

CS - 057 90

**UNIVERSITE MARIEN NGOUABI
FACULTE DES SCIENCES**

Année : 2003

N° d'ordre 2752

THESE

Pour obtenir le grade
de Docteur d'Etat de l'Université Marien Nguabi

Domaine

Sciences Exactes, Naturelles et de l'Ingénieur

Spécialité :

Nutrition et Qualité des Aliments

Présentée et soutenue publiquement

Par

KINKELA Thérèse

Le 20 Mars 2003

TITRE

ETUDE DE LA FRACTION TRIGLYCERIDIQUE DE L'HUILE DE SAFOU
(*DACRYODES EDULIS*) ET EVALUATION *IN VITRO* DE SON INTERET
NUTRITIONNEL POUR LES POPULATIONS D'AFRIQUE CENTRALE

Directeurs de Thèse

SILOU Thomas, Professeur Titulaire (CAMES)
ROCQUELIN Gérard, Directeur de Recherche (IRD, France)

JURY

Président : MIALOUNDAMA Fidèle
Membres : SILOU Thomas
KALENDA T Dibungi
KAPSEU César
DIATEWA Martin

Professeur Titulaire
Professeur Titulaire
Professeur
Professeur
Maître de Conférences

***DACRYODES EDULIS* (SAFOUTIER)**



Arbre



Fruits mûrs (au marché)

A la mémoire de :

- *Ma mère NKOUSSOU-SOMPA Suzanne*
- *Mon père NGOMA-MOUKAMBOU Benoît*
- *Mon frère SOMPA Fidèle*
- *Mon frère ZOBÀ Maurice*

A ma sœur SOUNGUI Germaine

A mes nièces et neveux

A mes petites filles et petit-fils

A ma famille MBEMBE

A mon ami BAMANA-OUABATIA Jacques

La richesse des études qui m'était destinée s'est accomplie aujourd'hui.

Que ce travail soit le témoignage de ma profonde et inoubliable affection !

Avant-propos

Ce travail a débuté au Laboratoire de Physiologie Animale et de la Nutrition sous la direction de Monsieur **BEZARD Jean**, Professeur Emérite à la Faculté des Sciences de l'Université de Bourgogne, (Dijon, France). Je tiens à lui exprimer mes sentiments de profonde reconnaissance, un gros merci pour l'intérêt qu'il a toujours porté à ce travail et pour les précieux conseils qu'il n'a cessés de me prodiguer au cours de mes recherches. Sa rigueur scientifique restera à jamais un modèle pour moi.

J'adresse mes remerciements sans fin à Monsieur **SILOU Thomas**, Professeur titulaire à la Faculté des Sciences de l'Université Marien Ngouabi, pour m'avoir fait l'honneur de travailler avec lui en acceptant de diriger les travaux de recherches, sur place au Congo à la Faculté des Sciences, puis dans l'Equipe Pluridisciplinaire de Recherches en Alimentation et Nutrition. Ses conseils, son assiduité et sa rigueur dans le travail font que ce travail puisse être soutenu aujourd'hui. Qu'il soit assuré de ma gratitude et de ma franche collaboration !

Je tiens à remercier Monsieur **ROCQUELIN Gérard**, Directeur de Recherches à l'IRD (Institut pour la Recherche et le Développement) de Montpellier (France), qui a bien voulu accepter de co-diriger ce travail malgré ses multiples occupations. Il n'a cessé de me prodiguer de précieux conseils qui m'ont été d'un grand secours. Sa disponibilité sans faille a permis la réalisation de ce rapport dans les meilleurs délais. Qu'il soit assuré de ma profonde gratitude !

J'adresse mes vifs remerciements à Monsieur **MIALOUNDAMA Fidèle**, Professeur titulaire à la Faculté des Sciences de l'Université Marien Ngouabi, pour l'honneur qu'il me fait en acceptant de présider ce jury ; je tiens à lui exprimer ma sincère gratitude.

Je tiens à exprimer ma sincère gratitude à Monsieur **KALENDA T. Dibungi**, Professeur à l'Université de Kinshasa (République Démocratique du Congo), d'avoir bien voulu examiner ce travail ; ses critiques objectives ne font qu'honorer ma personne. Je lui promets une vive collaboration dans nos recherches.

Mes sincères remerciements vont à Monsieur **KAPSEU César**, Professeur à l'Université de Ngaoundéré au Cameroun, pour avoir accepté de participer au jury malgré ses préoccupations multiples. Je lui garantis une franche collaboration dans nos recherches sur le safou.

Je remercie très sincèrement Monsieur **DIATEWA Martin**, Maître de Conférence à l'Université Marien Ngouabi, d'avoir bien voulu accepter de juger ce travail. Il m'a toujours encouragée dans la réalisation de ce travail.

Ce travail a bénéficié du soutien financier du projet "Aire Développement - EPRANcongo". J'adresse mes sincères remerciements aux responsables de ces deux organismes.

Je remercie également les autorités de l'Université Marien Ngouabi qui n'ont ménagé aucun effort pour la réalisation de ce travail et qui ont programmé la soutenance de ce travail.

Je tiens à remercier de tout mon cœur Monsieur **TCHAPLA Alain**, Professeur à l'Université d'Orsay (France) pour m'avoir accueillie au LETIAM de l'IUT d'Orsay pour étudier la variation quantitative et qualitative intra et inter arbre des huiles de safou. Son accueil très affectif m'a beaucoup marqué et je tiens à lui signifier ma gratitude.

Je remercie aussi très sincèrement Madame **HERON Sylvie**, Maître de Conférence au LETIAM de l'IUT d'Orsay (France) ; avec elle, j'ai appris à confectionner les radar-plots des TAG des huiles de safou ; sa disponibilité et ses conseils ont permis la réalisation des analyses en un temps appréciable pour que ce rapport soit soutenu dans les délais prévus.

J'adresse mes vifs remerciements à Monsieur **PARMENTIER Michel**, Professeur à l'Université de Nancy I qui m'a accueillie dans son laboratoire de Génie Chimique et Industries Alimentaires de l'ENSAIA de Nancy (France) pour faire les extractions des huiles de safou et les analyses quantitatives des TAG et AG. Par la même occasion je

remercie ensuite Madame MAUCOURT et Monsieur MATOUBA Excellent qui ont facilité la réalisation des analyses chromatographiques.

Je remercie Monsieur SEMPORE Georges, Docteur ès Sciences au Laboratoire de Physiologie Animale et de la Nutrition à la Faculté des Sciences de l'Université de Bourgogne, (Dijon, France), avec qui j'ai étudié la purification des TAG des lipides par les méthodes chromatographiques. Qu'il trouve ici le privilège de mon amitié !

Je ne saurais oublier mes collègues et amis de EPRAN avec qui j'ai réalisé ce travail. Qu'ils soient assurés de toute ma reconnaissance et ma disponibilité !

Je remercie très sincèrement mes collègues de la Faculté des Sciences pour leur soutien et leur assistance.

Enfin, je tiens à remercier tous ceux qui ont participé de loin ou de près à la réalisation de ce travail.

SOMMAIRE

	Pages
INTRODUCTION GENERALE.....	12
CHAPITRE I : REVUE DE LA BIBLIOGRAPHIE	
I. LE SAFOUTIER : ELEMENT DE BOTANIQUE.....	15
II. SAFOU : FRUIT DU SAFOUTIER	16
1. Production et pertes post récolte des fruits safous.....	16
1.1. Production des safous.....	16
1.2. Pertes post-récoltes des safous.....	16
2. Commercialisation et consommation des safous.....	17
3. Caractéristiques morphologiques.....	18
4. Composition chimique et nutritionnelle du fruit safou.....	18
5. Huile de la pulpe de safou.....	21
5.1. Mise en place des lipides dans le fruit.....	21
5.2. Extraction de l'huile.....	23
5.3. Propriétés physico-chimiques de l'huile de la pulpe de safou.....	23
5.4. Composition en acides gras.....	27
5.5. Composition et Structure des Triacylglycérols (TAG).....	27
5.5. Teneur et composition de l'insaponifiable.....	27
5.7. Le tourteau : composition et intérêt.....	28
III. INTERET NUTRITIONNEL DES ACIDES GRAS ET DES TAG ALIMENTAIRES	29
1. Nomenclature	29
2. Rôle et fonctions chimiques des acides gras.....	31
3. Structure et importance nutritionnelle des TAG.....	39
3.1. Stéréochimie de la molécule de glycérol et des acylglycérols.....	39
3.2. Importance nutritionnelle des TAG.....	44
IV. METHODES D'ETUDE DES TAG EN VUE DE L'EVALUATION <i>IN VITRO</i> DE L'INTERÊT NUTRITIONNEL.....	46
1. Complexité des mélanges de TAG et méthodes théoriques de détermination de la composition en TAG	46
2. Détermination de la structure des TAG.....	47
3. Détermination de la composition en TAG.....	49

CHAPITRE II : ETUDE *IN VITRO* DE L'INTERET NUTRITIONNEL DE L'HUILE DE LA PULPE DE SAFOU PAR LA DETERMINATION DES ACIDES GRAS EN POSITION INTERNE DANS LES TRIACYLGLYCEROLS

I. POSITION DU PROBLEME	54
II. MATERIELS ET METHODES	55
1. Préparation de la fraction triglycéridique.....	55
1.1. Extraction des lipides totaux.....	55
1.2. Séparation des TAG.....	56
1.2.1. Purification des TAG par chromatographie sur colonne d'acide silicique....	56
1.2.2. Fractionnement des TAG purifiés en fonction de la longueur de la chaîne des acides gras par CLHP sur colonne CH-18 en phase inversée.....	57
1.2.3. Fractionnement des TAG purifiés en fonction de l'insaturation des acides gras par CLHP sur colonne d'acide silicique en présence d'ion Ag ⁺	58
1.2.4. Fractionnement des classes de TAG majeurs purifiés par CLHP CH-18 en phase inversée.....	59
2. Analyse des TAG.....	59
2.1. Lipolyse des TAG.....	59
2.2. Lipolyse des TAG totaux et des fractions issues de la colonne CH-18.....	62
2.3. Séparation des monoacylglycérols et des TAG résiduels.....	62
3. Analyse des acides gras.....	63
3.1. Méthanolyse.....	63
3.2. Analyse des esters méthyliques par chromatographie en phase gazeuse.....	63
4. Calculs.....	64
III. RESULTATS ET DISCUSSION	68
1. Composition en TAG.....	68
2. Composition en sn2-TAG majeurs.....	76
IV. INTERET NUTRITIONNEL DES ACIDES GRAS EN POSITION sn-2 TAG	78
V. CONCLUSION	81

CHAPITRE III : VARIATION QUANTITATIVE ET QUALITATIVE INTRA-ARBRE DES LIPIDES DE LA PULPE ET DE LA GRAINE DE SAFOU (*DACRYODES EDULIS*) EN FONCTION DE L'ORIENTATION GEOGRAPHIQUE DES FRUITS

I. INTRODUCTION	82
II. MATERIEL ET METHODES	83
1. Récolte des échantillons.....	83
2. Grandeurs morphologiques et caractéristiques physiques.....	85
2.1. Grandeurs morphologiques.....	85
2.2. Masse volumique du fruit.....	85
2.3. Masse totale du fruit et masse de la pulpe.....	85
2.4. Teneur en eau.....	85
3. Extraction de l'huile.....	85
4. Détermination de la composition en acides gras.....	86
5. Détermination de la composition en TAG.....	86
5.1. Méthode 1 (quantitative).....	86
5.2. Méthode 2 (qualitative).....	87

III. RESULTATS EXPERIMENTAUX ET DISCUSSION	88
1. Caractéristiques morphologiques et physico-chimiques.....	88
1.1. Grandeurs morphologiques.....	88
1.2. Teneur en eau et teneur en huile.....	89
1.3. Composition en acides gras.....	93
1.4. Composition en TAG.....	94
2. Comparaison de la composition en TAG des huiles extraites des pulpes et graines en fonction de l'orientation géographique des fruits.....	94
2.1. Analyse qualitative.....	94
2.2. Variation de la composition en TAG en fonction de l'orientation.....	100
2.3. Validation de la méthode qualitative.....	104
3. Intérêt nutritionnel.....	105
4. Conclusion.....	106
 CHAPITRE IV : ETUDE DE LA VARIATION QUANTITATIVE ET QUALITATIVE INTER-ARBRE DES LIPIDES DE LA PULPE ET DE LA GRAINE DE SAFOU COMME INDICATEUR DE LA BIODIVERSITE	
I. POSITION DU PROBLEME	107
II. MATERIEL ET METHODES	107
1. Matériel.....	107
2. Méthodes.....	107
III. RESULTATS ET DISCUSSION	109
1. CARACTERISATION DES FRUITS.....	109
1.1. Calibre et catégorie des safous.....	109
1.2. Calibre et catégorie des fruits étudiés.....	110
1.3. Teneur en eau et en huile.....	111
2. Composition chimique de l'huile.....	112
2.1. Composition en acides gras.....	112
2.1.1. Composition de la pulpe.....	112
2.1.2. Composition de la graine.....	114
3. Composition en TAG.....	116
3.1. Composition de la pulpe.....	116
3.2. Composition de la graine.....	117
4. Conclusion.....	118
IV. VARIATION INTER-ARBRE DE LA COMPOSITION EN TAG	119
1. Construction des radar- plots des aires.....	119
1.1. Radar-plots des aires.....	119
1.2. Radar-plots normés.....	120
2. Variation de la composition en TAG des huiles des pulpes et des graines.....	120
2.1. Composition de la pulpe.....	120
2.2. Composition de la graine.....	126
3. Intérêt nutritionnel.....	128
4. Conclusion.....	128
CONCLUSION GENERALE	129
BIBLIOGRAPHIE	131
RESUME	143

**ETUDE DE LA FRACTION TRIGLYCERIDIQUE DE
L'HUILE DE SAFOU(*DACRYODES EDULIS*) ET EVALUATION *IN*
VITRO DE SON INTERET NUTRITIONNEL POUR LES
POPULATIONS D'AFRIQUE CENTRALE.**



Fruits immatures

ABREVIATIONS

C	: Carbone
AG	: Acides Gras
AGS	: Acide Gras Saturé
C12:0	: acide laurique
C14:0	: acide myristique
C16:0	: acide palmitique ou P
C17:0	: acide heptadécanoïque
C18:0	: acide stéarique ou S
C20:0	: acide arachidique
C22:0	: acide béhénique
AGMI	: Acide Gras Mono Insaturé
C16:1n-7	: acide palmitoléique (C16 :1 Δ^9) ou (C16:1 ω 7)
C18:1n-9	: acide oléique (C18:1 Δ^9) ou (C18:1 ω 9) ou O
AGPI	: Acide Gras Poly Insaturé
C18:2n-6	: acide linoléique ou C18:2 ω 6 ou C18:2 $\Delta^{(9, 12)}$ ou L
C18:3n-3	: acide linoléique ou C18:3 ω 3 ou C18:3 $\Delta^{(9, 12, 15)}$
C20:4n-6	: acide arachidonique ou C20:4 ω 6 ou C20:4 $\Delta^{(5, 8, 11, 14)}$
C20:5n-3	: acide eicosapentaénoïque (EPA) ou C20:5 ω 3 ou C20:5 $\Delta^{(5, 8, 11, 14, 17)}$
C22:6n-3	: acide docosahexaénoïque(DHA) ou C22:6 ω 3 ou C22:6 $\Delta^{(4, 7, 10, 13, 16, 19)}$
TAG	: Triacylglycérol
MAG	: Monoacylglycérol
PPO	: dipalmitoyloléoylglycérol ou dipalmitoléine (C16:0 C16:0C18:1)
PPL	: dipalmitoyllinoléoylglycérol ou dipalmitolinoléine (C16:0 C16:0C18:2)
POL	: palmitoyloléoyllinoléoylglycérol ou palmitooleoyllinoléine (C16:0 C18:1C18:2)
PLL	: palmitoyldilinoléoylglycérol ou palmitodilinoléine (C16:0 C18:2C18:2)
OOO	: trioléine (C18:1 C18:1C18:1)
POO	: palmitoyldioleoylglycérol ou palmitodioléine
LDL	: lipoprotéine de basse densité (Low Density Lipoprotein)
CPG	: Chromatographie en Phase Gazeuse
CLHP	: Chromatographie Liquide Haute Performance
CLPI	: Chromatographie Liquide en Phase Inversée
AT	: Acool Triterpénique
St	: Stérol

INTRODUCTION GENERALE

Au Congo-Brazzaville, les huiles végétales couramment consommées proviennent essentiellement de deux spéculations : le palmier à huile et l'arachide. Jusqu'à un passé relativement récent (2 à 3 décennies), le Congo produisait une grande partie des huiles qu'il consommait.

Des problèmes technico-économiques d'une part, et des conflits socio-politiques au cours de cette dernière décennie d'autre part, ont totalement ruiné la filière des huiles végétales tout au moins au niveau industriel (fermeture de l'huilerie de Nkayi et de la Régie Nationale des Palmeraies du Congo).

Face à cette situation et pour subvenir aux besoins des populations, le Congo importe actuellement une partie importante des corps gras nécessaires à sa consommation ; la qualité de ceux-ci est parfois douteuse. La dépendance étrangère pour les matières grasses alimentaires, occasionne des sorties importantes de devises en même temps qu'elle pénalise la valorisation des oléagineux locaux.

En effet, d'après les enquêtes alimentaires réalisées au Congo (SOUSBIE, 1982 ; CRESTA et MASSAMBA, 1985), les apports énergétiques moyens de la population dans les centres urbains sont de 2300 à 2500 kcal/jour/individu avec un apport lipidique de 20 % environ. Dans les centres secondaires des régions du Nord (villes de 2000 à 5000 habitants), l'apport énergétique est de 2200 kcal/jour/individu avec un apport lipidique de 16 %. Par contre, dans les centres secondaires des régions du Sud (villes de 2000 à 30000 habitants) l'apport énergétique est de 1900 kcal/jour/individu avec un apport lipidique de 11 % au lieu de 20 % recommandés. Dans l'ensemble, ces enquêtes démontrent bien que le régime alimentaire des Congolais est déficient en énergie apportée par les lipides. Par conséquent, il doit y avoir aussi une carence des acides gras indispensables de la série linoléique n-6 et de la série linoléique n-3. (ROCQUELIN et *al.*, 1998).

De plus, compte tenu des troubles socio-politiques connus par le pays, les données fournies par ces enquêtes sont sûrement sous estimées. Il en découle que le régime est largement carent en éléments nutritifs. En 1987, l'enquête nationale menée auprès des enfants âgés de 0 à 5 ans avait mis en évidence des prévalences d'émaciation de 5,5 %, de retard de croissance de 27,5 % et d'insuffisance pondérale de 23,9 % (MBEMBA et *al.*, 2002). Pendant la guerre de 1998-1999, la malnutrition aiguë sévère a atteint 47,5 %

d'enfants de la tranche d'âge de 6 mois à 11ans, 50 % d'adolescents et d'adultes (MBEMBA *et al.*, 2002).

Une telle situation à incidences certaines sur l'état nutritionnel des populations, nous a amenés à diversifier la production des matières grasses par la mise en valeur d'autres spéculations encore inexploitées, comme : les fruits du safoutier, les graines de courges, les noix de raphia, etc. Nous avons retenu le safou pour des raisons à la fois économiques et nutritionnelles. En effet, ce fruit, originaire du Golfe de Guinée, est largement consommé sur toute l'étendue du territoire congolais. En pleine production, le safou, fruit du safoutier, est commercialisé au même titre que les autres fruits traditionnels tels que : mangues, oranges, citrons, avocats, etc.

Seule la pulpe est consommée après cuisson ; elle peut constituer un aliment central pouvant remplacer le plat de résistance du régime alimentaire dans plusieurs familles congolaises. Elle est une source importante de lipides pouvant atteindre des teneurs de 70% par rapport à la matière sèche. Ces lipides contiennent des teneurs relativement élevées d'acides oléique (C18:1n-9) et linoléique (C18:2n-6) ; ils contiennent malheureusement beaucoup d'acide palmitique (C16:0), connu pour ses effets néfastes sur la santé.

Cette teneur élevée en acide palmitique soulève d'emblée le problème des conséquences nutritionnelles qui résulteraient de la consommation de l'huile de la pulpe de safou. Mieux, il faudrait aller plus loin que la connaissance des acides gras présents dans cette huile ; il faudrait également connaître la nature des acides gras en position interne des triacylglycérols (TAG) constitutifs de cette huile. Les acides gras alimentaires qui occupent cette position privilégiée sont mieux et rapidement absorbés au niveau des entérocytes.

Dans ces entérocytes, de nouveaux TAG spécifiques à l'organisme sont synthétisés à partir des acides gras alimentaires qui occupent les positions α ou α' des diacylglycérols et des β -monoacylglycérols alimentaires. Ces nouveaux TAG participent à la formation des chylomicrons qui sont acheminés dans la lymphe, puis dans la circulation générale où ils seront métabolisés et mis à la disposition des cellules selon leurs besoins.

Ainsi dans ce cadre, nous avons entrepris de déterminer la structure des TAG de l'huile de la pulpe de safou pour identifier les acides gras estérifiés en position centrale du

glycérol à partir desquels la qualité nutritionnelle sera évaluée *in vitro*.

Etant donné que l'huile de safou sera produite à partir des fruits non sélectionnés et issus de différents arbres reproduits par semis, nous avons décidé d'apprécier l'impact de la biodiversité sur la qualité des huiles extraites, d'une part :

- entre les fruits d'un même arbre en fonction de l'orientation géographique,
- et d'autre part :
- d'un arbre à un autre pour une même zone écologique.

Partant de l'analyse bibliographique qui constitue la première partie de ce travail, nous développerons la stratégie de mise en œuvre pour atteindre les objectifs fixés.

Le présent travail comprend 4 chapitres :

- Le chapitre I est consacré à des rappels bibliographiques sur les connaissances du safoutier et son fruit, le safou. Nous évoquerons par la suite l'intérêt nutritionnel des acides gras et des TAG en insistant sur le rôle et les fonctions chimiques des acides gras, et l'importance nutritionnelle des TAG liée à l'emplacement des acides gras sur le squelette du glycérol, à condition de choisir une méthode appropriée pour évaluer *in vitro* cet intérêt nutritionnel.
- Le chapitre II développe les procédés qui nous ont permis de mettre au point une méthode quantitative de détermination des acides gras fixés en position interne du glycérol. Cette méthode utilise différentes variantes de la Chromatographie Liquide Haute Performance (CLHP), en vue d'obtenir des TAG purs qui serviront à l'évaluation *in vitro* de l'intérêt nutritionnel des huiles étudiées.
- Le chapitre III est consacré à l'étude des variations intra-arbres des données morphologiques des fruits et de la composition chimique de l'huile des safous d'un même arbre en réalisant des études quantitatives par CLHP et qualitatives par CLPI.
- Le chapitre IV aborde l'étude des variations inter-arbres dans une même zone écologique (Pointe-Noire et ses environs) en se basant sur les données quantitatives pour la caractérisation des fruits et sur l'analyse qualitative pour visualiser la variation de la composition en TAG.

CHAPITRE I

REVUE DE LA BIBLIOGRAPHIE

I. LE SAFOUTIER : ELEMENTS DE BOTANIQUE

Le safoutier, comme le palmier à huile, serait originaire des zones tropicales humides et sub-humides d'Afrique Equatoriale et Tropicale (BOURDEAUT, 1971) et plus exactement du Golfe de Guinée (Nigeria, Cameroun, Gabon, Congo-Brazzaville, Congo-Kinshasa, etc.).

Son aire de distribution s'étend actuellement de l'Océan Atlantique à l'Ouest (de la Sierra Leone en Angola), jusqu'en Ouganda à l'Est.

Ses nombreuses appellations vernaculaires – *atanga* (Gabon), *omumu* (Bénin), *basau* ou *sau* (Cameroun), *nasafou*, *nsafou* ou *safou* (Congo - Brazzaville, Congo - Kinshasa , Cameroun) – témoignent à la fois l'étendue de son aire de répartition, son importance pour les populations locales et son caractère autochtone dans ces différentes régions.

Ces mêmes facteurs pourraient expliquer le nombre élevé de noms scientifiques différents qui ont pu être utilisés pour désigner le safoutier : *Pachilobus edulis* G.DON, *Pachilobus saphu* Engl, *Canarium saphu* Engl, *Canarium edulis* Hook, *Canarium mubago* Fichalo, et *Dacryodes edulis* H J Lam (*D. edulis*) qui est le nom de l'espèce le plus utilisé dans la littérature scientifique durant ces quinze dernières années, tend à supplanter tous les autres (BOURDEAUT, 1971).

Le safoutier est un arbre au tronc droit et au port étalé, qui peut atteindre 8 à 12 m de haut, et parfois 20 à 25 m lorsqu'il croît en forêt dense. Il a un feuillage persistant de couleur vert-clair à vert-sombre. Ses feuilles sont composées en imparipennées, avec des folioles oblongues, lancéolées, acuminées, glabres et très luisantes à la surface supérieure ; elles entrent souvent dans les recettes de la pharmacopée traditionnelle.

Les inflorescences sont en panicules axillaires. Les fleurs sont brun-foncé et l'intérieur des pétales est jaune (BOURDEAUT, 1971). Les études de la morphologie florale de l'arbre (GIACOMO, 1982 ; KENGUE et NGATCHOU, 1991), ont montré l'existence de trois types d'inflorescences : des mâles, des femelles et des hermaphrodites.

Le rapport R = (pieds femelles)/(pieds mâles + hermaphrodites), serait de (5 pieds mâles) pour (95 pieds femelles) (KENGUE et NGATCHOU, 1991 ; KENGUE, 1998).

La systématique du safoutier est peu connue ; il appartient à la famille des burséracées.

Dans les forêts denses, le safoutier se reproduit naturellement par voie sexuée ; la pollinisation est assurée par les insectes parmi lesquels les plus importants sont les abeilles (*Apis mellifera*). La multiplication traditionnelle se fait par semis ; or, ce mode de reproduction conduit à une hétérogénéité de caractères pomologiques et organoleptiques des fruits.

Pour obtenir des safoutiers ayant les mêmes caractéristiques, des techniques de multiplication végétative par marcottes sont entreprises depuis quelques années ; elles ont donné des résultats prometteurs bien qu'ils subsistent quelques interrogations sur la faiblesse de l'enracinement racinaire qui fragilise l'arbre. Malgré ces interrogations, aujourd'hui, il est admis que seul le marcottage aérien permet de sélectionner les meilleurs écotypes du safoutier (KENGUE *et al.*, 1995 ; SILOU *et al.*, 1994).

II. SAFOU : FRUIT DU SAFOUTIER

1. Production et pertes post-récoltes des fruits safous

1.1. Production des safous

Dans l'hémisphère Nord (Cameroun, Nigeria, Nord Congo-Brazzaville, Nord Congo-Kinshasa, etc.) la période de la production des safous mûrs s'étale de **juin à novembre**, alors que, dans l'hémisphère Sud (Angola, Sud Congo-Brazzaville, Sud Gabon, Sud Congo-Kinshasa, etc.), elle va de **novembre à avril**. Le safou est donc disponible presque toute l'année en Afrique Centrale. A l'heure actuelle, il est pourtant impossible de trouver des données chiffrées sur le volume de la production de safou dans les différents pays. Toutefois, des méthodes d'évaluation du volume des récoltes sont en train de se mettre en place de façon ponctuelle. De plus, la culture traditionnelle, généralement éparse, ne permet pas un calcul aisé des rendements. Certaines indications disponibles autorisent des extrapolations plus ou moins raisonnables. Ainsi, au Nigeria, OMOTI et OKIY (1987) indiquent des rendements de l'ordre de 200 kg de fruits/an/arbre adulte. L'absence des données statistiques sur la production, les prix de vente et la consommation constituent une entrave à la commercialisation de ce produit.

1.2. Pertes post – récoltes des safous

Le safou est un fruit fragile. Dans certaines localités, des pertes après récolte s'élèvent à plus de 50 % de la production ; le ramollissement de la pulpe serait la principale cause

de ces écarts ; le phénomène a été étudié sous divers aspects : physique, microbiologique et enzymatique.

Ainsi, au Congo, SILOU et *al.*, (1995) ont mis en évidence le rôle des blessures des fruits dans l'accélération du ramollissement de la pulpe. En effet, la pratique utilisée pour la cueillette des safous (gaulage des fruits) et les conditions de transports, favorisent la blessure des fruits, contribuant ainsi, de façon non négligeable, à augmenter les pertes après récolte.

Cette situation déjà critique est amplifiée, le cas échéant, par un développement de micro-organismes qui colonisent ensuite les parties blessées. Effectivement, NWUFO et *al.*, (1989), au Nigeria, avaient établi que les pertes après récolte de safous étaient également d'origine microbienne. Les pourritures observées sont causées par *Botry diploia theobromae*, *Aspergillus niger*, *Rhizopus Stolonifer* et *Erwinia* spp dont l'action combinée de la température et de l'humidité favorise le développement. En complément à ces derniers résultats, une étude de l'activité de la cellulase, de la pectinestérase, de la polygalacturonase et de la protéase dans les extraits de la pulpe de safou, avait mis en évidence une corrélation significative entre les températures optimales d'activité de ces enzymes et le ramollissement des fruits (OKOLIE et BONKENS, 1992). Ces pertes post-récoltes limitent la production et même l'achat des safous en grande quantité et leur disponibilité alimentaire pour les consommateurs.

2. Commercialisation et consommation des safous

A l'heure actuelle, il n'existe pas de statistiques agricoles des services compétents faisant état du commerce et des quantités consommées concernant le safou. La filière de vente des safous est informelle. Entre le producteur et le consommateur, il existe plusieurs intermédiaires, à savoir, les démarcheurs, les grossistes et les détaillants.

Les prix varient avec les fluctuations saisonnières de la production ; les prix sont élevés les premiers mois de leur apparition sur le marché, pour baisser au fur et à mesure que l'offre devient importante, période correspondant à la grande production ; puis ces prix remontent dès que les safous se raréfient. (KENGUE, 2002)

Les travaux de TABUNA (1999) sur le commerce des safous en France, au Royaume Uni et en Belgique ont déterminé les principales zones de production (Cameroun, Congo-Kinshasa, Nigeria) et les principaux circuits de commercialisation. Les points de vente sont les épicerie des zones aux activités tropicales et les épicerie tropicales de proximité tels que :

- le marché de Château Rouge à Paris,
- le marché de Matongué (situé sur la chaussée de Wavre d'Ixelles à Bruxelles),
- le marché de Peckham ou Brixton à Londres.

La fragilité du fruit de safou caractérisée par le ramollissement à température ambiante limite sa vente dans les villes de province.

3. Caractéristiques morphologiques

Le safou, fruit du safoutier, est une drupe ressemblant aux prunes de dimensions variables.

En absence de toute étude morphologique, DE LAROUSSILHE *et al.*, (1964), avaient constaté qu'il était difficile de fixer les variétés chez le safoutier et avaient opté pour une classification empirique des fruits du Congo et de Côte – d'Ivoire en quatre types :

- fruits en forme d'olive plus ou moins allongée (type A) ;
- fruits cylindriques, aux extrémités hémisphériques (type B) ;
- fruits étranglés en leur milieu (type C) ;
- fruits élargis du côté pédonculaire, s'amincissant vers l'extrémité apicale (type D).

Plus récemment LADIPO *et al.*, (2002), ont proposé un nombre plus grand de formes qu'ils assimilent à des formes géométriques plus ou moins courantes : sphéroïde, oblongue, ellipsoïde, cylindrique, « spindle sharpened » et « heart sharpened ».

Quelle que soit leur forme, les fruits en coupe longitudinale, présentent de l'extérieur vers l'intérieur (figure 1):

- un épicarpe cireux, très mince et coloré ;
- un mésocarpe de 0,2 à 1 cm d'épaisseur, jaunâtre, d'une consistance pulpeuse ;
- un endocarpe mince, subéreux, brunâtre, qui protège la graine ;
- une graine vert – clair, composé essentiellement de deux cotylédons charnus pentalobés .

Lorsque les fruits sont immatures, ils sont de couleur rose, blanchâtre à l'approche de la maturité et deviennent bleu-violacé à maturité. Le mésocarpe qui constitue la pulpe comestible peut être blanchâtre, verdâtre ou jaunâtre.

4. Composition chimique et intérêt nutritionnel du fruit safou

Les études sur la composition globale du fruit sont assez peu nombreuses (SILOU, 1996 ; DE LAROUSSILHE *et al.*, 1964 ; OMOTI et OKIY, 1987 ; NDAMBA, 1989 ;

SILOU et *al.*, 2000 et 2002). Elles ont montré que le safou contient les principaux constituants des fruits.

Avec une teneur en eau de l'ordre de 50 – 70 % la pulpe de safou a une teneur très élevée en huile qui varie entre 50 et 70 % par rapport à la masse de matière sèche.

L'huile extraite de la pulpe est constituée, des acides gras suivants :

- Acide palmitique (C16:0) de 45 à 50 % ;
- Acide oléique (C18:1 n-9) de 15 à 30 % ;
- Acide linoléique (C18:2 n-6) de 18 à 27 % (acide gras essentiel pour l'organisme) ;
- Acide stéarique (C18:0) de 1,8 % à 2,8 % ;
- Acide linoléique (18:3 n-3) de 0,3 % à 1,9 % (acide gras essentiel pour l'organisme).

La teneur en protéines de la pulpe de safou varie par rapport à la matière sèche de :

- 6 - 15 % de la masse de matière sèche pour les safous du Congo-Brazzaville (KIAKOUAMA et SILOU, 1987),
- 25,9 % pour les safous du Nigéria (OMOTI et *al.*, 1987),
- 22,2 % pour les safous du Congo – Brazzaville (NDAMBA et *al.*, 1989),
- 13,8 % pour les safous de Côte d'Ivoire (NDAMBA et *al.*, 1989),
- 16,8 % pour les safous du Congo - Brazzaville (AVOUAMPO, 1991),

La **lysine** est l'acide aminé limitant de la protéine.

La teneur en cendres varie de 2 – 5 % de la masse de matière sèche. Tous les éléments minéraux sont présents ; il s'agit (en mg/100g de matière sèche) de :

K : 773–1805 ; P : 77-260 ; Ca : 54-262 ; Mg : 83-183 ; Fe : 2-15 ; Na : 0,7-10 ;

Cu : 1–3 ; Zn : 1-2 ; Mn : 0,4–2 (SILOU et *al.*, 2000 ; SILOU et *al.*, 2002a ; SILOU et *al.*, 2002b).

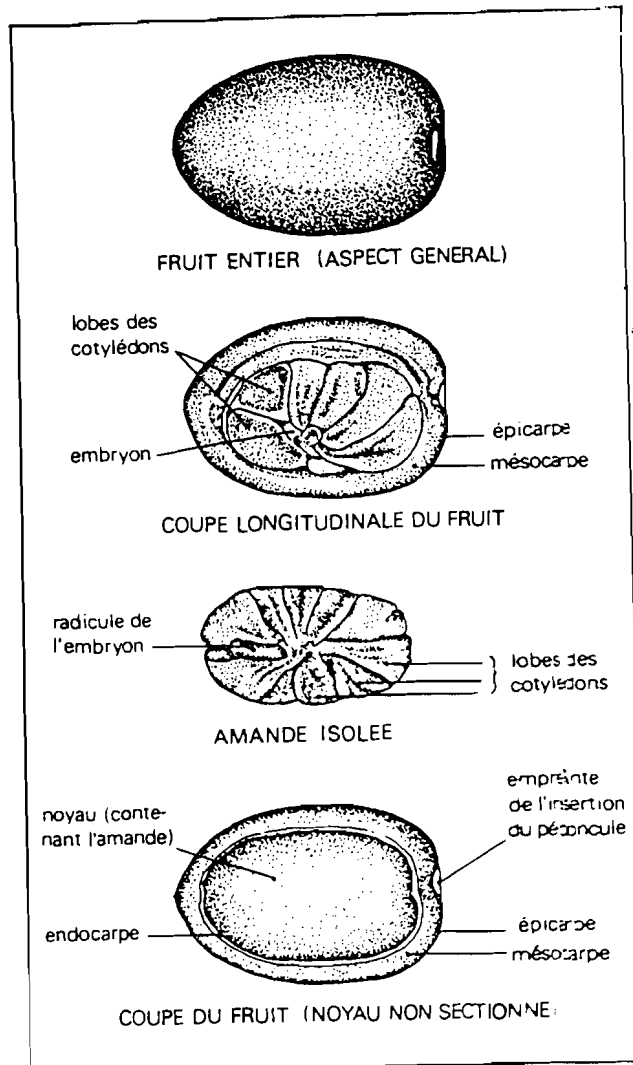


Figure 1 : Détails de la morphologie du safou
(SILOU, 1996)

Leur teneur varie parfois de façon très importante ; dans tous les échantillons étudiés leur ordre de classement décroissant est toujours le même à savoir :

- pour les macro-éléments : $K > P > Ca > Mg > Na$;
- pour les micro-éléments : $Fe > Cu > Zn > Mn$.

En absence de toute investigation systématique, la vitamine E a été identifiée dans la fraction de l'insaponifiable, au cours des études sur la stabilité de l'huile de la pulpe de safou.

Par ailleurs, CIQUAL-CNEVAL (1993) signale dans la table de composition des fruits exotiques et fruits de cueillette d'Afrique que le safou contient (pour 100g de pulpe crue) :

- 5,0% de glucides disponibles
- 8,7% de fibres,
- 15,0 – 27,0 mg de vitamine C

5. Huile de la pulpe de safou

5.1. Mise en place des lipides dans le fruit

La mise en place des lipides dans le fruit a été étudiée sur les safous du Congo entre les mois d'Octobre et de février, période correspondant au développement physiologique du safou dans l'hémisphère sud. L'état de maturité a été déterminé à partir de la date de floraison en associant des critères visuels au calcul du rapport (masse de la graine)/(masse du fruit) qui varie de 0 à une valeur constante de l'ordre de 0.4, au cours de la maturation du fruit.

KIAKOUAMA et SILOU, (1990) ont constaté qu'au cours du développement physiologique du fruit :

- La teneur en eau et le taux d'insaponifiable décroissent progressivement ;
- Près de 80 % des lipides attendus se mettent en place en 15 jours sur les 3 mois que dure le processus de maturation, suivant une courbe sigmoïde ;
- La répartition aléatoire des acides gras contenus dans la pulpe au début du processus, se réorganise pour évoluer vers un profil caractéristique (figure 2).

Etudiant la mise en place des TAG, BEZARD et *al.*, (1991), n'ont pas observé d'importante variation de la composition en TAG malgré la très forte augmentation de la teneur en huile (figures 3a et 3b).

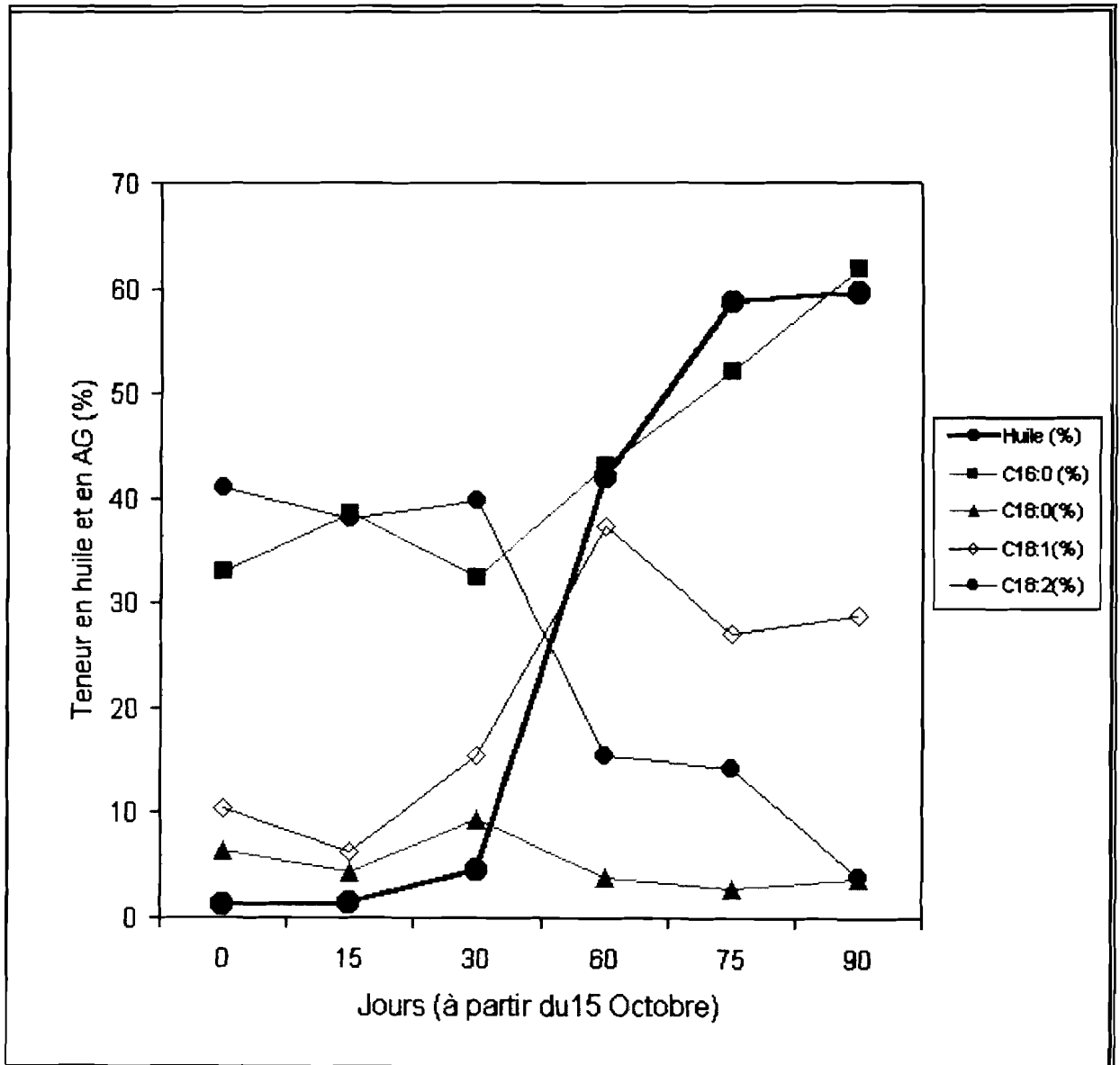


Figure 2 : Mise en place des lipides (AG) dans le safou
(KIAKOUAMA et SILOU, 1990)

Dans une espèce donnée, il semble que les acides gras ayant les mêmes proportions soient formés dans la plante au cours de la maturation et que les mêmes TAG soient synthétisés à partir de ces acides gras et déposés dans la pulpe. Il ne semble pas y avoir de remaniements de ces TAG de réserve au cours du vieillissement.

5.2.Extraction de l'huile

Les huiles de safou décrites dans la littérature par UCCIANI et BUSSON (1963), DE LAROUSSILHE et *al.*, (1964), OMOTI et OKIY (1987), SILOU et MOUSSATA (1991), KIAKOUAMA et SILOU (1990), ont été extraites soit à chaud au soxhlet, à l'éther de pétrole ou à l'hexane, soit à froid à l'aide d'un mélange de chloroforme – méthanol : méthode de FOLCH simplifiée.

Une méthode de détermination de la teneur en huile par réfractométrie (figure 4) a également été développée par SILOU (1991). Elle consiste à déterminer la teneur en huile sur des abaques de variation de l'indice de réfraction des solutions naphthaléniques des huiles extraites des pulpes séchées. Du fait de sa simplicité et de sa rusticité, cette méthode est parfaitement adaptée au repérage de safous destinés à l'huilerie.

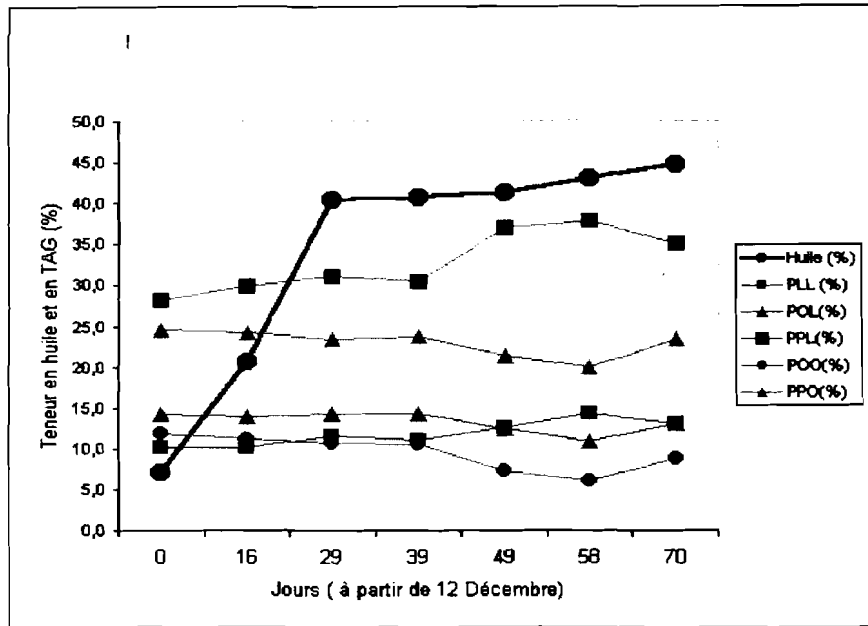
Sur des fruits mûrs, l'extraction de la pulpe au soxhlet (méthode normalisée) conduit à des teneurs en huile variant de 30 à 80 % de la matière sèche (SILOU, 1996). Cette teneur est moins élevée lorsque l'extraction est faite à la presse (30 - 45 %) selon le schéma représenté sur la figure 5 (SILOU, 1991 ; AVOUAMPO, 1991).

