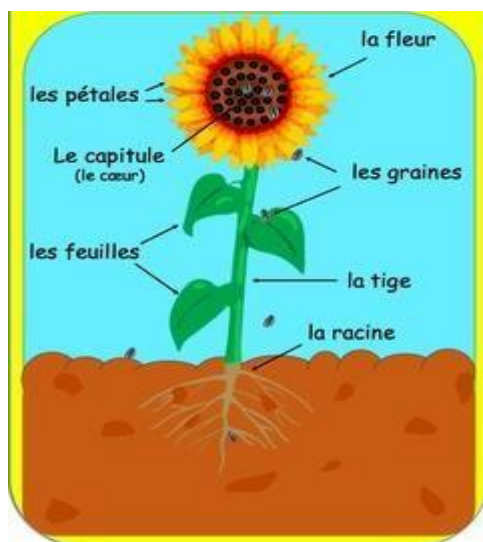


Figure 3 : Appareil végétatif aérien d'*Helianthus annuus* L. (Anonyme 3)

3. Production mondiale

A l'échelle mondiale, le tournesol apparaît comme l'une des espèces oléagineuses annuelle les plus importantes (**Figure 4**), où il occupe la quatrième position après le soja, le colza et le coton avec une superficie de 26 millions ha, une production de 47 millions de tonnes et un rendement de 18 Q/ha comme il représente 8% du marché mondial des oléagineux. Les principaux pays producteurs de tournesol sont l'Ukraine avec une production de 4,4 millions de tonnes par an, suivie par la Fédération de Russie avec une production annuelle de 4 millions de tonnes (**FAO stat, 2021**) (**Tableau II**).

Concernant le continent Africain (**Tableau II**), c'est l'Afrique du Sud qui se détache avec près de 300 000 tonnes de production annuelle. En raison des conditions climatiques et de la priorité accordée à la culture des céréales avec rotation des cultures, la production de graines oléagineuses en Algérie n'a jamais atteint des niveaux significatifs (**Saleh et al., 2019**).

Tableau II : Production de l'huile de graines de tournesol en 2021 (FAOSTAT ;2 mai 2024)

Pays	Ukraine	Russie	Argentine	Turquie	Hongrie	Espagne	Af. du sud
Tonnes	4400000	4100000	9210000	901000	694000	525000	296000

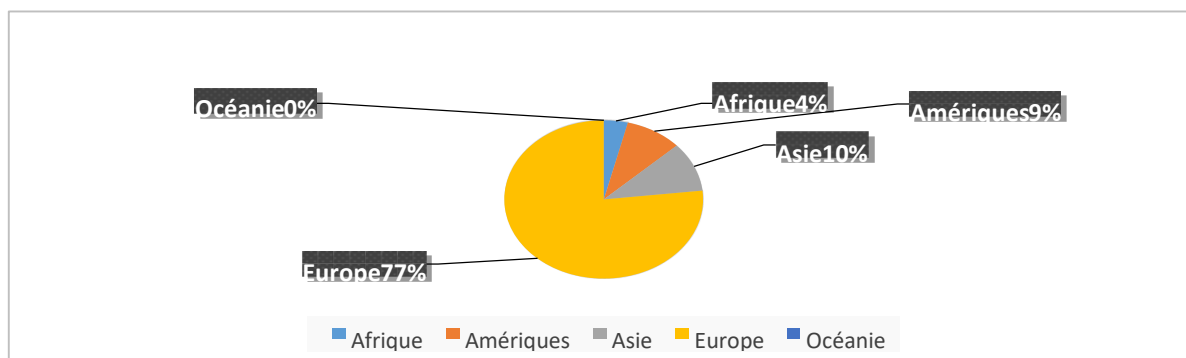


Figure 4 : Production de l'huile de graines de tournesol par région (FAO stat, 2021).

4. Composition générale de l'huile

Les conditions de production ont un impact considérable sur la composition de l'huile végétale. Il existe deux principales variétés d'huile de tournesol : l'huile "classique", qui est principalement composée d'Oméga-6, et l'huile "oléique", qui est riche en oméga 9. Cette dernière présente une stabilité supérieure et est plus adaptée à une utilisation en cuisson (Morin et al., 2012).

La graine de tournesol contient différents constituants tels que les protéines (15 à 19%), les lipides (44 à 52%), la lino-cellulose (13 à 22%) et l'eau (9%) (Roche, 2005). Tandis que, l'huile de tournesol se compose de 90% d'AGI (acide oléique et linoléique) et 10% d'AG saturés (acide palmitique et stéarique) (Roche, 2005). Le tableau III représente la composition en acide gras de l'huile de tournesol exprimée en % des acides gras totaux.

Tableau III : Compositions en acides gras de l'huile de tournesol (%) (Morin et al., 2012).

Acide gras	Nature	% d'AG totaux
Acide myristique	C14 :0	< 0,2
Acide palmitique	C16 :0	5-8
Acide margarique	C17 :0	< 0,1
Acide stéarique	C18 :0	4-6
Acide arachidique	C20 :0	< 0,5
Acide béhénique	C22 :0	0,5-1
Acide lignocérique	C24 :0	< 0,3
Acide palmitoléique	C16 :1	< 0,5
Acide héptadinoïque	C17 :1	-
Acide oléique	C18 :1	15-25
Acide gadoléique/gondoïque	C20 :1 (n-11) /C20 :1 (n-9)	< 0,5
Acide érucique	C22 :1 n-9	< 0,2
Acide linoléique	C18 :2 n-6	62-70
Acide Alpha-linolénique	C18: 3 n-3	< 0,2
Acide gras saturés	AGS	10-16
Acide gras mono insaturés	AGMI	15-26
Acide gras polyinsaturés	AGPI	62-70

5. Procédés de fabrication de l'huile de tournesol

5.1. Traitement des graines

En général, les méthodes de transformation des graines oléagineuses à haute teneur en huile comprennent les étapes suivantes : le nettoyage et la préparation des graines, le décortiquage, le broyage et l'aplatissage, la cuisson, la pression et l'extraction (**Karleskind, 1996**) (Figure 5).

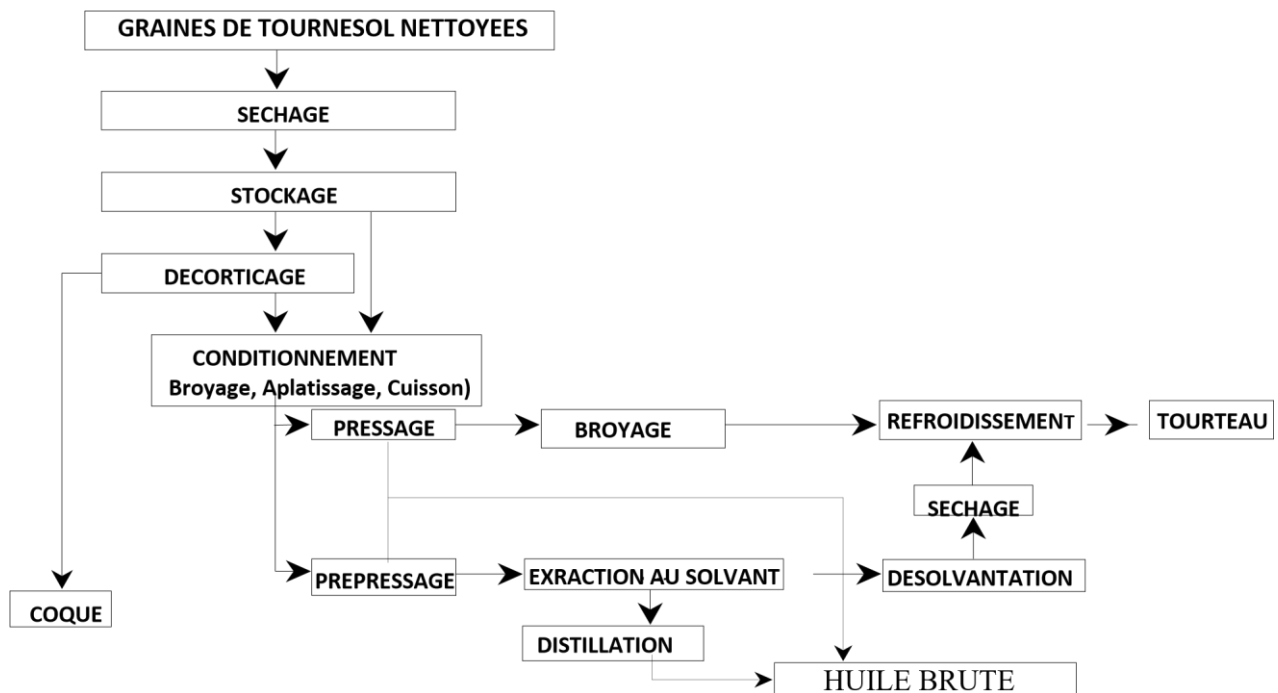


Figure 5 : Schéma général des procédés de production d'huile de tournesol (**Campbell, 1983**).

5.2. Traitement de l'huile : RAFFINAGE

Le raffinage des huiles brutes est essentiel pour obtenir un produit présentant un aspect attrayant, un goût neutre, une résistance à l'oxydation, adapté à son utilisation prévue et dépourvu de substances toxiques et nocives (**Karleskind et Wolff, 1992 ; Gibon et Tirtiaux, 1998**). L'objectif principal du raffinage est d'éliminer les substances indésirables tout en préservant celles qui sont bénéfiques. Parmi les composés à éliminer :

- **Phospholipides** : il s'agit de substances naturellement présentes dans les huiles végétales. Elles sont formées d'une molécule de glycérol estérifiée par des acides gras en positions 1 et 2, et par un phosphate en position 3. La partie phosphatidique est hydrophile, ce qui facilite l'élimination des phospholipides par décantation après les avoir rendus insolubles par hydratation (**Kartika, 2005**).

- **Acides gras libres** : l'élimination des acides gras libres peut être réalisée soit par des méthodes chimiques telles que la neutralisation à la soude, soit par des méthodes physiques comme l'entraînement à la vapeur. Cette étape représente la phase la plus délicate et cruciale du processus de raffinage (Kartika, 2005).
- **Colorants** : le β -carotène est présent dans toutes les huiles végétales. Il s'agit d'un colorant qui est particulièrement sensible à la chaleur et à l'oxydation. Les colorants d'origine oxydative donnent aux huiles une teinte brune et posent davantage de problèmes que les autres, car ils sont moins facilement retenus par les produits adsorbants utilisés pour éliminer la couleur des huiles (Kartika, 2005).
- **Autres constituants** : les cires, l'eau, les sucres libres, glycolipides, ...

L'huile une fois obtenue, le processus de raffinage entraîne plusieurs Traitements **Figure 6** .

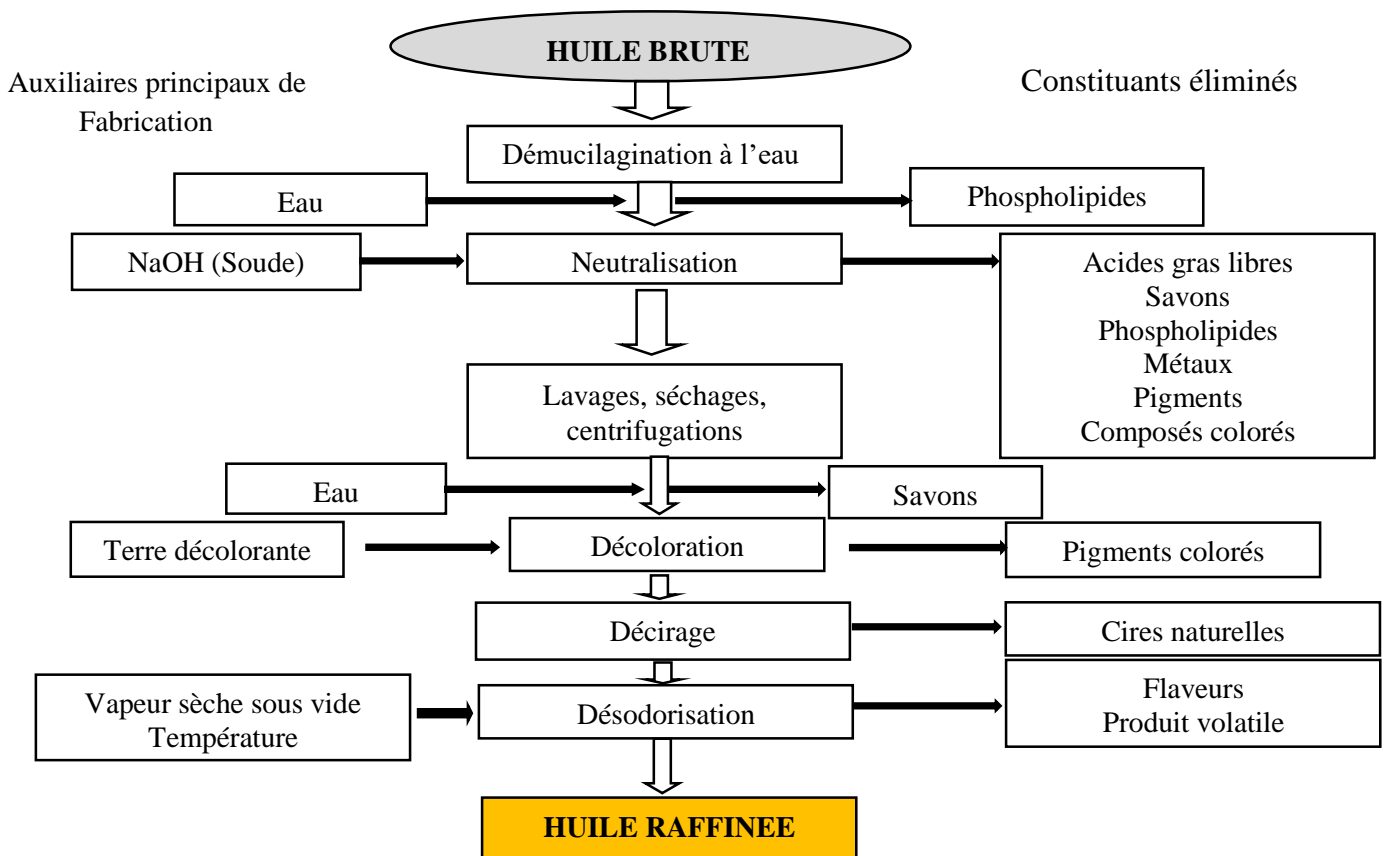


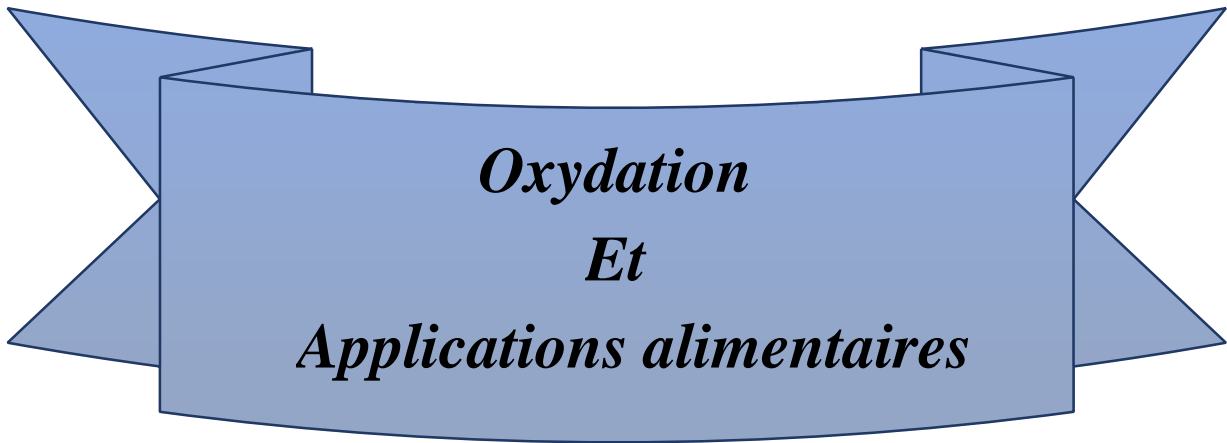
Figure 6 : Etapes du raffinage chimique des huiles végétales brutes (Cossut, 2002).

