

## Etude des phytostérols et des acides gras de *pistachia atlantica*

Bachir Raho GHALEM<sup>1</sup> et Hachemi BENHASSAINI<sup>2</sup>

<sup>1</sup> *Biology institute, University center Mustapha Stambouli of Mascara, 29000, Algeria*

<sup>2</sup> *Departement of environmental science, Djilali Liabes University, Sidi bel Abbes, 22000, Algeria*

(Reçu le 05 Novembre 2006, accepté le 23 Août 2007)

\* Correspondance, courriel : [bachir\\_rah@yahoo.fr](mailto:bachir_rah@yahoo.fr)

### Résumé

Le genre *Pistacia* est représenté en Algérie par quatre espèces, en l'occurrence *Pistacia lentiscus*, *Pistacia terebinthus*, *Pistacia vera* et *Pistacia atlantica*. Le pistachier vrai (*Pistacia vera*) et le pistachier de l'atlas ou bétoum (*Pistacia atlantica*) sont caractérisés du point de vue écologique par une grande tolérance aux variations climatiques, ils peuvent croître sous des tranches pluviométriques assez faibles et s'accommodent de tous les sols.

On extrait de leurs graines une excellente huile alimentaire. Si pour le pistachier vrai, les caractéristiques physiques et biochimiques sont connues, ce n'est pas le cas pour le pistachier de l'atlas. En effet les résultats d'analyses montrent que les graines de bétoum sont très riches en lipides avec une grande teneur en acides gras mono-insaturés et en phytostérols, teneurs comparables à celle de l'huile d'olive, qu'on commence à peine à entrevoir ses vertus thérapeutiques et nutritionnelles envers certaines pathologies.

**Mots-clés :** *Acides gras, Pistacia atlantica, Pistacia vera, phytostérols*

### Abstract

#### Study of phytosterols and fatty acids of *pistachia atlantica* and *pistacia vera*

In Algeria, the genus *Pistacia* was represented by four species : *Pistacia lentiscus*, *Pistaciaterbinthus*, *Pistacia vera* and *Pistacia atlantica*.

The two species, *Pistacia vera* and *Pistacia atlantica* are characterised, in ecological point of view, by a great climatic variety. They can grow with low precipitations levels and can accommodate with all grounds.

We extract from their seeds excellent alimentary oil. Their biochemical composition presents a so richness in lipids. The details analysis of both species oils, in occurrence *Pistacia vera* and *Pistacia atlantica* has shon a high tenure in mono-insaturated fatty acids and phytosterols, tenure comparable to that of the olive oil one, which we begin, only, to see the nutritional and preventives virtues versus certain pathologies.

**Keywords :** *Fatty acids, Pistacia atlantica, Pistacia vera, phytosterols*

## 1. Introduction

D'origine végétale ou animale, les corps gras sont des matières fluides, onctueuses insolubles dans l'eau et dans l'alcool. Les végétaux qui les produisent sont très variés. L'alimentation humaine, mais aussi l'alimentation animale et les usages industriels sont leurs principales utilisations [1]. Chez les végétaux fournisseurs d'huiles « les oléagineux », les réserves lipidiques se rencontrent le plus souvent dans les graines ou dans la pulpe qui entoure le noyau des fruits. Les pistaches, les noix, les amandes etc. . . sont considérées comme des graines que des fruits oléagineux, du fait de leur faible teneur en eau environ 5 % et de leur teneur élevée en lipides et en protéines, puisqu'elles contiennent 50 à 60 % de lipides et 14 à 21 % de protéines. Le taux élevé de glucide est en moyenne de 17 % dont 3 % de cellulose [2].

Dans notre contexte, et dans le but de valoriser l'espèce *Pistacia atlantica* Desf, qui pousse spontanément en Algérie sauf le littoral, et qui de plus est très utilisée par les populations nomades dans leurs consommations quotidiennes, nous avons pensé à exploiter son côté lipidique en le comparant avec celui de *Pistacia vera* L.

L'huile de bétoum représente un poids spécifique de 0,918 à 15°C, fluide, de couleur jaune à odeur et saveur agréables, et se solidifie entre 5 et 10°C [3].

## 2. Matériel et Méthodes

Notre étude à été consacrée à l'analyse de l'amende des deux espèces de même provenance, en l'occurrence la localité de Sfisef (ex : Mercier Lacombe) distance de 40 km de la ville de Sidi Bel Abbès dans l'ouest Algérien.

