

UNIVERSITE MARIEN NGOUABI
FACULTE DES SCIENCES

Année 2006

N° d'ordre

THESE

Pour obtenir le Diplôme de Doctorat d'Etat es Sciences

Domaine : Sciences Exactes, Naturelles et de l'Ingénieur

Spécialité : Chimie et Technologie Alimentaires

Présentée et soutenue publiquement
Par

Michel MVOULA TSIERI

Le 30 juin 2006

Titre

**ETUDE DES LIPIDES DE CINQ CUCURBITACEES D'INTERET
ALIMENTAIRE AU CONGO – BRAZZAVILLE**

Directeurs de Thèse

Thomas SILOU
Professeur, Université Marien Ngouabi, Congo

Antoine TREMOLIERES
Directeur de Recherche CNRS,
Institut de Biotechnologie des Plantes,
Université Paris Sud

JURY :

Président : TCHAPLA Alain, Professeur, Université Paris Sud, France

Membres : DIATEWA Martin, Professeur, Université Marien Ngouabi, Brazzaville, Congo (Rapporteur)
HOUNHOUIGAN Joseph, Maître de Conférences, Université du Bénin (Rapporteur)
MOULOOUNGUI Zéphyrin, Directeur de Recherche INRA, Toulouse, France
SILOU Thomas, Professeur, Université Marien Ngouabi, Brazzaville, Congo

A la mémoire de mes parents,

A mon épouse Germaine, mes enfants Diane, Jessica, Francis, Espérance et Gaëlle MVOULA
TSIERI, après tant d'années de sacrifices, de patience,...

A mes frères et sœurs, neveux et nièces

Que ce mémoire soit le signe de ma reconnaissance, de mon affection à votre égard.

REMERCIEMENTS

Monsieur le Professeur SILOU, initiateur des recherches sur les oléagineux du Congo, m'a fait bénéficier de ses conseils éclairés et de sa grande expérience en matière des lipides, m'a exhorté dans la recherche des cucurbitacées du Congo-Brazzaville. Sous son impulsion, mes recherches ont pris un tour définitif. Il a accepté de me faire part de ses critiques constructives pour la rédaction de mon manuscrit. J'apprécie beaucoup sa simplicité et sa profonde connaissance sur les plantes oléagineuses. Je lui prie de bien vouloir trouver ici l'expression de ma sincère gratitude.

En m'accueillant dans son laboratoire de biochimie fonctionnelle des membranes végétales, Monsieur Antoine TREMOLIERES, Directeur de recherche au CNRS, m'a donné la chance de réaliser cette thèse. Il m'a laissé une très grande liberté dans mon travail. Mon séjour dans son laboratoire a été riche en enseignement sur le plan scientifique et je ne saurais dire à quel point j'ai pu compter sur les compétences des uns et des autres. Son expérience, son esprit critique et son enthousiasme m'ont permis de mener à bien ce travail. Je lui exprime ma profonde reconnaissance. Qu'il me permette également de lui dire, ainsi qu'à sa charmante épouse combien j'ai été sensible à l'amitié qu'ils n'ont cessé de me témoigner pendant mon séjour à GIF SUR- YVETTE.

Monsieur le Professeur TCHIAPLA pour m'avoir accueilli dans son laboratoire afin de réaliser la recherche sur les acides gras mineurs et de réaliser la chromatographie liquide haute performance. Qu'il me permette de lui dire combien je suis heureux de le voir présider ce jury et de lui exprimer ma profonde reconnaissance.

Messieurs les Professeurs HOUNHOUIGAN et DIATEWA ont accepté de juger ce travail. Votre présence dans les jurys est toujours très appréciée et je vous remercie très sincèrement d'avoir bien voulu participer à celui de cette thèse.

Monsieur Zéphirin MOULOUNGUI, Directeur de recherche à l'INRA, a bien voulu me consacrer un temps précieux en participant à ce jury. Qu'il en soit très sincèrement remercié.

Au Docteur Sylvie HERON, pour son aide multiforme. Une partie de ce travail a été réalisée en collaboration avec elle : je tiens à l'en remercier très sincèrement.

Je suis particulièrement reconnaissant à la Société de Secours des Amis des Sciences pour l'aide financière apportée durant mon séjour au laboratoire.

A Bernard MABIALA qui a assuré la frappe d'une bonne partie de cette thèse avec une grande patience. Son aide précieuse et son amitié ont été pour moi un soutien inestimable pour la réalisation de ce manuscrit.

