

REPULIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEURE ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE KASDI MERBAH – OUARGLA -
FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE
DEPARTEMENT DES SCIENCES AGRONOMAIE



Mémoire de Fin d'études

En Vue De L'obtention Du Diplôme D'ingénieur d'Etat en Sciences Agronomiques

Spécialité : Technologie Alimentaire

Thème

*Huiles Alimentaire de graines Pinus pinea Extraction et
Caractérisation physique-chimique*

Présenté et soutenu publiquement par :

*M^{lle} BENSEGHIER Kaoutar
Mr KHAMED Oussama*

LE : 17/06/2014 .

Devant le jury- :

Président	: M ^{me} .KHALLAF Sakina	M.A.A	(Univ. K M Ouargla)
Promoteur	: M ^r . LOUNI Sofiane	M.A.A	(Univ. K M Ouargla)
Examineur:	M ^r . CHOUNA Toufik	M.A.A	(Univ. K M Ouargla)
Examineur:	M ^{me} . LOUNICI Safia	M.A.A	(Univ. K M Ouargla)

Année Universitaire : 2013/2014

Remerciements

Je remercie tout d'abord le Dieu qui m'a donné le courage et la patience dans toute ma vie et pour terminer ce modeste travail. Toujours en lui j'ai mis toute ma confiance et ne m'a jamais déçu.

J'exprime mes profondes gratitude et reconnaissances à mon encadreur Monsieur LOUNI Sofiane pour avoir proposé et accepté de diriger, avec beaucoup de patience et de dévouement, ce sujet de mémoire de fin d'études et je ne peux pas jamais oublier ses encouragements et ses conseils, je le prie de trouver ici le témoignage d'une respectueuse reconnaissance.

Je veux traduire également mes vifs remerciements au madame et monsieur les membres de jury :

Madame , KHELLEF S ., Maître assistant à l'université de Ouargla, pour m'avoir accepté de présider ce jury.

Monsieur, CHOUBANA T., Maître de conférences à l'université d'Ouargla, pour avoir bien voulu faire partie de ce jury.

Madame LOUNICI S., Maître assistant à l'université d' Ouargla, pour m'avoir fait l'honneur d'examiner et de juger ce travail.

Mes sincères remerciements vont à tous les professeurs de département des sciences technologie alimentaire et d'agronomiques.

J'ai aussi le plaisir de remercier Monsieur SIGNI L., et Madame KASSI S ., et également l'équipe des travailleurs, sans la contribution de lui, ce travail ne serait jamais allé à son terme, je suis redevable et reconnaissante.

Ma reconnaissance va également à toutes les équipes de laboratoire du département des sciences agronomique.

Ma reconnaissance va également à tous mes collègues de promotion.

Liste D'abréviation

AA : Acide Arachidonique

ADN : Acide désoxyribonucléique

AFNOR : Association française de normalisation

AG : Acides Gras.

AGI : Acides Gras Insaturés.

AGMI : Acides Gras Monoinsaturés.

AGPI : Acides Gras Polyinsaturés.

AGS : Acides Gras Saturés.

AGT : Acides Gras Trans

ALA : Acide Alpha Linoléique

ANC : Apport Nutritionnel Conseille

ANC : Apports nutritionnels conseillés

Apo : Apoproteine

BHA : butyl hydroxy anisol

BHT : butyl hydroxy toluene

COX-2 : Cyclooxygenase-2

DHA : Acide docosahexaénoïque

E.C.N : Espèces chimiques nouvelles

EPA : Acide Ficosapentaénoïque

FAO : Food and Agriculture Organization of the United Nations

FID : Détecteur à Ionisation de Flamme

GC /FID : Chromatographie Phase Gaz/Détecteur à Ionisation de Flamme.

GC : Chromatographie Phase Gaz.

GLA : Acide gamma linoléique (GLA),

HAP : Hydrocarbures aromatiques polycycliques

HDL : Lipoprotéine de haute densité.

LDL : Lipoprotéine de basse densité

LPS :Lipopolysaccharide

MDA : Malondialdéhyde

OMS :Organisation mondiale de la Santé

PC : Phosphatidylcholine

PE : Phosphatidyléthanolamine

PG E2: Prostaglandine E2

PS : Phosphatidylsérine,

TAG : Triacylglycérols

TAGT: Triacylglycérols Totaux

TG : Triglycerides

TG : Triglycérides

VLDL : Lipoprotéine de très base densité

VLDL : Lipoprotéine de très basse densité

Liste des Figures

N°	Titre	Page
01	Aiguilles de Pin pignon	07
02	Bourgeons mâles de Pin pignon	08
03	Cônes mûrs de Pin pignon	09
04	Graines de Pin pignon	09
05	Configuration des acides gras saturés et des trois différentes séries d'acides gras insaturés.	27
06	Métabolisme des acides gras poly-insaturés des séries oméga-3 (n-3) et oméga-6(n-6)	29
07	Δ^5 - Acides gras polyméthylènes et méthylènes insaturés rencontrés dans les lipides des graines des gymnospermes, et leurs noms triviaux	31
08	Voies possibles pour la biosynthèse des acides gras insaturés dans les graines de conifères. (Wolff et al, 1996)	32
09	Les acides gras polyinsaturés réguliers et les voies métaboliques alternatives de Δ^5 -desaturation . (HUNG et al ,2014)	35
10	Les acides gras polyinsaturés réguliers et les voies métaboliques alternatives (CHEN et al , 2012)	35
11	Structure des tocophérols (SOULIER et al,1992)	40
12	Représentation de la structure chimique des stérols	44
13	Représentation schématique du lycopène, caroténoïde linéaire. par cyclisation des extrêmités, on obtient la structure du b-carotène.	46
14	Représentation des cycles terminaux qui diffèrent par la position de leur double liaison. Ils sont obtenus par cyclisation du lycopène.	47
15	Représentation schématique des autres caroténoïdes le plus souvent mesurés dans le sérum humain.	47
16	Une molécule de phospholipide	50
17	Structure du Palmitate de cétyle. (WEIL et al, 2001)	50
18	Représentation schématique d'un extracteur de Soxhlet	55
19	Schéma implifié des stades primaires et secondaires de l'oxydation d'une matière grasse insaturée (RH).	65
20	La composition en acides gras de notre huile déterminée par (C.P.G)	87

Liste des Tableaux

N°	Titre	Page
01	Composition biochimique des graines de <i>Pinus pinea</i>	13
02	La distribution du contenu en vitamines dans les graines de <i>Pinus pinea</i>	13
03	Distribution du contenu en minéraux dans les graines de <i>Pinus pinea</i> (NERGIZ et al,2004)	14
04	Les rendements en huile de graines de <i>Pinus pinea</i>	14
05	Les teneurs en composés insaponifiables de l'huile de graines différentes espèces du genre <i>Pinus</i>	15
06	Composition en acides gras de l'huile de graines de <i>Pinus pinea</i> (NERGIZ et al ,2004)	16
07	Composition en triglycerides de l'huile de graines <i>Pinus pinea</i> (NERGIZ et al,2004)	17
08	Concentrations inhibitrices minimum (MIC) et concentrations bactéricides minimum (MBC) du PNAE sur les bactéries examinées	19
09	Principales classes des huiles et graisses alimentaires (KARLESKIND,1992)	23
10	Recommandations en acides gras pour l'adulte consommant 2000 kcal par jour	37
11	Recommandations en AGPI pour la femme enceinte consommant 2050 kcal et la femme allaitante consommant 2250 kcal par jour (Anses)	37
12	Recommandations en AGPI pour le nouveau-né/nourrisson (6 premiers mois) par jour (Anses)	37
13	Sources de Vitamine E (CUVELIER al,2003)	40
14	Besoins et recommandations vitamine E (SURIA, P.F.,2002).	41

15	Paramètres physico-chimiques de l'huile de <i>Pinus pinea</i>	83
16	Les teneurs en composés mineurs de l'huile de graines de <i>Pinus pinea</i> comparées à d'autres huiles alimentaires conventionnelles	86
17	Composition en acides gras de l'huile de graines de <i>Pinus pinea</i> exprimée en % des acides gras totaux	87

Sommaire

Remerciement	
Liste des abréviations	
Liste des tableaux	
Liste des figures	
Résumé	
Introduction	02
CHAPITRE I : L'huile de graines des Pinus pinea	
I.1. Historique	06
I.2. Botanique de la plante Pinus pinea	07
I.2.1. Classification botanique.	09
I.3. Noms vernaculaires	11
I.4. Ecologie de la plante Pinus pinea	11
I.5. Répartition en Algérie	12
I.6. Utilisations de Pin pignon	12
I.7. L'huile des Pinus pinea	13
I.7.1. Composition biochimique de la graine	13
I.7.2. Le Rendement en huile de Pinus pinea	14
I.7.3. Caractéristiques de l'huile de graines des Pinus pinea	15
I.8.1 : Intérêts thérapeutiques de l'huile et des extraits aqueux des conifères	18
I.9 : Particularités structurales des huiles de graines de conifères	20
Chapitre II Généralités sur les corps gras	
II.1. Introduction et Historique	22
II.2. Généralités sur la matière grasse	23
II.2.1. Définition et Origine des corps gras	23
II.2.2. Classification des corps gras	23
II.2.3. Propriétés physico chimiques des corps gras	24
II.2.4. Composition des corps gras	25
II.2.4.1. Les Triglycérides	25

II.2.4.1.1.Rôles des triglycérides dans l'organisme	26
II.2.4.2.Les acides gras	26
II.2.4.2.1.Définition	26
II.2.4.2.2.Principaux constituants	26
II.2.4.2.2.1.Les acides gras saturés	28
II.2.4.2.2.1.1.Rôle et action des acides gras saturés dans l'organisme	28
II.2.4.2.2.2.Les acides gras insaturés	28
II.2.4.2.2.2.1.Les acides gras mono insaturés	28
II.2.4.2.2.2.1.1. Effets des acides gras mono insaturés sur l'organisme	29
II.2.4.2.2.2.2.Les acides gras polyinsaturés	29
II.2.4.2.2.2.2.1.Rôles des acides gras polyinsaturés (Notion d'acides gras essentiels AGE) dans l'organisme	30
II.2.4.2.2.2.3 Les acides gras insaturés non usuels	30
II.2.4.2.2.2.4. Structures et biosynthèse des acides delta5-oléfiniques	31
II.2.4.2.2.2.5.Sources potentielles d'acides delta5-oléfiniques	32
II.2.4.2.2.2.6 Principales voies métaboliques de production d'acides gras gras essentiels a partir d'acides gras polyméthylènes insaturés « acides delta5-oléfiniques » (métabolisme et conversion métabolique des acides delta5-oléfiniques : (Fig X,Y ,Z , E)	34
II.2.4.2.3.Besoins et apports recommandés en acides gras	36
II.2.4.3.Les constituants mineurs	38
II.2.4.3.1.L'insaponifiable	38
II.2.4.3.1.1.Les tocophérols	38
II.2.4.3.1.1.1.Définition	38
II.2.4.3.1.1.2.Structure	38
II.2.4.3.1.1.3.Propriétés physico chimiques des tocophérols	39
II.2.4.3.1.1.4.Sources de Vitamine E	39
II.2.4.3.1.1.4.Carences en vitamine E	40
II.2.4.3.1.1.5. Besoins et recommandations	40
II.2.4.3.1.1.6. Rôle de la vitamine E.	41

II.2.4.3.1.2.Les stérols	44
II.2.4.3.1.2.1.Définition	44
II.2.4.3.1.2.2.Structure	44
II.2.4.3.1.2.3.Apports recommandés en phytostérols	45
II.2.5.3.1.2.4.Le rôle des phytostérols dans l'organisme	45
II.2.5.3.1.3.Les caroténoïdes	46
II.2.5.3.1.3.1. et structure	46
II.2.5.3.1.3.2.Les sources et les apports recommandés en caroténoïdes	47
II.2.5.3.1.3.3.Rôles des caroténoïdes dans l'organisme	48
II.2.5.3.1.4.Les chlorophylles	48
II.2.5.3.1.4.1.Définition et structure	48
II.2.5.3.1.4.2.Rôle des chlorophylles	49
II.2.5.3.1.5.Les hydrocarbures	49
II.2.5.3.1.6.Les alcools Triterpeniques	49
II.2.5.3.2.Les phospholipides	50
II.2.5.3.2.1.Rôles des phospholipides	50
II.2.5.3.3.Les cires	50
Chapitre III Technologie de production des corps gras	
III.1.Technologie de fabrication des huiles	52
III.1.1.Principes généraux de la trituration	52
III.1.2.Procédé Extraction des huiles	52
III.1. 2.1.Extraction par la presse	52
III.1. 2.1.1.Paramètres influençant les rendements le rendement d'extraction par presse	53
III.1. 2.2.L'extraction par solvant	54
III.1. 2.2.1.L'extraction par Soxhlet	55
III.1. 2.2.3.L'extraction par ultrasons	56
III.1. 2.2.3.Propriétés du solvant d'extraction idéal	56
III.1.2.2.4.Extraction par voie biologique	57
III.1. 3.Le raffinage des corps gras	57

III.1. 3.1. Les procédés de raffinage	58
III.1. 3.1. Effets du raffinage sur quelques composés mineurs des huiles végétales	59
III.1. 4. Altération des huiles	59
III.1. 4.1. Les différents types d'altérations des huiles	59
III.1. 4.1.1. Altération biologique	60
III.1. 4.1.2. Altération chimique	60
III.1. 4.1.2.1. Phénomène d'acidification (d'hydrolyse)	60
III.1. 4.1.2.2. Phénomène d'oxydation	61
III. 1.4.1.2.2.1. Les facteurs favorisant l'oxydation	61
III.1. 4.1.2.2.2. Les différentes phases d'oxydation de corps gras:	63
III.1.4.1.3. Altérations thermo-oxydatives	65
III.1. 4.2. Répercussion sur le plan nutritionnel et sanitaire des corps gras oxydés	65
III.1.4.3. Mesures de prévention contre l'oxydation des corps gras	65
III.1. 5. Conditionnement de l'huile	66
III.1. 6. Conservation et stockage	66

Partie II Matériels et méthodes

I. Extraction de l'huile de conifères	69
I.1. Matériel végétal	69
I.1.1. Provenance	69
I.1.2. Préparation de l'échantillon	69
I.2. Procédés d'extraction	69
I.2.2. Extraction par Ultrasons	69
I.2.3. Extraction par solvant (Soxhlet)	70
II. Composition biochimique de la graine	71
II.1. Teneur en eau et en matières volatiles (NFT 03 903 AVRIL 1966)	71
II.2. Teneur en cendres (NF V 03-922)	72
II.3. La teneur en protéines brutes (NF V 18-100)	72
II.4. La teneur en fibre (NF V 18-100)	73
II.5. Teneur en hydrates de carbones totaux	73
III. Paramètres physico-chimiques	73

III.1.Paramètres physiques	73
III.1.1.La densité (AFN T 60 214)	73
III.1.2. Indice de Réfraction (AFNT 60 212)	74
III.2.Paramètres chimiques	74
III.2.1.Indice d'acide (Norme Française T60 204)	74
III.2.2.Indice de peroxyde (Norme Française T60 220)	75
III.2.3. Indice de saponification (Norme Française T60 206)	76
III.2.4.Indice d'iode (Norme française T60 203)	77
IV. Analyse de la composition chimique de l'huile	78
IV.1.Extraction des phosphatides.	78
IV.2. Extraction de l'insaponifiable ((Norme française T60 205)	78
IV.3. Détermination du profil en acides gras	79
IV.3.1.Analyse par chromatographie en phase gazeuse des esters méthyliques d'acides gras de l'huile de graines de conifères	79
Résultats et discussions	
I. La composition biochimique de la graine de <i>Pinus pinea</i>	82
II. Propriétés physico-chimiques de l'huile de graines de <i>Pinus pinea</i>	83
II.1.Propriétés physiques	84
II.1.1. La densité	84
II.1.2. Indice de réfraction	84
II.2.Propriétés chimiques	84
II.2.1. Indice d'acide	84
II.2.2. Indice d'iode	85
II.2.3. Indice de peroxyde	85
II.2.4. Indice de saponification	85
III. Analyse de la composition chimique de l'huile de graines de <i>Pinus pinea</i>	85
III.1.La teneur en phosphatides	86
III.2. La teneur en insaponifiables	86
III.4. Le profil en acides gras	86

Conclusion	94
Références Bibliographiques	97
Annexe	

Résumé

L'objectif de cette étude est l'analyse de la composition biochimique, l'extraction et la caractérisation physico-chimique de l'huile de graines de *Pinus pinea de jble alwahch kacentina* pour une contribution à une meilleure appréciation de cette huile.

L'extraction de l'huile de graines de *Pinus pinea* par la méthode chimique Soxhlet (extrait à l'hexane) a donné un rendement en huile de l'ordre de 38,63 %. L'analyse de la composition biochimique des graines a révélé la richesse de ces dernières en matière grasse et en protéines avec des valeurs respectives de l'ordre de 38,63 % et 31,3 %. En outre la même analyse a révélé des teneurs relativement fiables en humidité de 5,3 %, cendres 4,4 et en de fibres 3,9 %. La teneur en sucre totaux est de l'ordre de 16,47 %. Les valeurs obtenues pour les différents indices physico-chimiques (densité, indice de réfraction, d'acide, de peroxydes, de saponification et d'iode) sont respectivement de l'ordre de 0,925, 1,4772, 2,3 mg/g de l'huile, 6,42 méq O₂/Kg de l'huile, 183,95 mg de KOH /g d'huile, 103,65 g/100 g d'huile. Le dosage des composés mineurs a montré une valeur moyenne de l'ordre de 1,4 % en insaponifiable et une valeur élevée de l'ordre de 2,3 % en phosphatides. L'analyse du profil en acides gras par CPG/FID met en évidence la richesse de l'huile en acides gras insaturés (86,7%) dont l'acide linoléique est prédominant avec une teneur moyenne de 43,66% suivi de l'acide oléique avec une valeur de l'ordre de 31,21 %.. En revanche, le contenu en acides gras saturés est faible de l'ordre de 6,75 %, représenté principalement par l'acide palmitique (C16 :0) et l'acide stéarique (C18 :0). D'autre part, les acides gras polyinsaturés W3 (acide linoléique) sont présents à l'état de traces.

La teneur relativement faible en humidité permet d'assurer un bon stockage des graines. Le pourcentage élevé en matière grasse et en protéines trouvé dans les graines de *Pinus pinea* fait de ces dernières un important potentiel dans les industries des huiles ainsi qu'une très bonne source en protéines qui peut être ajoutée comme complément alimentaire. L'huile de pin pignon se classe parmi les huiles demi-siccatives linoléiques (riche en acide linoléique) et avec une teneur assez moyenne en acide oléique. Ce dernier confère une certaine stabilité oxydative ainsi qu'une d'action favorable exercée par les acides gras monoinsaturés sur l'évacuation du cholestérol. D'autres parts l'acide linoléique (oméga-6), acide gras essentiel pour l'organisme qui ne peut pas le synthétiser a comme principal effet de baisser le taux de cholestérol LDL ainsi que d'être le précurseur de molécules hautement actives (écosanoides) responsables des réactions de l' inflammation, et l'agrégation plaquettaire

Enfin l'analyse du profil en acides gras par CPG/FID de l'huile de graines n'a pas malheureusement détecter (par manque de moyens) les acides gras polyinsaturés delta5-oléfiniques. dits non usuels sont des composés caractéristiques des huiles de graines de conifères présentant des propriétés bénéfiques sur la santé notamment un effet favorable qu'ils exercent sur le métabolisme lipidique.

Mots clés: *Pinus pinea*, graines, extraction, Soxhlet, huile, CPG, acide linoléique, acide oléique, acide gras polyinsaturés Δ -5 oléfiniques , non usuels.

Abstract

The objective of this study is the analysis of the biochemical composition, the extraction and the physicochemical characterization of the seed oil of *Pinus pinea* on jble alwahch kacentina for a contribution to a better appreciation of this oil.

The extraction of the seed oil of *Pinus pinea* by the chemical method Soxhlet (extracted with hexane) with given a yield oil of about 38,63%. The analysis of the biochemical composition of seed revealed the wealth of these last out of fat contents and proteins are respectively about 38,63% and 31.3%. In addition the same analysis revealed relatively reliable contents of moisture of 5,3%, ashes 4,4 and in fibers 3,9%. The sugar content totals is about 16,47%. The values obtained for the various physicochemical index (density, index of refraction, acid, peroxid, saponification and iodine are respectively about 0,925,1,4772,2,3 mg/g oil, 6,42 méq O₂/Kg of oil, 183,95 mg of KOH /g of oil, 103,65 g/100 g of oil. The dosage of the minor compounds showed a median value of about 1,4% in unsaponifiable matter an elevated value of about phosphatids 2,3%. The analysis of the profile in fatty-acids by CPG/FID highlights the wealth of oil in unsaturated fatty acids (86,7%) whose linoleic acid is prevalent with an average content of 43,66% follow-up of the oleic acid with a value of about 31,21%. On the other hand, the contents in saturated fatty acids weak of about 6,75%, are represented mainly by the palmitic acid (C16: 0) and stearic acid (C18: 0). In addition, polyunsaturated fatty acids W3 (linolenic acid) are present at the state of traces.

The relatively low content of moisture makes it possible to ensure a good storage of seeds. The high percentage out of fat contents and proteins found in seeds of *Pinus pinea* makes these last an important potential in industries of oils as well as very a good source out of proteins which can be added like food complement. The seed oil of *pinus pinea* is classified among linoleic semi-siccative oils half (rich in linoleic acid) and with a rather average content of oleic acid. This last confers a certain oxydative stability like one of favorable share exerted by the monounsaturated fatty acids on the evacuation of cholesterol. Other shares the linoleic acid (omega-6), essential fatty acid for the organism which cannot synthesize it has like independent effect lowering level of LDL cholesterol like being the precursor of highly active molecules (ecosanoid) responsible for the reactions of the inflammation, and platelet aggregation

Finally the analysis of the profile in fatty-acids by CPG/FID of the seed oil unfortunately could not detect (by lack of means) the delta5-olefinic polyunsaturated fatty acids. These not usual fatty-acids known as are compounds characteristic of seed oils of conifers forwarding of the beneficial properties on health in particular a favorable result which they exert on the lipid metabolism.

Key words: *Pinus pinea*, seeds ,extraction, Soxhlet, oil, CPG, linoleic acid, oleic acid, fatty-acid polyunsaturated Δ -5 olefinic, unusual.

المخلص

الهدف من هذه الدراسة هو تحليل التركيبة البيوكيميائية للاستخلاص والخصائص فيزيوكيميائية لزيت بذور الصنوبر الثمري بجبل الوحش بقسنطينة من اجل الحصول على تقدير لهذا الزيت.

ان استخلاص الزيت على الطريقة الكيميائية (Soxhlet) أعطى مردودية زيت بمقدار 38.63% . تحليل التركيبة البيوكيميائية للحبيبات (البذور) كشف عن غناها بالدهون والبروتينات بمقادير خاصة على النحو التالي : 38.63% و 3.81% , زيادة على ذلك نفس التحليل كشف المقادير متعلقة بالرطوبة بنسبة 5.3% . الرماد 4.4% و 3.9% من الالياف , مقدار السكر الكامل 16.41% .

هذه القيم المتحصل عليها باختلاف الاشارات البيوكيميائية (التركيز - انكسار الاشعة - حمض البيروكسيد - التصبن) جرعات (كميات) المكونات الصغيرة الثانوية أعطت قيمة متوسطة كالاتي : 1.4 % في غير التصبن و قيمة مرتفعة في الفوسفاتيد , التحليل الجيني للأحماض الدهنية بـ GPC/DIF اكد غنى الزيت بالأحماض المشعة بنسبة 86.7% حمض (euqeloneb) بنسبة 43.66% شبعة حمض (euqielo) بنسبة 31.21% .

بالمقابل تواجد الأحماض الدهنية المشعة ضعيفة بنسبة 6.75% ممثلا اساسا بـ حمض (euqitunlap) (C_{16:0}) و حمض (euqirets) (C_{18:0}) من جهة اخرى الأحماض الدهنية المتعددة الغير مشعة W₃ (edica ileaique) كانت قليلة المقدار الضئيل للرطوبة أثبت التخزين الجيد (للبذور) النسبة العالية للدهون والبروتينات المتواجدة في بذور (sunip) تجعل منها متواجدة بقوة في صناعة الزيوت بالإضافة الى مصدر حي للبروتين يمكن استعماله كمكمل غذائي .

زيت الصنوبر (nognip) , يصنف مع الزيت (نصف المحافظة على الرطوبة) (euqilonil) (غني بـ حمض euqeonil) مؤكسد مع عملية مجهودة من طرف الأحماض الدهنية (onom erutasni) (أحادية غير مشعة) في افراغ الكولسترول من جهة اخرى حمض (euqilonil) (obagem) و حمض ذهني اساسي للجسم لا يمكن اعتباره كمخصص رئيسي في نسبة الكولسترول وكونه (نذير) للجزيئات ذات النشاط العالي (sedusoce) المسؤولة لانفعالات الالتهابات وتجمع المعادن .

اخيرا تحليل الخصائص في الأحماض الدهنية بـ GPC /DIF لزيت البذور لم يمكن تحصيله نظرا لنقص الوسائل والأحماض المتعددة الغير المشعة (euqifelo) (atleD5).

هذه الأحماض الدهنية هي مكونات ذات خاصية لزيت بذور ذات فصيلة من اشجار الصنوبر مقدمة خصائص ملائمة للصحة خاصة التأثير الذي في التحول الغذائي.

Introduction
Générale

Les lipides, ou graisses, comme les autres nutriments occupent une place très importante dans l'alimentation humaine. Ils sont indispensables au bon fonctionnement de l'organisme et fournissent une quantité d'énergie supérieure à celle apportée par les glucides. Les cellules du corps humain ont besoin d'énergie pour remplir leurs fonctions. Les lipides sont des produits naturels largement répandus dans le règne animal et végétal. Ils regroupent les huiles et les graisses d'origine animale et végétale.

Une huile végétale est un corps gras extrait d'une plante oléagineuse, c'est-à-dire une plante dont les graines, noix ou fruits contiennent des lipides. Les huiles végétales comestibles sont des denrées alimentaires qui se composent essentiellement de glycérides d'acides gras exclusivement d'origine végétale. Elles peuvent contenir en faible quantité d'autres lipides comme les phosphatides, des constituants insaponifiables et les acides gras libres naturellement présents dans la graisse ou l'huile

Les lipides sont impliqués dans le transport de molécules organiques et dans plusieurs processus biologiques déterminants alors que certains constituent une source de composés essentiels, ne pouvant être synthétisés par le corps humain (BOCKISH, 1993)

En effet la valeur nutritive d'une huile végétale, repose sur son apport en acides gras essentiels (indispensables) Oméga 3 et Oméga 6 ou et en vitamines.

Plusieurs études, viennent réconforter les attributs de santé des acides gras polyinsaturés W6, W3 (ou anciennement vitamine F) représentés respectivement par l'acide linoléique et l'acide alpha-linolénique et leurs propriétés thérapeutiques dans la prévention des maladies cardiovasculaires ainsi que le synthèse de molécules biologiques hautement actives (écosanoïdes). L'homme étant incapable de les fabriquer, ces acides gras essentiels (A. G. E.) doivent être obligatoirement apportés par l'alimentation et notamment par les huiles végétales.

Le Pin parasol ou Pin pignon (*Pinus pinea* L.) est une espèce de conifères de la famille des pinacées. C'est un arbre caractéristique poussant abondamment sur le pourtour méditerranéen, reconnaissable à son port évoquant un parasol déployé dépassant rarement les 30 mètres, et souvent associé au chêne vert et au pin d'Alep.

Le Pin pignon est une espèce forestière importante. Ses principales utilisations sont la production de bois. Ce dernier léger et souple est utilisé en menuiserie et dans la construction maritime

Cependant c'est pour ces graines comestibles que le pin parasol est beaucoup plus recherché, pour la production de pignons utilisés à des fins culinaires notamment en pâtisserie ou pour la production d'une huile ayant des applications cosmétiques

Les graines de conifères sont considérées comme une source potentielle d'huiles alimentaires. Ces graines sont riches en huile jusqu'à 65 % en poids (*Pinus koraiensis*). Cette huile de type linoléique (jusqu' à 59,7 % d'acide linoléique) chez *Pinus pinaster*, renferme aussi une teneur importante en acide oléique (jusqu' à 46,85 % d'acide oléique) chez *P.edulis* (WOLFF et al, 2000) ainsi que des acides gras polyinsaturés présentant une liaison éthylénique en delta5 (acides delta5-oléfiniques, de configuration entièrement *cis*). Ces acides gras polyméthylène insaturés dits non usuels et particulièrement les acides delta5-oléfiniques sont des composés caractéristiques et systématiques des huiles de graines gymnospermes. Ces derniers indépendamment de la famille considérée (*Taxaceae*, *Pinaceae*, *Taxodiaceae*, *Cupressaceae*, et *Podocarpaceae*), renferment tous en quantités variables, mais systématiquement ces acides gras polyméthylène insaturés dits non usuels

Les graines de *Pinus. pinea* sont riches en huile (44,9 % des graines décortiquées) (jusqu' à 47,6 % d'acide linoléique et 38,60 % d'acide oléique).

Mais elles sont malheureusement peu intéressantes comme source d'acides delta5-oléfiniques (moins de 4% des acides gras totaux). *Pinus pinea* est à cet égard une exception dans le genre *Pinus*, voire dans la famille des *Pinaceae*. (WOLFF et al, 1997)

En raison de ces nombreuses applications et des effets thérapeutiques et bénéfiques sur la santé de l'huile de graines de conifères comme source nouvelle d'huile à particularités structurales et physiologiques, notre étude se veut donc une contribution à une meilleure appréciation de l'huile des graines de *Pinus pinea* cultivées en Algérie.

Ce travail comprend les points suivants :

- Etude biochimique de la graine de *Pinus pinea* ;
- Extraction de l'huile de graines de *Pinus pinea* ;
- Caractéristiques physicochimiques de l'huile de graines de *Pinus pinea* ;
- Etude du profil en acides gras de l'huile de graines de *Pinus pinea* .

PARTIE I :
Bibliographie

Chapitre I :
L'huile de graines de
conifères

PARTIE I : Bibliographie

I.1. Historique sur les conifères

Les premiers conifères (plantes à graines et à ovules nus non inclus dans un ovaire à la différence des angiospermes) seraient apparus il y a 250 millions d'années lors du Carbonifère. Ils furent les arbres dominants de la végétation à partir du Permien et jusqu'au Crétacé; ils furent ensuite remplacés dans les régions tropicales par les angiospermes.

Leur déclin commence à la fin de l'ère secondaire, il y a 150 millions d'années, après d'importants.

Les conifères sont des végétaux ligneux, le plus souvent de grands arbres (plus de 100 m pour les séquoias) dont certains nous sont très familiers, pins, sapins, épicéas, cyprès. Ils s'opposent aux autres arbres (angiospermes) par le fait qu'ils portent des aiguilles et que les canaux sécréteurs présents dans tous leurs organes contiennent de la résine. Ces espèces montrent des capacités d'adaptation incroyables à de nombreux environnements, allant des régions montagneuses tibétaines, aux plateaux désertiques de l'ouest des Etats-Unis, en passant par les régions marécageuses de Floride ou les dunes de la côte landaise. (DAVID, 2004).