6. Intérêt diététique et nutritionnel de l'huile de tournesol

Cette huile, riche en acides gras essentiels, est utilisée comme huile de table. Elle présente des bienfaits notables pour la peau, les muqueuses, ainsi que pour le système nerveux et endocrinien. Son rôle est crucial dans le métabolisme, notamment en cas d'hypercholestérolémie, d'athérosclérose et plus largement dans des maladies cardiovasculaires (Cossut, 2002).

Le goût neutre de l'huile de tournesol et sa stabilité à la cuisson permettent de l'utiliser aussi bien froide pour des vinaigrettes que chauffée pour cuire des aliments. Elle est également idéale pour la fabrication de margarine. Chauffée au-delà de 210°C, l'huile ne doit pas être consommée, car elle libère des composés toxiques et cancérigènes (Kartika, 2005).

Chapitre III



Oxydation
Et
Applications alimentaires

1. Oxydation lipidique

Les lipides sont des composants importants de l'alimentation et de la plupart des systèmes biologiques et sont également utilisés dans un certain nombre d'applications industrielles. L'oxydation des lipides représente une cause majeure de détérioration des aliments et a un impact négatif sur la santé des systèmes biologiques. Les changements oxydatifs dans les aliments entraînent l'apparition de saveurs désagréables, la perte de nutriments et de composés bioactifs, ainsi que la formation de substances potentiellement toxiques, rendant les lipides ou les produits alimentaires contenant des lipides inappropriés pour la consommation (Shahidi et Ying Zhong, 2009).

1.2. Types d'oxydations lipidiques

L'oxydation des lipides résulte de réactions impliquant des radicaux libres (Al-Dalaen et al., 2014). Elle peut se faire par trois mécanismes ; auto-oxydation, photo-oxydation et oxydation enzymatique. Le processus le plus important dans les produits alimentaires est l'autooxydation. Le mécanisme d'auto-oxydation des lipides polyinsaturés est généralement déclenché par l'exposition à la lumière, à la chaleur, aux rayonnements ionisants et aux ions métalliques (Shahidi, 2015 ; Shahidi et Naczki, 2004). Ce processus se déroule en trois phases : Initiation, propagation et terminaison (Figure 7).

- **La phase d'initiation** : durant cette phase, un radical libre initial se forme. L'enlèvement de l'hydrogène est facilité à la fois par la chaleur (agitation moléculaire) et par des facteurs tels que les rayonnements ou les catalyseurs (métaux tels que Cu, Fe, Co, Mn, Ni...) (Zarour et Boulssane, 2017).
- **La phase de propagation** : dans ce processus, l'oxygène se lie au premier radical, formant ainsi un radical peroxy. Ce dernier réagit ensuite avec une autre molécule générant un néoradical libre et un hydroperoxyde. Ces hydroperoxydes instables se décomposent ensuite en composés plus courts (Amiot et al., 2009).
- **Etape de terminaison** : le processus d'oxydation se conclut lorsque deux radicaux réagissent ensemble pour créer une espèce non radicalaire (Zarour et Boulssane, 2017).

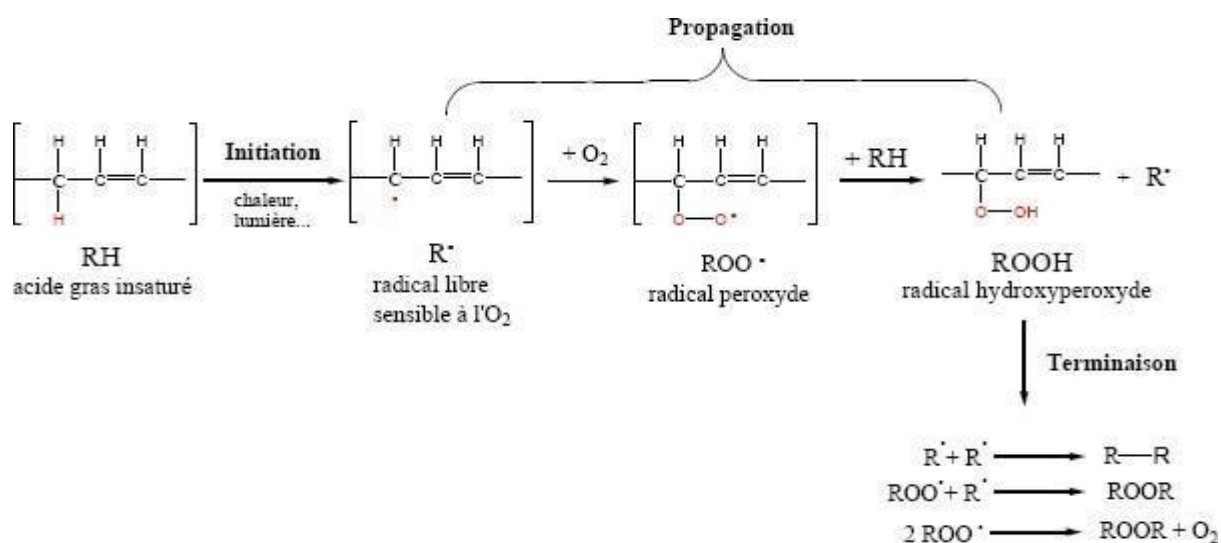


Figure 7 : Mécanismes généraux de l'oxydation des lipides (Anonyme 4).

1.3. Prévention de l'oxydation lipidique

L'oxydation lipidique peut altérer les propriétés sensorielles et la qualité des aliments, en affectant leur arôme, leur texture et leur goût (Andjelković et al., 2006). De plus, elle peut conduire à une dégradation de la qualité des aliments (Aparicio-Ruiz et al., 2014 ; AparicioRuiz et al., 2010). Par conséquent, l'utilisation de substances préventives, telles que les antioxydants, est essentielle, en mettant particulièrement l'accent sur ceux d'origine naturelle.

1.3.1. Définition de l'antioxydant

Un antioxydant est une substance qui, à faible concentration par rapport à un substrat oxydable tel que les lipides, retarde ou prévient l'oxydation de ce substrat (Atmani et al., 2009). Dans les domaines alimentaires, le terme "antioxydant" est utilisé pour décrire les substances qui freinent la peroxydation lipidique, tandis que dans les systèmes biologiques, il désigne la protection des lipides, des protéines et de l'ADN contre les dommages oxydatifs causés par des espèces réactives de l'oxygène (ROS).

1.3.2. Antioxydants naturels : polyphénols

Les polyphénols sont une vaste famille de composés largement répandus dans le règne végétal. Classés en une dizaine de catégories chimiques, ils partagent tous une caractéristique commune : la présence d'au moins un cycle aromatique à six carbones, associé à diverses fonctions hydroxyles (OH) dans leur structure. L'apport total approximatif en polyphénols est

estimé à 1 g par jour (**Auger et al., 2014**). Actuellement, plus de 8000 structures phénoliques sont répertoriées, les phénols peuvent se regrouper en deux grands groupes :

- Les composés non flavonoïdes (acides phénoliques, lignanes et stilbènes).
- Les composés flavonoïdes tels que les flavones, les flavanones, les flavonols, les anthocyanines, et les proanthocyanidines.

- **Relations structure-activité**

La configuration des composés phénoliques joue un rôle crucial dans leurs capacités anti-radicalaires et leur capacité à chélater les métaux. Par exemple, pour les acides phénoliques, leur activité antioxydante est influencée par le nombre et la disposition des groupes hydroxyles (**Balasundram et al., 2006**). L'efficacité antioxydante augmente avec l'augmentation du nombre d'hydroxyles, comme observé dans le cas de l'acide gallique trihydroxylé (**Vacca et al., 2016**).

- **Mode d'action des polyphénols**

Les polyphénols, en particulier les flavonoïdes, sont largement étudiés pour leurs effets bénéfiques sur la santé. Leurs multiples propriétés, telles que leur capacité à piéger les radicaux libres, à inhiber les enzymes impliquées dans leur formation et à chélater certains ions métalliques, sont principalement attribuées à leurs activités antioxydantes (**Bisby et al., 2008**). De plus, leur action antioxydante est liée à leur capacité à inhiber des enzymes pro-oxydantes telles que la cyclooxygénase et la lipoxigénase (**Alonso et al., 2017**).

Dans le cas de l'oxydation lipidique, on peut distinguer deux types de mécanismes :

- **Les antioxydants primaires** peuvent piéger des radicaux lipidiques en donnant un atome d'hydrogène ou un électron à un radical pour former des produits stables non radicalaires.



- **Les antioxydants secondaires** agissent en ralentissant l'oxydation grâce à la suppression ou à l'inhibition des promoteurs d'oxydation tels que les ions métalliques, par le biais de chélateurs de métaux comme l'acide citrique, l'acide phosphorique, l'acide éthylènediaminetétraacétique (EDTA) et les acides ascorbiques, formant ainsi des complexes stables (**Nimse et al., 2015 ; Cho et al., 2014**).

2. Enrichissement des huiles végétales avec les produits naturels

Les antioxydants synthétiques sont connus pour leur capacité à améliorer la stabilité oxydative des huiles végétales. Cependant, en raison de leurs effets nocifs sur la santé humaine, l'industrie des huiles comestibles recherche des antioxydants naturels sûrs et sains. En effet, de tels antioxydants naturels, récupérés à partir de différentes matrices végétales, démontrent un effet potentiel, même meilleur que les antioxydants synthétiques dans certains cas, pour préserver les huiles de l'oxydation et satisfaire la demande des consommateurs en aliments naturels. L'enrichissement de ces huiles à l'aide d'antioxydants d'origine naturelle est proposé comme solution (**Samira et al., 2024**).

Dans ce présent travail, nous allons citer les travaux les plus récents qui portent sur l'enrichissement des huiles végétales par les produits naturels en mettant en évidence leur impact. Les huiles comestibles les plus étudiées sont les huiles raffinées, notamment les huiles de soja et de tournesol, mais également les huiles vierges telles que les huiles d'olive extra vierge, comme le montre le tableau suivant :

Tableau IV : Travaux majeurs sur les huiles naturelles enrichies en antioxydants.

Types d'huiles enrichies	Produits naturels utilisés pour l'enrichissement	Méthode d'enrichissement	Impact sur l'huile	Références
Huile de soja raffinée	Feuilles d'olivier	Enrichissement par macération assistée par ultrasons	IP après 21 jours d'incubation : 94,42 mEq O ₂ /kg pour le contrôle et seulement 60,20 mEq O ₂ /kg pour l'huile enrichie à 1500 ppm.	Zahran et Najafi, 2020
Huile d'olive	Olivier	Enrichissement par macération	Un retard d'oxydation significatif dans l'huile d'olive vierge enrichie en extraits phénoliques, comme le démontrent les faibles augmentations de l'IP, K232 et K270.	El Yamani et al., 2020a
Huile d'olive	Olivier Carotte	Enrichissement par macération	Les indices de qualité de base de l'huile étudiée (IP, K232 et K270) diminuaient avec l'augmentation de la	El Yamani et al., 2020b

			concentration en additif (200-400 ppm).	
Huile de chanvre	Romarin	Enrichissement avec des extraits	Amélioration de la stabilité oxydative ; d'un IP de $105,93 \pm 0,12$ mEq O ₂ /kg à $98,70 \pm 0,50$ mEq O ₂ /kg pour l'huile de chanvre enrichi.	Moczowska et al., 2020
Huile d'olive	Thym (<i>Thymus mastichina</i> L.)	Enrichissement par co-traitement	D'une période d'induction de 10,3 h pour le contrôle de l'huile à 16,6 h pour l'huile enrichie, à 120°C.	Peres et al., 2021
Huile d'olive raffinée	Feuilles d'olivier Marc d'olive	Ultrasons utilisant la lécithine comme émulsifiant	L'indice de stabilité oxydative du ROO enrichi en OL à 2 g/L d'extrait (70 h) était supérieur à celui d'un ROO commercial (46,8 h).	Vidal et al., 2022
Huile de soja	Extrait de marc de pomme	Enrichissement avec des extraits	L'huile de soja enrichie en antioxydants naturels (APE) présente une stabilité thermique et une qualité supérieure en termes d'indices physicochimiques	Manzoor et al., 2022
Huile de soja	Extraits de feuilles de grenade, d'orange et de betterave	Enrichissement avec des extraits	L'extrait à 200 et 400 µg/mL a retardé l'oxydation.	Abdo et al., 2023
Huile d'argan	Safran	Enrichissement par macération	L'IP initiale de l'huile d'argan non enrichie était de 2,3 mEq O ₂ /kg diminuée à 2,17 dans l'huile d'argan enrichie (1 %).	Oubannin et al., 2023b
Huile d'argan	Feuilles de thym (<i>Thymus vulgaris</i> L.)	Enrichissement par co-traitement	Amélioration de la stabilité oxydative de l'huile d'argan ; Augmentation des pigments, et de la capacité antioxydante mais diminution du PV.	Oubannin et al., 2023a

Huile de tournesol	Marc de café utilisé	Enrichissement en extrait par macération	L'utilisation de 0,03 % d'extrait de marc de café utilisé a amélioré la stabilité oxydative de l'huile de tournesol	Bijla et al., 2024
Huile de tournesol	Polyphénols des feuilles de <i>Pistacia lentiscus</i> L.	Enrichissement par macération	IP après 49 jours d'incubation : 6 à 44,98 mEq O ₂ /kg pour le contrôle et seulement 4,16 à 40 mEq O ₂ /kg pour l'huile enrichie à 200 ppm.	Grini et al., 2022

Chapitre IV



*Présentation du complexe
Cévital*

1. Présentation du complexe Cévital

1.1. Historique

Cévital fait partie des grandes entreprises algériennes qui ont vu le jour dès l'entrée de notre pays à l'économie du marché. Cevital (abréviation de l'expression, c'est vital, avec même son phonétique). Elle est créée par des fonds privés en 1998 avec une raison sociale « Société par action » d'un capital totalement privé d'un montant de 970.000.000.00DA.

Lancée le 12 mai 1998, le complexe Cévital a commencé par la mise en bouteille et conditionnement le 12 décembre de la même année. Le 17 février 1999 est le début de génie civil de la raffinerie qui est devenue fonctionnelle le 14 août 1999 date à laquelle les premières gouttes d'huile ont coulé.

1.2. Implantation

Le complexe « Cévital » est implanté dans l'enceinte portuaire de Bejaia, il s'étend sur une superficie de 45000m². Le terrain d'implantation est une concession d'une durée de 30 ans avec renouvellement du contact.

1.3. Activités

L'ensemble des activités de Cévital sont citées ci-après

- Raffinerie d'huile.
- Raffinerie de sucre.
- Fabrications d'emballage et conditionnement.
- Station d'épuration des eaux.
- Fabrication de margarine.
- Station de traitement des pâtes de neutralisation

1.4. Raffinerie

La raffinerie du complexe « Cévital » est entièrement automatique, c'est l'une des plus modernes au monde. C'est une raffinerie en soft colonne composée de deux chaînes de raffinage A et B de marque ALFA LAVAL d'une capacité de plus de 350 tonnes chacune (800 tonnes /jours) et d'une ligne C de 1000 tonnes jours, de marque WESFALIA et DESMET, dont les détails du processus sont comme suit :

- Dégommage ou démuçilagination.

- Neutralisation.
- Lavage et séchage.
- Décoloration.
- Désodorisation

Jusqu'à ce jour Cévital a procédé à des tests de marché en lançant plusieurs variétés d'huile sous différentes marques qui sont dans l'ordre :

- Fleurial : 100% tournesol
- Oléol : 100% tournesol
- Soya : 100% soja
- Canola : 100% colza
- Oléol 2 : 60% tournesol, 40% soja
- Elio 3 : 55% tournesol, 40% soja et 5% olive.
- Olivia : 100% huile d'olive
- Fridore : fraction tournesol ODF (Oléine Doublement Fractionnée).

1.5. Approvisionnement

L'huile brute utilisée comme matière première dans le complexe Cévital est entièrement importée de l'étranger. L'approvisionnement se fait par des bateaux de gros tonnage. L'huile est déchargée dans des cargos par des pipelines directement reliés aux cuves de stockage. Un bateau peut être vide de sa cargaison en quelques heures. Les capacités de stockage dont dispose la raffinerie Cévital (47000 tonnes d'huile brute) lui permettent une production d'une durée de trois mois.

1.6. Contrôle de qualité

En réalité le contrôle se fait aux différents stades, de l'arrivée de l'huile brute jusqu'à la commercialisation de l'huile raffinée. Des prélèvements sont faits à chaque étape du raffinage, de l'huile brute jusqu'à l'obtention d'une huile finie. Un certificat conforme au stockage se fait après la mise en bouteille. La confirmation de commercialisation sera faite par le directeur de laboratoire et sera remise au directeur commercial, chaque jour.