5.3.Propriétés physico – chimiques de l'huile de la pulpe de safou

L'huile obtenue sur des fruits non altérés a un indice d'acide généralement bas, à l'état brut ($I_A = 2$ à 4), un indice d'iode caractéristique d'une huile moyennement insaturée ($I_I = 70$ à 82) et un indice de saponification voisin de 200 ($I_S = 194$ à 201).

Toutes ces indications confèrent à l'huile de safou une bonne qualité alimentaire.

(a) Courbes de variation de TAG



(b) Histogrammes de variation de TAG

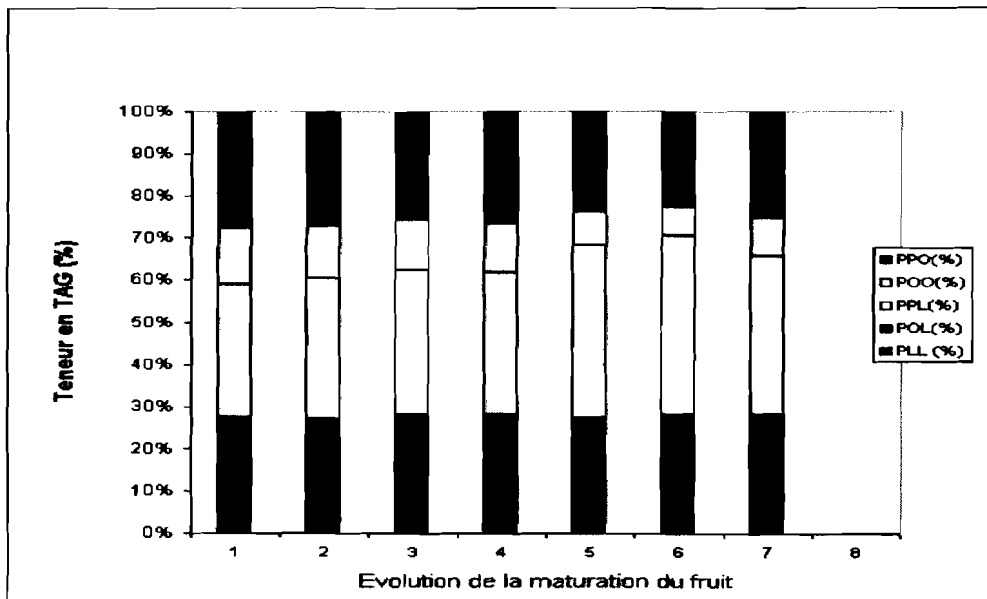


Figure 3 : Mise en place des lipides (TAG) dans le safou au cours de la maturation du fruit. (BEZARD et al., 1991)

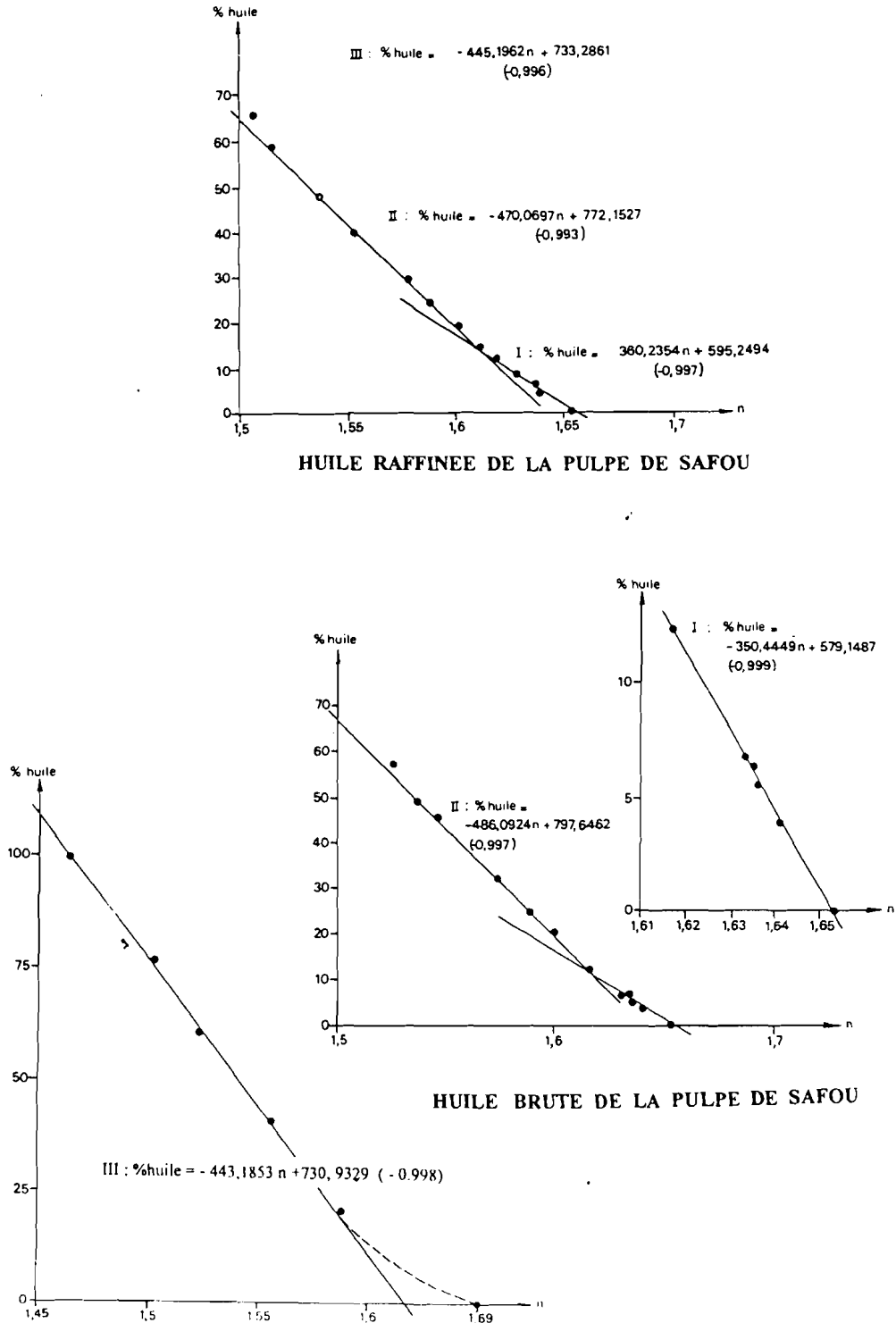


Figure 4 : Evaluation réfractométrique de la teneur en huile dans le safou (SILOU, 1991)

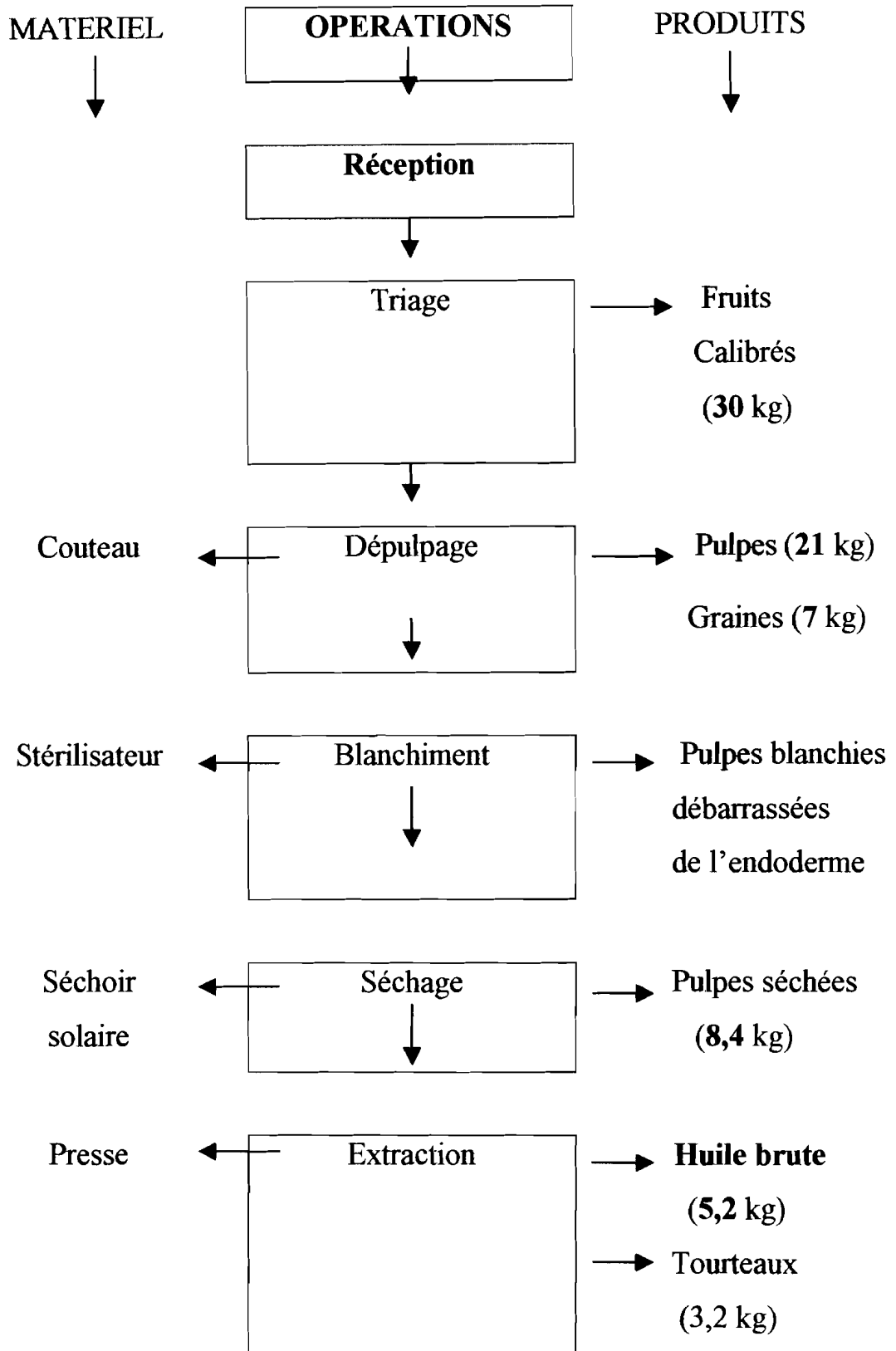


Figure 5 : Schéma d'extraction à la presse de l'huile des safous
(SILOU, 1991 ; AVOUAMPO, 1991)

5.4. Composition en acides gras

L'huile de la pulpe contient des acides gras fréquemment présents dans les huiles végétales.

C'est une huile de type palmito-oléique, avec des acides palmitique (C16:0), oléique (C18:1n-9), linoléique (C18:2 n-6) et linoléique (C18:3 n-3).

Le profil moyen de l'huile de la pulpe de safou (en pourcentage total en AG) est de :

%C16:0 > %C18:1 > % C18:2.

5.5. Composition et structure des triacylglycérols (TAG)

Les acides palmitique (C16:0), stéarique (C18:0) oléique (C18:1n-6) et linoléique (C18:2 n-6) seront désignés par P, S, O, L.

L'analyse chimique de l'huile de safou a montré que PPO, PPL, POL, PLL, sont très largement majoritaires (BEZARD *et al.*, 1991 ; KINKELA et BEZARD, 1993 ; SILOU *et al.*, 1991). Les TAG trisaturés PPP ou SSS sont peu présents, contrairement à ce qui pouvait être attendu du fait du pourcentage important de l'huile en acides gras saturés.

A partir de l'analyse de l'huile extraite de fruits récoltés au Cameroun, TCHENDJI *et al.*, (1987) ont noté que les principaux acides gras fixés en position β (ou 2) du glycérol, étaient, par ordre décroissant, C18:1n-9 (55,1 %), C18:2 n-6 (38,1 %) et C16:0 (5,6 %).

Sur des échantillons du Congo, KINKELA et BEZARD (1993) ont trouvé le même ordre, mais pour POL dans lequel nous avons deux acides gras insaturés en compétition, un ordre de décroissance légèrement différent est constaté : C18:2n-6, C18:1n-9, C16:0 ; ces résultats ont confirmé ceux de LITCHFIELD (1972) obtenus à partir de l'analyse d'autres huiles végétales, selon lesquels la position interne des triglycérides est occupée préférentiellement par les acides gras insaturés, et ce d'autant plus que le degré d'insaturation est plus élevé.

5.6. Teneur et composition de l'insaponifiable

La teneur moyenne en composés insaponifiables de l'huile de la pulpe de safou est de l'ordre de 1 % ; elle atteint 3 % dans certains échantillons, ouvrant ainsi des perspectives de recherche non négligeables en cosmétologie.

Sur des fruits récoltés au Congo, SOULIER (1987) a mis en évidence que la fraction insaponifiable représentait 1,9 % de l'huile de la pulpe de safou ; cette valeur serait légèrement supérieure à celle rencontrée dans la plupart des autres huiles végétales.

Les tocophérols totaux (99 mg/kg d'huile) se répartissent en α (45,1 %), β (13,8 %), γ (3,2 %) et δ (37,9 %).

La partie insaponifiable de l'huile de safou contient environ 20 % de stérols (St) et 34 % d'alcools triterpéniques (AT) totaux ; la teneur en 4 – méthylstérols est très faible.

La fraction (St) contient uniquement des δ -5 stérols dont le sitostérol (largement majoritaire), du stigmastérol et de l'isofucostérol ; à côté de ces composés courants, SOULIER (1987) a pu identifier également du fucostérol, rare dans les lipides de plantes terrestres (par opposition aux plantes aquatiques), et deux autres composés minoritaires représentant 5 % de la fraction stérolique.

Quatre AT ont été identifiés :

- le cycloarténol, précurseur biogénétique des stérols (tétracyclique) ;
- le tirucallol (tétracyclique) ;
- l'alpha – amyryne, pentacyclique, est également un AT fréquent ;
- le glutinol, un AT pentacyclique très rarement rencontré, a été mis en évidence ; ce composé pourrait constituer un marqueur caractéristique de l'huile de la pulpe de safou.

Ces quatre AT représentent 90 % de la fraction correspondante ; cinq composés minoritaires n'ont pas été identifiés. (LOEMBA, 1989)

5.7. Le tourteau : composition et intérêt

Le procédé d'extraction d'huile à partir de la pulpe de safou libère des tourteaux susceptibles d'entrer dans la composition des rations animales en milieu paysan. Des travaux ont été entrepris pour évaluer l'intérêt réel de ces tourteaux (OMOTI et OKIY, 1987, NDAMBA, 1989).

Leur analyse bromatologique a montré que :

- la teneur en matière sèche est relativement élevée, proche de celle de tourteaux courants ;
- le taux de la cellulose brute est élevé (compensé par une faible lignification) ;
- le taux de protéines est faible et proche de celui de certains tourteaux pauvres, comme ceux obtenus du coprah et de la noix palmiste ;
- la composition minérale est déficitaire en fer, zinc et cuivre (NDAMBA, 1989).

III. INTERET NUTRITIONNEL DES ACIDES GRAS ET DES TRIACYLGLYCEROLS ALIMENTAIRES

1. Nomenclature

1.1. Définition d'un acide gras (AG)

Un acide gras est une molécule organique constituée d'un seul groupement fonctionnel, fonction carboxylique, et une chaîne carbonée plus ou moins longue dite chaîne aliphatique.

L'ensemble des acides gras constitue la famille des acides carboxyliques avec pour points communs :

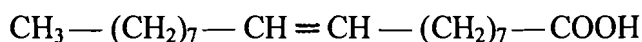
- d'être à nombre pair d'atome de carbone (sauf de rares exceptions) ;
- d'avoir une chaîne aliphatique linéaire, non ramifiée.

Ainsi, les acides gras sont représentés par leur nombre d'atomes de carbone ; leur chaîne carbonée peut être saturée (sans double liaison) ou insaturée (avec une ou plusieurs doubles liaisons).

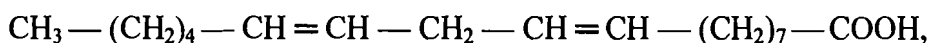
Par exemple, l'acide palmitique (16 carbones) ou acide hexadécanoïque, acide gras saturé a pour formule : $\text{CH}_3 - (\text{CH}_2)_{14} - \text{COOH}$

L'acide stéarique (18 carbones) ou acide octadécanoïque, acide gras saturé a pour formule : $\text{CH}_3 - (\text{CH}_2)_{16} - \text{COOH}$

L'acide oléique (18 carbones et 1 double liaison) ou acide octadécénoïque, s'écrit :



L'acide linoléique (18 carbones et 2 doubles liaisons) ou acide octadécadiénoïque, s'écrit :



L'acide linoléique (18 carbones et 3 doubles liaisons) ou acide octadécatriénoïque, s'écrit :



En général, les acides gras sont représentés par une formule plus simplifiée :

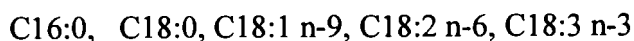
Ca:x n-y ou $\text{Ca:x } \omega\text{-y}$

Avec :

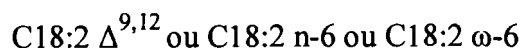
- a = nombre d'atomes de carbone
- x = nombre de doubles liaisons
- n = carbone du méthyle (CH_3) terminal
- ω = oméga, 1^{ère} double liaison située sur le nième C à partir du méthyle terminal

- $n-y$ ou $\omega-y$ = premier carbone engagé dans une double liaison en comptant à partir du carbone n moins y ; le résultat de cette soustraction donne la position de la double liaison tel C16:1 $n-7$ ou C16:1 $\omega-7$ montrant qu'une double liaison se trouve sur le C7 de la chaîne carbonée à partir du CH3 terminal.

Ainsi les acides gras précédents s'écrivent :



Lorsqu'il y a plusieurs doubles liaisons, le résultat obtenu donne la position de la dernière. La position des autres se déduisant en sachant qu'elles sont positionnées tous les 3 carbones, comme l'on peut le représenter ainsi :



La notation ($\Delta^{9,12}$) précise qu'une double liaison est placée sur les carbones 9 et 12 de la chaîne carbonée à partir de $-\text{COOH}$ (MASSON, 2002)

1.2. Définition d'un triacylglycérol (TAG)

Un triacylglycérol (TAG) désigne un triester de glycérol et d'acides gras.

Un TAG est caractérisé par la nature de chacun des acides gras qui estérifie les trois fonctions alcool du glycérol. Il s'agit d'une seule molécule appelée TAG.

Dans un TAG, les acides gras peuvent être identiques ou différents. On aura ainsi :

- des TAG monoacides, dans lesquels les trois acides gras sont identiques ; ils n'ont pas d'isomères.
- des TAG diacides, dans lesquels deux acides gras sont différents ; ils sont constitués de trois isomères.
- des TAG triacides où les trois acides gras sont différents et sont constitués par six isomères.

Par convention, un triacylglycérol est représenté de façon simplifiée par la suite des symboles des acides gras estérifiant le glycérol. Ces symboles sont écrits dans un ordre choisi arbitrairement, à savoir pour les acides gras saturés, selon la longueur de la chaîne croissante ou le degré d'insaturation croissant.

Ainsi, le palmitoylstéaroyllinoléoylglycérol s'écrit : C16:0 C18:0 C18:2.

2. Rôle et fonctions chimiques des acides gras dans l'organisme

2.1. Acides gras saturés (AGS)

Actuellement, il est établi qu'il faut réduire l'apport en AGS afin de ne pas dépasser 8% de l'apport calorique total (DUPIN, 2001) pour éviter les maladies liées aux calories alimentaires fournies par les AGS (BAUSTINA *et al.*, 2001).

En effet, chez l'animal, de nombreux travaux ont mis en évidence l'hyperlipidémie et l'athérosclérose obtenues par un apport alimentaire excédentaire d'AGS. Parmi ces travaux, HORNSTRA et LUSSENBURG (1973) a étudié la sévérité de la thrombose induite chez le rat en relation avec les graisses alimentaires plus ou moins riches en AGS (figure 6). D'après ces résultats, on peut rattacher la sévérité des lésions au cumul des trois principaux AGS alimentaires ingérés que sont les acides myristique (C14:0), palmitique (C16:0) et stéarique (C18:0).

D'autres travaux ont depuis confirmé que deux AG (l'acide myristique et l'acide palmitique) ont une action importante en élevant le cholestérol sanguin (HAYES et KHOSLA, 1992). L'acide stéarique ainsi que les AG courts (4 à 6 atomes de carbone) et les AG moyens à 8 ou 10 atomes de carbone ne seraient pas hypercholestérolémiant. L'élévation du cholestérol total sanguin par les lipides saturés est provoquée par l'augmentation des lipoprotéines de faible densité (LDL) riches en esters de cholestérol, entraînant un risque accru de thrombose (KUBOW, 1996 ; BAUSTINA *et al.*, 2001 ; ROBERFROID, 2002).

2.2. Acides gras mono insaturés (AGMI)

Actuellement, il est établi que les AGMI (surtout l'acide oléique, 18:1 n-9) contribuent à réduire le risque de maladies cardio-vasculaires en diminuant le taux de LDL circulant. Ceci expliquerait, notamment, la raison pour laquelle les habitants de la plupart des pays méditerranéens, grands consommateurs d'huile d'olive constituée essentiellement d'acide oléique (C18:1), ne subissent qu'une incidence faible de ces maladies (HEYDEN, 1994 ; GRUNDY, 1986 ; WANG *et al.*, 1998 ; BAUSTINA *et al.*, 2001 ; ROBERFROID, 2002).

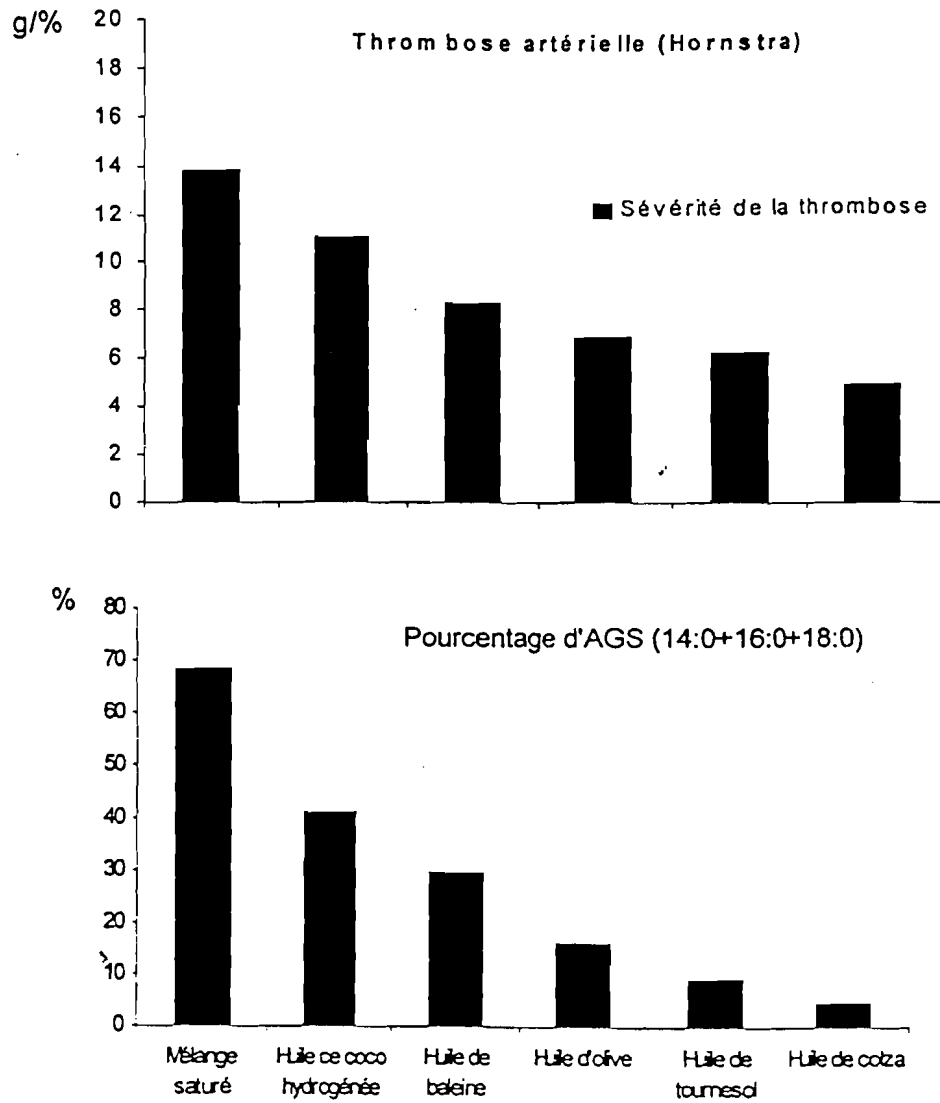


Figure 6 : Rôle des graisses saturées alimentaires dans la sévérité de la thrombose induite chez le rat dans le modèle de HORNSTRA et LUSSENBURG (1973)

2.3. Acides gras poly insaturés (AGPI)

Les deux principales familles d'AGPI en (n-6) et (n-3) dérivent respectivement des deux AG essentiels reconnus indispensables, l'acide linoléique (C18:2 n-6) et l'acide α -linoléique (C18:3 n-3).

Ces deux AG qui ne peuvent être biosynthétisés de novo par les mammifères supérieurs dont l'homme, donnent naissance, in vivo, à leurs métabolites supérieurs par une suite de désaturations et d'élongations (figure 7) (DOMMELS et *al.*, 2002 ; ROBERFROID, 2002).

Un AG à 20 atomes de carbone ou plus peut alors être modifié par un système enzymatique (lipoxygénase ou cyclooxygénase) pour former un médiateur biologique (respectivement leucotriène ou prostaglandine et thromboxane). Ces médiateurs biologiques sont impliqués dans la croissance cellulaire (BOURRE, 1996 ; RAMIREZ et *al.*, 2001), ou dans les fonctions cardio-vasculaires (RENAUD et *al.*, 1996 ; BAUSTINA et *al.*, 2001) et immunitaires (METAIS, 1982 ; NIOT, 1997 ; DOMMELS et *al.*, 2002 ; ROBERFROID, 2002).

On connaît l'effet hypocholestérolémiant des AGPI alimentaires, donc leur intérêt dans la prévention de l'athérosclérose (LACONO et DOUGHERTY, 1991 ; JACKSON et *al.*, 1984).

Le caractère hypocholestérolémiant des AGPI pourrait être dû à différents effets. Les études sur l'équilibre des différents compartiments du cholestérol dans l'organisme ont suggéré que les AGPI peuvent d'une part, augmenter l'excrétion du cholestérol, par la voie des sels biliaires ; d'autre part, ils entraînent une diminution de la synthèse des lipoprotéines à très faible densité (VLDL), donc des LDL qui transportent le cholestérol du foie vers les tissus périphériques.

D'une manière générale, les acides gras assurent plusieurs fonctions : (TULLAYE, 1991 ; DOMMELS et *al.*, 2002 ; ROBERFROID, 2002)

- *Fonction énergétique* : les acides gras sont la base essentielle de l'apport énergétique alimentaire et dans l'organisme, ils constituent la forme majeure de stockage énergétique dans le tissu adipeux ; ils permettent l'effort de longue durée.
- *Fonction thermique* : les acides gras protègent l'organisme contre le froid grâce à la présence de la graisse sous-cutanée.
- *Fonction de transport* : les acides gras permettent le transport et l'absorption des vitamines liposolubles (vitamine A ou vitamine E).

- *Rôle fonctionnel et de structure* : les acides gras saturés et surtout insaturés font partie intégrante des phospholipides membranaires contrôlant ainsi la perméabilité de la membrane dont la fluidité est favorisée par les acides gras insaturés, les acides gras saturés mais aussi le cholestérol étant rigidifiants.

Cependant, la forme chimique d'administration d'un AG alimentaire influence fortement son incorporation dans les lipides plasmatiques (KUBOW, 1996 ; RAMIREZ et *al.*, 2001).

Un AG estérifié en position interne sur le glycérol et un AG non estérifié n'ont pas le même intérêt nutritionnel. Pour évaluer l'intérêt nutritionnel d'un AG, il est nécessaire de déterminer son mode de digestion, son absorption et son devenir métabolique.

2.4. Devenir métabolique des acides gras alimentaires

L'absorption préférentielle des AG en position interne ainsi connue, il a été récemment démontré chez l'animal que l'organisme utilise surtout ces AG dans les cellules pour servir de base à la synthèse de molécules plus complexes comme les médiateurs biologiques (CHRISTENSEN et *al.*, 1995, RENAUD et *al.*, 1995 ; DOMMELS et *al.*, 2002 ; ROBERFROID, 2002).

Les acides gras alimentaires absorbés en étant en position interne seront utilisés par élongation et insaturation par les cellules pour la synthèse de novo à savoir :

- o L'acide oléique sera utilisé pour la synthèse des acides gras de la famille oléique (n-9) :

(C18:1 \Rightarrow C18:2 \Rightarrow C20:2 \Rightarrow C20:3) pouvant servir à la formation des prostaglandines, du bon cholestérol estérifié qui empêche l'aggrégation des cellules sanguines luttant ainsi contre les maladies cardio-vasculaires ; mais la plus grande quantité de cet acide sera utilisé dans la couverture des besoins énergétiques de l'organisme.

- o L'acide linoléique sera utilisé à la formation des acides gras polyinsaturés supérieurs de la famille linoléique (n-6)

(C18:2 \Rightarrow C18:3 \Rightarrow C20:3 \Rightarrow C20:4 \Rightarrow C22:4 \Rightarrow C22:5) qui sont nécessaires à la formation des phospholipides membranaires et des prostaglandines.

Dans les cellules, les acides gras ont un rôle structurel dans la membrane cellulaire car ils sont incorporés en position 2 dans les phospholipides membranaires. Ils permettent d'assurer la fluidité membranaire et de maintenir l'équilibre entre les

échanges externes et internes de la cellule. Ce rôle est beaucoup plus assuré par les acides gras insaturés. En effet, grâce à la configuration cis de leur liaison, la morphologie des acides gras insaturés en V se transforme en U si le nombre d'insaturation est grand. L'encombrement stérique est alors maximum, ce qui permet de générer un certain désordre dans la structure de la membrane. Ce désordre est responsable de la fluidité des membranes.

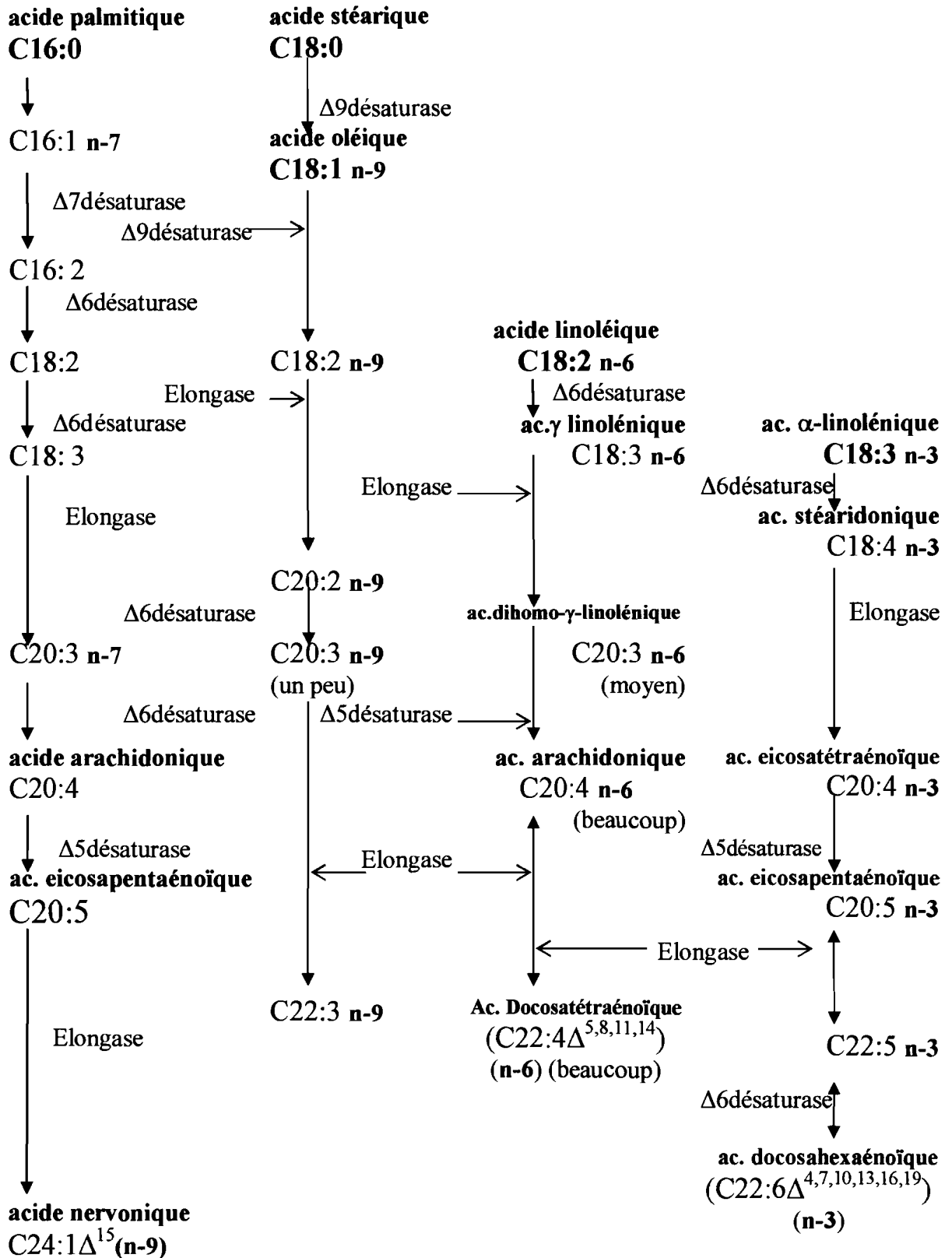
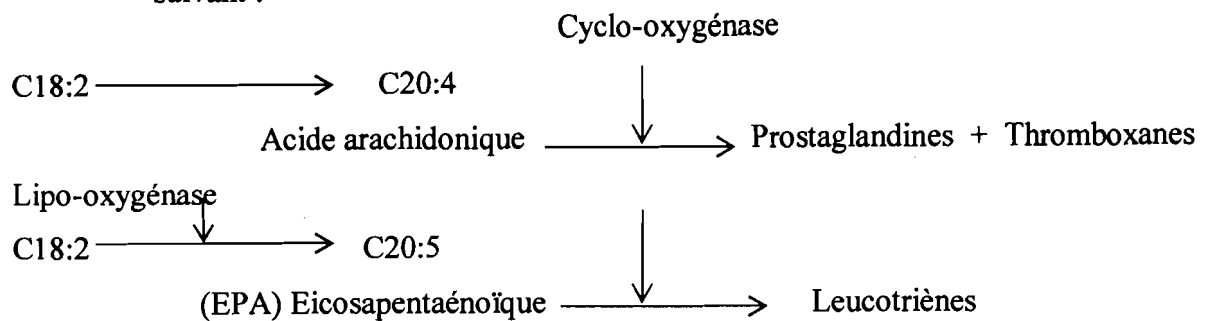


Figure 7 : Intervention simplifiée des acides gras alimentaires dans la synthèse de novo des acides gras poly-insaturés à longues chaînes dans la cellule animale. (NIOT, 1997 ; DOMMELS *et al.*, 2002 ; MASSON, 2002 ; ROBERFROID, 2002)

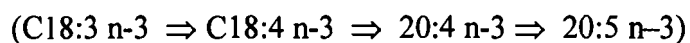
On peut donc déduire que les acides gras de la famille n-6 issus de l'acide gras linoléique (C18:2 n-6) ont deux rôles dans l'organisme, à savoir :

- assurer la fluidité membranaire ;
- ce sont des médiateurs cellulaires de prostaglandine, leucotriène et de thromboxane ; si les acides gras sont médiateurs, cela signifie que ce sont des intermédiaires dans la commande de certaines fonctions cellulaires. Deux enzymes sont nécessaires pour la réalisation de ces fonctions :
 - les cyclo-oxygénases pour la synthèse des prostaglandines et les thromboxanes ;
 - les lipo-oxygénases pour la synthèse des leucotriènes ; selon le schéma suivant :



Le C18:2, acide gras essentiel permet la couverture des besoins plastiques de l'organisme. Il est indispensable à la croissance de l'enfant, à la régénération des tissus et au niveau des terminaisons nerveuses.

○ L'acide linoléique servira à la biosynthèse des AGPI supérieurs de la famille (n-3) EPA et DHA. Les AGE en n-3 ont un effet hypotriglycéridémiant et modérateur sur la biosynthèse de la thromboxane A₂, expliquant le rôle protecteur de ces AGE n-3 vis-à-vis des maladies cardio-vasculaires.

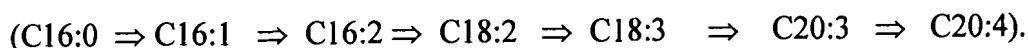


Les acides gras à 20 et 22 atomes de carbone de cette famille (n - 3) ont un rôle spécifique dans le développement et la physiologie du cerveau et de la rétine (Bourre, 1986 ; SPEAKE et *al.*, 1997 ; DOMMELS et *al.*, 2002) .

Une carence en acides gras essentiels peut entraîner chez le nourrisson ou chez le jeune enfant des troubles cutanés tel des dermatites atopiques. Le lait maternel permet d'assurer un apport en acides gras de la famille n-6 alors que le lait de vache en contient très peu.

Chez l'adulte, la carence en acides gras insaturés peut entraîner des troubles cardio-vasculaires. Celle de l'acide linoléique provoque des anomalies de la vision et des troubles neurologiques.

o L'acide palmitique, servira quant à lui à la synthèse des acides gras de la famille palmitoléique (n-7) selon la série de réaction suivante :



L'acide C16:0 intervient aussi dans le métabolisme énergétique du myocarde (WANG *et al.*, 1998).

En général, les acides gras saturés comme l'acide palmitique (C16:0) ou l'acide stéarique (C18:0) rigidifient la membrane pouvant provoquer des troubles cardiovasculaires (WANG *et al.*, 1998) et même altérer l'activité cérébrale (DOMMELS *et al.*, 2002; ROBERFROID, 2002).

2.5. Recommandations nutritionnelles en acides gras des lipides alimentaires

Actuellement, il est établi que les maladies cardio-vasculaires représentent une des causes les plus importantes de mortalité dans les pays industrialisés. Ainsi, en France, elles occupent la seconde place après les cancers (DUCIMETIERE, 1992). Ce constat a permis aux organismes de santé de recommander la diminution de l'apport quotidien en lipides entre 30 et 35 % des calories totales (DUPIN, 2001 ; JACOTOT, 1992 ; BAUSTISTA *et al.*, 2001).

Depuis 40 ans, les études effectuées sur l'influence des différents acides gras (AG) sur le taux de cholestérol sanguin ont montré que les graisses saturées augmentent ce taux alors que les acides gras poly insaturés (AGPI) le diminuent (HEGSTED *et al.*, 1993). Cependant, un excès d'apport en AGPI peut être responsable d'une augmentation de peroxydes d'AG si l'apport en antioxydants (comme la vitamine E) n'est pas suffisant (REAVEN *et al.*, 1993) provoquant la formation in vivo de radicaux libres délétères. Pour éviter ces radicaux libres, il est souhaitable que les acides gras saturés (AGS), les AGPI et les acides gras mono insaturés (AGMI) représentent respectivement 25, 15 et 60 % des AG totaux. Chez l'adulte, pour une ingestion journalière de 2700 Cal (soit 11290 kJ), il est souhaitable d'ingérer 9 à 12 g d'acide linoléique par jour (soit 4 % du contenu énergétique) et 0,8 % pour l'acide linoléique (DUPIN, 2001).

Chez les femmes enceintes ou allaitantes, un apport minimal de 4,5 % de l'énergie pour l'acide linoléique du régime est nécessaire, pour préserver l'équilibre entre les acides gras saturés et polyinsaturés, soit 15 à 18 g d'acide linoléique par jour. Chez le nourrisson (<12 mois), les besoins recommandés dans un rapport d'expert de la FAO/OMS publié en 1994 sont :

- lipides totaux : 35 – 50 % de l'énergie totale

- AGE et dérivés (mg/kg/jour) :
 - linoléique (C18:2 n-6) : 600
 - linoléinique (C18:3 n-3) : 50
 - 20 :4 n-6 et associés : 40
 - 22 :6 n-3 : 20
 - Rapport C18:2 n-6/C18:3 n-3 : 5 – 15
 - Rapport LC n-6/LC n-3 : 1 – 2

Avec, LC = acides gras polyinsaturés à longue chaîne ($C \geq 20$)

Cette notion de rapport est particulièrement importante. Un apport alimentaire équilibré en C18:2 n-6 et C18:3 n-3 (rapport = 5 à 15) va permettre donc un métabolisme correct des dérivés à longue chaîne issus de 2 AGE et donc un développement correct de l'enfant.

Pour les personnes âgées, l'apport optimal en acide linoléique recommandé se situe entre 5 et 8g avec un rapport (C18:2n-6)/(C18:3n-3) entre 4 et 10.

Ainsi, pour mettre en évidence l'intérêt nutritionnel d'un AG alimentaire, il faut prendre en compte non seulement sa teneur dans les TAG, mais également, et surtout, sa répartition entre les positions α , α' et β du glycérol, c'est - à- dire sa répartition.

3. Structure et importance nutritionnelle des TAG

3.1. Stéréochimie de la molécule de glycérol et des acylglycérols

Si l'on regarde la molécule de glycérol dans le plan, selon la convention de HIRSCHMAN proposée en 1960, le carbone central de la molécule de glycérol lié à H (C-H) est considéré comme s'éloignant de l'observateur, les trois groupements hydroxyles étant numérotés dans le sens de rotation des aiguilles d'une montre.

(Figure 8)



Figure 8: Diagramme schématique illustrant la convention de numérotation stéréospécifique de HIRSCHMAN (LITCHFIELD, 1972)

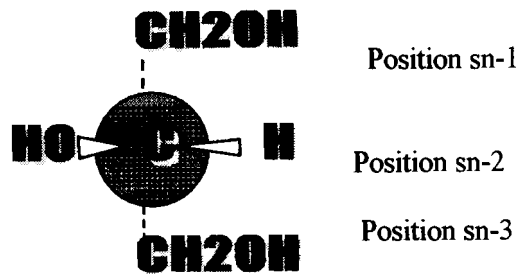


Figure 8bis : Numérotation stéréospécifique appliquée à la projection plane de FISCHER, (LITCHFIELD, 1972)

La position 2 est définie comme le groupement hydroxyle directement attaché à l'atome de carbone central. Cette disposition correspond à la projection standard de FISCHER dans laquelle le groupement hydroxyle central est localisé sur le côté gauche de la chaîne carbonée tandis que les atomes de carbone sont numérotés du haut vers le bas. (Figure 8bis)

Le préfixe « **sn** » qui signifie « stéréospécifiquement numéroté » est inclus dans le nom de tous les dérivés du glycérol pour lesquels la convention de HIRSCHMAN est retenue.

Il indique que les acides gras sont disposés en respectant l'ordre de fixation sur les positions sn-1, sn-2 et sn-3 du glycérol.

D'autres préfixes sont aussi utilisés pour désigner la position des acides gras sur le glycérol :

- α sert à désigner les deux groupements hydroxyles primaires qui sont les positions sn-1 et sn-3 ;
- β désigne le groupement hydroxyle secondaire qui est sur la position sn-2. Dans un triacylglycérol, la position β indique l'acide gras qui occupe le carbone central sur la position sn-2 ou β du glycérol. Il peut s'agir d'un énantiomère pur d'un mélange racémique ou d'un mélange en proportion inégale de deux énantiomères.

Parfois, on a le préfixe « **rac** » (**racemo**), qui précède le nom des acylglycérols et désigne l'acide gras en position interne sn-2 du glycérol. On aura aussi un mélange équimoléculaire ou racémique de deux énantiomères. Il faut noter que la position des deux autres acides gras n'est pas spécifique sur les positions sn-1 et sn-3.

Par exemple : rac-C16:0 C18:1C18:2 est composé de deux isomères, C16:0-C18:1-C18:2 et

C18:2-C18:1-C16:0 en même proportion.

Dans l'étude de la structure des triacylglycérols qui va suivre, les fractionnements d'acylglycérols se feront soit selon le nombre total d'atomes de carbone des trois groupes acyle appelé nombre de carbone, soit selon le nombre total de doubles-liaisons, appelé degré d'insaturation ou les deux.

3.1.1. Isomérisie de position ou β -isomérisie

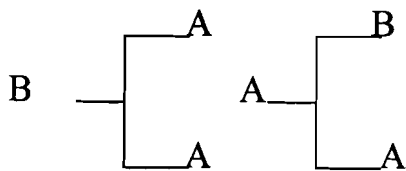
Les travaux antérieurs sur l'étude des acides gras estérifiant les hydroxyles du glycérol ont porté sur l'identification de celui qui se trouvait en position centrale sn-2, encore appelée β .