Pour l'étude de la fraction lipidique, la méthode utilisée est celle décrite par *Lepage et Roy* [4] au centre de nutrition humaine de Nancy et qui permet de quantifier simultanément les acides gras et les phytostérols. Une masse déterminée (200 mg) de pistaches lyophilisées et broyées est mise en présence d'un agent méthylant (HCl méthanolique) et d'un solvant organique (Benzène). Des standards internes sont ajoutés

pour calculer le rendement final : le C : 17 pour les acides gras et le dihydro-cholestérol pour les stérols. La méthylation se fait à 80°C pendant 2 heures.

Après refroidissement dans un bain de glace, 5 mL de KCl à 9 g/L sont additionnés.

Deux extractions à l'éther éthylique et une troisième au chloroforme-méthanol (2 :1) sont effectuées. Les phases organiques sont rassemblées et après évaporation sous azote, les acides gras sont séparés des stérols par chromatographie sur couche mince Si 60 dans un solvant hexane-ether (7 :3). Une révélation à la primuline permet de visualiser les différents composés et de les éluer par l'hexane (1:1) pour les acides gras, et l'éther de pétrole pour les stérols. Après évaporation, les acides gras sont repris par l'hexane et injectés dans un chromatographe en phase gazeuse (Variant 3400) couplé à un enregistreur (Shimadzu CR 3A). L'identification et la quantification sont réalisées à l'aide de standards commerciaux.

**Tableau 1 :** *Temps de rétention relative (TRR) au C18 :0, de différents acides gras méthylés*

Acides gras	TRR	Acides gras	TRR
C12° : 0	0.15	C20 : 7	1.79
C14° : 0	0.27	C20 : 2 n-9	1.89
C14° : 1n-9	0.30	C20 : 2 n-6	1.95
C16° : 0	0.54	C20 : 3 n-9	2.02
C16° : 1n-9	0.58	C20 : 3 n-6	2.08
C16° : 1n-7	0.61	C20 : 3 n-3	2.22
C17° : 0	0.75	C20 : 4 n-6	2.31
C18° : 0	1.00	C20 : 4 n-3	2.32
C18° : 1n-9	1.04	C20 : 5 n-3	2.40
C18° : 1n-7	1.06	C22 : 0	2.60
C18° : 2n-6	1.16	C22 : 1 n-11	2.61
C18° : 3n-6	1.22	C22 : 1 n-9	2.63
C18° : 3n-3	1.35	C22 : 4 n-6	3.16
C18° : 4n-3	1.46	C22 : 5 n-6	3.35
C20° : 0	1.69	C22 : 5 n-3	3.53
C20° : 1n-11	1.73	C22 : 6 n-3	3.71
C20° : 1n-9	1.75	C24 : 0	3.77

Les conditions chromatographiques sont : une colonne capillaire "Chrompack CP-WAX 52 CB" de 25 m de long et de 0.32 mm de diamètre ; un débit du gaz vecteur (hydrogène) : 0.5 mL/mn ; à des températures : four (165-180°C ; 2°C/mn), injecteur et détecteur (200°C).

Après évaporation de l'extrait, les stérols sont silylés dans un BSTFA-TMCS durant 30 minutes à 70°C puis injectés dans un chromatographe « Delsi DI 200 » équipé d'un détecteur à ionisation de flamme et connecté à un intégrateur « Shimadzu CR 3A ». Les temps de rétention au 5-cholestrane sont déterminés avec des standards commerciaux (**Tableau 2**).

**Tableau 2 :** Temps de rétention relative (TRR) au 5-cholestrane des phytostérols silylés

Stérols neutres	TRR
Dihydroxycholestérol	2.08
Campestérol	2.63
Stigmastérol	2.82
$\beta$ -Sitostérol	3.23

Les conditions chromatographiques sont: une colonne capillaire "Chrompack CP SIL 19CB" de 25 m de long et de 0.32 mm de diamètre interne; avec un débit du gaz vecteur (hydrogène) : 0.5 mL/mn ; à des températures : isotherme de 250°C (four), 265°C (injecteur et détecteur).

### 3. Résultats et discussion

L'analyse biochimique des graines de deux espèces de pistachier montre une teneur élevée en lipides 56.62 g/100 g MS pour *Pistacia atlantica* et 39.8 g/100 g MS pour *Pistacia Vera*, ceci est intéressant pour la valorisation de *Pistacia atlantica* qui pousse spontanément en Algérie.