Le complexe « Cévital » est doté de quatre laboratoires dont :

- Deux laboratoires pour les huiles.
- Un laboratoire pour la margarine.
- Un laboratoire pour le sucre.

1.7. Capacité de production

La capacité de production est donnée dans le tableau suivant :

Tableau V : Capacités de production en bouteille en 1999

Désignation	Unité	Production annuelle
Huile alimentaire :		
Bouteille de 1 litre	Litre	5670000000
Bouteille de 2 litres	Litre	14400000000
Bouteille de 5 litres	Litre	11520000000

Les responsables de « Cévital » comptent produire différentes variétés d'huile (Tableau V).

Tableau VI : Capacités de production par variétés d'huile.

Variété de l'huile	Unité	Production annuelle
Huile de soja	Tonne	7000000
Huile de tournesol	Tonne	4500000
Huile de colza	Tonne	3000000

1.8. Organisation de Cévital

L'administration du complexe « Cévital » comprend dix directions (Figure 8) qui sont :

- Direction des ressources humaines.
- Direction des finances et comptabilités.
- Direction technique.
- Direction de production.
- Direction logistique.
- Direction commerciale.
- Direction contrôle de qualité.
- Direction sécurité et hygiène.
- Direction de distribution directe.
- Direction de conditionnement.

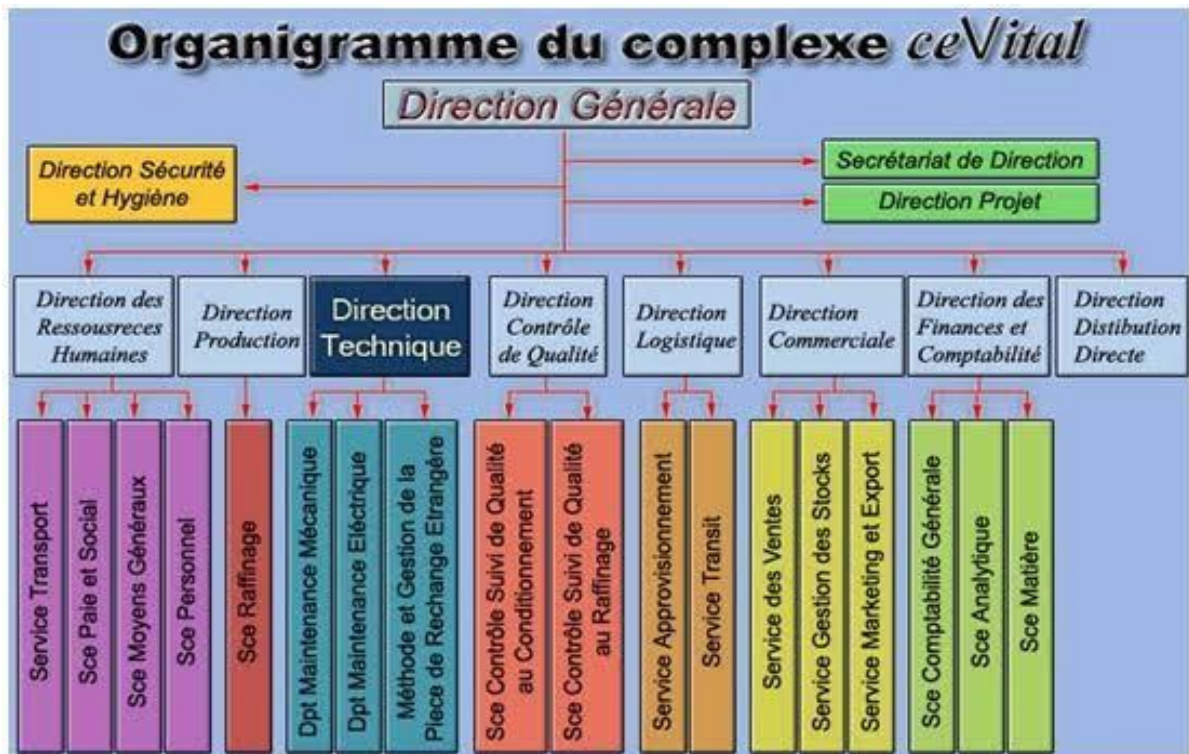


Figure 8 : Organigramme du complexe Cévital.



Partie expérimentale



Méthodes d'analyses

Objectif du travail

L'objectif de cette étude consiste à déterminer la stabilité oxydative d'une huile de tournesol enrichie par les écorces de la citrouille à des doses respectivement de 2,5%, 5% et 10%, analysée sur le plan physicochimique et en déterminant sa stabilité oxydative ; au préalable, l'optimisation des conditions d'extraction des antioxydants (composés phénoliques) de la citrouille est évaluée et son activité antioxydante est réalisée.

Afin d'atteindre cet objectif nous avons organisé ce travail en deux parties :

La première partie qui est consacrée à la synthèse bibliographique est-elle-même subdivisée en trois chapitres :

- **Un premier chapitre** consacré à la présentation des généralités de l'espèce de la citrouille *Cucurbita pepo* L., et ses activités biologiques.
- **Un deuxième chapitre** consacré à des généralités sur les huiles végétales telles que les huiles de tournesol, sur leur procédé de fabrication.
- **Un troisième chapitre** comportant tous ce qui concerne l'oxydation des lipides et les applications alimentaires des huiles.

□ La deuxième partie qui est la **partie pratique** consacrée à la présentation du complexe auquel la réalisation de ce travail a eu lieu, aux méthodes et matériel utilisés et à la discussion des différents résultats obtenus.

1. Analyses phyto-chimiques

1.1. Optimisation des paramètres d'extraction des composés phénoliques

1.1.1. Préparation du solvant d'extraction

Le glucose et l'acide citrique ont été combinés dans le rapport molaire (2 : 1) et agités en continu à une vitesse de 600 rpm à 70 °C à l'aide d'une plaque d'agitation magnétique jusqu'à formation d'une solution uniformément transparente.

Cette étape consiste à déterminer les meilleures conditions d'extraction des composés phénoliques contenus dans les écorces de la citrouille broyées.

Le modèle expérimental est subdivisé en deux parties :

- Des études sont réalisées pour déterminer un intervalle approprié pour l'extraction des composés phénoliques en fonction de chaque variable indépendante. Un essai préliminaire a été réalisé : cette étude se concentre sur les facteurs influençant la réponse selon la méthode

classique d'extraction, en faisant varier un paramètre à la fois et en fixant les autres afin de déterminer les niveaux hauts et bas des facteurs (Al-Farsi et Lee, 2008).

1.2. Facteurs influençant l'extraction

- **Effet du temps d'extraction**

L'impact du temps d'extraction (30, 60, 90, 120 et 150 min) a été étudié, en utilisant le solvant préalablement préparé, avec une vitesse fixe. Le temps d'extraction optimal (meilleur) a été déterminé en fonction de la teneur la plus élevée en composés phénoliques dans l'extrait.

- **Effet de la vitesse d'extraction**

La vitesse régule la quantité d'énergie transmise à l'échantillon. Pendant cette étape, le temps, a été maintenu constant tandis que la vitesse était modifiée (100, 300, 500, 700 et 900 rpm). La meilleure vitesse a été sélectionnée en fonction de la concentration la plus élevée en composés phénoliques.

- **Effet du ratio d'extraction**

L'impact du ratio désigne l'importance du rapport entre les quantités de solvant et de soluté dans un processus d'extraction. Ce rapport influence directement l'efficacité et la sélectivité de l'extraction. En optimisant ce ratio, on peut maximiser la récupération des composés désirés tout en minimisant la co-extraction de composés indésirables.

1.3. Stratégie d'optimisation par la méthode des plans d'expériences

➤ **Principe** : La méthode des plans d'expériences vise à identifier et à établir les relations entre deux types de variables.

- **La réponse** : grandeur étudié (pour notre cas la réponse est les polyphénols totaux).
- **Les facteurs** : grandeurs physiques modifiables par l'expérimentateur, sensées influencer sur la réponse (temps, vitesse et ratio).

1.4. Application du plan d'expérience

L'optimisation de la méthode d'extraction est effectuée en utilisant un plan composite centré.

□ Méthodologie des surfaces de réponse

Les variations de la réponse sont calculées en fonction des facteurs précédemment identifiés comme influents. Cette étude, principalement quantitative, vise à déterminer comment la réponse varie.

Les études préliminaires ont permis de déterminer les niveaux bas et hauts des variables influençant l'expérimentation. Ceux-ci sont illustrés dans le tableau suivant :

Tableau VII : Variables indépendantes et les niveaux des facteurs influençant sur l'extraction.

Les variables indépendantes	Niveaux des facteurs		
	-1	0	+1
Ratio	50	60	70
Temps	90	120	150
Vitesse	300	600	900

1.5. Dosage des composés phénoliques

En 1965, Singleton et Rossi ont décrit la méthode de dosage des polyphénols totaux en utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu, qui depuis, est largement utilisé pour caractériser les extraits végétaux de diverses origines. Ce réactif jaune, composé d'un mélange d'acide phosphotungstique et d'acide phosphomolybdique, subit une réduction lors de l'oxydation des phénols pour former un mélange d'oxydes bleus de tungstène et de molybdène. La présence de carbonate de sodium rend le milieu légèrement alcalin, ce qui se manifeste par une coloration bleu foncé. Cette coloration, avec une absorption maximale d'environ 760-765 nm, est proportionnelle à la quantité de polyphénols présente dans les extraits végétaux.

Mode opératoire

Pour réaliser cette analyse, prélevez 500 µL de l'extrait et ajoutez-y 1250 µL de réactif de Folin dilué, puis agitez pendant quelques secondes. Ensuite, ajoutez 1000 µL de Na₂CO₃ et incubez l'échantillon à l'obscurité pendant 30 minutes. Enfin, mesurez l'absorbance à 760 nm.

La concentration totale en polyphénols est déterminée en utilisant une courbe d'étalonnage établie avec de l'acide gallique (**Annexe**). Les résultats sont exprimés en mg d'équivalents acide gallique (EAG) par 100 grammes de matière sèche.

1.6. Dosage des flavonoïdes

La teneur en flavonoïdes des extraits a été déterminée par la méthode au trichlorure d'aluminium, selon la méthode rapportée par **Brahmi et al. (2012)**.

Mode opératoire

Prélevez 1000 µL d'extrait et ajoutez 1000 µL de solution d'AlCl₃ à 2 %. Incubez pendant 15 minutes à l'obscurité, puis lisez les absorbances au spectrophotomètre à 430 nm.

La teneur en flavonoïdes dans les extraits a été déterminée à partir d'une courbe d'étalonnage réalisée avec la quercétine (**Annexe**) et les résultats ont été exprimés en milligramme d'équivalent quercétine par 100 grammes de matière sèche (mg EQ/g MF).

1.7. Dosage des flavonols

La méthode utilisée pour la détermination de la teneur en flavonols est celle de **Kumaran et Karunakaran (2007)**.

Mode opératoire

Pour réaliser l'analyse, prélever 500 µL de l'extrait et ajouter 500 µL de chlorure d'aluminium à 2%. Ensuite, ajouter 750 µL d'acétate de sodium et mélanger au vortex. Incuber le mélange pendant 30 minutes à l'obscurité, puis lire les absorbances au spectrophotomètre à 440 nm.

La teneur en flavonols a été déterminée à partir d'une courbe d'étalonnage réalisée avec la quercétine (**Annexe**). Les résultats sont exprimés en milligramme d'équivalent quercétine par 100 grammes de matière sèche (mg EQ/100 g MS).

1.8. Dosage des tannins condensés

Les tannins condensés ont été évalués par la méthode de la réaction à la vanilline en milieu acide. Cette méthode repose sur la capacité de la vanilline à réagir avec les unités des tannins condensés en présence d'acide, formant ainsi un complexe coloré absorbant à 550 nm. Il est important de noter que la réactivité de la vanilline avec les tannins ne concerne que la première unité du polymère (**Julkunen-Tiitto, 1985**).

Mode opératoire

Prélevez 500 µL de l'extrait et ajoutez-y 1500 µL de solution vanilline/méthanol à 4%. Agitez au vortex, puis incubez à 4°C pendant 24 heures. Ajoutez ensuite 750 µL d'acide chlorhydrique concentré et laissez reposer pendant 20 minutes. Mesurer l'absorbance au spectrophotomètre à 550 nm.

La teneur en tannins condensés dans l'extrait optimisé a été déterminée à partir d'une courbe d'étalonnage réalisée avec la catéchine (**Annexe**). Les résultats sont exprimés en milligramme d'équivalent catéchine par 100 grammes de matière sèche (mg EC/100 g MS).

1.9. Evaluation de l'activité antioxydante

1.9.1. Test au radical DPPH

Le DPPH• (2,2-Diphényl-1-picrylhydrazyle) est un radical libre stable de couleur violette en solution, avec une absorbance caractéristique à 517 nm. Lorsqu'il est réduit en diphényl picrylhydrazine par un composé aux propriétés antiradicalaires, cette couleur disparaît rapidement, entraînant une décoloration. L'intensité de la coloration est proportionnelle à la capacité des antioxydants présents dans le milieu à céder des protons (**Talbi et al., 2015**).

Mode opératoire

La solution de DPPH est préparée à 0,1 mM, puis 2000 μL de chaque d'extrait dilué est mélangé avec 150 μL de la solution au DPPH. Le mélange est incubé pendant 1 h à l'obscurité et les l'absorbance est lue à l'aide d'un spectrophotomètre à 517 nm (**Brahmi et al., 2015**).

Le pourcentage de réduction des radicaux DPPH• est exprimé selon la formule suivante :

$$\% \text{ d'inhibition} = [\text{abscont} - \text{absécha} / \text{abscont}] \times 100$$

Sachant que :

I% : Pourcentage de l'activité anti-radicalaire.

Abscont : Absorbance du contrôle.

Absécha : Absorbance de l'échantillon.

La concentration de l'extrait fournissant une inhibition de 50% (IC50) a été obtenue en traçant le pourcentage d'inhibition en fonction des concentrations de la solution d'extrait.

1.9.2. Test au phosphomolybdate d'ammonium

La méthode au phosphomolybdate d'ammonium est un test antioxydant important, reposant sur la réduction du Mo^{6+} en Mo^{5+} par un composé antioxydant. Cela entraîne la formation d'un complexe phosphate/ Mo^{5+} de couleur verte, avec une absorption maximale à 695 nm (**Nagavani et al., 2010**).

Mode opératoire

Dans des tubes à essai sont introduits 100 μL à différentes concentrations d'extraits, puis 1000 μL de réactif de phosphomolybdate d'ammonium composé de H_2SO_4 (0,6 M), de Na_2HPO_4 (28 mM) et du phosphomolybdate d'ammonium (4 mM) est ajouté et le mélange est incubé à 90 °C pendant 1 h et 30 min au bain Marie. Enfin, la lecture est faite au spectrophotomètre à 695 nm (**Brahmi et al., 2014**).

1.10. Préparation de la matrice végétale (Poudre de la citrouille)

Pour préparer une matrice végétale à partir des écorces de citrouille, commencez par laver soigneusement les écorces pour enlever toute saleté ou résidu. Ensuite, découpez les écorces en petits morceaux pour faciliter le séchage. Faites sécher ces morceaux à l'air libre, dans un four à basse température (environ 40-50°C), ou à l'aide d'un déshydrateur alimentaire jusqu'à ce qu'ils soient complètement secs et cassants. Une fois séchées, broyez les écorces à l'aide d'un broyeur ou d'un moulin à café jusqu'à obtenir une poudre fine et homogène. Cette poudre peut ensuite être tamisée pour éliminer les particules plus grossières et obtenir une texture uniforme, prête pour les analyses et les applications ultérieures.



Figure 9 : Photographie de la poudre de citrouille (Anonyme 5).

1.11. Préparation des huiles enrichies

➤ **Première étape :** à l'intérieur de quatre flacons :

- 10 g de matière végétale ont été ajoutés dans 100 mL de l'huile de tournesol
- 5 g de matière végétale ont été ajoutés dans 100 mL de l'huile de tournesol
- 2,5 g de matière végétale ont été ajoutés dans 100 mL de l'huile de tournesol
- 100 mL de l'huile de tournesol sans la matrice végétale.



Figure 10 : Photographie des huiles enrichies.