L'importance économique des conifères réside dans l'utilisation de leur bois et de leur résine (bois de construction, d'œuvre, de chauffage...etc.) ainsi que dans l'industrie du papier. Enfin, la valeur ornementale et protectrice de nombreuses essences est indéniable et fait même l'objet actuellement d'un certain engouement. Les graines de certaines espèces sont très recherchés à cause de leur richesse en huile (les graines de *P. koraiensis*, renferment 65% en poids). L'huile de graines de *P. pinaster* (environ 10% en poids lorsque les graines entières sont pressées à froid, mais 36% des graines décortiquées extraites par solvants) contiennent à la fois de l'acide pinolénique et de l'acide sciadonique. Ces derniers sont dits acides gras polyinsaturés non usuels (delta5-oléfiniques). Les graines comestibles de *Pinus pinea* (pin parasol), qui croît en de nombreux pays autour de la mer Méditerranée, sont également exploitées pour la production de pignons utilisés à des fins culinaires (notamment en pâtisserie) ou pour la production d'une huile ayant des applications cosmétiques. Supplantés à partir de l'ère tertiaire par les angiospermes qui comptent actuellement plus de 400 000 espèces, les conifères ont cependant résisté jusqu'à nos jours, avec un tout petit nombre d'espèces (environ 900). Au sein des gymnospermes, les conifères (ou pinophytes) forment l'essentiel de la biodiversité avec 550 à 630 espèces, selon les auteurs. Ils sont présents sur toute la surface du globe et regroupés en 69 genres et 7 familles. Ils représentent donc la majeure partie des gymnospermes, les espèces de conifères sont moins nombreuses actuellement que par le passé, et à côté de quelques genres très divers (comme le

genre *Pinus*), on en trouve qui ne contiennent qu'une ou deux espèces, reliquats de groupes autrefois bien plus nombreux.

I.2. Botanique de la plante (*Pinus pinea*)

Le Pin pignon est un arbre à port typiquement “ en parasol ”. Il peut atteindre une hauteur de 30m et plus de 6m de circonférence (**TORNATORA, 1887**). Son fût est cylindrique, rectiligne et se divise rapidement en branches presque d'égale importance. Les arbres perdent les branches les plus basses par élagage naturel.

Sa longévité peut atteindre 200 à 250 ans, mais dans quelques régions elle peut dépasser 400 ans comme l'avaient signalé (**GONZALES, 1947**) et (**FEINBRUN, 1959**). La croissance est monocyclique avec les rameaux primaires d'un gris verdâtre. Le rhytidome, initialement écailleux est brun rouge, devient crevassé et se divise en grandes et longues plaques d'un gris assez clair de couleur rouge cannelle à l'intérieur. Les aiguilles, d'un vert glauque, réunies sur les rameaux sont généralement fasciculées par deux. Elles sont longues de 10 à 20 cm et épaisses de 1,5 à 2 mm. Elles sont flexibles et dentelées, et ont un apex pointu souvent jaunâtre. Elles tombent la 3^{ème} ou la 4^{ème} année.



Figure 1 : Aiguilles de Pin pignon

Les bourgeons sont cylindriques, pointus, avec des écailles réfléchies, d'un brun clair, frangées de blanc ; ils ne sont pas résineux.

Le système racinaire du Pin pignon poussant sur des sols sableux comprend d'abord un pivot avec peu de racines latérales ; ces dernières colonisent les couches les plus superficielles du sol en se développant surtout horizontalement. Ces racines latérales se subdivisent plus ou moins

dichotomiquement donnant finalement naissance à un ample système d'exploration du sol, complexe et multi stratifié (FILIGHEDDU,1962, PADULA,1968,PROFILI,1993).



Figure 2: Bourgeons mâles de pin pignon

Les arbres, monoïques, forment des inflorescences cylindriques. L'époque de floraison est comprise entre mai et juin.

Les chatons mâles sont placés à la base des rameaux de l'année. Ce sont des inflorescences cylindriques, jaune verdâtre teinté de brun, formés d'écailles imbriquées, avec de nombreuses étamines, chacune avec deux sacs polliniques; les microsporophyles commencent à se différencier en automne. La période de pollinisation est comprise entre avril et juin avec un maximum au mois de mai, c'est-à-dire beaucoup plus tard que le maximum de pollinisation du pin d'Alep et du pin maritime. Après la dispersion du pollen, les chatons sèchent et tombent.

Les macrosporophylles sont terminaux ou sub-terminaux. Ils prennent la forme d'un cône ligneux dans lequel les écailles qui portent les ovules et les bractées couvrantes sont indépendantes. Les macrosporophylles apparaissent au milieu de l'automne ou au début de l'hiver. Les écailles des inflorescences femelles s'ouvrent en mai.

En avril de la première année, les cônelets sont encore petits (environ 20 mm de long), et pédonculés ; ils ont des écailles à ombilics hérissés non mucronés. La deuxième année, ils atteignent la dimension d'une noix et la troisième année, leur taille définitive. Les cônes sont solitaires, arrondis, ovoïde-coniques, de 8 à 14 cm de long, de 7 à 10 cm de large, ils ont des écailles en écusson renflé, à ombilic peu saillant.



Figure 3 : Cônes mûrs de Pin pignon

Les graines, grosses à coque ligneuse sont groupées par deux à la base de chacune des écailles. Les graines grosses de 1,5 à 2 cm, longues avec une coque dure mûrissent à l'automne de la troisième année, leur production est abondante seulement tous les 3 – 4 ans. (ADILI,2012). La graine appelée “Zkougou” est comestible, utilisée dans la pâtisserie.



Figure 4 : Graines de pin pignon

I.2.1. Classification botanique (Taxonomie)

Le Pin pignon ou Pin parasol (*Pinus pinea* L.) appartient à la famille des Pinaceae (sous famille des Pinoïdae). (DEBAZAC, 1977) divise le genre *Pinus* en deux sous-genres : *Strobus* et *Pinus*. Le sous-genre *Pinus* est à son tour divisé en 6 sections dont la section *Pinea* comprenant uniquement l'espèce *Pinus pinea* L. Cet auteur signale que certains caractères comme la graine à

coque dure, à aile courte, les trachéides transversales à parois minces et sans ornementation rapprochent cette espèce des pins de la section Panyans. Cependant, les bractées et écailles des cônes ou euphyllés décurrentes et les cônes à maturation trisannuelle justifient son classement distinct. (GAUSSEN, 1960), classe *P. pinea* avec la sous-section cembrodes et dans la section *Panyano_des*. Enfin (LITTLE et al, 1969) considère cette espèce comme la seule appartenant à la sous-section Pinea (section Ternatae Loud, sous-genre *Pinus*). La position taxonomique du pin pignon est la suivante (GAUSSEN et al. 1982 et OZENDA, 1991) :

Embranchement : Spermaphytes

Sous Embranchement : Gymnospermes

Classe : Coniféropsiidae

Ordre : Coniférales

Famille : Pinaceae

Genre : Pinus

Espèce : pinea pinea

Classification

<u>Règne</u>	<u>Plantae</u>
<u>Division</u>	<u>Pinophyta</u>
<u>Classe</u>	<u>Pinopsida</u>
<u>Ordre</u>	<u>Pinales</u>
<u>Famille</u>	<u>Pinaceae</u>
<u>Sous-famille</u>	<u>Pinoideae</u>
<u>Genre</u>	<u>Pinus</u>

Nom binominal *Pinus pinea* L., 1753

Classification phylogénétique

<u>Ordre</u>	<u>Pinales</u>
<u>Famille</u>	<u>Pinaceae</u>

Néanmoins, il existe une variété de pin pignon appelée '*fragilis*' Duhamel. (Syn. *Pinus pinea* L. var. *fragilis* hort.) Qui produit des graines à coque fragile. Les différences entre les

graines à coque fragile et celles à coque normale concernent leurs dimensions et leur poids. Les premières sont couvertes d'une poudre noire qu'on peut difficilement enlever (AMMANNATI, 1989 et CIANCIO, 1994). Une autre forme ornementale naine, *Pinus pinea* var. *correvoniana* Hornib, a été également signalée par (VIDAKOVIC, 1991 et MIROV, 1967) considère *P. pinea* comme une espèce isolée des autres espèces méditerranéennes et difficile à classer vu son incompatibilité au croisement avec tous les autres pins.

I.3. Noms vernaculaires de Pin pignon

Le pin pignon est appelé aussi : pin parasol, pin athameri.

I.4. Ecologie de Pin pignon et répartition géographique

Le Pin pignon occupe généralement les plaines littorales et les collines méso méditerranéennes assez proches du littoral. Il est sensible aux basses températures (surtout lorsqu'elles sont combinées à une certaine humidité). Il recherche le soleil et la chaleur. Il trouve son optimum sur des terrains sableux et alluviaux. La phénologie de cette essence est assez curieuse : le début de la croissance se produit en février avec un démarrage lié à une température journalière de 9°. La croissance est maximale en avril-mai. Il présente un arrêt de croissance quand le déficit hydrique est trop fort (en juillet). La germination et le développement des semis trouvent les conditions les plus favorables sur sols profonds et meubles à texture sableuse. La présence de sel empêche toute germination. La présence de calcaire limiterait la croissance sans l'inhiber.

L'aire de répartition de *Pinus pinea* comprend la région méditerranéenne septentrionale, de la péninsule ibérique à l'Anatolie jusqu'aux côtes méridionales de la mer Noire. Cette essence a fait l'objet de boisements très anciens pour la production de ses graines comestibles. En France, on le trouve principalement dans les plaines littorales et les collines méditerranéennes, en général à moins de 50 km des côtes et à moins de 600 m d'altitude. La superficie totale couverte par le pin pignon dans le monde est estimée à 600 000 ha (75 % en Espagne, 9 % au Portugal, 8 % en Turquie, 7 % en Italie, 0.5 % au Maroc et le reste en Grèce, Liban, Tunisie et en France). (SEIGUE, 1985).

Le pin pignon n'existe pas à l'état spontané dans tout le nord de l'Afrique ; toute fois cette absence ne s'explique pas facilement, étant donné sa diffusion dans la Méditerranée occidentale et la présence en Berbère de toutes les autres espèces euro ibériques .L'introduction du pin pignon en Afrique du Nord est relativement récente même si certains auteurs n'excluent pas l'hypothèse de sa présence dans le passé à l'état spontané. (LEHOUT, 2008).

I.5. Réparation en en Algérie

En Algérie, il pousse bien sur les dunes littorales de Mostaganem à Bourahma, Bouachira, Khadra. Il constitue une magnifique pineraie à Ouled Baroudi (**LOULLOU, 1987**). On le trouve aussi à Relizane, La Mactaa (Oran), ElKala, Djebel Ouache, Draa Nagah (Constantine), Bainem, Bouchaoui, Merja, Mezloug (Sétif) Berrahal et à Zeralda (**ZANDOUCHE, 2001 INLEHOUT, 2008**). citer par (**LOULLOU, 1987**) .

I.6. Utilisations de Pin pignon

Le pin pignon est un arbre méditerranéen, reconnaissable par son port particulier évoquant un parasol. Il est souvent associé au chêne vert et surtout au pin d'Alep. Ses graines, les pignons, ont un fin goût de noisette. Elles sont utilisées en pâtisserie, en garniture de salades, ou encore dans des plats en sauce mélangeant sucré et salé. Le pignon entre dans de nombreuses recettes méditerranéennes. Très nutritif, le pignon est riche en vitamine B₁ et présente un taux élevé en phosphore. (**COLONEL et al, 2011**) .citer par (**LOULLOU, 1987**).

Elles sont malheureusement peu intéressantes comme source d'acide delta 5-oléfiniques (moins de 4% des acides gras totaux). (**ROBERT et al, 1997**).

Le pin pignon utilisé aussi pour la protection des sols : en zone sableuse littorale, aussi pour la protection contre l'incendie : les peuplements denses éliminent la végétation combustible du sous-bois ; cependant l'accumulation de litière doit être évitée et les arbres doivent être élagués, même assez fortement. Pour le bois de pin pignon : leur production est de 0,5 à 2 m³/ha/an en moyenne ; 10 m³ en conditions très favorables. La qualité de leur bois : densité sèche à l'aire 0,6 (d'autant plus forte que la croissance est meilleure) ; qualité souvent supérieure à celle du pin sylvestre et du pin maritime ; utilisable comme bois d'industrie ainsi que pour la charpente ou la menuiserie ; aujourd'hui peu utilisé à cause de la faible étendue des peuplements et peut-être aussi d'un excès de résine. (**DANIEL, 1982**)

I.7. L'huile de pin pignon

I.7. 1. Composition biochimique de la graine du Pin pignon

La composition biochimique des graines de *Pinus pinea* est donnée dans le **tableau 1** :

Composition biochimique de la graine	Littérature	
	Nergiz et Donmez (2004)	Savage (2001) rapporté par Nergiz et Donmez(2004)
Humidité (%)	5.1	5.6
Cendre (%)	4.5	4.3
Protéine (%)	31.6	31.1
Matière grasse (%)	44.9	47.4
Sucres (%)	13.9	10.7
Sucres solubles totaux (%)	5.15	-
Sucres réducteurs(%)	0.70	-
Sucrose(%)	4.30	-
Valeur énergétique (kcal)	58	-

Outre la valeur industrielle de son bois, le pin pignon est apprécié pour sa production fruitière. Les graines sont oléagineuses et particulièrement riches en lipides (45–50% du poids sec de la graine) (NIZAR et al, 2007) et en protéines (31 %). Les acides aminés abondants dans la graine sont le tryptophane et l'histidine comparés aux acides aminés des œufs (REZQ et al, 2011).

Les graines de *Pinus pinea* sont riches aussi en vitamines et plus particulièrement (B1, B2, C) ainsi qu'en sels minéraux spécialement en potassium et en phosphore. (NERGIZ et al, 2007).

Tableau 2:La distribution du contenu en vitamines dans les graines de *Pinus pinea* (CLAUDE BOURGEOIS,2003)

Vitamines	Teneur mg/100g
Acide ascorbique	2.5
Thiamine (B1)	1.5
Riboflavine (B2)	0.28

Tableau 3: Distribution du contenu en minéraux dans les graines de *Pinus pinea* (NERGIZ et al,2004)

Minéraux	Teneur mg/100g
Sodium	11.7
Potassium	713
Calcium	13.8
Magnesium	325
Cuivre	1.5
Zinc	6.4
Fer	10.2
Manganese	6.9
Phosphore	512

I.7 .2.Le rendement en huile de pin pignon

Les graines de *Pinus pinea* sont oléagineuses et riches en lipides (45–50% du poids sec de la graine) Les rendements en huile de graines de *Pinus pinea* sont indiqués dans le **tableau 4.**(WOLFF et al 1966).

Rendements en huile / Littérature			
Nergiz et Donmez (2004)	Savage (2001) rapporté par Nergiz et Donmez(2004)	(Wolff et Bayard (1996)	Ruggeri et al (1998)*
44.9	47.4	43.5	50,3

* : Graines de pin pignon commerciales.

I.7.3. Caractéristiques de l'huile de graines des conifère

I.7.3.1. Composition chimique de l'huile de chaque espèce

Les teneurs en composés insaponifiables de l'huile de graines de différentes espèces du genre *pinus* sont données dans le **tableau 5** (GILL A.H,1933) .

Espèces /Auteurs	Teneur (%) insaponifiable
<i>Pinus halepensis</i> (Cheikh-Rouhou et al. 2008)	1.7
<i>Pinus monophylla</i> (Gill, 1933)	2.0
<i>Pinus nigra</i> (Chouda et Jankowski ,2005)	1.4
<i>Pinus pinea</i> (Nasri et al. 2007)	1.3–2.1
<i>Pinus sylvestris</i> (Chouda et Jankowski ,2005)	0,8

L'huile de graines de *Pinus pinea* est de type linoléique avec une teneur élevée en acide linoléique **C18:2 ω6** (47.06 % / AGT). L'huile contient aussi une quantité assez importante d'acide gras mono insaturés représentés essentiellement par l'acide oléique **C18:1ω9** (38,60% / AGT)

Les acides gras saturés sont représentés essentiellement par acide palmitique (C16 :0), et l'acide stéarique (C 18 :0), et l'acide lignocérique (C24 :0)

La composition en acides gras de l'huile de graine de *Pinus pinea*, ainsi, est donnée dans le **tableau 6** (NERGIZ et al ,2004) .

Acides gras	Dénomination	% Acides gras totaux
C14 :0	Acide Myristique	0.05 %
C16:0	Acide Palmitique	6.49 %
C16:1ω7	Acide Palmitoléique	0.224 %
C18:0	Acide Stéarique	3.47 %
C18:1ω9	Acide Oléique	38.60 %
C18:2 ω6	Acide Linoléique	47.6 %
C18:3 ω3	Acide Linoléique	0.68 %
C20:0	Acide Arachidique	0.54 %
C20 :1	Acide Gadoléique	0.79 %
C22 :0	Acide Béhenique	0.13 %
C24 :0	Acide Lignocérique	3.02 %

Le profil en triglycérides est donné dans le **tableau 7**. Les triacylglycérols avec un nombre équivalent de carbone 44 (32.27%) et 46 (30.91%) sont prédominants. Le triglycéride majeur est le LLO (24.06%).).(NASRI et al , 2007) .

Tableau 7: Composition en triglycérides de l'huile de graines *Pinus pinea* (NERGIZ et al,2004) .

Triacylglycerols	ECN	TR (Min)	Contenu en TAGT %
LLL	42	8.20	10.8
OLnL	42	8.42	2.23
PLnL	42	9.09	0.83
OLnO	44	10.28	23.5
PLL	44	11.18	5.32
PLnO	44	11.44	1.23
LOL	44	13.20	18.6
PLO	46	14.53	10.6
LPP	46	15.58	0.87
OOO	48	17.25	10.3
SLO	48	18.31	3.39
POO	48	18.70	5.38
OPP	48	19.91	0.77
SOO	50	24.05	1.87
SLS	50	25.37	0.25
POS	50	26.18	0.46
OSS	52	30.85	0.28
PSS	52	33.71	0.14

P, palmitique; S, stéarique; O, oléique; L, linoléique; Ln, linoléique; TR, temps de rétention; ECN ; Nombre de carbone équivalent (nombre de carbone 2 X nombre de double liaison)

L'huile de graines de *Pinus pinea* contient une grande quantité de phytostérols ($\geq 4298 - 5868.39$ mg/kg d'huile) dont le β -sitosterol est le plus abondant (74%).(NASRI et al , 2007) (MATTHAUS et al, 2013)

L'huile de pin pignon est riche en tocophérols (α -tocopherol, γ -tocopherol, et δ -tocopherol), vitamine liposoluble et antioxydant naturel très puissant. . (NASRI et al , 2009)

I.8.1 : Intérêts thérapeutiques de l'huile et des extraits aqueux des conifères

Plusieurs études visant à évaluer le potentiel biopharmaceutique de différentes espèces de conifères ont été rapportées dans la littérature. Ces travaux se penchent particulièrement sur le potentiel antioxydant, antibactérien et antifongique. Il existe aussi quelques études sur le potentiel anticancéreux des extraits de pins et de composés provenant du genre *Pinus* en particulier.

Par exemple, l'huile vierge de la noix de pin est une huile exquise d'une légère saveur de noisette, de couleur dorée. Elle est utilisée en aromathérapie dans les massages de la peau ; dans la cuisine (comme ingrédient pour les soupes, vinaigre,...), dans le soulagement de problèmes gastro-intestinaux. Cette huile se comporte également comme un inhibiteur de l'appétit, un stimulant de l'absorption des protéines, ainsi comme un produit naturel dans le traitement des maladies cardio-vasculaires. Aussi elle contient des antioxydants qui sont bénéfiques à l'organisme tout entier (C. STEPHEN, 2004, H.R. KISSILEFF et al. , 2003).

a) Affections gastro-intestinales :

Des recherches ont montrés que l'huile vierge de conifères est efficace pour les maladies gastriques comme les ulcères d'estomac et d'autres affections liées aux inflammations du revêtement gastro-intestinal.

b) Suppression de l'appétit :

L'huile de conifères fournit un moyen naturel pour diminuer la sensation de la faim. Ceci conduit à une réduction de la consommation calorique et à l'absorption de graisses (W.J.PASMAN et al, 2008, G.M. HUGHES et al. ,2008). Donc elle peut être prescrite pour les personnes obèses sans avoir des effets secondaires, rencontrés avec la pris des produits chimiques.

c) Maladies cardio-vasculaires :

L'huile contient de l'acide *pinolénique*, un acide gras polyinsaturé, isomère positionnel de l'acide gamma linolénique (GLA), qui régule le taux des lipides totaux dans le sang, en réduisant

la consolidation des plaquettes, ce qui aboutit à une diminution de la pression sanguine (C. STEPHEN, 2004, H.R. KISSILEFF et al., 2003).

d) Activité antioxydante :

La plupart des composés organique sont susceptibles de se dégrader à des températures plus ou moins élevées en présence de l'oxygène atmosphérique. Cette oxydation est à l'origine de la détérioration des propriétés mécaniques des polymères, du rancissement des corps gras alimentaires ou de diverses pathologies. Cela fait appelle à l'utilisation des antioxydants, qui sont capable à piéger les radicaux responsables de ces anomalies. L'activité antioxydante des extraits du genre *pinus* a été démontrée clairement au cours des dix dernières années. La présence de composés phénoliques explique en grande partie ce fort potentiel antioxydant (Y. S. PARK et al. , 2011, N.Y. KIM et al. , 2010).

e) Activité antibactérienne :

L'activité antibactérienne de l'extrait aqueux des aiguilles de pin a été prouvée sur déférentes souches bactériennes pathogènes, le tableau 7 montre les déférentes concentrations inhibitrices et bactéricides minimales (S. FENG et al., 2008). Ces résultats suggèrent que les aiguilles de conifères contiennent des substances antibactériennes efficaces. Par conséquent, elles possèdent un potentiel antiseptique naturel efficace, comme elle peut être utilisée dans la conservation des aliments

Tableau 8 : Concentrations inhibitrices minimum (MIC) et concentrations bactéricides minimum (MBC) du PNAE sur les bactéries examinées (GRIMM,T.2009)

Souches bactérienne	MIC (mg/ml)	MBC (mg/ml)
B. subtilis	7.5	7.5
S. aureus	15.00	30.0
B. cereus	7.5	15.0
M. luteus	7.5	15.0
E. coli	7.5	15.0
P. vulgaris	7.5	15.0

f) Activité anti-inflammatoire

L'effet anti-inflammatoire de l'huile de graines de *pinus sibirica* a été évalué et comparé à celle de la phénylbutazone. L'administration par voie orale de cette huile à une dose de 300

mg/kg a montré une activité anti-inflammatoire dans le cas d'un oedème induit chez les rats (A. N. SHIKOV et al. , 2008).

En outre, cette même huile a montrée des propriétés analgésiques et antipyrétiques dans l'hyperthermie locale induite chez les rats. En conclusion, ces résultats fournissent en évidence l'utilité potentielle de l'extrait de l'huile de *P. sibirica*, qui contient des acides gras polyinsaturés à longue chaîne, stérols, tocophérols et polyphénols, dans les affections inflammatoires.

I.9 : Particularités structurales des huiles de graines de conifères

Il est généralement admis que, chez les végétaux, les insaturations sont introduites dans les acides gras presque exclusivement en positions delta9, delta12, et delta15 (positions comptées à partir de l'extrémité carboxylique). Toutefois, quelques exceptions existent, et ces insaturations peuvent être introduites, chez quelques espèces végétales, en delta5 ou delta6. Mais cela est d'ordinaire considéré comme une situation exceptionnelle, et de telles insaturations apparaissent, en règle générale, comme inhabituelles. Un cas particulier semble toutefois se dégager de quelques études systématiques portant sur les huiles de graines d'une centaine d'espèces différentes de conifères. Ces huiles, indépendamment de la famille considérée (*Taxaceae*, *Pinaceae*, *Taxodiaceae*, *Cupressaceae*, et *Podocarpaceae*), renferment toutes des acides gras polyinsaturés présentant une liaison éthylénique en delta5 (acides delta5-oléfiniques, de configuration entièrement *cis*), certes en quantités variables, mais systématiquement. Ces acides gras delta5-oléfiniques ont comme structure et sont représentés par le 5,9-18:2 (acide taxoleique); 5,11-18:2 (acide ephedrenique); 5,9,12-18:3 (acide pinolenique); 5,9,12,15-18:4 (acide coniferonique); 5,11-20:1; 5,11,14-20:3 (acide sciadonique); et l'acide 5,11,14,17-20:4 (acide juniperonique) . Il a été rapporté que parmi les acides gras delta5-oléfiniques, l'acide sciadonique 5,11,14-20:3 et l'acide juniperonique 5,11,14,17-20:4 (juniperonique) sont probablement les acides gras C20 polyinsaturés les plus abondants du règne végétale. (WOLFF et al, 2000) .

Chapitre II :
Généralités sur les
corps gras

Chapitre II : Généralités sur les corps gras

II . 1. Introduction et Historique

Les corps gras sont consommés par l'homme depuis des siècles et leurs utilisations n'ont pas cessé d'évoluer. Jusqu'au 14^{ème} siècle, les graisses animales, comme le suif, étaient largement utilisées comme corps gras. Le beurre se trouve ainsi délaissé du point de vue culinaire. Ce n'est qu'à partir du 15^{ème} siècle que le beurre et l'huile sont réellement utilisés et appréciés, la cuisine dite « grasse » étant devenu synonyme de richesse. Peu à peu, ils sont ainsi considérés comme des aliments et contribuent à l'amélioration de la qualité des repas à cette époque.

En 1866, Napoléon III organise un concours national très original pour la mise au point d'un corps gras « sain, économique et de bonne conservation » destiné à être utilisé par toutes les classes sociales notamment les plus pauvres où le beurre était un luxe mais également pour l'armée française qui éprouvait certaines difficultés à conserver le beurre en temps de guerre. En 1869, le français Hippolyte Mège-Mouriès est primé pour l'invention de la margarine et dépose le brevet du procédé de fabrication de celle-ci, qui sera racheté par la suite par un important négociant de beurre hollandais.

Malgré des débuts modestes, la production de margarine ne cessera d'augmenter par rapport à la production du beurre à partir de 1970, le beurre étant jugé nocif à la cuisson, source de cholestérol et diététiquement mauvais. De plus, quelques oléagineux comme l'huile de ricin et l'huile de lin, ont vu leur utilisation devenir incontournable dans l'industrie de production des lubrifiants, des peintures et vernis. Il existe également quelques oléagineux pharmaceutiques et cosmétiques comme le ricin, le beurre de karité et de cacao qui sont utilisés comme excipient ou comme source de substance active.

II .2.Généralités sur la matière Graisse

II .2.1. Définition et origine

Les corps gras sont des aliments dont le pourcentage en lipides est très élevé. Ils comprennent les huiles et les graisses d'origine végétale ou animales, les beurres et les margarines ; les premières sont composées uniquement de triglycérides et quelques constituants mineurs, tandis que les beurres et les margarines sont des émulsions d'une phase aqueuse dans une phase grasse douées de propriétés plastiques (**UZZAN, 1992 ; VIERLING, 2003**).

La distinction entre huile et graisse repose sur le point de fusion. Les huiles sont fluides à la température de 15°C tandis que les graisses sont solides ou concrètes à la même température (**FRENOT et VIERLING, 2001**).

En alimentation, on distingue les corps gras visibles et les corps gras invisibles ou cachés. Les corps gras « visibles », sont des matières grasses isolées du tissu adipeux des animaux (saindoux, suifs), des graines oléagineuses (huile d'arachide, de tournesol et de colza), de germe de graines (maïs), de fruits oléagineux (olive, coprah, palme) ou du lait (beurre). Les corps gras « invisibles », font partie intégrante du tissu que l'on consomme : viandes, poissons, fromages, noix (**TREMOLEIRES ET AL, 1980 ; FRENOT ET VIERLING, 2001**).

II .2.2. Classification des corps gras

Les huiles et graisses alimentaires sont habituellement subdivisées en ces principales classes alimentaires .

➤ Classification selon leur origine :

Tableau 9 : Principales classes des huiles et graisses alimentaires (**KARLESKIND,1992**)

Huiles végétales fluides	• Huiles d'arachides, de colza, de germe de maïs, de tournesol, de soja, d'olive, de noix, de pépins de raisin.
Huiles végétales concrètes (ou graisses)	• Coprah (provenant de la noix de coco), huiles de palme et de palmiste.
Huiles et graisses d'origine animale terrestre	• Saindoux (graisse de porc), suif (graisse de boeuf et de mouton), huile de cheval, graisse d'oie.
Huiles et graisses marines	• Baleine, cachalot, poissons (sardine, hareng, morue...).
Corps gras élaborés	• Beurres, margarines.

➤ **Classification selon leur composition en acides gras**

ALAIS et al (2003), classent les corps gras comme suite :

➤ Huiles saturées :

Huile de coprah 90% d'acides gras saturées

➤ Huiles riches en acides gras saturées et en acide oléique :

Huile d'arachide 19% saturés – 50% oléique

Huile d'olive 14% saturés – 75% oléique

➤ Huiles riches en acides gras poly insaturés :

Huile de carthame 75% (saturés 10%)

Huile de noix 72% (saturés 10%)

Huile de pépins de raisin 69% (saturés 13%)

Huile de tournesol 66% (saturés 12%)

Huile de soja 63% (saturés 13%)

➤ Huiles intermédiaires

Nouvelle huile de colza (saturés 7%, oléique 60%, poly insaturés 29%).

II .2.3. Propriétés des corps gras

1) Propriétés physiques :

1.1) Etat naturel et aspect :

On sait que les corps gras sont liquides ou solides à la température ambiante suivant leur composition chimique.

1.2) Densité :

C'est la masse de l'unité de volume exprimée en grammes par cm^3 à la température T° .

La densité des huiles végétales varie de 0.915 à 0.964.

La densité des corps gras animaux varie de 0.866 à 0.933.

1.3) Le point de fusion et le point de solidification :

Ils permettent d'apprécier le degré de pureté d'un corps gras.

1.4) Solubilité

Tous les acides gras dont le nombre de carbone est supérieur à 8 sont insolubles dans l'eau, et sont généralement solubles dans les solvants organiques tels que l'éther, le chloroforme et le benzène (Frenot et Vierling, 2001).

1.5) La viscosité :

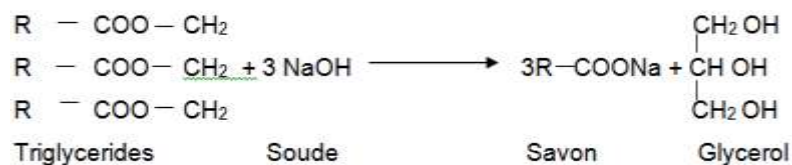
La viscosité des acides gras et des triglycérides est liée à leurs structures à la longueur de la chaîne et à leur saturation. Elle augmente avec le poids moléculaire et diminue avec l'augmentation de l'insaturation. La viscosité des huiles est relativement très élevée. (ALTON, J,1992).