Un β isomère regroupe les triacylglycérols présentant les mêmes groupes acyle. Par exemple si A, B, C sont les trois groupes acyle différents, un triacylglycérol triacide regroupera trois β - isomères qui seront représentés comme suit : A-B-C, B-A-C, A-C-B.

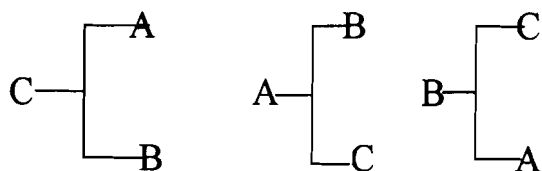
Dans ce cas, les groupes acyle présents sur les positions sn-1 et sn-3 ne sont pas connus. Leur ordre est arbitrairement choisi dans les triacylglycérols.

Un triacylglycérol diacide présentant seulement deux groupes « acyle » différents (par exemple A et B) regroupera deux β - isomères à savoir A-A-B et A-B-A.

β isomères



Triacylglycérols diacides



Triacylglycérols triacides

3.1.2. Stéréoisomères, molécules chirales énantiomères

La stéréoisomérisie ou isomérisie stérique fait intervenir la configuration des molécules, c'est-à-dire l'arrangement spatial des liaisons d'un ou de plusieurs atomes sans modification de ces liaisons. Les stéréoisomères ont des formules moléculaires et des formules planes identiques. Leurs différences ne peuvent être montrées qu'avec des représentations dans l'espace. Ces molécules sont appelées isomères optiques.

Isomérisation optique

L'isomérisation optique est due à une dissymétrie de la molécule, (c'est-à-dire à un arrangement des atomes dans l'espace) telle qu'elle ne soit pas superposable à l'image qu'en donne un miroir plan".

Une substance organique dont les molécules ne possèdent pas d'axe de rotation réflexion (sn) est dite chirale. Il s'agit d'un mélange de molécules de deux types différents, symétriques l'un de l'autre par rapport à un plan. Ces molécules sont appelées énantiomères (ou inverses optiques ou énantiomorphes ou encore antipodes optiques).

L'origine la plus courante de la chiralité donc de l'isomérisation qui lui correspond, est la présence dans une molécule d'un centre d'asymétrie. On appelle ainsi un atome portant des substituants différents. Il s'agit, d'un atome de carbone tétravalent et la molécule qui le contient ne peut posséder ni plan, ni centre de symétrie. Il existe donc, pour une telle molécule, deux dispositions différentes non-superposables de ces substituants autour du carbone asymétrique.

Activité optique

Toute substance chirale possède la particularité d'être optiquement active ou "douée de pouvoir rotatoire". Lorsqu'un faisceau de lumière polarisée plane la traverse, elle provoque une rotation du plan de polarisation de cette lumière. Cette propriété est la seule qui permet de différencier les deux énantiomères d'une substance chirale ayant tous les autres caractères physiques et chimiques identiques. Leur pouvoir rotatoire identique en valeur absolue, est de signe contraire.

L'énantiomère qui fait tourner le plan de polarisation vers la droite (+) est dit dextrogyre (d ou droit), l'autre qui le fait tourner vers la gauche (-) est dit lévogyre (l ou gauche) comme le montre sur la figure 9 :

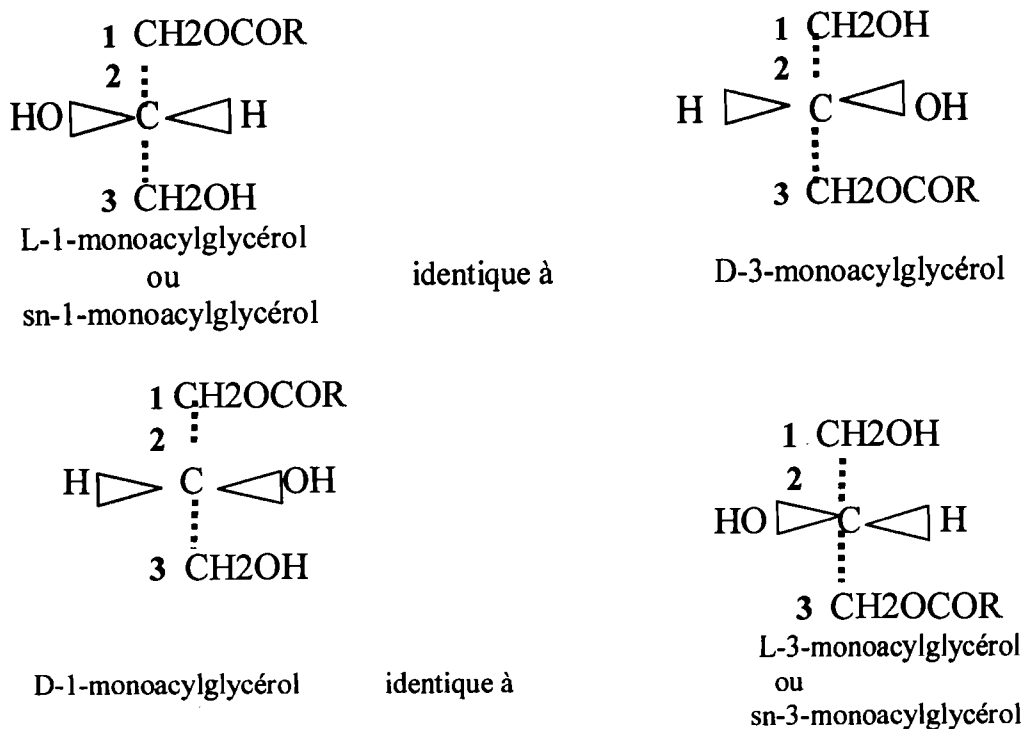


Figure 9 : Exemple d'isomérisie optique des monoacylglycérols
(le sn-3-monoacylglycérol est isomère optique du sn-1-monoacylglycérol)

Les réactions conduisant à un composé chiral, soit fournissent autant de molécules dextrogyres que lévogyres inactives appelées mélange racémique (noté dl ou \pm) ; soit produisent une plus forte proportion de l'un des énantiomères ; ce sont les réactions asymétriques.

Relation de diastéréoisomérisie

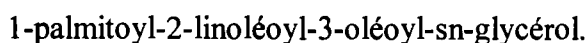
En faisant agir un réactif optiquement actif sur un mélange racémique, on obtient deux composés qui ne sont pas énantiomorphes (ils ne sont pas images l'un de l'autre dans un miroir).



Ils sont seulement diastéréoisomères et leurs propriétés étant beaucoup plus différenciées, leur séparation est bien plus aisée que celle des antipodes optiques.

Représentation des isomères de triacylglycérols

Si l'on considère le triacylglycérol C16:0 C18:1 C18:2, qui présente les positions sn-1, sn-2 et sn-3, dans cet ordre de la gauche vers la droite, un des six isomères s'écrit :



3.2. Importance nutritionnelle des TAG

Cette importance est basée sur l'hydrolyse des AG en positions α et α' des TAG.

Sur le plan nutritionnel, les AG en position centrale sur le glycérol et ceux qui sont sur les positions externes du glycérol n'ont pas le même devenir après la digestion des TAG par la lipase pancréatique (DESNUELLE, 1986 ; SMALL, 1991 ; GLENCROSS et *al.*, 2002). En effet, les acides gras situés en positions externes des TAG sont hydrolysés préférentiellement ; ils peuvent être éliminés dans les matières fécales lorsqu'ils forment avec le calcium intestinal des sels insolubles.

En revanche, les AG situés en position centrale du glycérol sont préférentiellement et mieux absorbés au travers de la paroi intestinale, sous forme de β -monoacylglycérols (figure 10).

A partir de corps gras restructurés par interestérisation, des études ont montré que l'athérogénicité de l'acide palmitique est plus importante lorsqu'il est situé en position interne des TAG alimentaires (INNIS et *al.*, 1994 ; RENAUD et *al.*, 1995 ; KUBOW, 1996). En effet, c'est cette position qui, d'une part lui assure le coefficient d'absorption intestinal maximum, et d'autre part, lui permet de se maintenir à cette même position dans les lipides plasmatiques, contribuant ainsi à augmenter son pouvoir athérogène. Ce constat explique le danger de la consommation de graisse de porc, riche en AGS en position interne, qui a un effet néfaste vis à vis des maladies coronariennes. Par contre, la consommation d'huile de palme très riche en acide palmitique se trouvant majoritairement sur les positions externes, n'aggrave pas le risque de thrombose chez le rat (HORNSTRA et LUSSENBURG, 1973).

En ce qui concerne les AG essentiels (C18:2, C18:3), leur biodisponibilité serait corrélée à leur proportion en position β dans les TAG alimentaires. En effet, la digestibilité des AGPI à longue chaîne est médiocre lorsqu'ils sont situés en positions externes par rapport à la position β (MATTSON et *al.*, 1973).

En 1989, CLOUET et *al.* ont montré que le métabolisme oxydatif *in vivo* de l'acide α -linoléique libre est très rapide. Son maintien en position interne dans les TAG plasmatiques assurerait probablement sa protection contre une oxydation précoce, préjudiciable à sa fonction de précurseur de dérivés supérieurs (BEZARD et CLOUET, 1997).

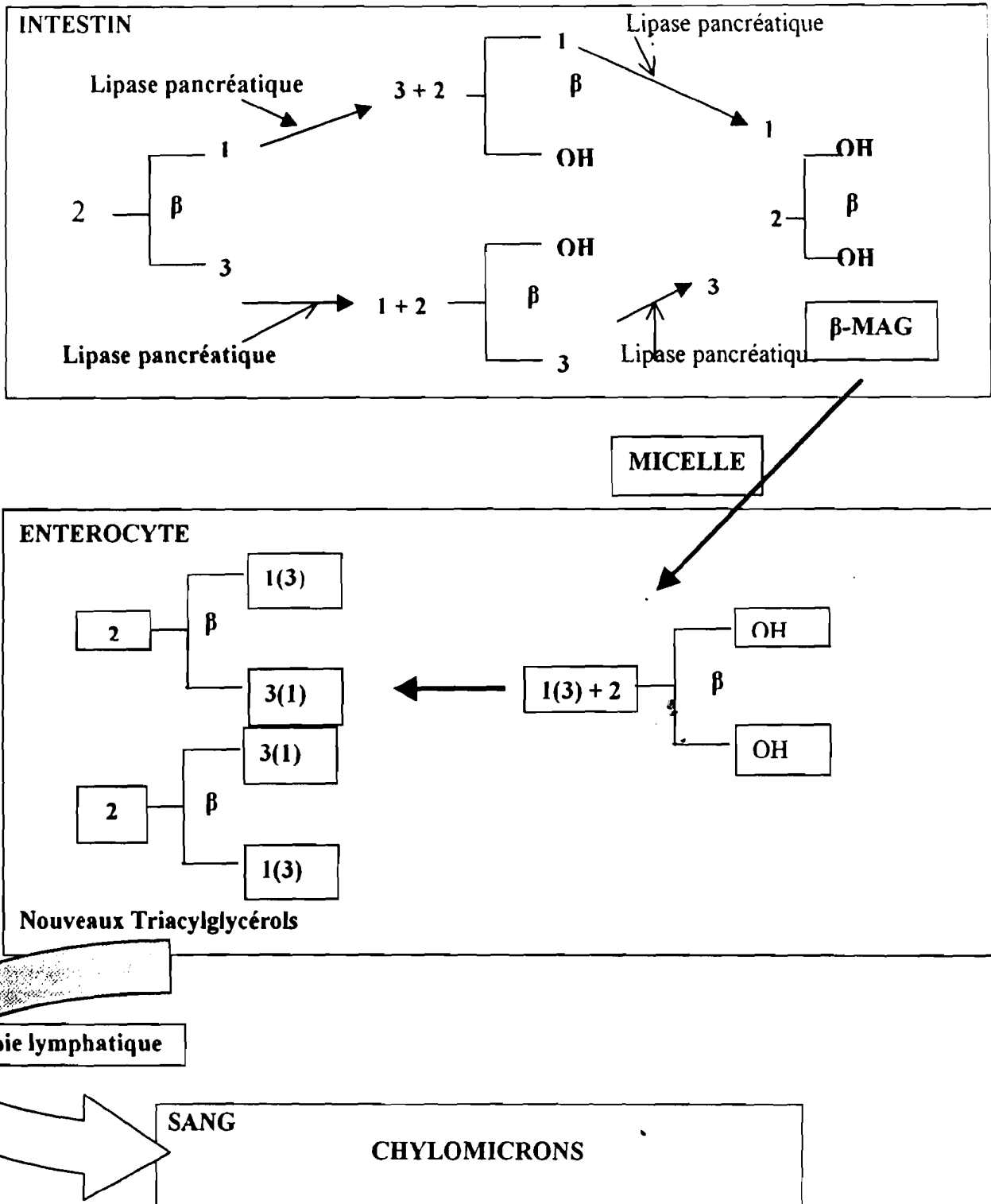


Figure 10: Digestion et Absorption des Triacylgcérols alimentaires

1, 3 : acides gras en position α et α' du glycérol ; 2 : acide gras en position interne ;

β : position interne du glycérol

(DESNUELLE, 1986 ; SMALL, 1991 ; GLENCROSS et al, 2002 ; MASSON, 2002)

IV. METHODES D'ETUDES DES TAG EN VUE DE L'EVALUATION IN VITRO DE L'INTERET NUTRITIONNEL.

1. Complexité des mélanges de triacylglycérols et méthodes théoriques de détermination de la composition en triacylglycérols (SEMPORE, 1991 et bibliographie citée)

1.1. Nombre théorique de triacylglycérols

A partir de la nature et du nombre d'acides gras présents dans un mélange naturel quelconque de triacylglycérols, il est possible de prévoir le nombre de triacylglycérols, de β -isomères et de stéréoisomères qui peuvent théoriquement exister dans ce mélange.

Ces valeurs qui rendent compte de la complexité des huiles et des graisses étudiées, orientent souvent utilement sur le choix des méthodes chromatographiques analytiques et préparatives qui pourront être utilisées. Ce choix devra aboutir à des fractions aussi simples que possibles pour permettre la détermination de la composition en triacylglycérols.

1.2. Nombre de triacylglycérols, β -isomères et stéréoisomères

Il est possible de calculer le nombre total de TAG, de β -isomères et de stéréoisomères d'une huile, lorsque les triacylglycérols de cette huile comportent n acides gras différents. Le nombre possible de triacylglycérols est donné par la formule :

$$\frac{n^3 + 3n^2 + 2n}{6}$$

Cette formule représente la somme de:

n	types de triacylglycérols monoacides	AAA
$n^2 - n$	types de triacylglycérols diacides	AAB
$\frac{n^3 - 3n^2 + 2n}{6}$	types de triacylglycérols triacides	ABC

où A, B, C représentent trois acides gras différents.

Si n est le nombre des acides gras différant seulement par leur nombre de doubles-liaisons, on aboutit par un calcul identique au nombre de classes de triacylglycérols possibles.

Si n représente le nombre des acides gras différant uniquement par leur nombre d'atomes de carbone, il existe $3n - 2$ groupes de triacylglycérols possibles.

Le nombre de β -isomères et de stéréo-isomères est obtenu respectivement par les formules :

$$\begin{aligned} \text{nombre de } \beta \text{-isomères : } & \frac{n^3 + n^2}{2} \\ \text{nombre de stéréoisomères : } & n^3 \end{aligned}$$

Elles constituent respectivement la somme de :

n	β -isomères monoacides	AAA
$2n^2 - 2n$	β -isomères diacides	AAB
$\frac{n^3 - 3n^2 + 2n}{2}$	β -isomères triacides	ABC

et de :

n	stéréoisomères monoacides	AAA
$3n^2 - 3n$	stéréoisomères diacides	AAB
$n^3 - 3n^2 + 2n$	stéréoisomères triacides	ABC

L'application de ces formules à :

- l'huile d'arachide qui a 9 acides gras dans les triacylglycérols totaux, montrent qu'elle contient 165 types de triacylglycérols, 405 β -isomères, 729 stéréoisomères ;
- l'huile de coton avec 6 acides gras renferme 56 triacylglycérols, 126 β isomères et 216 stéréoisomères ;
- le beurre avec ses 142 acides gras différents présente 2 863 288 espèces moléculaires possibles.

Ces grands nombres de molécules, auxquels s'ajoutent les similitudes de leurs propriétés chimiques et physiques, expliquent la complexité de la détermination de la structure complète (triacylglycérols, β -isomères et stéréoisomères) d'une huile ou d'une matière grasse.

2. Détermination de la structure des triacylglycérols

L'étude de la structure des triacylglycérols a été la détermination de la composition en triacylglycérols dont la nature des trois acides gras constitutifs est connue sans connaître leur position sur le glycérol.

A cet effet, les triacylglycérols totaux étaient fractionnés en fonction du degré d'insaturation et/ou de la longueur de chaîne des acides gras constitutifs.

La chromatographie liquide de partage à phase inversée permet la séparation des triacylglycérols en fonction du nombre de partition (NP) ou du nombre de carbone équivalent. Celui-ci se calcule par la formule : $NP = NC - 2DL$

- NC représente le nombre total des atomes de carbone des trois chaînes d'acides gras (celui du glycérol n'est pas pris en compte),
- DL le nombre total de doubles liaisons.

Grâce à la chromatographie liquide à haute performance (CLHP) avec l'introduction de phases liées aux particules de silice qui ont amélioré les séparations de TAG: cas des

colonnes préparées à partir de microparticules de silice sur lesquelles sont greffés des groupes aliphatiques octadécyle (CH-18). A partir de cette technique, plusieurs mélanges de TAG ont été séparés en recueillant à la sortie de la colonne les fractions de TAG séparées. L'analyse des acides gras par chromatographie en phase gazeuse a donné des résultats qui ont permis d'estimer la composition en TAG de l'huile.

Certains auteurs ont, en utilisant du [¹⁴C] trioléoylglycérol, affiné la méthode de collecte des fractions de TAG en chromatographie liquide à haute performance. Ils ont ainsi pu réduire au maximum ou même éviter les contaminations entre pics. Ils ont aussi montré que la proportion relative des différentes fractions séparées pouvait être déterminée par la mesure de l'aire des pics correspondants avec une précision acceptable. Les mêmes auteurs ont appliqué la technique mise au point aux TAG totaux de l'huile d'arachide, aux TAG totaux et aux classes de TAG de l'huile de coton. Cette application leur a permis de calculer, après analyse des acides gras de chaque fraction collectée, par chromatographie gaz liquide, la proportion des principaux types de TAG de ces huiles.

L'utilisation actuelle de colonnes très performantes (support de 5, 4 ou 3 µm de diamètre) entraîne une amélioration notable des séparations. Avec ces colonnes, pour les huiles les moins complexes, un pic sur le chromatogramme correspond généralement à un type de TAG individuel. La notion du nombre de partition n'est plus alors suffisante pour caractériser ces séparations, car deux TAG ayant le même nombre de partition sont maintenant bien séparés.

Ce type de colonne ou de séparation pose donc deux types de problème :

- identifier le type de TAG représenté par un pic du chromatogramme (aspect qualitatif),
- déterminer la proportion des différents types de TAG présents dans le mélange (aspect quantitatif).

La méthode la plus précise pour déterminer la proportion des TAG individuels présents dans un mélange consiste à collecter les fractions de TAG correspondant aux pics sur les chromatogrammes, à la sortie du détecteur. L'addition à chaque fraction, d'une quantité connue d'un acide gras absent de l'huile étudiée, généralement un acide gras à nombre impair d'atomes de carbone, permet de calculer la quantité de TAG après analyse par chromatographie en phase gazeuse des acides gras. Cependant, cette méthode est longue et avec les colonnes très performantes qui séparent pratiquement les

mélanges en TAG individuels, il est souhaitable de pouvoir déterminer la composition en TAG d'une huile, directement à partir du chromatogramme.

La solution de ce problème est surtout liée au type de détecteur utilisé. Avec les détecteurs les plus couramment utilisés, à savoir les réfractomètres différentiels et les détecteurs spectrophotométriques dans l'ultra-violet (UV), les aires des pics dépendent de la nature des molécules éluées.

Avec un "détecteur à ionisation de flamme" on peut déterminer directement la proportion entre les aires des pics et les masses injectées.

Avec le détecteur de masse, les résultats rapportés, montrent que ce détecteur, s'il présente l'avantage d'être compatible avec des gradients d'élution (tout comme les détecteurs UV et les détecteurs à ionisation de flamme), manque de linéarité vis-à-vis de la masse des TAG. Les aires des pics les plus grands sont légèrement surestimées par rapport à celles des pics les plus petits. Les proportions relatives déterminées pour les différents TAG de différentes insaturations d'un mélange commercial sont cependant nettement meilleures (plus proches des valeurs nominales) que celles déterminées par l'intermédiaire d'une **détection UV** (à 215 nm).

Avec le "**détecteur à diffusion de lumière laser**" l'analyse quantitative des TAG des mélanges complexes ne donne pas une réponse linéaire, mais proportionnelle à une puissance x de la masse injectée. La seule contrainte qu'impose ce détecteur est son calibrage. Il faut de temps en temps déterminer l'exposant x de l'équation: aire = (masse)^x et corriger les aires obtenues en fonction de la valeur de x aire corrigée = (aire mesurée).

3. Détermination de la composition en TAG

L'analyse quantitative des TAG menée sans coefficients de correction a donné des résultats en parfaite conformité avec les données de la chromatographie en phase gazeuse. En raison de la nécessité de collecter des échantillons pour les analyses stéréospécifiques ultérieurement envisagées, **le réfractomètre différentiel** a été préféré à la plupart des autres détecteurs (détecteur à ionisation de flamme, détecteur de masse ou détecteur à diffusion de la lumière laser) dans nos études quantitatives des TAG de l'huile.

Dans ces conditions, les proportions des TAG de l'huile étudiée ont d'abord été déterminées par la méthode classique de standardisation des fractions collectées. Ensuite des coefficients de réponse du détecteur ont été établis en utilisant la méthode

de normalisation interne qui compare pour chaque TAG, sa masse en pourcentage d'un mélange standard, à la surface du pic correspondant exprimée en pourcentage de l'ensemble des aires des pics de ce mélange.

3.1. Etude de la distribution intrapositionnelle des acides gras dans les molécules de triacylglycérols

Les TAG présents dans une huile sont des mélanges d'isomères dont le nombre et la nature sont liés, d'une part, à la nature de leurs groupes acyle, et, d'autre part, à la stéréochimie du glycérol.

Leur identification est nécessaire à la définition de la structure complète des mélanges de TAG. La structure chimique du glycérol permet de distinguer deux types d'isomérisation dans les molécules de TAG :

- Une isomérisation plane de position caractérisée par la nature des acides gras estérifiés en position interne, sn-2 du glycérol ;
- Une stéréoisomérisation liée à la présence des groupes acyle sur les hydroxyles primaires en position sn-1 et sn-3.

L'étude des acides gras estérifiés en position sn-2 des triacylglycérols a été rendue possible. On a pu développer à partir de 1955, parallèlement aux analyses chromatographiques, une technique d'hydrolyse enzymatique reposant sur la chémospécificité d'action de la lipase pancréatique. L'enzyme hydrolyse préférentiellement les esters des fonctions alcool primaire du glycérol, c'est-à-dire ceux en position sn-1 et sn-3.

L'analyse des triacylglycérols partiels résultants permet de connaître la nature et la proportion des acides gras estérifiés en position centrale et par conséquent celles des β -triacylglycérols.

L'hydrolyse par la lipase pancréatique a été largement utilisée pour déterminer

- soit la distribution des acides gras sur la position interne des triacylglycérols
- soit la composition en β -isomères des triacylglycérols de nombreuses graisses et huiles animales et végétales

Seuls les 2-monoacylglycérols ont été exploités dans les calculs de composition en isomères. Ils n'ont généralement pas permis d'aboutir à des compositions précises en sn-2 triacylglycérols sauf dans le cas des mélanges de TAG obtenus après double fractionnement par chromatographie sur couches minces de silicagel imprégné de nitrate d'argent et par chromatographie gaz liquide.

3.2. Analyse régiospécifique

L'identification de tous les isomères de position des triacylglycérols implique la détermination de la nature et de la proportion des acides gras estérifiés en position sn-1, sn-2 et sn-3 du glycérol. Elle nécessite donc, non seulement l'étude des acides gras estérifiés en position interne des triacylglycérols mais également que soient différenciés les acides gras en position 1 de ceux en position 3 (figure 11).

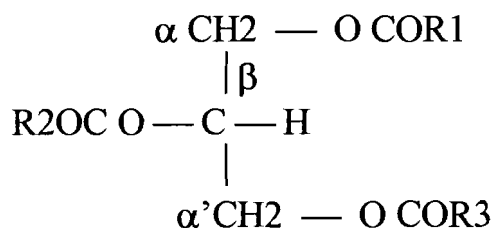


Figure 11 : Structure d'un triacylglycérol (TAG)

En théorie, déterminer la régidistribution en AG de TAG devrait consister simplement à isoler les deux positions externes de la position interne β des TAG, et à les analyser directement sans effectuer aucun calcul.

En pratique, cette détermination est beaucoup plus contraignante car il est indispensable que la technique de déacylation génère des glycérides partiels " représentatifs " c'est-à-dire que leur profil en AG corresponde parfaitement à la distribution initiale en AG des TAG à analyser. Cela implique que le réactif de déacylation, d'une part ne présente aucune sélectivité (vis à vis d'un AG ou d'une position) et d'autre part n'entraîne pas de migration d'acyles d'une position à l'autre, pendant ou après la dégradation. Deux voies peuvent être utilisées :

3.2.1. Voie enzymatique

Il dispose d'une enzyme sn-1,3 régiosélective comme la lipase pancréatique utilisée pour l'hydrolyse ménagée des TAG et la libération de β -MAG (LUDDY et *al.*, 1964 ; ENTRESSANGLES et *al.*, 1966 ; SEK, 2001).

Cette méthode normalisée (AFNOR, 2000) permet l'analyse directe de la position interne par la composition en AG des β -MAG libérés (figure 12). La répartition externe de chaque AG est calculée selon la relation suivante :

$$3 \text{ At} = 2\text{Ae} + \text{Ai}$$

où pour un AG A les indices e, i et t désignent respectivement les concentrations molaires en positions externes, interne et totale.

Toutefois, en raison des particularités d'action du biocatalyseur, la méthode enzymatique ne s'applique pas sans restriction aux corps gras :

- soit ayant un point de fusion supérieur à 45°C (AFNOR, 2000),
- soit renfermant des quantités importantes d'AG à 12 atomes de carbone,
- ou d'AG à 20 atomes de carbone ou plus et d'insaturation élevée (LAWSON et *al.*, 1988),
- soit possédant des fonctions oxygénées secondaires (AFNOR, 2000).

3.2.2. Voie chimique

Dans l'analyse de ces corps gras particuliers, le chimiste met à profit la non-sélectivité des organomagnésiens (BECKER et *al.*, 1993 ; CHRISTIE, 1982 ; MUDERHWA et *al.*, 1987) pour débiter la détermination par une déacylation partielle des TAG.

Le magnésien rompt les liaisons esters en transformant les AG en alcools tertiaires et en libérant sans altération l'alcool initialement inclus dans la liaison ester.

Cette brève dégradation ménagée conduit à un mélange de glycérides partiels, en théorie représentatifs de la structure triglycéridique. Cependant, au cours de la déacylation et du traitement permettant l'arrêt de la dégradation et l'isolement de la phase grasse, d'inévitables migrations d'acyles se produisent et viennent contaminer par isomérisation tous les glycérides partiels nouvellement formés.

Le choix du type d'acylglycérol à utiliser pour déterminer la répartition des AG sur les TAG à analyser est essentiel. En effet, depuis longtemps, les α et β -diacylglycérols (DAG) néo-formés ont été les seuls utilisés pour calculer la répartition des AG sur les TAG, étant donné que les MAG n'étaient pas représentatifs de la structure triglycéridique. Dès lors que les conditions de déacylation ont été changées, la répartition en AG est obtenue directement par l'analyse des α et β -MAG formés (BECKER et *al.*, 1993 ; ANGERS, 1999).

Dans ce travail, nous n'étudierons que les acides gras en position interne β après la lipolyse des acides gras se trouvant sur les positions externes du glycérol par la lipase pancréatique.

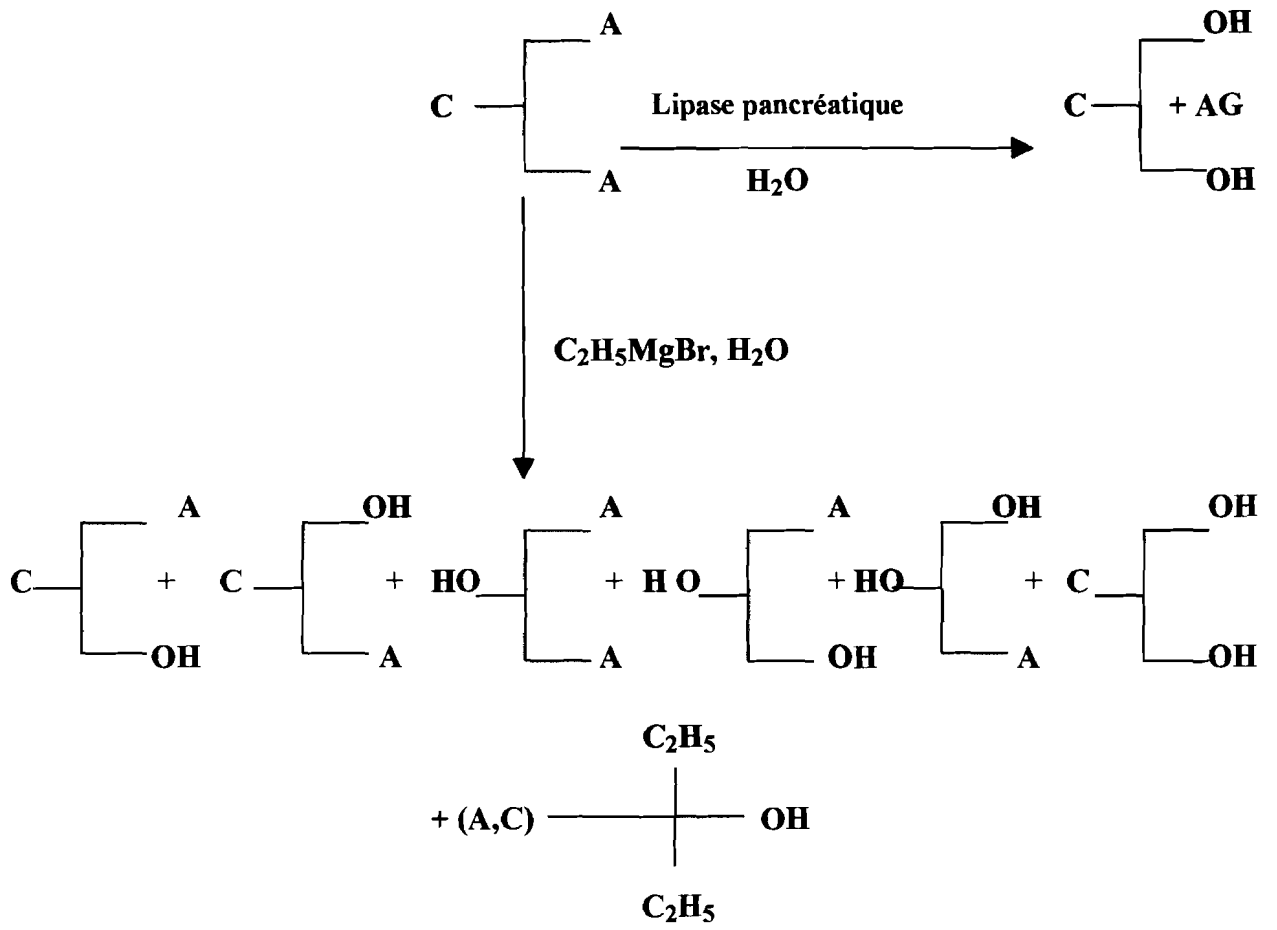


Figure 12 : Analyse par voie chimique et enzymatique de la réiodistribution en AG et TAG. (AFNOR, 2000)

CHAPITRE II

ETUDE IN VITRO DE L'INTERET NUTRITIONNEL DE L'HUILE DE LA PULPE DE SAFOU PAR LA DETERMINATION DES ACIDES GRAS EN POSITION INTERNE DANS LES TRIACYLGLYCEROLS

I. POSITION DU PROBLEME

L'huile de la pulpe de safou contient des teneurs relativement élevées d'acides oléique ($18:1\ n-9 = 15$ à 30%) et linoléique ($C18:2\ n-6 = 18$ à 27%) ; seulement, ces lipides contiennent beaucoup d'acide palmitique ($C16:0 = 45$ à 50%) (SILOU et *al.*, 1991 ; SILOU et *al.*, 2000a ; UCCIANI et BUSSON, 1963 ; KIAKOUAMA et SILOU, 1987 ; SILOU, 1991 ; KINKELA et BEZARD, 1993 ; SILOU et *al.*, 1991 ; KALENDA et *al.*, 2002).

Cette teneur élevée d'acide palmitique nous a amené à approfondir l'étude des TAG pour en déterminer la structure chimique (SEMPORE et BEZARD, 1977 ; LITCHFIELD, 1972). En effet, il ne suffit pas de connaître les acides gras d'une huile et en déduire son importance dans la nutrition humaine ; mais ce qui est important pour l'organisme est de déterminer leur emplacement dans la structure des TAG ; les acides gras (AG) placés sur la position interne des TAG seront absorbés et véhiculés sous cette forme jusqu'aux lieux d'utilisation pour assurer les besoins énergétiques et plastiques de l'organisme.

Pour étudier ces AG en position interne, il faut avoir des TAG purs dépourvus de toute contamination. Pour cette raison, dans ce travail, nous avons entrepris de purifier d'abord la fraction triglycéridique avant de déterminer les AG qui occupent la position β (position interne des TAG). La connaissance de ces AG qui occupent cette position interne nous permettra d'évaluer l'intérêt nutritionnel de l'huile de la pulpe de safou.

Comment avons –nous procédé ?

II. MATERIELS ET METHODES

1. Préparation de la fraction triglycéridique

1.1. Extraction des lipides totaux

Les safous sont lavés, puis pesés entiers avant d'être ouverts pour dégager la graine.

La pulpe fraîche est séchée à l'étuve à 105°C pendant 6 h ; elle est broyée par la suite.

La poudre ainsi obtenue est utilisée pour l'extraction des lipides totaux dans un soxhlet avec l'éther de pétrole pendant 5h. L'extrait est séché sur du sulfate de sodium et filtré.

Après évaporation du solvant à l'aide d'un rotavapor, l'huile obtenue est séchée pendant 24 h à l'étuve à 105°C.

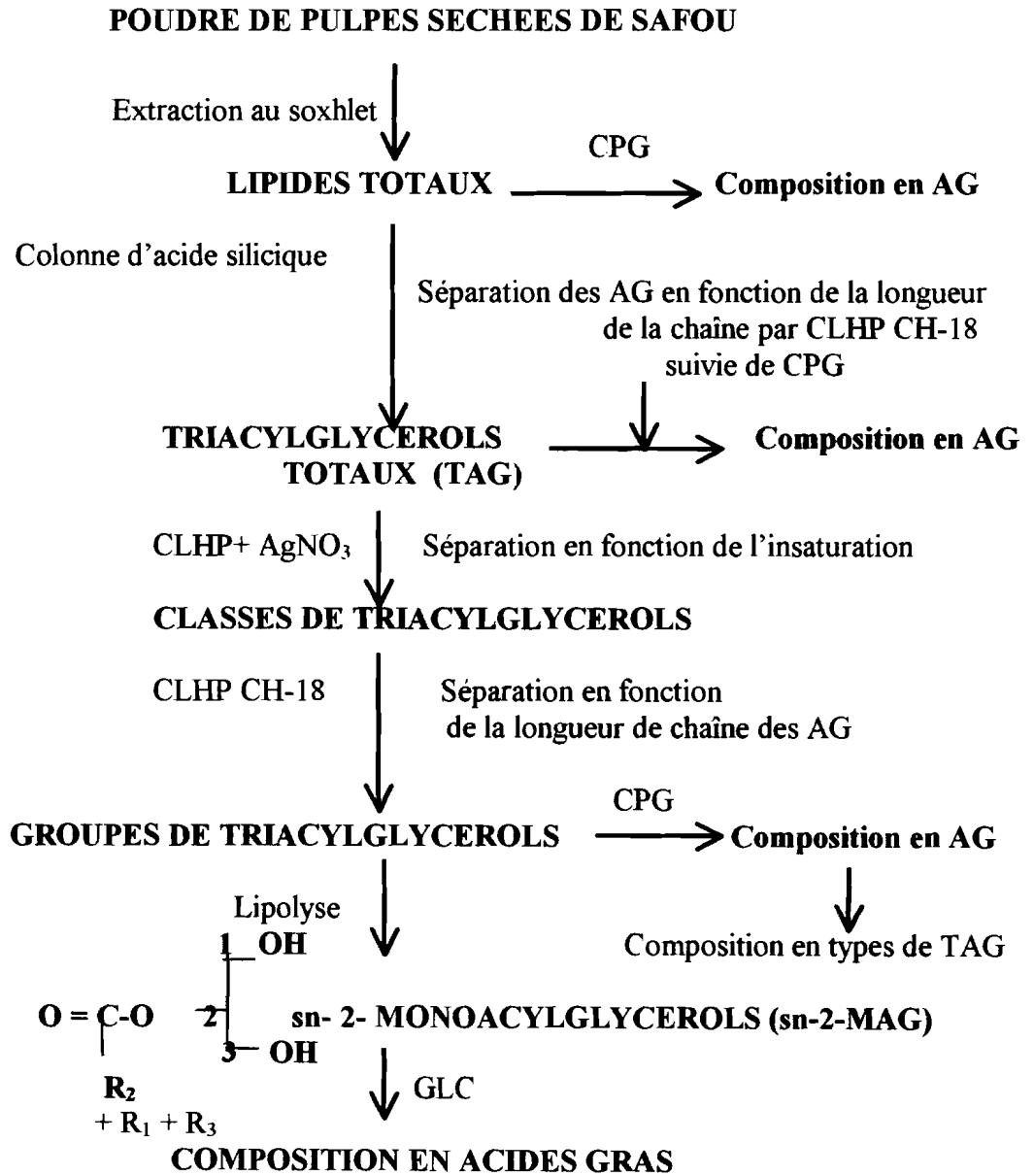


Figure 13 : Schéma du protocole expérimental général.

MAG, représente les MonoAcylGlycérols et. R_1 , R_2 , R_3 sont les groupements acyl en position sn-1, sn-2 et sn-3 des TAG d'origine.

1.2. Séparation des TAG

1.2.1. Purification des triacylglycérols (TAG) par chromatographie sur colonne d'acide silicique

Pour pouvoir travailler avec une grande quantité de TAG, la chromatographie sur colonne d'acide silicique est utilisée ; la chromatographie sur couche mince est utilisée dans ce cas pour vérifier seulement la pureté des TAG récupérés.

Les TAG totaux de l'huile de la pulpe de safou sont isolés des lipides totaux par chromatographie sur colonne d'acide silicique selon FILLERUP et MEAD (1953).

Lavage de l'acide silicique

Dans une colonne en verre dont l'extrémité inférieure est protégée par du coton de verre, 45 g d'acide silicique 100 mesh sont introduits. On fait passer successivement sous vide partiel (12 mm de mercure) les solvants suivants :

- 100 ml d'acétone,
- 100 ml d'éther éthylique,
- 100 ml de pentane,

pour laver la colonne remplie d'acide silicique afin de la débarrasser de toute contamination par des lipides.

Une quantité connue de lipides totaux (500 mg) est déposée sur l'acide silicique. Puis, l'échantillon est élué avec des solvants de polarité croissante selon l'ordre suivant :

- 200 ml de pentane à 3 % d'éther éthylique en volume,
- 300 ml de pentane à 8 % d'éther éthylique en volume,
- 200 ml de pentane à 20 % d'éther éthylique en volume,
- 200 ml de pentane à 30 % d'éther éthylique en volume,
- 200 ml d'éther éthylique,
- 200 ml de méthanol.

L'éluat est recueilli à la sortie de la colonne par fraction de 25 ml dans des ballons de 50 ml. Chaque fraction est évaporée au rotavapor et reprise par 0,5 ml de chloroforme.

Cette méthode permet de bien séparer les TAG des autres classes de lipides et d'obtenir des TAG totaux très purs et en quantité relativement importante.

Contrôle de la pureté des fractions de TAG par chromatographie sur couche mince

La pureté des fractions recueillies est testée sur chromato-plaques par chromatographie sur couches minces de gel de silice avec le système de solvants :

hexane – éther diéthylique – méthanol – acide acétique (90 : 20 : 3 : 2, en volumes) selon STAHL (1969), en utilisant les vapeurs d'iode pour visualiser les TAG totaux. Seules les fractions correspondant aux mélanges obtenus avec le pentane à 8 % et 20 % (3 %) d'éther éthylique contiennent des TAG totaux purs. Elles sont gardées dans un même ballon, préalablement taré.

1.2.2. Fractionnement des TAG purifiés en fonction de la longueur de la chaîne des acides gras par CLHP sur colonne CH-18 en phase inversée

Cette opération permet d'obtenir le chromatogramme général représentant les 5 pics majeurs caractéristiques de l'huile de la pulpe de safou. (Figure 14).

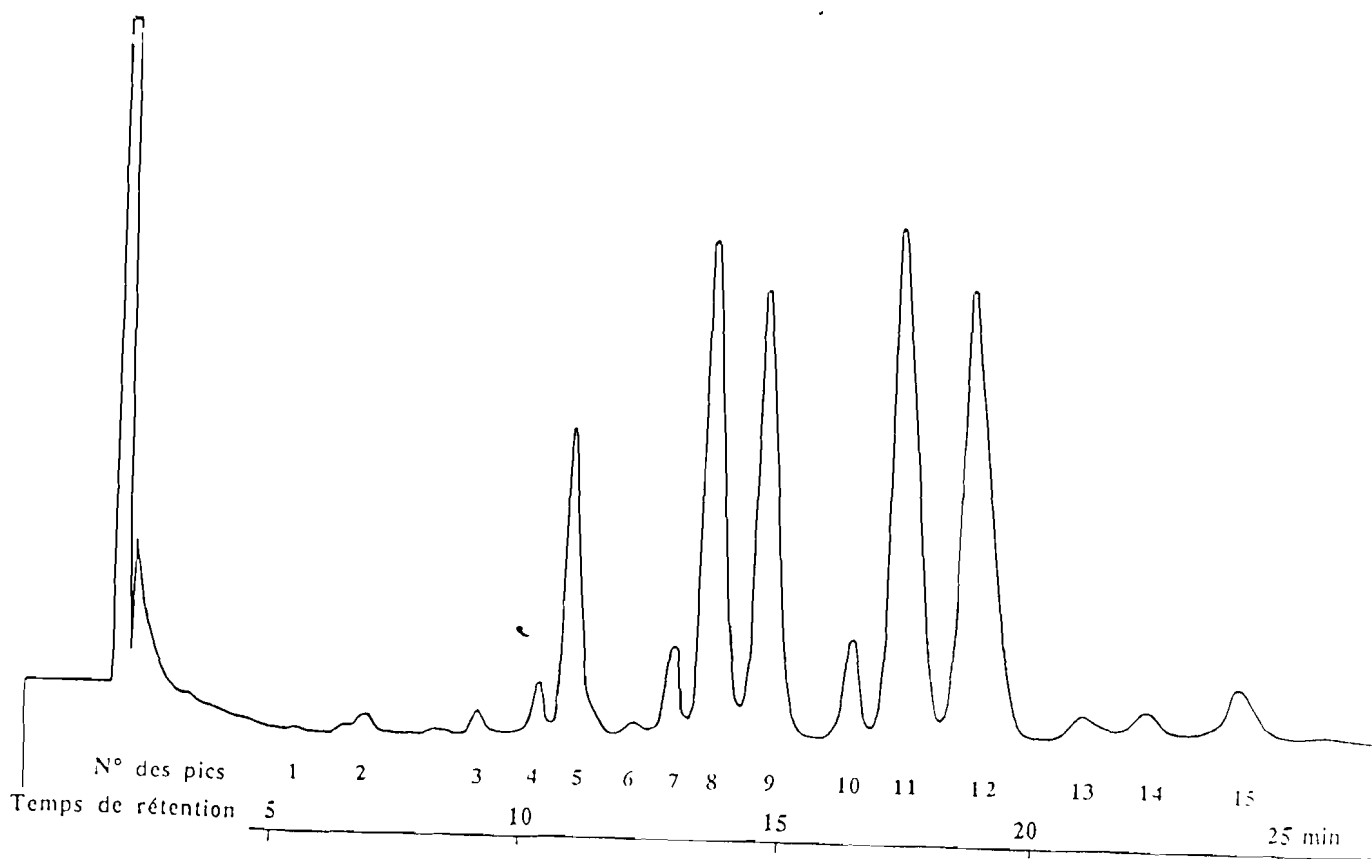


Figure 14 : Chromatogramme des triacylglycérols de l'huile de la pulpe de safou

Les TAG purifiés sont fractionnés par chromatographie liquide à haute performance (CLHP) en phase inverse à l'aide d'une colonne en acier inoxydable de 250 mm de longueur, de 4,6 mm de diamètre intérieur remplie de silice (4µm de diamètre) greffée de radicaux octadecyl (Hibar Lichrospher 100 CH-18) de chez Merck en utilisant la technique décrite par BEZARD et OUEDRAOGO (1980). La colonne est montée sur l'appareil Waters ALC : GPC 20, modèle 6000A, qui est muni d'un réfractomètre différentiel R 401 (Waters, Milford, MA, USA).