➤ **Deuxième étape :** après une légère agitation manuelle du mélange (l'huile pénètre dans la poudre), placer les flacons dans un bain ultrason à 30 °C pendant 30 min.



Figure 11 : Photographie des flacons dans un bain ultrason à 30°C.

- **Troisième étape** : une fois l'extraction terminée, le mélange est filtré, puis conservé dans des flacons pour les différentes analyses (indiquer les analyses).



Figure 11 : Photographie des huiles filtrées.

2. Analyses physico-chimiques des huiles

2.1. Détermination de l'indice de peroxyde

C'est la quantité d'oxygène actif exprimé en milli équivalent contenu dans 1 kg de corps gras (ISO 3960, Février 2017).

➤ Principe

Traitement d'une prise d'essai, en solution dans l'acide acétique et du chloroforme par une solution d'iodure de potassium, titrage de l'iode libéré par une solution de thiosulfate de sodium (ISO 3960, Février 2017).



➤ **Mode opératoire**

Peser à 0,001g près dans un flacon 5 g d'huile, ajouter 12 mL de chloroforme et 18 mL d'acide acétique puis 1 mL de solution saturée d'iodure de potassium. Boucher rapidement et agiter pendant une min et laisser à l'obscurité à température entre 15 et 25 °C ; ajouter 75 mL d'eau distillée et 1 mL de solution d'amidon ; titrer avec la solution de thiosulfate de sodium à 0,01N jusqu'au virage bleu à l'incolore et faire un essai à blanc dans les mêmes conditions (**ISO 3960, Février 2017**).

➤ **Méthode de calcul**

$$IP=(V1-V0) *N*1000/M$$

Où :

V0 : volume de thiosulfate de sodium en ml utilisé pour le blanc

V1 : volume de thiosulfate de sodium en ml utilisé pour l'essai

N : normalité de thiosulfate de sodium

M : masse de la prise d'essai en g.

2.2. Détermination de l'acidité

L'acidité est exprimée conventionnellement en pourcentage d'acides gras prédominant dans le corps gras. Ex : colza, tournesol, soya en acide oléique, les huiles de palmes en acide palmitique (**ISO 660 4^{ème} édition, mars 2020**).

L'indice d'acide est le nombre de mg de KOH nécessaire pour neutraliser les acides gras libres contenus dans 1g de corps gras (**ISO 660 4^{ème} édition, mars 2020**).

➤ **Principe**

Neutralisation des acides gras par une base en présence de phénolphtaléine (**ISO 660 4^{ème} édition, mars 2020**).



➤ **Mode opératoire**

Peser dans le bêcher la prise d'essai indiquée (3 g,7 g,10 g, 30 g), Faire bouillir la quantité nécessaire d'alcool neutre et la verser dans le bêcher contenant la prise d'essai ajouter

1 mL de phénol, agiter et titrer avec la solution de NaOH (0,1N ou 0,25 N) ; jusqu'au virage rose persistant 10 secondes (ISO 660 4^{ème} édition, mars 2020).

➤ **Méthode de calcul**

$$Ac = N \cdot V \cdot EG / 10 \cdot P$$

$$\text{Indice d'acide} : N \cdot V \cdot 56,1 / P$$

N : normalité de NaOH,

V : volume dépensé pour le titrage

P : prise d'essai

EG : équivalent gramme de l'acide gras en laquelle l'acidité est exprimée.

2.3. Détermination de l'indice d'iode

C'est le nombre de grammes d'iode fixés par 100 g de matière grasse. Il permet d'évaluer le degré d'insaturation d'une glycérine.

➤ **Principe**

Se base sur le titrage, par le thiosulfate de sodium, de l'excès de réactif de Wiggins transformé en iode par l'addition de thiosulfate de potassium (ISO 3961.1996).

➤ **Mode opératoire**

0,2 g d'huile sont additionnés à 15 mL de tétrachlorure de carbone et 2,5 mL de réactif de «Wiggins » dans un flacon. Ce dernier est bouché, agité doucement puis mis à l'abri de la lumière pendant 1 heure. Après, 20 mL de la solution d'iodure de potassium et 150 mL d'eau distillée sont ajoutées. L'iode libéré est titré par une solution de thiosulfate de sodium à 0,1N en présence de quelques gouttes d'empois d'amidon jusqu'à décoloration.

➤ **Expression des résultats**

Le calcul de l'indice d'iode est donné par la formule suivante :

$$\text{Indice d'iode} = [(V - V_0) \cdot 1,269] / P$$

Ii (g/100 g) : Indice d'iode.

V0 (mL) : Volume de la solution de thiosulfate de sodium utilisé pour l'essai à blanc.

Vx (mL) : Volume de la solution de thiosulfate de sodium utilisé pour l'essai d'échantillon.

N : Normalité m(g) : masse de la prise d'essai.

2.4. Détermination de la couleur

Les principaux constituants responsables de la couleur de l'huile sont déterminés à leur maximum d'absorption. Parmi les pigments végétaux, les chlorophylles et les carotènes sont solubles dans les lipides et les solvants appropriés (éther, hexane), il s'agit des pigments

liposolubles. Ces pigments sont affectés par le processus d'oxydation qui est favorisé par la lumière et la température durant le stockage, par conséquent l'oxydation progresse vers le rancissement en provoquant une décoloration de l'huile (**ISO 15305 Première édition, 1998**).

➤ **Principe**

Le principe de cette analyse consiste à comparer la couleur de la lumière transmise à travers la couche d'huile à la couleur de la lumière transmise à travers les lames colorés.

➤ **Mode opératoire**

Filtrer l'échantillon si c'est nécessaire puis chauffer à 60°C. Vérifier si les deux plages du lovibond sont identiques si non, étalonner les avec les touches jaunes et rouges.

Remplir la cuve du lovibond au trait indiqué avec l'huile chauffé à 60°C, mesurer la couleur d'huile avec les touches jaune et rouge en les déplaçant jusqu'à ce que les deux plages soient identiques (**ISO 15305 Première édition, 1998**).

2.5. Test de stabilité oxydative Rancimat (ISO 6886, 2006)

Ce test est couramment utilisé dans les cahiers des charges pour évaluer la stabilité oxydative des matières grasses. La spécification des temps d'induction au test Rancimat (TIR), exprimée en heures, correspond à la durée pendant laquelle la matière grasse a résisté à un stress oxydatif (**ISO 6886, 2006**).

➤ **Principe**

Le principe du test consiste à faire vieillir prématurément les matières grasses par décomposition thermique à une température spécifiée, généralement comprise entre 90 °C et 120 °C, sous un bullage intensif d'air. Les acides organiques produits par la dégradation sont entraînés par un courant d'air et recueillis dans une fiole contenant de l'eau déminéralisée ou distillée, dans laquelle est immergée une électrode de mesure de la conductivité. Le temps est déterminé par conductimétrie et correspond au TIR (temps d'induction au test de Rancimat) (**ISO 6886, 2006**).

➤ **Mode opératoire**

La stabilité de notre huile est déterminée à l'aide d'un appareil Rancimat Metrohm 743. Un flux d'air fixé à 10 l/h traverse les 8 échantillons d'huile de 3 g +/- 0,01 g de près, chauffé à différentes températures. Les produits de dégradation de cette oxydation poussée, sont entraînés par un courant d'air et recueillis dans une cellule de mesure remplie d'eau distillée (60 mL) dans laquelle est immergée une électrode de la mesure de la conductivité électrique.

L'électrode est connectée à un dispositif de mesure et d'enregistrement (**ISO 6886, 2006**).

3. Analyse statistique

Toutes les déterminations ont été effectuées en triples essais. L'analyse statistique qui consiste en la détermination des moyennes et écarts types des tests est faite à l'aide du **Microsoft Excel 2010**. Alors que l'analyse de la variance (**ANOVA**) pour comparer les résultats de certaines analyses est effectuée grâce au logiciel **Statistica 7.1**.



Résultats et discussion

1. Paramètres phyto-chimiques

1.1. Optimisation des conditions d'extraction des composés phénoliques

De nombreux facteurs peuvent influencer l'efficacité d'extraction des composés phénoliques des matrices végétales. En raison de la nature instable des composés phénoliques, chaque source phénolique nécessite une approche individuelle d'extraction et d'optimisation (Majeed et al., 2016). Aucune technique d'extraction universelle n'est idéale en raison de la diversité des polyphénols. Par conséquent, les conditions d'extraction sont importantes pour maximiser les rendements d'extraction et enrichir les composants phénoliques. Plusieurs facteurs doivent être pris en compte lors de l'utilisation de techniques d'extraction, notamment les types et ratios de solvants, les températures d'extraction, les temps d'extraction et les ratios solide/liquide pour garantir une extraction complète des composés d'intérêt, tout en évitant toute modification chimique (Majeed et al., 2016 ; Lee et al., 2016).

1.1.1. Etude préliminaire

□ Effet du temps d'extraction

Le temps d'extraction est un facteur qui joue un rôle substantiel pour l'extraction des polyphénols. L'impact de différents temps d'extraction allant de 30 à 180 min sur l'extraction des polyphénols de l'écorce de la citrouille (EC) est illustré sur la **Figure 12**.

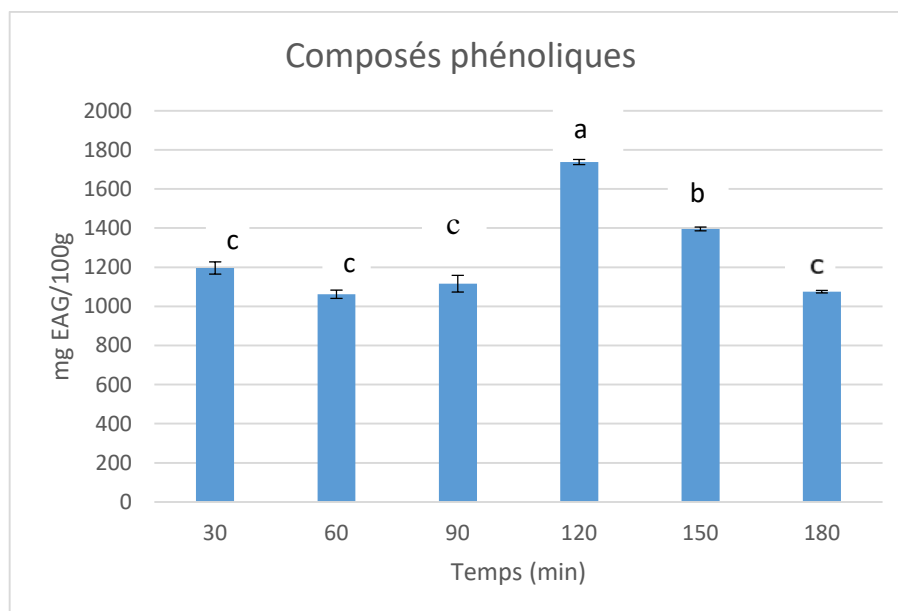


Figure 12 : Choix du temps d'extraction de l'écorce de la citrouille.

Les moyennes en concentrations en polyphénols totaux affectées de différentes lettres indiquent des différences significatives ($P \leq 0,05$), celles suivies de la même lettre ne sont significativement différentes.

Le temps a une influence sur le rendement d'extraction des composés phénoliques de l'EC. Les essais préliminaires et l'étude statistique ($P \leq 0,05$) ont déterminé que la durée idéale d'extraction est de 120 min (**Figure 12**). A partir de 150 min, la teneur en composés phénoliques totaux (CPT) diminue, probablement en raison de leur dégradation causée à des temps d'extraction prolongés. Une longue durée d'extraction peut emmener à une dégradation des composés phénoliques. D'autre part, le temps d'extraction est influencé par plusieurs facteurs tels que la méthode d'extraction. Selon **D'Altemimi et al. (2016)** qui ont effectué l'extraction assistée par ultrasons de composés phénoliques de la citrouille, le rendement d'extraction des composés phénoliques augmentait lorsque le temps passait de 5 min à 15 min dans le cadre de l'optimisation des extractions ultrasoniques. En revanche, les méthodes conventionnelles telles que l'extraction à l'éthanol et à l'eau bouillante peuvent nécessiter jusqu'à 2 heures pour atteindre des efficacités maximales, augmentant ainsi l'efficacité de l'extraction.

□ Effet de la vitesse d'extraction

L'influence de la vitesse d'agitation sur l'extraction des composés phénoliques de l'EC est également évaluée et les résultats sont illustrés dans l'histogramme suivant :

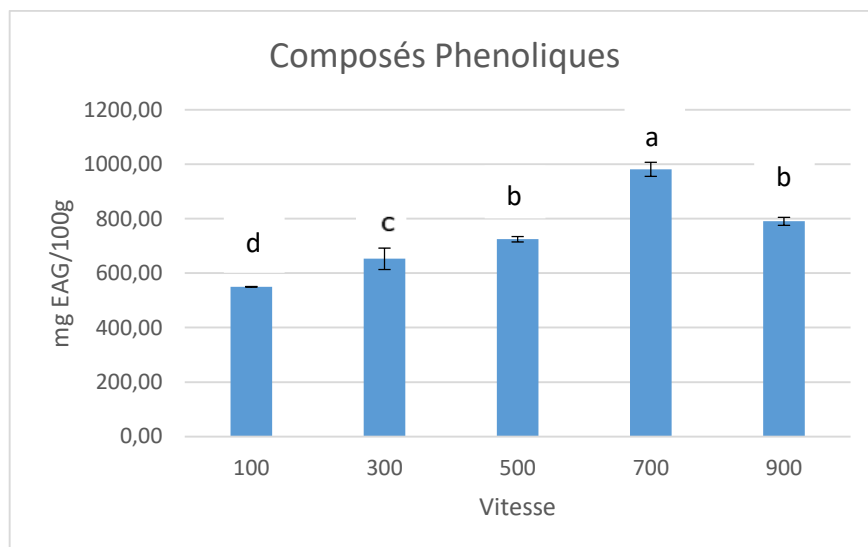


Figure 13 : Choix de la vitesse d'extraction pour l'écorce de la citrouille.

Les moyennes en concentrations en polyphénols totaux affectées de différentes lettres indiquent des différences significatives ($P \leq 0,05$), celles suivies de la même lettre ne sont significativement différentes.

D'après les résultats obtenus (**Figure 13**), l'extraction des composés phénoliques a été considérablement influencée par la vitesse d'extraction. Le taux de composés phénoliques dans l'EC augmente en parallèle avec l'augmentation de la vitesse d'extraction jusqu'à 700 rpm où nous avons obtenu le meilleur rendement (981,48 mg EAG/100g MS) avec une différence

significative ($p \leq 0,05$). Par contre, la vitesse d'agitation de 900 rpm a induit la diminution de taux de CPT.

□ Effet du ratio d'extraction

L'effet du rapport S/L sur l'extraction des composés phénoliques extraits de l'EC est enregistré dans la **Figure 14**.

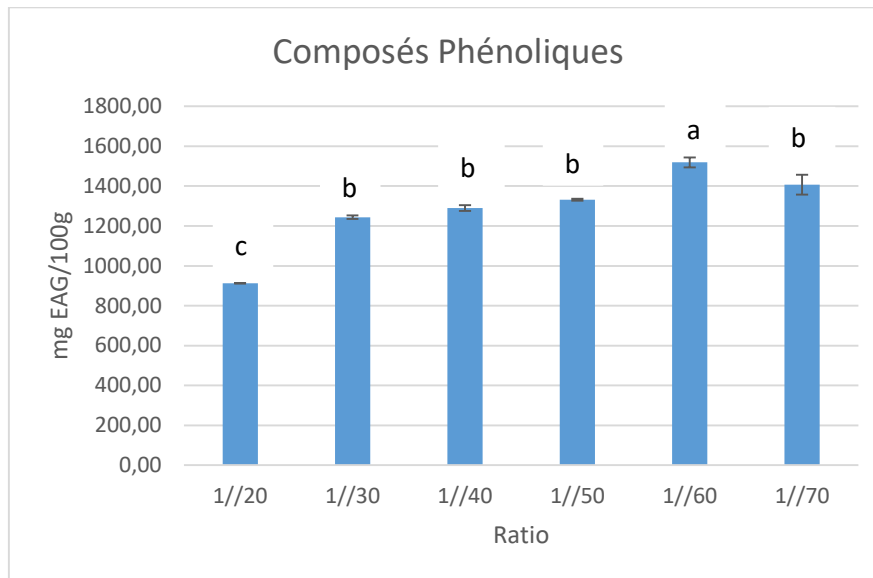


Figure 14 : Choix du ratio d'extraction de l'écorce de la citrouille.