2) Propriétés chimiques :

Les propriétés chimiques des glycérides dépendent essentiellement de celle des acides gras qui les constituent

2.1) Hydrolyse et saponification :

L'hydrolyse des triglycérides libère un ou plusieurs AG. La réaction peut se faire par l'acide sulfurique ou par voie enzymatique. La saponification est une hydrolyse alcaline par KOH ou NaOH.



2.2) Hydrogénation :

En présence d'hydrogène et d'un catalyseur (nickel finement divisé), les doubles liaisons des AG insaturés des triacylglycérols sont saturés. Le point de fusion du produit et les huiles deviennent solides. (F.MARLENE, V.ELISABETH, 2001).

2.3) Transestérification :

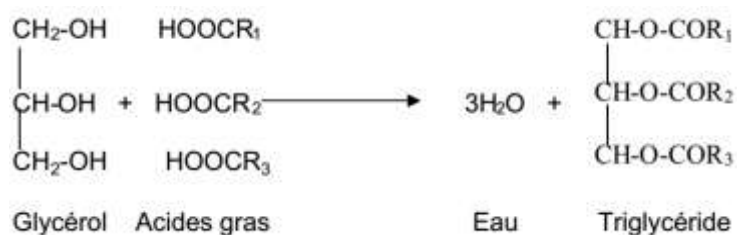
La transestérification vise à modifier la structure glycéridique des matières grasses par réarrangement intra- et intermoléculaire des AG sur le glycérol. (A.CHARLES, L.GUY, LAURENT, 2004).

II .2.4.Composition des corps gras

Les corps gras qu'ils proviennent d'organismes animaux ou végétaux, correspondent à la partie « graisses neutres » de la fraction lipidique totale. Les principaux constituants des corps gras sont :

II .2.4.1.Les triglycérides

Ces molécules résultent de l'estérification d'une molécule de glycérol par trois molécules d'acides gras. Si les trois molécules sont identiques, le triglycéride formé est homogène. Les triglycérides hétérogènes contiennent deux ou trois acides gras différents . (Garr ette.G , 2000) .



Les acides gras (R1, R 2 et R3) peuvent être identiques ou différents (**DESAGHER, 1998**)

II.2.4.1.1.Rôles des triglycérides dans l'organisme

Un des rôles principaux des triglycérides dans l'organisme est de constituer une réserve d'énergie (dans les tissus adipeux des animaux).

II.2.4.2.Les Acides gras

II.2.4.2.1.Définition

Les acides gras sont des acides carboxyliques à chaîne carbonée, ce sont des constituants des graisses et des lipides membranaires. Ces composés peuvent être saturés, ou insaturés, hydroxylés ou ramifiés (**WEIL ,1996**).

La fonction acide carboxylique réagit avec les alcools et les amines pour former des esters et des amides, c'est sous cette forme combinée qu'ils existent dans les aliments (**FRENOT et al. 2001**).

Les acides gras sont classés selon le nombre d'atome de carbone et d'insaturation présents dans leur structure ce qui leurs confèrent des propriétés différentes .

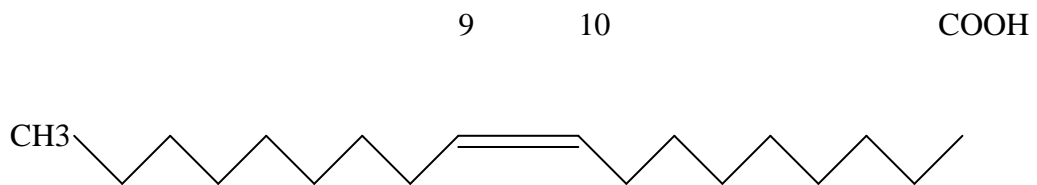
II.2.4.2.2.Principaux constituants

On peut classer les acides gras en trois grands groupes qui différent entre eux par la longueur de la chaîne carbonée consécutive et par le type de liaisons (simples ou doubles) entre les atomes de carbone de cette chaîne. **Figure 5**

Acide stéarique aucune double liaison « saturé » (C18 :0)

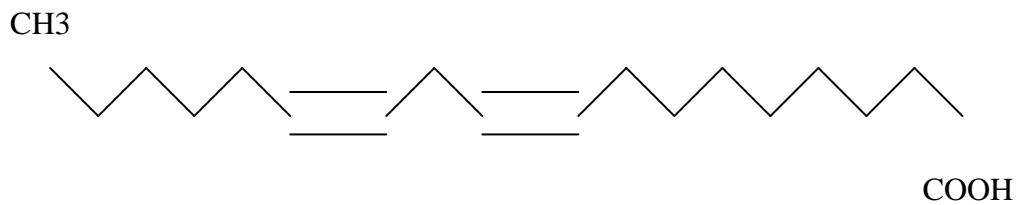


Acide oléique une double liaison mono insaturé « C18:1, ω9 »



Acide linoléique deux doubles liaisons « poly insaturés » (C18:2, ω6)

CH3



Acide α-linolénique trois doubles liaisons «poly insaturé » (18:3, ω3)

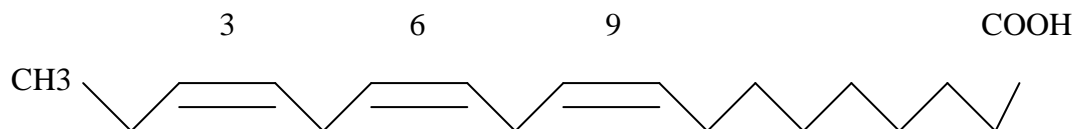


Figure 5: Configuration des acides gras saturés et des trois différentes séries d'acides gras insaturés.

II.2.4.2.2.1. Les acides gras saturés

Ils ont pour formule générale : $\underline{[H_3C - CH_2]_N} COOH$

Dans les huiles les acides gras les plus fréquemment rencontrés sont l'acide palmitique (C16 :0) et l'acide stéarique (C18 :0). Les acides gras saturés ayant un nombre de carbone supérieur à 10 sont solides et assez stables à la température ambiante (WEIL, 1996).

La libre rotation autour de chacune des liaisons carbonées rend ces molécules extrêmement flexibles (REGINALD, 2001).

II.2.4.2.2.1.1. Rôle et action des acides gras saturés dans l'organisme

Les AGS jouent un rôle physiologique :

- Ce sont les constituants des triglycérides de réserve, des glycérophospholipides et des sphingolipides (structure des membranes, myéline...)
- Ils assurent également une part de l'apport énergétique.

II.2.4.2.2.2. Les acides gras insaturés

De nombreux acides gras contiennent une ou plusieurs doubles liaisons, ils sont dits insaturés (KOOLMAN et al, 2000)

Au niveau d'une double liaison il manque deux atomes d'hydrogène du même côté de la molécule, l'espace ainsi libéré crée un point de faiblesse dans la chaîne qui entraîne une angulation (KARLESKIND, 1992).

II.2.4.2.2.2.1. Les acides gras mono insaturés

On parle d'acide gras mono-insaturé (*monounsaturated fatty acids*, MUFA) lorsqu'il n'y a qu'une seule double liaison. Les acides gras mono-insaturés sont linéaires, avec deux chaînes de n et p CH₂ de part et d'autre de la double liaison C=C, et une formule chimique de la forme H₃C — (CH₂)_n — HC=CH — (CH₂)_p — COOH où n et p sont des nombres entiers positifs ou nuls. L'acide oléique (18 :1n-9) est l'un des plus abondants.

II.2.4.2.2.1.1. Effets des acides gras mono insaturés sur l'organisme

- Les acides gras (mono-insaturés) ont une influence sur le taux de cholestérol sanguin. On considère comme des éléments protecteurs des maladies cardio-vasculaires. En effet, ils sont reconnus pour abaisser le mauvais cholestérol (cholestérol LDL) et pour augmenter le bon cholestérol (cholestérol HDL).
- Ils sont une source d'énergie .

II.2.4.2.2.2. Les acides gras polyinsaturés

Ce sont des acides qui contiennent plusieurs insaturations, et qui se distinguent les uns des autres par le nombre et la position de l'insaturation. Il existe deux familles d'acides gras polyinsaturés essentiels, nommés n-3 (ou oméga-3) et n-6 (ou oméga-6) par rapport à la position de la dernière double liaison et à C terminale. Deux acides gras sont à l'origine de ces familles. Il s'agit de l'acide α -linoléique, le précurseur des oméga-3, et l'acide linoléique, qui est le précurseur de la famille des oméga-6.

Ces deux acides gras sont indispensables car ils ne sont pas synthétisables par l'organisme. Seule l'alimentation peut nous les fournir.

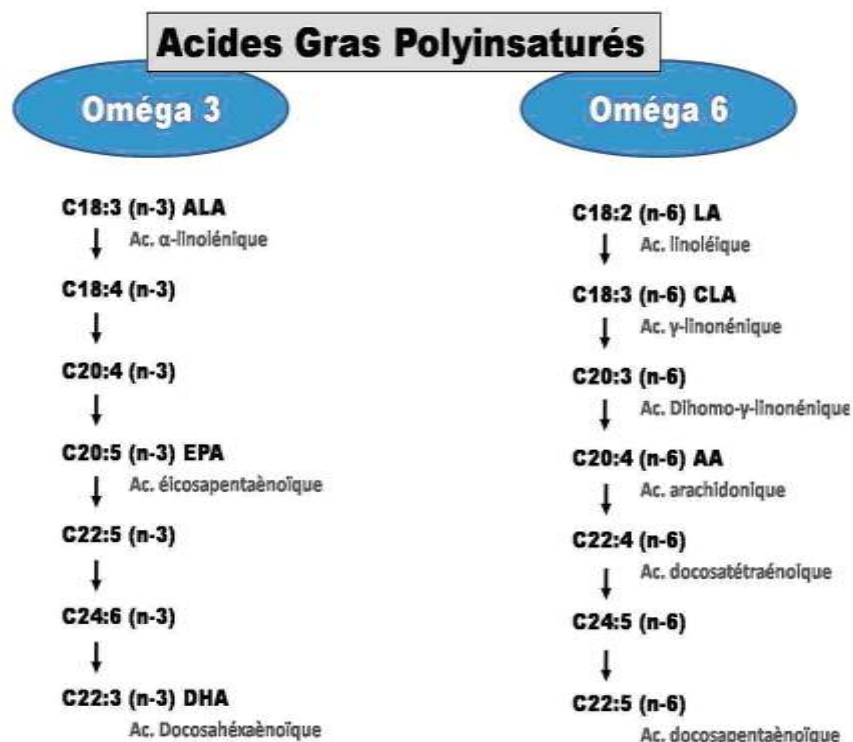


Figure 6 : Métabolisme des acides gras poly-insaturés des séries oméga-3 (n-3) et oméga-6(n-6) . (SOLINAS M., 1992)

II.2.4.2.2.2.1. Rôles des acides gras polyinsaturés (Notion d'acides gras essentiels AGE) dans l'organisme

Les acides gras polyinsaturés participent à un grand nombre de fonctions biologiques :

- Source d'énergie.
- Constituants fondamentaux des phospholipides des membranes cellulaires.
- Précurseurs de molécules régulant les fonctions cellulaires telles que.
 - ✓ Les prostaglandines et les fonctions reproductrices.
 - ✓ Les thromboxanes et les fonctions plaquettaires .
- Régulation de l'expression de gènes impliqués dans leur propre transport et leur métabolisme.

Les oméga-3 ont de plus des fonctions spécifiques dans le développement et la physiologie de la rétine, du cerveau et du système nerveux. Ils semblent être protecteurs vis-à-vis des maladies cardio-vasculaires et ils permettraient de diminuer un certain nombre de facteurs de risques liés à ces maladies. Ainsi, l'acide α -linoléinique inhiberait l'agrégation plaquettaire induite par la thrombine. L'EPA et le DHA agiraient sur l'agrégation au collagène et diminueraient le taux de triglycérides sanguins. Les AGPI à longue chaîne semblent également protecteurs vis-à-vis de différents cancers. Ils sont considérés comme inhibiteurs de la croissance tumorale (**PASMAN et al ,2008. HUGHES et al 2008**).

II.2.4.2.2.2.3 Les acides gras insaturés non usuels

Certaines classes de plantes, d'invertébrés marins, insectes contiennent des acides gras polyméthylène insaturés non usuels et particulièrement les acides delta5-oléfiniques qui sont des composés caractéristiques et systématiques des huiles de graines gymnospermes. Dans les graines des conifères l'ensemble de ces acides gras non usuels peuvent être présents, dépendamment de la famille botanique considérée. **Figure 7 (ASSET et al, 2002)**.

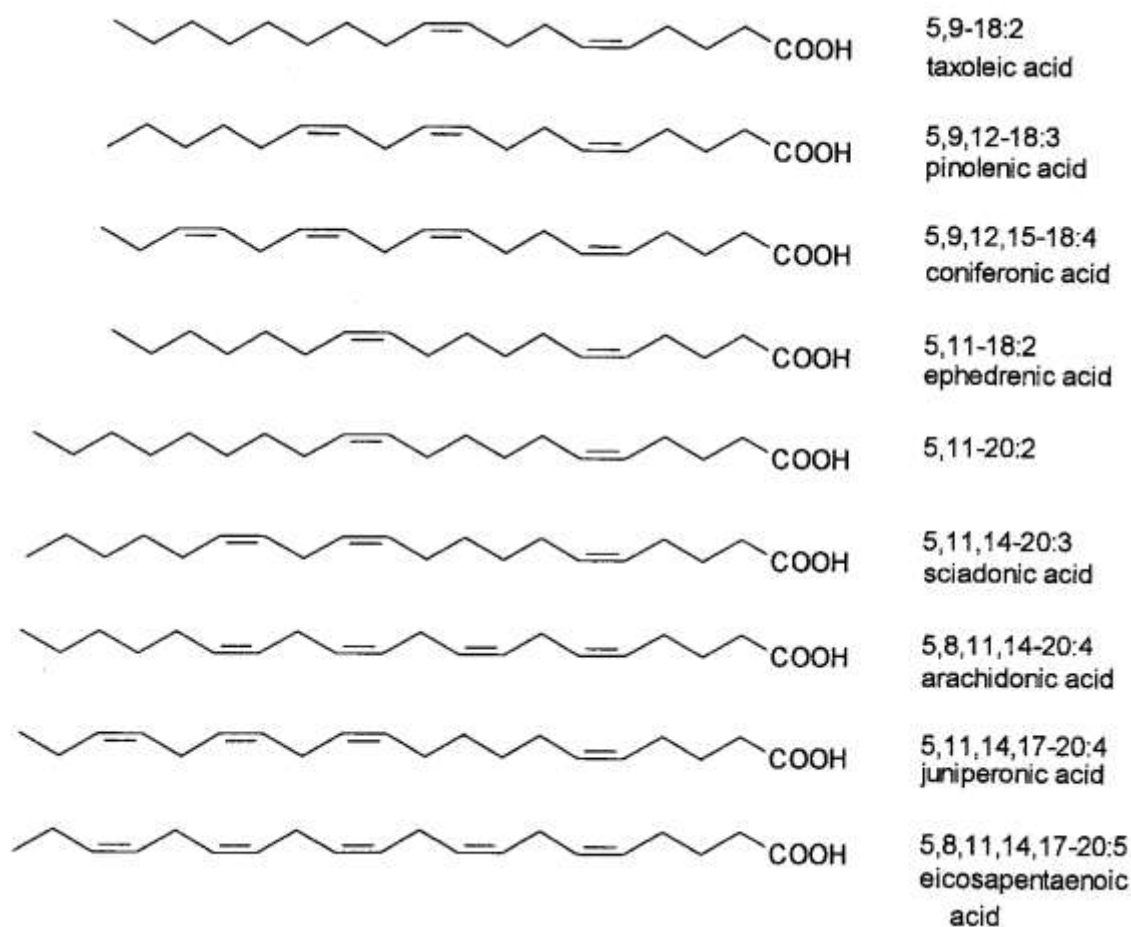


Figure 7 : Δ 5- Acides gras polyméthylènes et méthylènes insaturés rencontrés dans les lipides des graines des gymnospermes, et leurs noms triviaux

II.2.4.2.2.4 Structures et biosynthèse des acides delta5-oléfiniques

Cette double liaison ne respecte pas le rythme divinyl-méthane (malonique) avec la double liaison qui lui succède. Ces acides gras ont les structures suivantes, par ordre de complexité croissante: 5,9-18:2 (acide taxoléique), 5,9,12-18:3 (acide pinoléique), 5,9,12,15-18:4, 5,11-20:2, 5,11,14-20:3 (acide sciadonique), et 5,11,14,17-20:4 (acide junipéronique), les noms communs rappelant les sources les plus importantes de ces acides. Une voie biosynthétique probable a récemment été proposée (WOLFF et al, 1996) pour expliquer la formation des acides delta5-oléfiniques, fondée sur l'existence d'une (ou de plusieurs) delta5-désaturase(s) utilisant les acides 9-18:1, 9,12-18:2, 9,12,15-18:3, ainsi que leurs produits d'élongation immédiats, les acides 11-20:1, 11,14-20:2 et 11,14,17:20:3, comme substrats (Figure 13). L'action de la (des) delta5-désaturase(s) serait une étape terminale dans la biosynthèse des acides delta5-oléfiniques. Contrairement aux delta9, delta12, et delta15-désaturases, qui n'acceptent qu'un substrat de façon assez générale, la (les) delta5-désaturase(s) de conifères en accepte(nt) six.

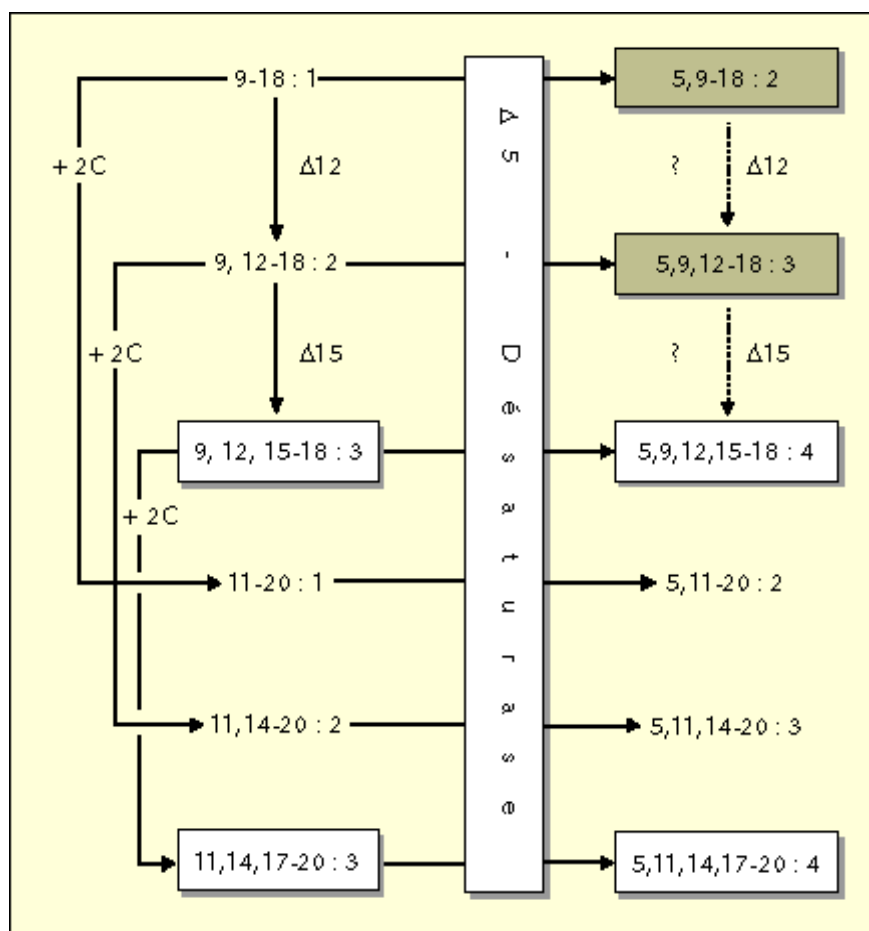


Figure 8. Voies possibles pour la biosynthèse des acides gras insaturés dans les graines de conifères. (WOLFF et al, 1996)

II.2.4.2.2.5 Sources potentielles d'acides delta5-oléfiniques

Les acides delta5-oléfiniques sont des composés caractéristiques et systématiques des huiles de graines gymnospermes et peuvent se rencontrer dans de rares d'espèces d'angiospermes à de faibles concentrations. Dans les graines des conifères l'ensemble de ces acides gras non usuels peuvent être présents, dépendamment de la famille botanique considérée. Les acides : $5,9-18:2$, $5,9,12-18:3$, $5,9,12,15-18:4$, $5,11-20:2$, $5,11,14-20:3$, et $5,11,14,17-20:4$. Par exemple l'huile de graines de Pinaceae contient les acides : $9-18:2$, $5,9,12-18:3$, $5,9,12,15-18:4$, $5,11-20:2$, et $5,11,14-20:3$, tandis que l'acide $5,11,14,17-20:4$ se trouve exclusivement dans les lipides des graines des Cupressaceae et les Taxodiaceae. Plus d'une centaine (100) d'espèces de conifères analysées actuellement contiennent des acides $\Delta 5$ -oléfiniques. La teneur en ces acides gras varie de 1% pour *Pinus cembroides edulis* jusqu'à 33.9% chez *Larix sibirica* (WOLFF et al, 1995)

Les graines de conifères sont rarement récoltées en grandes quantités, si ce n'est pour la reforestation ou la plantation d'arbres d'ornement. Cela est un sérieux handicap pour l'obtention d'huile riche en acides delta5-oléfiniques à partir des graines. Il y a toutefois des exceptions. Les graines de *P. koraiensis*, qui sont très riches en huile (environ 65% en poids), sont récoltées en Chine à l'échelle de la tonne et exportées dans le monde entier déjà décortiquées, et ce à des fins essentiellement alimentaires (pignons). L'huile de ces graines est produite dans certains pays (France, Japon), au moins à la demande. Les graines de *B. orientalis* sont vendues dans les herboristeries chinoises à des fins pharmaceutiques. Toutefois, l'huile de graines de *B. orientalis* renferme de fortes proportions d'acide alpha-linolénique (38% des acides gras totaux) en plus des acides sciadonique et junipéronique, ce qui rend l'interprétation des résultats difficile. **(WOLFF et al, 1997)**

En dehors de ces espèces exotiques, il existe une source locale intéressante de graines de conifères riches en acides delta5-oléfiniques, celles de *P. pinaster*. À des fins de reboisement, les graines de *P. pinaster* sont récoltées lors de l'abattage des arbres, là aussi à l'échelle de la tonne. L'huile de graines de *P. pinaster* (environ 10% en poids lorsque les graines entières sont pressées à froid, mais 36% des graines décortiquées extraites par solvants) contiennent à la fois de l'acide pinolénique et de l'acide sciadonique (environ 7 à 8% de chaque par rapport aux acides gras totaux), et pratiquement pas d'acide alpha-linolénique. Parmi la trentaine d'espèces de *Pinus* analysées à ce jour, les graines de *P. pinaster* sont les plus riches en acide sciadonique. **(WOLFF et al, 1997)**

Certainement, d'autres espèces de conifères seraient aussi potentiellement exploitables, et plus particulièrement au *Pinus cembra* var. *sibirica* (pin de Sibérie) qui recouvre d'immenses étendues en Sibérie, et où il représente l'espèce ligneuse principale de la taïga. Les graines de ce pin, riches en huile (57% en poids de la graine décortiquée) et en acide pinolénique (18% des acides gras totaux), étaient exploitées par les Sibériens au moins jusqu'au début du siècle, pour la production d'huile alimentaire. Cela tend à démontrer que les acides delta5-oléfiniques sont comestibles et non toxiques pour les humains. Mais à l'heure actuelle, nous ignorons s'il est possible de s'approvisionner en ces graines. Les graines comestibles de *Pinus pinea* (pin parasol), qui croît en de nombreux pays autour de la mer Méditerranée, sont également exploitées pour la production de pignons utilisés à des fins culinaires ou pour la production d'une huile ayant des application cosmétiques. On peut assez aisément se procurer de telles graines, mais elles sont malheureusement peu intéressantes comme source d'acides delta5-oléfiniques

(moins de 4% des acides gras totaux). *Pinus pinea* est à cet égard une exception dans le genre *Pinus*, voire dans la famille des *Pinaceae*. (WOLFF et al, 1997)

Quatre espèces, chacune représentative d'une famille de conifères et qui sont les sources les plus riches en une espèce donnée d'acide delta5-oléfinique. Ces espèces sont : *Taxus baccata* (if commun), une *Taxaceae*, riche en acide 5,9-18:2 (environ 10%); *Larix sibirica* (mélèze de Sibérie), une *Pinaceae*, riche en acide 5,9,12-18:3 (un peu plus de 30%); *Sciadopytis verticillata*, une *Taxodiaceae*, riche en acide 5,11,14-20:3 (environ 15%); et *Juniperus communis* (genévrier commun), une *Cupressaceae*, riche en acide 5,11,14,17-20:4 (18%). Ces deux dernières espèces sont plus particulièrement intéressantes, car leurs graines contiennent des taux élevés d'acides sciadonique et junipéronique, qui sont des analogues structuraux très proches des acides arachidonique et eicosapentaénoïque, respectivement. (WOLFF et al, 1997)

II.2.4.2.2.6 Principales voies métaboliques de production d'acides gras gras essentiels a partir d'acides gras polyméthylènes insaturés « acides delta5-oléfiniques » (métabolisme et conversion métabolique des acides delta5-oléfiniques : (Fig X,Y ,Z , E)

Les acides sciadonique (20:3 Δ -5,11,14) et juniperonique (20:4 Δ -5,11,14,17) sont des acides gras polyinsaturés qui ressemblent (manque de double liaison D8) à l'acide arachidonique et éicosapentaénoïque (20:5 D-5,8,11,14,17), respectivement. Il a été démontré que ces acides gras polyinsaturés dérivant des huiles de graines de conifères sont métabolisés en acides gras essentiels dans les cellules animales. (TANAKA et al, 2007)

Aussi bien l'acides sciadonique et juniperonique sont métabolisés en acides linoléique par un processus de conversion comprenant un double cycle de β oxydation dans les peroxysomes .D'autre part ce processus inclue une étape d'élimination la double liaison Δ 5 ainsi qu'une étape d'élongation dans les microcosmes. Deux types de cellules humaines (MKN74 et HepG2) peuvent convertir les acides gras polyméthylènes insaturés C20 en leurs acides gras essentiels respectifs. En outre aucun métabolite de l'acide pinoléinique n'a été détecté . (TANAKA et al, 2014) .

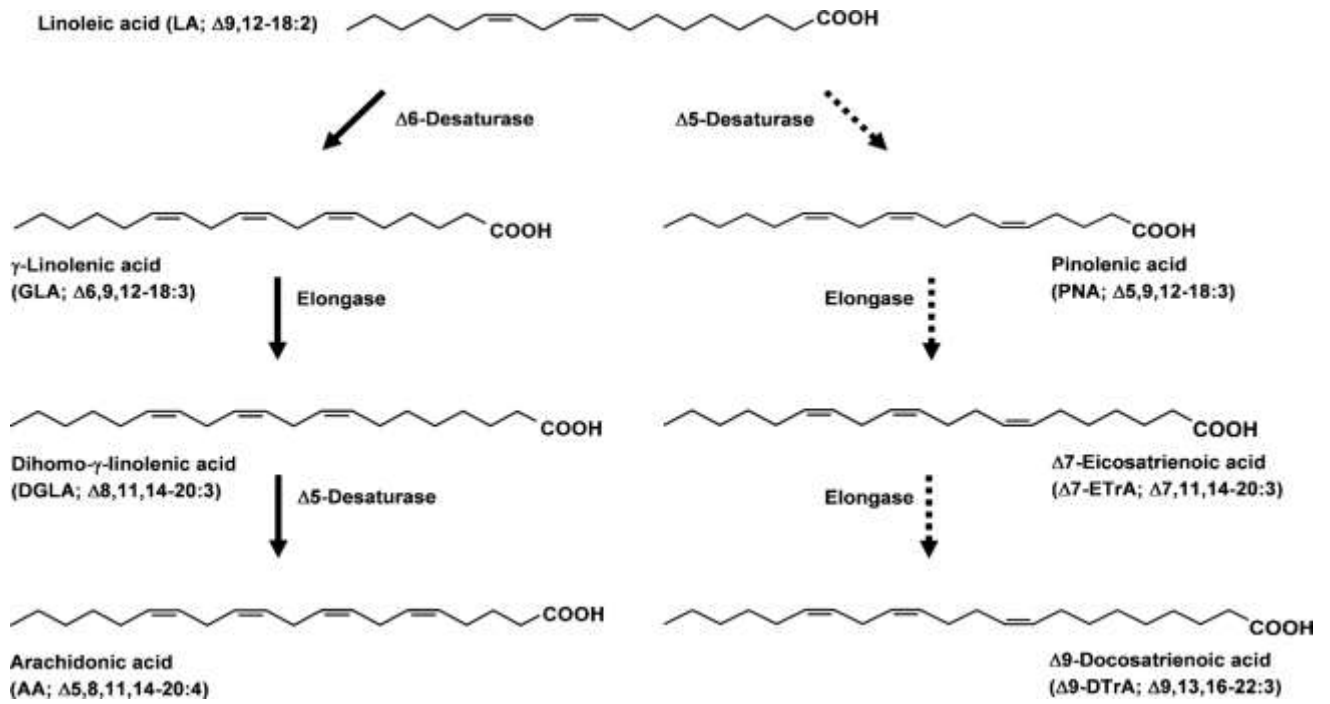


Figure 9 :Les acides gras polyinsaturés réguliers et les voies métaboliques alternatives de Δ^5 -desaturation . (HUNG et al ,2014)

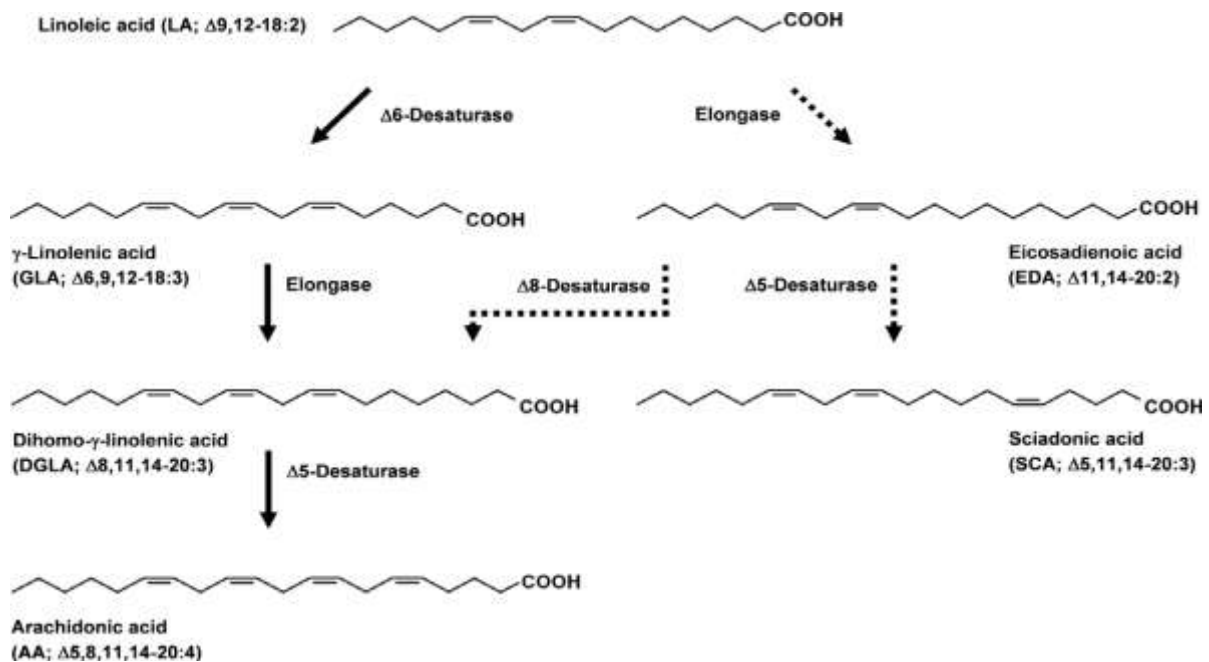


Figure 10 :Les acides gras polyinsaturés réguliers et les voies métaboliques alternatives (CHEN et al , 2012)

Effets des acides delta5-oléfiniques sur l'organisme

Les graines de conifères sont considérées comme une source potentielle d'huiles alimentaires pour les êtres humains. Ces graines contiennent environ 65 % d'huile. Actuellement les huiles de graines de conifères ne sont pas directement utilisées comme une huile alimentaire, mais les graines sont consommées dans de nombreux pays comme condiments de préparation. En Chine les graines de *Biota orientalis* sont utilisées à des fins pharmaceutiques. De nombreuses études sur les animaux ont montré que l'huile de graines de conifères constitue un potentiel substantiel de baisser les concentrations des différents paramètres lipidiques et altérant favorablement le métabolisme lipidique chez les rats. L'huile de graines de *Biota orientalis* diminuait le taux de cholestérol dans le sérum comparé à un régime enrichi en acide linoléique chez des rats présentant une hypercholestérolémie. La supplémentation en huile de *Pinus koraiensis* donnée à des rats contribue à une baisse des niveaux de triglycérides dans le sérum comparé à l'huile de tournesol et l'huile de lin. (ASSET et al, 2002), (WOLFF et al, 1996), (PASQUIER et al, 2001)

II.2.4.2.3. Besoins et apports recommandés en acides gras :

Comme pour tout nutriment, des apports excessifs en lipides peuvent être néfastes pour la santé. La part recommandée des lipides dans l'apport énergétique est de **35 à 40 %**. Cette fourchette permet d'assurer la couverture des besoins en acides gras essentiels et indispensables et prend en compte la prévention des pathologies. La limite haute de cette fourchette est dépassée en France par environ 43 % des adultes et 34 % des enfants.