Les lipides extraits des graines du *Pistacia* sont des triglycérides riches en acides gras insaturés. Les glucides présents dans la graine, par lipogenèse se transforment en lipides. Les résultats figurent dans le **Tableau 4**.

Les phytostérols eux aussi se trouvent en proportion non négligeable dans les deux espèces (**Tableau 5**), pouvant constituer une importante source en ses substances hypocholestérolémiantes concurrente les autres huiles végétales (soya, maïs, tournesol, colza) qui sont les principales références en ses biomolécules.

Chez les plantes le premier produit stable est le cycloartenol qui constitue le précurseur pour les stérols caractéristiques des plantes; les phytostérols.

De 20 à 30 jours après la fécondation survient une brève période d'une dizaine de jours, au cours de laquelle se produit la synthèse des lipides. Cette dernière comprend deux parties, celle du glycérol et celle des acides gras [4]

Les drupes de petit calibre (6-8 mm) du bétoum donnent un rendement très appréciable en huile de l'ordre de 40 %, comparativement à celui du pistachier vrai qui varie entre 25 et 50 % malgré la grosseur de son fruit.

L'analyse de ces huiles nous a permis de mettre en évidence sa composition en différents constituants biochimiques tel que les structures glycériques et les phytostérols.

La fraction d'acides gras insaturés est majoritaire et confère à l'huile de bétoum une haute valeur nutritionnelle malgré qu'elle soit moins stable du point de vue oxydatif.

Parmi les acides gras insaturés, l'acide oléique est présent en proportion majoritaire supérieure à celle du pistachier vrai d'où l'importance physiologique de cet acide gras et celui de l'acide linoléique dans la prévention de certains troubles du métabolisme, des maladies cardio-vasculaires et cancéreuses [5,6]. La présence de l'acide linoléique, protège l'huile du phénomène d'oxydation lors des traitements thermiques et par conséquent la prédispose à des chauffages éventuels.

**Tableau 4 :** *Composition en acides gras en mg par 100g de matière sèche et pourcentage par rapport aux acides gras totaux.*

Espèces Acide gras	<i>Pistacia atlantica</i>		<i>Pistacia vera</i>	
	mg/100 g MS	%	mg/100 g MS	%
Acide laurique (12: 0)	40	0.07	50	0.10
Acide myristique (14: 0)	50	0.09	100	0.19
Acide palmitique (16:0)	6900	12.21	6000	11.55
Acide palmitoléique (16:1 n-9)	1000	1.77	300	0.58
Acide stéarique (18:0)	1350	2.39	7900	15.21
Acide oléique (18:1 n-9)	30600	54.15	34100	65.64
Acide linoléique (18: 2 n-6)	16300	28.84	2500	4.81
Acide linoléinique (18:3 n-6)	240	0.42	700	1.35
Acide arachidonique (20: 0)	30	0.05	300	0.58
Total des acides gras	56510	100	51950	100
Acides gras saturés	8370	14.81	14350	27.62
Acides gras mono insaturés	31600	55.92	34400	66.22
Acides gras poly insaturés	16540	29.27	3200	6.16

L'analyse de la fraction stérolique à permis l'identification du  $\beta$ -sitostérol, du campe stérol et du stigmastérol. La présence des stérols dans l'huile du bétoum lui confère une haute valeur nutritionnelle du fait qu'ils sont les précurseurs de la provitamine D. Le campé stérol et le  $\beta$ -sitostérol interviennent par la baisse du taux de cholestérol dans le sang [7]. Parmi les métabolites végétaux qui ont été supposés réduire l'absorption du cholestérol, les phytostérols s'avèrent être d'un grand intérêt [7].

De nombreuses études cliniques ont montré que la consommation d'environ 2 g par jour de bêta-sitostérol (ou de sitostanol) abaisse le LDL-cholestérol d'environ 10 %. Le bêta-sitostérol agit, au moins partiellement, en inhibant l'absorption intestinale de cholestérol. Il a été rapporté récemment par une étude canadienne [8] que l'enrichissement des aliments présentés à certains diabétiques -présentant un risque accru aux maladies cardiovasculaires- pourrait avoir un effet positif sur la réduction des taux de mortalité associés au diabète de type 2, comme il peut avoir un effet bénéfique sur l'état de santé général d'une personne non diabétique. Les phytostérols sont présentés dans les végétaux. Ils sont efficaces en abaissant le cholestérol de plasma et ont été proposés comme agents protecteurs contre l'hypercholestérolémie [9].