Les analyses sont effectuées à température ambiante (19 à 21°C), à l'aide d'une phase mobile dégazée, acétone – acétonitrile (70 :30, en volumes) avec un débit de 1 ml/min.

La fraction majeure de TAG est collectée à la sortie du détecteur (réfractomètre différentiel). Elle est ensuite rechromatographiée dans les mêmes conditions afin d'éliminer d'éventuels pics contaminants.

Les TAG récoltés sont soumis à la lipolyse pour déterminer leurs acides gras en position interne. Une partie aliquote de ces TAG est méthyliée pour connaître les acides gras constitutifs. Les esters méthyliques formés sont analysés par chromatographie en phase gazeuse.

Cependant, cette méthode a montré que l'interprétation des résultats obtenus lors de l'hydrolyse des TAG est parfois très imprécise.

A partir de ce constat, nous avons entrepris, **pour la première fois**, le fractionnement en classes de même degré d'insaturation les TAG de la pulpe de safou en **utilisant la chromatographie liquide à haute performance (CLHP) sur colonne d'acide silicique greffée de groupes sulfoniques et mise en présence d'ion Ag⁺**.

1.2.3. Fractionnement des TAG purifiés par CLHP sur colonne d'acide silicique en présence d'ion Ag⁺

Les TAG purifiés sont ensuite fractionnés en classes de même degré d'insaturation par chromatographie liquide à haute performance (CLHP) sur colonne d'acide silicique greffée de groupes sulfoniques et mise en présence d'ion Ag⁺. La colonne en acier inoxydable de 250 mm de longueur, de 4,6 mm de diamètre intérieur est remplie de particules de silice de 5 µm de diamètre (Nucleosil 5 SA de Touzart et Matignon, Paris, France). L'imprégnation par le nitrate d'argent se fait selon la méthode décrite par CHRISTIE (1986). La colonne est montée sur l'appareil de marque Waters ALC : GPC 20, modèle 6000A, qui est muni d'un réfractomètre différentiel R 401 (Waters, Milford, MA, USA).

Les analyses sont effectuées à température ambiante (19 à 21°C). La phase mobile est un mélange d'acétone – dichloroéthane (75 : 25, en volumes) avec un débit de 1 ml/min. Avant son utilisation, cette phase est d'abord dégazée sous vide pendant 5 minutes.

Chaque fraction de TAG correspondant à un pic sur le chromatogramme est recueillie à la sortie du détecteur qui est un réfractomètre différentiel R 401 (Waters). Elle est ensuite rechromatographiée dans les mêmes conditions afin d'éliminer d'éventuels pics contaminants. Les conditions d'analyse choisies nous ont permis d'avoir une séparation des pics contigus.

Les acides gras de chaque fraction isolée sont analysés par chromatographie en phase gazeuse (CPG) sous forme d'esters méthyliques après addition d'un standard interne, l'acide nonadécanoïque (C19:0), en quantité connue afin de déterminer la proportion de la fraction par rapport aux TAG totaux. (KINKELA et BEZARD, 1993).

1.2.4. Fractionnement de classes de TAG majeurs purifiés par CLHP sur colonne CH-18 en phase inversée

Chaque classe des TAG collectée à la sortie de la colonne d'acide silicique greffée de groupes sulfoniques et mise en présence d'ion Ag⁺ sont fractionnés par chromatographie liquide à haute performance (CLHP) en phase inverse selon la méthode utilisée plus haut (§ 1.2.2).

C'est avec cette méthode que les TAG purs ont été obtenus. Les TAG ainsi obtenus sont soumis à la lipolyse.

2. Analyse des TAG

2.1. Lipolyse des TAG

Les TAG obtenus sont hydrolysés par la lipase (EC 3.1.1.3, SIGMA, USA) issue du pancréas de porc.

Préparation des solutions

- Préparation de la lipase :
 - 5 mg de solide dans 1 ml de tampon Tris ;
 - quantité utilisée pour chaque essai : 100 µl (soit 10 essais).
- Préparation du tampon Tris-HCL, pH = 8 :
 - Trizma Base n°T : 1503 PM = 121,1
 - (Tris Hydroxyméthyl aminométhane, SIGMA)
 - 1 M = 121,1 g pour 1000 ml, soit 12,11 g pour 100 ml
 - CaCl₂ : 5 mg/ml soit 500 mg/100 ml

- Préparation du taurocholate :
 - 1g ‰ (1g pour 1000 ml soit 0,1g pour 100 ml, soit 100 mg pour 100 ml).

Protocole expérimental

Avant de lancer la lipolyse des TAG de l'huile de la pulpe de safou, deux essais sont réalisés avec 100 µl et 50 µl de TAG totaux selon le protocole expérimental suivant :

Essais de lipolyse

Une bonne lipolyse de TAG est très bonne si le taux de leur hydrolyse est inférieur à 50% environ afin d'éviter l'isomérisation de l'acide gras se trouvant en position sn-2. Ainsi, avant de réaliser la lipolyse des TAG de safou, des essais de lipolyse sont réalisés avec la trioléine (18:1-18:1-18:1). A cet effet, cinq essais de lipolyse sont réalisés en utilisant 100 mg de trioléine dans 25 ml de chloroforme. Ces essais permettent de déterminer le taux de lipolyse réalisée selon la quantité de lipase et de lipides utilisés. Ces essais ont donné les résultats représentés dans le tableau I.

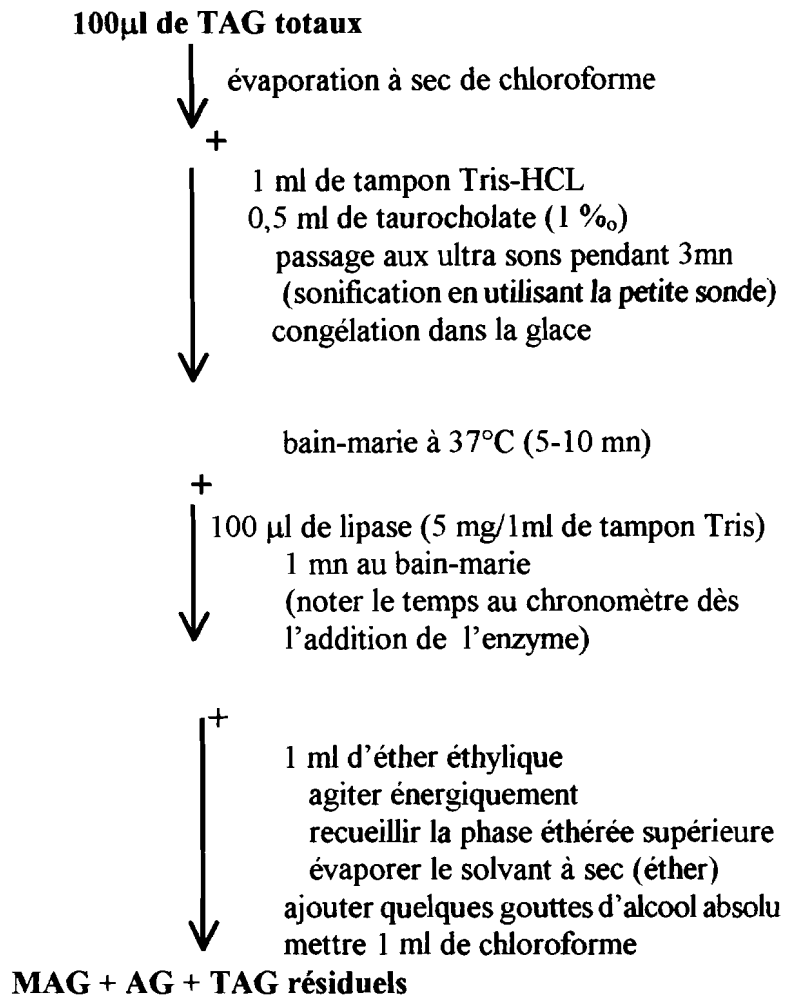


Figure 15 : Schéma du protocole expérimental de la lipolyse

Tableau I : Essai de lipolyse de la trioléine

Essais	Quantité de lipase (µl)	Quantité de lipides (µg)	Durée (min)	Taux de lipolyse (%)
1	2	4 000	1	28,5
2	3	4 000	1	69,26
3	2	2 000	1	39,23
4	4	3 247	1	53,6
5	4	3 247	1	58,4
6	4	3 247	1	55,3

2.2. Lipolyse des TAG totaux et des fractions issues de la colonne CH-18

Après avoir trouvé la quantité adéquate de lipase pouvant donner une lipolyse inférieure à 50%, les TAG totaux de l'huile de la pulpe de safou et ceux des fractions récupérées à partir de la chromatographie liquide haute performance (CLHP) utilisant la colonne CH-18 sont hydrolysés.

Les résultats obtenus sont portés dans le tableau II:

Tableau II : Lipolyse des TAG purifiés

Fractions	Quantité de lipase (µl)	Quantité de lipides (µl)	Durée (min.)	Taux de lipolyse (%)
2 ₁	0,4	600	1	35,3
3 ₂	0,4	600	1	35,3
4 ₂	0,4	200	1	35,3
10 ₁	0,4	200	1	47,7
7 ₂	0,4	150	1	40,0

2.3. Séparation des monoacylglycérols et des triacylglycérols résiduels

La récupération des monoacylglycérols issus de la lipolyse des triacylglycérols totaux se fait à partir de la chromatographie sur couches minces.

Les plaques préparatives sont confectionnées en utilisant le kieselgel (40 g) et de l'eau (80 ml) pour une épaisseur de 500 µm.

Le solvant de migration utilisé est composé de :

- Hexane, 90 ml/v
- Ether diéthylique, 20 ml/v
- Acide acétique, 2 ml/v
- Méthanol, 3 ml/v.

La révélation se fait avec le 2,7 dichlorofluoréicine 2 ‰, suivi du séchage sous azote et de la visualisation des monoacylglycérols aux rayons ultraviolets (356 nm). Les monoacylglycérols repérés sont récupérés dans un mélange composé de 90 ml de chloroforme et de 10 ml de méthanol (v/v).

3. Analyse des acides gras

3.1. Méthanolyse

Les acides gras contenus dans les lipides totaux ou dans les TAG sont déterminés sous forme d'esters méthyliques à partir de la méthanolyse.

Ainsi, pour les TAG, ils sont d'abord concentrés au rotavapor puis repris avec 1ml d'hexane. Pour préparer les esters méthyliques, on utilise :

- 100 µl de la solution pour les fractions [2]₁, [3]₂, [4]₂, [7]₂ et [10]₁ ; les autres fractions sont méthyliques entièrement (soit 1ml de solution) ;
- 0,25 ml de méthylate de sodium 0,5 N obtenu par dilution d'une solution - mère à 30 % (Merck-Schuchard) dans le méthanol (1 : 9 v/v) ;
- 3 ml d'hexane.

L'ensemble est soumis pendant 1 min au rotor. Une solution saturée de chlorure de sodium (1 ml, 35 g/100) y est ajoutée. En cas de besoin, ce mélange est centrifugé (2000 T/mn) pendant 10 mn.

Le surnageant est prélevé (1 ml) et placé dans un tube à essai contenant 25 µl d'acide nonadécanoïque (C19:0) comme standard interne permettant de connaître la quantité de lipides méthylés.

3.2. Analyse des esters méthyliques par chromatographie en phase gazeuse

Les esters méthyliques obtenus sont analysés par CPG sur un appareil Becker-Packard (Rungis, France), modèle 417, équipé d'une colonne capillaire de verre (préparée au laboratoire) de 30 m de long et 0,4 mm de diamètre intérieur, imprégnée de carbowax 20M (Applied Science labs, State Collège, PA, USA).

L'analyse est faite à une température constante de 195°C avec un débit d'azote de 3 ml/min sous une pression de 0,5 bar.

L'appareil est muni d'un injecteur à 230°C et d'un détecteur à ionisation de flamme à 220°C.

Les aires sous pics sont mesurées à l'aide d'un enregistreur - intégrateur ICAP 10 (LTT, France, Paris).

La réponse du détecteur aux différents esters méthyliques est étudiée avec des mélanges quantitatifs (Nu Chek-Prep. Elysian, MN, USA) et des coefficients de correction des aires ont été établis (SEMPORE et BEZARD, 1986 ; KINKELA et BEZARD, 1993).

4. *Calculs*

Le calcul des masses moléculaires moyennes des TAG est basé sur la connaissance des types de TAG contenus dans l'échantillon étudié, à partir du nombre de partition (PN), calculé à partir du nombre de carbone des acides gras (CN) et des doubles liaisons selon la formule : $PN = CN - 2DB$.

Le tableau III ci-après présente les types de TAG majeurs pouvant se trouver dans une huile de la pulpe de safou et leur nombre de partition (PN). Cette partition permet de reconnaître l'emplacement du TAG sur le chromatogramme obtenu par CLHP en phase inversée en utilisant la colonne CH-18.

Une fois que les acides gras constituant le TAG sont repérés, on détermine leurs pourcentages pondéraux, puis leurs pourcentages molaires. (voir Tableau IV).

Pour calculer le pourcentage molaire d'un TAG donné, on calcule d'abord la masse moléculaire moyenne du TAG à partir du pourcentage molaire de ses acides gras constitutifs. (voir Tableau V).

Le calcul du pourcentage molaire des acides gras dans les monoacylglycérols totaux se fait selon la formule suivante :

$$\%AG (MAG_{total}) = [\% \overline{MmTG} \text{ totaux} \times \% \text{molaire(pic purifié)}/100] \times [\%AG (MAG)/100]$$

Tableau III : Différents TAG majeurs pouvant se trouver dans l'huile de la pulpe de safou formés avec les acides C16:0, C18:0, C18:1, C18:2 et C18:3.

TYPES DE TRIACYLGLYCEROLS	CN	2DB	PN
C16:0 C16:0 C16:0	48	0	48
C16:0 C16:0 C18:0	50	0	50
C16:0 C16:0 C18:1	50	2	48
C16:0 C16:0 C18:2	50	4	46
C16:0 C16:0 C18:3	50	6	44
C16:0 C18:0 C18:0	52	0	52
C16:0 C18:0 C18:1	52	2	50
C16:0 C18:0 C18:2	52	4	48
C16:0 C18:0 C18:3	52	6	46
C16:0 C18:1 C18:1	52	4	48
C16:0 C18:1 C18:2	52	6	46
C16:0 C18:1 C18:3	52	8	44
C16:0 C18:2 C18:2	52	8	44
C16:0 C18:2 C18:3	52	10	42
C16:0 C18:3 C18:3	52	12	40
C18:0 C18:0 C18:0	54	0	54
C18:0 C18:0 C18:1	54	2	52
C18:0 C18:0 C18:2	54	4	50
C18:0 C18:0 C18:3	54	6	48
C18:0 C18:1 C18:1	54	4	50
C18:0 C18:1 C18:2	54	6	48
C18:0 C18:1 C18:3	54	8	46
C18:0 C18:2 C18:2	54	8	46
C18:0 C18:2 C18:3	54	10	44
C18:0 C18:3 C18:3	54	12	42
C18:1 C18:1 C18:1	54	6	48
C18:1 C18:1 C18:2	54	8	46
C18:1 C18:1 C18:3	54	10	44
C18:1 C18:2 C18:2	54	10	44
C18:1 C18:2 C18:3	54	12	42
C18:1 C18:3 C18:3	54	14	40
C18:2 C18:2 C18:2	54	12	42
C18:2 C18:2 C18:3	54	14	40
C18:3 C18:3 C18:3	54	18	36

CN : Nombre de Carbone

DB : Double liaison

PN : Nombre de Partition

Tableau IV : Détermination de la proportion en acides gras (en %pondéral ou en %molaire)

Temps rétention	Acides Gras	Aire	% Pondéral	* 1000	M des AG	%P/M	% Molaire
158	C14:0	552,45	0,1	100,00	228,4	0,438	0,12
215	C16:0	320078,36	45,93	45 930	256,4	179,134	48,24
224	C16:1 n-7	1790,46	0,26	260	254,4	1,022	0,28
259	C17:0	729	0,10	100	268,4	0,373	0,10
324	C18:0	18624,05	2,67	2670	284,5	9,385	2,53
341	C18:1 n-9	173397,3	24,89	24890	282,5	88,071	23,72
379	C18:2 n-6	163733,17	23,50	23500	280,4	83,81	22,57
441	C18:3 n-3	15688,17	2,25	2250	278,4	8,082	2,18
538	C20:0	1610,91	0,23	230	312,5	0,736	0,20
564	C20:1 n-9	593,01	0,085	85	310,5	0,26	0,07
<i>Somme</i>		<i>696796,86</i>	<i>100</i>			<i>371,31</i>	<i>100</i>

M : Masse moléculaire

%P : pourcentage pondéral

Tableau V : Détermination de la proportion des TAG en %molaire

Type de TAG	Masse du pic (en mg)	% Pondéral x 1000	M \bar{m} du TAG	%P/M \bar{m}	% Molaire (TAG totaux)
C16:0 C16:0 C16:0	0,13	142	257,75	0,55	0,2
C16:0 C16:0 C18:1	24,76	27054	266,74	101,4	27,4
C16:0 C18:1 C18:1	12,2	2404	274,44	52,31	23,1
C16:0 C16:0 C18:2	16,6	18138	265,82	68,23	18,5
C18:1 C18:1 C18:1	2,30	2513	280,90	8,95	2,4
C16:0 C18:1 C18:2	0,22	240	273,00	0,88	0,2
C16:0 C18:1 C18:2	13,14	14360	273,61	87,85	14,0
C18:1 C18:1 C18:2	1,35	1475	281,80	5,23	1,4
C16:0 C18:3 C18:3	0,13	0142	269,80	0,53	0,1
C16:0 C18:2 C18:2	9,30	10162	272,88	37,24	10,1
C16:0 C18:1 C18:3	0,12	131	274,33	0,48	0,1
C16:0 C18:1 C18:3	0,73	800	273,17	2,93	0,8
C18:1 C18:3 C18:3	0,50	546	279,78	1,951	0,5
<i>Somme</i>	<i>91,52</i>	<i>100</i>		<i>369,551</i>	<i>100,0 %</i>

M \bar{m} : Masse moléculaire moyenne

III. RESULTATS ET DISCUSSION

1. Composition en TAG

L'analyse des TAG de l'huile de la pulpe de safou par CLHP à l'aide d'une colonne au nitrate d'argent, donne le chromatogramme représenté dans la Figure 16.

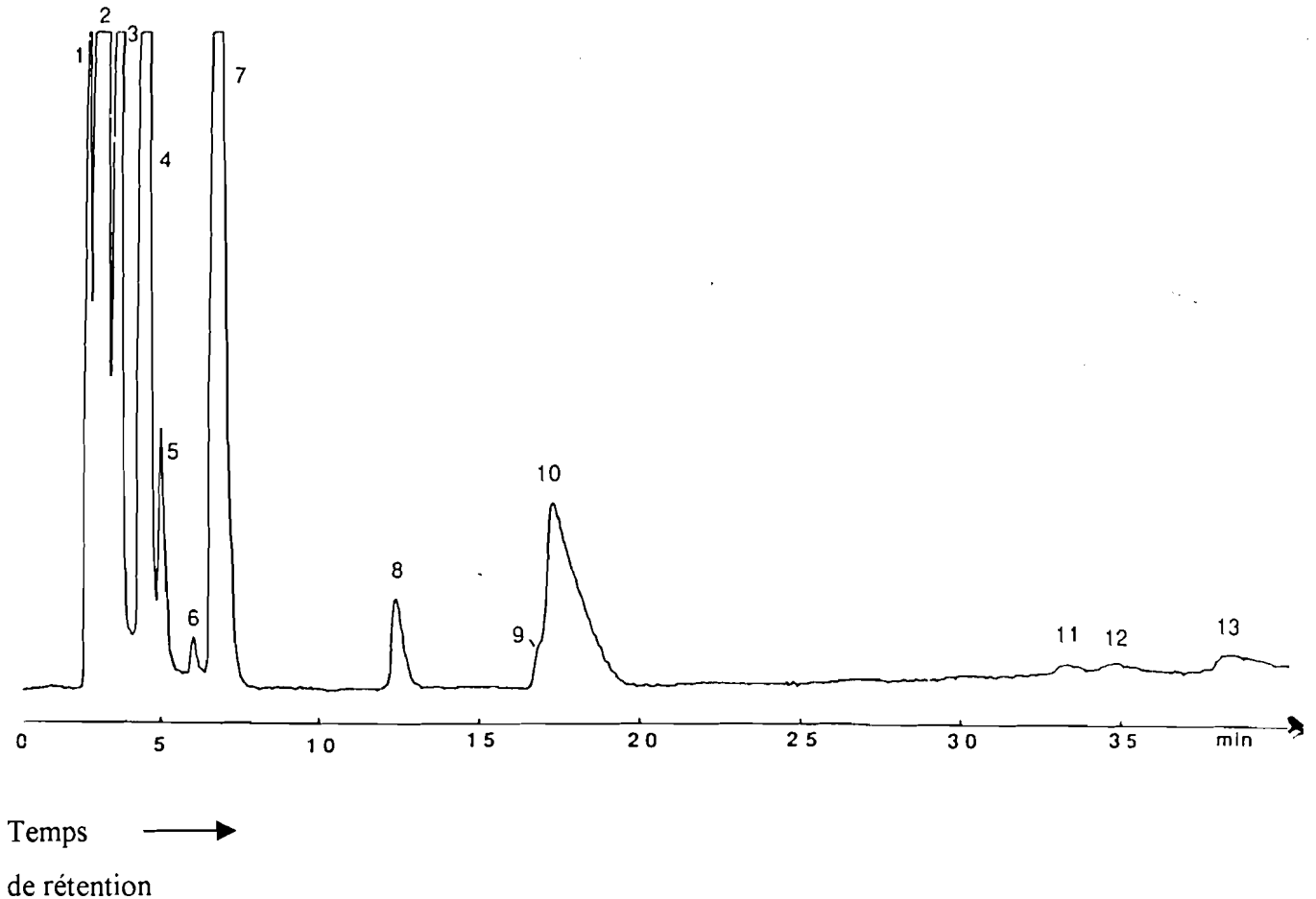


Figure 16 : Séparation par CLHP des TAG de la pulpe de safou sur colonne de silice greffée de radicaux sulfoniques et mise en présence d'ions Ag^+ .

Il fait apparaître treize fractions (numérotées de 1 à 13). La fraction 2 est éluée en même temps que le solvant.

La Figure 17 montre les chromatogrammes obtenus lors de la rechromatographie par CLHP- Ag^+ des fractions 2 et 10.

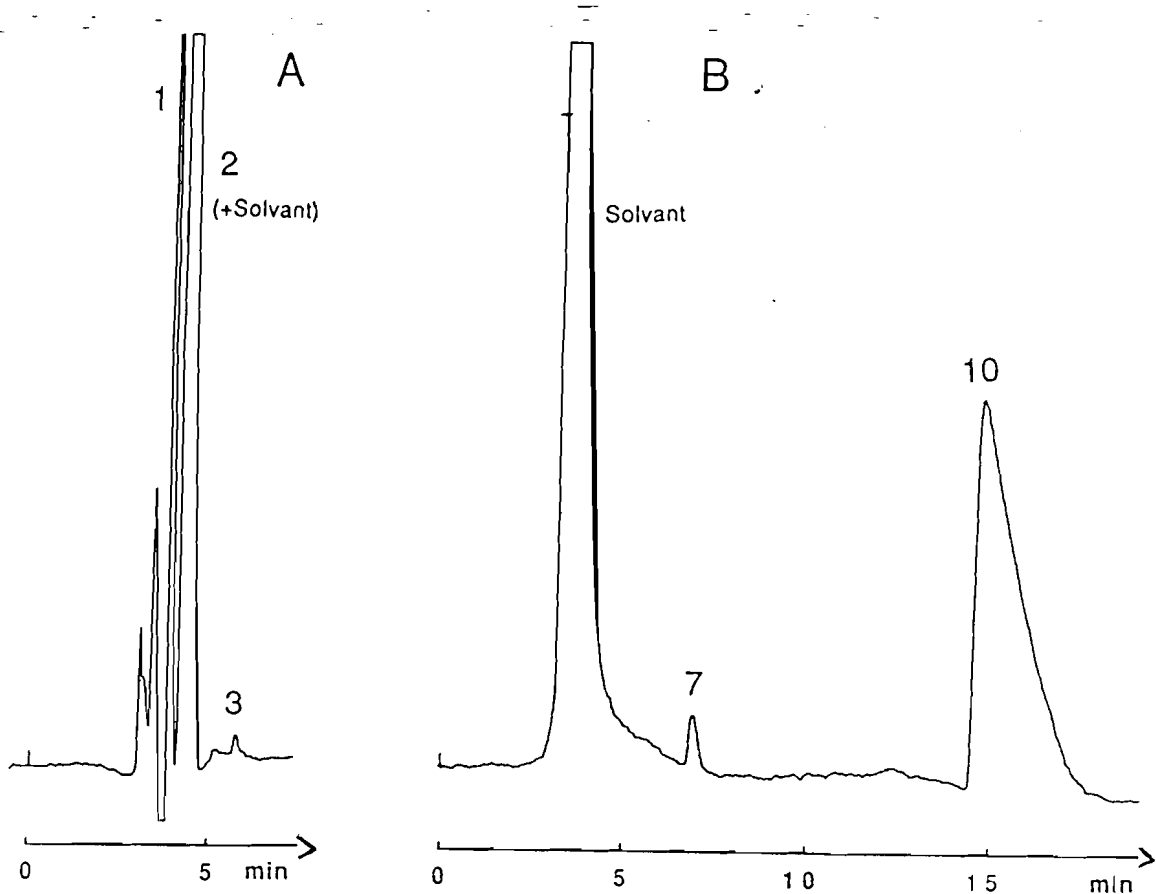


Figure 17 : Chromatogrammes enregistrés lors de la purification des fractions 2 (A) et 10 (B)

Pour la fraction 2, on note une contamination relativement importante par la fraction 1, mais qui est bien séparée de la fraction 2 si bien qu'on peut collecter une fraction 2 pure. Pour la fraction 10, on note l'absence de la fraction 9, mais, en revanche, la présence probable d'une contamination par une traînée de la fraction 7, pourtant éluée 10 mn auparavant, mais dont la proportion est importante.

Le Tableau VI rapporte la composition en acides gras des TAG totaux et des différentes fractions après rechromatographie. Les résultats montrent que les TAG totaux comportent presque la moitié d'acide palmitique (48,3 %), un tiers d'acide oléique (31,6 %) et moitié moins d'acide linoléique (16,2 %).

Sur les 13 fractions séparées sur la colonne, 5 sont en proportion importante correspondant aux degrés d'insaturation suivants : 001 (30,0 %), 011 (23,8 %), 002 (17,5 %), 012 (14,1 %) et 022 (8,5 %). Les 3 chiffres caractérisant la classe d'insaturation correspondent au nombre de doubles liaisons des 3 acides gras constitutifs : acide gras saturé (0), monoinsaturé (1), diinsaturé (2). Ces fractions les plus importantes contiennent comme prévu l'acide gras en proportion la plus importante (C16:0).

Si l'on considère l'ordre d'élution des différentes fractions de TAG, on peut voir (dernière ligne, Tableau VI) que l'élution se fait selon, généralement, le degré d'insaturation croissant.

Si l'on considère d'abord les 8 fractions en faible proportion, qui n'ont pas subi un fractionnement ultérieur, on peut faire les remarques suivantes:

- fraction 1 : elle est essentiellement constituée de tripalmitoylglycérol (C16:0C16:0C16:0). Il existe aussi, néanmoins un ou plusieurs TAG contenant C18:0 dans leurs molécules. On remarque que, malgré la proportion élevée de C16:0 dans les TAG totaux (1ère colonne, 48,3 %) la quantité de triacylglycérols trisaturés est extrêmement faible (0,6 %) ;
- fraction 5 : il s'agit essentiellement de trioleoylglycérol (C18:1 C18:1 C18:1) puisque 90 % des acides gras de cette fraction sont l'acide oléique. Sa proportion, quoique faible, est nettement supérieure à celle du tripalmitoylglycérol (fraction 1) ;
- fraction 6 : ces TAG, en très faible proportion (0,2 % des TAG totaux) présentent la même composition en acides gras que la fraction 7 en proportion beaucoup plus élevée. Etant donné que le pic est bien individualisé sur le chromatogramme, il doit comporter probablement, un TAG isomère du TAG majeur suivant.
- fraction 8 : compte tenu de la composition en acides gras, il s'agit de dioleoyllinoleoylglycérol (C18:1 C18:1 C18:2) ;
- fraction 9 : cette fraction a été séparée dans des conditions différentes permettant une bonne séparation d'avec la fraction 10 ; elle contient du dipalmitoyllinolenoylglycérol (C16:0C16:0C18:3) dont 16:0 est probablement en position externe, (C16:0-C18:3-C16:0) ;
- fraction 11 : le constituant majeur est le C16:0 C18:1 C18:3. Comme il présente la même composition en acides gras que la fraction suivante, on peut penser, comme précédemment, que ce pourrait être l'isomère présentant l'acide saturé en position externe probablement C16:0-C18:3-C18:1 ;

- fraction 12 : il s'agirait des deux autres isomères de position de C16:0 C18:1 C18:3 présentant soit C18:1 soit C16:0 en position interne;
- fraction 13 : elle est constituée de C18:1 C18:3 C18:3.

Si l'on considère maintenant les 5 classes de TAG les plus importantes (n°2, 3, 4, 7, 10), on peut déjà voir qu'elles contiennent chacune un TAG majeur, qui est par exemple C16:0 C18:1 C18:2 dans la fraction 7. Il existe néanmoins aussi des TAG mineurs. Il a été possible de déterminer une composition en TAG précise de ces 5 fractions en effectuant un second fractionnement par CLHP en phase inversée et en analysant les acides gras des diverses fractions recueillies après addition de C19:0 comme étalon interne afin de calculer la proportion de ces diverses fractions.

Les 5 chromatogrammes enregistrés au cours de l'analyse par CLHP sont rapportés dans la Figure 18.

On peut voir, comme l'indiquait déjà la composition en acides gras des différentes fractions de TAG (Tableau VI) qu'il existe un TAG majeur et quelques TAG mineurs dans chacune d'elle. L'ordre d'élution des TAG dans chaque classe se fait selon le nombre de carbone (N) croissant (N représentant le nombre total des atomes de carbone des acides gras constitutifs) puisque l'insaturation est la même. Dans chacune des 5 classes l'analyse des acides gras donne les résultats rapportés dans le Tableau VII.

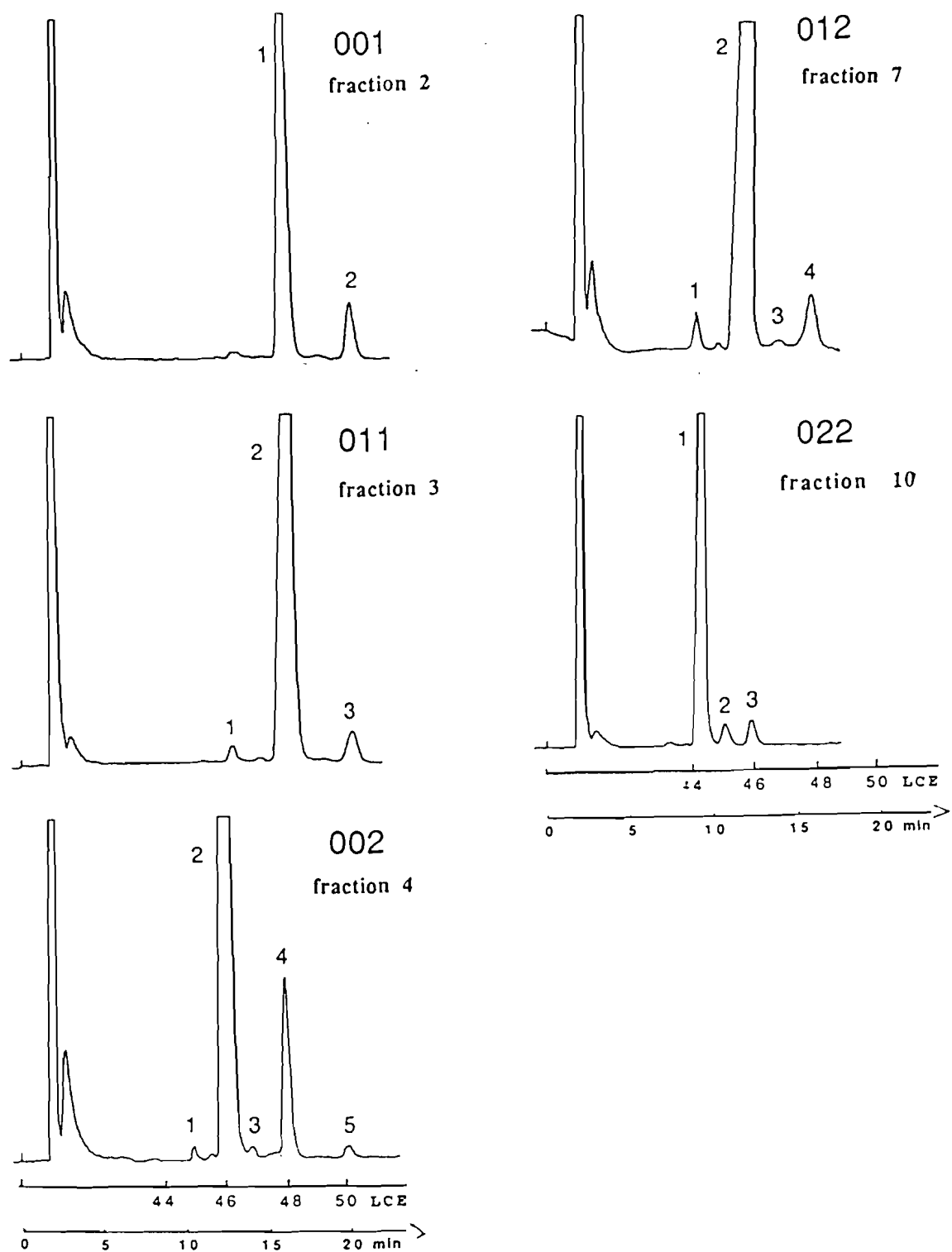


Figure 18 : Séparation par CLHP en phase inversée des 5 classes majeures des TAG correspondants aux pics 2, 3, 4, 7, 10 de la figure 16

Tableau VI : Pourcentage et composition en AG (%mol.) des TAG totaux et des différentes fractions séparées par CLHP-Ag⁺ de l'huile de la pulpe de safou.

Fractions	TAG Totaux	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
%mol.	100	0,6	30	23,8	17,5	2,4	0,2	14,1	1,4	0,1	8,5	0,1	0,5	0,8
AG														
C14:0	0,1				0,1									
C16:0	48,3	93,9	60,8	29,8	60,4	6,5	34	30,4		60,9	30,3	26,2	30	
C16:1 n-7	0,6			1,4				1,1						
C17:0	0,2				1,0			1,0			1,0			
C18:0	2,3	6,1	2,5	1,2	3,2		2,2	1,2			1,0	3,2	0,6	
C18:1 n-9	31,6		36,5	67,3	0,5	90,1	31,5	31,3	66,6			36,8	32,0	33,6
C18:2 n-6	16,2				34,6	2,9	32,3	34,8	33,4	1,3	65,5		1,3	
C18:3 n-3	0,6										37,8	2,2	33,8	36,1 66,4
C20:0	0,1		0,2	0,1	0,2	0,5								
C20:1 n-9	0,1			0,2				0,2						
Saturés (0)		100	63,5	32,5	64,9	7,0	36,2	32,6		60,9	32,3	29,4	30,6	
Mono insaturés (1)			36,5	67,5	0,5	90,1	31,5	32,6	66,6			36,8	32,0	33,6
Di insaturés (2)					34,6	2,9	32,3	34,8	33,4	1,3	65,5		1,3	
Tri insaturés (3)											37,8	2,2	33,8	36,1 66,4
Classe d'insaturation (a)		000	001	011	002	111	012	012	112	003	022 +003	013	013	133

(a) : chaque classe est caractérisée par trois chiffres représentant le nombre de double liaison (0, 1, 2 ou 3)

%mol. : % molaire

Tableau VII : Proportion et composition en AG (%mol.) des différentes fractions de TAG des 5 classes séparées par CLHP en phase inversée.

Classes (a)	001		011			002					012				022 (+ 003)		
	1	2	1	2	3	1	2	3	4	5	1	2	3	4	1	2	3
Fractions (b)																	
%mol. (c)	97,6	2,4	0,5	96,8	2,7	0,2	96,5	0,1	3,1	0,1	0,4	98,2	0,1	1,3	98,7	1,0	0,3
C14:0						13,0					8,0			3,0			
C16:0	61,8	30,7	27,2	31,4	2,8	48,5	65,1	46,3	31,8	20,0	26,6	31,3			32,9	30,5	1,0
C16:1n-7			31,5								25,0						
C17:0								20,2					29,6			23,8	
C18:0		30,3			25,4				34,2	27,8				25,1			33,7
C18:1n-9	38,2	39,0	41,3	68,6	69,2						8,4	34,4	30,9	31,2			
C18:2n:6						38,5	34,9	34,5	34,0	31,0	32,0	34,3	39,5	32,6	67,1	7,3	65,3
C18:3n:3																	37,9
C20:0										21,2							0,5
C20:1n:9					2,6									3,6			
TAG majeur	C16:0 C16:0 C18:1		C16:0 C18:1 C18:1			C16:0 C16:0 C18:2					C16:0 C18:1 C18:2				C16:0 C18:2 C18:2		
% dans les TAG totaux (d)	29,3		23,0			16,9					13,9				8,4		

(a) : fractions séparées par CLHP sur colonne contenant des ions Ag⁺

(b) : numéros correspondant à ceux portés sur la Figure 18

(c) : % en moles des fractions dans la classe de TAG

(d) : % du TAG majeur dans les TAG totaux de l'huile

- Dans la classe 001, le TAG majeur (97,6 % de la fraction) est le dipalmitoyloléoylglycérol (C16:0 C16:0 C18:1) représentant près de 29,3 % des TAG totaux de l'huile de safou. La fraction n°2 correspond à C16:0 C18:0 C18:1. La petite fraction éluant avant le pic1 et dont les acides n'ont pas été analysés correspond au C14:0 C16:0 C18:1 selon le temps de rétention.
- Dans la classe 011, le TAG majeur est C16:0 C18:1 C18:1 représentant 23 % de l'huile de safou. La fraction qui le précède correspond à C16:0 C16:1 C18:1. Dans la fraction n°3 le TAG principal est C18:0 C18:1 C18:1. Il est accompagné d'un TAG mineur C16:0 C18:1 C20:1 qui présente le même nombre de carbone de 54. Si l'on considère la proportion de 18:0 (25,4 %) présent uniquement dans C18:0 C18:1 C18:1 et celle de C16:0 (2,8 %) et de C20:1 (2,6 %) présent uniquement dans C16:0 C18:1 C20:1, on peut estimer que C18:0 C18:1 C18:1 représente près de 90 % de cette fraction.
- Dans la classe 002, le TAG majeur est C16:0 C16:0 C18:2 (fraction n°2) et représente 16,9% des TAG totaux de l'huile de safou. La fraction n°1 est le TAG C14:0 C16:0 C18:2. Il est très contaminé par l'importante fraction suivante. Son pourcentage dans la classe est inférieur à 0,1 % si l'on se réfère au pourcentage de C14:0, absent de la fraction suivante. La fraction n°3, contaminée par la traînée de la fraction précédente, correspond au TAG C16:0 C17:0 C18:2 tandis que la fraction suivante n°4, correspond au TAG C16:0 C18:0 C18:2 ; la fraction n°5 correspond à un mélange de C16:0 C20:0 C18:2 et C18:0 C18:0 C18:2.
- Dans la classe 012, le TAG majeur est le palmitoyloléoyllinoléoylglycérol, C16:0 C18:1 C18:2 dont la quantité s'élève à 13,9 % des TAG totaux de l'huile. Il est précédé par l'élution du C16:0 C16:1 C18:2. Il existe aussi du C14:0 C18:1 C18:2. La petite fraction n°3 contaminée par l'importante fraction précédente, correspond à C17:0 C18:1 C18:2. Quant à la dernière fraction n°4 elle contient un mélange de C18:0 C18:1 C18:2 avec une faible proportion de C16:0 C20:1 C18:2.
- La classe 022 ne comporte pratiquement que du palmitoyldilinéoloylglycérol C16:0 C18:2 C18:2 qui constitue 8,5 % de l'huile. La fraction suivante n°2 est un mélange de C16:0 C16:0 C18:3 et de C17:0 C18:2 C18:2, la dernière correspondant à C18:0 C18:2 C18:2.

2. Composition en sn-2 -TAG majeurs

Les 5 TAG majeurs isolés des 5 classes les plus importantes de l'huile de safou, purifiés par CLHP, ont été soumis à l'action de la lipase pancréatique afin de déterminer la répartition des 3 acides gras constitutifs sur la position interne (sn-2) du glycérol.

Le Tableau VIII rapporte la composition en acides gras des 2-acyl-sn-glycérols issus de la lipolyse des TAG totaux et des 5 TAG majeurs, qu'on peut comparer à la composition en acides gras des TAG dont ils sont issus.

On peut voir que dans les TAG totaux, c'est l'acide oléique (C18:1) qui occupe le plus souvent la position interne suivi par l'acide linoléique (C18:2), en proportion 2 fois moindre dans les TAG totaux. L'acide palmitique (C16:0), malgré son très fort pourcentage (près de la moitié des acides gras totaux) est très peu retrouvé en position interne. Dans les deux TAG C16:0 C18:1 et C16:0 C18:1 C18:1, plus de 90 % des acides gras en position interne sont représentés par C18:1. Dans le TAG C16:0 C16:0 C18:2, c'est le C18:2. Dans le TAG suivant, C16:0 C18:1 C18:2, où la proportion de C18:1 et C18:2 est la même, les 2/3 des acides gras en position interne sont C18:2, contre 1/3 pour C18:1, approximativement. Dans le dernier triglycéride C16:0 C18:2 C18:2, la presque totalité de la position interne est occupée par C18:2. Dans tous les cas, la proportion de C16:0 en position interne est très faible, même lorsqu'il constitue les 2/3 des acides gras du TAG (au plus 8,5% dans le TAG C16:0 C16:0 C18:1).

Dans le Tableau IX sont rapportés 21 TAG mineurs dont les pourcentages dans les TAG totaux ont été calculés d'après les résultats rapportés dans les Tableaux VI et VII. Sont aussi rapportés 11 TAG dont l'acide gras en position sn-2 est connu (sn2-TAG) et leur pourcentage dans les TAG totaux calculés à partir des résultats présentés dans le Tableau VIII.

On peut voir qu'il existe 2 sn2-TAG dont la proportion est supérieure à 20 % et qui à eux deux représentent près de la moitié des TAG totaux. Un troisième, le C16:0-C18:2-C16:0 s'élève à plus de 16 % du total. L'ensemble des 11 sn2-TAG représente plus de 90 % des TAG totaux.