Il est également important de s'intéresser à la **qualité** des acides gras apportés par l'alimentation car tous ne sont pas équivalents. Ainsi, des ANC ont été proposés pour les acides gras indispensables (LA, ALA, DHA), l'EPA, les trois acides gras saturés athérogènes en cas d'excès, et l'acide oléique. Une recommandation a également été faite pour l'ensemble des acides gras saturés, bien qu'ils n'aient pas tous les mêmes effets physiologiques.

➤ Recommandations en acides gras pour l'adulte consommant 2000 kcal par jour :

Les valeurs sont exprimées, excepté pour l'EPA et le DHA, en **pourcentage de l'apport énergétique sans alcool**, que l'on appellera « apport énergétique » (AE), par souci de simplification. Dans le cas du DHA et de l'EPA, les valeurs sont exprimées en milligrammes dans la mesure où les études disponibles ont utilisé cette unité, (ANSES).

Tableau 10 : Recommandations en acides gras pour l'adulte consommant 2000 kcal par jour

	Acide gras	ANC
AG indispensables	Acide linoléique	4 %
	Acide α -linoléique	1 %
	Acide docosahexaénoïque, DHA	250 mg
AG non indispensables	Acide eicosapentaénoïque, EPA	250 mg
	Acides laurique + myristique + palmitique	≤ 8 %
	Acides gras saturés totaux	≤ 12 %
	Acide oléique	15-20 %

Tableau 11 : Recommandations en AGPI pour la femme enceinte consommant 2050 kcal et la femme allaitante consommant 2250 kcal par jour (ANSES)

	Femme enceinte	Femme allaitante
Acide linoléique	4,0 %	4,0 %
Acide α -linoléique	1,0 %	1,0 %
Acide docosahexaénoïque	250 mg	250 mg
EPA+DHA	500 mg	500 mg

Tableau 12 : Recommandations en AGPI pour le nouveau-né/nourrisson (6 premiers mois) par jour (ANSES)

	Acide linoléique	Acide α -linoléique	Acide arachidonique	DHA	EPA+DHA
Nouveau-né/nourrisson	2,7 % AE	0,45 % AE	0,5% AGT	0,32% AGT	EPA < DHA

Les valeurs sont exprimées en % de l'apport énergétique (AE) ou en pourcentage des acides gras totaux (AGT) pour un lait apportant, pour 100 ml reconstitués, 70 kcal et 3,4 g de lipides totaux .

II.2.4.3. Les constituants mineurs

II.2.4.3.1. L'insaponifiable

C'est l'ensemble des composés qui ne sont pas esters, mais tous autres produits de constitution plus ou moins complexe.

La teneur des corps gras en ces produits est généralement très faible, très inférieure à 1%.

(ROGER. F, 1974).

II.2.4.3.1.1. Les tocophérols

II.2.4.3.1.1.1. Définition

La vitamine E fait partie de la famille des tocophérols, nom proposé pour la première fois en 1936 par Evans et collaborateurs (1936). Le terme « tocophérol » recouvre en fait plusieurs composés (α -tocophérol, β -tocophérol, γ -tocophérol). Présents dans les huiles végétales alimentaires, ils assurent la protection vis-à-vis de l'oxydation (antioxygènes). L' α -tocophérol est la vitamine E. Parmi les huiles végétales, les huiles riches en acides gras polyinsaturés (maïs, colza, tournesol, soja) sont celles qui sont susceptibles d'apporter le plus de tocophérols totaux. Les corps gras animaux ne renferment pas de tocophérols. **(WOLFF, 1968).**

II.2.4.3.1.1.2. Structure

Les tocophérols sont des substances constituées par un noyau commun hydroxychromane et une chaîne latérale saturée phytyle à 16 carbones. Le nombre et la position des groupements méthyle sur le noyau hydroxychromane définissent les différentes formes de tocophérols et tocotriénols. La forme la plus active est l' α -tocophérol que l'on rencontre le plus fréquemment dans la nature. Les β et γ tocophérols ont une activité vitaminique réduite (respectivement 40 et 15 % environ de l'activité de la forme α , alors que la forme δ est pratiquement inactive. Les tocotriénols se distinguent des tocophérols par la présence de trois doubles liaisons sur la chaîne latérale. Deux de ces produits possèdent également une certaine activité vitaminique: environ 20% pour l' α -tocotriénol et 5% pour le β -tocotriénol. Les autres sont inactifs.

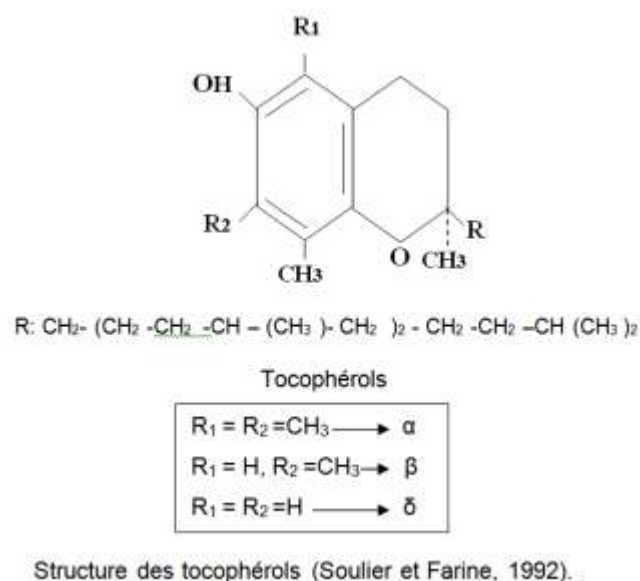


Figure 11 :Structure des tocophérols (SOULIER et al,1992)

II.2.4.3.1.1.3. Propriétés physico chimiques des tocophérols

A la température ambiante, les tocophérols se présentent sous la forme d'une huile visqueuse de coloration jaune pâle. Ils sont insolubles dans l'eau, très solubles dans les graisses, les huiles et les solvants organiques (éthers, acétone, chloroforme, méthanol, alcools méthyliques et éthyliques).

Ils sont peu sensibles à la chaleur, à la lumière et aux acides, mais très sensibles à l'oxydation et aux bases. Les esters de tocophérols et notamment l'acétate de dl- α -tocophérol sont relativement stables (CLAUDE, 2003).

II.2.4.3.1.1.4. Sources de Vitamine E

Les sources alimentaires (Le Tableau 13) les plus riches en vitamine E sont les céréales (seigle, blé, avoine, etc.) (SURAI, 2002) dont leurs germes, les fruits (bananes, fraise, melon, etc.), la plupart d'oléagineux, dont leurs huiles (tournesol, soja, maïs, olive, arachide, etc.). On trouve de la vitamine E dans les légumes (salade, épinard, chou, poireau), dans la graisse animale ainsi que dans le lait, le beurre et le fromage et également dans le poisson (CUVELIER et al, 2003).

Tableau 13 : Sources de Vitamine E (CUVELIER al,2003)

Sources naturelles de la vitamine E	Mg/ 100g
Huile de germe de blé	150 à 500
Huile de soja	140
Huile d'arachide	15 à 30
Amande, noisette	15 à 20
Germes de céréales	14 à 20
Huile d'olive	8 à 20
Haricot sec, petit pois	3 à 4
Cacao, farine de blé	3
Beurre, chou, lard	2 à 3
Œuf, foie, maquereau	1 à 2
Lait maternel	0,7
Côte de porc	0,7
Filet de bœuf, laitue	0,6
Banane, carotte	0,5
Gruyère	0,3
Tomate, orange	0,2
Lait de vache	0,06

II.2.4.3.1.1.4. Carences en vitamine E

Il n'y a guère de symptômes spécifiques de la carence en vitamine E dans l'espèce humaine. Dans certaines circonstances particulières, des troubles neurologiques et musculaires liés à une carence ont été décrits. Chez les prématurés la déficience en vitamine E peut être à l'origine d'une anémie hémolytique et augmenterait le risque d'atteinte rétinienne.

II.2.4.3.1.1.5. Besoins et recommandations

les quantités d'alpha-tocophérol sont exprimés en unités internationales (UI) et en milligrammes (mg) de RRR-alpha-tocophérol (également appelé vitamine E naturelle ou d-alpha-tocophérol), la forme de vitamine E présente dans les aliments.

Tableau 14 : Besoins et recommandations vitamine E (SURIA, P.F.,2002).

Étape de la vie	Âge	Hommes ; mg/jour (UI/jour)	Femmes ; mg/jour (UI/jour)
Nourrisson (AA)	0–6 mois	4 mg (6 UI)	4 mg (6 UI)
Nourrisson (AA)	7–12 mois	5 mg (7,5 UI)	5 mg (7,5 UI)
Enfant	1–3 ans	6 mg (9 UI)	6 mg (9 UI)
Enfant	4–8 ans	7 mg (10,5 UI)	7 mg (10,5 UI)
Enfant	9–13 ans	11 mg (16,5 UI)	11 mg (16,5 UI)
Adolescent	14–18 ans	15 mg (22,5 UI)	15 mg (22,5 UI)
Adulte	19 ans et plus	15 mg (22,5 UI)	15 mg (22,5 UI)
Femme enceinte	tous âges	-	15 mg (22,5 UI)
Femme allaitante	tous âges	-	19 mg (28,5 UI)

Certains scientifiques estiment qu'il existe des preuves crédibles de ce qu'une prise journalière de 200 UI (134 mg) d'alpha-tocophérol pourrait contribuer à protéger les adultes contre certaines maladies chroniques, telles que les maladies cardiaques, les AVC, les maladies neurodégénératives et certains types de cancer. La quantité d'alpha-tocophérol nécessaire à l'apparition de tels effets bénéfiques semble être bien supérieure à celle d'un apport strictement alimentaire. (**TRABER MG . 1996**)

II.2.4.3.1.1.6. Rôle de la vitamine E.

➤ Vitamine E et activité anti oxydative

La vitamine E est un antioxydant majeur au sein des membranes cellulaires et des lipoprotéines plasmatiques. Elle inhibe le phénomène de peroxydation lipidique en piégeant les radicaux libres générés lors du processus oxydatif (Sies et coll, 1992). L'oxydation de l'alpha-tocophérol conduit à un radical tocophéryl relativement stable du fait du noyau chromanol. La vitamine E peut être secondairement régénérée en présence de vitamine C ou d'autres réducteurs.

➤ Vitamine E et activité anti-inflammatoire :

La vitamine E, piégeant les radicaux libres, inhibe le mécanisme de peroxydation des lipides qui aboutit à la formation de prostaglandines, médiateurs physiologiques de l'inflammation. De nombreuses études pharmacologiques ont prouvé cette activité anti-inflammatoire par voie topique, en montrant que la vitamine E diminuait les érythèmes et les œdèmes.

La vitamine E a donc une action sur les coups de soleil, une fois formés. L'effet anti-inflammatoire de la vitamine E est également initié par d'autres mécanismes comme l'inhibition de la libération d'histamine et la stabilisation des membranes lysosomiales.

En effet, les lysosomes, riches en lipides insaturés, sont très sensibles à la peroxydation: la vitamine E prévient leur rupture et empêche ainsi la libération d'enzymes et de médiateurs pro-inflammatoires.

➤ Vitamine E et cancer :

Compte tenu du rôle procarcinogène probable des peroxydes lipidiques, et des possibilités de mutations de l'ADN suite à la peroxydation des bases nucléiques (Pré, 1993), l'effet protecteur de la vitamine E semble non négligeable.

En 2002, la société américaine du cancer publiait les résultats d'une étude de longue haleine comptant près d'un million de participants adultes aux États-Unis chez qui on a voulu évaluer les effets d'une prise régulière de suppléments de vitamine C et de vitamine E sur le taux de mortalité par cancers de la vessie a révélé que les sujets ayant consommé des suppléments de vitamine E sur plus de 10 ans étaient effectivement moins à risque (Jacobs et coll, 2002).

➤ Vitamine E et fonction immunitaire :

Des nombreuses études expérimentales suggèrent que la vitamine E joue un rôle dans la modulation de la réponse immunitaire. Un statut marginal en vitamine E a été trouvé associé à une plus grande fréquence de maladies infectieuses (**ChAVANCE et COLL, 1989**) et de cancers (**WOODSON K et COLL, 1999**). La supplémentation en vitamine E a permis d'améliorer la réponse immunitaire chez l'homme et le rat âgés (**PALLAST et COLL, 1999; WU et COLL, 2000**).

La vitamine E diminue l'activité suppressive des lymphocytes T et augmente la sécrétion L'interleukine 2 chez la souris infectée par le virus de l'immunodéficiência murine (**WANG et COLL, 1994**). Certaines preuves indiquent la possibilité d'un effet bénéfique de la vitamine E et d'autres micronutriments sur la progression de l'infection à VIH et sur les symptômes cliniques du SIDA (**HUANG et COLL, 1994**).

➤ Vitamine E et athérosclérose :

L'événement initial de l'athérosclérose est une lésion ou une stimulation de l'endothélium artériel. L'augmentation de la perméabilité endothéliale favorise la pénétration des LDL circulantes dans l'intima. A ce niveau, les LDL sont modifiées par peroxydation avec apparition de produits de peroxydation des lipides, fragmentation de l'apo B et hydrolyse partielle de la phosphatidylcholine en lysophosphatidylcholine; ces modifications ont pour conséquence la perte de reconnaissance par le récepteur apo B/E et la reconnaissance des LDL oxydés par un récepteur "*scavenger*" non régulé des macrophages. L'accumulation de lipides dans ces cellules entraîne leur dégénérescence en cellules dites spumeuses à l'origine de la plaque d'athérome. Ces dernières, par les médiateurs qu'elles produisent, vont initier des modifications de l'intima des vaisseaux et entretenir les processus précédents.

La vitamine E des HDL et LDL prévient l'oxydation des lipoprotéines et s'oppose au développement de la plaque d'athérome par son effet inhibiteur de la production et de la libération de radicaux libres oxygénés par les macrophages et les polynucléaires activés, et par son action sur le métabolisme de l'acide arachidonique.

L'importance de α -tocophérol est appuyée par l'existence d'une corrélation inverse entre vitamine E et mortalité par maladie coronarienne, et par la diminution du risque cardiovasculaire lors d'une supplémentation en cette vitamine (**COGNY et COLL, 1994**).

➤ Vitamine E et Propriétés hydratantes :

Les propriétés antirides de la vitamine E sont une conséquence de ses propriétés hydratantes.

En augmentant la capacité de rétention d'eau de la peau, la vitamine E améliore son aspect de surface et diminue l'amplitude des rides ; la peau devient plus souple et plus douce.

➤ Vitamine E et amélioration de la microcirculation cutanée :

La stabilisation des membranes par la vitamine E, en particulier au niveau vasculaire, améliore la microcirculation cutanée, en facilitant les mouvements des vaisseaux. Ceci permet un apport de nutriments augmenté au niveau de la peau et une meilleure évacuation des déchets.

Les effets de la vitamine E sur la croissance des cheveux peuvent être attribués à cette action d'accroissement de la microcirculation locale au niveau du bulbe pileux.

II.2.4.3.1.2. Les stérols

II.2.4.3.1.2.1. Définition

Les stérols sont des stéroïdes comprenant au moins un groupement hydroxyle "OH" dans la plupart des cas sur le carbone 3 (NESMCY et COLL, 1980; REGINALD et al, 2000) .

Selon l'origine biologique (GAIGNAUT et COLL, 1989) on peut classer les stérols en quatre répartitions, les stérols animaux (Zoo stérols), stérols végétales (Phytostérols), stérols des champignons inférieurs (Mycostérols) et les stérols des algues.

II.2.4.3.1.2.2. Structure

Les stérols sont des molécules lipidiques possédant une structure tétracyclique, un groupement hydroxyle sur le troisième carbone (Figure.A) et une chaîne aliphatique sur le 17^{ième} carbone (Figure.B). La structure des stérols varie essentiellement au niveau de la nature de la chaîne aliphatique en C17 (nombre de carbone, alkylation et insaturation) ainsi qu'au niveau de la position et du nombre d'insaturation sur les cycles. La structure chimique de deux stérols majeurs, le sitostérol ou phytostérol (stérol de plantes) et l'ergostérol (stérol de champignons), sont illustrés sur la figure (C et D).

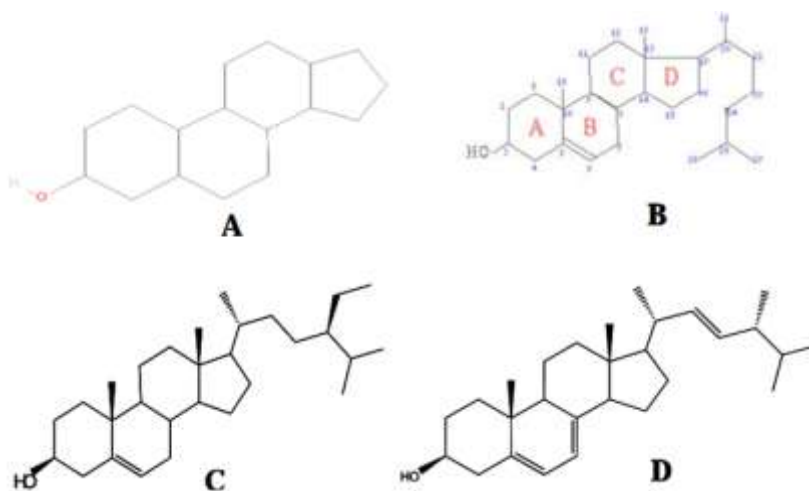


Figure 12 : Représentation de la structure chimique des stérols

- A.** Noyau tétracyclique représentant la base de la structure d'un stérol. **B.** Numérotation des carbones sur une molécule de cholestérol, le groupement OH est porté par le carbone 3, l'insaturation par les carbones 5 et 6 et la ramification par le carbone 17. **C** phytostérol. **D.** Ergostérol.

II.2.4.3.1.2.3. Apports recommandés en phytostérols

Ces composés sont naturellement présents dans les huiles (de 0,1 à 0,5%) et les aliments d'origine végétale. L'apport journalier a été estimé à 0,5 g/j, mais les données de composition sont fragmentaires. Ces stérols végétaux sont recherchés pour leurs propriétés hypocholestérolémiantes.

Toutefois, cet effet hypocholestérolémiant n'est observé que pour des consommations journalières comprises entre 2 et 3 g/j.

II.2.5.3.1.2.4. Le rôle des phytostérols dans l'organisme

Les phytostérols inhibent l'absorption digestive du cholestérol et accélèrent l'efflux de cholestérol hors des entérocytes vers la lumière intestinale (LECERF, 2007; OSTLUND et LIN, 2006).

En l'an 2000, aux Etats-Unis, la « Food and Drug Administration » a reconnu officiellement que les produits contenant des phytostérols diminuent les risques de maladies cardiovasculaires s'ils sont associés à une alimentation pauvre en graisses saturées et en cholestérol (US FDA, 2000).

On les retrouve également dans des aliments comme les germes de blé ou de soja, les huiles végétales comestibles telles que l'huile de graine de tournesol ou de maïs. La fonction des stérols dans les plantes est identique à celle du cholestérol chez l'homme: maintenir la structure et la fonction de la membrane cellulaire.

Le β -sitostérol a fait l'objet de nombreuses études pharmacologiques qui ont montré qu'il possède des propriétés anti-inflammatoire, antipyrétique, antinéoplasique, des propriétés immunomodulatrices, et antimutagénique (KUNYOUNG et COLL, 2003).

D'autres travaux, notamment sur l'homme, ont montré des effets prometteurs sur la normalisation du fonctionnement des cellules lymphocytaires T, impliquées dans la diminution des réactions auto-immunes, ainsi qu'au niveau de la normalisation de l'équilibre DHEA/Cortisol. Le bêta sitostérol, seul ou en association avec d'autres phytostérols, diminue les niveaux sanguins de cholestérol.

Enfin, plusieurs études montrent l'intérêt du β -sitostérol dans le traitement de l'hyperplasie de la prostate (Klippel et coll, 1997; Kadow et coll, 1986). Il a été également montré qu'il possède des propriétés antioxydantes, diminuant la production macrophagique des anions superoxyde ($O_2^{\cdot-}$) et du peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) (MORENO, 2003).

II.2.5.3.1.3. Les caroténoïdes

II.2.5.3.1.3.1. et structure

Les caroténoïdes ce sont des hydrocarbures fortement insaturés, de couleur jaune à l'orange (AIAIS et al., 2004). Ils comprennent les carotènes et les xanthophylles. Les principaux carotènes rencontrés dans les huiles végétales sont les β carotènes ,mais on les trouve également chez les animaux, car la demi molécule oxydée de α , β , et γ carotène est la vitamine A. (C. ALAIS, G. LINDEN, 1997).

Les caroténoïdes dérivent chimiquement d'une structure de base formée par l'enchaînement linéaire de huit unités isopréniques, associées en deux groupes de quatre unités (géranylgeranyl) tête-bèche. Cette structure de base, linéaire ($C_{40}H_{56}$) avec de nombreuses doubles liaisons conjuguées, est le lycopène (figure 16) et tous les autres caroténoïdes en dérivent par cyclisation, déshydrogénéation et oxydation.

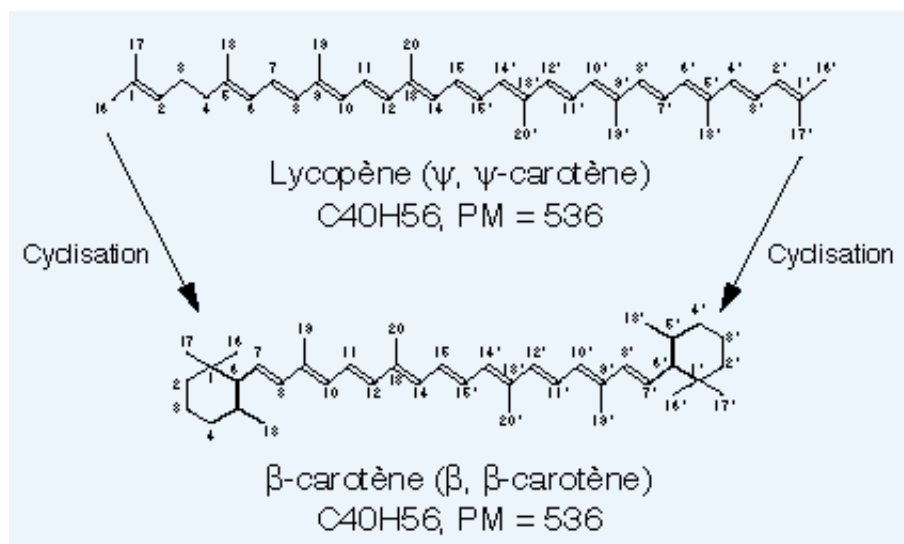


Figure 13. Représentation schématique du lycopène, caroténoïde linéaire. Par cyclisation des extrêmités, on obtient la structure du b-carotène.

La nomenclature [1] fait appel :

pour les carotènes : au terme carotène précédé de deux lettres grecques identifiant les types de cycles (définis par la position de la double liaison), présents au deux extrêmités de la molécule (17) ;

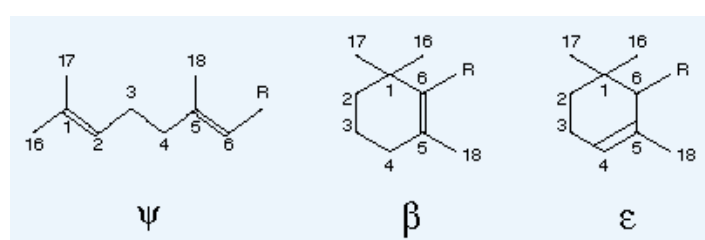


Figure 14. Représentation des cycles terminaux qui diffèrent par la position de leur double liaison. Ils sont obtenus par cyclisation du lycopène.

pour les xanthophylles : à la numérotation par préfixe ou suffixe des fonctions oxygénées accompagnées du numéro du carbone porteur de la fonction, conformément à la nomenclature de chimie organique et à la numérotation des carbones illustrée dans la 19.

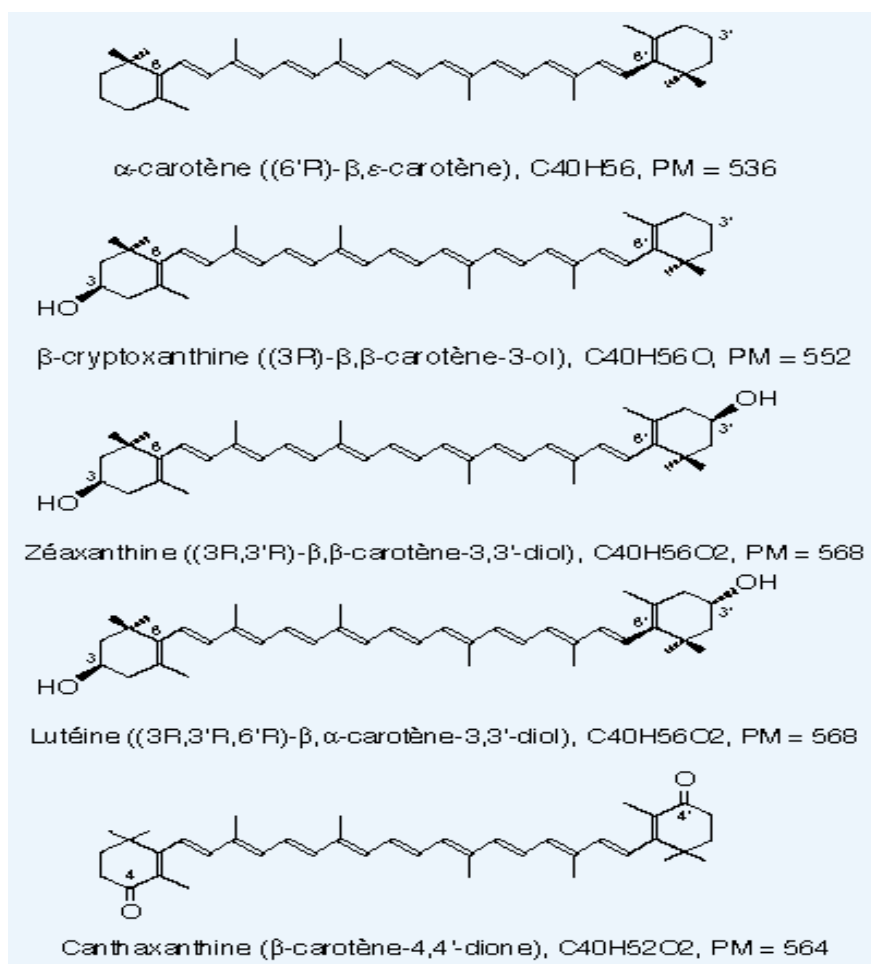


Figure 15 : Représentation schématique des autres caroténoïdes le plus souvent mesurés dans le sérum humain.

Les dérivés de caroténoïdes, à moins de 40 carbones, s'appellent apocaroténoïdes quand les carbones manquants appartiennent aux extrémités de la molécule, ou norcaroténoïdes quand les carbones manquants sont au centre de la molécule.

II.2.5.3.1.3.2. Les sources et les apports recommandés en caroténoïdes

80 % des apports en caroténoïdes sont représentés par le bêta-carotène, la lutéine et le lycopène. Si les apports journaliers recommandés en caroténoïdes ne sont pas encore déterminés, certaines études évaluent à 6 mg l'apport quotidien nécessaire de **bêta-carotène**, alors que notre alimentation actuelle en fournit seulement 1,5 mg. On trouve le bêta-carotène essentiellement dans la carotte, l'abricot, le melon, les légumes verts et la citrouille.

En ce qui concerne l'apport nutritionnel en **lutéine**, il serait en France de 2,5 mg par jour, alors qu'il devrait s'élever à 6 mg. On trouve la lutéine, comme la **zéaxanthine**, essentiellement dans les épinards, le chou vert, le persil, les brocolis, la salade, les petits pois, les haricots verts, les choux de Bruxelles et le maïs.

La tomate, le melon d'eau, le pamplemousse et la papaye constituent, quant à eux, les principales sources de **lycopène**.

Les apports conseillés en vitamine A sont de 800 ER (équivalent rétinol : 6 μ de bêta-carotène présentent la même activité vitaminique que 1 μ g de rétinol, soit 1 μ de ER). La vitamine A est fortement présente dans l'huile de foie de morue, le foie, le foie gras, les poissons gras, le beurre, le jaune d'œuf, les rognons, les fromages, les carottes, le cerfeuil, les abricots, les épinards, le potiron, la mâche, le poivron rouge, la tomate, l'asperge, le melon, la mangue, la papaye, les pruneaux secs...