Enfin, que tous les membres de l'équipe pluridisciplinaire de recherche en alimentation et nutrition trouvent ici mes sincères remerciements pour l'aide qu'ils m'ont apportée à un moment ou à un autre, ou pour l'amitié dont ils m'ont entouré.

SOMMAIRE

	Pages
ABREVIATIONS	8
INTRODUCTION GENERALE	9
CHAPITRE 1 : REVUE BIBLIOGRAPHIQUE DE LA BIOCHIMIE DES LIPIDES VEGETAUX	12
I. FORMATION DES RESERVES LIPIDIQUES DANS LES GRAINES OLEAGINEUSES	12
II. UTILISATION DES RESERVES LIPIDIQUES DANS LES PLANTES OLEAGINEUSES	16
1. Hydrolyse des réserves	16
2. Cycle glyoxylique	16
III. DIVERSITE DES ACIDES GRAS ACCUMULES DANS LES TRIACYLGLYCEROLS (TAG)	18
1. Structure d'une molécule de TAG	18
2. Acides gras saturés ou monosaturés en C ₁₆ et C ₁₈	19
3. Acides gras poly-insaturés en C ₁₈	20
4. Biosynthèse des triacylglycérols (TAG)	20
4.1. Acylation du diaacylglycérol (DAG)	20
4.2. Les triacylglycérols poly-insaturés	21
4.3. Les acides gras « particuliers »	21
4.3.1. L'acide ricinoléique	23
4.3.2. Acides gras à chaîne de longueur moyenne	24
4.3.3. Acides gras à très longues chaînes	25
4.3.4. Acides gras époxydés et comportant des doubles liaisons conjuguées	25
5. Biosynthèse des glycérolipides	25
5.1. La voie extrachloroplastique	26
5.1.1. Synthèse des phospholipides à partir de CDP-DAG	26
5.1.1.1. Biosynthèse du phosphatidylinositol	26
5.1.1.2. Biosynthèse de la phosphatidylsérine et de ses métabolites	27
5.1.2. Synthèse des phospholipides à partir du DAG	28
5.1.2.1. Biosynthèses de la phosphatidylcholine et de la phosphatidyléthanolamine	28
5.1.3. Echange de têtes polaires	29
5.2. Transferts de lipides entre les membranes	30
IV. STRUCTURE DES ACIDES GRAS MAJORITAIRES ET DES GLYCEROLIPIDES CHEZ LES VEGETAUX SUPERIEURS	31
V. LES HUILES VEGETALES	32
1. Huile alimentaire	32
1.1. Acides gras saturés et monoinsaturés	32
1.2. Acides gras poly-insaturés	33

1.3. Acides gras « cis » et « trans »	33
1.4. Acides gras indispensables	34
1.5. Composition idéale de l'huile alimentaire	34
2. Huile industrielle	35
VI. TRAVAUX ANTERIEURS SUR LES CUCURBITACEES	37
VII. CONCLUSION	38
CHAPITRE 2 : CARACTERISTIQUES PHYSICOCHIMIQUES ET POTENTIALITES TECHNOLOGIQUES DES HUILES DES CUCURBITACEES CONSOMMEES AU CONGO	39
I. INTRODUCTION	39
II. MATERIEL ET METHODES	40
1. Matériel végétal	40
1.1. <i>Citrullus lanatus</i>	40
1.2. <i>Cucurbita moschata</i>	41
1.3. <i>Cucurbita pepo</i>	42
1.4. <i>Lagenaria siceraria</i>	43
2. Extraction des huiles	44
3. Produits chimiques	44
4. Détermination des caractéristiques physico-chimiques et des indices chimiques des huiles	44
4.1. Masse volumique et densité	44
4.2. Indice de réfraction	45
4.3. Viscosité	45
4.4. Indice d'acide	45
4.5. Indice d'iode	45
4.6. Indice de saponification	46
4.7. Teneur en insaponifiables	46
5. Détermination de la composition en acides gras (AG)	46
6. Étude de la stabilité thermique des huiles	47
7. Essai d'optimisation de l'extraction au soxhlet	47
III. RESULTATS ET DISCUSSION	47
1. Teneur en huile	47
2. Caractéristiques physico-chimiques et indices chimiques des huiles	48
2.1. Masse volumique (ρ)	49
2.2. Indice de réfraction	49
2.3. Viscosité (η)	49
2.4. Indice d'acide (I.A.)	50
2.5. Indice de saponification (I.S.)	51
2.6. Indice d'iode (I. I.)	51
2.7. Teneur en insaponifiables	51
3. Détermination de la composition en acides gras	51
4. Étude de la stabilité thermique des huiles	55
4.1. Variation des caractéristiques physico-chimiques	56
4.2. Variation de la composition en acides gras	59