Les moyennes en concentrations en polyphénols totaux affectées de différentes lettres indiquent des différences significatives ($P \leq 0,05$), celles suivies de la même lettre ne sont significativement différentes.

Le ratio solvant/échantillon (ou rapport solide/liquide) est un paramètre crucial qui affecte l'efficacité et le rendement de l'extraction. Plus le rapport solvant/solide est élevé jusqu'à 1 g/60 mL, plus les composés phénoliques totaux obtenus sont élevés (1519,10 \pm 24,55 mg EAG/100 g de MS), ce qui suggère que le rapport solvant/solide a un effet positif sur le rendement d'extraction. **Kaderides et al. (2019)** ont constaté que des ratios élevés, tels que 1/60 g/mL, sont les plus efficaces dans l'extraction des polyphénols de l'écorce de grenade. **Oufighou et al. (2024)** ont trouvé que le rendement en CPT a été considérablement augmenté en utilisant un ratio de 1/50 g/mL dans l'extrait de la pulpe de la citrouille.

Ceci est conforme aux principes de transfert de masse. La force motrice lors du transfert de masse est le gradient de concentration entre le solide et la majeure partie du liquide, qui est plus grand lorsqu'un rapport solvant/solide plus élevé est utilisé (**Elboughdiri et al., 2018**). Par contre, le rapport 1 g/70 mL (1407,08 \pm 49,10 mg EAG/100g) a induit une légère diminution de taux de CPT.

1.1.2. Application des plans d'expériences

Le nombre de paramètres, les modalités par paramètre, et les interactions permettent de déterminer le plan le plus adapté au problème à résoudre. En se basant sur les résultats des études préliminaires, les gammes de chaque variable indépendante temps d'extraction (X_1), vitesse de l'extraction (X_2) et ratio d'extraction (X_3) influençant la réponse étudiée (polyphénols totaux) ont été introduites dans des fichiers Excel (2013), puis dans le logiciel JMP 14 en utilisant le plan composite centré (**Tableau VIII**).

Tableau VIII : Optimisation des conditions par le plan d'expérience de l'EC.

Configuration	Temps (min) (X_1)	Vitesse d'agitation (rpm) (X_2)	Ratio (1 g/mL) (X_3)	Valeurs expérimentales (mg/100 g MS)	Valeurs prédites (mg/100 g MS)
00a	120	600	50	1761,57	1765,30
--	90	900	50	2134,26	2127,14
---	90	300	50	1616,2	1643,90
0a0	120	300	60	1560,88	1566,56
++	150	900	50	1618,06	1622,62
--+	90	300	70	1811,38	1803,29
000	120	600	60	1723,26	1738,21
000	120	600	60	1760,88	1738,21
000	120	600	60	1714,58	1738,21
000	120	600	60	1795,6	1738,21
a00	90	600	60	2043,4	2005,57
0A0	120	900	60	1645,14	1653,60
A00	150	600	60	1611,69	1663,64
+-	150	300	50	1569,44	1540,57
-++	90	900	70	1869,97	1895,31
00A	120	600	70	1680,69	1691,08
++	150	300	70	1620,37	1623,96
000	120	600	60	1702,66	1738,21
+++	150	900	70	1346,03	1314,80
000	120	600	60	1760,53	1738,21

La teneur en composés phénoliques varie dans l'EC de 1314,797 mg EAG/100 g MS à 2127,139 mg EAG/100g MS. Ceci confirme l'influence des paramètres étudiés (temps, vitesse et ratio) sur le taux des polyphénols extraits.

1.1.3. Validation du modèle

La validation du modèle a été confirmée en comparant les valeurs expérimentales et prédites de CPT qui sont de $2127,47 \pm 72,33$ et $2054,14 \pm 77,21$ mg EAG/100g MS, respectivement.

Ces résultats montrent qu'il n'existe pas de différence entre la valeur expérimentale et la valeur prédite ($p > 0,05$), ce qui confirme que notre modèle est valide.

Dans les plans d'expériences le modèle mathématique est relié à la réponse aux facteurs qui influencent, et afin d'avoir une bonne réponse plusieurs conditions doivent être vérifiés :

- **Coefficient de régression**

L'efficacité d'ajustement globale est exprimée par le coefficient de corrélation R^2 , dans notre étude, la valeur de R^2 de l'EC est de 0,97 (**Figure 15**), ce qui signifie qu'uniquement 3% des variations ne sont pas expliquées par le modèle. De plus, l'analyse de la variance de la régression montre que le modèle est très significatif, $P = 0,0001 < 0,05$, ce qui confirme qu'il est satisfaisant. Le graphique des valeurs observées en fonction des valeurs réelles des PPT de l'EC est représenté ci-dessous.

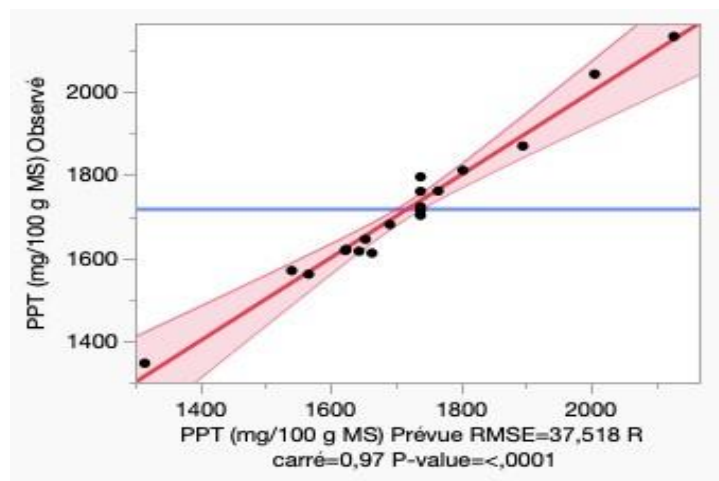


Figure 15 : Valeurs prédites en fonction des valeurs expérimentales.

- **Analyse de la variance**

L'analyse de la régression montre que le modèle est très significatif ($p < 0,001$), et que le manque d'ajustement de l'EC ($p > 0,005$) par rapport à l'erreur pure ($0,4018 > 0,05$), ce qui confirme que le modèle est satisfaisant. Le défaut d'ajustement, l'erreur pure et l'erreur totale sont représentés dans le tableau suivant :

Tableau IX : Analyse de la variance (ANOVA) pour la teneur en polyphénols totaux (Y) des extraits.

Source	Degré(s) de liberté	□ des carrés	Rapport F	Prob.>F
Temps (X₁)	1	292280,05	207,6460	<,0001
Vitesse d'agitation (X₂)	1	18939,03	13,4550	0,0043
Ratio (X₃)	1	13770,78	9,7832	0,0107
X₁*X₂	1	80474,70	57,1720	<,0001
X₁*X₃	1	2887,62	2,0515	0,1826
X₂*X₃	1	76524,59	54,3657	<,0001
X₁₂	1	25553,47	18,1541	0,0017
X₂₂	1	45153,97	32,0790	0,0002
X₃₂	1	276,05	0,1961	0,6673
Modèle	9	541733,40	42,7629	
Résidus	10	14075,88	Prob.>F	
Total	19	555809,28	<,0001	
Source	Degrés liberté	Somme Carrés	Carré moyen	Rapport F
Défaut d'ajustement	5	7857,488	1571,50	1,2636
Erreur pure	5	6218,395	1243,68	Prob. > F
Erreur totale	10	14075,883		0,4018
				R carré max.
				0,9888

- **Effet des facteurs**

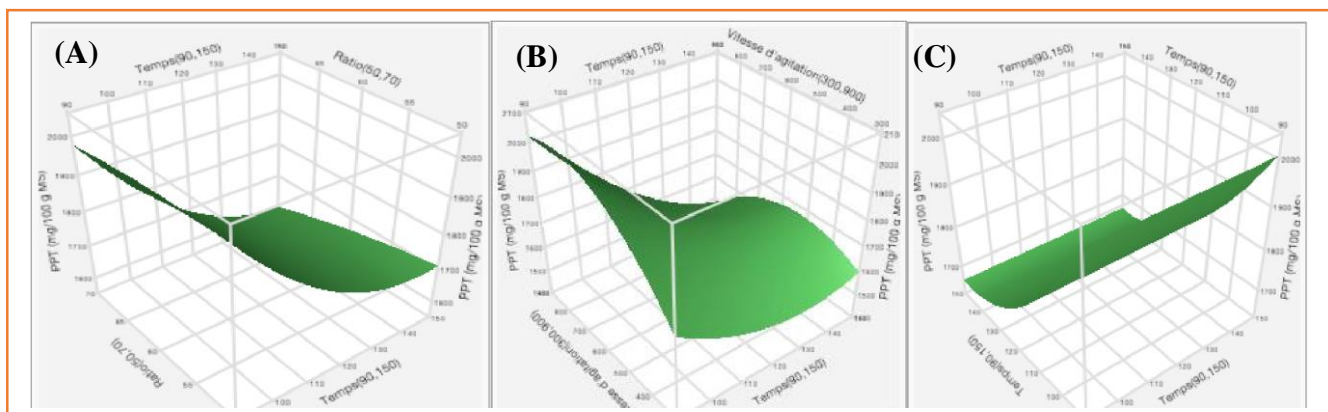
L'analyse de la variance de la régression des coefficients consiste à analyser l'impact des variables (X₁, X₂, X₃) à p < 0,05, afin de déterminer le degré d'influence des facteurs (temps, vitesse et ratio) sur l'extraction des CPT. **Liu et al. (2010)** ont démontré que la p-value < 0,005 présente la plus grande significativité du facteur correspondant. Les résultats obtenus pour les l'EC sont représentés dans les tableaux suivants :

Tableau X : Résumé des effets des facteurs dans l'EC.

Source	Logworth		P-value
Temps (90,150)	7,289		0,00000
Temps*Vitesse d'agitation	4,716		0,00002
Vitesse d'agitation*Ratio	4,622		0,00002
Vitesse d'agitation*Vitesse d'agitation	3,681		0,00021
Temps*Temps	2,780		0,00166
Vitesse d'agitation (300,900)	2,363		0,00433
Ratio (50,70)	1,969		0,01073
Temps*Ratio	0,739		0,18257
Ratio*Ratio	0,176		0,66730

- **Surface de réponse**

Dans cette partie, les figures illustrent les surfaces de réponse et la projection en deux dimensions des effets combinés tout en gardant le troisième paramètre constant au niveau central :

**Figure 16** : Diagramme de surface de réponse de l'EC.

La figure A illustre l'interaction entre le ratio et le temps, et l'augmentation du temps a un effet positif sur le rendement en TPC. En ce qui concerne l'interaction entre le temps et la vitesse d'agitation (B), des temps d'extraction prolongés ainsi qu'une grande vitesse d'agitation favorisent l'extraction des CPT de l'EC. L'effet de la vitesse avec rapport solide/liquide (Figure C), le TPC a augmenté avec l'augmentation de la vitesse et du rapport solide/liquide.

- **Modèle mathématique**

Après l'identification des facteurs, notre plan doit être subordonné au choix préalable d'un modèle mathématique. Le modèle utilisé avec le plan CCD est un modèle de premier degré, simplifié par l'élimination des effets d'interactions non significatifs dans l'analyse. Cela permet de manipuler cette expression réduite plus facilement, tout en maintenant une qualité d'ajustement quasi identique (Tinsson, 2010).

$$\checkmark Y = 1738,21 - 170,96X_1 + 43,5X_2 - 37,11X_3 - 100,30X_1X_2 - 18,99X_1X_3 - 97,80X_2X_3 + 96,40X_1^2 - 128,14X_2^2 - 10,02X_3^2$$

- **Conditions optimales d'extraction des composés à partir de l'EC**

Le calcul théorique des conditions optimales d'extraction des CPT a été évalué par l'algorithme d'optimisation non linéaire et un contenu phénolique total maximum de 2127,47 mg EAG/100 g MS a été atteint.

Les niveaux de désirabilité pour les trois variables d'extraction pour une extraction optimale des polyphénols sont présentés sous forme de profils de désirabilité (Figure 13), indiquant que la désirabilité maximale de 1,0 (sur une échelle de 0 à 1). Le niveau de désirabilité a atteint la valeur maximale de 0,93 avec un temps d'extraction de 90 min, une vitesse d'agitation de 890,74 et un ratio de 50 mL/g.

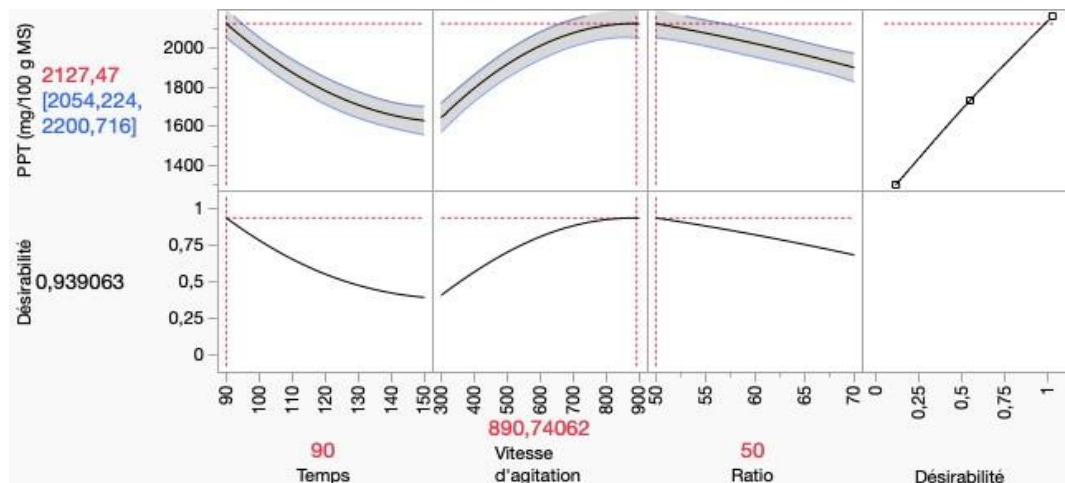


Figure 17 : Teneur prévue en polyphénols totaux et niveau de désirabilité pour les différentes variables d'optimum extraction de polyphénols à partir d'EC.

L'extraction avec ces conditions a été faite afin de récupérer un extrait sec correspondant à l'EC. Cet extrait est utilisé pour le dosage des composés phénoliques et la détermination de l'activité antioxydante.

1.2. Teneurs en composés phénoliques de l'extrait optimisé

L'extrait obtenu en adoptant les meilleures conditions d'extraction a été utilisé pour quantifier les différentes classes de composés phénoliques et les résultats sont récapitulés dans le tableau suivant :

Tableau XI : Teneurs composés phénoliques de l'extrait optimisé de l'EC.

	PPT	Flavonoïdes	Flavonols	Tannins
Moyenne	2054,14	216,12	136,05	186,47
Ecart type	77,21	2,32	4,12	3,54

1.2.1. Polyphénols totaux

Le dosage des polyphénols totaux est crucial pour évaluer le potentiel antioxydant des aliments et des extraits végétaux. La teneur en polyphénols totaux (**Tableau XI**) de l'extrait optimisé de l'EC est $2054,14 \pm 77,21$ mg EAG/100 g MS.

Hussein et al. (2021), dans leur étude sur les polyphénols totaux des extraits de l'écorce de la citrouille, ont rapporté une teneur de $93,40 \pm 0,69$ mg GAE/100 g MS. **Saavedra et al. (2015)** ont rapporté que l'extrait de l'écorce fraîche de la citrouille renferme une teneur en CPT qui varié de $0,69 \pm 0,02$ à $10,69 \pm 0,37$ mg GAE/g. **Mala et Kurian (2016)** ont rapporté que la citrouille indienne avait une teneur en CPT de $519 \pm 0,05$ mg GAE/100 g. L'extrait optimisé de l'EC est obtenu en adoptant l'extraction assistée par microonde a révélé une teneur en CPT de $548,09 \pm 13,68$ mg GAE/100 g DM (**Oufighou et al., 2024**).

Nos résultats ne sont pas comparables à ceux de la littérature, ce qui peut être liés à divers facteurs. **Kulczyński et al. (2020)** a déclaré que la teneur en TPC de la citrouille dépendait fortement du cultivar et du solvant d'extraction et selon **Bochnak et Świeca (2020)**, les différentes températures de séchage et d'extraction ont affecté le contenu du TPC et sa bioaccessibilité et même les activités antioxydantes de la poudre de citrouille.