II.2.5.3.1.3.3. Rôles des caroténoïdes dans l'organisme

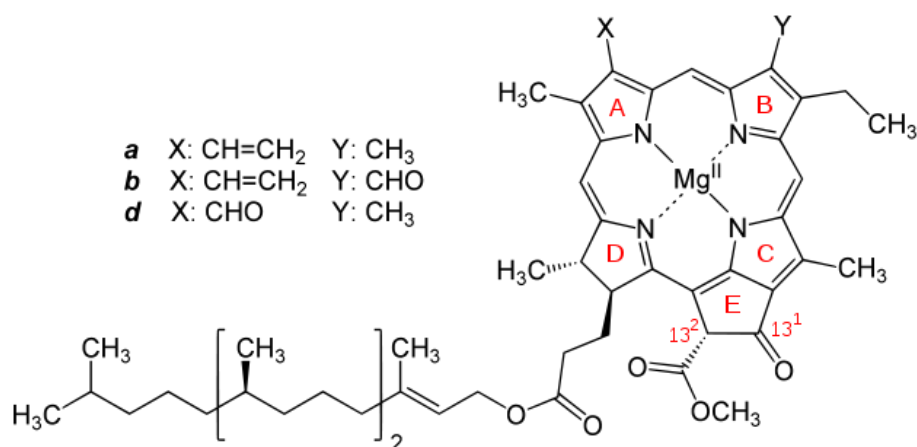
- Le β -carotène : Présent notamment dans les carottes et le persil, il est particulièrement important pour l'organisme car c'est un précurseur de la vitamine A. Il permet de couvrir environ 40% des besoins en vitamine A dans les pays industrialisés.
- Le lycopène : Colorant des tomates, le lycopène protège la peau des rayons ultraviolets. Plusieurs études ont montré que le lycopène pouvait réduire certains facteurs de risque d'athérosclérose et de cancers.
- La lutéine : Très riche dans le cresson, les épinards, les poivrons, la lutéine se concentre dans l'organisme surtout au niveau de la rétine et du cristallin. Elle y joue un rôle protecteur vis-à-vis du stress oxydant et des ultraviolets. Elle aiderait à prévenir les maladies dégénératives des yeux. (FAVIER, 1997)

II.2.5.3.1.4. Les chlorophylles

II.2.5.3.1.4.1. Définition et structure

ce sont les pigments verts des végétaux, elles jouent un rôle fondamentale dans la photosynthèse. Elles sont liposolubles notamment du fait de la présence de la chaîne phytyle (TREMOLIERE et al., 1984).

Il existe trois molécules de chlorophylle : a ou α ($C_{55}H_{72}MgN_4O_5$), b ou β ($C_{55}H_{70}MgN_4O_6$), d ou ($C_{54}H_{70}MgN_4O_6$).



II.2.5.3.1.4.2. Rôle des chlorophylles

Les chlorophylles sont au cœur de la machinerie que les plantes vertes et certaines bactéries ont inventée pour s'alimenter en utilisant le soleil comme source d'énergie, le dioxyde de carbone comme source de carbone et l'eau. Dans cette réaction chimique, la plus importante de la biosphère, le gaz carbonique de l'atmosphère est transformé par photosynthèse en glucose et du dioxygène est dégagé.

II.2.5.3.1.5. Les hydrocarbures

Ce sont des paraffines de 11 à 35 atomes de carbone, se trouvent à l'état de trace dans l'huile (FRANÇOIS, 1974).

II.2.5.3.1.6. Les alcools Triterpéniques

Les alcools triterpéniques sont des composés provenant de la polycyclisation, selon divers modes, du squalène, hydrocarbure à 30 atomes de carbone. Ainsi, on distingue les alcools triterpéniques comportant 3 cycles hexagonaux et un cycle pentagonal et les alcools triterpéniques pentacycliques spécifiques des végétaux (comportant 4 cycles hexagonaux et un cycle pentagonal ou hexagonal).

Dans le règne végétal, les alcools triterpéniques les plus rencontrés sont le cycloarténol, le 24-méthylèncycloartanol, les α et β amyriènes et l'érythrodiol.

Les alcools triterpéniques sont très intéressants, principalement en raison de leur activité anti-inflammatoire.

. Mais ils sont aussi utilisés en raison de leur activité cytostatique sur les cellules cancéreuses, ou en vertu de leurs propriétés en urologie, en neurologie, en cosmétique ou encore pour leur action antibactérienne.

II.2.5.3.2. Les phospholipides

Une molécule de phospholipide est construite à partir de quatre constituants : des acides gras, une plate-forme à laquelle sont fixés les acides gras, un phosphate et un alcool lié au phosphate (figure 20). La plate-forme sur laquelle les phospholipides construits peut être le glycérol, alcool à trois carbones, ou la sphingosine, alcool plus complexe (STRYER et al., 2003).

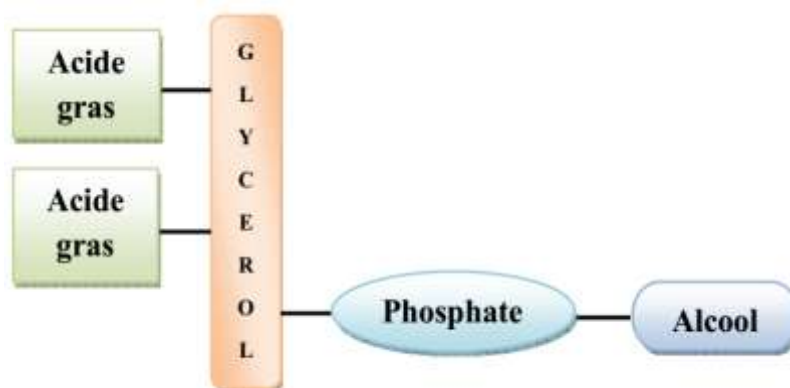


Figure 16 : Une molécule de phospholipide

II.2.5.3.2.1. Rôles des phospholipides

Les phospholipides sont des esters du glycérol dont les positions sn-1 et sn-2 sont estérifiées par des AG et la fonction alcool en sn-3 est naturellement estérifiée par un acide phosphorique lui-même associé à un sucre (inositol) ou une amine (choline, éthanolamine, sérine). En raison de leur polarité (hydrophilie liée à la fonction aminée et hydrophobie liée aux AG), les phospholipides jouent un rôle majeur de constituant des interfaces membranaires, de transporteur d'AG et d'émulsifiant. Ces propriétés émulsifiantes sont largement utilisées en technologie alimentaire.

II.2.5.3.3. Les cires

Les cires naturelles sont des esters d'acides gras et de monoalcool aliphatique (alcools gras principalement et parfois alcool α méthylique)

Les cires sont présentes aussi bien dans les lipides animaux que dans les lipides végétaux.

Chez les animaux elles sont surtout abondantes chez les animaux marins supérieurs (cétacés en particulier) ou elles peuvent former de véritable dépôt et chez les poissons.

Chez les végétaux les cires contribuent à la formation des pellicules protectrices des graines et des fruits, elles peuvent également s'accumuler dans certains tissus (NAUDET et al. 1992).

La formule générale des cires est :

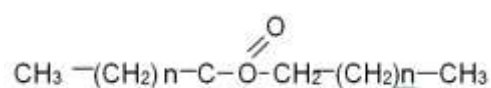


Figure 17 : Structure du Palmitate de cétyle. (WEIL et al, 2001)

Chapitre III :
Technologie de
production
Des corps gras

Chapitre III Technologie de production des corps gras**III.1. Technologie de fabrication des huiles****III.1.1. Principes généraux de la trituration**

La trituration industrielle est basée sur deux techniques majeures qui sont la pression mécanique et l'extraction à l'hexane :

Les graines dites « riches » en huile (teneur supérieure à 35 % d'huile) sont triturées par pression puis extraction ;

Les graines classées « pauvres » en huile (teneur inférieure à 35 % d'huile, cas du soja par exemple) subissent généralement une extraction directe à l'hexane après préparation.

La trituration industrielle des graines oléagineuses comporte classiquement les étapes suivantes (voir le schéma suivant) :

- Les opérations de préparation des graines : nettoyage et séchage, décorticage ou dépelliculage, préparation mécanique (aplatissage et/ou broyage), conditionnement thermique,
- La pression, pour extraire mécaniquement l'huile de la graine ; on obtient une huile de pression et un résidu solide, appelé écaille de presse, contenant encore un pourcentage non négligeable d'huile (environ 20 %),
- L'extraction de l'huile résiduelle des écailles par solvant (l'hexane) ; on obtient alors une huile d'extraction et un tourteau déshuilé.

III.1.2. Procédé Extraction des huiles**III.1. 2.1. Extraction par la presse**

Les graines oléagineuses ayant subi tout ou partie des opérations de préparation précédentes sont dégraissées par passage dans une presse à vis à alimentation continue (presse horizontale). L'huile brute, chassée entre les barreaux de la cage de presse, contient une certaine quantité de petites particules solides appelées « pieds de presse » provenant du laminage entre les barreaux du produit pressé, dont elle sera débarrassée **par tamisage et filtration** ou, technique alternative, par **centrifugation sur superdécanteur ou clarificateur** (elle peut être en outre séchée sous vide à l'issue de ces dernières opérations).

A la sortie de la presse, au niveau du cône, se forment les écailles de presse (appelés aussi « tourteaux gras »).

Les industriels triturateurs disposant d'un outil d'extraction par solvant choisissent plutôt un dégraissage partiel de la graine par pression ; ainsi, les écailles de presse issues de graines oléagineuses riches en huile (tournesol ou colza) titrent de 16 à 24% de matière gr L'équipement des presses est fonction de la graine traitée (texture et richesse en huile).

Les pépins de raisin et le soja ne passent pas en pression mécanique, car leur pourcentage en huile est faible (moins de 20 %).asse suivant les situations.

Dans certains cas, les écailles de presse issues des graines de *Pinus pinea* sont pelletisées avant extraction.

III.1. 2.1.1. Paramètres influençant les rendements le rendement d'extraction par presse

1/ L'effeuillage : qui une opération nécessaire pour éviter une coloration trop ver dater de l'huile, se traduisant par un excès d'amertume et par moindre aptitude à la conservation d'huile.

A défaut de disposer d'un système mécanique, cette opération peut être effectuée manuellement.

2/Le lavage : opération fondamental qui doit être généralisée à toutes les unités à presse pour éviter les problèmes suivants ;

- . une interférence des terres avec la couleur et les autres propriétés organoleptiques (odeur, gout) de l'huile.

- . une baisse du rendement d'extraction, sachant que les terres accompagnant les *Pinus pinea* absorbent près quart (20%) de leur poids en huile.

- . une conservation réduite de l'huile étant donné que certaines traces métalliques dans les terres sont des catalyseurs de l'oxydation de l'huile.

- . une augmentation de la proportion des (fonds) de pile qui entravent une bonne séparation des phases liquides.

Une évaluation d'un bilan de qualité de l'huile (*Pinus pinea*) obtenue est nécessaire. En outre ou recherchera la présence des toxines.

Le système de presses doit comprendre une la vesse effeuilleuse. Un ou plusieurs broyeurs à meules , des super presses équipées de chariots à aiguille centrale, des bassins de décantation et éventuellement pour l'élimination des impuretés. Un avantage de ce système est la production d'une huile pressée à froid. Et de bonne qualité lorsque les bonnes pratique d'extraction d'huile et d'hygiène sont respectée.

III.1. 2.2.L'extraction par solvant

En sortie de pression, les écailles de presse sont acheminées vers l'atelier d'extraction, où l'hexane est utilisé comme solvant d'extraction.

L'activité d'extraction est constituée de plusieurs opérations unitaires :

l'extraction de l'huile par dissolution dans l'hexane la désolvantation du tourteau par évaporation du solvant, le refroidissement du tourteau avant stockage, la distillation de l'huile par évaporation du solvant, la condensation des vapeurs de solvant avec séparation de l'eau et de l'hexane, l'épuration de l'air, en sortie du dernier condenseur à mélange, par absorption des vapeurs d'hexane incondensées.

L'extraction de l'huile des écailles de presse est effectuée à l'aide d'un extracteur continu à percolation (à paniers, à bande perforée, à chaîne, ou à filtres sous vide).

Le micelle d'huile et d'hexane obtenu est distillé et l'hexane, après condensation, est recyclé dans le process. L'huile brute d'extraction, après distillation, est stockée, le plus souvent en mélange avec l'huile brute de pression, dans des réservoirs aériens, avant un éventuel raffinage (sur le site de trituration ou sur un autre site). Le stockage des huiles brutes (avant raffinage) peut conduire à la sédimentation de particules solides présentes dans l'huile, appelées fonds de bac.

En ce qui concerne le tourteau sortant de l'extracteur, il contient environ 30 % d'hexane (en poids) qu'il convient de récupérer. Il est, pour se faire, acheminé dans un désolvantiseur-toasteur (DT), tour verticale constituée d'un empilage de plateaux chauffants. Sur les premiers plateaux s'opère le plus gros de la distillation

de l'hexane ; de la vapeur directe est injectée au niveau des plateaux intermédiaires afin de parfaire l'élimination du solvant ; enfin, les plateaux inférieurs assurent le séchage et le refroidissement du tourteau déshuilé.

Lors de l'extraction, l'hexane est récupéré et recyclé, mais les procédés utilisés ne permettent pas de récupérer la totalité de l'hexane utilisé.

Les pertes sont de l'ordre de 1 kg par tonne de grainestrainées.

En sortie de l'installation de désolvantation, le tourteau (ou farine) titre de 0,8 à 2 % de matière grasse, suivant les performances de l'installation ; ces farines peuvent être palettisées (à l'aide d'une « presse à granuler ») afin d'augmenter la densité du produit, de minimiser les problèmes de poussières et d'assurer un calibrage physique régulier du produit.

Après stockage dans des silos du type de ceux utilisés pour le stockage des graines les tourteaux sont expédiés par trains, camions ou bateaux depuis des gares de chargement, le plus souvent à l'aide de boisseaux.

III.1. 2.2.1.L'extraction par Soxhlet

Le principe est le même que pour toute extraction, mais ici se pose le problème de la diffusion du solvant dans la phase solide, qui peut être très lente. Il faut réaliser un très grand nombre d'extractions successives pour obtenir une séparation satisfaisante. L'extracteur de Soxhlet est un appareil spécialement conçu pour l'extraction continue solide liquide.

Le solvant (5 à 10 fois la quantité de l'échantillon solide à extraire) est porté à ébullition, puis condensé avec le condenseur à boules, dans le réservoir à siphon contenant le solide à extraire dans une cartouche de papier épais. Le contact entre le solvant et le produit à extraire dure pendant l'accumulation de solvant dans le réservoir, puis quand le solvant atteint un certain niveau, il amorce le siphon et retourne dans le ballon en entraînant la substance dissoute. Ce cycle peut être répété plusieurs fois, selon la facilité avec laquelle le produit diffuse dans le solvant.

Cette méthode exige un pro traitement pour le mélange obtenu par soxhlet, En pratique on utilise évaporateur rotatif pour séparer l'huile essentielle et l'éthanol.

Montage

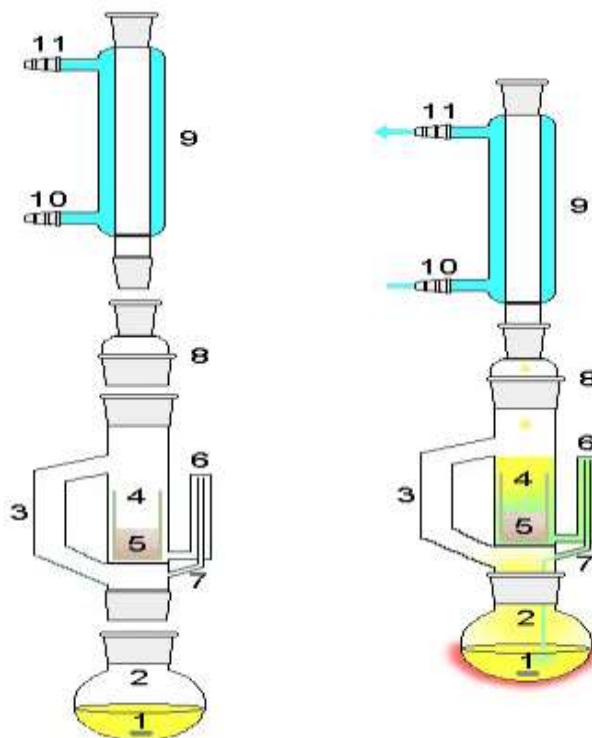


Figure 18 : Représentation schématique d'un extracteur de Soxhlet

- 1 Agitateur magnétique
- 2 Ballon à col rodé
- 3 Retour de distillation (tube d'adduction)
- 4 Corps en verre
- 5 Filtre
- 6 Haut du siphon
- 7 Sortie du siphon
- 8 Adaptateur d'expansion
- 9 Condensateur
- 10 Entrée de l'eau de refroidissement
- 11 Sortie de l'eau de refroidissement

III.1. 2.2.3.L'extraction par ultrasons

Le mécanisme le plus probable par lequel les ultrasons opèrent est l'intensification du transfert de masse et la facilitation de l'accès du solvant à l'intérieur des cellules végétales (ASSIS,2007) .

III.1. 2.2.3.Propriétés du solvant d'extraction idéal

Selon (DESPAEU ,1978), les principales propriétés souhaitées pour le solvant utilisé en huilerie, afin d'obtenir une bonne qualité d'huile extraite aux moindres coûts d'exploitation sont :

- Un point d'ébullition bas, mais suffisamment élevé avec un intervalle de distillation étroit, afin de faciliter l'élimination du solvant dans l'huile et les tourteaux.
- Un point de fusion au dessous de 0°C pour éviter les cristallisations dangereuses.
- Une faible viscosité, pour faciliter les transferts.
- La non –miscibilité et la non solubilité à l'eau, bien qu'il existe des procédés de récupération, dont il faudra tenir compte, du point de vue économique.
- Des propriétés calorifiques (chaleur spécifique et chaleur de vaporisation faible) permettant d'effectuer une récupération aisée et économique.
- Etre conforme aux normes de sécurité et de salubrité et donc dans le cadre des recherches actuelles, être si possible, inflammable, non explosif, peu toxique.
- Un pouvoir solvant suffisant, mais également une bonne sélectivité pour éviter l'extraction de produits qu'il faudrait ensuite éliminer au raffinage.

- Conserver à l'huile et aux tourteaux leurs qualités d'origine c'est-à-dire ne pas favoriser l'introduction de produits toxiques et ne pas modifier la saveur d'origine (qualité organoleptique).
- Avoir un bon pouvoir mouillant (faible tension superficielle).

En égard aux grands nombres de conditions à satisfaire, il paraît qu'un solvant réunissant simultanément toutes ces qualités n'existe pas.

III.1. 2.2.4.Extraction par voie biologique.

(FULBROOK,1983) a montré qu'il était possible d'accroître les rendements d'extraction d'huile par un solvant après modifications enzymatiques à l'aide d'hydrolases (issues de *Bacillus subtilis* et d'*Aspergillus niger*) et il a affirmé que l'utilisation de systèmes enzymatiques donnait d'excellents rendements d'extraction.

D'autre part, ce type d'extraction permet une réduction de la quantité de l'huile dans les tourteaux et d'améliorer la stabilité au stockage de l'huile en augmentant la quantité d'antioxydants (OBERGFOLL, 1997).

III.1. 3.Le raffinage des corps gras

Le raffinage est l'ensemble des opérations qui servent à transformer l'huile brute en un produit comestible en éliminant les impuretés qui le rendent impropres à la consommation en l'état.

En effet, les huiles contiennent de nombreux composés : certains sont très utiles (vitamines, insaponifiables, ...), d'autres sont nuisibles à leur qualité (gommes, acides gras libres, pigments, agents-odorants,...).

Quel que soit le mode d'extraction employé, les huiles obtenues ont rarement le degré de pureté pour les usages auxquels elles sont destinées.

Le raffinage des corps gras bruts doit garantir aux consommateurs un produit d'aspect engageant avec un goût neutre, résistant à l'oxydation, adapté à l'emploi désiré et débarrassé de ses substances toxiques ou nocives (DENISE, 1992) ; et le produit final doit être stable et ne former ni trouble ni dépôt au cours de la conservation.

Pour qu'une huile soit saine, loyale et marchande, elle doit subir les opérations du raffinage chimique : démulcination, neutralisation, lavage, séchage et désodorisation.

III.1. 3.1. Les procédés de raffinage

On utilise principalement deux procédés de raffinage pour les graisses et les huiles comestibles brutes: le raffinage chimique/alcalin et le raffinage physique. Ces deux procédés se différencient essentiellement par le mode d'élimination des acides gras libres (**FEDIOL, 2006**).

- Le raffinage chimique comprend la démucilagination, la neutralisation, la frigidation, la décoloration et la désodorisation.
- Le raffinage physique comprend la démucilagination, la frigidation, la décoloration et la désodorisation.
- **La démucilagination (ou dégomme)**

Cette opération sert à éliminer les mucilages (cires, lécithines ou gommes) qui se trouvent en faible quantité de l'ordre de 1% à l'état colloïdal dans les huiles brutes.

Le dégomme est pratiqué par injection de vapeur ou introduction d'eau salée qui hydrate et fait flocculer les « mucilages ». Les phospholipides précipités sont alors séparés par centrifugation (**DENIS, 1983**).

- **La neutralisation**

Lors de cette étape, les acides gras libres présents dans l'huile et qui risquent de donner un goût désagréable et d'accélérer l'oxydation de l'huile sont éliminés.

La neutralisation s'effectue par addition de soude caustique qui transforme les acides gras libres en savons appelés communément « pâte de neutralisation ou « soap-stocks ». Le savon qui est insoluble dans l'huile se dépose entraînant de nombreuses impuretés qui seront ensuite éliminées par centrifugation ou filtration (**DENIS, 1982**).

- **Le lavage**

Cette opération consiste en l'élimination de substances alcalines ainsi que certains pigments colorés et les dernières traces de métaux présents dans l'huile après neutralisation.

Le lavage est plus efficace lorsqu'il est effectué en deux fois : le premier avec une solution aqueuse de Na Cl à 8-10 % chauffée à la température de 95°C, le second avec de l'eau chaude à 80-85°C. La séparation se fait par décantation.

- **Le Séchage**

L'huile lavée devient humide ce qui provoque une augmentation de l'acidité. Il est donc nécessaire de procéder au séchage. Cette opération se fait à une température de 85° à 90 °C (**karleskind, 1992**).

- **La décoloration**

Elle sert à éliminer les pigments colorés qui confèrent à l'huile une teinte plus au moins foncée et que la neutralisation n'a que partiellement détruits.

Elle fait intervenir un phénomène chimique (oxydation, réduction) ou des méthodes physiques (agents adsorbants). Ces derniers sont généralement des terres décolorantes, charbons actifs, silices spécialisées ou une combinaison de substances (**KARLSEKIND, 1992.,GOIFFON, 1981**).

- **La filtration**

Cette étape permet d'obtenir une huile limpide aux reflets brillants. Elle se déroule en deux temps : une première filtration sur toile de coton qui élimine des déchets solides et une deuxième filtration sur papier buvard qui élimine les cires et les traces d'humidité.

- **La désodorisation**

Cette étape a deux objectifs. Elle débarrasse, tout d'abord, comme son nom l'indique, de l'odeur désagréable de l'huile et elle permet également d'éliminer les substances indésirables. Elle s'effectue par distillation sous vide à température élevée (180-200°C). En outre, la désodorisation est effectuée pour améliorer la qualité organoleptique de l'huile ainsi que sa stabilité à l'oxydation (**FAUR ,1989**).

III.1. 3.1.Effets du raffinage sur quelques composés mineurs des huiles végétales

Généralement les pertes en phytostérols sont estimées entre 10 et 70% (**VERLEYEN, 2002**), tandis que les pertes moyennes en tocophérols totaux sont estimées entre 30.2 et 35.5% (**TASAN , DEMIRCI 2005**).

III.1. 4.Altération des huiles

III.1. 4.1.Les différents types d'altérations des huiles

Le problème d'altération des huiles alimentaires constitue un problème majeur en industrie des corps gras. En effet, il est évident que l'oxydation des huiles conduit en général à des conséquences indésirables en portant préjudice aux qualités organoleptiques, nutritionnelles et dans des conditions extrêmes, des substances toxiques peuvent se former.

Ces altérations peuvent causer des pertes considérables tant sur le plan alimentaire que sur le plan économique

Ainsi les deux altérations pouvant se produire pendant le stockage d'une huile à savoir l'acidification et le rancissement par oxydation entraînent l'altération de la saveur. On distingue généralement :

III.1. 4.1.1. Altération biologique

Des micro-organismes sont généralement introduits par l'atmosphère ambiante, par l'appareillage de traitement non stérilisé, par les emballages, par le contact humain et par les insectes.

L'action de ces micro-organismes a pratiquement pour résultat la formation d'enzymes génératrices d'acides gras, de produits d'oxydation, d'aldéhydes et de cétones ; ce qui se traduit par des modifications d'apparence, de texture, de saveur et aussi par l'apparition de produits toxiques (FRANÇOIS, 1974). Le cas le plus généralement étudié est celui d'une altération par *Aspergillus flavus*.

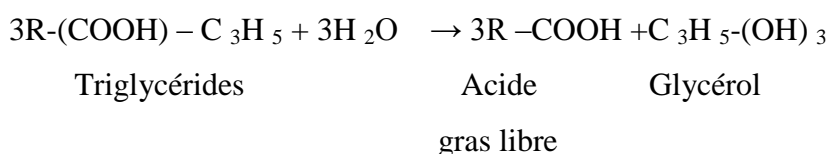
III.1. 4.1.2. Altération chimique

Les facteurs d'altération chimique sont induits par deux phénomènes :

III.1. 4.1.2.1. Phénomène d'acidification (d'hydrolyse)

Les lipides sont susceptibles de s'hydrolyser en glycérols et en acides gras libres en présence de lipases (soit endogènes ou exogènes) (ALAIS et LIDEN, 1997).

La réaction globale d'hydrolyse des lipides est la suivante :



Il existe deux types d'hydrolyse:

➤ **Hydrolyse enzymatique**

Cette réaction se déroule seulement dans les huiles brutes ; au cours du stockage et du transport de la matière première. Les enzymes responsables de cette hydrolyse sont les lipases (TRIMOLIERE, 1984).

➤ **Hydrolyse spontanée**

Elle a lieu au cours du stockage et du traitement thermique des huiles, elle est favorisée par la présence des acides gras libres et le taux d'humidité.

Cette hydrolyse s'accompagne par une oxydation, car les acides gras libres s'oxydent 10 fois plus vite que les triglycérides (TRIMOLIERE, 1984).

III.1. 4.1.2.2. Phénomène d'oxydation

C'est l'ensemble des transformations que peuvent subir les matières grasses et leurs dérivés sous l'action de l'oxygène ou par un oxydant chimique. On distingue :

➤ **L'oxydation par l'oxygène de l'air**

Les principaux substrats de cette oxydation sont les acides gras insaturés qui s'oxydent plus vite à l'état libre. Cette réaction dite réaction d'autocatalyse des

Huiles et des graisses a une vitesse qui peut être augmentée sous l'action de la lumière, l'activité de l'eau, et la température.

➤ **L'oxydation chimique**

C'est une réaction qui se fait par un oxydant puissant tel que le permanganate de potassium (KMnO_4) (Cas des huiles végétales). Cette oxydation a lieu au cours du traitement et durant la conservation des huiles (**DIFFENBACHER et al, 2000**).

Il faut noter que les autres substances non saturées comme les vitamines A et E, les caroténoïdes, et certains hydrocarbures présentes dans les huiles peuvent subir des oxydations analogues dites secondaires (**CHEFTEL, 1977**).

III. 1.4.1.2.2.1. Les facteurs favorisant l'oxydation

L'oxydation des lipides est une réaction lente, particulièrement à basse température. La phase d'initiation de l'oxydation des lipides peut être déclenchée par plusieurs facteurs tels que l'oxygène activé, les enzymes, la température, la lumière ou les traces de métaux (**BRIMBERG et KAMAL-EILDIN, 2003 ; ANDREO et al., 2003 ; MARC et al., 2004**).

➤ L'influence de la composition des acides gras :

La composition des acides gras est très importante pour la stabilité à l'oxydation d'une huile. En effet plus la teneur en acides gras insaturés est élevée plus l'oxydation sera plus rapide (**CHEFTEL, 1977**).

➤ L'influence de l'eau :

Les huiles végétales parfaitement anhydres sont plus stables vis-à-vis de l'oxydation que les huiles contenant des quantités mineures d'eau en solution. La vitesse de formation du peroxyde et la vitesse d'oxydation croient avec l'augmentation de la teneur en eau (**POKORY, 2003**).

➤ Influence de la concentration en oxygène et de la température

Durant la réaction d'oxydation, une grande interaction existe entre la température et la concentration d'oxygène. Ainsi, il est assez difficile d'évaluer l'effet de ces facteurs individuellement. La solubilité de l'oxygène est très élevée à température ambiante ou à basse température (**ANDREO et al.,2003**).

➤ Effet des métaux

Les métaux de transition jouent un rôle important dans la génération des radicaux libres de l'oxygène, ils sont les premiers activateurs des molécules d'oxygène (Love, 1980). Les traces de métaux pro-oxydants (fer et cuivre sous forme libre) augmentent les cinétiques de formation des radicaux et de décomposition des hydroperoxydes pour des teneurs faibles (**FRANKEL, 1998**).

➤ Effet de la lumière

La lumière (les ultraviolets) joue le rôle d'accélérateur des cinétiques des réactions d'oxydation, les mécanismes chimiques restent les mêmes. Elle intervient dans la photo-oxydation qui constitue une voie importante de production d'hydroperoxydes en présence d'oxygène, d'énergie lumineuse et de photosensibilisateurs tels que les hémoprotéines ou la riboflavine (**KAHOULI, 2010**).

➤ Effet des enzymes

La lipoxigénase ou linoléate oxygène oxydoréductase initialement isolée à partir du soja, puis de différentes légumineuses, est en fait présente chez de nombreuses plantes. En présence d'oxygène moléculaire, l'enzyme catalyse la formation d'hydroperoxydes selon un processus radicalaire ; les hydroperoxydes en position 13-(S) et 9-(R) sont les composés formés de façon majoritaire. Le rapport entre ces deux isomères dépend essentiellement de la spécificité de l'enzyme (**CROUZET, 1998**).

L'oxydation enzymatique se produit même à basse température. Durant le stockage à l'état congelé l'activité enzymatique est très faible. Cependant, une fois la décongélation amorcée et des températures de 0°C à 4°C atteintes, il semblerait que cette activité reprenne et s'accroisse (**FRANKEL, 1998**).