Tableau VIII : Composition en acides gras (%mol.) des TAG totaux de l'huile de safou, des 5 TAG fractionnés par CLHP et composition en acides gras des 2-acyl-sn-glycérols (sn2-MAG) issus de la lipolyse par la lipase pancréatique

AG	TAG totaux		C16:0C16:0C18:1		C16:0C18:1C18:1		C16:0C16:0C18:2		C16:0C18:1C18:2		C16:0C18:2C18:2	
	TAG	sn2-MAG	TAG	sn2-MAG	TAG	sn2-MAG	TAG	sn2-MAG	TAG	sn2-MAG	TAG	sn2-MAG
C14:0	0,1											
C16:0	48,3	5,8	61,8	7,5	31,4	5,8	65,1	4,4	31,3	2,5	32,9	1,0
C16:1n-7	0,6	1,0										
C17:0	0,2											
C18:0	2,3											
C18:1n-9	31,6	56,5	38,2	92,5	68,6	94,2			34,4	33,8		
C18:2 n-6	16,2	33,8					34,9	95,6	34,3	63,7	67,1	99,0
C18:3 n-6	0,6	2,9										
C20:0	0,1											
C20:1n-9	0,1											

Tableau IX : Composition (%mol.) en TAG mineurs et en sn2-TAG de l'huile de la pulpe de safou

TAG MINEURS (d'après TABLEAU VII)	%mol.	TAG MINEURS (d'après TABLEAU VI)	%mol.
C16:0 C18:0 C18:1	0,7	C16:0 C16:0 C16:0	0,6
C16:0 C16:1 C18:1	0,1	C18:1 C18:1 C18:1	2,4
C18:0 C18:1 C18:1	0,5	C18:1 C18:1 C18:2	1,4
C16:0 C18:1 C20:1	0,1	C16:0 C16:0 C18:3	0,1
C14:0 C16:0 C18:2	tr	C16:0 C18:1 C18:3	0,5
		sn2-TAG (d'après Tableau VIII)	%mol.
C16:0 C17:0 C18:2	tr	C16:0 -C18:1- C16:0	27,1
C16:0 C18:0 C18:2	0,5	C16:0 -C16:0 -C18:1	2,2
C16:0 C20:0 C18:2	tr	C16:0 -C18:1 -C18:1	21,7
C18:0 C18:0 C18:2	tr	C18:1 -C16:0 -C18:1	1,3
C16:0 C16:1 C18:2	0,1	C16:0 -C18:2 -C16:0	16,2
C14:0 C18:1 C18:2	tr	C16:0 -C16:0 -C18:2	0,7
C17:0 C18:1 C18:2	0,1	C16:0 -C16:0 -C16:0	0,6
C18:0 C18:1 C18:2	0,2	C16:0 -C18:2 -C18:1	8,9
C16:0 C20:1 C18:2	tr	C16:0 -C18:1- C18:2	4,7
C16:0 C17:0 C18:3	0,1	C18:0 -C16:0 -C18:2	0,3
C18:0 C18:2 C18:2	tr	C16:0 -C18:2 -C18:2	8,3
		C18:2 -C16:0 -C18:2	0,1

tr : TAG identifié mais dont le pourcentage est inférieur à 0,05 %

IV. INTERET NUTRITIONNEL DE L'HUILE DE LA PULPE DE SAFOU

L'étude de la composition triglycéridique de l'huile de safou avait été amorcée en déterminant la nature et la proportion de 12 types de TAG, à savoir le TAG dont on connaissait la nature des 3 acides gras constitutifs sans leur position (BEZARD *et al.*, 1991).

Dans ce travail, nous avons confirmé, pour les lipides de la pulpe de safou, après un double fractionnement par CLHP, sur deux types de colonne, l'existence des 5 types de TAG majeurs dans cette huile. Nous avons précisé en plus, la présence et la proportion de 21 TAG mineurs. Pour les 5 TAG majeurs, nous avons déterminé la proportion de 11 sn2 -TAG, à savoir le TAG dont on connaît l'acide gras en position interne.

A partir de ces résultats, nous pouvons évaluer l'intérêt nutritionnel des sn2-TAG de l'huile de la pulpe de safou, en se basant sur le tableau X, à partir des acides gras obtenus après l'hydrolyse des TAG par la lipase pancréatique.

Ainsi, ces études ont mis en évidence des qualités nutritionnelles intéressantes et en particulier l'huile extraite de la pulpe de safou peut-être considérée comme une source non négligeable d'acides gras essentiels. Effectivement, les résultats obtenus après l'action de la lipase pancréatique sur les TAG de l'huile de la pulpe de safou ont montré que la position interne (position sn-2) de ces TAG est occupée par l'acide oléique (C18:1 n-9) suivi de l'acide linoléique (C18:2 n-6).

L'acide linoléique qui se trouve dans les TAG mineurs (10, 11, 12, 13) et (C16:0C18:3C18:1; C16:0C18:3C17:0) peut valablement contribuer à la couverture des besoins plastiques de l'organisme.

L'acide palmitique (C16:0), acide gras saturé en quantité importante dans les lipides totaux, ne se trouve qu'en très faible proportion en position interne des TAG de l'huile de la pulpe de safou. Il se trouve essentiellement sur les positions sn-1 et sn-3 où il est hydrolysé par la lipase pancréatique. Les acides palmitiques libérés forment avec les ions calcium des sels insolubles non absorbés au niveau de l'intestin (GRUNDY, 1987 ; KINSELLA, 1990).

Une autre méthode directe d'analyse RMN ¹³C confirme la position des différents AG en position interne (SILOU et KAMA, 1994).

Tableau X : Biodisponibilité des acides gras des sn-2 triacylglycérols totaux de l'huile de la pulpe de safou

SN2-TAG	LUMIERE INTESTINALE		ENTEROCYTE	
	EMULSION + lipase	MICELLE	NOUVEAUX TAGS SPECIFIQUES	CHYLOMICRONS
$\begin{array}{c} \text{O} - \begin{array}{l} \text{P} \\ \text{P} \end{array} \\ 27,1\% \end{array}$	$\text{O} - \begin{array}{l} \text{P} \\ \text{P} \end{array}$	$\text{O} - \begin{array}{l} \text{OH} \\ \text{OH} \end{array} + 2 \text{P}$	$\text{O} - \begin{array}{l} ? \\ ? \end{array}$	
$\begin{array}{c} \text{P} - \begin{array}{l} \text{O} \\ \text{P} \end{array} \\ 2,2\% \end{array}$	$\text{P} - \begin{array}{l} \text{O} \\ \text{P} \end{array}$	$\text{P} - \begin{array}{l} \text{OH} \\ \text{OH} \end{array} + \text{O} + \text{P}$	$\text{P} - \begin{array}{l} ? \\ ? \end{array}$	
$\begin{array}{c} \text{O} - \begin{array}{l} \text{P} \\ \text{O} \end{array} \\ 21,7\% \end{array}$	$\text{O} - \begin{array}{l} \text{P} \\ \text{O} \end{array}$	$\text{O} - \begin{array}{l} \text{OH} \\ \text{OH} \end{array} + \text{O} + \text{P}$	$\text{O} - \begin{array}{l} ? \\ ? \end{array}$	
$\begin{array}{c} \text{P} - \begin{array}{l} \text{O} \\ \text{O} \end{array} \\ 1,3\% \end{array}$	$\text{P} - \begin{array}{l} \text{O} \\ \text{O} \end{array}$	$\text{P} - \begin{array}{l} \text{OH} \\ \text{OH} \end{array} + 2 \text{O}$	$\text{P} - \begin{array}{l} ? \\ ? \end{array}$	
$\begin{array}{c} \text{L} - \begin{array}{l} \text{P} \\ \text{P} \end{array} \\ 16,2\% \end{array}$	$\text{L} - \begin{array}{l} \text{P} \\ \text{P} \end{array}$	$\text{L} - \begin{array}{l} \text{OH} \\ \text{OH} \end{array} + 2 \text{P}$	$\text{L} - \begin{array}{l} ? \\ ? \end{array}$	
$\begin{array}{c} \text{P} - \begin{array}{l} \text{L} \\ \text{P} \end{array} \\ 0,7\% \end{array}$	$\text{P} - \begin{array}{l} \text{L} \\ \text{P} \end{array}$	$\text{P} - \begin{array}{l} \text{OH} \\ \text{OH} \end{array} + \text{L}$	$\text{P} - \begin{array}{l} ? \\ ? \end{array}$	
$\begin{array}{c} \text{L} - \begin{array}{l} \text{P} \\ \text{O} \end{array} \\ 8,9\% \end{array}$	$\text{L} - \begin{array}{l} \text{P} \\ \text{O} \end{array}$	$\text{L} - \begin{array}{l} \text{OH} \\ \text{OH} \end{array} + \text{O} + \text{P}$	$\text{L} - \begin{array}{l} ? \\ ? \end{array}$	
$\begin{array}{c} \text{O} - \begin{array}{l} \text{L} \\ \text{P} \end{array} \\ 4,7\% \end{array}$	$\text{O} - \begin{array}{l} \text{L} \\ \text{P} \end{array}$	$\text{O} - \begin{array}{l} \text{OH} \\ \text{OH} \end{array} + \text{L} + \text{P}$	$\text{O} - \begin{array}{l} ? \\ ? \end{array}$	
$\begin{array}{c} \text{P} - \begin{array}{l} \text{L} \\ \text{O} \end{array} \\ 0,3\% \end{array}$	$\text{P} - \begin{array}{l} \text{L} \\ \text{O} \end{array}$	$\text{P} - \begin{array}{l} \text{OH} \\ \text{OH} \end{array} + \text{O} + \text{L}$	$\text{P} - \begin{array}{l} ? \\ ? \end{array}$	
$\begin{array}{c} \text{L} - \begin{array}{l} \text{L} \\ \text{P} \end{array} \\ 8,3\% \end{array}$	$\text{L} - \begin{array}{l} \text{L} \\ \text{P} \end{array}$	$\text{L} - \begin{array}{l} \text{OH} \\ \text{OH} \end{array} + \text{L} + \text{P}$	$\text{L} - \begin{array}{l} ? \\ ? \end{array}$	
$\begin{array}{c} \text{P} - \begin{array}{l} \text{L} \\ \text{L} \end{array} \\ 0,1\% \end{array}$	$\text{P} - \begin{array}{l} \text{L} \\ \text{L} \end{array}$	$\text{P} - \begin{array}{l} \text{OH} \\ \text{OH} \end{array} + 2 \text{L}$	$\text{P} - \begin{array}{l} ? \\ ? \end{array}$	

X, Y, A, B, D, E : acides gras alimentaires fixés en position sn-1 et sn-3 au cours de la resynthèse des triacylglycérols

L'examen de ce tableau montre que l'hydrolyse des TAG de l'huile de la pulpe libre des sn2-monoacylglycérols ayant 53,5 % d'acide oléique, 33,4 % d'acide linoléique et seulement 4,6 % d'acide palmitique qui vont pénétrer dans les entérocytes puisque les 21 TAG mineurs représentant 7,5 % du total ne vont pas changer la teneur de ces trois acides gras qui seront mis à la disposition de l'organisme.

Dans ces entérocytes, on assiste à une resynthèse des TAG spécifiques à l'organisme en présence des sn2-monoacylglycérols absorbés et des acides gras libres alimentaires contenus dans les micelles en particulier les acides oléique et linoléique qui se trouvaient en position sn1 et sn3.

Ces nouveaux TAG vont participer à la formation des chylomicrons et seront acheminés dans le système lymphatique, puis la circulation générale où ils seront hydrolysés par la lipoprotéine-lipase-héparino-sensible ; les acides gras libérés seront alors mis à la disposition des cellules utilisatrices.

Il s'ensuit que la consommation de l'huile de safou assurera un gain important en acide gras essentiel, l'acide linoléique (C18:2 n-6) et par conséquent les acides gras supérieurs de la famille n-6 comme ROCQUELIN et *al.* (1998) l'ont démontré dans le lait des mères allaitant du Congo et qui consommaient entre autre les safous.

L'acide oléique, acide gras majoritaire en position interne des TAG de l'huile de la pulpe de safou et qui est très bénéfique pour l'organisme va intervenir dans la circulation sanguine ; il intervient aussi avec l'acide palmitique pour combler les besoins énergétiques de l'organisme en cas de carence. (TULLAYE, 1991).

Si l'on se réfère au tableau XI (SILOU et *al.*, 2002), nous pouvons déduire que la composition en acides gras de l'huile de la pulpe de safou se situe entre celle de l'huile de palme et celle de l'huile d'arachide. De plus, l'huile de safou contient de l'acide linoléique, acide gras essentiel pour l'organisme absent des deux autres huiles, qui le place en bonne place comme une huile de bonne qualité nutritionnelle. Elle mérite donc d'être produite en quantité suffisante à condition d'améliorer sa production.

Tableau XI : Composition en acides gras (%) des huiles d'arachide, de palme et de safou

	C16:0	C18:0	C18:1 n-9	C18:2 n-6	C18:3 n-3
Arachide	10	4	57	21	-
Palme	45	4	40	10	-
Safou	42 - 47	1,8 - 2,8	20 - 34	22 - 29	0,3 - 1,9

V. CONCLUSION

La double séparation des TAG totaux par CLHP Ag⁺ et C18, a permis de préciser de façon importante la composition en TAG de l'huile de la pulpe de safou. Mais un premier fractionnement selon l'insaturation a été nécessaire et il a permis d'isoler par CLHP en phase inversée 5 TAG uniques en quantité suffisante pour être soumis à l'action de la lipase pancréatique. L'analyse des acides gras des 2 acyl-sn-glycérols, (sn2-MAG) formés permet de déterminer la proportion des 2 ou 3 isomères dont l'acide gras en position interne est différent. Grâce à l'action de la lipase pancréatique sur les TAG de l'huile de la pulpe de safou nous savons que la position interne (position sn-2) de ces TAG est occupée par l'acide oléique (C18:1 n-9) suivi de l'acide linoléique (C18 :2 n-6).

L'acide palmitique (C16:0), acide gras saturé en quantité importante dans les lipides totaux, ne se trouve qu'en très faible proportion en position interne des TAG de l'huile de la pulpe de safou. La peur des effets néfastes qu'elle peut causer sur la santé des populations est épargnée. Seulement des études « *in vivo* » sur la biodisponibilité des nutriments issus de l'hydrolyse des TAG de l'huile de la pulpe de safou devront être réalisées dans l'avenir pour lever les craintes de leur disponibilité pour l'organisme. Les proportions de C16:0 pourront ainsi être déterminées avec exactitude et les conclusions de la non-absorption de cet acide gras en quantité importante seront plus appréciées.

CHAPITRE III

VARIATIONS QUANTITATIVE ET QUALITATIVE INTRA-ARBRE DES LIPIDES DE LA PULPE ET DE LA GRAINE DE SAFOU (*DACRYODES EDULIS*) EN FONCTION DE L'ORIENTATION GEOGRAPHIQUE DES FRUITS

I. INTRODUCTION

Les safoutiers (*Dacryodes edulis*) actuellement rencontrés dans le Golfe de Guinée sont essentiellement issus de semis. Il en découle une grande diversité de formes pour les fruits consommés dans la sous-région.

A notre connaissance, aucune corrélation n'est actuellement établie entre la morphologie et la composition des fruits.

Toutefois, les travaux de la littérature corroborant les travaux de notre Laboratoire (SILOU, 1996) mettent en évidence une certaine homogénéité dans la composition chimique à un point tel qu'il se dégage très nettement un profil type des safous d'Afrique Centrale, à savoir :

- la teneur en acides gras diminue dans l'ordre :

$$\% P (C16:0) > \% O (C18:1 n-9) > \% L (C18:2 n-6),$$

avec P, O, L représentant les acides Palmitique, Oléique et Linoléique ;

- les cinq triacylglycérols majeurs sont :

$$PPO, PPL, POO, POL, PLL,$$

- la quantité des éléments minéraux décroissent dans le sens :

$$K > P > Ca > Mg > Na > Fe > Cu > Zn > Mn.$$

D'après KENGUE (2002), les fleurs du safoutier, qui peuvent être mâles, femelles ou hermaphrodites, se regroupent en panicule de forme pyramidale dont la complexité varie avec le sexe, l'âge, etc. Il en découle une organisation des fruits en grappe sur l'arbre.

La répartition de ces grappes peut influencer sur la morphologie et la composition chimique des fruits.

En effet, des travaux entrepris sur les agrumes mettent en évidence une variation significative de la qualité des fruits en fonction de l'orientation d'une part et de la frondaison d'autre part (MARS et *al.*, 1994 ; BLONDEL et CASSIN, 1972 ; GAILLARD et *al.*, 1976 ; COHEN, 1988 ; FELLAHI et *al.*, 1989).

L'étude de ces variations est donc importante dans la perspective de la mise en place des vergers, notamment lorsque l'on s'oriente vers une culture intensive du safoutier en tant qu'oléagineux, avec comme objectif majeur la production de safou conduisant à une huile alimentaire de bonne qualité nutritionnelle.

Pour cette raison, une étude quantitative et qualitative des huiles extraites de la pulpe et de la graine du safou en fonction de l'orientation géographique a été réalisée.

Par ailleurs, ayant travaillé parallèlement sur les mêmes échantillons avec une méthode quantitative et une méthode qualitative, cette étude permet de valider la méthode qualitative qui est moins chère et plus facile à mettre en œuvre. Elle paraît particulièrement indiquée pour une étude des échantillons de taille plus grande, notamment lorsque l'on veut saisir la biodiversité chez le safoutier.

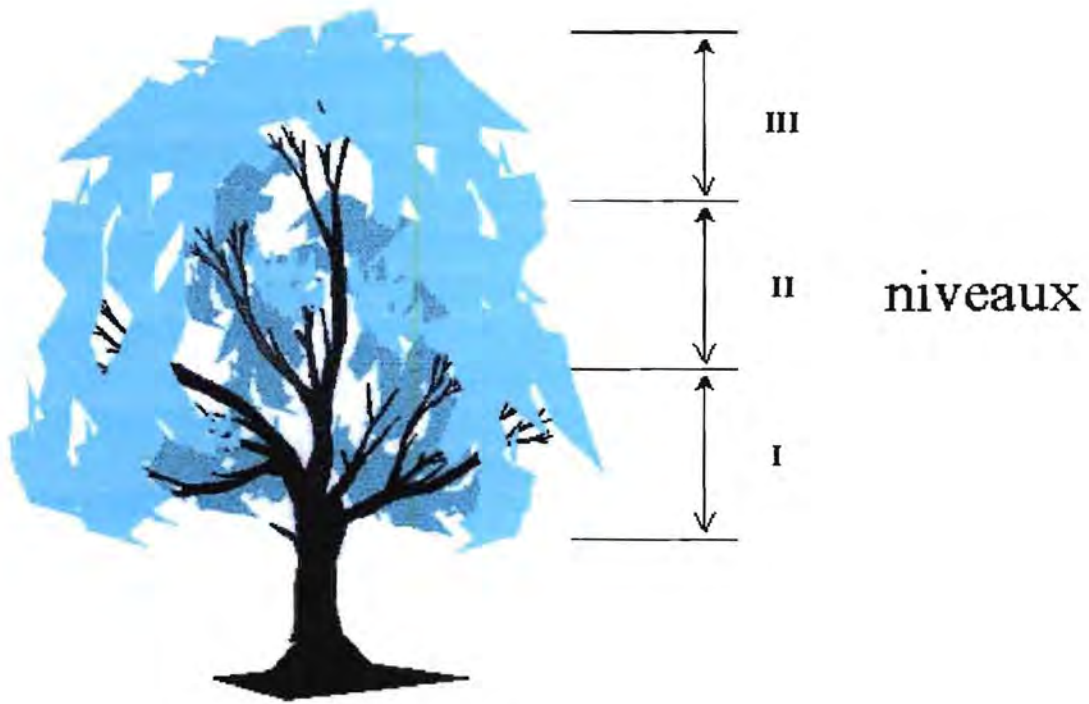
II. MATERIEL ET METHODES

1. Récolte des échantillons

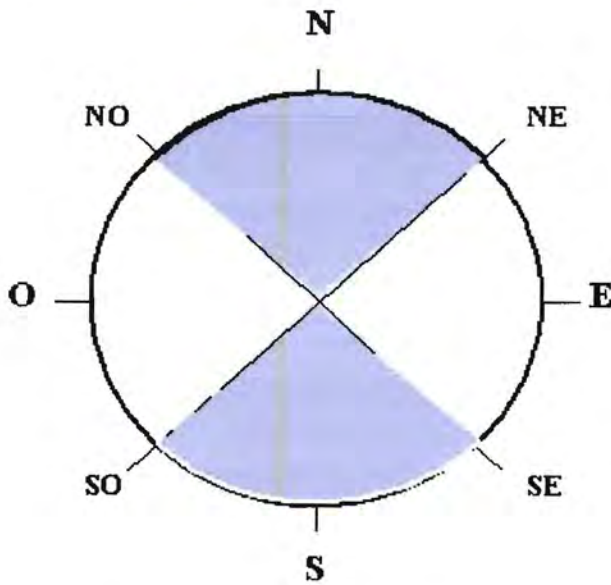
Les fruits sur un arbre peuvent subir l'influence du mouvement du soleil conditionnant la photosynthèse ; mais également la distance au sol, peut traduire l'influence de la sève dans la physiologie de l'arbre.

Ainsi, pour prélever des échantillons représentatifs, nous avons adapté à la situation du safoutier la méthode déjà utilisée dans la littérature pour les agrumes (MARS *et al.*, 1994) (figure 19) selon le schéma suivant :

- Délimitation autour de l'arbre les portions cardinales : Nord (N), Sud (S), Est (E), Ouest (O).
- Définition de 3 niveaux en fonction de la distance au sol (niveau I, II, III), à la place de frondaisons utilisées pour les agrumes.



a) Définition des niveaux



b) Définition des orientations

Figure 19 : Niveau et Orientation des fruits sur l'arbre
(MARS et al., 1994)

En prélevant, au hasard, 3 fruits au niveau I, 3 fruits au niveau II et 4 fruits au niveau III (qui est généralement le niveau le plus chargé en fruits chez le safoutier), on a un échantillon de 10 fruits par orientation géographique, soit 40 fruits par arbre.

2. Grandeurs morphologiques et caractéristiques physiques

2.1. Grandeurs morphologiques

Les grandeurs prises en compte dans l'appréciation de la morphologie sont la longueur et la largeur du fruit d'une part et l'épaisseur de la pulpe, d'autre part, telles que définies antérieurement (SILOU, 1996). Les mesures sont réalisées à l'aide d'un pied à coulisse.

2.2. Masse volumique du fruit

Avec de l'eau distillée, on remplit aux trois quarts une éprouvette graduée d'un litre. On note le volume V_0 , on immerge un fruit entier de masse m , on note V_1 , la masse volumique est donnée par :

$$\text{Masse volumique} = m/(V_1 - V_0)$$

2.3. Masse totale du fruit et masse de la pulpe.

A l'aide d'une balance, le fruit entier est pesé au dg près, on obtient la masse totale (M_t), après le retrait de la graine, la pulpe est pesée, on obtient la masse de la pulpe (M_p).

2.4. Teneur en eau

Le fruit est ouvert longitudinalement à l'aide d'un couteau de table, on retire la graine, soit m_1 la masse de la pulpe fraîche et m_2 de la pulpe séchée à l'étuve à 105 °C jusqu'à la masse constante. La teneur en eau est donnée par :

$$\% \text{eau} = [(m_1 - m_2)/m_1]100$$

3. Extraction de l'huile

La détermination de la teneur en huile a été faite par la méthode de soxhlet.

La pulpe (ou la graine) séchée, broyée et pesée (masse m_1) est introduite dans une cartouche d'un soxhlet.

Après extraction pendant 5 heures avec l'hexane, l'extrait est séché au sulfate de sodium ; le solvant est évaporé sous vide et les traces de solvant sont éliminées par séchage de l'huile à l'étuve à 103 °C pendant 24 heures.

Soit m_2 la masse de l'huile obtenue, la teneur en huile (g/100) est donnée par

$$\% \text{huile} = (m_2/m_1)100$$

4. Détermination de la composition en Acides gras (AG)

Les esters méthyliques des AG des huiles extraites sont préparés selon la norme FIL INTERNATIONALE, 182 : 1999 selon le mode opératoire suivant :

Peser, à 5 mg près, 100 mg de l'échantillon de matière grasse dans un tube à essai. Dissoudre l'échantillon dans 5 ml d'hexane et mélanger. Ajouter 0,2 ml de réactif de transestérification (composé de l'hydroxyde de potassium : 11,2 g dissous dans 100 ml de méthanol) ; boucher le tube, et mélanger le contenu vigoureusement à l'aide de l'homogénéisateur type vortex pendant 1 minute. Après un délai de réaction supplémentaire de 5 minutes, ajouter 0,5 g de NaHSO₄ solide et, mélanger. Centrifuger l'échantillon pendant 3 minutes à température ambiante. Prélever une aliquote du liquide surnageant pour l'analyse.

Les esters méthyliques obtenus sont analysés par chromatographie en phase gazeuse (CPG) sur un appareil Perichrom Sarl, ZAC du Moulin 2 (SAULX-les-CHARTREUX, France), Type PERI 2000, équipé d'une colonne capillaire de verre préparée au laboratoire de 30 m de long et 0,4 mm de diamètre intérieur, imprégnée de carbowax 20M (Applied Science labs, State Collège, PA, USA). L'analyse est faite à une température constante de 195 °C avec un débit d'azote de 3 ml/min sous une pression de 0,5 bar. L'appareil est muni d'un injecteur à 220 °C et d'un détecteur à ionisation de flamme à 215 °C.

L'acquisition des données (aire des pics, pourcentage pondéral des AG), s'est faite à l'aide du logiciel Azur v2,0 (Datalys, Saint-Martin d'Hères, France).

La réponse du détecteur aux différents esters méthyliques est étudiée avec des mélanges quantitatifs (Nu Chek-Prep. Elysian, MN, USA).

5. Détermination de la composition en TAG

5.1. Méthode 1 (Quantitative)

Les TAG purifiés (0,4 g d'échantillon dans 10 ml de dichloroéthane) sont analysés par chromatographie liquide à haute performance (CLHP) en phase inverse à l'aide d'une colonne en acier inoxydable de 250 mm de longueur, de 4,6 mm de diamètre intérieur remplie de silice (4µm de diamètre) greffée de radicaux octadecyl (Hibar Lichrospher 100 CH-18) de chez Merck. La colonne est montée sur l'appareil WatersTM 717 Plus Autosampler, qui est muni d'un réfractomètre différentiel WatersTM 996 Photodiode Array Detector (Waters, Milford, MA, USA). Les conditions d'analyses sont les suivantes : analyse isocratique, à température ambiante (21°C), à l'aide d'une phase mobile acétone – acétonitrile (47:33, en volumes) avec un débit de 1 ml/min. L'acquisition des données (aire des pics, pourcentage pondéral des TAG), s'est faite à l'aide du logiciel Azur v2,0 (Datalys, Saint-Martin d'Hères, France).

5.2. Méthode 2 (Analyse qualitative)

Les triacylglycérols ont été analysés par chromatographie liquide à haute performance (CLHP) en phase inversée.

La chaîne comprend : une pompe HP 1050 (Hewlett Packard, Palo-Alto, CA, EtatsUnis), une vanne d'injection Rhéodyne modèle 7125 avec une boucle de 20ul (Rhéodyne, Cotati, CA, Etats-Unis), un détecteur évaporatif à diffusion de lumière Sedere Sedex 75 (Sedere, Alfortville, France). La température de la colonne est contrôlée à l'aide d'un four Crococil (Cluzeau, Sainte-Foy-la-Grande, France) à circulation d'eau régulée par un thermostat - cryostat Julabo UC FIO (Touzart et Matignon, Les Ulis, France). L'acquisition des données s'est faite à l'aide du logiciel Azur v2,0 (Datalys, Saint-Martin d'Hères, France).

Toutes les analyses ont été menées à 20°C avec la colonne suivante : Kromasil Cig (5 mg) 250 x 4,6 mm (Thermo Quest, Les Ulis, France). La phase mobile est un mélange binaire optimisé MeCN/CH₂CL₂ (63 : 37 en volumes) avec un débit de 1 ml/min (HERON, 1994a).

Les paramètres du détecteur ont été optimisés et sont les suivants : T = 37 °C, P_{aw} = 3,5 bars, Gain = 7 - 11, constante de temps = 1.

L'acétonitrile (Acros, New Jersey, USA) et le dichlorométhane (Carlo Erba, Rodano, Italie) sont de qualité grade HPLC. Les huiles ont été mises en solution dans un mélange MeCN/CH₂CL₂ (50 : 50 en volumes) ; la concentration et le volume injecté ont été adaptés de telle façon qu'un pic pris en référence (POO) ait toujours sensiblement la même aire (la même hauteur : 200 mv environ).

6. Traitements statistiques

Les traitements statistiques (moyennes, écarts types, corrélation, histogrammes et radar-plots) ont été effectués sur les logiciels Excel et Statview.

III. RESULTATS EXPERIMENTAUX ET DISCUSSION

1. Caractéristiques morphologiques et physico-chimiques

Les tableaux XII, XIII et XIV regroupent les données sur les grandeurs morphologiques des fruits, les teneurs en eau et huile, les caractéristiques physico-chimiques et la composition (en AG et en TAG) des huiles extraites de la pulpe et de la graine des safous.

1.1. Grandeurs morphologiques

Le tableau XII, indique pour les caractéristiques morphologiques et physico-chimiques, les moyennes et les écarts types par orientation, tandis que les tableaux XIII et XIV présentent les moyennes et les écarts types calculés sur l'ensemble de 40 fruits de l'arbre. On peut ainsi apprécier l'importance de l'écart entre les valeurs relatives aux grandeurs étudiées dans les différentes orientations et la valeur moyenne pour l'ensemble de l'arbre ; ces écarts pouvant être considérés comme un moyen de diagnostiquer l'homogénéité ou l'hétérogénéité des fruits de l'arbre.

S'agissant de l'arbre 1, et par rapport aux valeurs moyennes de l'arbre, nous constatons pour la longueur (6,6 cm), que les fruits situés au Nord, au Sud et à l'Ouest ont une valeur très légèrement inférieure à la longueur moyenne des fruits de l'arbre ; les fruits situés à l'Est ont une valeur supérieure à la longueur moyenne des fruits de l'arbre. Il faut toutefois noter que cette variation est relativement faible. Comme la longueur, la largeur et l'épaisseur varient très faiblement, en fonction de l'orientation.

Nous confirmons ainsi l'homogénéité du calibre (longueur/largeur) des fruits sur un même arbre, observée antérieurement (SILOU *et al*, 2000).

Les mêmes conclusions peuvent être tirées pour l'arbre 2.

S'agissant de la masse totale, les fruits situés au Sud et à l'Est ont une masse supérieure à la masse moyenne des fruits de l'arbre (37,8 g), tandis que ceux situés au Nord et à l'Ouest ont une masse inférieure. On constate également que la masse moyenne de fruits augmente en passant du Nord au Sud d'une part et de l'Ouest à l'Est d'autre part, même si les variations restent très faibles. Il semble se dessiner 2 gradients croisés Nord-Sud et Ouest – Est

Pour la masse de la pulpe, les fruits situés à l'Est ont, en moyenne, une masse identique à la masse moyenne des fruits de l'arbre qui est de 24,3g alors que celles de fruits situés au Nord et à l'Ouest ont une masse moyenne plus faible ; par contre, celle de fruits situés au Sud présentent une masse moyenne supérieure à la moyenne de l'arbre.

De manière globale, nous constatons une très faible variation des caractéristiques morphologiques en fonction de l'orientation géographique, confirmant ainsi nos conclusions antérieures sur le calibre naturel des fruits sur un même arbre.

1.2. Teneur en eau et teneur en huile de la pulpe.

La teneur en eau varie en fonction de l'orientation de 60 à 66 % pour l'arbre 1 et de 51 à 63% pour l'arbre 2.

Pour l'arbre 1, sauf pour le Nord où elle atteint 65.5 %, la teneur en eau a une valeur quasi-constante de 60-61 % ; elle est très légèrement inférieure à la moyenne calculée pour l'arbre. Un gradient Sud – Nord, de faible amplitude, est observé.

Pour l'arbre 2, les fruits situés au Nord et au Sud ont une teneur en eau moyenne inférieure à la moyenne de l'arbre.(56 %), tandis que ceux situés à l'Est et à l'Ouest ont une valeur au dessus de cette moyenne. On note 2 gradients croissants croisés, de faible amplitude, selon les axes Nord-Sud et Est-Ouest.

La variation n'excédant pas 10 % entre les 4 orientations pour l'arbre 1 ; nous pouvons conclure une grande ressemblance des fruits sur les 4 orientations de cet arbre.

La teneur en huile des pulpes, qui varie de 49 à 59 % pour l'arbre 1 et de 52 à 70 % pour l'arbre 2, se situe bien à l'intérieur de la fourchette de 30 à 80 % rencontrés dans la littérature. Les échantillons étudiés se trouvent bien dans la moitié supérieure de cette gamme de valeurs.

L'écart entre l'Est et l'Ouest est plus important que celui observé entre le Nord et le Sud pour les 2 arbres étudiés. Le gradient Est-Ouest est plus prononcé que le gradient Nord-Sud.

La teneur en huile des graines, qui est de l'ordre de 10 %, est conforme aux données de la littérature (SILOU, 2000).

En définitive nous pouvons retenir que :

(i) les faibles valeurs des écarts-types mettent en évidence une non discrimination des teneurs en huile en fonction de l'orientation géographique, aussi bien pour la pulpe que pour la graine ; il en est de même de la teneur en eau ;

(ii) les fruits de l'arbre 1 sont légèrement plus longs et plus lourds que ceux de l'arbre 2 ; leurs pulpes contiennent plus d'eau et moins d'huile.

Les différences entre les masses et les longueurs sont significatives au seuil de 5 % ; de même que celles relatives à l'épaisseur et à la masse de la pulpe fraîche.

Les différences entre les 2 arbres pour la largeur et la masse de la pulpe sèche ne sont pas significatives.

Tableau XII : Caractéristiques morphologiques et physico-chimiques des fruits des arbres 1 et 2 en fonction de l'orientation géographique

	Arbre 1				Arbre 2			
	N	S	E	O	N	S	E	O
Longueur (cm)	6,4 (0,3)	6,4 (0,1)	6,7 (0,4)	6,4 (0,3)	5,5 (0,2)	5,2 (0,3)	5,5 (0,3)	5,3 (0,2)
Largeur (cm)	3,3 (0,1)	3,5 (0,3)	3,4 (0,2)	3,3 (0,3)	3,4 (0,2)	3,3 (0,3)	3,4 (0,3)	3,3 (0,2)
Epaisseur(cm)	0,5 (0,05)	0,6 (0,08)	0,5 (0,06)	0,6 (0,07)	0,6 (0,05)	0,6 (0,07)	0,7 (0,09)	0,6 (0,06)
Mt(g)	35,3 (0,3)	40,3 (0,6)	38,8 (0,5)	36,5 (0,5)	33,7 (0,4)	30,6 (0,7)	35,0 (0,6)	30,5 (0,4)
Mp(f)	23,1 (0,3)	27,9 (0,7)	24,7 (0,4)	22,8 (0,4)	23,0 (0,3)	20,7(0,5)	24,9 (0,5)	20,8 (0,3)
Mp(s)	8,0	10,9	9,8	9,1	11,3	9,8	10,4	7,7
Mass vol.	0,98	1,02	0,99	0,96	1,01	0,95	0,99	1,00
%Eau	65,5	61,0	60,4	60,0	51,1	52,9	58,1	63,0
%Huile(pulpe)	55,2	49,2	49,2	58,5	70,0	69,7	64,4	52,0
%Huile(graine)	11,6	10,6	13,8	8,5	8,6	9,3	8,1	12,1
AG (pulpe) en % AG totaux								
C16:0	49,33	49,23	43,02	46,10	44,02	45,29	44,74	45,09
C18:0	2,48	2,84	2,84	2,40	2,81	2,35	2,24	1,93
C18:1	36,26	36,28	33,43	34,28	29,98	26,94	28,83	26,93
C18:2 n-6	10,94	10,39	18,88	16,23	22,10	23,96	22,89	24,35
C18:3 n-3	0,60	0,50	0,15	0,68	0,66	0,66	0,69	0,78
C20:0	0,19	0,24	0,84	0,32	0,20	0,11	0,11	0,10
C20:1 n-9		0,19	0,16					0,08
AG(graine) en % AG totaux								
C16:0	27,84	28,02	26,71	27,01	33,92	35,30	28,55	26,23
C18:0	14,29	12,21	13,04	13,79	8,17	7,85	12,75	14,94
C18:1	24,74	23,27	23,65	19,91	21,37	20,66	20,52	19,47
C18:2 n-6	27,74	30,41	29,71	30,05	33,33	32,35	31,36	32,72
C18:3 n-3	0,99	1,14	1,06	0,64	1,55	1,44	0,71	0,60
C20:0	2,24	1,97	2,25	3,42	0,29	0,25	2,61	3,03
C20:1 n-9	1,46	1,55	1,61	2,33	0,17	0,17	1,70	1,81
TAG(pulpe) en % TAG totaux								
PPL	1,34	1,07	1,16	1,70	8,68	11,45	9,76	10,80
POL	6,38	5,70	5,63	6,81	17,77	17,98	17,63	17,93
PPL	13,09	12,03	12,44	12,70	26,89	27,45	29,07	32,11
POO	24,74	23,38	23,86	25,72	16,83	13,81	14,90	12,49
PPO	54,45	57,82	56,92	53,07	29,84	29,30	28,64	26,67
TAG(graine) en % TAG totaux								
PLL	11,40	10,06	9,28	11,51	11,15	11,15	12,02	10,00
POL	24,95	31,63	29,13	32,34	28,65	30,07	23,99	25,74
PPL	21,32	17,65	18,66	16,89	18,68	19,06	22,36	21,02
SOL	17,59	17,93	17,43	16,78	14,77	10,23	13,43	13,08
PSL	12,66	13,29	13,09	12,46				
PPO	12,07	9,44	12,42	10,02	21,14 (PSL+PPO)	22,54 (PSL+PPO)	23,32 (PSL+PPO)	26,14 (PSL+PPO)
OLL	-	-	-	-	2,81	3,47	2,54	2,17
OOL	-	-	-	-	2,81	3,48	2,33	1,85

N : Nord ; S : Sud ; E : Est ; O : Ouest ; () : écart-type ; P : Acide palmitique ; L : Acide linoléique ; O : Acide oléique ; S : Acide stéarique ; Mt : Masse totale ; Mp(f) : Masse de la pulpe fraîche ; Mp(s) : Masse de la pulpe sèche

Tableau XIII : Données morphologiques sur l'ensemble de 40 fruits de l'arbre 1

Echantillon	Masse totale(g)	Masse pulpe Fraîche(g)	Masse pulpe Sèche ((g)	Masse volumique	Longueur (cm)	largeur (cm)	Epaisseur (cm)
A1-Ouest 1	30,3	18,4	7,3	1,0	6,0	3,0	0,5
2	44,2	25,2	10,7	1,0	6,7	3,5	0,6
3	37,7	21,7	9,9	0,9	6,1	3,2	0,6
4	38,6	26,5	10,6	1,0	6,7	3,4	0,6
5	38,6	26,0	10,1	1,0	6,8	3,7	0,7
6	34,6	21,8	7,0	1,0	6,1	3,3	0,5
7	38,1	24,5	10,8	1,1	6,5	3,6	0,6
8	34,7	23,6	8,6	0,9	6,5	3,2	0,5
9	41,7	26,3	10,3	0,9	6,6	3,6	0,7
10	27,3	13,8	5,7	0,9	5,8	2,8	0,5
A1-Nord 1	34,2	22,2	6,4	1,0	6,4	3,2	0,5
2	29,8	18,9	8,2	1,0	5,7	3,3	0,5
3	38,6	25,6	9,7	1,0	6,5	3,5	0,6
4	35,5	21,8	5,8	1,0	6,5	3,3	0,6
5	38,4	25,8	11,2	1,0	6,9	3,3	0,5
6	36,6	25,2	10,3	1,0	6,7	3,4	0,6
7	36	22,7	6,8	1,0	6,4	3,2	0,6
8	32,5	20,7	6,3	0,9	6,4	3,1	0,5
9	33,8	21,5	5,8	1,0	6,4	3,2	0,5
10	39,2	26,8	9,2	1,0	6,5	3,5	0,5
A1-Sud 1	43,7	30,2	11,8	1,0	7,1	3,7	0,6
2	42,9	28,7	11,5	1,0	7,3	3,6	0,5
3	47,9	33,3	15,1	1,0	7,0	3,9	0,7
4	51	34,9	15,4	1,0	7,6	3,9	0,7
5	38,6	23,5	8,5	1,1	6,4	3,4	0,6
6	36,7	22,7	9,2	1,0	6,5	3,3	0,6
7	35,5	23,8	7,6	1,0	6,5	3,4	0,6
8	39,7	25,4	13,9	1,0	6,7	3,2	0,4
9	33,6	21,7	7,5	1,1	6,3	3,3	0,5
10	33,2	21,3	8,2	1,1	5,8	3,3	0,6
A1-Est 1	45,9	32,3	15,2	1,0	7,4	3,7	0,6
2	39,5	26,0	9,3	1,0	6,7	3,5	0,6
3	35,8	21,1	7,2	1,0	6,4	3,2	0,5
4	45,6	30,8	13,8	1,0	7,1	3,7	0,6
5	39,4	26,2	8,6	1,0	6,7	3,5	0,6
6	36,3	23,0	8,9	0,9	6,5	3,2	0,5
7	35,6	22,1	7,6	1,0	6,6	3,3	0,5
8	42,2	24,8	12,8	1,1	6,9	3,5	0,5
9	35,1	22,1	7	0,9	6,6	3,1	0,5
10	32,4	19,1	7,6	1,1	6,0	3,3	0,5
Moyenne	37,8	24,3	9,4	1,0	6,6	3,4	0,6
Ecart type	5,0	4,2	2,7	0,1	0,4	0,2	0,1
CV	13,2	17,3	28,7	10,0	6,1	5,9	16,7

CV : coefficient de variation

Tableau XIV : Données morphologiques sur l'ensemble de 40 fruits de l'arbre 2

Echantillon	Masse Totale (g)	Mpulpe fraîche	Mpulpe sèche	M volumique	Longueur (cm)	largeur (cm)	Epaisseur (cm)
A2-Ouest 1	36,7	26	10	0,92	5,6	3,5	0,6
2	31,3	19,2	7,3	1,04	5,3	3,2	0,6
3	33,7	23,5	10,2	0,96	5,5	3,5	0,7
4	32,5	22,5	8,4	1,08	5,5	3,3	0,7
5	33,1	22,1	7,9	1,10	5,5	3,3	0,6
6	29,4	20,6	8	0,98	5,2	3,1	0,7
7	29,5	21,1	6,1	0,98	5,4	3,5	0,7
8	27,7	18,1	6,3	0,92	5,2	3,7	0,6
9	25,1	16,2	4,8	1,00	4,9	3,0	0,5
10	26,3	18,3	7,7	1,05	4,9	3,1	0,6
A2-Nord 1	34	21,4	11	1,13	5,6	3,2	0,6
2	41,8	30	15,4	0,93	5,8	3,7	0,8
3	28,5	19,5	7,4	0,95	5,2	3,1	0,6
4	35,1	22,6	11,1	1,17	5,5	3,5	0,6
5	34	24,9	12	1,13	5,4	3,5	0,7
6	32,1	23,3	11,7	0,92	5,5	3,5	0,7
7	38	25,9	13,3	0,95	5,8	3,5	0,7
8	30,9	19,7	10,5	1,03	5,3	3,2	0,6
9	29,6	20,7	10,2	0,99	5,4	3,3	0,7
10	33,4	22,3	10	0,95	5,3	3,4	0,6
A2-Sud 1	44,3	29,6	13,7	0,98	5,9	3,8	0,7
2	36,5	26,3	11,5	0,91	5,7	3,6	0,8
3	33,5	22,9	11,1	0,96	5,4	3,4	0,7
4	31,4	21,8	11	0,90	5,5	3,5	0,7
5	18,5	11,6	6,3	0,93	4,5	2,8	0,5
6	27,5	17,6	8	0,92	5	3,2	0,6
7	28,7	19,4	8,7	0,96	5,3	3,2	0,6
8	27,5	18,8	9,1	0,92	5	3,1	0,6
9	30,8	20,4	9,3	1,03	5,2	3,4	0,7
10	26,9	18,7	8,9	1,08	5,1	3,2	0,6
A2-Est 1	47,4	33,4	15	1,05	6,0	3,8	0,8
2	35,2	25,2	11,1	1,01	5,3	3,3	0,7
3	39,6	30,7	13	0,88	6,0	3,7	0,8
4	39,1	28,1	11,3	0,87	5,7	3,6	0,7
5	33,7	24	9,9	0,96	5,4	3,4	0,8
6	35	26	11,4	1,00	5,5	3,6	0,8
7	33,9	22	8,5	1,13	5,6	3,3	0,6
8	34,3	24,6	10,7	0,98	5,4	3,5	0,8
9	27,5	18	7	1,10	5,4	2,9	0,6
10	24,8	16,5	6,1	0,99	5,0	3	0,5
moyenne	32,5	22,3	9,8	1,0	5,4	3,4	0,7
écart type	5,5	4,4	2,5	0,1	0,3	0,2	0,1
CV	17,0	19,7	25,5	10,0	5,6	5,9	14,3

CV : coefficient de variation

1.3. Composition en acides gras

Les huiles extraites des pulpes contiennent 3 acides gras majeurs dont le total fait plus de 90 %. Ce sont les acides palmitique (P ou C16:0), oléique (O ou C18:1 n-9) et linoléique (L ou C18:2 n-6) vient ensuite l'acide stéarique (S ou C18:0) à environ 2-3 % et des mineurs : acide linoléique (Ln ou C18:3 n-3), acide arachidique (ou C20:0), acide eicosaénoïque (ou C20:1 n-9) à des teneurs inférieures à 1 %.

On retrouve ici, pour les majeurs, le profil caractéristique de l'huile de la pulpe de safou tel qu'il émerge de la littérature à savoir $\% P > \% O > \% L$.

Les teneurs moyennes assorties de leurs écarts-types (tableau XII) et les histogrammes (figure 20a) indiquent une non-discrimination de la composition en AG par rapport à l'orientation géographique des fruits sur l'arbre.

Il convient tout de même de signaler que l'arbre 2 contient près de 2 fois plus de C18:2 n-6 que l'arbre 1 ; cette hausse de C18:2 n-6, qui est simultanée à la baisse de C18:1 n-9 paraît logique puisqu'il est établi que chez les végétaux supérieurs le C18:2 n-6 peut être synthétisé à partir de C18:1 n-9 ; il reste à comprendre pourquoi les 2 arbres se comportent-ils différemment ?