Il y a eu plusieurs publications sur les effets antitumoraux des phytostérols, et tout particulièrement du  $\beta$ -sitostérol [10-12]. Des travaux scientifiques ont prouvé que les phytostérols pouvaient réduire le risque de certains types de cancers notamment celui du poumon [13], du sein [14], œsophage [15], de l'estomac [16] du colon [17] et de l'ovaire [18]. L'apport quotidien de phytostérols nécessaire pour réduire le risque de ces cancers allait de  $> 122$  mg pour le cancer de colon [17] à  $> 521$  mg de l'ovaire [18]

Les résultats d'un essai mené sur des personnes infectées par le VIH [19] et d'un autre mené auprès de tuberculeux [20] laissent penser que les phytostérols pourraient stimuler les réactions immunitaires

**Tableau 5 :** Composition en phytostérols en mg par 100g de matière sèche et pourcentage par rapport aux stérols totaux

Espèces Stérols	<i>Pistacia atlantica</i>		<i>Pistacia vera</i>	
	mg/100 g MS	%	mg/100 g MS	%
$\beta$ -sitostérol	95.55	91	100.30	85
Campestérol	5.25	5	4.72	4
Stigmastérol	4.20	4	12.98	11
Total des stérols	105	100	118	100

#### 4. Conclusion

L'analyse biochimique des graines de pistachier de l'atlas a fait ressortir leur richesse en lipides précisément les acides gras insaturés (oléo-linoléique) et les phytostérols, dont les intérêts diététiques et nutritionnels ne sont plus à démontrer, ce qui peut offrir des possibilités pour une exploitation rationnelle par son utilisation à des raisons pharmaceutiques et agroalimentaire par l'intégration de ses huiles aux médicaments et

aux aliments, sachant que le pistachier de l'atlas est utilisé à grande échelle en passant par l'huile, les tourteaux puis la résine et le tanin- par les populations surtout les nomades des steppes algériennes dans leur alimentation quotidienne et celle de leurs cheptels. Ceci peut faire l'objet de plusieurs travaux de différentes disciplines scientifiques en utilisant les méthodes les plus fiables pour l'extraction et la purification ses acides gras et ses phytostérols ainsi que les doses et les modalités de leur addition aux médicaments et aux aliments.

### Références

- [1] - PH. Mensier. Encyclopédie biologique " Dictionnaire des huiles végétales" Edition Paul Lechevalier .Tome II. (1957) 522p.
- [2] - P. Ozenda Flore du sahara. Deuxième Edition, CNRS. Paris (1983) 622p.
- [3] - F. Nigon, C. S. Lacrosnière, D. Chauvois, C. Neveu, J. Chapman et E. Bruckert. « Les phytostérols : une nouvelle approche diététique de l'hypercholestérolémie ». *Sang, thrombose, vaisseaux*. 12, (8) (2000), 483-490
- [4] - G. Lepage, C. Roy. Direct transesterification of all classes of lipids in one-step reaction. *J. Lipid Res*, 27, (1986) 114-120.
- [5] - B. Delplanque, B. Le roy, F. Mendy , E. Fenart, A. T. DEKAR, F. Syeda, N. Combe, A. Ruelland , P. Borel, S. Tanguy, B. Vandepuited. « Définition des limites de flexibilité des apports en acides oléique, linoléique et alphalinoléique sur la lipidémie et les paramètres d'athérombose chez l'homme : intérêt des huiles végétales combinées ». *Oléagineux, Corps Gras, Lipides*. Volume 9, Numéro 4, 237-43, Juillet - Août (2002). pp. 237-244.
- [6] - S. M. Soel, O. S. Choi, M. H. Bang, J. H. Y. Park and W. K. Kim. Influence of conjugated linoleic acid isomers on the metastasis of colon cancer cells in vitro and in vivo. *The Journal of Nutritional Biochemistry* .Volume 18, Issue 10, October (2007), Pages 650-657.
- [7] - D. Lutjohann, I. Bjorkhem, U.F.Beil, K. Von Bergmann. Sterol absorption and sterol balance in phytosterolemia evaluated by deuterium-labeled sterols : effect of sitostanol treatment. *J. Lipid Res*, 36. (1995).1763-1773.
- [8] - W. Y. L. Vivian, J. Melanie, and J. H. J. Peter. Plant Sterols are Efficacious in Lowering Plasma LDL and non-HDL Cholesterol in Hypercholesterolemic Type 2 Diabetic and Nondiabetic Persons. *Am J Clin Nutr*; 81 June (2005) 1351-1358.
- [9] - J. M. Lecerf . Phytosterols and cardiovascular risk. *Nutrition Clinique et Métabolisme* Volume 21, Issue 1, March (2007) Pages 17-27.
- [10] - A. B. Awad, K. C. Chan, A. C. Downie, C. S. Fink. Peanuts as a source of  $\beta$ -sitosterol, a sterol with anticancer properties. *Nutr Cancer* .36 (2000) 238-241.