➤ Influence de PH

Le pH influence le déroulement de l'oxydation par le biais de plusieurs mécanismes (**GENOT et al., 2003**). Premièrement, pour les réactions d'oxydo-réduction faisant intervenir des protons (H⁺) le potentiel redox décroît linéairement avec le pH. Un pH

acide favorise donc la réaction d'oxydation, le pH intervient également dans la solubilité des composés impliqués dans l'initiation de la réaction. Le pH modifie aussi les interactions entre constituants du fait d'attractions et de répulsions électrostatiques liées à la charge des molécules (EYMARD, 2003).

III.1. 4.1.2.2.2. Les différentes phases d'oxydation :

L'oxydation concerne les matières grasses insaturées et comporte trois étapes qui sont l'initiation, la propagation et la terminaison. Au cours de l'initiation, il y a formation de radicaux libres puis de radicaux hydroperoxydes en position α d'une double liaison. la chaleur, la présence de traces de sels de métaux de transition et la lumière ultraviolette sont des agents d'initiation. cette première étape, appelée également période d'induction, correspond à une période d'absorption lente de l'oxygène atmosphérique. la deuxième étape est la propagation, au cours de laquelle on assiste à une formation plus accélérée d'hydroperoxydes, ce qui se traduit par une forte consommation d'oxygène. la dernière étape consiste en des réactions non radicalaires (YAACOUB, 2009).

Le mécanisme réactionnel de l'oxydation des lipides comprend trois phases :

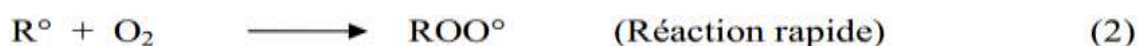
➤ 1 : Initiation :

En présence d'un initiateur (I), les lipides insaturés (RH) perdent un atome d'hydrogène pour former un radical libre centré sur le carbone (R°) (radical alkyle).



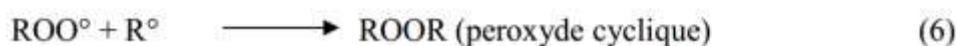
➤ 2 : Propagation :

Le radical alkyle, très réactif, fixe une molécule d'oxygène, pour former un hydroperoxyde instable, centré sur l'oxygène (2). celui-ci arrache à son tour un hydrogène labile d'un deuxième acide gras, formant un hydroperoxyde non radicalaire plus stable (3), mais générant une nouvelle espèce radicalaire sur le deuxième acide gras.



Comme le montre la figure 4 citée ci-dessus, la phase de propagation peut elle-même être décomposée en deux étapes séquentielles (JUDDE, 2004) :

- 1 : La première étape correspond à l'apparition des peroxydes, composés primaires d'oxydation, à partir des radicaux libres instables : la quantité de peroxydes formés peut être évaluée analytiquement grâce à la détermination de l'indice de peroxyde.
- 2 : La deuxième étape se traduit par l'évolution des hydroperoxydes en composés secondaires d'oxydation, par deux voies principales :
- La scission : conduisant par coupure à la libération de composés volatiles (chaines carbonées courtes et moyennes), notamment aldéhydiques, responsables des saveurs de rance, caractérisés par un seuil de détection très faible.
 - Le remaniement : conduisant suite à différents types de pontage intra- ou inter-acides gras ou suite à l'apparition de fonctions oxydées. à ce stade dit de rancissement, le goût rance est bien entendu perceptible.
- 3 : Terminaison :
- Pendant cette phase, les espèces radicalaires réagissent entre elles pour donner des espèces non radicalaires, mettant ainsi fin aux cycles réactionnels.



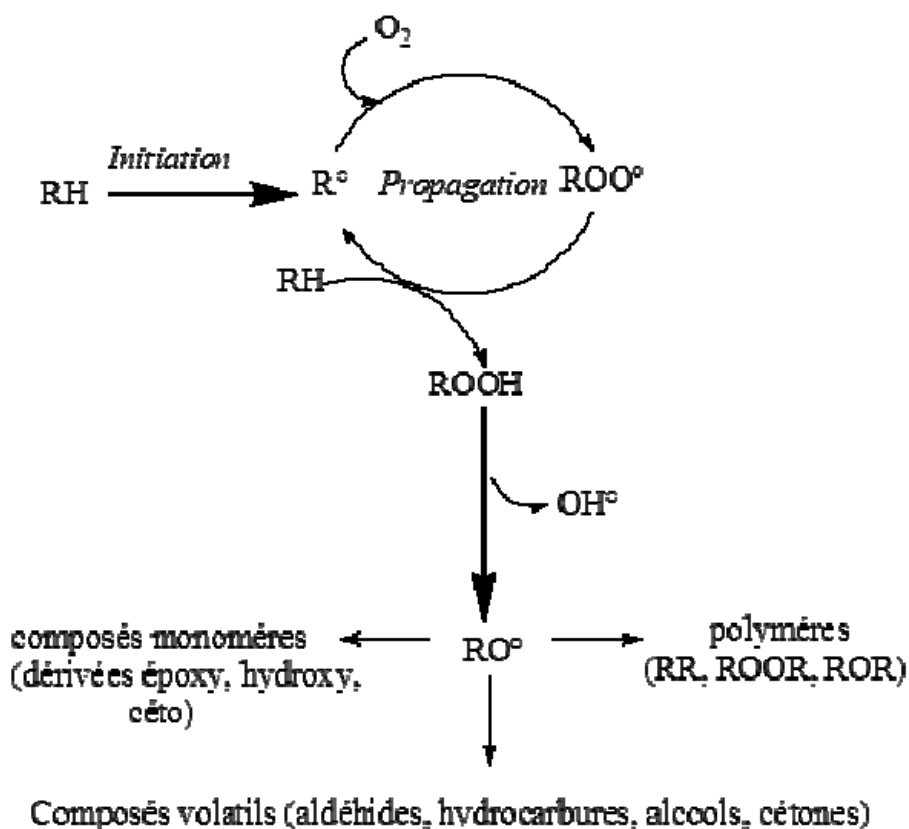


Figure 19 : Schéma implifié des stades primaires et secondaires de l'oxydation d'une matière grasse insaturée (RH).

III.1.4.1.3. Altérations thermo-oxydatives

Le chauffage des lipides à des températures supérieures à 100 voire 150 C°, conduit à la formation de polymères, de composés cycliques ou isomérisés.

III.1.4.2. Répercussion sur le plan nutritionnel et sanitaire des corps gras oxydés

- Perte de la valeur marchande : défaut de rance influe sur l'acceptabilité du produit par le consommateur.
- Perte de la valeur nutritive : perte d'activité vitaminique (A et E), acides gras polyinsaturés oxydés non bio disponibles.
- Modification de l'aspect du produit : couleur, texture, arôme. (ALAIS et al, 1997).

III.1.4.3. Mesures de prévention contre l'oxydation des corps gras

Plusieurs facteurs vont intervenir pour favoriser ou au contraire freiner les tocophérols (vitamine E) et les polyphénols végétaux (flavonoïdes, acides phénoliques, diterpénoides) (BERSSET, 2006).

Les antioxydants secondaires agissent par des mécanismes indirects tels que la chélation des ions métalliques ou la réduction d'oxygène. On les appelle aussi antioxydants préventifs car ils viennent compléter les moyens de prévention de l'oxydation, ou encore synergistes car ils sont souvent employés en combinaison avec les antiradicalaires dont ils renforcent l'action. Les agents chélateurs de métaux les plus couramment utilisées sont l'EDTA et l'acide citrique. Certains polyphénols végétaux possèdent également cette capacité grâce à leurs groupements *ortho*-diphénoliques. C'est le cas par exemple de la quercétine, des catéchines et de l'acide carnosique. Parmi les réducteurs d'oxygène, citons principalement les acides ascorbique (vitamine C) et érythorbique. On peut également mentionner le bêta carotène et le lycopène qui sont des désactivateurs de l'oxygène singlet, forme active de l'oxygène en photo-oxydation.

III.1. 5. Conditionnement de l'huile

C'est la mise sous emballage des huiles pour assurer leur conservation et leur transfert depuis l'usine de fabrication jusqu'aux consommateurs. (**LINDEN, 1994**)

Le conditionnement doit permettre une excellente conservation jusqu'au moment de l'emploi. De plus, il doit être d'une inertie totale vis -à-vis de l'aliment. (**APFELBAUM, 1999**)

Les emballages plastiques les plus employés sont :

- Le polyéthylène haute densité (PEHD)
- Le polyéthylène basse densité (PEBD)
- Le polyéthylène téréphtalate (PET) (**BEAUFRAND, 1979**)

Ces matières plastiques réunissent les qualités suivantes :

- Etanchéité et imperméabilité
- Bonne résistance mécanique
- Non toxicité
- Non miscibilité des constituants de ces matières avec le produit (corps gras) à

Conserver. (**FRANÇOIS, 1974**)

III.1. 6. Conservation et stockage

Bien que certaines huiles se conservent le plus longtemps, en raison de leur faible acidité et de leur patrimoine antioxydant, cette conservation n'est pas infinie, du moins en ce qui concerne ses qualités organoleptiques. Il convient, donc, de respecter les règles suivantes :

- La température de stockage doit être relativement basse. Il faudra, donc, utiliser des systèmes tendant à éviter les sources de chaleur, mais sans recourir aux systèmes de refroidissement. La température optimale se situe entre 15 et 25°C.
- L'absence de radiations, et en particulier de radiations ultraviolettes, qui sont à l'origine de la formation des radicaux qui déclenchent les réactions d'auto-oxydation.
- Le matériau des récipients doit être inattaquable ; à cet effet, les meilleurs matériaux sont l'acier inoxydable de qualité alimentaire et le fer iso vitrifié. Les revêtements en matières plastiques sur l'acier sont à déconseiller.

PARTIE II :
MATERIEL ET
METHODES

Partie II Matériel et méthodes**I. Extraction de l'huile de conifères****I.1. Matériel végétal****I.1.1. Préparation de l'échantillon**

- **Décorticage**

Les graines obtenues à partir des cônes, sont couvertes d'une couche dure mais fine et facile à décortiquer à la main. Le concassage est réalisé manuellement.

- **Stockage**

Après décorticage, les graines sont stockées à l'abri de la lumière et de l'humidité à 4°C, pour éviter toute oxydation ou dégradation des lipides.

- **Broyage**

Cette opération est réalisée juste avant l'extraction par un moulin à couteaux métalliques. On obtient ainsi une farine fine.

I.2. Procédés d'extraction

I.2. Procédés d'extraction**I.2.2. Extraction par Ultrasons****a. Principe**

L'application des ondes ultrasonores améliore la cinétique de l'extraction par solvant de l'huile, car certains auteurs ont relevé que l'effet mécanique de ces vibrations favorise le transfert de masse et ce, pour plusieurs raisons (**TRITIAUX et al, 1997**).

- Le pouvoir des ultrasons facilite une meilleure pénétration du solvant dans les cellules.
- Ils provoquent la destruction des parois cellulaires et par conséquent la libération de l'huile.

b. Mode opératoire

100 g de farine de graines ont été ajoutés à 150 ml d'hexane. Le mélange est soumis à l'ultrason à un niveau d'intensité correspondant à 40 w/cm², pendant 6h.

I.2.3.Extraction par solvant (Soxhlet). (DESPIAU C.1978).

(en laboratoire chimique du université).

a. Principe

Le principe consiste à effectuer une extraction par un solvant organique à l'aide de dispositif Soxhlet d'une capacité de 250 ml. La farine est épuisée en matière grasse par le passage des solvants. On estime qu'une extraction est totale au bout de 6 heures.

Le solvant utilisé est: l'Hexane

Une fois l'extraction terminée les solvants sont éliminés à l'aide d'un Rota vapor.

Cette extraction repose sur le principe suivant : les composés apolaires comme les corps gras sont insolubles dans les composés polaires comme l'eau, mais solubles dans les solvants apolaires tels que l'hexane. Le point d'évaporation de l'hexane étant inférieur à celui des matières grasses à extraire, il est donc très facile de les séparer par chauffage.

b. Mode opératoire

- Peser à 1 mg près, 10 g de farine.
- Introduire l'échantillon dans une cartouche en cellulose qui est perméable au solvant et la couvrir avec du coton.
- Mettre la cartouche dans l'appareil extracteur de "Soxhlet". Ce dernier est muni d'un réfrigérant par le haut, d'un ballon et d'un chauffe ballon par le bas.
- Verser la quantité nécessaire de solvant (150 ml d'hexane).
- Conduire le chauffage dans des conditions telles que le débit du reflux soit au moins de 3 gouttes à la seconde.
- Le solvant va s'évaporer puis réfrigéré, et le liquide tombe sur la substance à épuiser d'une façon à ce que la cartouche soit immergée. Lorsque la partie intermédiaire est suffisamment remplie de solvant, le siphon s'amorce et le solvant contenant la substance à extraire retourne dans le ballon chargé en lipides.
- Après la durée nécessaire (pendant 6 heures), on récupère la cartouche, d'une part, et le solvant et l'extrait, d'autre part.
- La solution obtenue est passée dans le Rota Vapor pour chasser par distillation la majeure partie du solvant, ce qui permet de récupérer les lipides seuls (la température d'ébullition des lipides est plus élevée que celle de l'hexane qui s'évapore le premier).
- Eliminer les dernières traces du solvant en chauffant le ballon pendant 20 mn à 103°C.
- Peser le ballon.

c. Expression des résultats

La teneur en matière grasse totale exprimée en pourcentage de masse de produit, est donnée par la formule suivante :

$$MG = \frac{M_2 - M_1}{M_0 (100 - H/100)} \times 100$$

M₀: masse en gramme de la prise d'essai.

M₁ : masse en gramme du ballon.

M₂ : masse en gramme du ballon et du résidu.

H : teneur en eau du produit exprimée en pourcentage en masse du produit.

II. Composition biochimique de la graine

II.1. Teneur en eau et en matières volatiles (NFT 03 903 AVRIL 1966)

La teneur en eau et en matières volatiles des graines oléagineuses est la perte de masse qu'elles subissent lorsqu'elles sont soumises aux conditions expérimentales bien définies (WOLF, 1968).

a. Principe

Le principe est basé sur la dessiccation du produit à une température voisine de 103 °C, dans une étuve isotherme et à la pression atmosphérique jusqu'à une masse pratiquement constante.

b. Mode opératoire

Peser 5 g de farine dans une capsule et étuver à température 103°C pendant 3h, puis retirer la capsule, laisser refroidir dans le dessiccateur puis peser, remettre dans l'étuve pendant 1h et refaire la pesée jusqu'à poids constant.

La teneur en eau et en matières volatiles, exprimée en pourcentage en masse.

c. Expression des résultats

$$\begin{array}{l} \% \text{ en Humidité et en} \\ \text{Matières volatiles} \end{array} = \frac{(M_1 - M_2) \times 100}{M_1 - M_0} \quad \text{Où :}$$

M₀ = la masse, en grammes, de la capsule vide.

M₁ = la masse, en grammes, de la capsule et la prise d'essai avant dessiccation.

M₂ = la masse, en grammes, de la capsule et la prise d'essai après dessiccation.

II.2. Teneur en cendres (NF V 03-922)

On entend par "cendres brutes" le résidu obtenu après incinération à $550^{\circ}\text{C} \pm 15^{\circ}\text{C}$ dans les conditions de la norme NF V 03-922.

a. Principe

Incinération du produit à $550 \pm 15^{\circ}\text{C}$ dans un four à moufle à chauffage électrique jusqu'à masse pratiquement constante.

b. Expression des résultats

Le pourcentage en masse de cendres brutes est exprimé par la formule suivante :

$$\text{Teneur en cendre (\% MS)} = \frac{(M_2 - M_0)}{(M_1 - M_0)} \times 100$$

M_0 : masse en grammes de la capsule d'incinération.

M_1 : masse en gramme de la capsule d'incinération chargée de la prise d'essai.

M_2 : masse en gramme de la capsule d'incinération chargée des cendres.

II.3. La teneur en protéines brutes (NF V 18-100)**a. Principe :**

La méthode utilisée est la méthode KJELDAHL consistant en :

- La minéralisation de la matière organique par l'acide sulfurique en présence d'un catalyseur approprié.

- L'alcalinisation des produits de la réaction.
- La distillation et titrage de l'ammoniac libéré.

b. Expression des résultats:

Le pourcentage en azote est donné par la formule suivante :

$$\text{N \%} = \frac{14 \times V \times N \times d}{1000 \times P}$$

V : volume en ml de la solution d'acide sulfurique utilisé lors du titrage.

N : la normalité de la solution d'acide sulfurique utilisée lors du titrage.

d : dilution du minéralisât.

La teneur en protéine exprimée en pourcentage est obtenue en multipliant la teneur en azote par un coefficient de **6,25**.

II.4. Teneur en fibres (en laboratoire du bio source dans universités)

Le contenu en fibres a été déterminé selon la méthode ISO 5983. 2,5 grammes de farine ont été pesés et libérés de leur matière grasse par extraction avec 15 ml d'hexane. La portion testée a été bouillie avec une solution d'acide sulfurique (0,255 mole /litre), suivie d'une séparation et d'un lavage du résidu insoluble.

Le résidu ainsi obtenu, est bouilli avec de l'hydroxyde de sodium (0,313 mole /litre), suivi d'une séparation, lavage et séchage. Le résidu sec est pesé et incinéré dans un four à moufle à 600°C et la perte de masse est déterminée.

II.5. Teneur en hydrates de carbones totaux

La teneur en hydrates de carbone totaux est déduite par différence.

III. Paramètres physico-chimiques

III.1. Paramètres physiques

III.1.1. La densité (AFN T 60 214) .

On appelle densité (ou poids spécifique, masse volumique) le rapport du poids d'un certain volume du corps gras à la température T, au poids d'un même volume d'eau à une température de 4°C pour notre échantillon.

La masse volumique renseigne sur le groupe auquel appartient une huile.

Il est à noter que la densité doit être toujours inférieure à 1; elle est en fonction non seulement de l'insaturation mais aussi de l'oxydation ou de polymérisation (densité augmente avec l'accroissement de celles-ci).

a. Principe

Le principe est basé sur la mesure de la masse, à température ambiante, d'un volume de corps gras contenu dans le pycnomètre préalablement étalonné à la même température. Elle est exprimée en gramme par ml ou en kilogramme par litre.

b. Expression des résultats

La densité est donnée par la formule suivante (**WOLF, 1968**).

$$D = \frac{P_3 - P_1}{P_2 - P_1}$$

P1: poids en gramme du pycnomètre vide.

P2: poids en gramme du pycnomètre rempli d'eau distillée.

P3: poids en gramme du pycnomètre rempli d'huile.

III.1.2. Indice de Réfraction (AFNT 60 212) .

C'est le rapport entre la vitesse de la lumière dans le vide, à une longueur d'onde définie, à la vitesse de propagation dans la substance.

La longueur d'onde choisie est celle de la moyenne des raies D du sodium.

L'indice de réfraction nous renseigne sur le groupe auquel appartient le corps gras. A 20°C, les huiles siccatives ont des indices de réfraction compris entre 1,480 et 1,523, les huiles demi-siccatives ont des indices de réfraction compris entre 1,468 et 1,470.

a. Principe

Les mesures sont effectuées au réfractomètre d'ABBE, à une température de 20°C, la méthode suivie est celle décrite dans la norme NFT 60-212. (AFNOR, 1984).

b. Mode opératoire

- Laver les prismes du réfractomètre à l'éther de pétrole.
- Les essuyer avec un chiffon propre très doux.
- Verser alors entre les prismes 2 à 3 gouttes d'huile.
- Déplacer alors la lunette de visée pour que la ligne de séparation de la plage claire et de la plage sombre se situe à la croisée des fils du réticule.
 - Lire l'indice de réfraction de l'huile à T°C=20°C.

III.2.Paramètres chimiques

III.2.1.Indice d'acide (NORME FRANÇAISE T60 204) .

L'indice d'acide est défini comme étant le nombre de milligrammes de potasse nécessaire pour neutraliser l'acidité de 1 gramme d'huile. La détermination de l'acidité de l'huile extraite est une mesure qui a souvent une très grande importance commerciale. Elle se fait sur l'huile séchée et pesée.

a. Principe

On dissout une prise d'essai dans l'éthanol, portée au voisinage de l'ébullition et préalablement neutralisée par une solution éthanolique d'hydroxyde de potassium à (0,1 N) en présence de phénolphthaléine, on titre les acides gras libres à l'aide de la même solution éthanolique .

b. Mode opératoire

Dans une fiole conique de 250 ml, peser à 0.01 g près 5g d'huile. Dissoudre la prise d'essai dans 100 ml environ du mélange à parts égales d'éthanol et de diéthyléther préalablement neutralisé. Titrer en agitant, avec une solution éthanolique d'hydroxyde de potassium 0.1 N jusqu'à coloration rose de la phénophtaléine persistant pendant au moins 10 secondes (WOLF ,1969. AFNOR ,1981).

c. Expression des résultats

L'indice d'acide est donné par la relation :

$$I_A = (V \times 56.1 \times N) / P$$

V : désigne le volume de potasse employé.

N : la normalité de la solution.

P : la masse de la prise d'essai.

III.2.2.Indice de peroxyde (NORME FRANÇAISE T60 220)

L'indice de peroxyde est le nombre de milliéquivalents d'oxygène actif par kilogramme de corps gras.

a. Principe

- On traite les corps gras en solution dans l'acide acétique et du chloroforme par une solution d'iodure de potassium.
- On titre par la suite l'iode libéré par une solution de thiosulfate de sodium (0,01 N).

b. Mode opératoire

- Dans une fiole, peser à 0,001 gramme près, 2 grammes d'échantillon. Ajouter 10 millilitres de chloroforme. Dissoudre rapidement la prise d'essai en agitant.
- Ajouter 15 millilitres d'acide acétique puis 1 millilitre de solution de potassium.
- Remettre le bouchon rapidement, agiter pendant une minute et laisser reposer pendant exactement 5 minutes à l'abri de la lumière et à une température de 15 à 25°C.

- Ajouter environ 75 millilitres d'eau distillée. Titrer l'iode libéré avec une solution de thiosulfate de sodium $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 0,002 N en agitant vigoureusement et en employant une solution d'empois d'amidon comme indicateur.
- Effectuer simultanément un essai à blanc. Si le résultat de ce dernier excède 0,05 millilitre de solution de thiosulfate de sodium 0,001N, remplacer les réactifs impurs (WOLFF, 1969. AFNOR ,1981).

c. Expression des résultats

L'indice de peroxyde (Ip), exprimé en milliéquivalents d'oxygène actif par kilogramme, est fourni par la formule :

$$I_p = (V \times T \times 1000) / M$$

V : nombre de millilitres de solution de thiosulfate de sodium normalisée utilisée pour l'essai, corrigé en fonction des résultats de l'essai à blanc.

T : facteur de normalité exact de la solution de thiosulfate utilisé.

M : masse (en grammes) de la prise d'essai.

III.2.3. Indice de saponification (NORME FRANÇAISE T60 206)

L'indice de saponification est la quantité de potasse exprimée en milligrammes nécessaires pour saponifier 1 gramme d'huile.

a. Principe

La prise d'essai est soumise à une ébullition à reflux avec une solution d'hydroxyde de potassium puis titrée par l'acide chlorhydrique (HCL) en présence d'un indicateur coloré (phénolphtaléine).

b. Mode opératoire

Peser au milligramme dans un Erlenmeyer à fond plat, 2g d'huile. Ajouter 25ml, exactement mesurés, de potasse alcoolique (0.5N), et porter à ébullition sous un réfrigérant à reflux.

Il est conseillé d'ajouter dans l'Erlenmeyer un régulateur d'ébullition (pierre ponce, billes de verre..) .Maintenir l'ébullition pendant une heure en agitant de temps en temps. Titrer l'excès d'alcali dans la solution savonneuse chaude avec de l'acide chlorhydrique (0.5N) en présence de phénolphtaléine.

Faire un essai à blanc dans les mêmes conditions pour titrer la liqueur alcoolique de potasse. (WOLFF ,1969., AFNOR ,1981).

c. Expression des résultats

L'indice de saponification est donné par la formule suivante :

$$I_s = ((C_1 - C_2) \times 28) / M$$

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

C1 : le nombre de millilitres d'acide chlorhydrique utilisé dans l'essai à blanc.

C2 : le nombre de millilitres d'acide chlorhydrique utilisé dans l'essai avec l'huile.

III.2.4. Indice d'iode (NORME FRANÇAISE T60 203)

L'indice diode est le nombre de grammes d'iode fixés par 100 grammes d'huile.

a. Principe :

On additionne au corps gras en solution dans le chloroforme, un excès d'halogénure d'iode ou réactif de Wijs. On détermine l'excès d'iode par addition d'iodure de potassium et d'eau, on titre l'iode libéré par une solution de thiosulfate de Sodium (0,1N).

b. Mode opératoire

- Introduire la prise d'essai (0.13g d'huile) dans une fiole de 500 millilitres.
- Ajouter 20 millilitres de solvant pour dissoudre l'huile. Ajouter exactement 25 millilitres du réactif de Wijs, boucher, agiter le contenu et placer la fiole dans un endroit sombre pendant une heure.
- Préparer un essai à blanc avec le solvant et le réactif mais sans la prise d'essai.
- Une fois ce laps de temps écoulé, ajouter 20 millilitres de la solution d'iodure de potassium et 150 millilitres d'eau dans chaque fiole.
- Titrer avec la solution thiosulfate de sodium 0.1N en présence d'empois d'amidon jusqu'à ce que la couleur jaune due à l'iode ait pratiquement disparu.
- Ajouter quelques gouttes de la solution d'amidon et poursuivre le titrage jusqu'au moment où la couleur bleue disparaît après avoir agité vigoureusement le contenu (**WOLFF, 1969., AFNOR, 1981**).

c. Expression des résultats

L'indice d'iode est donné comme suit :

$$I_i = (12,96C (V_1 - V_2)) / M$$

C : concentration, en moles par litre, de la solution de thiosulfate de sodium utilisée.

V1 : volume, en millilitres, de la solution Na₂S₂O₃ utilisé pour l'essai à blanc.

V2 : volume, en millilitres, de la solution Na₂S₂O₃ utilisé pour la détermination.

M : masse, en gramme, de la prise d'essai.

IV. Analyse de la composition chimique de l'huile

IV.1.Extraction des phosphatides.

Les phosphatides forment des mélanges complexes de plusieurs classes de composés où entrent les acides gras, le glycérol, l'acide phosphorique et, dans certains cas, des bases alcooliques azotées ou des acides aminés.

Leur faible solubilité dans l'acétone permet de les précipiter de manière simple et de les doser par gravimétrie. La méthode normalisée par IUPAC et AOCS (**WOLFF ,1969**) est décrite ci-après.

a. Principe

Le dosage des phosphatides est basé sur leur insolubilisation dans un solvant tel que l'acétone. On traite la prise d'essai par l'acétone puis on filtre la solution obtenue, on lave le filtre et le résidu avec le même solvant. Le filtre est séché à l'étuve puis pesé après refroidissement.

b. Mode opératoire

Dissoudre 25g d'huile (l'extrait à l'hexane) dans 200 ml d'acétone, soit P cette masse. Laisser reposer pendant 2 heures à 4°C. Filtrer sur un filtre taré. Ce dernier est ensuite lavé avec de l'acétone jusqu'à ce que le solvant de lavage ne contient plus de corps gras. Sécher et filtrer à 100-105°C et peser après refroidissement au dessiccateur.

c. Expression des résultats

Soit P₁ ce poids. La teneur en phosphatides est donnée par :

$$\% \text{ phosphatides} = (P_1/P) \times 100$$

IV.2. Extraction de l'insaponifiable ((Norme française T60 205)

Dans ce travail, l'extraction de l'insaponifiable a été conduite de la manière suivante :

- Dans un ballon à col rodé de 250 ml, peser 5 g de l'échantillon (l'extrait à l'hexane) (soit M cette masse).
- Ajouter 50 ml d'une solution de potasse alcoolique de concentration minimum 3% dans l'alcool éthylique et quelques graines de pierre ponce. Munir le ballon d'un réfrigérant ascendant. Porter à légère ébullition pendant 1 heure.
- Retirer le ballon du bain marie. Transvaser le contenu dans une ampoule à décanter.
- Faire un premier rinçage du ballon avec au maximum 100 ml d'eau qui seront versées ensuite dans l'ampoule, puis un second rinçage avec 100 ml d'oxyde d'éthyle qui seront également versées dans l'ampoule. Boucher l'ampoule et secouer vigoureusement. Laisser décanter jusqu'à séparation des deux couches.

- Soutirer la couche hydro alcoolique par le robinet, dans le ballon de saponification.
- Verser la couche étherée par le haut de l'ampoule dans la deuxième ampoule à décantation contenant 40 ml d'eau. Extraire à nouveau la solution hydro alcoolique de savon dans la première ampoule, deux fois encore par 100 ml d'oxyde d'éthyle de la même manière. Réunir les trois fractions étherées dans la deuxième ampoule.
- Faire tourner l'ampoule contenant la solution étherée et les 40 ml d'eau, sur elle-même sans secousse violente ; laisser décanter et soutirer l'eau de lavage.
- Laver la solution étherée 2 fois avec 40 ml d'eau en secouant vigoureusement, puis laver successivement en secouant vigoureusement avec alternativement 40ml de solution aqueuse de potasse (à 3 %), 40ml de solution aqueuse de potasse, 40ml d'eau jusqu'à ce que les eaux de lavage ne se colorent plus en rose par addition de cinq gouttes de phénolphtaléine.
- Transvaser la solution étherée dans un ballon taré, évaporer complètement le solvant en chauffant au bain marie. Ajouter 6 ml d'acétone et les évaporer en s'aidant d'un léger courant d'air. Tenir le ballon obliquement presque entièrement immergé, et le faire tourner dans un bain-marie d'eau bouillante.
- Terminer le séchage à 150°C dans l'étuve et peser. Continuer le séchage jusqu'à ce que la perte de masse entre deux pesées consécutives soit inférieure à 2 mg. Soit **m** la masse trouvée. La teneur en insaponifiable est donnée par :

$$\% \text{ insaponifiable} = (m/M).100$$

IV.3. Détermination du profil en acides gras

IV.3.1. Analyse par chromatographie en phase gazeuse des esters méthyliques d'acides gras de l'huile de graines de conifères (en laboratoire de biologie d'universitaire dans Algérie).

L'analyse par introduction directe des acides gras dans la colonne est possible, mais, généralement, ces substances ont des points de fusion assez élevés, alors que leurs esters méthyliques sont bien plus volatils. Il est donc préférable de procéder à une méthylation préalable, ce qui permettra de travailler à une température plus basse et d'utiliser des phases polaires qui ne supporteraient pas une température trop élevée (**TRANCHANT ,1995**).

a. Préparation des esters méthyliques

Les acides gras sont transformés préalablement en esters méthyliques. La matière grasse à analyser est chauffée à reflux dans l'alcool méthylique en présence de méthylate de sodium. Les esters méthyliques obtenus sont extraits à l'éther éthylique.