Les huiles des graines, qui contiennent les mêmes AG que celles des pulpes, présentent un profil différent. Le nombre d'AG majeurs passe de 3 à 4 avec une teneur individuelle toujours inférieure à 30 % et une teneur cumulée supérieure à 90 % (Figure 20b).

On note la présence de 3 mineurs dont la teneur individuelle varie entre 0,17 et 3,5 % (tableau XII). Pour ces mineurs les variations sont importantes puisqu'on passe de 0,99 à 3,42 % pour l'arbre 1 et de 0,17 à 3,03 pour l'arbre 2.

Sauf pour le Nord, où l'on observe une inversion de position entre le premier et le deuxième majeur, les huiles extraites des graines de l'arbre 1 présente le profil suivant : $L > P > O > S$

Pour l'arbre 2, on a :

au Nord : $P > L > O > S$

au Sud : $P > L > O > S$

à l'Est : $L > P > O > S$

à l'Ouest: $L > P > O > S$

Il se dégage, pour ce dernier, 2 axes :

axe Nord – Sud avec le profil : $P > L > O > S$

axe Est – Ouest avec le profil : $L > P > O > S$.

1.4. Composition en TAG

On note l'existence de 4 TAG majeurs dans les huiles extraites des pulpes avec une teneur cumulée de plus de 95 % des TAG totaux et un profil : PPO > POO > PPL > POL ainsi que la présence d'un TAG mineur, PLL, dont la teneur n'excède pas 2 % pour l'arbre 1.

Pour l'arbre 2, PLL devient majeur (10 % environ), ce qui conduit au profil suivant :

PPO > POO > PPL > POL > PLL

Pour chacun des 2 arbres, les 4 orientations se ressemblent qualitativement et les faibles variations des teneurs ne permettent pas la mise en évidence des gradients de variation (tableau XII, figure 20c).

La situation est plus complexe pour les graines avec 6 TAG majeurs (% > 9 %) et au moins 2 mineurs.

Les 4 orientations se ressemblent ne serait-ce que par la complexité de leurs huiles avec toujours POL, comme premier majeur et PLL en dernière position, entre ces 2 extrêmes, la variation semble être aléatoire (tableau XII, figure 20d).

Les « radar-plots » établis sur 5 TAG pour la pulpe et 6 TAG pour la graine, représentés sur les figures 21 et 22, sous-tendent l'ensemble de ces conclusions.

En effet, une représentation sous forme de « radar-plots » visualise mieux les résultats, car cette représentation permet une comparaison plus facile des différences et des ressemblances qu'un histogramme quand on a des échantillons dont le nombre de variables caractéristiques est important, dans ce cas, 5 TAG pour la pulpe et 6 TAG pour la graine.

2. Comparaison de la composition en TAG des huiles extraites des pulpes et graines en fonction de l'orientation géographique des fruits

2.1. Analyse qualitative par Chromatographie Liquide à polarité Inversée de Phases (CLPI).

La connaissance de la composition en AG obtenue par CPG après transestérification des TAG fournit de nombreuses informations sur la composition des huiles et graisses analysées, cependant différents problèmes peuvent se poser :

- la composition en AG ne donne pas le reflet réel d'une huile, car on n'a pas directement la composition en TAG. Celle-ci peut s'obtenir à partir de calculs statistiques, mais ceux-ci ne sont pas toujours le reflet de la composition biologique réelle de l'huile.
- l'obtention de la composition en AG peut être entachée d'erreurs à cause, d'une part de problèmes d'injection entraînant une discrimination des composés légers par rapport à ceux de masse plus élevée, et d'autre part au fait que la transestérification n'est pas toujours quantitative.

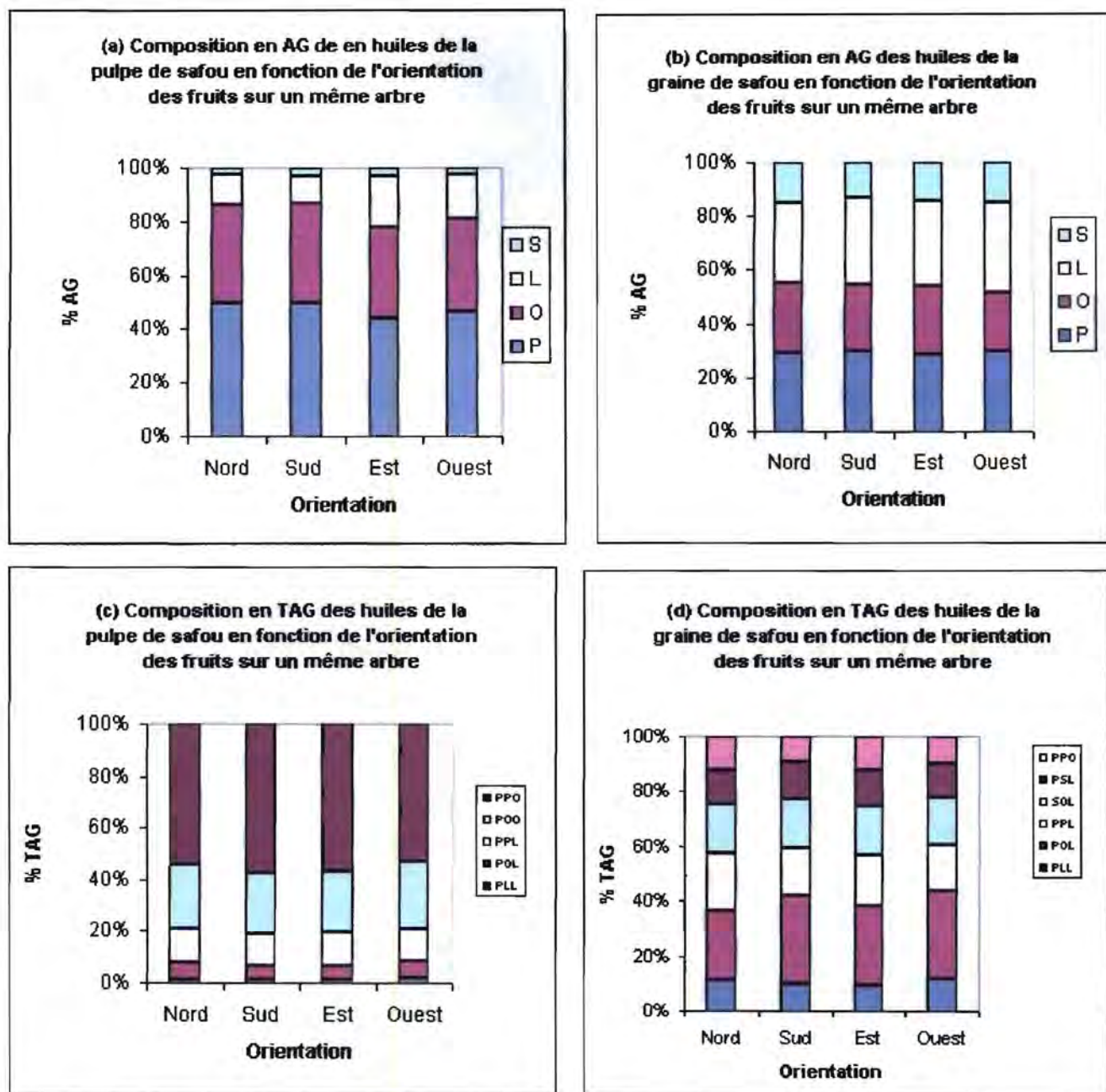
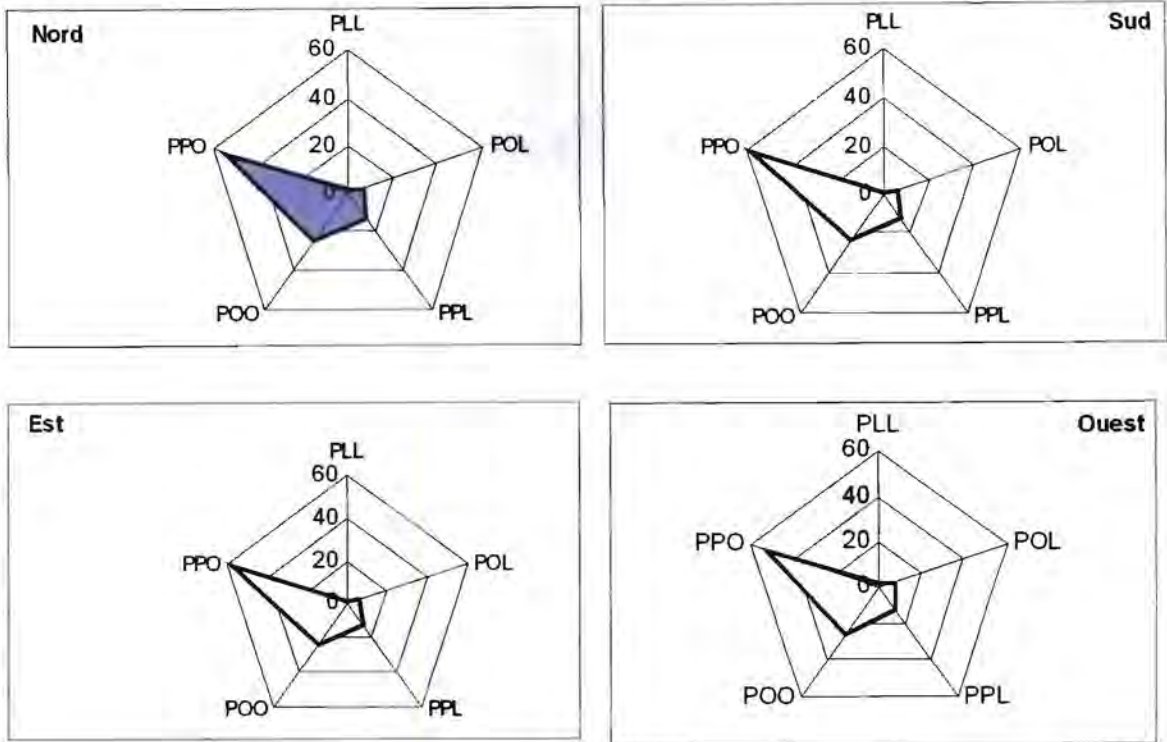


Figure 20 : Variation de la composition en AG et TAG des fruits d'un même arbre en fonction de l'orientation géographique

Arbre 1



Arbre 2

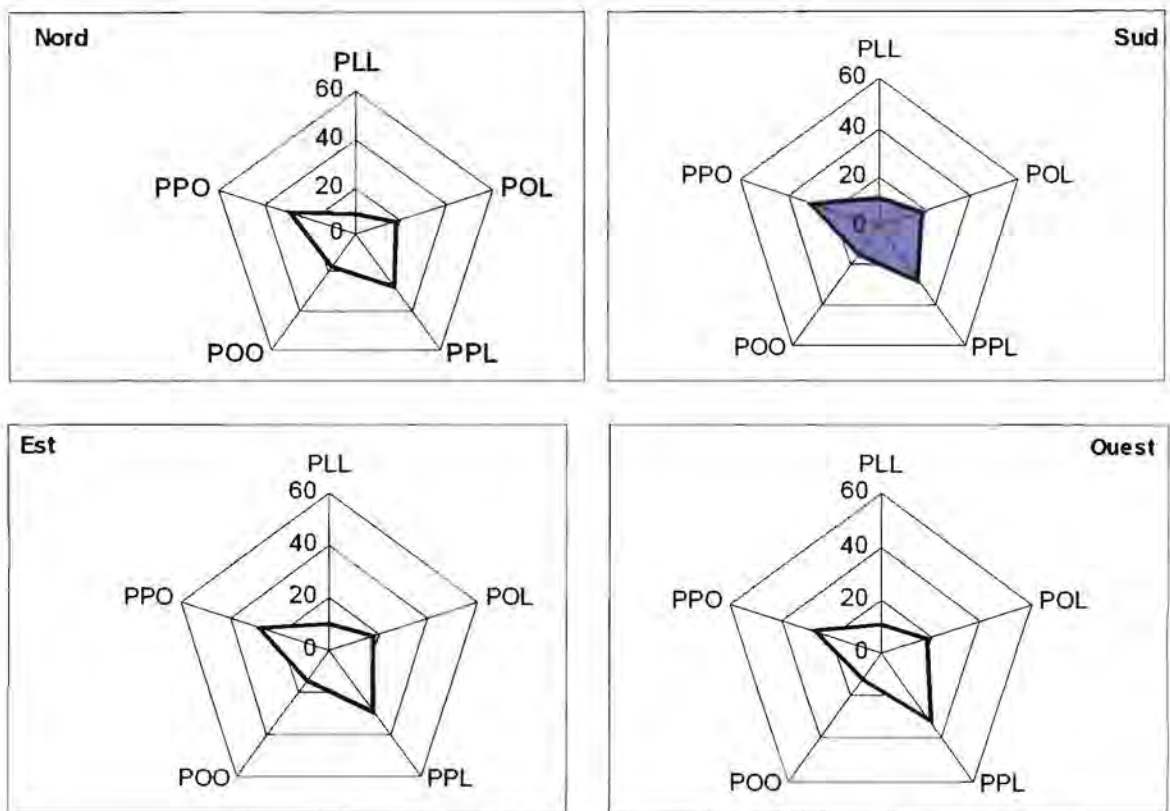


Figure 21 : Représentation « radar-plot » quantitative de la teneur (%) en TAG des huiles de la pulpe en fonction de l'orientation des fruits sur l'arbre 1.

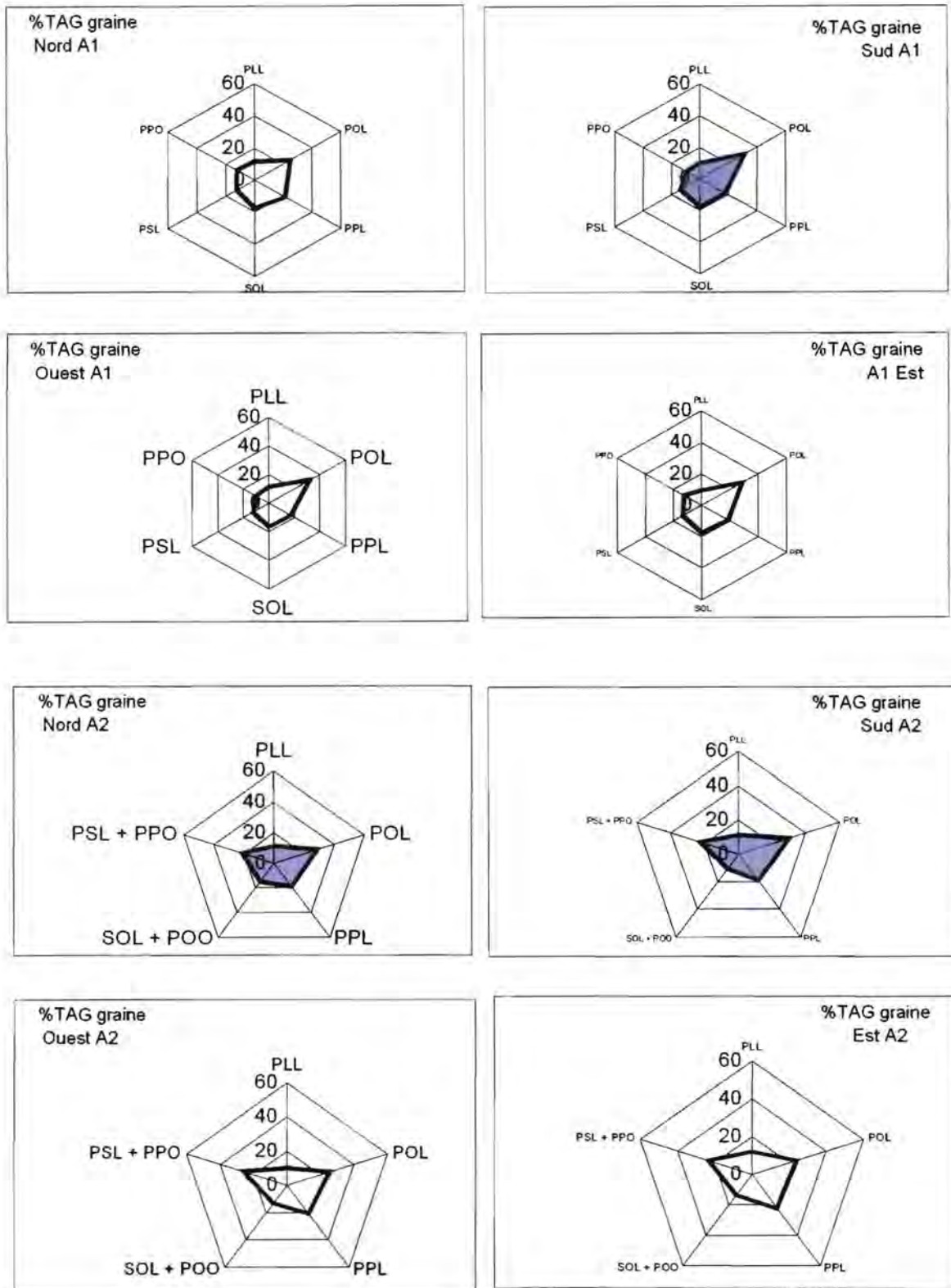


Figure 22 : Représentation « radar-plot » des TAG (%) des huiles de la graine des arbres 1 et 2 en fonction de l'orientation

Différentes études d'analyse directe des triacylglycérols ont donc été proposées en chromatographie en phase gazeuse (CHRISTIE, 1989). Cependant, vue la faible volatilité de ces produits, cela nécessite de travailler à très haute température, dans des conditions proches des limites de stabilité thermique de la phase stationnaire.

Afin de passer outre ces problèmes de volatilité, l'analyse par Chromatographie Liquide a été envisagée et plus particulièrement la Chromatographie Liquide à polarité Inversée de Phases (CLPI), technique permettant des séparations basées à la fois sur la différence de volume hydrocarboné des TAG et sur leur nombre d'insaturations.

Le détecteur évaporatif à diffusion de lumière (détecteur très bien adapté à l'analyse de composés à hauts poids moléculaires absorbant peu ou pas en UV) ne donne pas une réponse directement proportionnelle à la quantité injectée (DREUX et LAFOSSE, 1995).

La loi de réponse du détecteur utilisé est de la forme :

$$\text{Aire} = a (\text{masse injectée})^b$$

$$(\text{avec } 1 < b < 2)$$

Par ailleurs, les différents TAG ne répondent pas tous de la même façon. Comme ils ne sont pas tous disponibles en standard, l'analyse quantitative n'est donc pas aisée, (on ne peut pas connaître le coefficient de réponse (b) de chaque TAG présent, ni faire l'hypothèse qu'ils sont égaux).

Pour toutes les analyses nous avons donc injecté une quantité massique constante (par modulation de la concentration et du volume injecté) d'un TAG pris comme référence. De cette manière, quels que soient les chromatogrammes, l'aire du pic correspondant à ce TAG a toujours été constante.

La comparaison des différentes huiles se fera donc en calculant le pourcentage (%) de l'aire d'un TAG donné par rapport à l'aire du TAG de référence. En comparant ce rapport des différentes huiles analysées, pour un TAG donné, plus ce chiffre sera élevé, plus l'huile sera riche en ce TAG.

Tableau XV: Aires des TAG identifiés dans l'huile de la pulpe de safou pour les arbres 1 et 2

		Arbre 1					
	PLL	POL	PPL	POO	PPO	PPP	PSO
Nord	248	1655	3221	8029	18673	337	195
Sud	224	1671	3482	8421	22673	402	289
Est	212	1603	3446	8936	24690	515	225
Ouest	193	1713	3350	8789	23838	494	265
		Arbre 2					
Nord	8088	13619	27191	8747	17281	110	161
Sud	5484	10834	18363	8984	15404	112	159
Est	7104	11682	24070	8342	16545	113	216
Ouest	4802	10545	17288	9117	15261	119	151

Tableau XVI : Rapports des aires des TAG majeurs des huiles extraites de la pulpe de safou pour les arbres 1 et 2 en fonction de l'orientation géographique

		Aire _{TAG} /Aire _{POO}				
		PLL	POL	PPL	POO	PPO
Arbre 1	Nord	0,031	0,206	0,401	1,000	2,326
	Sud	0,027	0,198	0,413	1,000	2,688
	Est	0,024	0,179	0,386	1,000	2,790
	Ouest	0,022	0,195	0,381	1,000	2,708
Arbre 2	Nord	0,525	1,157	1,896	1,000	1,693
	Sud	0,858	1,430	2,918	1,000	2,027
	Est	0,610	1,206	2,044	1,000	1,736
	Ouest	0,925	1,557	3,109	1,000	1,976

Tableau XVII : Rapport des aires des TAG des huiles de la graine des safous des arbres A1 et A2 selon l'orientation

		Aire _{TAG} /Aire _{PLL}					
		PLL	SLL	POL	PPL	SOL	PSL
A1	Nord	1,000	0,749	1,698	1,86	0,461	0,962
	Sud	1,000	0,838	2,216	2,128	0,629	1,338
	Est	1,000	0,833	2,576	2,563	0,849	1,857
	Ouest	1,000	0,713	1,916	1,656	0,593	1,08
A2	Ouest	1,000	0,788	1,635	1,788	0,69	1,736
	Est	1,000	0,886	1,523	1,963	0,472	1,245
	Sud	1,000	0,736	1,846	1,927	0,505	1,191
	Nord	1,000	0,766	1,624	2,043	0,522	1,326

Les tableaux XV, XVI (pour les pulpes) et XVII (pour les graines) regroupent l'ensemble des résultats obtenus pour les 2 arbres en fonction des 4 orientations.

La démarche utilisée pour l'analyse qualitative a été la suivante :

- à partir de la connaissance des différents AG constitutifs des TAG obtenus par CPG,
- utilisation d'un programme informatique permettant de remonter à la composition théorique en TAG puis à leur ordre de sortie en CLPI (HERON, 1994a et b),
- injection des différentes huiles ; puis, dans les mêmes conditions chromatographiques (HERON, 1994a et b) injection de l'huile du calophyllum ayant la plupart des TAG, à savoir : LLL, OLL, PLL, OOL, SLL, POL, PPL, OOO, SOL, POO, PSL, PPO, SOO, SSL, PSO, SSO ;
- à partir du chromatogramme obtenu avec l'huile du calophyllum, les TAG de l'huile des graines ont pu être identifiés par superposition de leur chromatogramme et leur temps de rétention.

Pour calculer la surface des TAG mal séparés, il a fallu calculer la surface des pics en se basant sur la surface totale et la hauteur des pics.

Les principaux triacylglycérols ainsi identifiés sont les suivants :

(i) pour la pulpe : PPO, POO, PPL, POL, PLL (figure 23)

(ii) pour la graine : PPO, PPL, POL, PLL, SOL, PSL, OLL, OOL. (figure 24)

2.2. *Variation de la composition en TAG en fonction de l'orientation*

Afin de comparer les 4 orientations sur l'arbre 1 (tableaux XV et XVI), nous avons travaillé de telle manière que, s'agissant de l'huile de la pulpe, le composé POO ait quasiment la même aire de pic, par modulation du volume injecté. Ainsi pour chacun des TAG, les résultats sont donnés sous forme de rapports des aires ci-après :

$$\text{Aire}_{\text{TAG}}/\text{Aire}_{\text{POO}}$$

Ainsi si l'on considère les 5 TAG majeurs de l'huile de la pulpe de safou, les résultats obtenus conduisent à la construction des « radar-plots » des rapports des aires représentés dans la figure 25a.

Nous constatons une parfaite ressemblance des « formes » représentatives des échantillons étudiés pour les 4 orientations.

Les formes représentatives des échantillons renseignent sur la nature des constituants (aspect qualitatif) et la taille renvoie à l'aspect quantitatif.

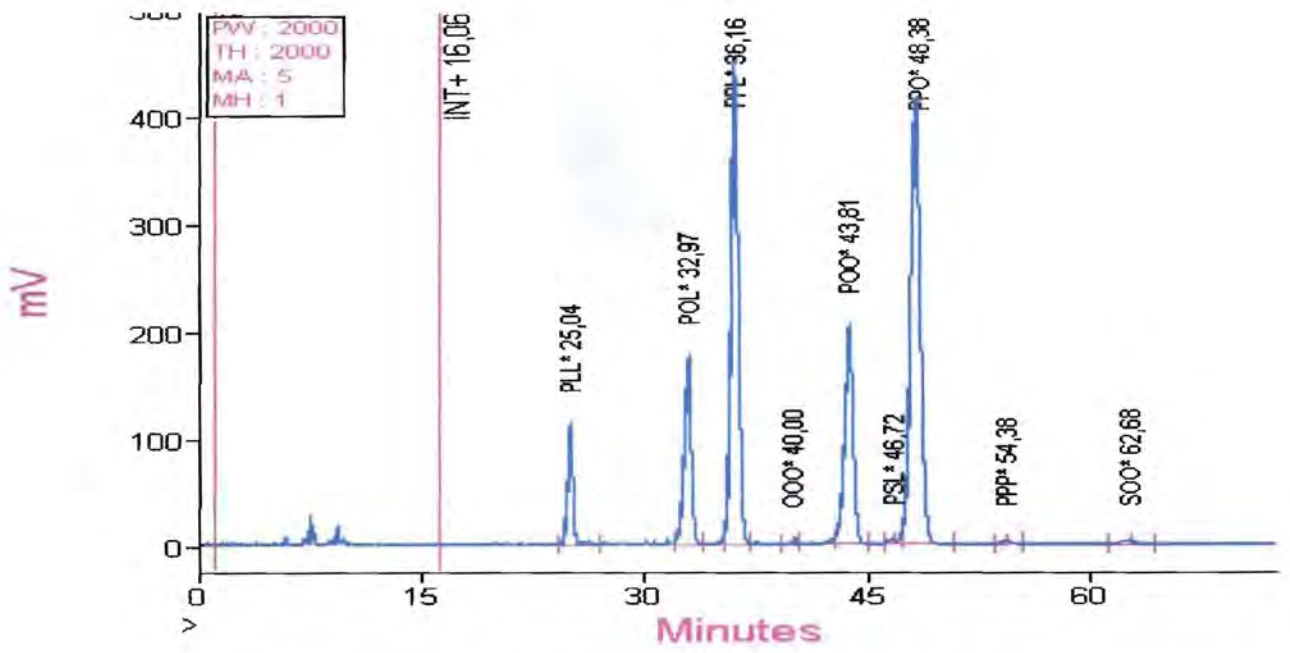


Figure 23 : Chromatogramme type de l'huile de la pulpe de safou

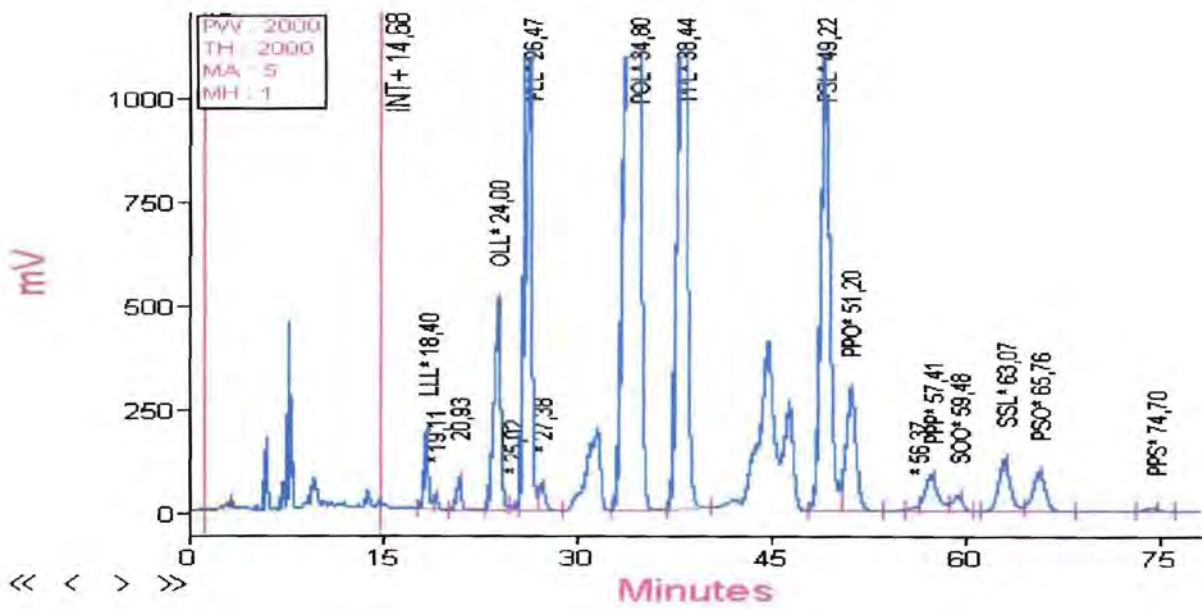


Figure 24 : Chromatogramme type de l'huile de la graine de safou

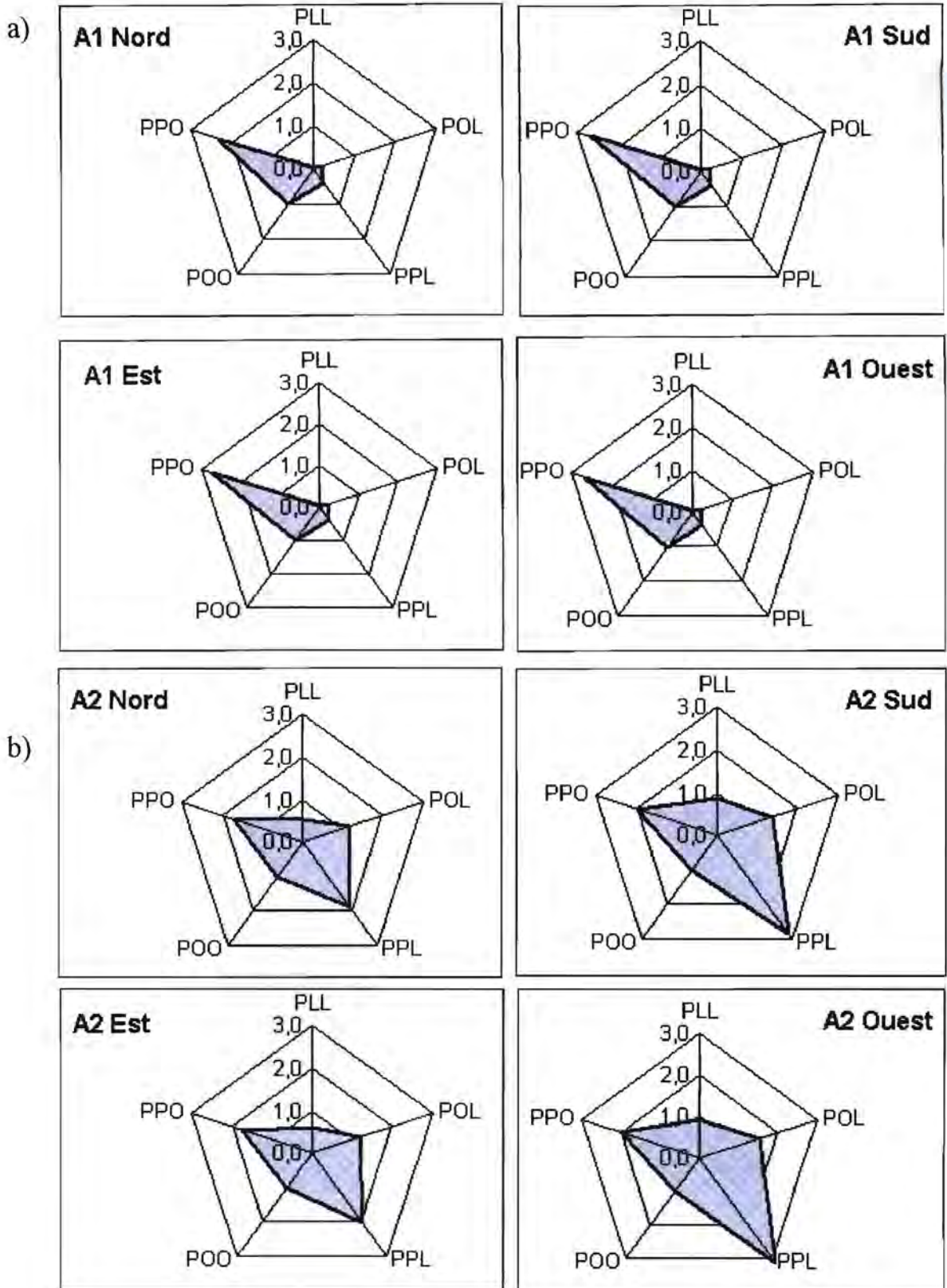


Figure 25 : Représentation sous forme de « radar-plot qualitatif » des rapports des aires des TAG de l'huile des pulpes des safous des arbres A1 et A2

Ce dernier aspect apparaît plus nettement lorsque l'on considère l'arbre 2 ; en effet, « les radar-plots » des rapports des aires (figure 25b), qui ont la même forme mais de taille différente, indiquent qu'on a les mêmes constituants à des teneurs différentes.

Sur la taille (donc la composition), il apparaît plutôt une ressemblance par couple : Nord et Est d'une part, Sud et Ouest d'autre part, suggérant ainsi l'existence de 2 gradients croisés croissants : Nord-Sud et Est-Ouest.

De manière relative (semi-quantitative) il se dégage à la vue des aires des TAG (tableau XIV et XV), les profils suivants pour les 2 arbres et en tenant compte de l'orientation géographique :

Pour l'arbre 1 :

Nord : PPO > POO > PPL > POL > PLL
 Sud : PPO > POO > PPL > POL > PLL
 Est : PPO > POO > PPL > POL > PLL
 Ouest : PPO > POO > PPL > POL > PLL

Pour l'arbre 2 :

Nord : PPL > PPO > POL > POO > PLL
 Sud : PPL > PPO > POL > POO > PLL
 Est : PPL > PPO > POL > POO > PLL
 Ouest : PPL > PPO > POL > POO > PLL

L'étude de l'huile de la graine (tableau XVII, figure 26) conduit à des résultats similaires.

2.3. Validation de la méthode qualitative

Les mêmes échantillons ont été étudiés de manière quantitative et qualitative.

La comparaison entre ces 2 méthodes peut se faire en rapprochant, pour l'arbre 1 par exemple, les « radar-plots quantitatifs » (pourcentage pondéral figure 21) et les « radar-plots qualitatifs » (rapports des aires, figure 25) pour les triacylglycérols.

Le constat est net ; les 2 méthodes conduisent à des conclusions parfaitement identiques.

La méthode qualitative se trouve ainsi validée par les résultats obtenus directement par la méthode quantitative.

Nous venons ainsi de mettre au point une méthode rapide et fiable d'étude des différences et des ressemblances dans la composition des huiles extraites de la pulpe ou de la graine de safou. Elle peut être avantageusement mise en œuvre dans les études sur les aspects chimiques de la biodiversité chez le safou. Nous la testerons au chapitre suivant sur un nombre plus grand d'arbres.

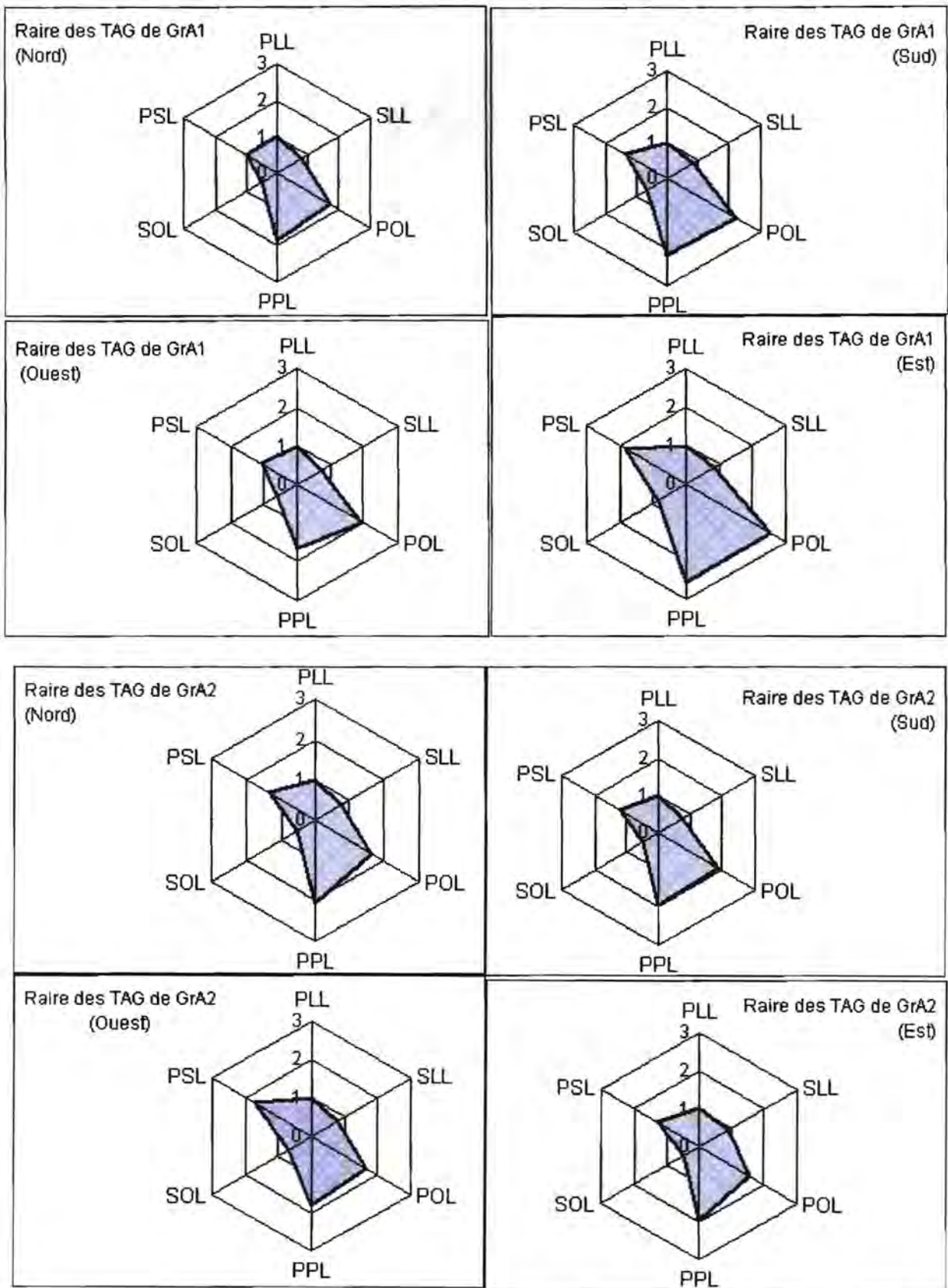


Figure 26 : Représentation radar-plot des TAG des huiles des graines

3. Intérêt nutritionnel

Sur le plan nutritionnel, les résultats obtenus montrent que les fruits de safou peuvent être cueillis sans tenir compte de leur emplacement sur l'arbre.

Toutefois, si l'on considère l'arbre 1, les fruits des axes Est-Ouest apportent plus d'acide oléique et moins d'acide linoléique à l'organisme. La dipalmitooléine (PPO) est son TAG majeur. Par contre, la pamtodilinoléine (PLL) est présente en quantité minime à peine décelable. Ainsi, l'huile issue de cet arbre sera très proche de l'huile d'olive puisque très peu d'acide palmitique sera absorbé.

Pour l'arbre 2, l'observation des couples Nord-Est et Sud-Ouest suggère que son huile soit plus riche en acide linoléique suivi de l'acide oléique avec leurs TAG respectifs. Par conséquent, cette huile comporte plus d'acide linoléique en position interne suivi de l'acide oléique ; cette huile est de meilleure qualité nutritionnelle que celle de l'arbre 1.

Ainsi, cette étude montre bien que selon l'arbre considéré, la composition de la fraction triglycéridique peut varier quantitativement entraînant même le changement du profil type des TAG majeurs de l'huile de safou. De ce fait, cet aspect doit être approfondi en étudiant un plus grand nombre d'échantillons de safou.

Concernant les huiles issues des graines de safou étudiées, leur composition est très différente de celle des pulpes, contrairement à l'huile des graines étudiées antérieurement (KALENDA *et al.*, 2002 ; KINKELA et SILOU, 2003).

Les résultats de l'étude qualitative montrent que le chromatogramme est très différent de celui de l'huile des pulpes.

Si l'on considère l'étude quantitative des TAG de cette huile des graines, la remarque signalée avec l'huile des pulpes reste valable. Par rapport à l'orientation, les 4 positions ont la même huile. Cependant s'agissant de l'arbre 1, l'huile des graines est très différente de celle de la pulpe. Le TAG majeur est la palmitooléolinoléine (POL) et 6 TAG sont identifiables.

Par contre, pour l'arbre 2, 5 TAG peuvent être identifiés dont trois sont majeurs : POL, PPL, PSL (+PPO). La différence observée provient de la richesse en acide stéarique (S ou C18:0) de cet échantillon et permet de distinguer l'huile de la pulpe à celle de la graine.

Si l'on considère les 2 représentations (radar-plot), des deux huiles, l'huile de la graine est semblable à celle de la pulpe confirmant ainsi les résultats de nos études antérieures (KALENDA *et al.* ; KINKELA et SILOU, 2003).

Mais pour confirmer cette observation des études plus approfondies devront être entreprises sur un nombre important de fruits.

Du point de vue nutritionnel, les huiles des graines sont plus aptes à fournir les acides gras indispensables (acide linoléique, C18:2 n-6) par rapport à l'huile de la pulpe. La présence de l'acide de l'acide stéarique contribuera à la couverture des besoins énergétiques ; mais son apport sera limité puisqu'il se trouvera préférentiellement en position externe sn-1 et sn-3 qu'en position interne sn-2 des TAG.

Faut-il extraire l'huile du fruit entier ?

Actuellement, on sait que la graine n'est pas consommée à cause de son goût. De plus des études effectuées sur le fruit safou n'ont pas révélé l'existence de substances toxiques (BONKENS et OKOLIE, 1993) .

Ainsi, il serait intéressant d'approfondir l'étude sur la recherche des toxines dans le fruit entier. Cette étude nous permettra d'extraire l'huile du fruit entier sans en extraire la graine. L'huile de safou ainsi obtenue augmentera la qualité nutritionnelle par rapport à celle de la pulpe pourvu que la classe du fruit safou soit définie à partir des profils de leur TAG.

La recherche des toxines pourrait donner une réponse à l'idée empirique "qui pense que la consommation de la pulpe de safou fait dormir".

4. Conclusion

L'étude quantitative sur les données morphologiques, les caractéristiques physico-chimiques et la composition en AG et en TAG met en évidence une identité de comportement des 4 orientations géographiques sur un même arbre. Toutefois d'un arbre à un autre, la différence peut être importante. Nous déduisons ainsi qu'il existe une grande homogénéité morphologique et chimique des fruits d'un même arbre.

L'utilisation des « radar-plots quantitatifs » des arbres 1 et 2 permet de conclure qu'il y a, sur le plan de la composition en TAG une très forte ressemblance des fruits sur un même arbre concernant leur nature et leur teneur aboutissant à un profil quantitatif quasi-constant sur un même arbre, quelle que soit la position géographique des fruits.

Par contre d'un arbre à un autre, si la nature des TAG majeurs reste le même, il y a une forte variation des teneurs qui peut conduire jusqu'au changement des rangs occupés par les différents constituants conduisant ainsi à des profils différents.

Dans ce travail nous avons mis au point une méthode rapide et fiable d'étude des différences et des ressemblances dans la composition des huiles extraites de la pulpe ou de la graine de safou pouvant être avantageusement utilisée dans les études sur les aspects chimiques de la biodiversité chez le safou.



SAFOU (au laboratoire)

CHAPITRE IV

ETUDE DE LA VARIATION QUANTITATIVE ET QUALITATIVE INTER-ARBRE DES LIPIDES DE LA PULPE ET DE LA GRAINE DE SAFOU COMME INDICATEUR DE LA BIODIVERSITE

I. POSITION DU PROBLEME

L'huile de safou est une bonne huile alimentaire avec les acides oléique et linoléique en position interne du glycérol des TAG, limitant ainsi les effets néfastes connus de l'acide palmitique, qui est l'acide gras largement majoritaire avec près de 50 % des AG totaux.

Nous avons vu au chapitre précédent que la qualité alimentaire de cette huile est indépendante de la position des fruits sur l'arbre.

Comment varie cette qualité alimentaire d'un arbre à un autre ?

L'étude de la variabilité inter-arbre des caractéristiques morphologiques des fruits et de la composition de la fraction triglycéridique des huiles extraites des fruits safous devrait nous permettre de répondre à cette question.

II. MATERIEL ET METHODES

1. Matériel

Nous avons examiné, sur 17 arbres, la variation des caractéristiques morphologiques des fruits et celle de la composition en acides gras et en TAG de leurs huiles.

2. Méthodes

2.1. Caractéristiques morphologiques des fruits

2.1.1. Calibre

Pour décrire la morphologie du safou, OMOTI (1987) et KAPSEU (1999) utilisent la longueur et la circonférence ou le diamètre du fruit.

SILOU et al. (2000), pour des raisons pratiques, ont retenu la longueur et la largeur.

Nous avons opté pour cette deuxième approche.

Soit un parallépipède inscrivant le fruit, la section du fruit étant quasiment cylindrique, la section parallépipède inscrite est un carré dont le côté est égal à la « largeur » du fruit ; la hauteur du parallépipède correspond à la « longueur » du fruit.