- [11] - P. J. Bouic The role of phytosterols and phytosterolins in immune modulation : a review of the past 10 years. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*, 4 (2001) 471-475.
- [12] - A. B. Awad, M. Chinnam, C. S. Fink and P. G. Bradford.  $\beta$ -Sitosterol activates Fas signaling in human breast cancer cells. *Phytomedicine* .Volume 14, Issue 11, 5 November (2007) 747-754.
- [13] - M. Mendilaharsu, E. D. Stefani, H. Deneo-Pellegrini, J. Carzoglio and A. Ronco. Phytosterols and risk of lung cancer : a case-control study in Uruguay. *Lung Cancer* .21 (1998) 37-45
- [14] - A. Ronco, E. D. Stefani, P. Boffetta, H. Deneo-Pellegrini, M. Mendilaharsu and F. Leborgne. Vegetables, fruits and related nutrients and risk of breast cancer : a case control study in Uruguay. *Nutr. Cancer*, 35 (1999) 111-119.
- [15] - E. D. Stefani, P. Boffetta, A. Ronco, P. Brennan, H. Deneo-Pellegrini, J. C. Carzoglio, M. Mendilaharsu. Plant sterols and risk of stomach cancer:a case-control study in Uruguay. *Nutr. Cancer*, 37 (2000) 140-144.
- [16] - S. M. Cann, J. L. Freudenheim, J. R. Marshall, J. R. Brasure, M. K. Swanson and S. Graham. Diet in the epidemiology of endometrial cancer in Western New York (United States). *Cancer Causes Control*, 11 (2000) 965-974.
- [17] - S. M. Cann, J. L. Freudenheim, J. R. Marshall, S. Graham. Risk of human ovarian cancer is related to dietary intake of selected nutrients, phytochemicals and food groups. *J. Nutr.* 133 (2003) 1937-1942.
- [18] - E. D. Stefani, P. Brennan, P. Boffetta, A. L. Ronco, M. Mendilaharsu H. Deneo-Pellegrini. Vegetables, fruits, related dietary antioxidants, and risk of squamous cell carcinoma of the esophagus : a case-control study in Uruguay. *Nutr Cancer*. 38 (2000) 23-29.
- [19] - U. Breytenbach, A. Clark, J. Lamprecht and P. Bouic. Flow cytometric analysis of the Th1-Th2 balance in healthy individuals and patients infected with the human immunodeficiency virus (HIV) receiving a plant sterol/sterolin mixture. *Cell Biol Int*; 25(1) (2001) 43-49.
- [20] - P. J. D. Bouic. Sterols and sterolins: new drugs for the immune system? *Drug Discovery Today*. Volume 7, Issue 14(1) July (2002) 775-778.
- [21] - A. Saffarzadeh, L. Vincze, J. Csapo. Determination of some anti-nutritional factors and metabolisable energy in acorn, *Pistacia atlantica*, *Pistacia khinjuk* seeds as new poultry diets. *Acta Agraria Kasposvariensi*, 4(1) (2000) 41-47.
- [22] - M. Yousfi, B. Nedjmi, R. Bellal, D. Ben Bertal and G. Palla. Fatty acids and sterols of *Pistacia atlantica* fruit oil. Paper n° J10092 in JAOCs 79. (2002) 1049-1050.
- [23] - H. F. Hendriks , E. J. Brink , G. W. Meijer , H. M. Princen , F. Y. Ntanos . Safety of long-term consumption of plant sterol esters-enriched spread. *Eur J Clin Nutr*. 57(5) (2003) May 681-92.