- Dans le ballon de 100 ml, introduire 5 g de matière grasse (l'extrait à l'hexane) préalablement déshydratée au sulfate de sodium et filtrée. Ajouter 50 ml de méthanol, adapter le réfrigérant et faire bouillir à reflux durant quelques minutes.
- Interrompre le réchauffement, détacher le réfrigérant et ajouter rapidement 1ml de solution de méthylate de sodium ; remettre le réfrigérant et faire bouillir à reflux durant 10 min au moins (sous agitation magnétique). La méthylation est considérée comme complète quand toute la matière grasse sera passée dans la solution et que le mélange de réaction soit parfaitement limpide à température ambiante. Interrompre alors le chauffage et l'agitation. Verser par le réfrigérant 30 ml d'eau.
- Refroidir et verser le mélange de réaction dans une ampoule à décanter de 250 ml.
- Rincer le ballon plusieurs fois avec 20 ml d'eau puis 20 ml de chloroforme et les verser dans l'ampoule à décanter. Agiter et attendre la séparation des strates : la phase aqueuse est transférée dans une deuxième ampoule à décanter et à nouveau extraire avec 20 ml de chloroforme.
- Recueillir la phase organique dans la seconde ampoule, laver deux fois avec 10 ml d'eau, puis sécher ensuite sur sulfate de sodium.
- Filtrer sur coton et évaporer la presque totalité du solvant au bain-marie.

b. Chromatographie des esters méthyliques

L'analyse des esters méthyliques est réalisée à l'aide du chromatographe Chrompack CP 9002 muni d'un détecteur à ionisation de flamme (FID).

Conditions opératoires

- Colonne capillaire Cp sil 88-DB 23 de longueur 30 m, diamètre intérieur 0,32 mm, et une épaisseur du film de 0,25 μm .
- Gaz vecteur: Azote(N₂).
- Injecteur SPLIT 1/100.
- Température de l'injection 250°C.
- Température du détecteur 250°C.
- Température du four 200°C.
- La surface des pics est donnée par un intégrateur dont la vitesse du papier est de 0,5cm/mn.

PARTIE III :

Résultats et discussion

Résultats et discussions

I. La composition biochimique de la graine de *Pinus pinea* dans le tableau suivant:

Composition biochimique de la graine	Teneur en % de matière sèche
Humidité	5,3
cendre	4,4
protéine	31,3
Matière grasse	38.63
fibre	3,9
Sucres totaux	16.47

Les graines oléagineuses conventionnelles présentent généralement des teneurs en eau variant entre 3 à 9 % selon l'espèce et la variété. La teneur en eau des graines de *Pinus pinea* est de 5.3 %. Cette valeur relativement faible permet d'abaisser l'activité de l'eau qui est responsable des réactions d'altération et d'assurer un bon stockage des graines.

Des études ont montré que lorsqu'on diminue la teneur en eau on obtient un meilleur rendement en huile (**BEN ALDJIA et al, 2005**).

Le pourcentage élevé en matière grasse trouvé dans les graines de *Pinus pinea* fait de cette dernière un important potentiel dans les industries des huiles. Ce pourcentage excède celui de certaines graines oléagineuses conventionnelles tel que le coton (15- 24%) et proche de l'huile de tournesol (25- 40 %)

Les graines de *Podocarpus andinus* (environ 67,3% en poids) et de *Pinus koraiensis* (environ 65% en poids), comptent parmi les plus riches en huile du genre *Pinus*, ces dernières sont récoltées en Chine à l'échelle de la tonne et exportées dans le monde entier déjà décortiquées, et ce à des fins essentiellement alimentaires (pignons). D'autres espèces de conifères seraient aussi potentiellement exploitables et plus particulièrement *Pinus cembra* var. *sibirica* (pin de Sibérie). Les graines de ce pin, sont très riches en huile (57% en poids de la graine décortiquée).

Les résultats obtenus concernant le taux de matière grasse sont en concordance avec ceux donnés dans la littérature (**WOLF et al, 1997**)

L'analyse de la composition biochimique de la graine de *Pinus pinea* a révélé une teneur importante en protéines de l'ordre de 31,3 %, tandis que le contenu en fibres et en cendres est de 3.9 et 4.4 % respectivement. De toutes les variétés *pinus*, la plus grande teneur en protéines rapportée est celle de *Pinus pinea* (34%) (**NASRI ET AL, 2005**)

Beaucoup d'études ont rapporté la richesse des graines de conifères (pinacé) en acides aminés essentiels et notamment en acide glutamique (WANG et al, 2011)

La teneur en sucres totaux est de l'ordre de 16.47%. Certains auteurs ont rapporté que le sucre majoritaire est le sucrose. (RUGGERI et al, 1998)

II. Propriétés physico-chimiques de l'huile de graines de *Pinus pinea*

Les résultats obtenus des analyses physico-chimiques sont représentés dans le **tableau 15**.

Tableau 15 : Paramètres physico-chimiques de l'huile de *Pinus pinea*

Paramètres physico- chimiques	Soxhlet / Hexane
	Valeurs
Densité à 20 ° C	0,925
Indice de réfraction à 20 ° C	1,4772
Indice d'acide (mg/g d'huile)	2,3
Indice d'iode (g/100 g 'huile)	103, 65
Indice de saponification (mg de KOH /g d'huile)	183,95
Indice de peroxyde méqd'0 ₂ /kg d'huile	6,42

II.1. Propriétés physiques

II.1.1. La densité

C'est l'un des critères de pureté qui indique la présence de corps étrangers. La masse volumique renseigne sur le groupe auquel appartient une huile.

La valeur de densité trouvée dans cette étude est de l'ordre de 0,925, valeur comparable à l'huile de maïs (0.917-0.925) et proche de celle de l'huile d'olive dont la norme donnée par le codex alimentarius est de 0.910-0.916.

II.1.2. Indice de réfraction

L'indice de réfraction nous renseigne sur la pureté et le groupe de l'huile.

Notre huile est classée comme demi-siccative avec un indice de réfraction de l'ordre de 1,4772 à 20°C. Cette valeur est comparable à celle de l'huile de pépins de raisin qui est de l'ordre de (1.467-1.477). L'indice de réfraction des huiles varie en fonction de leur insaturation. D'après les résultats qu'on a obtenu notre huile de pin pignon est riche en acide linoléique (MICHEL et OLLE, 2012) classé les huiles qui ont un indice de réfraction entre 1,471 à 1,477 dans la catégorie des huiles riches en acide linoléique.

II.2. Propriétés chimiques

II.2.1. Indice d'acide

L'indice d'acide définit la qualité de l'huile. Il caractérise la pureté et la stabilité des huiles à la température ambiante.

L'huile de *Pinus pinea* présente un faible indice d'acide (2,3 mg/g) qui est inférieur à ceux de la plupart des huiles usuelles tels que le tournesol (max.4mg/g) et comparable à huile d'olive qui varie de 2 à 16 mg/g d'huile.

L'acidité libre permet de contrôler le niveau de dégradation hydrolytique, enzymatique ou chimique des chaînes d'acide gras des triglycérides (ABAZA L. et al, 2002). Le résultat d'acidité obtenu pour notre huile est de 2,3 mg KOH/g d'huile, d'après les codex standard, 1981 qui classent les huiles qui ont une acidité de 2,0 à 4,0mgKOH/g dans la catégorie des huiles vierges, on peut dire que notre huile est une huile vierge. En principe une huile est considérée consommable si sa teneur en acides libres est inférieure à 1% en masse (KAPSEU C., 1993 in CODWE EMILE, 2011). La faible valeur d'indice d'acide confère une bonne stabilité à l'huile de *Pinus pinea*

II.2.2. Indice d'iode

L'indice d'iode met en évidence le degré d'insaturation de l'huile. La valeur de densité trouvée dans cette étude est de l'ordre de 103,65 (g/100 g d'huile), valeur comparable à celle de l'huile de colza (97-107) (g/100 g d'huile) respectivement.

La valeur trouvée est plus élevée comparée à celle de l'huile d'olive qui varie entre 75 et 94 g/100 g d'huile ; cela indique que l'huile de *Pinus pinea* est beaucoup plus insaturée que l'huile d'olive

II.2.3. Indice de peroxyde

L'indice de peroxyde est lié aux conditions de conservation et aux modes d'extraction. C'est un critère très utile et d'une sensibilité satisfaisante pour apprécier les premières étapes d'une détérioration oxydative.

La valeur de l'indice de peroxyde trouvée dans cette étude est de l'ordre de 6.42 meq O₂/Kg d'huile. Valeur relativement assez moyenne vue que l'extraction par solvant a été menée à chaud (éventuelle réaction de thermo oxydation avec formation de peroxydes) mais qui peut être revue à la baisse en cas d'extraction à froid (ultrasons, presse, enzymatique).

La valeur d'indice de peroxyde trouvée est inférieure à 10 meq O₂ / Kg ; ce qui caractérise la plupart des huiles conventionnelles (**CODEX ALIMENTARIUS, 1992**). Cela, peut s'expliquer par la richesse de l'huile en substances antioxydantes naturelles (tocophérols, polyphénols, caroténoïdes.)

II.2.4. Indice de saponification

L'indice de saponification est en relation avec la longueur des acides gras constituants de l'huile.

La valeur de l'indice de peroxyde trouvée dans cette étude est de l'ordre de 183,95 (mg de KOH /g d'huile). L'indice de saponification de l'huile de *Pinus pinea* est proche de celui de l'huile d'olive qui varie entre 184 à 196 mg de KOH/g d'huile. Cet indice nous permet de calculer la masse molaire moyenne de l'acide gras constituant notre huile.

En outre, la valeur obtenue dans cette étude indique que notre huile nécessite plus d'hydroxyde de potassium pour être transformé en savon et aussi qu'elle contient des acides gras à longue chaîne hydrocarbonées.

III. Analyse de la composition chimique de l'huile de graines de *Pinus pinea*

Les teneurs en phosphatides et composés insaponifiables sont données dans le **tableau 16**

III.1. La teneur en phosphatides

La teneur en phosphatides est de l'ordre de 2,4 %, valeur relativement élevée comparée à d'autres huiles.. Parmi les huiles les plus riches, on trouve l'huile de soja avec une teneur de 3 %.

Une teneur élevée en phosphatides n'est pas souhaitable dans une huile, car la présence des phospholipides confère à l'huile un goût désagréable. En plus, les phosphatides sont souvent liés à des métaux (Fe⁺⁺, Cu⁺⁺) catalyseurs d'oxydation ; ce qui provoque l'acidification de l'huile. Ils sont généralement diminués par le raffinage à l'état de traces, au cours des opérations de démulcination et de neutralisation

III.2. La teneur en insaponifiables

Les teneurs en composés insaponifiables de l'huile de graines de *Pinus pinea*, en comparaison à d'autres huiles, sont données dans le **tableau 16**

Nos résultats restent dans les normes car la teneur en insaponifiable des corps gras naturels est généralement faible et elle est généralement comprise entre 0.3 et 1.5% (KARLESKIND, 1992).

Tableau 16 : Les teneurs en composés mineurs de l'huile de graines de *Pinus pinea* comparées à d'autres huiles alimentaires conventionnelles

Auteurs	Teneur (%) insaponifiable	Teneur(%) phosphatides
<i>Pinus pinea</i>		
Résultats obtenus	1.7	2,6
Olive(Aberkan ,1992)	1.5	Faible
Sesame (Tir, 2005)	1.69	0.92
Soja	-	3
Arachide (Chahdane,1998)	0.7	2.5

III.4. Le profil en acides gras

La composition en acides gras de notre huile déterminée par (C.P.G) (**Figure 20**) est donnée dans le **tableau 17**

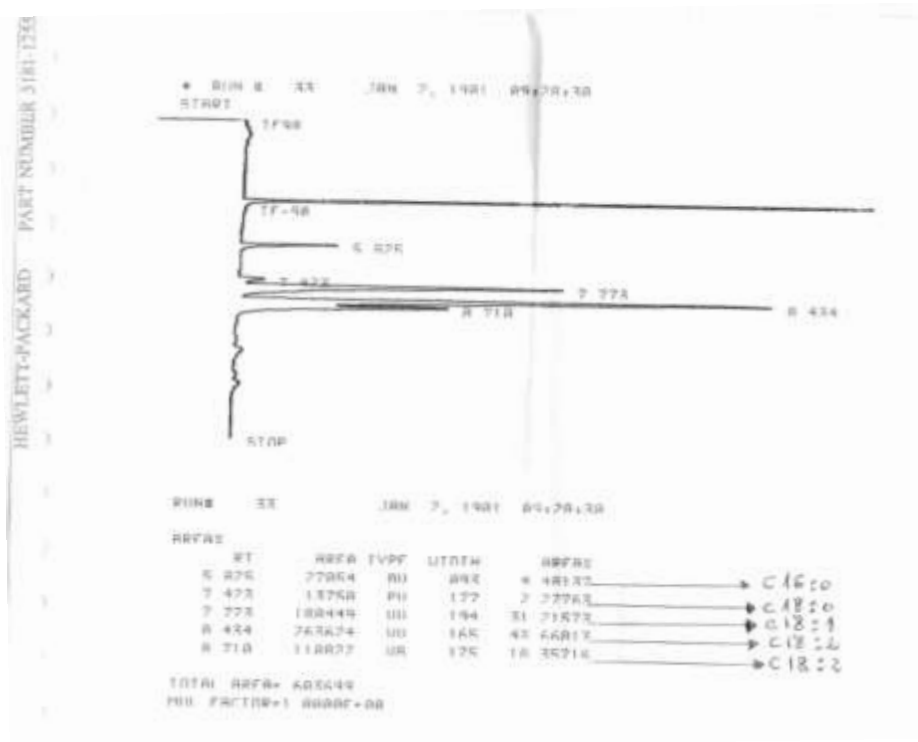


Figure 20 : La composition en acides gras de notre huile déterminée par (C.P.G)

Tableau 17 : Composition en acides gras de l'huile de graines de *Pinus pinea* exprimée en % des acides gras totaux

Acides gras	Dénomination	% Acides gras totaux
C16:0	Acide Palmitique	4.48 %
C16:1ω7	Acide Palmitoléique	-
C18:0	Acide Stéarique	2.27 %
C18:1ω9	Acide Oléique	31.21 %
C18:2 ω6	Acide Linoléique	43.66 %
C18:2 ω6	Acide Linoléique (Trans)	1,83 %
C18:3 ω3	Acide Linoléique	Traces

Σ Acides gras saturés AGS	6,75
Σ Acides gras insaturés AGI	76,7
Σ Acides gras mono insaturés AGMI	31,21
Acides gras polyinsaturés AGPI	45,49
AGI / AGS	11,36

Le somme totale en acides gras saturés : acide palmitique (C16 :0), acide stéarique (C 18 :0), est de 6. 75 %.

La somme totale en AGS trouvée dans l'huile de pin pignon est inférieure à celle trouvée dans l'huile d'olive qui est de l'ordre de (15, 3 %) (DUBOIS et al, 2007).

Outre le rôle énergétique des acides gras saturés dans la cellule animale, les acides gras saturés sont difficilement digestibles et constituent un facteur de risque pour la santé, car ils sont des agents des maladies cardio-vasculaires.

L'huile de pin pignon est une très bonne source d'AGI (acides gras insaturés) avec une teneur de l'ordre de 76. 16 % dont l'acide linoléique (C18:2) w6 de l'acide gras insaturé prédominant avec une teneur de l'ordre de 43,66 %. Ce dernier résultat permet de classer l'huile de pin pignon dans la catégorie des huiles linoléiques riche w6 au même titre que les huiles conventionnelles tel que l'huile de maïs avec une valeur de 34-65 % (CODEX ALIMENTARIUS,1992)

Les acides gras oméga-6 sont dits essentiels car ils sont nécessaires pour l'organisme, qui ne peut pas les synthétiser. Des doses excessives sont cependant à éviter, l'important étant le rapport oméga 3 sur oméga 6, celui de 1 à 5 étant conseillé, celui de 1 à 18 constaté en Europe nocif. Outre l'apport énergétique comme tout lipide, les oméga-6 servent également de précurseurs (en fait essentiellement l'[acide arachidonique](#)) d'un certain nombre de molécules comme la [prostaglandine E₂](#), la [prostacycline](#), le [thromboxane A₂](#) ou le [leucotriène B₄](#). Ces molécules ont un rôle dans l'[inflammation](#), sur le muscle lisse des vaisseaux sanguins (vasomotricité) ou sur l'[agrégation des plaquettes](#) intervenant dans la formation de caillot.

L'acide linoléique est un acide gras essentiel polyinsaturé qui intervient dans la fabrication de la membrane cellulaire.

Les symptômes de carence en acide cis-linoléique sont :

- sécheresse de la peau avec desquamation ;
- soif intense ;
- déficit immunitaire ;
- allergie.

Le principal effet des AGPI n-6 sur les lipides sanguins est de baisser le taux de cholestérol, et particulièrement le cholestérol LDL, tandis que l'effet de la série n-3 est de baisser les concentrations plasmatiques en TG en diminuant les niveaux de VLDL (**NAPOLITANO et al ,2004**).

Les apports nécessaires recommandés en oméga-3 et 6 sont de 2 grammes/jour alors que la consommation moyenne est de 0,8 g .

La somme totale en AGI trouvée dans huile Pin pignon (76,7 %) est inférieure à celle trouvée dans l'huile d'olive qui est de l'ordre de (83, 8 %) (**DUBOIS et al, 2007**).

Les AGMI (acides gras mono insaturés) trouvée dans notre huile (31,21 %) sont représentés essentiellement par l'acide oléique (24,46%).

Actuellement, l'acide oléique est impliqué dans de multiples mécanismes et présente des propriétés thérapeutiques dans la prévention des maladies cardiovasculaires en intervenant au niveau du contrôle des concentrations sériques des lipoprotéines.

Les régimes riches en acide oléique entraînent une baisse du cholestérol LDL sans abaissement du cholestérol HDL. Il en résulte une augmentation du rapport cholestérol HDL /cholestérol LDL.

Des études réalisées un peu partout dans le monde ont démontré que les acides gras mono insaturés présentent un effet presque identique aux acides gras poly insaturés sur les niveaux du cholestérol total, mais surtout que leur consommation est associée à un effet protecteur sur la mortalité coronarienne.

Cependant, malgré l'action rapide et efficace des acides gras polyinsaturés, ces derniers peuvent faire l'objet de la formation de radicaux libres et réagir avec l'oxygène pour donner lieu à des radicaux libres peroxydés .Ce processus radicalaire peut provoquer, au niveau vasculaire, une altération de l'endothélium des vaisseaux, une augmentation de l'agrégabilité plaquettaire et la formation de LDL modifiées, cytotoxiques et athérogènes.

Ainsi, l'impact de l'acide oléique dans le cadre des maladies cardiovasculaires et notamment dans le cas de l'athérosclérose, est principalement lié à la régulation des LDL plasmatiques, de leur contenu en cholestérol et de leur oxydabilité.

Le pourcentage élevé en acide linoléique dans l'huile de pin maritime la rend indésirable et moins souhaitable en termes d'applications culinaires, en conférant à celle-ci une faible tenue et une très grande instabilité à la friture, car elle s'oxyde plus rapidement que les autres huiles pauvres en acides gras polyinsaturés (huile d'olive).

Aussi, on note la présence d'une quantité insignifiante d'acides gras trans AGT (1,83 %) (Acide linoléique trans (C 18 :2 t) dans notre huile; ceci peut être dû à la température appliquée durant l'extraction.

Les AGT (acides gras trans) sont produits technologiquement lors l'hydrogénation partielle des huiles induit par le chauffage avec des niveaux n'excédant pas les 2 %. Cependant certains auteurs ont rapporté la présence d'une quantité insignifiante d'acides gras trans représentés essentiellement par l'acide linoléique trans –trans dans l'huile fraîche du pin d'Alep (*Pinus halepensis*) (n'ayant pas subi de processus d'hydrogénation ni action de chauffage). **(DHIBI et al, 2012)**

Pour des niveaux élevés de consommation, les AGT (acides gras trans) augmentent les LDL-cholestérol tout comme les acides gras saturés, mais montrent également une tendance à faire baisser les HDL-cholestérol.

Les études prospectives conduites aux USA et en Europe du Nord ont montré une association positive entre le niveau de consommation d'AGT (compris entre 1,3 % et 6,4 % AET) et le risque de présenter un événement cardiovasculaire.

L'huile de graines de *Pinus pinea* contient aussi des acides gras insaturés dits non usuels en l'occurrence les acides delta5-oléfiniques. Cette espèce qui croît en de nombreux pays autour de la mer Méditerranée, et exploitée pour la production de pignons utilisés à des fins culinaires ou pour la production d'une huile ayant des applications cosmétiques. On peut assez aisément se procurer de telles graines, mais elles sont malheureusement peu intéressantes comme source d'acides delta5-oléfiniques (moins de 4% des acides gras totaux). *Pinus pinea* est à cet égard une exception dans le genre *Pinus*, voire dans la famille des *Pinaceae*. Parmi la trentaine d'espèces de *Pinus* analysées à ce jour, les graines de *pinus pinaster* sont les plus riches en acides delta5-oléfiniques et contient à la fois de l'acide pinolénique (5,9, 12-18 :3) et de l'acide sciadonique (5, 11,14-20 :3) (environ 7 à 8% de chaque par rapport aux acides gras totaux), et pratiquement pas d'acide alpha-linolénique

Cependant ,dans une étude sur la caractérisation de l'enzyme Δ 5-désaturase isolée à partir d'un champignon oléagineux (*Pythium irregulare*), on a démontré que cette enzyme est active chez les plantes oléagineuses , et peut être exprimée aussi chez la levure (*Saccharomyces cerevisiae*)

et utilisée ainsi à une large échelle de production d'acides delta5-oléfiniques par les plantes (**HONG et al,2002**).

D'autres part plusieurs études ont souligné l'importance des delta5-oléfiniques utilisés comme marqueurs taxonomiques et phylogéniques des différents genres de pincés. (**WOLF et al,2001**) (**WOLF et al, 2000**)

Malheureusement dans notre cas ces acides gras non usuels n'ont pas pu être détectés lors de l'analyse du profil en acides gras par CPG (chromatographie en phase gazeuses) par manque de standards ainsi que la non disponibilité d'un détecteur puissant tel que le détecteur a spectroscopie de masse MS voire MS/MS ou bien l'utilisation de la résonance magnétique nucléaire (C 13).

Pour des raisons évidentes de difficultés d'approvisionnement en huiles de graines de conifères, peu d'attention a été portée jusqu'à présent aux effets physiologiques ou biochimiques des acides delta5-oléfiniques végétaux. Toutefois, on sait que l'existence d'une telle double liaison dans un acide gras polyinsaturé peut être une caractéristique structurale importante pour l'acylation, chez l'animal, de certains phospholipides, tel le phosphatidylinositol (**WOLF et al, 1996**). On notera également avec intérêt la grande analogie structurale qui existe entre certains acides delta5-oléfiniques (les acides 5,11,14-20:3 et 5,11,14,17-20:4) et les acides arachidonique (5,8,11,14-20:4) et eicosapentaénoïque (5,8,11,14,17-20:5), seule la double liaison en delta8 faisant défaut aux premiers. C'est probablement en raison de telles analogies que peuvent s'expliquer les résultats de Berger et German (**WOLF et al, 1996**), qui ont observé que l'acide 5,11,14-20:3, présent dans l'huile de graines de *Biota orientalis* (thuya oriental, une espèce de *Cupressaceae* de Chine et de Corée), pouvait se substituer à l'acide arachidonique dans le phosphatidylinositol de foie de souris, et d'autres organes aussi. Peut-être conséquence de cette substitution, ces mêmes auteurs ont noté une altération dans la production de 12-hydroxyeicosatétraénoate dérivé de l'acide arachidonique dans des homogénats de poumons de souris nourries avec de l'huile de *B. orientalis*. Les effets de cette huile ne s'arrêtent pas là. Administrée à des rats en supplément alimentaire (**WOLF et al ,1968**), elle réduit le taux de cholestérol plasmatique, le taux de cholestérol dans les *high-density lipoproteins*, les triacylglycérols et phospholipides plasmatiques. Elle réduit également considérablement le taux de triacylglycérols hépatiques, et diminue la synthèse de PGI₂ par l'aorte, en comparaison d'un régime riche en acide linoléique. (**WOLFF et al, 1997**)

Un effet hypocholestérolémiant d'un autre acide delta5-oléfinique, l'acide 5,9,12-18:3, que l'on rencontre en abondance dans l'huile de graines de *P. koraiensis* (pin de Corée), a été observé par

Sugano *et al.* [16]. Cet effet était intermédiaire entre ceux des acides linoléique et alpha-linolénique. Cette huile tendait également à faire baisser les taux de triacylglycérols et de phospholipides plasmatiques, de même que la teneur en triacylglycérols du foie. L'acide pinolénique accroît la production de prostacycline et diminue l'agrégation plaquettaire si on le compare à l'acide linoléique. Cette huile a aussi comme propriété de réduire l'élévation de la pression sanguine. À partir de ces quelques rares études, les résultats suggèrent des effets bénéfiques des huiles de graines de conifères sur de multiples variables lipidiques. **(WOLF et al, 1997)**

L'effet hypolipidémiant et hypocholestérolémiant de l'huile de graines de *pinus pinea* à été démontré lors d'une étude sur rats supplémentés avec des graines de *pinus pinea* dans un régime hyperlipidique riche en cholestérol, les auteurs ont conclues que la prise de graines de *pinus pinea* par des rats augmentait la réduction des profils lipidiques et notamment les lipoprotéines cholestérol ainsi les enzymes hépatiques telles que les . On note aussi dans cette étude que cet effet favorable sur les paramètres lipidiques est associé à une diminution de la prise alimentaire sans changement dans le poids corporel. **(REZQ et al,2011)**

*Conclusion
Générale et
Perspectives*

Conclusion générale et perspectives

Le présent travail constitue une contribution à une meilleure connaissance de l'huile de graines de *Pinus pinea* afin de promouvoir sa mise en valeur.

L'analyse biochimique de la graine a donné les résultats suivants : une teneur en humidité de 5,3 %, 4,4 % de cendres, 31,3 % de protéines, 38,63 % de matières grasses, 3,9 % de fibres, 16,47 % en sucres totaux. Ces teneurs sont conformes à celles signalées dans la bibliographie

La teneur relativement faible en humidité 5,3% permet d'abaisser l'activité de l'eau et d'assurer un bon stockage des graines.

Le pourcentage élevé en matière grasse trouvé dans les graines de *Pinus pinea* fait de cette dernière un important potentiel dans les industries des huiles.

La richesse de la graine en protéines fait de cette dernière une très bonne source en protéines qui peut être ajoutée comme complément alimentaire.

Le rendement d'extraction de l'huile par la méthode (Soxhlet) en utilisant l'hexane comme solvant est de l'ordre de 38,63 %. Le rendement d'extraction d'une l'huile varie selon la méthode et le solvant utilisé. La valeur obtenue est conforme à celles citées dans la littérature.

Les valeurs obtenues pour les différents indices physico-chimiques sont conformes à celles citées dans la littérature caractérisant les huiles végétales. Ces valeurs ont permis de classer l'huile de pin pignon parmi les huiles demi-siccatives avec un indice de réfraction de l'ordre 1,4772. La densité de notre huile est de l'ordre de 0,925.

L'huile de pin pignon présente des teneurs relativement faibles en indice d'acide (2,3 mg/g de l'huile) et en indice de peroxyde (6,42 meq O₂/Kg de l'huile) ; ce qui lui permet de mieux résister à l'oxydation. Les valeurs d'indice d'iode et de saponification trouvées sont respectivement 103,65 (g/100 g 'huile) et 183,95 (mg de KOH /g d'huile).

L'analyse du profil en acides gras par CPG/FID met en évidence la richesse de l'huile en acides gras insaturés (76,7%) dont l'acide linoléique est prédominant avec une teneur moyenne de 43,66 % suivi de l'acide oléique avec une valeur de l'ordre de 31,21 %. En revanche, le contenu en acides gras saturés est faible de l'ordre de 6,75 %, représenté principalement par l'acide palmitique (C16 :0) (4,48%) et l'acide stéarique (C18 :0) (2,27%). D'autre part, les acides gras polyinsaturés W3 (acide linoléique) sont présents à l'état de traces .

La même analyse a révélé la présence d'acides gras insaturés trans représentés par l'acide linoléique trans-trans à des niveaux très bas (1,83 %) ceci peut être dû à la température appliquée durant l'extraction ou bien à une présence naturelle de ces acides gras dans l'huile fraîche .

L'acide oléique présent dans l'huile de pin pignon lui confère des propriétés nutritionnelles et technologiques assez intéressantes notamment en termes d'action favorable exercés par les acide gras monoinsaturés sur l'évacuation du cholestérol.

Bien que la présence d'une grande quantité d'acide linoléique dans notre huile la rend plus sensible à la peroxydation, lipidique , en outre, les acides gras mono saturés confèrent à l'huile une certaine stabilité oxydative durant les applications culinaires de fritures .

D'autres parts l'acide linoléique (oméga-6), acide gras essentiel pour l'organisme qui ne peut pas le synthétiser a comme principal effet de baisser le taux de cholestérol LDL ainsi que d'être le précurseur de molécules hautement actives (écosanoides) responsables des réactions de l'inflammation, et l'agrégation plaquettaire .

L'analyse du profil en acides gras par CPG/FID de l'huile n'a pas pu malheureusement détecter (par manque de standards ainsi que la non disponibilité d'un détecteur puissant) les acides delta5-oléfiniques. Ces acides gras polyméthylènes insaturés dits non usuels sont des composés caractéristiques et systématiques des huiles de graines gymnospermes et particulièrement des conifères et présentent des effets bénéfiques sur la santé ainsi que des attributs nutritionnels et thérapeutiques très intéressants notamment en altérant favorablement le métabolisme et les différentes variables lipidiques (baisse de cholestérol, triglycérides, VLDL, ainsi qu'un effet sur les différentes apo-lipoprotéines)

Le dosage des composés mineurs a montré une valeur de l'ordre de 1,7 % en insaponifiable et une valeur élevée en phosphatides (2,6 %) .

Une teneur élevée en phosphatides n'est pas souhaitable dans une huile. En effet, les phosphatides confèrent à l'huile un goût désagréable. Ils sont souvent liés à des métaux catalyseurs d'oxydation. Ils sont généralement diminués par le raffinage à l'état de traces au cours des opérations de démulcination et de neutralisation.