5. Essai d'optimisation des conditions d'extraction	60
6. Conclusion	62
CHAPITRE 3 : NATURE ET COMPOSITION DES CLASSES DES LIPIDES DE QUATRE ESPECES DE CURCUBITACEES ALIMENTAIRES DU CONGO BRAZZAVILLE.	63
I. MATERIEL ET METHODES	63
1. Matériel végétal	63
2. Méthodes d'extraction, de séparation et d'analyse.	63
2.1. Extraction des lipides	63
2.2. Séparation de classes lipidiques par Chromatographie sur Couche Mince (CCM)	64
2.3. Révélation des classes lipidiques	64
2.4. Détermination de la composition en acides gras par Chromatographie en Phase gazeuse (CPG)	64
2.4.1. Méthylation des acides gras	64
2.4.2. Séparation et analyses des ester méthyliques d'acides gras (AG) par CPG	65
II. RESULTATS ET DISCUSSION	66
1. Classes de lipides des cucurbitacées	66
1.1. Lipides neutres	66
1.2. Lipides polaires	66
2. Composition en Acides gras des différentes classes des lipides	69
2.1. <i>Citrullus lanatus</i>	69
2.2. <i>Cucurbita moschata</i>	70
2.3. <i>Cucurbita pepo</i>	71
2.4. <i>Lagenaria siceraria</i>	73
3. Discussion et conclusion	74
3.1. Constituants des classes lipidiques	74
3.2. Composition en acides gras des classes lipidiques	75
3.2.1. Lipides neutres	75
3.2.2. Lipides polaires	76
CHAPITRE 4 : COMPOSITION ET VARIABILITE DE LA FRACTION GLYCERIDIQUE DES LIPIDES DE QUATRE ESPECES DE CURCUBITACEES ALIMENTAIRES DU CONGO	79
I. MATERIEL ET METHODES	79
1. Matériel végétal	79
2. Méthodes d'analyse	79
2.1. Couplage chromatographie en Phase Gazeuse / spectromètre de masse (CPG/SM)	79
2.1.1. Chromatographie en phase gazeuse avec détection par ionisation de flamme	80
2.2. Chromatographie Liquide Haute Performance (CLHP)	80
2.2.1. Conditions d'analyse	80
2.2.2. Comparaison des huiles	80
2.3. Traitement des données	81

II. RESULTATS ET DISCUSSION	81
1. Variabilité de la composition en acides gras des graines de cucurbitacées	81
1.1 Variation de la composition en acides gras des graines individuelles au sein d'une même espèce	81
1.2. Variation de la composition en acides gras des huiles des graines des différentes espèces	85
1.2.1. Composition en acides gras majeurs	85
1.2.2. Recherche des acides gras mineurs	87
2. Variabilité de la composition en triacylglycérols (TAG) des graines de différentes espèces	88
3. Conclusion	89
 CHAPITRE 5 : VALORISATION DES LIPIDES DES GRAINES DE <i>LUFFA</i> <i>CYLINDRICA</i> . ETUDE COMPARATIVE AVEC LES CUCURBITACEES ALIMENTAIRES	 91
I. MATERIEL ET METHODES	91
1. Matériel végétal	91
2. Méthodes d'analyse	92
II. RESULTATS ET DISCUSSION	92
1. Différentes classes de lipides	92
2. Composition en acides gras des différentes classes	93
3. Profil en triacylglycérols (TAG) de <i>Luffa cylindrica</i>	94
4. Etude comparative	96
4.1. Les lipides résiduels	96
4.2. Les lipides neutres	96
4.3. Les lipides polaires	96
 CONCLUSION GENERALE ET PERSPECTIVES	 99
 BIBLIOGRAPHIE	 101
 ANNEXE : PUBLICATIONS	 109
1- Contribution à l'étude des corps gras des graines de quatre espèces des cucurbitacées cultivées au Congo. (Journal de la Société Chimique de Tunisie Volume II - n° 11 - Juin 1990)	
2- Nature et composition des classes des lipides de quatre espèces de cucurbitacées alimentaires du Congo-Brazzaville. (La Rivista Italiana Sostanze Grasse- Vol. LXXXII- MAGGIO/GIUGNO 2005)	
3- Composition et variabilité de la fraction glycéridique des lipides de quatre espèces de cucurbitacées alimentaires du Congo-Brazzaville. (Sous presse)	
4- Etude comparée des lipides de graines de <i>Cucurbita moschata</i> et de <i>Luffa</i> <i>cylindrica</i> . (Sous presse)	