La longueur et la largeur ainsi définies peuvent servir à décrire la morphologie du safou.

Une telle démarche paraît pertinente dans l'éventualité de la conception de machine pour l'ouverture mécanisée des fruits, en tant que maillon d'un procédé artisanal ou industriel de production d'huile à partir de la pulpe de safou.

L'épaisseur de la pulpe, une autre grandeur à considérer dans la description de la morphologie du safou, peut s'avérer intéressante dans l'étape du séchage au cas où le procédé nécessiterait le retrait de l'endocarpe.

Plus la pulpe est épaisse, plus facile est le retrait de l'endocarpe du fruit après cuisson.

Cette manière de décrire le fruit a eu un écho favorable, puisque par la suite, ATANGANA *et al.* (2002) et LADIPO *et al.* (2002) l'ont appliquée respectivement à la description des safous du Cameroun et du Nigeria.

Des grandeurs physiques qui découlent de la morphologie peuvent également être prises en compte dans ce travail ; c'est le cas de la masse, sous forme de masse totale du fruit (M_t), masse de la pulpe (M_p).

Toutes ces données quantitatives combinées conduisent à une définition plus fine du « calibre ».

2.1.2. Catégorie

Il est regroupé sous ce vocable tout ce qui a trait à la composition du fruit, et en particulier à la teneur en huile parce que nous avons inscrit ce travail dans le cadre de la valorisation du safou en tant qu'oléagineux.

Le premier groupe de grandeurs à considérer est celui qui considère la composition globale du fruit. Ce sont les teneurs en eau, lipides, protéines, cendres et éventuellement en sucres et fibres.

Le second groupe de grandeurs concerne la qualité des huiles extraites du fruit (pulpe, graine). Ce sont : la masse volumique, la viscosité, l'indice de réfraction, la couleur ; les indices d'acide, de saponification, d'iode, et de peroxyde.

Un dernier groupe lié aux études plus fines renvoie à la composition de l'huile : teneur en insaponifiable, composition en acides gras et en TAG.

Seul un petit nombre de tous ces critères possibles est utilisé dans les classifications de types commerciales ou technologiques.

Nous avons retenu, dans cette étude, la teneur en eau et la teneur en huile.

Les huiles ont été extraites au soxlhet avec l'hexane.

L'étude quantitative a été réalisée en CLHP avec un détecteur réfractométrique décrite au chapitre précédent. Par contre l'étude qualitative a été réalisée en CLHP avec un détecteur évaporatif à diffusion de lumière. Ces deux méthodes nous ont permis d'élargir la validité de la méthode qualitative initiée au chapitre précédent. Cette dernière méthode va être utilisée, dans cette étude, afin d'évaluer la variabilité de la composition des huiles extraites des *fruits* des arbres étudiés.

Les autres méthodes utilisées sont celles décrites au chapitre III en particulier la construction des histogrammes pour comparer les proportions (%) en AG ou en TAG ou les radar-plots pour mieux visualiser les différences sur les TAG des huiles étudiées.

III. RESULTATS ET DISCUSSION

1. Caractérisation des fruits

1.1. Calibre et catégorie des safous

Le calibre englobe les caractéristiques morphologiques et physiques du fruit telles la longueur, la largeur, l'épaisseur de la pulpe, la masse, etc. ; tandis que la catégorie renvoie à la composition chimique du fruit et en particulier aux teneurs en eau et en huile.

On peut ainsi définir 3 calibres et 3 catégories de fruit pour rendre compte des qualificatifs communément utilisés par les acteurs de la filière, à savoir :

- petit, moyen et gros, pour le calibre,
- faiblement, moyennement et hautement oléagineux, pour la composition (tableau XVIII).

Tableau XVIII : Essai de classification des safous selon leur calibre (morphologie) et leur catégorie (composition) (SILOU et *al.*, 2000).

DESIGNATION	CALIBRE				CATEGORIE	
	Longueur (cm)	Largeur (cm)	Epaisseur (cm)	Masse Totale (g)	% Huile	% Eau
I	< 4,0	< 3,0	< 0,4	< 30	< 30	< 40
II	4 - 8	3 - 6	0,4 - 0,8	30 - 70	30 - 60	40 - 80
III	> 8	> 6	>0,8	> 70	> 60	> 80

Comment se positionnent, dans cette classification, les safous étudiés?

1.2. Calibre et catégorie des fruits étudiés

Les résultats obtenus sur le calibre et la catégorie des fruits étudiés sont portés dans le tableau XIX.

Tableau XIX : Données morphologiques, teneurs en huile et en eau des safous des 17 arbres étudiés.

Arbres	Calibre				Catégorie	
	Longueur (cm)	Largeur (cm)	Epaisseur (cm)	Masse Totale (g)	% huile	% eau
A1	6,6 ± 0,4	3,4 ± 0,2	0,6 ± 0,1	37,8 ± 5,0	53,0	61,7
A2	5,4 ± 0,3	3,4 ± 0,2	0,7 ± 0,1	32,5 ± 5,5	64,0	56,3
A3	6,0 ± 0,6	3,0 ± 0,5	0,5 ± 0,1	38,9 ± 3,4	48,3	65,0
A4	4,0 ± 0,4	3,4 ± 0,2	0,6 ± 0,1	40,9 ± 5,4	58,1	60,0
A5	5,5 ± 0,2	3,3 ± 0,2	0,6 ± 0,1	35,1 ± 4,3	60,6	61,9
A6	7,1 ± 0,2	3,6 ± 0,1	0,5 ± 0,0	45,8 ± 2,9	71,2	52,2
A7	6,3 ± 0,3	4,1 ± 0,1	0,7 ± 0,1	49,3 ± 3,9	61,3	61,1
A8	6,0 ± 0,3	3,3 ± 0,2	0,6 ± 0,0	34,2 ± 4,4	62,0	63,2
A9	6,6 ± 0,2	3,1 ± 0,3	0,5 ± 0,1	53,9 ± 2,4	50,9	65,3
A10	6,8 ± 0,2	4,4 ± 0,2	0,7 ± 0,1	60,2 ± 3,6	67,4	54,7
A11	8,6 ± 0,4	4,4 ± 0,2	0,6 ± 0,1	50,9 ± 5,0	71,3	57,2
A12	5,8 ± 0,2	4,4 ± 0,1	0,7 ± 0,0	38,6 ± 3,6	55,2	63,9
A13	6,6 ± 0,5	3,9 ± 0,3	0,6 ± 0,1	49,7 ± 7,7	50,9	65,3
A14	6,3 ± 0,2	3,6 ± 0,2	0,5 ± 0,0	33,6 ± 2,2	56,8	68,3
A15	6,1 ± 0,2	2,2 ± 0,2	0,5 ± 0,0	40,0 ± 3,2	62,5	65,1
A16	6,7 ± 0,4	3,6 ± 0,4	0,6 ± 0,0	36,2 ± 4,9	47,8	67,4
A17	5,3 ± 0,3	3,4 ± 0,2	0,5 ± 0,0	39,2 ± 4,9	46,5	58,4
Moyenne générale	6,2 ± 0,3	3,5 ± 0,2	0,5 ± 0,1	43,3 ± 4,2	58,1	61,0

* Chaque valeur est la moyenne des mesures effectuées sur 10 fruits (moyenne ± écart-type)

L'examen de ce tableau XIX indique que les safous étudiés qui viennent de Pointe-Noire et ses environs (Région du KOUILOU) sont du calibre II et de la catégorie II.

Cette conclusion rejoint celle de OKAFOR (2000) ; en effet, ce dernier propose la distinction entre 2 variétés de safous :

- la variété *edulis* (ellipsoïdale) : longueur > 5 cm ; largeur > 2,5 cm ;
épaisseur : 0,3 – 0,9 cm ; elle est voisine du calibre II telle définie dans ce travail ;
- la variété *parvicarpa* (sphérique) : longueur < 5 cm ; largeur < 2,5 cm ;
épaisseur : 0,20 – 0,35 cm. ; elle est proche du calibre I.

OMOTI (1987) signale également que c'est la variété *edulis* qui est la plus courante ; notre étude confirme cette conclusion en mettant en évidence la prédominance quasi-totale du calibre II pour les arbres étudiés.

Par ailleurs, au terme d'une enquête de grande envergure sur les safous des différentes régions du Nigéria, LADIPO et *al.* (2002) aboutissent aux valeurs moyennes suivantes pour les grandeurs morphologiques des fruits étudiés : longueur : $5,3 \pm 0,13$ cm ; largeur : $2,9 \pm 0,05$ cm et épaisseur : $0,40 \pm 0,01$ cm. Ce sont bien des fruits de calibre II.

Il convient toutefois de signaler qu'une caractérisation aussi grossière des fruits qui est, sans aucun doute, déjà satisfaisante d'un point de vue commercial et peut-être oléotechnique, mérite d'être approfondie si l'on veut accéder à une meilleure évaluation de l'intérêt alimentaire et nutritionnel des safous.

1.3. Teneur en eau et en huile

Pour les 17 arbres étudiés, la teneur en eau des fruits varie de 54 à 68 % avec une moyenne de $61,6 \pm 4,6$ % ; la teneur en huile est de 48 à 71 % avec une moyenne de $58,4 \pm 8,2$ %. Les 2 grandeurs sont moyennement corrélées avec un coefficient de corrélation de $-0,64$. Cette observation est conforme avec les données de la littérature à savoir que la teneur en huile augmente au cours de la maturation du fruit alors que la teneur en eau baisse (KIAKOUAMA et SILOU, 1990).

2. Composition chimique de l'huile

2.1. Composition en acides gras (8 arbres)

2.1.1. Composition de la pulpe

Le tableau XX (figure 27) regroupe la teneur en AG des huiles extraites des pulpes des fruits de 8 arbres.

Tableau XX : Variation de la teneur (%) en AG des huiles de la pulpe des fruits de 8 arbres du Kouilou.

Arbres AG	A1	A2	A3	A4	A5	A6	A7	A8	Moyenne	Ecart type
C16:0	46,92	44,78	49,29	49,26	50,09	45,56	40,30	50,35	47,07	3,44
C16:1	0,00		0,00	0,00	0,00	0,00	0,00			
C17:0	0,18		0,00	0,17	0,15	0,17	0,23			
C18:0	2,64	2,33	2,77	2,85	2,47	2,97	2,04	2,61	2,58	0,3
C18:1 n-9	35,06	28,17	37,07	37,04	36,87	24,41	35,55	32,13	33,29	4,72
C18:2 n-6	14,11	23,32	10,08	10,03	10,01	25,37	20,87	13,74	15,94	6,33
C18:3 n-3	0,48	0,70	0,55	0,43	0,41	0,91	1,01	0,75		
C20:0	0,40	0,13	0,00	0,23	0,00	0,26	0,00	0,42		
C20:1 n-9	0,18		0,00			0,14	0,00			

Tableau XXI : Corrélation des teneurs en acides gras des huiles des pulpes de fruits de 8 arbres du Kouilou

Matrice de corrélation

	C16:0	C18:0	C18:1	C18:2	C18:3
C16:0	1,000	,609	,292	-,767	-,741
C18:0	,609	1,000	-,201	-,229	-,349
C18:1	,292	-,201	1,000	-,836	-,569
C18:2	-,767	-,229	-,836	1,000	,788
C18:3	-,741	-,349	-,569	,788	1,000

8 observations ont été utilisées dans ce calcul.

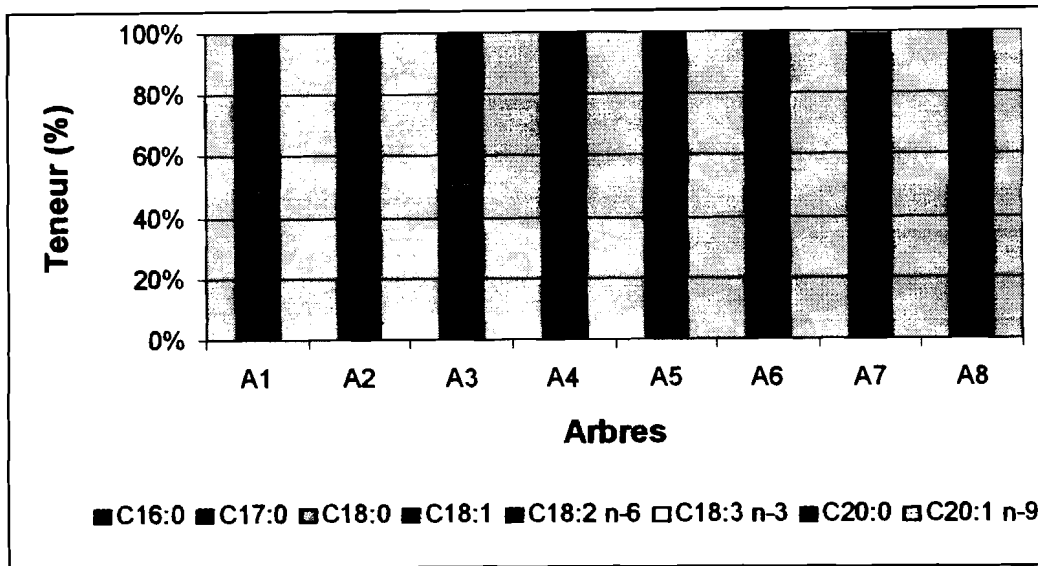


Figure 27 : Variation de la composition en AG des huiles des pulpes de safou

Les 4 acides gras majoritaires sont retrouvés dans l'huile extraite de la pulpe de safou. Les acides palmitique (P ou C16:0), stéarique (S ou C18:0), oléique (O ou C18:1 n-9) et linoléique (L ou C18:2 n-6).

On note également à des teneurs inférieures à 2 %, l'acide linoléique (C18:3 n-3).

Les faibles valeurs des écart-types notamment pour les acides gras, majoritaires témoignent d'une bonne homogénéité des échantillons (tableau XX), confirmée par les histogrammes de la figure 27.

Les résultats de ce travail sur le profil des acides gras corroborent ceux déjà obtenus antérieurement (SILOU et al, 2000) à savoir :

$$\%P > \%O > \%L$$

Les teneurs en C18:1 et C18:2 sont importantes ; en moyenne 31 et 16 %, ce qui représente pour des fruits ayant une teneur en huile moyenne de 61 %, 20 g de C18:1 et 10 g de C18:2 dans 100g de matière sèche de pulpe consommée.

Il s'en suit pour le safou sur le plan nutritionnel un gain important quand on sait que d'une part, le C18:1 permet à l'organisme de couvrir ses besoins énergétiques et de lutter contre les maladies cardio-vasculaires et d'autre part, le C18:2 n-6, acide gras essentiel permet la couverture des besoins plastiques de l'organisme.

Le tableau XXI rapporte les résultats de corrélation entre les acides gras. On note une forte corrélation positive entre C18:2 n-6 et C18:3 n-3 pour les 8 arbres étudiés ($r = 0,79$).

Le C16:0 est négativement corrélé, d'une part à C18:2 n-6 ($r = - 77$), et d'autre part à C18:3 n-3 ($r = - 0,74$).

La corrélation la plus forte est observée entre C18:2 n-6 et C18:1 n-9 ($r = -0,84$).

On déduit en définitive, que C18:2 n-6 varie dans le même sens que C18:3 n-3 ; alors que l'augmentation de C16:0 se fait au détriment de C18:2 n-6 et de C18:3 n-3.

La forte corrélation négative entre C18:2 n-6 et C18:3 n-3 est en faveur avec l'idée selon laquelle que chez les végétaux supérieurs C18:2 n-6 et C18:3 n-3 peuvent être synthétisés à partir de C18:1 n-9.

2.1.2. Composition de la graine

Le tableau XXII (figure 28) représente les teneurs (%) en AG des huiles des graines de 8 arbres étudiés.

Tableau XXII : Variation de la teneur en AG des huiles de la graine des fruits de 8 arbres du Kouilou.

Arbres AG	A1	A2	A3	A4	A5	A6	A7	A8	Moyenne	Ecart type
C12:0	0,19	0,19	0,18	0,15	0,19		0,38			
C14:0	0,12	0,21		0,10	0,15		0,17			
C16:0	27,39	31,00	26,74	26,16	29,50	27,73	27,12	25,62	27,66	1,8
C16:1	0,56	0,58	0,62	0,65	0,90	2,08				
C17:0	0,20	0,20	0,15	0,24	0,13		0,14			
C18:0	13,33	10,93	13,21	13,25	10,82	7,27	11,14	13,40	11,67	2,1
C18:1	22,89	20,51	25,20	25,23	22,66	22,92	24,28	23,27	23,37	
C18:2 n-6	29,48	32,44	28,81	29,15	29,78	33,81	30,77	31,90	30,77	1,8
C18:3 n-3	0,96	1,07	1,06	1,04	0,85	1,28	0,82	0,75	0,98	0,2
C20:0	2,47	1,54	2,12	2,13	2,34	2,18	2,68	2,93	2,30	0,42
C20:1 n-9	1,74	0,96	1,47	1,55	2,11	2,73	2,50	2,12	1,90	0,58

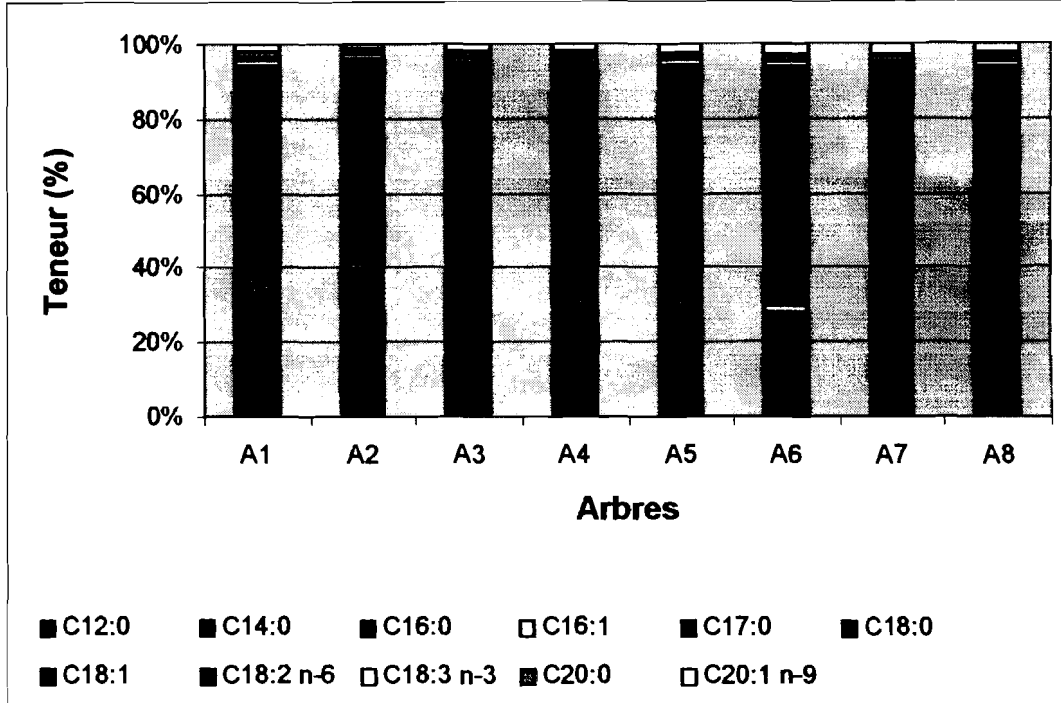


Figure 28 : Variation de la composition en AG des huiles des graines de safou

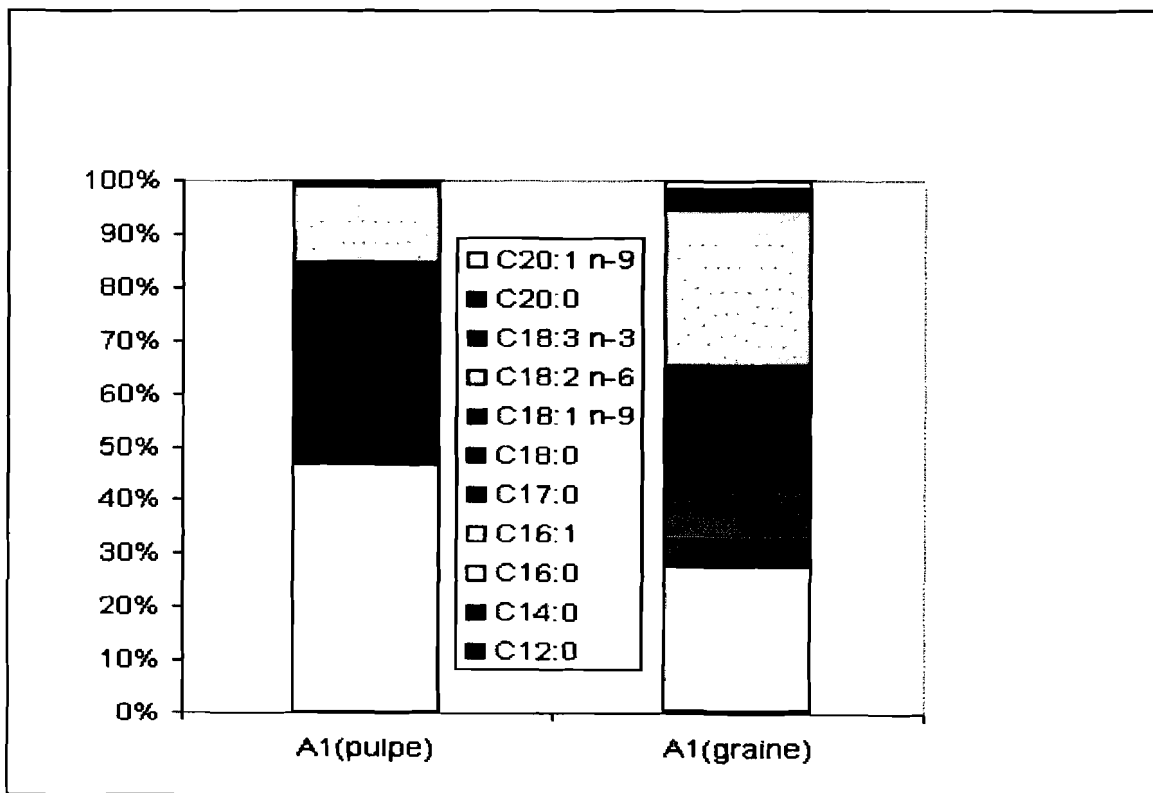


Figure 29 : Comparaison des profils des AG des huiles des pulpes et graines de safou

Une comparaison des profils des AG des huiles des pulpes et des graines peut être faite.

Comme sur les échantillons étudiés au chapitre précédent, les huiles des graines contiennent un nombre plus grand de AG (4 majeurs et 7 mineurs).

On aboutit à des huiles plus complexes. On note que C18:2 n-6 devient le premier majeur (29–33 %) au détriment de C16:0 (25–31 %). La teneur en C18:1n-9 baisse également alors que celle de C18:0 augmente, donnant le profil suivant :

%L > %P > %O > %S dans l'huile de la graine.

Avec un tel profil, une huile extraite exclusivement des graines serait sur le plan nutritionnel plus intéressante et plus équilibrée que celle extraite de la pulpe (faible teneur en C16:0, forte teneur en C18:1 n-9 et C18:2 n-6, et plus de C18:3 n-3).

Si l'on compare les profils des AG des huiles des pulpes et des graines d'un même arbre (figure 29), on constate qu'on passe de l'histogramme des AG des pulpes à celui des AG des graines par l'augmentation quantitative de C18:2 n-6 et de C18:0 et par l'apparition d'une série d'AG mineurs (C12:0, C14:0, C16:1 n-7, C17:0, etc.).

3. Composition en TAG (8 arbres)

3.1. Composition de la pulpe

Le tableau XXIII (figure 30) regroupe les teneurs (%) des TAG des huiles des pulpes de 8 arbres du Kouilou.

Tableau XXIII : Composition pondérale (%) en TAG des huiles des pulpes de 8 arbres du Kouilou.

Arbres	PLL	POL	PPL	POO	PPO
A1	1,3	6,1	12,6	24,4	55,6
A2	10,2	17,8	28,9	14,5	28,6
A3	5,4	11,8	18	24,3	40,9
A4	6	14,6	22	21	36,2
A5	8,2	17,7	20	23,4	30,3
A6	2,4	7,3	20	32,5	38,1
A7	10	8,9	40	7,6	33,7
A8	4,6	7,1	15	14,8	58,3

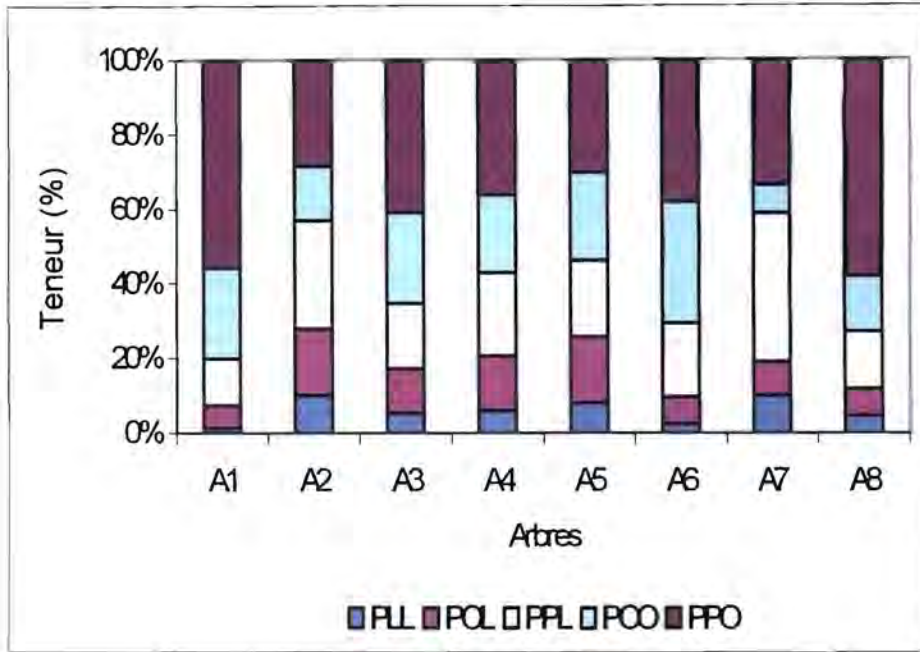


Figure 30 : Histogrammes des TAG des huiles des pulpes de 8 arbres

On retrouve les 5 TAG majeurs déjà identifiés à savoir : PLL, POL, PPL, POO, PPO.

Les histogrammes de la figure 30 permettent de distinguer 2 groupes d'arbres, notamment par rapport à la présence de manière significative ou non de PLL (>3 %).

A2, A3, A4, A5, A8, A7 constituent le premier groupe (%PLL>5 %) et A1 et A6 le deuxième groupe (PLL<3 %).

3.2. Composition de la graine

Le tableau XXIV (figure 31) rapporte la composition (%) en TAG des huiles des graines de 8 arbres du Kouilou.

Tableau XXIV : Composition pondérale (%) en TAG des huiles des graines de 8 arbres du Kouilou.

TAG Arbres	OLL	PLL	OOL	POL	PPL	SOL (+POO)	PSL (+PPO)	
A1	1,8	10,6	2,1	29,3	18,7	17,4	10,5	9,7
A2	2,7	11,1	2,6	27,1	20,3	12,9	23,3	0
A3	2,7	10,7	2,9	29,3	22,2	12,1	9,9	10,3
A4	3,8	13,1	4,0	27,4	16,7	18,2	8,4	8,3
A5	3,1	14,2	2,6	30,5	19,0	13,3	9,5	7,9
A6	1,7	10,8	2,1	27,8	30,3	10,9	16,3	0
A7	2,1	15,5	1,9	25,8	30,1	8,1	16,5	0
A8	1,0	8,6	2,6	27,1	23,3	15,0	22,3	0

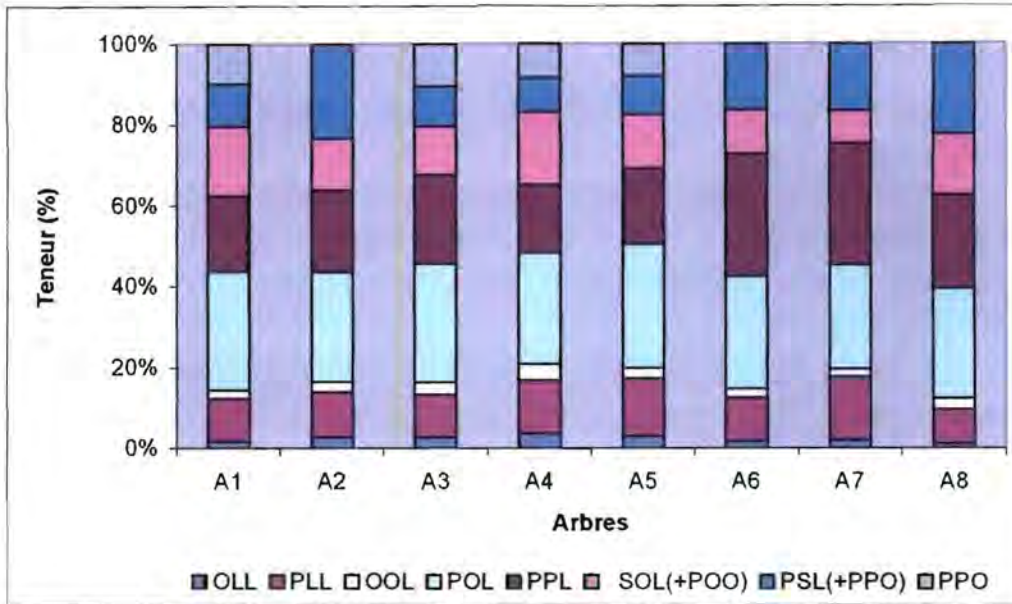


Figure 31 : Histogrammes des TAG des huiles de graines de 8 arbres

La discrimination en 2 groupes constatée sur la composition en TAG (PLL des huiles des pulpes) n'est pas observée pour celle des huiles des graines. Un autre TAG, PPO permet de distinguer 2 groupes :

- présence de PPO, A1, A3, A4, A5 ;
- absence de PPO, A2, A6, A7, A8.

4. Conclusion

Les compositions en AG et TAG obtenues de manière quantitative indiquent très peu de différence pour les huiles extraites des pulpes des fruits des 8 arbres caractérisée par la présence de manière significative ou non de PLL.

Pour les huiles extraites des graines, la présence ou non de PPO peut être un facteur d'identification.

La méthode qualitative à travers l'examen des radar-plots conduit aux mêmes résultats.

Cette observation va nous permettre d'étendre l'étude à 17 arbres avec la méthode qualitative, ainsi validée pour confirmer les groupes identifiés.

IV. VARIATION INTER-ARBRE DE LA COMPOSITION EN TAG

Le tableau XXV rapporte les aires des pics des TAG des huiles des pulpes de safou à partir des chromatogrammes issus de l'analyse des huiles par CLPI.

Pour comparer les résultats obtenus, nous avons choisi la représentation « radar-plot » qui va caractériser par leur forme les huiles étudiées. Il ne restera plus qu'à les comparer pour déceler les ressemblances et les différences.

1. Construction des radar-plots

1.1. Radar-plots des rapports des aires

L'analyse par CLPI avec un détecteur évaporatif avec diffusion de lumière permet une évaluation rapide directe et non destructive des TAG d'une huile ; les résultats obtenus sont proches de la structure naturelle réelle de l'huile, contrairement aux autres méthodes connues qui sont basées sur des transformations chimiques ou enzymatiques préalables des TAG.

Pour des mélanges à nombre élevé de constituants, on recourt généralement à une représentation sous forme de « radar-plots » que nous allons maintenant examiner avec plus de détails.

Partant des rapports des aires contenus dans le tableau XXVI (figure 32a,b), on construit une figure sur laquelle les constituants sont repartis sur des axes gradués, uniformément repartis sur un cercle (180°). La teneur de chaque constituant sur l'axe correspondant définit le point représentatif du constituant.

Ces points reliés par des segments de droite définissent une figure géométrique caractéristique de l'huile dénommée en anglais « radar-plot ».

La variation des teneurs en constituants se traduit par la variation de la taille des figures correspondantes.

Une telle représentation est suffisante si l'on veut saisir la variation des constituants majeurs.

En pratique, pour obtenir le radar-plot des TAG à comparer, on calcule le rapport des aires suivant la formule :

$$R_{\text{aire}} = (\text{Valeur}_{\text{aire TAG}}) / (\text{Valeur}_{\text{aire POO}})$$

Dans cette formule, on tient compte de l'aire d'un TAG donné et l'aire du pic de référence qui est choisi de telle sorte que les hauteurs des pics mineurs ne soit pas trop faibles. Ce pic doit avoir la même hauteur pour tous les échantillons à comparer sans changer les proportions des autres TAG.

Le radar-plot obtenu va caractériser par la forme représentant la valeur des rapports des aires sous la forme de surface des TAG, la ressemblance entre les huiles étudiées.

Si la proportion des TAG est très faible par rapport au pic de référence, sa surface étant trop faible fera que ce TAG ne présentera pas de surface visible sur le radar-plot. Pour le faire figurer dans le radar, on confectionne les radar-plots normés.

1.2. Radar-plots normés

Il peut arriver que les différences entre les huiles soient difficiles à discerner ; dans ce cas, en considérant les rapports des aires figurant dans le tableau XXVI, par exemple pour la palmitodilinoïéine (PLL), on construit un radar-plot dont l'échelle sera de 0 à 1 à partir du rapport suivant :

$$R = [(Valeur_{aire\ TAG}) - (Valeur_{aire\ TAG\ mineur})] / [(Valeur_{aire\ TAG\ plus\ grand}) - (Valeur_{aire\ TAG\ mineur})].$$

Ainsi la valeur des TAG dont le rapport des aires est faible sera égale à 0 ; alors qu'elle sera égale à 1 pour celui qui est grand. Les valeurs des autres TAG seront intermédiaires. Par conséquent, ces radar-plots obtenus serviront à repérer les différences quantitatives entre les échantillons à comparer, concernant la composition en TAG dans ce cas présent.

2. Variation de la composition en TAG des huiles des pulpes et des graines

2.1. Composition de la pulpe

2.1.1. Comparaison des radar-plots des rapports des aires de TAG

Dans cette étude limitée à l'évaluation de la variation de la proportion des TAG majeurs en tant qu'indicateur éventuel de la biodiversité, nous examinerons les radar-plots des rapports des aires des huiles extraites des fruits de 17 arbres (pulpes et graines) du Kouilou.

Le tableau XXVI a conduit à la construction des « radar-plots » des figures relatives aux pulpes. L'examen attentif des formes obtenues permet de distinguer 3 groupes :

- le premier groupe correspond aux safous pauvres en PLL (figure 32a : A1, A3, A4, A6, A8, A10, A13, A15, A16) ;
- le deuxième groupe contient la PLL en quantités notables (figure 32b : A2, A7, A9, A14, A17) ;
- le troisième groupe (figure 32b : A5, A11, A12) rassemble toutes les autres huiles qui ne rentrent pas dans la classification ci-dessus.

Plus de la moitié des arbres étudiés ont leurs huiles qui se ressemblent ; 4 autres huiles se ressemblent entre elles et ne diffèrent du premier groupe que par la présence en proportion significative d'un seul des 5 TAG majeurs.

En définitive, il existe une grande ressemblance de la composition en TAG des huiles étudiées.

Par conséquent, on peut dire que la domestication a entraîné une réduction de la diversité biologique. Une sélection orientée par l'homme par rapport à la demande s'est opérée avec le temps. On tend ainsi vers une uniformisation de la qualité du safou cultivé et commercialisé.

Tableau XXV : Aires des TAG des huiles extraites de la pulpe des 18 arbres du Kouilou

Arbres	TAG	PLL	POL	PPL	POO	PPO
A1		219	1661	3375	8544	22509
A2		6378	11731	21797	8798	16304
A3		1090	3026	4792	7381	12822
A4		1762	5234	7345	7694	12250
A5		1753	4753	3184	6906	5246
A6		813	2448	7955	7585	29132
A7		10313	8530	39508	7589	26556
A8		1346	3269	6695	7110	15563
A9		15973	23034	54912	8007	43613
A10		1323	4315	8582	7999	16941
A11		1162	3837	3484	7326	7044
A12		104	1459	1018	7381	9408
A13		361	2050	5593	7498	24636
A14		2575	5345	12392	7413	14626
A15		1255	4102	13419	7745	26806
A16		1724	4870	12689	7390	18662
A17		2704	5737	15036	8035	19068

Tableau XXVI : Rapports des aires des TAG des huiles extraites de la pulpe des 18 arbres du Kouilou

Arbres	TAG	PLL	POL	PPL	POO	PPO
A1		0,026	0,195	0,395	1,000	2,628
A2		0,729	1,337	2,492	1,000	1,858
A3		0,148	0,410	0,649	1,000	1,737
A4		0,229	0,680	0,955	1,000	1,592
A5		0,254	0,688	0,461	1,000	0,760
A6		0,107	0,323	1,049	1,000	3,841
A7		1,359	1,124	5,206	1,000	3,499
A8		0,189	0,460	0,942	1,000	2,189
A9		1,995	2,877	6,858	1,000	5,447
A10		0,165	0,539	1,073	1,000	2,118
A11		0,159	0,524	0,476	1,000	0,962
A12		0,014	0,198	0,138	1,000	1,275
A13		0,048	0,273	0,746	1,000	3,286
A14		0,347	0,721	1,672	1,000	1,973
A15		0,162	0,530	1,733	1,000	3,461
A16		0,233	0,659	1,717	1,000	2,525
A17		0,337	0,714	1,871	1,000	2,373

Tableau XXVII : Rapports normés des aires des TAG des huiles extraites de la pulpe des 17 arbres du Kouilou

Rapport normé : (VTAG - VTAGfaible) / (VTAGgrande - VTAGfaible)					
Arbres	PLL	POL	PPL	POO	PPO
A1	0,006	0,000	0,038	1,000	0,399
A2	0,361	0,426	0,350	1,000	0,234
A3	0,067	0,080	0,076	1,000	0,209
A4	0,109	0,181	0,122	1,000	0,178
A5	0,121	0,184	0,048	1,000	0,000
A6	0,047	0,048	0,136	1,000	0,657
A7	0,679	0,346	0,754	1,000	0,584
A8	0,088	0,099	0,120	1,000	0,305
A9	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000
A10	0,076	0,129	0,139	1,000	0,290
A11	0,073	0,123	0,050	1,000	0,043
A12	0,000	0,001	0,000	1,000	0,110
A13	0,017	0,029	0,090	1,000	0,539
A14	0,168	0,196	0,228	1,000	0,259
A15	0,075	0,125	0,237	1,000	0,576
A16	0,111	0,173	0,235	1,000	0,377
A17	0,163	0,194	0,258	1,000	0,344

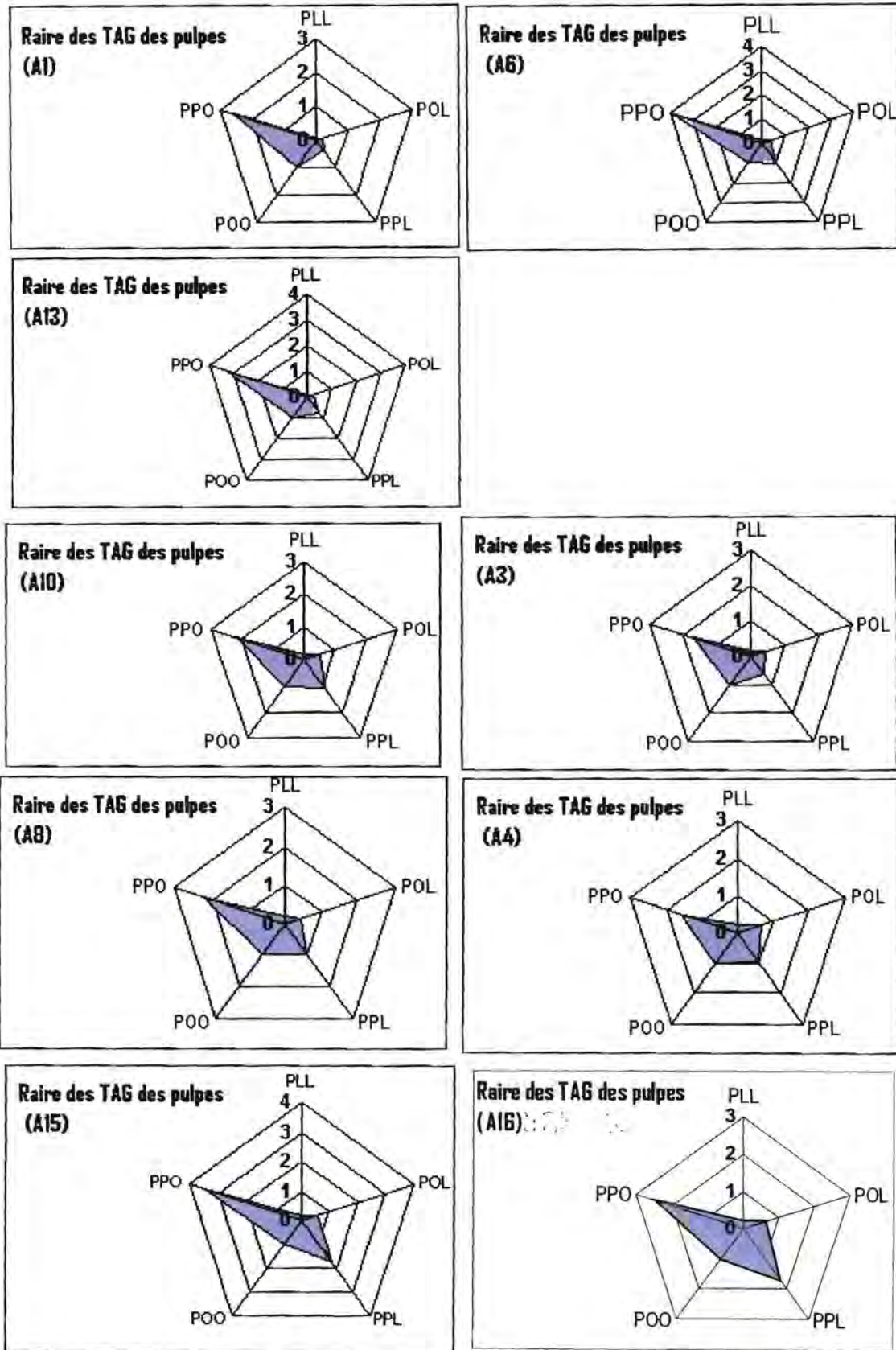


Figure 32a : Radar- plots des TAG des huiles des pulpes issues de 9 arbres étudiés

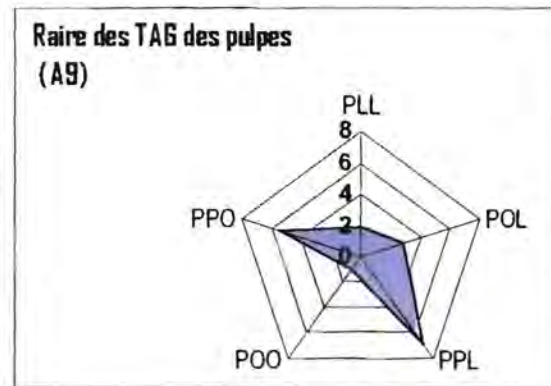
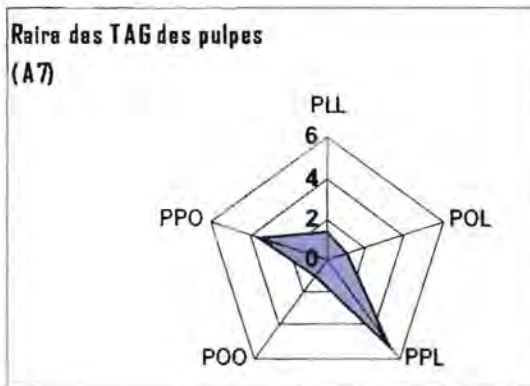
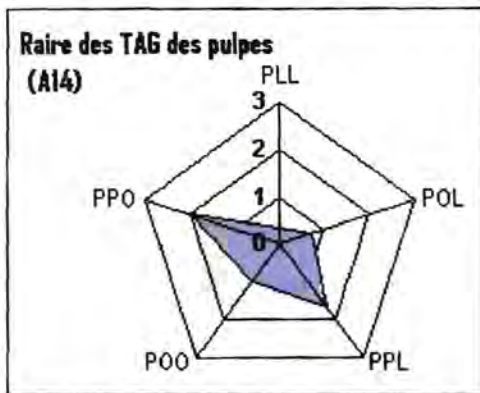
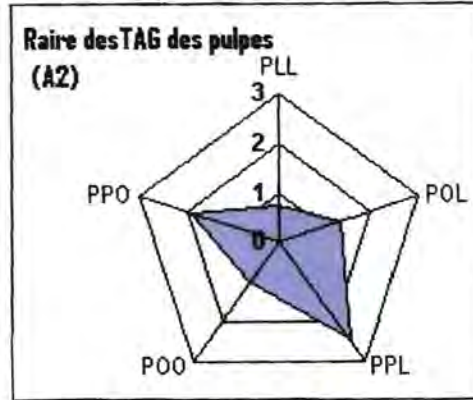
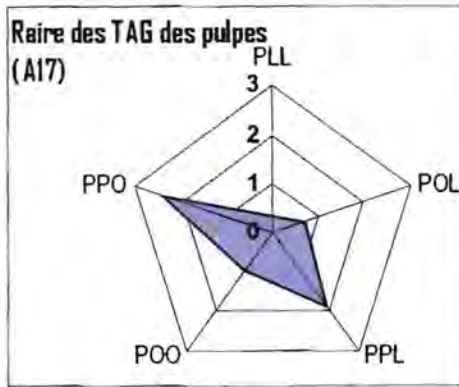


Figure 32b: Radar-plots des TAG des huiles des pulpes issues de 5 arbres étudiés

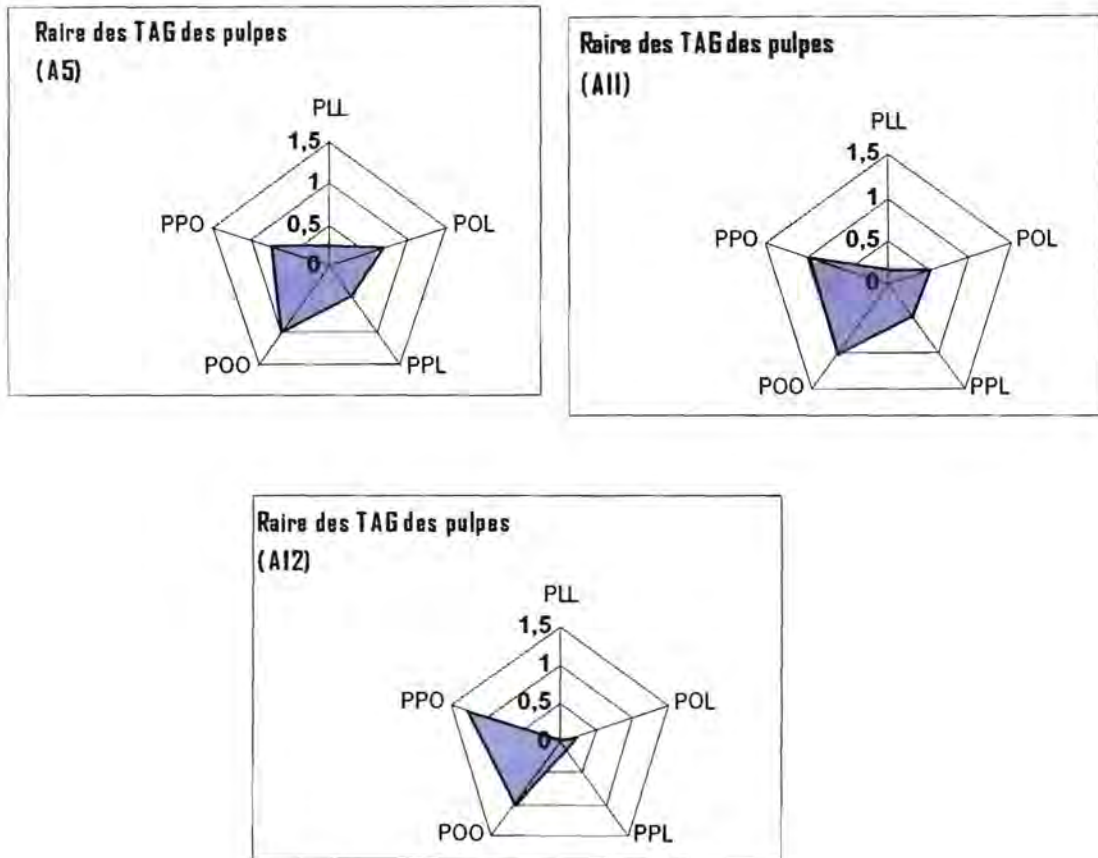


Figure 32c : Radar-plots des TAG des huiles des pulpes issues de 3 arbres étudiés

2.2. Composition de la graine en TAG

La graine n'étant pas consommée d'une part et apportant très peu d'huile d'autre part, l'étude de la variation de ses TAG ne s'est limitée qu'à 6 arbres.