Les résultats obtenus pour les composés phénoliques sont significativement élevés, indiquant une richesse notable en ces substances bioactives. En effet, la teneur en polyphénols totaux est de $2054,1 \pm 77,214$ mg GAE/100 g MS, ce qui témoigne d'une variabilité modérée mais d'une concentration globalement très élevée. Les flavonoïdes présentent une teneur $216,12 \pm 2,32$, mg GAE/100 g MS indiquant une forte consistance dans les mesures et une quantité considérable de ces antioxydants. De même, les flavonols, avec une teneur de $136,05 \pm 4,12$ mg GAE/100 g MS, montrent une concentration significative et relativement stable. Enfin, les

tannins affichent une teneur de $186,4 \pm 3,54$ mg GAE/100 g MS, soulignant leur abondance et une faible variabilité. Comparées à d'autres résultats, nos mesures sont largement supérieures, ce qui peut être attribué à divers facteurs tels que les conditions climatiques, les méthodes de culture, et les techniques d'extraction spécifiques utilisées.

1.2.2. Teneurs en Flavonoïdes totaux

Les flavonoïdes constituent une grande classe de composés polyphénoliques présents dans les végétaux. Ils exercent de nombreux effets bénéfiques sur la santé, notamment en inhibant la production de radicaux libres dans le corps humain (**Ahmed et Eun, 2018**).

Les résultats obtenus (**Tableau XI**) indiquent que la teneur en flavonoïdes dans l'extrait optimisé de l'EC est de $216 \pm 2,32$ mg EAG/100 g MS.

Hussain et al. (2021) ont trouvé une valeur de $45,0 \pm 0,59$ mg ECA/100 g MS) dans l'écorce de *Cucurbita maxima*. **Jarungjitaree et Naradisorn (2018)** ont étudié l'effet de trois solvants d'extraction sur la teneur en flavonoïdes dans l'écorce de citrouille (*Cucurbita spp.*), l'éthanol à 95 % a donné un taux nettement inférieur à celui trouvé dans cette étude ($5,22$ mg CAE/100 g MS). La teneur en flavonoïdes trouvées, dans l'écorce de la citrouille, par d'autres auteurs en utilisant l'extraction assistée par microonde est de $259,70 \pm 1,02$ mg EQ/100 g MS (**Oufighou et al., 2024**).

Cette différence dans les résultats pourrait être due à plusieurs paramètres tels que les méthodes d'extraction et de condition, degré de maturité de l'échantillon et son origine géographique (**Brahmi et al., 2022**).

1.2.3. Teneurs en flavonols

Les flavonols appartiennent à la sous-famille des flavonoïdes, où le cycle C est un hétérocycle saturé avec un groupe hydroxyle en position 4. Ils peuvent avoir un groupe OH ou OCH₃ en trois positions du noyau B (**Farga et Oteiza, 2011**).

D'après les résultats obtenus (**Tableau XI**) la teneur en flavonols dans l'EC est de $136 \pm 4,12$ mg EAG/100 g MS.

1.2.4. Teneurs en tannins totaux

Les tanins totaux sont des molécules fortement hydroxylées qui peuvent former des complexes insolubles lorsqu'ils se lient aux glucides, aux protéines et aux enzymes digestives, réduisant ainsi la digestibilité des aliments. Ils peuvent également se lier à la cellulose et à divers éléments minéraux (**Alkurd et al., 2008**).

Les résultats obtenus (**Tableau XI**), indiquent une concentration de tannin dans l'EC de $186 \pm 3,54$ mg EAG/100g MS.

1.3. Activité antioxydante de l'extrait optimisé

Les activités antioxydantes de l'extrait de l'EC optimisé ont été déterminées à l'aide de trois méthodes qui sont l'activité antioxydante totale et les activités scavenger des radicaux libres DPPH et ABTS. Les résultats exprimés en IC₅₀ (µg/mL) sont représentés dans le tableau XII.

Tableau XII : Valeurs d'IC₅₀ des activités antioxydantes de l'extrait optimisé de l'EC.

	Phosphomolybdate	DPPH	ABTS
IC ₅₀ (µg/mL)	979,67 ± 250,79	4648,89 ± 444,47	443,450 ± 21,857

Dans l'activité antioxydante totale, dont le principe est le pouvoir réducteur du molybdène (VI) en molybdène (V) via les antioxydants présents dans l'extrait du fait de la formation d'un complexe phosphomolybdène (V) de couleur verte l'extrait optimisé de l'EC a montré une IC₅₀ de 979,67 ± 250,79 µg/mL. L'extrait de l'EC optimisé par une extraction aux microondes a montré une meilleure activité avec une IC₅₀ de 532,36 ± 17,77 (**Oufighou et al., 2024**).

Dans le test DPPH, l'extrait a présenté une IC₅₀ de 4648,89 ± 444,47 µg/mL. Ces résultats s'approchent avec ceux d'**Ali et Naz (2017)** qui ont montré que l'IC₅₀ dans le test au DPPH de l'écorce de la citrouille de Pakistan est de et 3399 ± 19 µg/mL et **Oufighou et al. (2024)** a trouvé une IC₅₀ de 2214,90 ± 18,82 µg/mL, en utilisant le même test.

Pour le test à l'ABTS, l'extrait optimisé de l'EC a présenté une meilleure capacité antioxydante avec une IC₅₀ de 443,450 ± 21,857 µg/mL.

2. Enrichissement de l'huile de tournesol par l'écorce de citrouille

2.1. Qualité physico-chimiques de l'huile

▪ Acidité

L'acidité libre est un facteur important pour évaluer la qualité d'une huile, et elle est largement utilisée comme critère classique de classification commerciale des huiles vierges. C'est aussi un facteur qui renseigne sur l'altération de l'huile par hydrolyse. En effet, dans les huiles végétales, les acides gras naturels sont essentiellement présents sous forme de triglycérides (98-99%). L'hydrolyse de ces derniers libère des acides gras dont le dosage permet d'avoir une idée sur l'état d'avancement de la dégradation de l'huile (**Gharby S.,al 2011**).

En général, les huiles raffinées renferment naturellement très peu d'acides gras libres. Les résultats obtenus (**Tableau XIII**), ont montré des différences peu à hautement significatives

entre le début et la fin de l'expérience, qui se sont traduites par une légère variation de l'acidité pour toutes les huiles enrichies. La faible évolution de l'acidité au cours du stockage peut s'expliquer par l'hydrolyse des triglycérides qui n'est pas suffisante pour compenser, voire augmenter les fonctions acides gras libres bloquées par polymérisation ou volatilisées au cours de phase d'oxydation.

D'après les résultats obtenus, nous pouvons constater que l'acidité la moins élevée est obtenue par le témoin (1,41%) et l'huile enrichie à 2,5% (2,53%) tandis que celles les plus élevées sont enregistrées par l'huile enrichie à 5% (3,10%) et celle enrichie à 10% (3,10%). Toutefois, toutes les valeurs obtenues sont inférieures à la norme indiquée par le codex alimentaire (3,3%).

L'acidité permet de contrôler le niveau de dégradation hydrolytique, enzymatique ou chimique des chaînes d'acides gras des triglycérides. Ceci est à l'origine d'acides gras libres et de glycérides partiels (mono et diglycérides) (Tanouti et al., 2011). D'après Ouksel et Nouri (2021), l'indice d'acidité change d'une huile à l'autre.

▪ Indice de peroxyde et indice d'iode

Tableau XIII : Qualité physicochimiques de l'huile de tournesol enrichie à la citrouille.

Type de l'huile de tournesol	Témoin	2,5 %	5%	10 %
A %	1,41%	2,53 %	3,10 %	3,10 %
IP (millieq O ₂ /kg)	10,58	7,16	5,71	5,55
Indice d'iode	126,28	126,47	126,5	126

L'indice de peroxyde d'un corps gras est le nombre de microgrammes de peroxydes actifs contenu dans un gramme de produit et oxydant l'iodure de potassium avec libération d'iode. L'indice de peroxyde est une mesure largement utilisée pour mesurer la quantité des peroxydes formés dans les graisses et les huiles lors de l'oxydation. Les valeurs de l'indice de peroxyde des différents échantillons de l'huile de tournesol en présence de différentes doses de poudre d'écorces de citrouille sont reportées dans le tableau XIII.

D'après les résultats, nous remarquons que pour l'huile brute de tournesol, l'indice de peroxyde est élevé. Ceci est expliqué par la durée de stockage de la matière première de l'huile depuis leurs extractions. L'augmentation est considérablement plus élevée dans l'huile enrichie par la plus faible concentration par rapport aux échantillons de l'huile de tournesol dans laquelle des doses plus élevées des écorces de la citrouille sont incorporées.

L'indice d'iode des différentes huiles enrichies est presque similaire et comparable à celui de l'huile témoin.

2.2. Test de stabilité oxydative (test de Rancimat)

La stabilité oxydante est un paramètre important dans l'évaluation de la qualité physicochimique des corps gras ; elle donne une bonne évaluation de leur susceptibilité à la dégradation oxydante celle-ci est la cause principale de leur changement (**Apricio et al., 1999**). L'oxydation réduit notamment la durée de conservation des aliments, dégrade sa palatabilité, altère sa fonctionnalité et sa qualité nutritionnelle (**Hidalgo et al., 2006**).

La mesure de la stabilité oxydative peut être évaluée par les méthodes dites d'accélération de l'oxydation, dont les divers paramètres expérimentaux sont établis. Certains paramètres peuvent induire une élévation de température, de pression et/ou du débit d'air (oxygène) à travers l'échantillon.

Parmi les méthodes d'accélération de l'oxydation pour la détermination de la stabilité oxydative le test Rancimat (**Moser, 2009**). Ce test peut prédire la stabilité oxydative de l'huile et par conséquent sa durée de conservation (**Hidalgo et al., 2006**). **L'Aeubli et Bruttel (1986)** ont comparé la méthode Rancimat à celle de l'oxygène actif dans la détermination de la stabilité oxydative des matières grasses et des huiles. Ils ont conclu que ces méthodes donnent les mêmes résultats ; mais, la méthode Rancimat est plus intéressante car elle ne nécessite pas une préparation préalable de l'échantillon. En raison de sa facilité d'utilisation et de la reproductibilité des résultats donnés donc le test Rancimat est très utilisé pour déterminer la stabilité des huiles (**Mendez et al., 1996**).

La **figure 18** représente les résultats de la stabilité à l'oxydation des huiles de tournesol, témoin (T1) et enrichie par les écorces de citrouille (*Cucurbita pepo* L.) à différentes concentrations (2,5, 5 et 10%). D'après les résultats obtenus, le temps d'induction des quatre huiles élaborées T1, 2,5%, 5% et 10% sont respectivement 4h76, 9h28, 10h80 et 9h13. Ces résultats démontrent que les huiles de tournesol enrichie avec les écorces de citrouilles prouvent une stabilité oxydative. Celle avec l'huile témoin est inférieure à la stabilité oxydative de l'huile à 10%, mais la stabilité oxydative de l'huile à 5% est largement supérieure à celle du témoin. Cette réaction est probablement liée aux composés bioactifs présent dans l'écorce de la citrouille ayant une activité antioxydante.

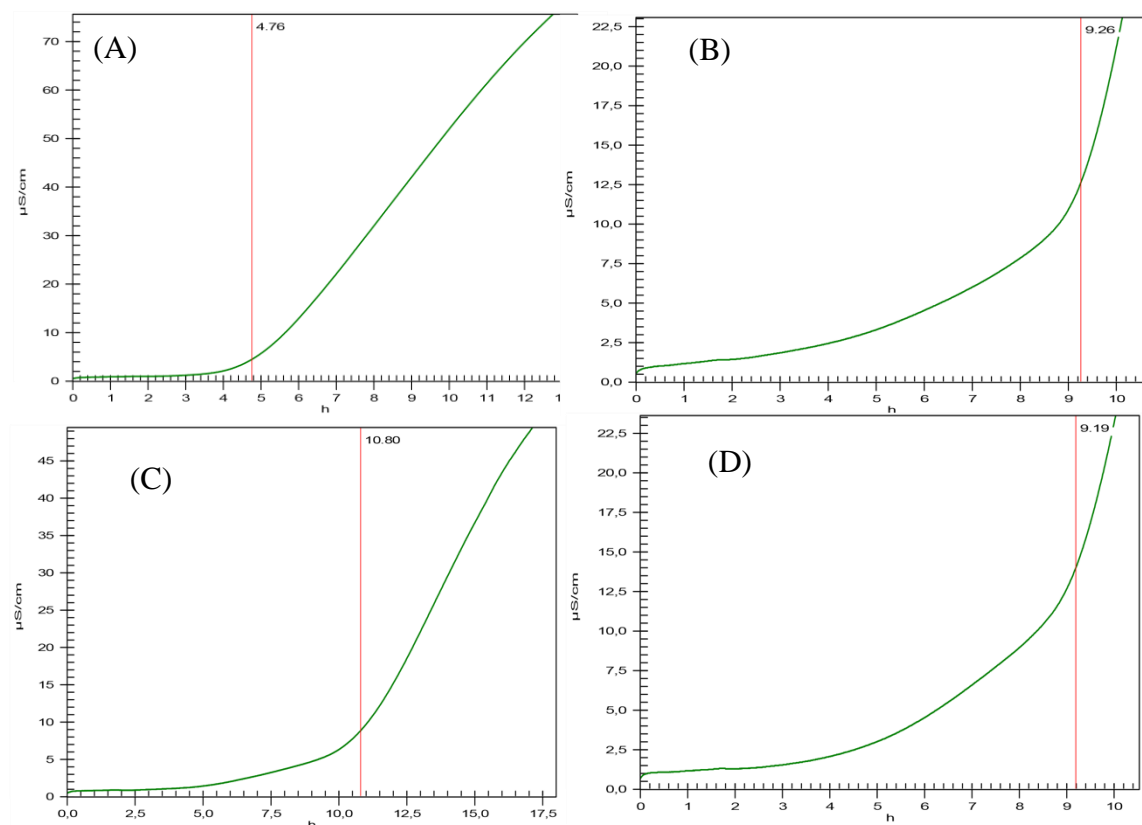


Figure 18 : Courbes de la stabilité oxydative au test Rancimat de l'huile de tournesol témoin (A) et enrichie avec l'écorce de la citrouille à 2,5% (B), 5% (C) et 10 % (D).

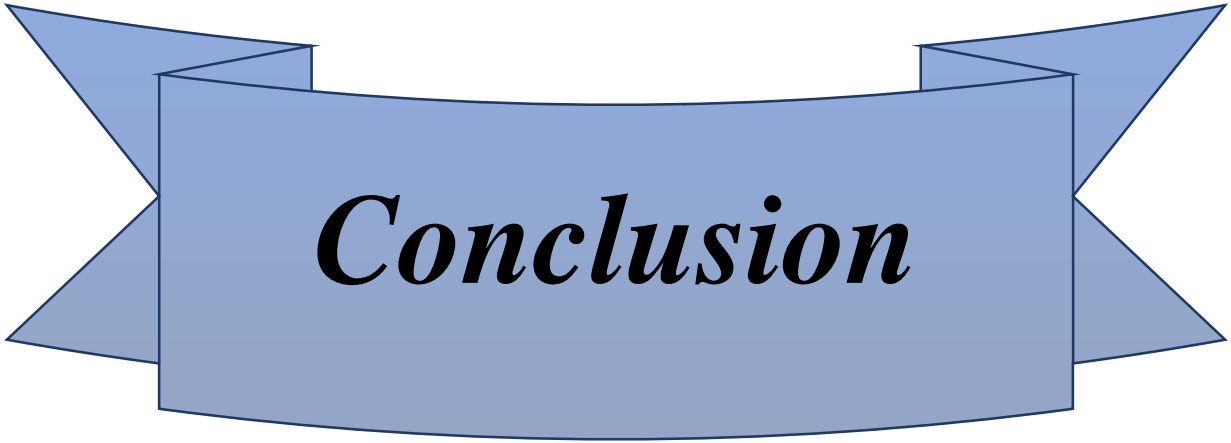
2.3. Couleur

La couleur est un paramètre sensoriel qui dépend de la présence et de la quantité de pigments, tels que les chlorophylles, les caroténoïdes, les flavonoïdes et les anthocyanines. Ce paramètre peut fortement influencer l'acceptation d'un produit par le consommateur. Dans ce contexte, la couleur des échantillons d'huile de tournesol enrichie a été déterminée et comparée à celle de l'huile de tournesol non enrichie. Le **Tableau XIV** représente la variation de la couleur des échantillons d'huiles (tournesol + écorces de citrouilles) et l'huile de tournesol témoin sous l'effet du temps de stockage.