Afin que cette étude sur l'huile de graines de *Pinus pinea* soit complétée et approfondie, des travaux complémentaires sont nécessaires tels que :

- Etude de la fraction insaponifiable de l'huile (tocophérols, stérols, hydrocarbure..) ainsi que la teneur en cires.
- Etude de la fraction phénolique de l'huile
- Etude des composés antinutritionnels de la graine.
- Etude de la stabilité de l'huile durant le stockage.
- Etude de la stabilité thermique durant les applications de fritures
- Essai d'incorporation de cette huile dans les produits cosmétiques

Référence
Bibliographique

Références bibliographiques

1. **ABERKANE F.** Contribution à l'étude biochimique et organoleptique des huiles d'olive vierges Algériennes. **TH...ING, INA El-Harrach, Alger**, 1992, p45.
2. **ADRIAN J. et JACQUOT R.** Valeur alimentaire de l'arachide et de ses dérivés. 1968. Maisson neuve et la rose, Paris, p 274.
3. **AGADIR A. et DEMDOUM O.** Etude sur l'amélioration de la Stabilité des huiles et protection contre l'oxydation. Thèse. Ing. USTHB, 1990.
4. **ALAIS C, LINDEN G**, 1997. Lipides, vitamines in Abrégé de biochimie alimentaire. Ed Masson, Paris : 70p, 112p.
5. **ALAIS CETAL**, (2003) Biochimie alimentaire. 5^{ème} édition. Bunod. Paris. P 250.
6. **AMMOUCHE A**, Lipides alimentaires et maladies métaboliques (Cours destinés aux Post- graduants. 2001, pp 2-4.
7. **ANDREO A.I., DOVAL M.M., ROMERO A.M., JUDIS M.A.**, 2003. Influence of heating time and oxygen availability on lipid oxidation in meat emulsion. Journal of lipid technology. P.105-207-213.
8. **APFELBAUM M, FORRA C, NILLUS P**, 1999 . Aliments diététiques et technologies particulières, lipides d'assaisonnement in Diététique et nutrition. Ed Masson, Paris : 459p, 336p.
9. **APRIA.** Utilisation des déchets végétaux. **ASS.** Prom. Ind. Agr., Ed Paris. 1969, pp. 115-139.
10. **ARMSTRONG, G.A.** (1994) Eubacteriashow their true colors : genetics of carotenoid pigment biosynthesis from microbes to plants. J. Bacteriol. 176, 4795-4802.
11. **ASSET G., BART STAELS B., WOLFF R .L .** , Baugé E., Madj Z., Fruchart J. C., Dallongeville J. Effects of *Pinus pinaster* and *Pinus koraiensis* Seed Oil Supplementation on Lipoprotein Metabolism in the Rat. Lipids ,2002, Volume 34, NO. 1, pp. 39–44.
12. **ASSET G., BAUGÉ E., WOLFF R .L .** , Fruchart J. C., Dallongeville J. Effects of dietary maritime pine seed oil on lipoprotein metabolism and atherosclerosis development in mice expressing human apolipoprotein B. European Journal of Nutrition,2001, Vol. 40, Number 6, pp. 268–274.

13. **ASSET G., BAUGÉ E., WOLFF R.L .,** Fruchart J. C., Dallongeville J Comparison of maritime pine oil and fish oil effects on plasma lipoproteins in apolipoprotein E-deficient mice. *Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids*, 2000, Volume 62, NO 5, pp. 307–310.
14. **ASSIS JACQUES R., DOS SANTOS FREITAS L.,** Flores Perez V., Dariva C., de Oliveira A.P., de Oliveira J.V., Bastos Caramao E. The use of ultrasound in the extraction of *Ilex paraguariensis* leaves:A comparison with maceration. *Ultrasonics Sonochemistry*, 2007, Volume 14, Issue 1, pp. 6-12.
15. **BEAUFRAND M , DEBRY G,** 1979. Technologie industrielle de conservation des valeurs hygiéniques et nutritionnelle des aliments in *Nutrition métabolique et diététique* 2eme édition Flammarion : 319p.
16. **BEN ALDJIA M., BICHARI S.** Contribution à l'étude de quelques facteurs influançant l'extraction de l'huile d'argan (*Argania spinosa* : (L) skeels) par voie chimique et physiques. Th.ing, INA El-Harrach, Alger, 2005, p49.
17. **BOCKISCH, M. 1993. FATS and oils Handbook.** AOCS press. Illinois, États-Unis. 838 p.
18. **BOURRE J.M., DUMONT O.,DURAND G.** Effet-dose de l'acide oléique alimentaire. Cet acide est-il conditionnellement essentiel Oléagineux, *Corps Gras, Lipides*. 2000, Volume 7, Numéro 6, pp .524-30.
19. **BRIMBERG U.I et EILDIN K.A., 2003.** On the kinetics of autoxidation of fats : influence of pro-oxidants, antioxidants and synergists. *Journal of lipid technology*. P.83-91.
20. **BRITTON G, LIAEN-JENSEN S, PFANDER H.** Carotenoids, isolation and analysis. Britton G Ed. 1995 ; vol 1A, Birkhäuser, Bâle, 27-69.
21. **CAUSRET J.** Chauffage des corps gras et risque de toxicité. **CAH .NUT et DIET, 1982**, vol XVII, n° 1, pp. 19-33.
22. **CHAHDANE F., KARTOUT A. 1998.** Etude des caractéristiques physico-chimiques des deux types d'huile d'arachide, importée et locale. Th.ing, INA El-Harrach, Alger, 1998, p83.

23. **CHAVANCE. M., HERBERT. B., FOURNIER. C.,** Janot. C., Vernhes. G., 1989. Vitamin status, immunity, and infections in an elderly population. *Eur J Clin Nutr* 43, 825-37.
24. **-CHEFTEL J.C ET CHEFTEL H.** Introduction à la biochimie et à la technologie des aliments. Technique et documentation Lavoisier, 4^{ème} édition, 1984, Vol 1, p.381.
25. **CHEFTEL J.C .** Introduction à la biochimie et à la technologie des aliments Paris, 1980, Tome 1 et 2.
26. **CHEIKH-ROUHOUS, Besbes S, Lognay G, Blecker C, Deroanne C, Attia H .** Sterol composition of black cumin (*Nigella sativa* L.) and Aleppo pine (*Pinus halepensis* Mill.) seed oils. *J Food Compost Anal*, 2008, Vol. 21, Num.2, pp.162–168.
27. **CHEN L ., HU J.Y.,** Wang S.Q.The role of antioxidants in photoprotection.*J .Am .Acad.Dermatol* ,2012 Vol. 67, No. 5, pp. 1013-1024.
28. **CHEN S-J. , HUANG W-C. , YANG T-T. ,** Lu J-H. , Chuang L-T.Incorporation of sciadonic acid into cellular phospholipids reduces pro-inflammatory mediators in murine macrophages through NF-Kb and MAPK signaling pathways. *Food and Chemical Toxicology* ,2012, Volume 50, pp. 3687–3695.
29. **CHEN S-J., HSU C-H. , LI C-W ., LU J-H.,** Chuang L-T.Pinolenic acid inhibits human breast cancer MDA-MB-231 cell metastasis in vitro. *Food Chemistry*, 2011, Volume 126, pp. 1708-1715.
30. **CHO KJ, YUN CH, PACKER L, CHUNG AS.** Inhibition mechanisms of bioflavonoids extracted from the bark of *Pinus maritima* on the expression of proinflammatory cytokines. *Ann NY Acad Sci* ,2001, 928: pp.141-156.
31. **CHOUANA T., DEBBOU A.** Extraction et caractérisation biochimique de l'huile d'argan (*Arganai Spinosa*) .Th. ing,INA EL – Harrach , Alger ,p63.
32. **CHOUDA M, JANKOWSKI W .** The occurrence of polyprenols in seeds and leaves of woody plants. *Acta Biochim Pol*,2005, Vol.52, Num.1, pp.243–253.
33. **CLARK. J.,** 1996. Tocopherols and sterols from soybeans. *Lipid technol.* 8:111-14.
34. **CLAUDE BOURGEOIS.** Les vitamines dans les industries agroalimentaires. 2003, Editions TEC & DOC, pages 11, 74, 86 - 90, 274 - 277, 636 - 656.
35. **CODEX ALIMENTARIUS, FATS,** Oils and related products, Vol 8, 1992.

36. **COGNY. A, PAUL. J.L., SONI. T., ATGER. V, MOATTI. N.,**1994. Vitamine E: métabolisme et rôle dans l'athérosclérose. *Ann Biol Clin* 52, 515-522.
37. **CONIFER SEED OILS:** Distribution of A5 Acids Between and 13 Chains by ¹³C Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy.
38. **CROUZET J.,** 1998. Arômes alimentaires, *Technique de l'ingénieur*, P.8.
39. **CUVELIER C., DOTREPPE O., ISTASSE L.,** 2003. Chimie, sources alimentaires et dosage de la vitamine E *Ann. Méd. Vét.* 147, 315-324.
40. **DAE-SUP. P., CHOI. S.Z., RAN. K.K., MEE. L.S., RO. L.K., SUHKNEUNG. P.,** 2004: Immunomodulatory activity of triterpenes and phenolic compounds from *Viscum album L.* *Journal of Applied Pharmacology* 11(1), 1-4.
41. **DENIS J.** Le raffinage des corps gras. Edition Westhoek, 1983.
42. **DENISE J.,** Raffinage des corps gras. Edition westhock, les éditions effrois, 1992.
43. **DESAGHER, S.** (1998). Métabolisme, édition : Ellipses, Marketing : 41p.
44. **DESPIAU C.** Les solvants d'extraction : Deux aspects technologiques et économiques. Incidences sur le choix du solvant. *Revue française de corps gras*, Paris, 1978, vol 25, n°1, pp . 7 – 9.
45. **DHIBI M., ISSAOUI M., BRAHMI F.,** Mechri B., Mnari A., Cheraif I., Skhiri F., Gazzah N., Hammami M. Nutritional quality of fresh and heated Aleppo pine (*Pinus halepensis* Mill.) seed oil: *trans*-fatty acid isomers profiles and antioxidant properties. *Journal of Food Science and Technology*, 2012,
46. **DUBOIS V., BRETON S .,** Linder M., Fanni J ., Parmentier M . Fatty acid profiles of 80 vegetable oils with regard to their nutritional potential. *European Journal of Lipid Science and Technology* , 2007, Volume 109 ,Issue 7, pp. 710 – 732.
47. **EINERHAND, C. SCOTT, H.G. KEIZER AND L. I.** Mennen. *Lipids in Health and Disease* 2008, 7:10.
48. **EVARISTO I., BATISTA D., CORREIA I., CORREIA P., COSTA R.** Chemical profiling of Portuguese *Pinus pinea L.* nuts. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 2010, Vol.90 ,Num.6 ,pp. 1041-1049.

49. **EVARD J.** Les perspectives techniques d'évolution pour les tourteaux d'oléagineux que permet la Technologie Rev. Franc. Des corps gras, 1992, vol 29, No.10, pp.379-383.
50. **EYMARD S.**, 2003. Mise en évidence et suivi de l'oxydation des lipides au cours de la conservation et de la transformation du chinchard (*Trachurus trachuru*) : choix des procédés. Thèse doctoral, école polytechnique de l'université de Nantes, France. 217P.
51. **FAUR L.** Influence des traitements de Raffinage et de transformation sur la qualité et la stabilité des corps gras. Rev. Fr. des corps gras, 1989, Vol. 36, N° 3, pp.155-170.
52. **FAVIER .A** , le stress oxydant : intérêt de sa mise en évidence en biologie médicale et problèmes posés par le choix de marqueurs, Ann. Biol. Clin. 1997, 55:9-16.
53. **FISK W.A., AGBAI O., LEV-TOV H.A., Sivamani R.K.** The use of botanically derived agents for hyperpigmentation. J .Am .Acad.Dermatol ,2013 Vol. 70, No. 2, pp. 352-365.
54. **FRANÇOIS, R:** Les industries des corps gras : biochimie, extraction, raffinage, nuisance et réglementation. Paris, Lavoisier, 1974.P 36 – 53. ISBN :2.88020.007.5.
55. **FRANÇOIS. R** , 1974. Généralités, huilerie in les industries des corps gras. Ed Tec & Doc, Lavoisier : 32p, 42p , 43p, 132p, 139p -141p, 164p, 192p .
56. **FRANKEL E.N.**, 1998. Antioxydants in lipids and their impact on the food quality. 1996. Food chemistry 57. P.51-55.
57. **FRENOT M et VIERLING E**, (2001) Biochimie des aliments. Diététique du sujet bien portant. Ed : Doin éditeurs, centre régional de documentation pédagogique d'Aquitaine. Bordeaux. P297.
58. **FULLBROOK P.D.**, The use of enzymes in the processing of oil seeds J.A.O.C.S.1983, Vol .60, N°2, Février, pp. 476-479.
59. **GAIGNAUT. J.C., BITDET. D., GAILLARD. M., J. Perronnet. J.**, 1989. Stéroïls et Stéroïdes, Partie _, Paris, 11-35.
60. **GENOT C., MEYNIER A., RIAUBLANC A., CHOBERT J.M.**, 2003. Protein alterations due to lipid oxidation in multiphase systems : lipid oxidation pathways.P.265-292.
61. **GILL A.H** . Pine nut oil. Oil Soap .J Am Oil Chem Soc,1933, Vol.10, Num.1,pp.7–8.

62. **GIOVACCINO L.** L'extraction de l'huile d'olive Rev. Olivae, 1991,Vol ;36,pp. 14-40.
63. **GRIMM, T.** et al. Antioxidant activity and inhibition of matrix metalloproteinases by metabolites of maritime pine bark extract (pycnogenol). Free Rad. Biol. Med. 2009 , Vol.36, pp. 811–822.
64. **GUILLAUMIN R ; et COLL.** Caractéristiques des huiles de soja et d'arachide chauffées. Rev. Fr des corps gras, N°10, 1977, pp. 467-477.
65. **GUNSTONE F.D., WOLFF R .L .** Conifer Seed Oils: Distribution of A5 Acids Between and 13 Chains by 13C Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy . Journal of the American Oil Chemists' Society, 1996, Volume 73, Number 11, pp. 1611-1613.
66. **HONG H., DATLA N., MACKENZIE S.L.,** Qiu X.Isolation and Characterization of a Δ 5 FA Desaturase from *Pythium irregulare* by Heterologous Expression in *Saccharomyces cerevisiae* and Oilseed Crops.Lipids ,2002, Volume 36, NO. 09, pp. 863–868.
67. **HOUSTON H.** Nutraceuticals, Vitamins, Antioxidants, and Minerals in the Prevention and Treatment of Hypertension.Progress in Cardiovascular Disease, 2005, Vol 47, No 6 (May/June), pp 396-449.
68. **HUAN, D.S., WANG. Y, ESKELSON. C.D., WATSON. R.R.,** 1994. Long-term dietary vitamin E retards development of retrovirus-induced dysregulation in cytokine production. Clin. Immunol. Immunopathol. 72, 70-5.
69. **HUGHES .G. M, E. J. BOYLAND, N. J. WILLIAMS, L. MENNEN, C. SCOTT, T. C.** Kirkham, J. A. Harrold, H. G. Keizer and J. Halford. Lipids in Health and Disease2008, 7:6.
70. **IUPAC-IUB..** Nomenclature of Tocopherols and Related Compounds. 1982 International Union of Pure and Applied Chemistry and International Union of Biochemistry and Molecular Biology (IUPAC-IUB). *Pure Appl. Chem.* Vol.54,pp.1507–1510.
71. **JACOBS EJ,** Henion AK, Briggs PJ, Connell CJ, McCullough ML, Jonas CR, Rodriguez C, Calle EE, Thun MJ, 2002. Vitamin C and vitamin E supplement use and bladder cancer mortality in a large cohort of US men and women. American Journal of Epidemiology 156, 1002-10.

72. **JEREZ M., SELGA A., SINEIRO J., TORRES J.L., NUNEZ M.A** .A comparison between bark extracts from *Pinus pinaster* and *Pinus radiata*: Antioxidant activity and procyanidin composition..Food Chemistry,2007, Vol.100, pp. 439–444.
73. **JOANNY MENVIELLE-BOURG F.** Plantes et vieillissement.Phytothérapie ,2005, Numéro 2,pp.57-71.
74. **JUDDE .A** , Prévention de l'oxydation des acides gras dans un produit cosmétique : Mécanismes , conséquences , moyens de mesure, quels antioxydants pour quelles applications ? oclvol. 11 ,2004.
75. **JUDDE A, VILLENEUVE P, et al.** Antioxidant effect of soy lecithins on vegetable oil stability and their synergism with tocopherols.JAOCS, 2003 ; vol. 80, n° 11.
76. **KAHOULI I.**, 2010. Effet antioxydant d'extraits de plantes (*laurus nobilis* L., *rosmarinus officinalis*, *origanum majorana*, *oléa europea* l.) dans l'huile de canola chauffée. Thèse doctorat, université de Laval, Quebec. P.84-95-111.
77. **KAPOOR V.K., DUREJA J .,** Chadha R.Herbals in the control of ageing. Drug Discovery Today, 2009, Volume 14, Numbers 19/20- October, pp .992-998.
78. **KARLESKIND A.,** 1992. Propriétés des corps gras : Manuel des corps gras, Lavoisier, Paris. ISBN 2-85206-662-9. P.12-131.
79. **KARLESKIND A.** Manuel des corps gras. Edition : Lavoisier Tec et Doc, Tome 1 et 2, Paris ,1992.
80. **KUN-YOUNG. P., JUNG. K.O., RHEEA. S.H., YUNG. H.C.,**2003: Antimutagenic effects of doenjang (Korean fermented soypaste) and its active compounds. Mutation Research 523-524.
81. **LACOSTE.,** Dosages des métaux toxiques dans les corps gras. Rev.Fr des corps gras, 1993, n° 1/2.
82. **LANZAFAME F.** Oxidative stress and medical antioxidant: treatment in male infertility. .Reproductive BioMedicine.2009, Vol 19, No 5; pp. 638–659.
83. **LATULLAYE J.,** Intérêt nutritionnel de graines et alimentation humaine, Rev. Fr des corps gras, 1991, N° 9-10, 1991, pp 330-332.
84. **LAVAL J., ARTMANE ET BERGOT C,** .Effet des liquides oléique sur la croissance et la composition du congrès international sur la valeur biologique de l'huile d'olive. Edition Ghjania, Crète, Grèce, Sept 1980, pp 8-12.

85. **LECERF JM, 2007.** Phytostérols et risque cardiovasculaire. *Nutr. Clin. Métab.*21, 17-27.
86. **LINDEN G ET LORIENT D, 1994.** Huiles et graisses végétales in biochimie agro industrielle.Ed Masson :95p.
87. **MARC F., DAVIN A., DELGÈNE B.L., FERRAND C., BACCAUNAUD M., FRITSCH P., 2004.** Méthodes d'évaluation du potentiel d'antioxydant dans les aliments. *Médecine/sciences*, 20. P.458-463.
88. **MATTHAUS B., ÖZCAN M.M.**FATTY acid, tocopherol and sterol contents of forest pine seed oil.*Asian Journal of Chemistry*,2013, Vol.25 ,Num.17,pp.9845-9847.
89. **MONCEF FEKI, MALEK SOUISSI, ABDERRAOUF MEBAZAA. 2001.** La vitamine E : structure, métabolisme et fonctions. *Ann. Med. Interne* 152, 384-391.
90. **MORENO. J., 2003:** Effect of olive oil minor components on oxidative stress and arachidonic acid mobilization and metabolism by macrophages RAW 264.7. *Free Radical Biology and Medicine* 35, 1073-1081.
91. **MORISE A., HERMIER D., COMBE N., LEGRAND P., MOUROT J., FENART E., WEILL P.** Effet de la dose d'acide alpha-linolénique alimentaire sur le métabolisme lipidique. *Oléagineux, Corps Gras, Lipides.* 2005 , Volume 12, Numéro 5, pp.400-6.
92. **NAPOLITANO M., BRAVO E., AVELLA M., CHICO Y., OCHOA B., BOTHAM K.M.,et RIVABENE R .** The fatty acid composition of chylomicron remnants influences their propensity to oxidate. *Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases, Volume 14, 2004, Issue 5, pp. 241-247.*
93. **NAPOLITANO M., BRAVO E., AVELLA M., CHICO Y., OCHOA B., BOTHAM K.M.,et Rivabene R .** The fatty acid composition of chylomicron remnants influences their propensity to oxidate. *Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases, Volume 14, 2004, Issue 5, pp. 241-247.*
94. **NASRI N, FADY B, TRIKI S .** Quantification of sterols and aliphatic alcohols in Mediterranean stone pine (*Pinus pinea* L.) populations. *J Agric Food Chem* ,2007, Vol.55,Num.6,pp.2251–2255.
95. **NASRI N., KHALDI A., FADY B., TRIKI S.FATTY ACIDS FROM SEEDS OF PINUS PINEA L.:** Composition and population profiling. *Phytochemistry* ,2005,Volume 66, pp. 1729–1735.

96. **NASRI N., TLILI N., AMMAR K.B., KHALDI A., FADY B., Triki S.** High tocopherol and triacylglycerol contents in *Pinus pinea* L. seeds. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 2009, Vol.60, Num.1, pp.161-169.
97. **NAUDET M, SOULIER J et FARINES M.** 1992. Principaux constituants chimiques des corps gras. In : **manuel des corps gras**.1. 65-113. ed : techniques et documentation. Londres Paris New York. ISBN : 2-85206-662-9.
98. **NERGIZ C., DONMEZ I.** Chemical composition and nutritive value of *Pinus pinea* L. seeds. *Food Chemistry*, 2004, Volume 86, pp. 365-368.
99. **NESMEY ANOV. A.N., NESMEY ANOV. N.A.,** 1980: Fundamentals of organic chemistry, Vol. 4; Mir Publishers, Moscow.
100. **OBBERGFOLL H-M .** The use of enzymes in the extraction of olive oil. *Oléagineux, Corps Gras, Lipides*. 1997, Volume 4, Numéro 1, pp. 35-7.
101. **OSTLUND RE et LIN X,** 2006. Regulation of cholesterol absorption by phytosterols *Curr. Atheroscler. Rep* 8, 487-91.
102. **OSTLUND RE JR.** Phytosterols and cholesterol metabolism. *Curr Opin Lipidol*. 2004 Feb;15(1):37-41. Review. PubMed PMID: 15166807.
103. **PALLAST. E.G., SCHOUTEN. E.G, DE WAART. F.G,** et al., 1999. Effect of 50- and 100 mg vitamin E supplements on cellular immune function in non-institutionalized elderly persons. *Am. J. Clin. Nutr.* 69, 1273-81.
104. **PAQUET C.** Etude comparée de quelques anti-oxygénés commerciaux, 13^{ème} année, *Rev. Fr des corps gras*, 1958, N°2, Fév., pp.243.
105. **PAQUET C.** Etude comparée de quelques anti-oxygénés commerciaux, 13^{ème} année, *Rev. Fr des corps gras*, 1958, N°2, Fév., pp.243.
106. **PASMAN .J, W. J. , HEIMERIKX, C. M.** Rubingh, R. Berg, M. O'Shea, L. Gambelli, H. FJ Hendriks, A.
107. **PASQUIER E ., RATNAYAKE W.M.N., WOLFF R .L.** Effects of $\Delta 5$ Polyunsaturated Fatty Acids of Maritime Pine (*Pinus pinaster*) Seed Oil on the Fatty Acid Profile of the Developing Brain of Rats. *Lipids*, 2001, Volume 36, NO. 06, pp. 567–574.
108. **PLANTS. ACTA BIOCHIM POL,** 2005, Vol.52, Num.1, pp.243–253.

109. **PRE. J**,1993: Radicaux libres et peroxydation lipidique. II Aspects physiopathologiques. Sem. Hôp. Paris 69, 29-39.
110. **REZQ A.A.. EL-KHAMISY A .E.** Hypolipideimic and Hypocholestermic Effect of Pine Nuts in Rats Fed High Fat, Cholesterol-Diet. World Applied Sciences Journal,2011,Vol.15, No 12, pp. 1667-1677.
111. **ROSEFF SJ** .Improvement in sperm quality and function with French maritime pine tree bark extract. The Journal of Reproductive Medicine, 2002 Vol.47, pp.821–824.
112. **RUGGERI, S., CAPPELLONI, M., GAMBELLI, L., NICOLI, S., & CARNOVALE, E.** Chemical composition and nutritive value of nuts grown in Italy. Italian Journal of Food Science, 1998,Vol.10,Num.3, pp.243–252.
113. **RUIZ-GUTIÉRREZ V., PÉREZ-CAMINO M.C.** Update on solid-phase extraction for the analysis of lipid classes and related compounds. *Journal of Chromatography A*, 2000 ,Volume 885, Issues 1-2, pp. 321-341.
114. **SAVAGE, G. P.** Chemical composition of wallnuts (*Juglans regia* L.) grown in New Zealand. Plants Foods for Human Nutrition, 2001, Vol.56,pp.75–82.
115. **SIES. H., STALL. W, SUNDQUIST. A.R.**, 1992. Antioxidant functions of vitamins. Vitamin E and C, betacarotene and other carotenoids. Ann NY Acad Sci USA. 669: 7-20.
116. **SOLINAS M.**, 1992 Les principes d'extraction de l'huile d'olives. Rev. Olivae, N°42, pp : 31-35.
117. **STRYER L., BERG J., TYMOCZKO J.**, 2003. Biochimie. Paris. P.323.ISBN 2-257-17116-0.
118. **SURAI, P.F.**, 2002. **VITAMIN E.** In : Surai P.F., Natural antioxidants in avian nutrition and reproduction. Nottingham University Press: Nottingham, ..., 27-128.
119. **TAKAGI T., ITABACHI Y** .*Cis-5-Oiefinic* Unusual Fatty Acids in Seed Lipids of Gymnospermae and Their Distribution in Triacylglycerols . Lipids ,1982, Volume 17, NO. 10, pp. 716-723.
120. **TANAKA T ., MORISHIGE J., IWAWAKI D., FUKUHARA T., HAMAMURA N., KAORU HIRANO K., OSUMI T., SATOUCHI K.** Metabolic pathway that produces essential fatty acids from polymethylene-interrupted polyunsaturated fatty acids in animal cells. FEBS Journal, 2007, No 274, pp. 2728–2737 .

121. **TANAKA T., UOZUMI S., MORITO K ., OSUMI T ., TOKUMURA A.** Metabolic Conversion of C20 Polymethylene-Interrupted Polyunsaturated Fatty Acids to Essential Fatty Acids. *Lipids*, 2014 , Volume 17, NO. 49, pp. 423-429.
122. **TASAN M., DEMIRCI M.** Total and individual tocopherol contents of sunflower oil at different steps of refining. *European Food Research and Technology*, 2005, Volume 220, Numbers 3-4 .pp. 251-254.
123. **TIR R.** Extraction et analyse de l'huile de graine de Sesame. Th. Mag, USTHB, Bab ezzouar, Alger, 2005, p 122.
124. **TIRITIAUX A ET GIBON VERONIQUE G.** La désodorisation...à la carte. 1997, *O.C.L*, v° 4, n°1, Janvier/Février, pp.45-50.
125. **TRANCHANT J.** Manuel pratique de la chromatographie en phase gazeuse, 4ed, Masson, Paris ,1995.
126. **TREMOLEIRES J et al**, (1980) Manuel d'alimentation humaine. Tome 1 : les bases d'alimentation *Ed : E.S.F. Paris. P 553.*
127. **TUKAN, S.K., AL-ISMAIL, K., AJO, R.Y.,** Al-Dabbas, M.M.Seeds and seed oil compositions of Aleppo Pine [*Pinus halepensis* Mill.) grown in Jordan. *Rivista Italiana delle Sostanze Grasse*. 2013, Volume 73, Issue 2, pp. 87-93.
128. **UZZAN A**, (1992a) « Les corps gras » in **DUPIN H, CUQ J-L, MALEWIAK M-L, LEYNAUD-ROUAUD C et BERTHIER A-M** : Alimentation et nutrition humaine. *Ed : E.S.F. Paris. P 1533.*
129. **UZZAN A**, (1992b) « Fruits oléagineux et leurs huiles : olive et huile d'olive » in **KARLESKIND A** : manuel des corps gras. Tome 1. *Ed : Technique et documentation. Lavoisier. Paris. P 787.*
- 130.**VERLEYEN T., FORCADES M., VERHE R., DEWETTINCK K., HUYGHEBAERT A ET DE GREYT W.** *Analysis of free and esterified sterols in vegetable oils* . *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 2002, Volume 79, *Number 2*, pp .117-122.
- 131.**VIERLING**, (2003) Aliments et boisson. « Filière et produits ». *Ed : Centre régional de documentation pédagogique d'Aquitaine. Bordeaux. P 271.*
- 132.**WANG S., JIANGA L., LI Y., LI D .,**Sui X.Optimization on aqueous enzymatic extraction conditions of pine seed protein by response surface method. *Procedia Engineering*, 2011, Volume 15, pp. 4956 – 4966.

133. **WANG Y, HWANG DC, LICING B, WATSON RR**, 1994. Nutritional status and immune responses in mice with murine AIDS are normalized by vitamin E supplementation. *J Nutr* 124, 2024-32.
134. **W-C. HUANG ., TSAI P-J. , HUANG Y-L. , CHEN S-N. , Chuang L-T.** PGE2 production is suppressed by chemically-synthesized $\Delta 7$ -eicosatrienoic acid in macrophages through the competitive inhibition of COX-2. *Food and Chemical Toxicology* ,2014, Volume 66, pp. 122–1335.
135. **WEIL JH.**, 1995. *Biochimie générale*, 7ème edition, Paris, p239.
136. **WEIL, J-H., BONNET, J., BOULENGER, Y et al.** Structure des lipides. In : *biochimie générale*. 9^{ème} éd. Paris : Dunod, 2001. 267-274p. ISBN : 2-10-0055-739.
137. **WOLFF R .L., DELUC L.G. , MARPEAU A. M.** Conifer Seeds: Oil Content and Fatty Acid Composition. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 1996, Volume 73, Number 6, pp. 765-771.
138. **WOLFF R .L., PÉDRONO F., PASQUIER E., MARPEAU A. M.** General Characteristics of *Pinus* spp. Seed Fatty Acid Compositions, and Importance of $\Delta 5$ -Olefinic Acids in the Taxonomy and Phylogeny of the Genus . *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 2000, Volume 35, Number 01, pp. 1-22.
139. **WOLFF R.L., MARPEAU A.M., GUNSTONE F.D., BEZARD J., FARINES M., MARTIN J-C.,** Dallongeville J..Particularités structurales et physiologiques d'huiles nouvelles, les huiles de graines de conifères.Oléagineux, Corps Gras, Lipides.1997, Volume 4, Numéro 1, pp.65-70.
140. **WOLFF R.L.**SOURCES of 5,11,14-20:3 (sciadonic) Acid, a Structural Analog of Arachidonic Acid. . *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 1998, Volume 75, Number 12, pp. 1901-1902.
141. **WOLFF RL, LAVIALLE O,** Pédrono F, Pasquier E, Deluc LG, Marpeau AM, Aitzetmüller K.Fatty acid composition of Pinaceae as taxonomic markers. *Lipids*, 2001, Vol.36, Nom.5, pp.439-51.
142. **WOLFF (J.P.).-**.,Manueld'analysedes corpsgras.Paris,Azoulay,1968:517p.
143. **WOODSON, K,** Tangre JA, Barret MJ, Virtamo J, Taylor PR, Albanes D., 1999. Serum alpha-tocopherol and subsequent risk of lung cancer among male smokers. *J. Natl. Cancer. Inst.* 91, 1738-43.

144. **YAACOUB .R** , impact nutritionnel et sanitaire de la torréfaction des fruits et graines oléagineux , Thèse doctorat , 2009 , agro paris tech.

145. **YING Z. ZHEN-Y A.**, Xiao-Qang E. Ultrasound- associated extraction of seed oil of Korean pine. Journal of Forestry Research, 005, Volume 62, NO 2, pp. 140-142.

Site :

Anses – Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail.

Référence électronique :

WWW.eet-alcotra.eu

WWW.iterg.com

Annexes



Photo 1 : l'appareille de l'extraction d'huile alimentaire (Soxhlet)



Photo 2 : La farine de graines pinus pinea



Photo 3 : Huile alimentaire extrais de graines Pinus pinea