Le tableau XXVIII (figure 33) regroupe les valeurs des rapports des aires des TAG majeurs ($R > 0,3$) issus des huiles extraites des graines ; ces valeurs conduisent aux radar-plots de la figure 33. La palmitodiloléine (PLL) est prise comme référence.

Les huiles présentent 6 TAG majeurs à savoir :

- PLL, POL, PPL, SOL, PSL, SLL.

Tableau XXVIII : Rapport des aires des TAG de l'huile des graines de safous

Arbres	AireTG/aire PLL					
	PLL	SLL	POL	PPL	SOL	PSL
A1	1,000	0,783	2,101	2,052	0,633	1,309
A2	1,000	0,794	1,657	1,930	0,547	1,374
A3	1,000	0,969	1,631	2,523	0,415	1,029
A4	1,000	0,689	1,798	1,538	0,489	0,790
A5	1,000	0,619	1,282	1,601	0,301	0,693
A6	1,000	0,788	1,801	2,634	0,278	0,590

Les formes des radar-plots obtenues ne présentent pas de différences significatives. Les huiles des graines plus complexes semblent être identiques. Cependant, une étude plus fine comme celle faite sur l'huile de la pulpe par KINKELA et BEZARD (1993), est souhaitable pour mieux apprécier l'intérêt nutritionnel de ces huiles de graines. Cette étude montre que ces huiles contiennent plus de la dipalmitolinoléine (PPL) suivie de la palmitooléolinoléine (POL).

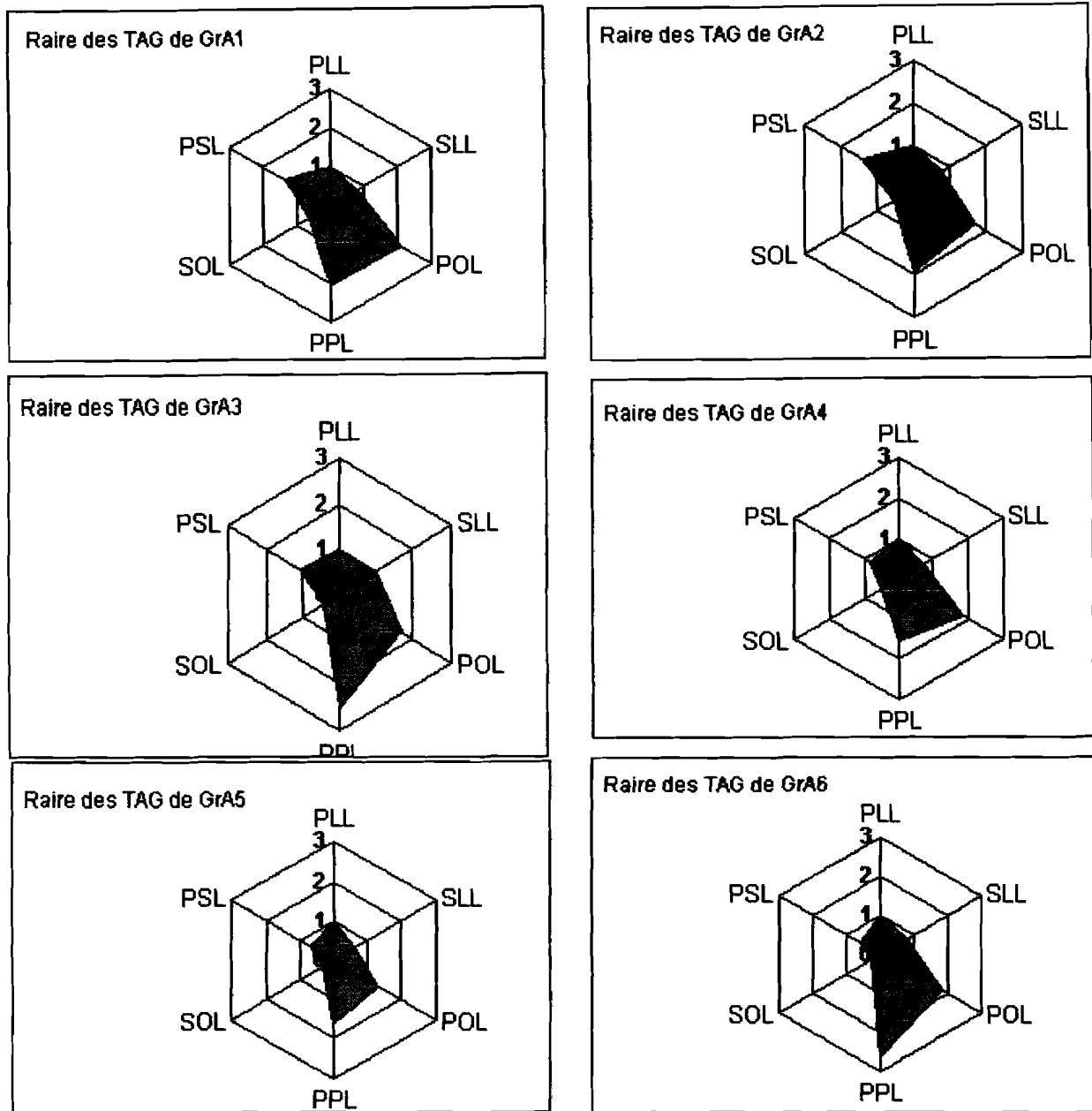


Figure 33 : Radar-plots des aires des TAG de l'huile des graines de 6 safoutiers étudiés

3. Intérêt nutritionnel

Sur le plan nutritionnel :

- avec la pulpe de safou, il serait intéressant d'extraire au moins trois types d'huile de safou, à savoir :
 - du groupe I (Figure 32a), l'huile issue des safous pauvres en PLL, mais riches en PPO et qui aura plus d'acide oléique en position interne ; cette huile sera de type palmitooléique.
 - du groupe II (Figure 32b), l'huile des safous ayant la PLL avec plus d'acide linoléique en position interne suivi de l'acide oléique ; elle sera de type palmitooléolinoléique de très bonne qualité nutritionnelle que le premier groupe.
 - du groupe III (Figure 32c), les safous de types A5 et A11 donneront une huile plus équilibrée en TAG et qui serait de qualité nutritionnelle supérieure aux huiles des groupes I et II ; alors que les safous A12 qui n'ont que deux TAG majeurs, PPO et POO auront plus d'acide oléique en position interne ; leur huile sera de type oléique proche de l'huile d'olive.
- Avec la graine de safou, une huile plus équilibrée en acides gras et en TAG peut être extraite bien que sa teneur soit faible. Cette huile est plus intéressante sur le plan nutritionnel par l'apport en C18:2 n-6, acide gras essentiel en position interne des TAG, suivi de l'acide oléique que les huiles des pulpes. Ce constat devra être vérifié par la détermination de leur biodisponibilité in vivo.

4. Conclusion

L'étude de la variation quantitative et qualitative inter-arbre des lipides de la pulpe de safou nous a montré qu'il existe une très faible biodiversité des safous étudiés. Les huiles des arbres étudiés semblent être homogènes si l'on tient compte de la composition qualitative des TAG ; sur le plan quantitatif, la palmitodilinéine (PLL) peut servir d'indicateur de la biodiversité pour l'huile de la pulpe. Par contre, l'huile de la graine serait identifiée par la teneur de la dipalmitolinoléine (PPL).

Ces résultats suggèrent la nécessité de mener une étude plus approfondie sur un nombre important d'échantillons pour les confirmer. Il faudrait aussi étendre l'étude sur les safous sauvages pour observer cette biodiversité pour la sélection et l'amélioration de l'espèce.

Concernant l'huile des graines, elle est plus intéressante sur le plan nutritionnel ; cependant, sa fraction triglycéridique paraît plus complexe et nécessite des études plus fines qui permettront d'évaluer la qualité globale de l'huile du fruit.

CONCLUSION GENERALE

Ce travail a permis de confirmer que le safou contient une huile de la pulpe de bonne qualité nutritionnelle grâce à l'analyse fine de la structure de ses triacylglycérols (TAG) impliquant les techniques d'analyses les plus modernes actuelles, CLHP, CLPI, CPG, spectrométrie de masse, spectrométrie RMN du carbone 14.

La présence massive de C16:0 est compensée par sa localisation presque exclusive en position externe où il sera préférentiellement hydrolysé par la lipase pancréatique, puis éliminé dans les matières fécales en formant avec le calcium intestinal des sels insolubles. Ainsi, les craintes de l'athérogénicité de l'acide palmitique seront épargnées lorsque l'huile de safou sera consommée.

Les acides oléique (C18:1n-9) et linoléique (C18:2n-6) présents en grande quantité et occupant préférentiellement la position interne sur les TAG, augmentent l'intérêt nutritionnel de cette huile. Ces acides gras seront rapidement et mieux absorbés dans les entérocytes de la paroi intestinale sous forme de β -monoacylglycérols.

La présence dans cette huile des acides linoléique (C18:2 n-6), et linoléique (C18:3 n-3), acides gras indispensables pour les besoins plastiques de l'organisme renforce son intérêt nutritionnel comparé à ceux des huiles de palme et d'arachide.

L'huile de la pulpe de safou pourra combler valablement le déficit des lipides dans la ration alimentaire des populations congolaises pourvu que sa production soit effective.

Les fruits issus de semis conduisent en principe à une biodiversité élevée. Dans ce cas présent, l'étude des données morphologiques des safous étudiés présente une variabilité notable, avec une échelle de variation faible (écart-types faibles) dans une classification en 3 classes. Les fruits mis sur le marché dans la sous-région se retrouvent, pour l'essentiel, dans même une classe ; ils peuvent être considérés comme homogènes.

La composition chimique varie beaucoup moins que la morphologie. L'étude montre que :

- les fruits d'un même arbre conduisent à une huile identique quel que soit leur positionnement géographique sur l'arbre ;

- les fruits des différents arbres d'une même zone écologique conduisent à une huile de composition similaire ayant toujours les mêmes TAG dont la teneur selon le fruit considéré peut changer leur profil.

Tout se passe comme si, malgré l'absence d'un travail programmé de sélection, les producteurs, probablement sous la pression de la demande, se sont orientés vers la production d'un fruit qui donne une huile de composition quasi constante avec les mêmes 5 TAG majeurs dont le taux peut varier d'un arbre à un autre.

On peut finalement retenir que la culture du safou, orientée par le marché, a réduit la biodiversité en terme de composition chimique de l'huile. Ceci est une bonne chose sur le plan technologique et économique. Il y a eu une standardisation inconsciente du fruit, ce qui est un atout pour l'amélioration et la sélection du safoutier.

Toutefois, il est important d'étudier des arbres sauvages pour faire un point sur la biodiversité de façon à s'orienter vers la mise en place des parcs à bois destinés à la conservation du matériel génétique, en vue d'un développement durable.

BIBLIOGRAPHIE

AFNOR - Corps gras d'origines animale et végétale. Détermination de la composition des acides gras en position 2 dans les triglycérides - Corps gras, graines oléagineuses, produits dérivés – AFNOR – Paris – 2000 - 189-203.

ANGERS P., ARUL J. - A simple method for regiospecific analysis of triacylglycerols by gas chromatography - J. Am. Oil Chem. Soc.- 1999 – 76 - 481- 484.

ALI A., KOLTWO L., KAMDEM KENNEGNE A., SILOU T. - Séchage de la pulpe de safou pour sa valorisation – FRUITS – 1997 - 52 (3) - 167–176.

ATANGANA A. R., ASAAH E., TCHOUNDJEU Z., SCHRECKENBERG K., LEAKEY R.R.B. - Biophysical characterization of *Dacryodes edulis* fruits in three markets in Cameroon. - Kengue J., Kapseu C. and Kayem G.J. (eds) - 3ème Séminaire international sur la valorisation du Safoutier et autres oléagineux non-conventionnels - Yaoundé, Cameroun - 3-5 octobre 2000, Presses Universitaires d'Afrique – Yaoundé – 2002 - 106 –118.

AVOUAMPO E. - Extraction d'huile de la pulpe de safou par pressage mécanique - Actes du Séminaire sous-régional sur la valorisation du safoutier (*Dacryodes edulis*), 25-28 novembre – Brazzaville-Congo – 1991- 53-63.

BAUTISTA L. E., HERRAN O. F., SERRANO C. - Effects of palm oil and dietary cholesterol on plasma lipoproteins : results from a dietary crossover trial in free-living subjects - European Journal of Clinical Nutrition – 2001- 55 - 748-754.

BECKER C.C. ROSENQUIST A.HOLMER G. - Regiospecific analysis of triacylglycerols using ally magnesium bromide – Lipids – 1993 – 28 - 147–149.

BEZARD J. and OUEDRAOGO M.A. - Fractionation of triacylglycerols by reversed-phase high-performance liquid chromatography - J. Chromatog.– 1980 - 196 – 279-293.

BEZARD J., CLOUET P. - Biodisponibilité de l'acide alpha-linolénique - Oléagineux Corps Gras Lipides – 1997 – 4 - 191-196.

BEZARD J., SILOU T., KIAKOUAMA S., SEMPORE G. - Variation de la fraction glycéridique de l'huile de la pulpe de safou avec l'état de maturité du fruit - Rev. Fr. Corps Gras – 1991- 38 (7/8) - 233-241.

BLONDEL L., CASSIN J. - Influence des facteurs écologiques sur la qualité des fruits de clémentinier de Corse. Fluctuation de l'extrait sec – Fruits – 1972 - 27 (6) - 425- 432.

BONKENS O. N. B. and OKOLLE P. N. - Nutritional constituents of the seeds of the African pear, *Dacryodes edulis* - Food Chemistry – 1993 – 46 - 297-299.

BOURDEAUT J. Le safoutier, *Pachilobus edulis* - Fruits – 1971 – 26 (10) - 663-666.

BOURRE J. M. - Développement du cerveau et acides gras poly-insaturés - Oléagineux Corps Gras Lipides – 1996 - 317-318.

CHRISTENSEN M.S., HOY C.E., BECKER C.C., BECKER C.C., REDGRAVE T.G.- Intestinal absorption and lymphatic transport of eicosapentaenoic (EPA), docosahexaenoic (DHA) and decanoic acids : dependence on intramolecular triacylglycerol structure - Am. J. Clin. Nutr. - 1995 - 61 - 56-61.

CHRISTIE W.W. - The positional distributions of fatty acids in triglycerides - Analysis of oil and fats - Elsevier Applied Science Publishers - London – 1986 - 313-339.

CHRISTIE W.W. - Structural analysis of lipids by means of enzymatic hydrolysis - Lipid Analysis – Pergamon Press - Oxford – 1982 - 155-161.

CHRISTIE W.W. - Gas Chromatography and lipids. A practical Guide, the oily press - Ayr Scotland - 1989 - 124-128.

CIQUAL CNEVAL - Table de composition des aliments - 1993.

CLOUET P., NIOT L. BEZARD J. - Pathway of alpha-linolenic acid through the mitochondrial outer membrane in the rat liver and influence on the oxidation. Comparison with linoleic and oleic acid - Biochem. J. – 1989 – 263 - 867-873.

COHEN E. - The chemical composition and sensory flavour quality of "Mineola" tangerines. I. Effects of fruit size and within tree position - J. Hort. Sci. – 1988 – 63 (1) - 175-178.

CRESTA M., MASSAMBA J., NGATSE J.M., MPISSUKIDI B.-L.- III. L'économie paysanne et l'alimentation dans les villages d'OKA-BAMBO et d'INKALA-MATIBA - Rev. Anthr. XXIII – ROMA- 1985 – 23 - 33-60.

DESNUELLE P. - Molecular and cellular basis of digestion - Elsevier Science Publishers B.V.- Amsterdam – 1986 - Development, Biochimica et Biophysica Acta (BBA) Lipids and lipid Metabolism – 1997 – 1345 - 317-326.

DOMMELS Y. E.M., ALINK M.G., BLADEREN V. P.J., OMMEN B.V. - Dietary n-6 and n-3 polyunsaturated fatty acids and colorectal carcinogenesis : results from cultured colon cells, animal models and human studies - Environmental Toxicology and pharmacology - 2002 - 11 - 297-308.

DREUX M, LAFOSSE M. - Evaporative Light Scattering Detection of Carbohydrates - HPLC in EL RASSI Z "Carbohydrates analysis" - Ed ELSEVIER - Amsterdam Coll.- J. of Chromatography Library - 1995 - 58 - 515–525.

DUCIMETIERE P. - Rôle des lipides alimentaires dans l'apparition et la prévention de la maladie des coronaires et de certains cancers. Approche épidémiologique - Manuel des Corps Gras, I - Lavoisier Tec et Doc – Paris – 1992 - 607-620.

DUPIN H., ABRAHAM J., GIACHETTI I. - Apports nutritionnels conseillés pour la population française - 3^e Edition, CNERNA-CNRS et Lavoisier Tec et Doc – Paris - 2001.

EMEBIRI L. C. and NWUFO M. - I. Effect of fruit type and storage treatments on the biodeterioration of African Pear (*Dacryodes edulis* (G. Don) H. J. Lam.) - International Biodeterioration – 1990 - 26 (1) - 43-50.

ENTRESSANGLES B., SARI H., DESNUELLE P. - On the positional specificity of pancreatic lipase - Biochim. Biophys. Acta – 1966 – 125 - 597–600.

FAO/WHO - Fats and oils in human nutrition - Report of a joint expert consultation. - Edited by FAO - Rome, Italy – 1994 - Paper n° 57.

FARINES M. - La résonance magnétique nucléaire : un atout pour l'analyse des lipides – OCL – 1998 - 5 (4) - 291-293.

FELLAHI E., MOON J. W. J., MOUSSAVI Z. - Quality and element content of citrus fruit from exposed and internal canopy position - J. Plant Nutr. – 1989 -12(8) - 939-951.

FILLERUP D.L. and MEAD J.F. - Chromatographic separation of the plasma lipids - Proc. Soc. Exp. Biol. Med. – 1953 – 83 - 574-577.

GAILLARD J.P. - L'avocat : sa culture, ses produits - Maisonneuve et Larose – ACCT - Paris - France – 1987 - 419p.

GAILLARD J.P., CASSIN J., ARIAS N., CICCOLI H. - Contribution à l'étude de l'échantillonnage des agrumes. I. - Monographie de la récolte d'un clémentinier – Fruits – 1976 - 31 (1) - 31-59.

GIACOMO R.- Biologie florale du safoutier au Gabon - Projet FAO/CIAM –1982 - 8p.

GLENCROSS B. D., SMITH D. M., THOMAS M. R., WILLIAMS K. C. - The effects of dietary lipid amount and fatty acid composition on the digestibility of lipids by the prawn, *Penaeus monodon* – Aquaculture – 2002 – 205 - 157-169.

GOIFFON J.P., REMINIAC C., FURON D. - Application de la chromatographie liquide haute performance à l'analyse des triglycérides des corps gras. II- Grandeurs de rétention des triglycérides - Rev. Franç. Corps gras – 1981 – 28 - 199-207.

GOIFFON J.P., REMINIAC C., OLLE M.- Application de la chromatographie liquide haute performance à l'analyse des triglycérides des corps gras. I- Recherche des meilleures conditions opératoires. Cas de l'huile de soja - Rev. Franç. Corps Gras - 1981 - 28 - 167-170.

GRUNDY S. M. - Comparison of mono unsaturated fatty acids and carbohydrates for lowering plasma cholesterol - N. Engl. J. Med. – 1987 – 314 - 745-748.

GRUNDY S. M. - Monounsaturated fatty acids, plasma cholesterol. Coronary heart disease - Am. J. Clin. Nutr. – 1986 - 1168-1175.

HAYES K.C., KHOSLA P. - Dietary fatty acid thresholds and cholesterolemia - Fed. Am. Soc. Exp. Biol. J. – 1992 – 6 - 2600-2607.

HEGSTED D. M., AUSMAN L. M., JOHNSON J. A., DALLAL G. E. - Dietary fat and serum lipids: an evaluation of the experimental data - Am. J. Clin. Nutr. - 1993 – 57 – 875-883.

HERNALESTEEN L. - Caractérisation des safous du district de Boko au Congo-Brazzaville. Variations intra et inter-arbre des grandeurs morphologiques et des caractéristiques physico-chimiques - Mémoire de fin d'études d'ingénieur IDR- Brazzaville - 1998.

HERON S., TCHAPLA A. - Choix des phases stationnaires et mobiles pour la séparation en chromatographie en phase liquide de triglycérides de corps gras - Analysis - 1994a - 22 - 114-126.

HERON S., TCHAPLA A. - Utilisation d'un modèle d'interaction moléculaire pour l'optimisation de la séparation des triglycérides de corps gras en CLPI - OCL - 1994b - 1 (3) - 219-228.

HEYDEN S. - Polyunsaturated and monounsaturated fatty acids in the diet to prevent coronary heart disease via cholesterol reduction - Ann. Nutr. Metabob. - 1994 - 308 - 117-122.

HIRSCHMAN H. - Nature of substrate asymmetry in stereoselective reactions - J. Biol. Chem. - 1960 - 235 - 2762-2767.

HORNSTRA G., LUSSENBURG R. N.

Relationship between the type of dietary fatty acids and arterial thrombosis tendency in rats - Atherosclerosis - 1975 - 22 - 499-516.

IACONO J., DOUGETERTY R. - Lack of effect of linoleic acid on the high density lipoprotein cholesterol fraction of plasma lipoproteins - Am. J. Clin. Nutr. - 1991 - 53 - 660-664.

JACKSON R. L., KASHYAP M.L., BARNAHRT R. L. - Influence of polyunsaturated and saturated fats on plasma lipids and lipoproteins in man Am - J. Clin. Nutr. - 1984 - 589-597.

JACOTOT B. - Rôle des lipides alimentaires dans l'apparition et la prévention de la maladie des coronaires et de certains cancers. Aspects cliniques et expérimentaux - Manuel des Corps gras - Lavoisier - TEC et DOC - Paris - 1992 - 620-632.

KALENDA T. D., MISSANG E.C., KINKELA T. - New developments in the chemical characterization of the fruit of *Dacryodes edulis* (G. DON) H. J. LAM - Forest, Trees and Livelihoods – 2002 – 12 - 119-123.

KAMDEM, KENMEGNE A.T., ALI, A. - Problématique de la production de l'huile de Safou au Cameroun - FRUITS – 1997 - 52 (5) - 325–330.

KAPSEU C. - Composition en acide gras et en triglycérides des huiles oléagineux non-conventionnels - Actes du séminaire international sur la valorisation du safoutier, et autres oléagineux non conventionnels du 3 au 5 décembre, Université de Ngaoundéré, Cameroun, KAPSEU C., G.J. KAYEM Ed - Presses Universitaires de Yaoundé – 1998 - 165-174.

KAPSEU C., MAPONGMETSEM P.M., SILOU Th., ROQUES M. - Physico-chimie des fruits du safoutier (*Dacryodes edulis*) camerounais – Tropicultura – 1999 - 16-17 (1) - 37-42.

KENGUE J. - Point sur la biologie de la reproduction du safoutier *Dacryodes edulis* (G. Don H. J. Lam.) - Actes du 2^{ème} séminaire international sur la valorisation du safou – 1998 - 97–111.

KENGUE J., et NGATCHOU N. - Problème de la conservation du pouvoir germinatif chez le safoutier (*Dacryodes edulis*) - Fruits – 1991 - 45 (4) - 409-412.

KENGUE J. - Le safoutier (*Dacryodes edulis*) (G. Don H.J. LAM) - Le Flamboyant - 1995 - 33 - 4-7.

KENGUE J. - Safou (*Dacryodes edulis*) – Monographie - Centre International des cultures sous-utilisées – Southampton – 2002 - 150p.

KENGUE J., TCHIO F. et DUCELIER. - Le marcottage aérien : une technique pour la multiplication végétative du safoutier - Kapseu C. et G. J. Kayem (édition) - 1990 - 123 -134.

KIAKOUAMA S., SILOU Th. - Evolution des lipides de la pulpe de *Dacryodes edulis* en fonction de l'état de maturité du fruit – Fruits – 1990 - 45 (4) - 403-408.

KIAKOUAMA S., SILOU Th. - Le safou ou atanga : un fruit à vocation sous régionale dans le golfe de Guinée - Muntu, revue du CICIBA - 1987 - 137 - 151.

KINKELA T. et **BEZARD J.** - Intérêt nutritionnel de l'huile de la pulpe de safou - Actes du Séminaire d'information sur la recherche en Alimentation et Nutrition au Congo - EPRAN Congo - 1998 - 1 - 73

KINKELA T., **SILOU Th.** - Contribution à la caractérisation des safous (*Dacryodes edulis*) d'Afrique Centrale : Composition en acides gras et en triacylglycérols de l'huile de la graine de safou - Actes du 3^{ème} Séminaire International sur le safoutier et autres oléagineux non conventionnels du 3 au 5 octobre. Université de Ngaoundéré - Cameroun - **KENGUE J.**, **KAPSEU C.**, **G.J. KAYEM.** Presse Universitaire d'Afrique - 2000 - 324-334.

KINKELA T., **SILOU Th.** - Composition en acides gras et en triacylglycérols de l'huile de la graine de safou - (Soumis au Journal de la SOCHIM) - 2003.

KINKELA T., **BEZARD J.** - Etude de la structure des triacylglycérols de l'huile de la pulpe de safou (*Dacryodes edulis*) - Rev. Fr. Corps Gras - 1993 - 40 (11/12) - 273-382.

KINSELLA J.E., **BROUGHTON K.S.**, **WHELAN J.W.** - Dietary insaturated fatty acids : interactions and possible needs in relation to eicosanoid synthesis - J. Nutr. Biochem.- 1990 - 1 - 123-141.

KUBOW S. - The influence of positional distribution of fatty acids in native, interesterified and structure-specific lipids on lipoprotein metabolism and atherogenesis - J. Nutr. Biochem - 1996 - 7 - 530-541.

LADIPO D.O., **ADEWUSI H.G.**, **OMALIKO C.P.E.**, **SARUMI M.B.**, **ADEBISI A.**, **A. GBADAMOSI L. M.**, **OKEKE A. I.**, **ASIEGBU J. E.** - *Dacryodes edulis* germplasm collection from southern Nigeria - 3^{ème} Séminaire International sur la valorisation du safoutier et autres oléagineux non-conventionnels, 3-5/10/00 - Yaoundé - **J. KENGUE**, **C. KAPSEU**, **G. J. KAYEM**, Editeurs - 2002 - 93-105.

LARO USSILHE de F., **SCHWOB R.**, **WOLF J.P.** - Le safou, source de matière grasse - 1^{er} Congrès International des industries agricoles et alimentaires de zones tropicales et subtropicales - Abidjan 14 - 19 décembre - 1964.

LAWSON L. D., **HUGHES B. G.** - Triacylglycerol structure of plant and fungal oils containing γ -linolenic acid - Lipids - 1988 - 23 - 313-317.

LEAKEY R. R. B. - Potential of novel food products from agroforestry trees: a review - Food Chemistry - 1996 - 66 - 1-14.

LITCHFIELD C. - Analysis of triglycerides - New York, USA, London, UK, Academic Press - 1972.

LOEMBA DEMBI J. - Etudes des alcools triterpéniques de l'insaponifiable de l'huile de la pulpe de safou. Rapport de stage Perpignan France – 1989 - 24p.

LUDDY F. E., BARFORD R. A., HERB S.F., MAGIDMAN P., RIEMENSCHNEIDER R. W. - Pancreatic lipase hydrolysis of triglycerides by a semi micro technique - J. Am. Oil Chem. Soc.- 1964 – 41 - 693-696.

MARS A., ABDERAZAK R., MARRAKCHI M. - Etude de la variation intra-arbre de la qualité des fruits d'agrumes récoltés sur un même arbre. I. Effets de la date de récolte, de l'orientation des fruits et de leur position sur la frondaison – Fruits – 1994 - 49 (4) - 269-278.

MASSON D. - Biochimie, bases biochimiques de la diététique - Lavoisier, TEC et DOC, (Editions) – Paris – 2002 - 304 p.

MATTSON F. H., NOLEN G.A., WEBB M.R. - The absorbability of rats of various triglycerides of stearic and oleic acid and effect of dietary calcium and magnesium - J. Nutr. – 1973 – 109 - 1682-1687.

MBEMBA J.F, MALOUMBI M.G. et DELLOT J. - Malnutrition dans les centres de récupération après la guerre de 1998-1999 - Rapport personnel - 2002.

METAIS P. - Métabolisme normal et pathologique des acides gras essentiels - Cah. Nutr. Diet. – 1982 – 17 - 223-234.

NDAMBA J. - Analyse bromatologique du tourteau de safou en vue de son utilisation en alimentation animale, résultats préliminaires - Thèse de Doctorat vétérinaire EISMV Dakar, Sénégal – 1989 - 80p.

NIOT I., POIRIER H., BESNARD P. - Regulation of gene expression by fatty acids: special reference to fatty acid-binding proteins (FABP) - Biochimie – 1997 – 79 - 139-143.

NWUFO M. I., EMEBIRI L. C., MWAIMU N. Y. - Post harvest rot disease of fruit of African pear (*Dacryodes edulis*) in South-Eastern Nigeria - Trop. Sci.- 1989 – 2 (4) – 247-254.

NWUFO, M.I. and ANYIM C.O. - Post-Harvest Handling and Storage of African Pear (*Dacryodes edulis*) in South-Eastern Nigeria - Proceedings of 2nd International Workshop on African Pear Improvement and other Sources of Vegetable Oils - Presse Universitaires de Yaoundé - 1998.

NYA NGATCHOU J. - Enjeu et perspectives de la production du safou en Afrique Centrale - Actes du 2^{ème} séminaire international sur la valorisation du safou - 1998.

OBASI N. B. B. and OKOLIE N. P. - Nutritional constituents of the seeds of the African pear, *Dacryodes edulis* - Food Chemistry – 1993 - 46 (3) - 297-299.

OKAFOR J. C., OKOLO H. C., EJIOFOR M. A. N., MAESEN L. J. G. van der (ed.), BURGT X. M. van der (ed.) and MEDENBACH de ROOY J. M. van. - Strategies for enhancement of utilization potential of edible woody forest species of south-eastern Nigeria. The Biodiversity of African plants - Proceedings of the 14th AETFAT Congress 22-27 August 1994 - Wageningen, The Netherlands – 1994 - 684-695.

OKOLIE P.N., BOKENS N.O. - Implication of cell wall degrading enzymes in heat-induced softening of the African pear (*Dacryodes edulis* (G. Don) H.J. Lam) - J. Sci. Food Agric. – 1992 – 59 - 59-63.

OMOTI U., OKIY A.D. - Characteristics and composition of pulp oil and cake of african pear *Dacryodes edulis* (G. Don) H.J.LAM - J. Sci. Food Agric.– 1987 – 38 – 67-72.

RAMIREZ M., AMATE L, GIL A. - Absorption and distribution of dietary fatty acids from different sources - Early Human Development – 2001 - 65 Suppl.- S95-S101.

REAVEN P. D. PARTHASARATY S. GRASSE B.S. - Effects of oleate rich and rich linoleate diets on the susceptibility of low density lipoprotein to oxidative modification in mildly hypercholesterolemic subjects - J. Clin. Invest. – 1993 – 91 - 668-676.

RENAUD S., RUF J.C., PETITHORY D. - The positional distribution of fatty acids in palm oil and lard influences their biological effects in rat - J. Nutr. – 1995 – 125 – 229-235.

ROBERFROID B. M. - Aliments fonctionnels - Lavoisier, TEC et DOC (Editions) – Paris – 2002 - 161-230.

ROCQUELIN G, TAPSOBA S, MBEMBA F, GALLON G and PICQ C. - Lipid content and fatty acid composition in foods commonly consumed by nursing Congolese women: incidences on their essential fatty acid intakes and breast milk fatty acids - International J. Food Sci. and Nutr. - 1998 - 49 - 5 - 343-352.

SEK L., PORTER C. J. H., CHARMAN W. N. - Characterisation and quantification of medium chain and long chain triglycerides and their in vitro digestion products by HPTLC coupled with in situ densitometric analysis - J. of Pharmaceutical and Biomedical Analysis – 2001 – 25 - 651–661.

SEMPORE B. G. - Etude de la distribution stéréospécifique des acides gras dans les molécules de triacylgcérols - Thèse de Doctorat d'Etat - Université de Bourgogne, Dijon, France – 1991.

SEMPORE et BEZARD. - Qualitative and quantitative analysis of peanut oil triacylglycerols by reversed-phase liquid chromatography - J.Chrom. - 1986 - 366 - 261–282.

SEMPORE G., et BEZARD J. - Triacylglycerol structure of African peanut oil – JAOCS – 1982 - 59 (3) - 124-129.

SEMPORE G. et BEZARD J. - Les triglycérides de l'huile d'arachides - Rev. Fr. Corps Gras – 1977 – 24 - 611–621.

SILOU T., ROCQUELIN G., GALLON G., MOLANGUI T. - Contribution à la caractérisation des safous (*Dacryodes edulis*) d'Afrique Centrale, note II. Composition chimique et caractéristiques nutritionnelles des safous du district de Boko (Congo-Brazzaville), Variation inter-arbre - Rivis. Ital. Delle Sostanze grasse - 2000b – LXXVII – 58–89.

SILOU T., BITOUNGUI J.P., MAVAH G. - Mesure du ramollissement naturel de la pulpe de safou par pénétrométrie – Fruits – 1995 - 50 (5) - 375-378.

SILOU T. - Détermination de la teneur en huile de la pulpe de safou (*Dacryodes edulis*) par réfractométrie - Fruits – 1991 – 46 (1) - 93-100.

SILOU T., GOMA MANIONGUI J., OUAMBA J.M.. - Etude du séchage de la pulpe de safou, résultats préliminaires – *Tropicultura* – 1991 - 9 (2) - 61-68.

SILOU T., KIAKOUAMA S., BEZARD J., SEMPORE G. - Note sur la composition en acides gras et en triglycérides de l'huile de safou en relation avec la solidification partielle de cette huile – *Fruits* – 1991- 46 (3) - 271-278.

SILOU T., MOUSSATA C. O. - Essai de décoloration de l'huile de la pulpe de safou (*Dacryodes edulis*) - *Rev. Fr. Corps Gras* – 1991 – 38 (9/10) - 315-320.

SILOU Th. KAMA-NIAMAYOUA R. - Contribution à la caractérisation des safous d'Afrique. V. Note sur la régiospécificité de l'huile de la pulpe de safou (*Dacryodes edulis*) par spectrométrie RMN, résultats préliminaires - *OCL* – 1994 - 6 (5) - 349-353.

SILOU Th. - Le safoutier (*Dacryodes edulis*), un arbre mal connu – *Fruits* – 1996 – 51 (1) - 47-60.

SILOU Th., KAMA-NIAMAYOUA R., MAMPOUYA D., HERNALSTEENS L., KINKELA T., BEZARD J. - Caractérisation des fruits du safoutier dans le district de Boko au Congo-Brazzaville – Actes du Séminaire d'information sur la recherche en Alimentation et Nutrition au Congo - EPRAN Congo – 1998 – 1 - 71.

SILOU Th., KIAKOUAMA S., KOUCKA GOKANA B. - Evaluation de la production et étude de la variabilité morphologique et physico-chimique du safou, *Dacryodes edulis*. Mise au point méthodologique et résultats préliminaires - Séminaire sur la valorisation du safoutier, 4-6 Octobre 1994 - Douala (Cameroun).

SILOU Th., KINKELA Th., KAMA-NIAMAYOUA R., MAMPOUYA D. - Production quantitative et qualitative des safous en fonction de leur position sur l'arbre. Variation intra-arbre - (Soumis aux *Annales de l'Université Marien Ngouabi*) – 2002.

SILOU Th., KAMA-NIAMAYOUA R., MAMPOUYA D., KINKELA Th., HERNALESTEEN L. - Contribution à la caractérisation des safous (*Dacryodes edulis*) d'Afrique Centrale. II. Evaluation de la production et caractérisation des fruits du safoutier dans le district de Boko au Congo-Brazzaville - *Bulletin Africain RABEDE* - 2000a - 21-29.

SILOU Th., ROCQUELIN G., MOURAGADJA I., GALLON G. - Contribution of the characterization of safou (*Dacryodes edulis*) of Central Africa. III. Chemical composition and nutritional characteristics of safou of Cameroon, the Congo-Brazzaville, the Congo-Kinshasa and Gabon - RIVIS ITAL DELLE SOSTANZE GRASSE – 2002 – LXXIX - 1–8.

SMALL D. M. - The effects of glyceride structure on absorption and metabolism - Ann. Rev. Nutr. – 1991 - 11 - 413-434.

SOULIER B. - Contribution à l'étude des huiles de la pulpe et de graines de safou - DEA – Université de Toulouse, France - 1987- 48p.

SOUSBIE - Etude de la problématique de l'autosuffisance alimentaire au Congo - Rapport proposé au gouvernement congolais - 1982.

SPEAKE B. K., CEROLINI S., MALDJIAN A., and NOBLE R.C. - The preferential mobilisation of C20 and C22 polyunsaturated fatty acids from the tissue of the chick embryo: potential implications regarding the provision of essential fatty acids for neural - Bioch. and Bioph. Acta (B.B.A.) Lipids and Lipid Metabolism – 1997 - 1345 (3) - 317–326.

STAHL E. - Thin layer chromatography - Laboratory Handbook (2nd edition) ALLEN and UNWIN – 1969.

TABUNA H. - Stratégie de développement du marché du safou (*Dacryodes edulis*) en Europe - 3^{ème} International safou and other non-conventional oil crops workshop – 1999 - 449-463.

TCHENDJI C., SEVERIN M., WATHELET J.P., DEROANNE C. - Composition de la graisse de *Dacryodes edulis* - Rev. Fr. Corps Gras - 1987 - 28 (3) - 123-125.

TULLAYE de la J. - Intérêt nutritionnel des graisses animales en alimentation humaine - Rev. Fr. Corps Gras – 1991 - 9/10 - 329-333.

UCCIANI E., BUSSON F. - Contribution à l'étude des corps gras de *Pachilobus edulis* – Oléagineux – 1963 - 18 (4) - 253-255.

WANG X., HOLE D. G., DA COSTA T. H., EVANS R. D. - Alterations in myocardial lipid metabolism during lactation in the rat - The Amer. J. of Physiology – 1998 – 275 -(1) - E265-E271.

RESUME



Le safoutier, arbre caractéristique des paysages agroforestiers d'Afrique centrale, joue un rôle important dans l'économie de la sous-région et présente un intérêt nutritionnel indéniable. Sa pulpe est une source importante de lipides pouvant atteindre des teneurs de 70% par rapport à la matière sèche. Ces lipides contiennent des quantités relativement importantes d'acides oléique (C18:1 n-9) et linoléique (C18:2 n-6); on y trouve, malheureusement, beaucoup d'acide palmitique (C16:0), connu pour ses effets néfastes sur la santé.

Cette teneur élevée en acide palmitique soulève d'emblée le problème des conséquences nutritionnelles qui résulteraient de la consommation de l'huile de la pulpe de safou. Mieux, il faudrait aller plus loin que la connaissance des acides gras présents dans cette huile, considérer la nature des acides gras en position interne des triacylglycérols constitutifs de cette huile. Les acides gras alimentaires, qui occupent cette position privilégiée, sont mieux et rapidement absorbés par l'organisme.

D'où l'intérêt de déterminer la composition et la structure des TAG de l'huile de la pulpe de safou et en particulier d'identifier les acides gras estérifiés en position centrale du glycérol, d'une part, et d'évaluer d'autre part, la variabilité de ces caractéristiques en relation avec la biodiversité attendue de cette spéculation qui est essentiellement reproduite par semis.

Le présent travail permet d'établir :

Premièrement, que la présence massive de C16:0 est compensée par sa localisation presque exclusive en position externe et que les acides oléique (C18:1 n-9) et linoléique (C18:2 n-6) présents en quantité notable, occupent préférentiellement la position interne sur les TAG.

Deuxièmement, que si les caractéristiques morphologiques présentent une variabilité non négligeable, l'échelle de ces variations est faible (écart-types faibles) dans une classification en 3 classes déjà proposée dans la littérature. Les fruits mis sur le marché dans la sous-région se retrouvent dans une même classe ; ils sont donc homogènes.

Troisièmement, que la composition chimique varie beaucoup moins que les grandeurs morphologiques.

Les fruits d'un même arbre contiennent une même huile quel que soit leur positionnement géographique sur l'arbre.

Les fruits des différents arbres d'une même zone écologique conduisent à une huile de composition similaire.

On peut finalement retenir que la culture du safou, orientée par le marché, a réduit la variabilité chez le safoutier, si l'on se réfère à la composition chimique de l'huile.

MOTS CLES : Congo-Brazzaville, Huiles alimentaires, safou, *Dacryodes edulis*, composition chimique, nutrition, acides gras (AG), triacylglycérols (TAG), biodiversité.

**DEPARTEMENT DE BIOLOGIE ET PHYSIOLOGIE ANIMALES
FACULTE DES SCIENCES, UNIVERSITE MARIEN NGOUABI
B.P. 69, Brazzaville, Congo.**

**EQUIPE PLURIDISCIPLINAIRE DE RECHERCHE EN ALIMENTATION ET NUTRITION
EPRANcongo / Equipe mixte DGRST – UMNG
B.P. 1286, Pointe-Noire, Congo.
B.P. 389, Brazzaville, Congo – Fax : 242 81 04 11 ou 243 880 35 89**