Tableau XIV : Couleur de l'huile de tournesol témoins et celle enrichie par l'écorce de la citrouille.

Variétés d'huiles	Témoin	2,5 %	5%	10 %
J	4,3	70	70	70
R	0,8	4,7	5,6	7,3

La couleur de l'huile est un facteur déterminant de la qualité. C'est un critère de sélection pour les consommateurs (**Ganduel-Rojas et Mingeuz-Mosquera, 1996**). L'huile de tournesol enrichie à 10% est la plus colorée car elle contient 70 et 7,3 unités, respectivement pour la couleur jaune et couleur rouge dont le premier représente les xanthophylles et le deuxième les carotènes. Ce qui signifie que cette huile est riche en xanthophylles.



Conclusion

Dans ce présent travail nous avons abordé deux aspects, le premier porte sur l'optimisation des conditions d'extractions des composés phénoliques de l'écorce de la citrouille, le deuxième est consacré à l'enrichissement de l'huile de tournesol avec l'écorce de citrouille. L'étude préliminaire a permis de fixer les limites supérieures et inférieures pour les paramètres étudiés qui sont le temps d'extraction, la vitesse et le ratio. L'optimisation a permis d'avoir les meilleures conditions qui sont de 90 min (temps), 890,74 rpm (vitesse) et 1/50 g/mL (ratio).

L'extrait optimisé contient $2054,14 \pm 77,21$ mg EAG/g MS en polyphénols totaux, $216,12 \pm 2,32$ mg EQ/100 g MS de flavonoïdes, $136,05 \pm 4,12$ mg EQ/100 g MS de flavonols et $186,47 \pm 3,54$ mg EC/100g MS de tannins. Il possède aussi une activité antioxydante avec d'IC₅₀ de $979,67 \pm 250,79$ µg/mL (test phosphomolybdate), de $4648,89 \pm 444,47$ µg/mL (test au DPPH) et de $443,450 \pm 21,857$ µg/mL (test à ABTS).

Ce travail est poursuivi par une étude des caractéristiques physico-chimique de l'huile de tournesol enrichie par l'écorce de la citrouille en déterminant l'acidité libre (1,41% pour l'huile témoin, 3,10% pour l'huile de tournesol enrichie à 10% et 5% et une acidité de 2,53% pour l'huile enrichie à 2,5%), l'indice de peroxyde (10,58 méq 2/Kg MG pour le témoin et 7,16 ; 5,71 ; 5,55 méq 2/Kg MG pour l'huile enrichie respectivement à 2,5 ; 5 et 10%).

En outre, le temps d'induction de l'huile enrichie à 5% est largement supérieur à celui de témoin et est de 10h80. Ces résultats démontrent que les huiles de tournesol enrichi avec les écorces de citrouilles prouvent une stabilité oxydative.

Les résultats obtenus prouvent que l'huile faisant l'objet de notre étude respecte les valeurs préconisées par la norme du C.O.I.

Dans le but d'améliorer et de compléter ce travail et approfondir nos résultats, il serait intéressant de mettre en place de nouvelles démarches, il est possible de suggérer les perspectives suivantes :

- Détermination de la composition en acides gras de l'huile de tournesol ainsi qu'élaborer d'autres méthodes d'extraction et d'analyse en utilisant des techniques d'identification avancées telles que la chromatographie sur couche mince (CCM) et la chromatographie liquide à haute performance (HPLC).
- Proposer des nouvelles méthodes d'extraction et d'enrichissement plus innovantes.
- Utilisation d'autres méthodes d'analyse telles que l'analyse spectrophotométrique infrarouge, la mesure de la densité et de la viscosité, l'analyse sensorielle, ainsi que la détermination de l'indice de saponification.

- Suivre la stabilité de l'huile de tournesol enrichie par l'écorce de la citrouille au cours du stockage.
- Enrichissement avec d'autres produits d'origine naturelle afin de pouvoir comparer les résultats.



Références bibliographiques

Références bibliographiques**A**

- Adebayo O. R., Farombi A. G., Oyekanmi A. M. (2013).** Proximate, Mineral and AntiNutrient Evaluation of Pumpkin Pulp (*Cucurbita Pepo*). *Journal of Applied Chemistry*, 4(5): 25-28.
- Ahmed, M., & Eun, J. B. (2018).** Flavonoids in fruits and vegetables after thermal and nonthermal processing: A review. *Critical reviews in food science and nutrition*, 58(18), 3159-3188.
- Al-Dalaen, S.M., & Al-Qtaitat, A.1. (2014).** Reviewarticle:oxidative stress versus antioxidants. *American Journal of Bioscience and Bioengineering*, 2(5) : 60-71.
- Al-Farsi, M., & Lee, C.Y. (2008).** Optimization of phenolics and dietary fiber extraction from date seeds. *Food Chemistry*, 108(3), 977-985.
- Al-Ghamdi, S., Hong, Y. K., Qu, Z., Sablani, S. S. 2020.** State diagram, water sorption isotherms and color stability of pumpkin (*Cucurbita pepo* L.). *Journal of food Engineering*, 273, 109820.
- Alkurd, A., Hamed, T. R., & Al-Sayyed, H. (2008).** Tannins contents of selected plants used in jordan. *Jordan Journal of Agricultural Sciences*, 4, 265-274.
- Alonso, C., Marti, M., Barba, C., Carrer, V., Rubio, L., & Coderch, L. (2017).** Skin permeation and antioxidant efficacy of topically applied resveratrol. *Archives of Dermatological Research*, 1-9.
- Altemimi, A., Watson, D. G., Choudhary, R., Dasari, M. R., & Lightfoot, D. A. (2016).** Ultrasound assisted extraction of phenolic compounds from peaches and pumpkins. *PloS one*, 11(2), e0148758.
- Amiot, M.J., Riollet, C., & Landrier, J. F. (2009).** Polyphénols et syndrome métabolique : Polyphenols and metabolic syndrome. *Médecine des maladies métaboliques*, 3(5) :476-482.
- Andjelković, M., Van Camp, J., De Meulenaer, B., Depaemelaere, G., Socaciu, C., Verloo, M., & Verhe, R. (2006).** Iron-chelation properties of phenolic acids bearing catechol and galloyl groups. *Food Chemistry*, 98(1) : 23-31.
- Aparicio-Ruiz, R., & Gandul-Rojas, B. (2014).** Decoloration kinetics of chlorophylls and carotenoids in virgin olive oil by autoxidation. *Food research international*, 65 : 199-206.
- Aparicio-Ruiz, R., Minguez-Mosquera, M. 1., & Gandul-Rojas, B. (2010).** Thermal degradation kinetics of chlorophyll pigments in virgin olive oils.1. Compounds of series a. *Journal of agricultural and food chemistry*, 58(10) :6200-6208.
- Atmani D, Chaher N, Barboucha M, Ayouni K, Lounis H, Boudaoud H, et al. (2009)** Antioxidant capacity and phenol content of selected Algerian medicinal plants. *Food Chem* ;112 :3039.
- Auger, C., & Schini-Kerth, V. B. (2014).** Potentiel des polyphénols à améliorer la protection vasculaire en stimulant la fonction endothéliale. *Cahiers de Nutrition et de Diététique*, 49(4) :160-172.

B

- Balasundram, N., Sundram, K., & Samman, S. (2006).** Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. *Food chemistry*, 99(1) :191-203.
- Bisby, R.H., Brooke, R., & Navaratnam, S., (2008).** Effect of antioxidant oxidation potential in the oxygen radical absorption capacity (ORAC) assay. *Food chemistry* 108 : 1002-1007.
- (Brahmi, F.), F Blando, R Sellami, S Mehdi, L De Bellis, C Negro, K Madani, H D Guemghar, L M Boulekbache, (2022).** *Industrial Crops and Products* 184, 114977
- (Brahmi, F.) Hauchard, D., Guendouze-Bouchefa, N., Madani, K., Kiendrebeogo, M., & Kamagaju, L. (2015).** Phenolic composition, antioxidant and antibacterial activities of three Algerian *Mentha* species. *Food Bioscience*, 12, 101-110.
- (Brahmi, F.) Madani, K., Dahmoune, F., Rahmani, T., Bousbaa, K., Oukmanou, S., Chibane, M., (2012).** Optimization of solvent extraction of antioxidants (phenolic compounds) from Algerian mint (*Mentha spicata* L.). *Phcog Commn.* 2 (4), 72-86.
- (Brahmi, F.) Mechri, B., Dabbou, S., Dhibi, M., & Hammami, M. (2014).** The efficacy of phenolics compounds with different polarities as antioxidants from olive leaves depending on seasonal variations. *Industrial Crops and Products*, 53, 350-355.
- Burgot G & Burgot J, L.** 3^{ème} édition (2011). *Méthodes instrumentales d'analyse chimique et applications*. Paris.
- Bussmann, W. R., Batsatsashvili, K., Kikvidze, Z., Paniagua-Zambrana, N. Y., Khutsishvili, M., Maisaia, I., Sikharulidze, S., Tchelidze, D. (2020).** Ethnobotany of the Mountain Regions of Far Eastern Europe, Ural, Northern Caucasus, Turkey, and Iran, pp: 347351.

C

- Caili, F., Huan, S., & Quanhong, L. (2006).** A review on pharmacological activities and utilization technologies of pumpkin. *Plant Foods for Human Nutrition*, 61(2), 70–77.
- Campbell, E.J., 1983,** Sunflower oil, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 60 : 387-392
- Cossut J. (2002).** Les corps gras entre tradition et modernité. Projet réalisé à l'institut agroalimentaire de Lille, France, pp. 1-111.
- Cossut J, (2002).** Les corps gras : entre tradition et modernité, projet réalisé dans le cadre du dess.qualipama. Institut agro-alimentaire de lille. 21-30p.

D

- Deimel T. (2007).** Important facts about award-winning styrian pumpkin seed oil and Your health.

E

Elboughdiri, N. (2018). Effect of time, solvent-solid ratio, ethanol concentration and temperature on extraction yield of phenolic compounds from olive leaves. *Eng. Technol. Appl. Sci. Res*, 8(2), 2805-2808.

El Yamani, M., Boussakouran, A., Benali, T., Rharrabti, Y., (2020). Antibact. Antioxid. Potentials phenolic Extr. olive Mill. Wastewater their Use Enhanc. Stab. olive oil. *Riv. Ital. delle Sostanz.-.* Grasse 97, 31–42.

El Yamani, M., Sakar, E.H., Boussakouran, A., Rharrabti, Y., (2020). Activity of two natural additives in improving the stability of virgin olive oil quality during storage. *OCL* 27, 44.

Evon M. P. (2008). Nouveau procédé de bioraffinage du tournesol plante entière par fractionnement thermo-mécano-chimique en extruder bi-vis : étude de l'extraction aqueuse des lipides et de la mise en forme du raffinat en agromatériaux par thermomoulage. Thèse de doctorat, Université de Toulouse, France. 388p.

F

FAOSTAT, F. (2021). FAOSTAT statistical database. Publisher: FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations), Rome, Italy.

FAOSTAT, F. (2022). FAOSTAT statistical database. Publisher: FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations), Rome, Italy.

Fernández-Martínez, J. M., Pérez-Vich, B., & Velasco, L. (2010). Sunflower. *Oil crops*, 155-232.

Filbrandt et Katelyn R. (2012). Effect of Pumpkin Seed Oil Cake on the Textural and Sensory Properties of White Wheat Bread. MS Food & Nutritional Sciences. American Psychological Association, 6ème Edition.

Fraga, C. J., & Oteiza, P. L. (2011). Dietary flavonoides: Role of (-) - epicatechin and related procyanidins in cell signaling. *Free Radical Biology & Medicine*, 51, 813-823.

G

Gharby S., Harhar H., Kartah B., El Monfalouti H., Haddad H., Charrouf Z. Les Technologies des Laboratoires 22(2011) 13-23.

Ghedira, K., & Goetz, P. (2013). *Cucurbita pepo* L.(Cucurbitaceae) Graine de courge ou citrouille. *Phytothérapie*, 11, 46-51.

Gibon, V., Tirtiaux, A., 1998, Un raffinage SOFT, Oléagineux Corps gras Lipides, 5 : 371377.

H

H. Ali, N. Narjis, Pak. J (2017). Agric. Sci. 30-55.

Hussain, A., Kausar, T., Din, A., Murtaza, M. A., Jamil, M. A., Noreen, S., ... & Ramzan, M. A. (2021). Determination of total phenolic, flavonoid, carotenoid, and mineral contents in peel, flesh, and seeds of pumpkin (*Cucurbita maxima*). *Journal of Food Processing and Preservation*, 45(6), e15542.

I

ISO. (2017). ISO 3960 : (2017). Animal and vegetable fats and oils - Determination of peroxide value - Iodometric (visual) endpoint determination. 5ème édition. Genève, Suisse: Organisation internationale de normalisation.

ISO. (2006). ISO 6886 :2006. - Animal and vegetable fats and oils — Determination of oxidative stability (accelerated oxidation test). Geneva

ISO. (2020). ISO 660 :2020. Animal and vegetable fats and oils — Determination of acid value and acidity (4th ed.). International Organization for Standardization.

J

J. Bochnak, M. Świeca (2020). Int. J. Food Sci. Technol. 55, 136.

Julkunen-Titto R. (1985). Phenolic constituents in the laeves of northem wiliows methods for the analysis of certain phenolics. Journal of Agricultural and Food Chemistry, p213.

K

Kaderides, K. Papaoikonomou, L. Serafim, M., Goula A.M (2019). Chem. Eng. Process. - Process. Intensif. 137, 1 (2019).

Karleskind, A., Wolff, J.P., 1992, Manuel des corps gras, Lavoisier TEC & DOC, Paris.

Karleskind, A. (1992). Manuel des corps gras. Paris. ISBN 2-85206-662-9. P 1571-1578.

Karleskind, A., 1996, Oils and fats manual Vol. 1, Lavoisier TEC & DOC, Paris.

Kartika (2005), expression et extraction en extrudeur bi-vis, purification par ultrafiltration de l'huile de tournesol, pp 36-38.

Khennouss (2015), Caractérisation de l'huile des graines de Citrouille (Cucurbita pepo) et essai d'incorporation dans la margarine de CEVITAL spa.

Kostecka-Gugała, A., Kruczek, M., Ledwożyw-Smoleń, I., Kaszycki, P. (2020). Antioxidants and Health-Beneficial Nutrients in Fruits of Eighteen Cucurbita Cultivars: Analysis of Diversity and Dietary Implications. Molecules, 25(8), 1792.

Kulczyński, G.-M., Iczyk, Kr (2020), Sustainability. 12, 1305.

Kumaran, A. et Karunakaran, R.J. (2007). In vitro antioxidant activities of methanol extracts of five Phyllanthus species from India. Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie. 40, 344-352.

L

Lecerf, J.-M (2011). Médecine des maladies Métaboliques 3.

Lee JW, Mo EJ, Choi JE et al (2016). Effect of Korean Red Ginseng extraction conditions on antioxidant activity, extraction yield, and ginsenoside Rg1 and phenolic content: Optimization using response surface method- ology. J Ginseng Res 40(3) :229–236.

Lim, H.-B. and kim, D.-H. (2018). Effects of roasting conditions on physicochemical properties and antioxidant activities in *Ginkgo biloba* seeds. Food science and biotechnology 27, 1057-1066.

M

Majeed M, Hussain AI, Chatha SAS et al (2016). Optimization protocol for the extraction of antioxidant components from *Origanum vulgare* leaves using response surface methodology. Saudi J Biol Sci 23:389–396.

Mala, K.S., Kurian, A.E. (2016), Int. J. Pharm. Chem. Biol. Sci. 6(3), 336–344.

Moczkowska, M., Karp, S., Horbanczuk, O.K., Hanula, M., Wyrwiesz, J., Kurek, M.A., 2020. Effect of rosemary extract addition on oxidative stability and quality of hemp seed oil. Food Bioprod. Process. 124, 33–47.

Morin O. et Pages-Xatart-Pares X. (2012). Huiles et corps gras végétaux. Ressources fonctionnelles et intérêt nutritionnel. OCL, 19(2), pp : 63 – 75.

M. Philippe EVON (2008), nouveau procédé de bioraffinage du tournesol plante entière par fractionnement thermo-mécano-chimique en extruder bi-vis : étude de l'extraction aqueuse des lipides et de la mise en forme du raffinat en agromatériaux par thermomoulage, thèse de doctorat, 'Université de Toulouse.

N

Nagavani, V., Ramasubramanian, V., & Kavitha, S. (2010). "In vitro and in vivo antioxidant studies of some medicinal plants." International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research, 5(3), 117-123.

Nimse, D. Palb (2015), Free radicals, natural antioxidants, and their reaction mechanisms, RSC Advances, 5:27986-28006.0.

O

Oufighou, A., Brahmi, F., Achat, S., Slimani, S., Arroul, Y., Kadi, A., ... & BoulekbacheMakhlouf, L. (2024). Microwave-assisted extraction of total phenolics from pumpkin (*Cucurbita pepo* L.) pulp and peel: optimization process, antioxidant and antimicrobial properties. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 1-16.

P

Peres, F., Roldão, M., Mourato, M., Martins, L.L., Ferreira-Dias, S., 2021. Co-processed olive oils with *Thymus mastichina* L.—new product optimization. Life 11, 1048.

Phillips, K. M., Ruggio, D. M., Ashraf-Khorassani, M. (2005). Phytosterol composition of nuts and seeds commonly consumed in the United States. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 53(24), 9436–9445.

P. Jarungjitaree, M. Naradisorn (2018). J. Food Sci. Agric. Technol. 4, 129.

R

Ratnam, N., Najibullah, M., Ibrahim, M. D. 2017. A review on *Cucurbita pepo*. International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research, 9(9): 1190-1194.

Roche J (2005). Composition de la graine de tournesol (*Helianthus annuus* L) sous l'effet conjugué des contraintes agri-environnementales et des potentiels variétaux. 2005 ; 13 -14.

Rosa V et al. (2016) "Plant polyphenols as natural drugs for the management of Down syndrome and related disorders." Neuroscience & Biobehavioral Reviews 71 : 865-877.

S

Saavedra, M.J., Aires, A., Dias, C., Almeida, M.C., De Vasconcelos, B.M., Santos, P., Rosa, J. E.A. (2015). Food Sci. Technol. 52, 1008. J.A.

Salehi, B., Sharifi-Rad, J., Capanoglu, E., Adrar, N., Catalkaya, G., Shaheen, S., Jaffer, M., Giri, L., Suyal, R., Jugran, A. K., Calina, D., Docea, A. O., Kamiloglu, S., Kregiel, D., Antolak, H., Pawlikowska, E., Şen, S., Acharya, K., Bashiry, M., Selamoglu, Z., Martorell, M., Sharopov, F., Martins, N., Namieśnik, J., Cho, W. C. 2019. *Cucurbita* Plants : From Farm to Industry. Applied Sciences, 9(16) : 3387.

Samira, O., Laila, B., Moussa, N. A., Mohamed, I., Devkota, K., Abdelhakim, B., ... & Said, G. (2024). Recent advances in the extraction of bioactive compounds from plant matrices and their use as potential antioxidants for vegetable oils enrichment. *Journal of Food Composition and Analysis*, 105995.

Shahidi and Ying Zhong, 2009, Lipid oxidation and improving the oxidative stability, 4067p.

Shahidi, F., & Ambigaipalan, P. (2015). Phenolics and polyphenolics in foods, beverages and spices: Antioxidant activity and health effects-A review. *Journal of functional foods*, J 8 :820897.

Shahidi, F. ; Naczk, M (2004). Phenolic in Food and Nutraceutical; CRC Press: Boca Raton, FL, USA.

Singleton, V. L. & Rossi, J. A. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*, 16 (3), 144-158.

T

Talbi, H., Arfaoui, M., & Kharrat, M. (2015). Influence of environmental factors on the yield and quality of essential oils from rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) cultivated in Tunisia. *Industrial Crops and Products*, 77, 681-687.

Tinsson W. 2010. Plans d'expérience, In « constructions et analyses statistiques, Mathématiques et Applications >>. Springer-Verlag Berlin Heidelberg. 36 p.

V

Vidal, A.M., Moya, M., Alcalá, S., Romero, I., Espínola, F., 2022. Enrichment of Refined Olive Oils with Phenolic Extracts of Olive Leaf and Exhausted Olive Pomace. *Antioxidants* 11, 204.

Y

Younis Y.M.H., Ghirmay S., et Al-Shihry S.S. (2000) . African *Cucurbita pepo* L. properties of seed and variability in fatty acid composition of seed oil. *Phytochemistry*, pp: 71–75.

Z

Zahran, H., Najafi, Z., (2020). Enhanced stability of refined soybean oil enriched with phenolic compounds of olive leaves. *Egypt. J. Chem.* 63, 215–224.

Zarour W, Boulssane S, (2017). Optimisation de l'enrichissement assisté par ultrason d'une huile d'olive vierge avec les feuilles de *Pistachia lentiscus*. 17-18p.

Listes des références électroniques

Anonyme 1: <https://www.futura-sciences.com/planete/photos/environnement-18-citrouilleshalloween-monstrueusement-originales-621/environnement-histoire-origine-citrouille-3122/> **consulté le : 30-06-2024.**

Anonyme 2: <https://j aime-jardiner.ouest-france.fr/citrouille> **consulté le : 30-06-2024.**

Anonyme 2: <https://www.gabonreview.com/gabon-tami-jardin-se-lance-dans-la-culture-defleurs-de-tournesol/> **consulté le : 30-06-2024.**

Anonyme 3 : <https://www.teacherspayteachers.com/Product/Affiches-sur-le-cycle-de-vie-dutournesol-2541135> **consulté le : 30-06-2024.**

Anonyme 4 : <https://agronomie.info/fr/mecanismes-generaux-de-loxydation-des-lipides/> **consulté le : 30-06-2024.**

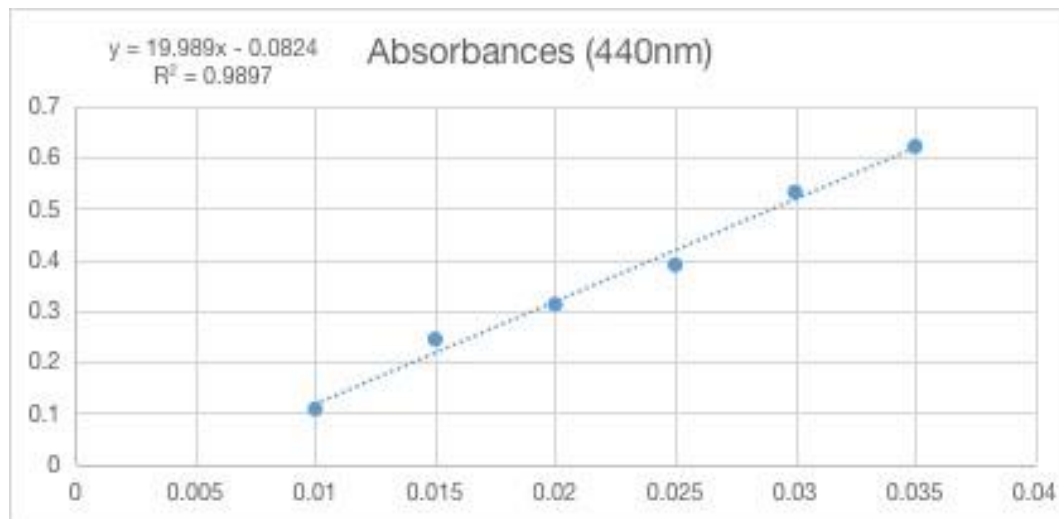
Anonyme 5 : <https://www.snackandbakery.com/articles/97010-tree-top-releases-pumpkin-flake-powder-in-fruit-ingredient-lineup> **consulté le : 14-07-2024.**



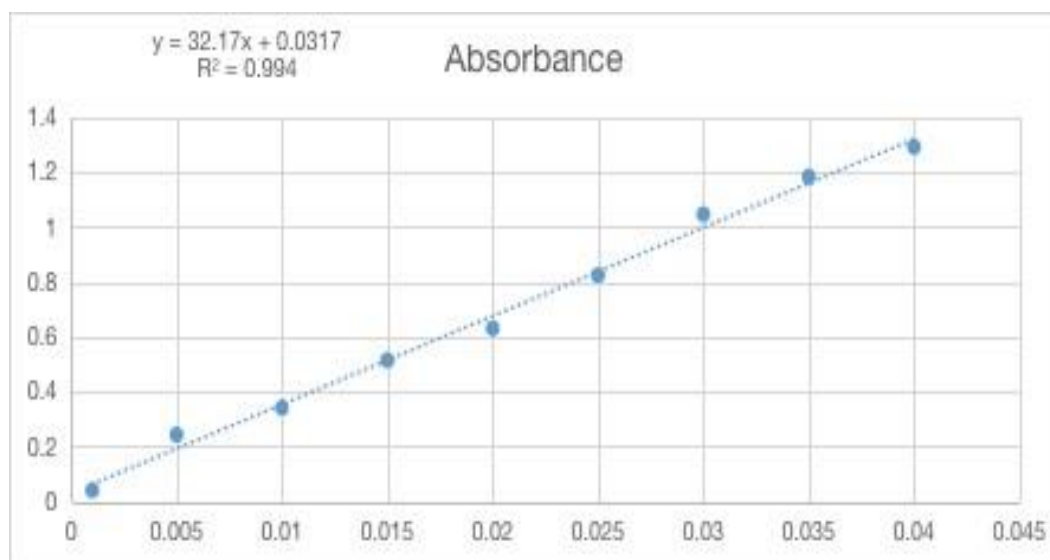
Annexes

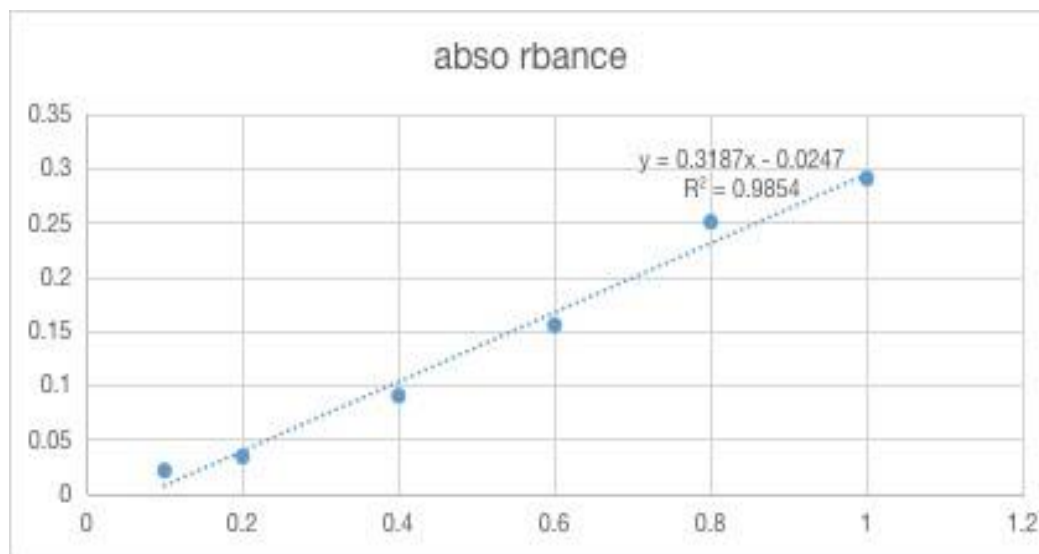
Annexes

Annexe 01 : Courbe d'étalonnage des flavonols totaux réalisée avec la quercetine.



Annexe 02 : courbe d'étalonnage des flavonoïdes totaux réalisée avec la quercetine.



Annexe 03 : Courbe d'étalonnage des tannins condensés.

Résumé

L'objectif de ce présent travail consiste à réaliser des analyses phyto-chimiques de l'écorce de la citrouille (*Cucurbita pepo* L.) en optimisant l'extraction de ses polyphénols totaux et d'évaluer les propriétés physicochimiques (acidité, indice de peroxyde, indice d'iode, la couleur) d'une huile de tournesol après l'enrichissement avec l'écorce de cette plante à 2,5%, 5% et 10%. Les meilleures conditions après l'optimisation sont une vitesse d'agitation de 700 rpm, un temps de 120 minutes et un ratio de 1/60 g/mL.

Les teneurs en composés phénoliques de l'extrait optimisé sont de 2054,14 \pm 77,21 mg EAG/g MS, 216,12 \pm 2,32 mg EQ/100 g MS, 136,05 \pm 4,12 mg EQ/100 g MS et 186,47 \pm 3,54 mg EC/100g MS en polyphénols totaux, flavonoïdes, flavonols et tannins condensés, respectivement. L'évaluation des activités antioxydantes de l'extrait optimisé présente des valeurs en IC₅₀ (μ g/mL) = 4648,89 \pm 444,47 pour le test de DPPH, 979,67 \pm 250,79 pour le test au phosphomolybdate et 443,450 \pm 21,857 pour le test à l'ABTS. L'ajout de l'extrait de l'écorce de la citrouille à 2%, 5% et 10% a permis d'obtenir des indices de qualité comparables (indice de peroxyde (IP) = 7,16 M_{eq} O₂/kg, indice d'acidité (IA) = 2,53%) ; (IP=5,71 M_{eq} O₂/kg, IA= 3,10%) ; (IP=5,55 M_{eq} O₂/kg, IA=3,10%) respectivement par rapport au témoin (IP=10,58 M_{eq} O₂/kg, IA= 1,41%).

Les huiles enrichies à 2%, 5% et 10% ont permis d'obtenir une meilleure stabilité oxydative avec des temps d'induction de 9h28, 10h80 et 9h13, respectivement qui sont plus élevés que celui de l'huile non enrichie (4h76,5%). Ces résultats montrent que l'enrichissement avec l'écorce de citrouille améliore efficacement la stabilité oxydative de l'huile de tournesol et renforce l'intérêt accordé aux antioxydants naturels qui peuvent remplacer les produits synthétiques dont les effets indésirables sur la santé ont été signalés.

Mots clés : *Cucurbita pepo* L. ; écorce de la citrouille ; extraction par macération ; huile de tournesol ; stabilité oxydative ; activité antioxydante.

Abstract

The objective of this work was to carry out phyto-chemical analyzes of the peel of the pumpkin (*Cucurbita pepo* L.) by optimizing the extraction of its total polyphenols and to evaluate the physicochemical properties (acidity, peroxide index, iodine value, color) of sunflower oil after enrichment with the peel of this plant at 2.5%, 5% and 10%. The best conditions after optimization are a stirring speed of 700 rpm, a time of 120 minutes and a ratio of 1/60 g/mL. The contents of phenolic compounds in the optimized extract were 2054.14 \pm 77.21 mg GAE/g DM, 216.12 \pm 2.32 mg QE/100 g DM, 136.05 \pm 4.12 mg QE/100 g DM and 186.47 \pm 3.54 mg CE/100 g DM in total polyphenols, flavonoids, flavonols and condensed tannins, respectively. The evaluation of the antioxidant activities of the optimized extract presented values in IC₅₀ (μ g/mL) = 4648.89 \pm 444.47 for the DPPH test, 979.67 \pm 250.79 for the phosphomolybdate test and 443.450 \pm 21,857 for the ABTS test. The addition of pumpkin peel extract at 2%, 5% and 10% showed comparable quality indices (peroxide index (PI) = 7.16 M_{eq} O₂/kg, index acidity (IA) = 2.53%) ; (IP=5.71 M_{eq} O₂/kg, AI=3.10%) ; (IP=5.55 M_{eq} O₂/kg, AI=3.10%) respectively compared to the control (IP=10.58 M_{eq} O₂ /kg, AI= 1.41%). The oils enriched at 2%, 5% and 10% exhibited the better oxidative stability with induction times of 9h28, 10h80 and 9h13, respectively which were higher than that of the non-enriched oil (4h76, 5%). These results showed that enrichment with pumpkin peel effectively improves the oxidative stability of sunflower oil and reinforces the interest given to natural antioxidants which can replace synthetic products whose adverse effects on health have been reported.

Key words: *Cucurbita pepo* L.; pumpkin peel; extraction by maceration; sunflower oil; oxidative stability; antioxidant activity.