ABREVIATIONS

ACP : acyl carrier protéin (protéine transporteuse de chaînes acyles)	LLL : trilinoléine
AG : acide gras	LPA: acide lyso-phosphatidique
AGE : acide gras essentiel	LPAAT: acide lyso-phosphatidique acyl transférase
AGT : acide gras trans	LPCAT : lyso-phosphatidylcholine acyl transférase
ATP : adénosine-5'-triphosphate	OLL : oléyl dilinoléyl glycérol
CCM : chromatographie en couche mince	OOL : dioléyl linoléyl glycérol
CDP : cytidine-5'-diphosphate	OOO : trioléine
CL : <i>Citrullus lanatus</i>	PA: acide phosphatidique
CM : <i>Cucurbita moschata</i>	PC : phosphatidylcholine
CMP : cytidine-5'-monophosphate	PE : phosphatidyléthanolamine
CP : <i>Cucurbita pepo</i>	PG: phosphatidylglycérol
CPG : chromatographie en phase gazeuse	PI : phosphatidylinositol
CoA : coenzyme A	Pi : phosphate inorganique
CoASH : coenzyme A réduit	PLL : palmitoyl dilonéyl glycérol
CTP : cytidine-5'-triphosphate	POL : palmitoyl oléyl linoléyl glycerol
C ₁₀ : acide caprique	PPI: pyrophosphate inorganique
C ₁₂ : acide laurique	PPL : dipalmitoyl linoléyl glycérol
C _{16:0} : acide palmitique	POO : palmitoyl dioléyl glycérol
C _{16:1} : acide palmitoléique	PS: phosphatidylsérine
C _{17:0} : acide margarique	PSL : palmitoyl stéaroyl linoléyl glycérol
C _{18:0} : acide stéarique	SLL : stéaroyl dilinoléyl glycerol
C _{18:1} : acide oléique	SM : spectrométrie de masse
C _{18:2} : acide linoléique	SOL : stéaroyl oléyl linoléyl glycérol
C _{18:3} : acide linoléinique	TAG: triacylglycérol ou triglycéride
C _{20:0} : acide arachidique	
C _{20:5} : acide timmodonique	
C _{22:0} : acide béhénique	
C _{22:1} : acide érucique	
C _{22:6} : acide décosahexaénoïque	
C _{24:0} : acide lignocérique	
DAG : diaacylglycérol ou diglycéride	
DAGAT : sn-1,2-diaacyl glycérol acyl transférase	
G-3-P : glycérol-3-phosphate	
GPAT : glycérol-3-phosphate acyl transférase	
CLHP : chromatographie liquide haute performance	
LS : <i>Lagenaria siceraria</i>	
LC : <i>Luffa cylindrica</i>	

INTRODUCTION GENERALE

Depuis que l'homme a une histoire, nous savons qu'il a montré de l'intérêt pour les lipides. Au travers des textes les plus anciens, on trouve trace de cette connaissance. Si les Egyptiens savaient isoler les huiles et les graisses et les utiliser à diverses fins, on ne peut oublier que déjà l'homme préhistorique savait s'éclairer en brûlant des graisses.

Si les corps gras étaient connus et utilisés pour leurs différentes propriétés depuis les temps les plus éloignés, il faut attendre la fin du XVII^e siècle pour voir les débuts de la connaissance chimique des corps gras, avec les travaux de OTTO TACHEN.

C'est CHEVREUL au XIX^e siècle qui va faire progresser la connaissance des corps gras d'une façon décisive. Il travaille à l'analyse d'un savon préparé à partir de graisse de porc et de potasse. C'est le point de départ d'une série de travaux consacrés aux corps gras qui vont se dérouler sur une dizaine d'années. Dans les conclusions de son traité, CHEVREUL décrit les huiles et graisses comme des mélanges de combinaisons de la glycérine anhydre avec des acides stéarique, margarique, oléique, butyrique et phocénique (KLÈRE, 1992).

Les plantes, véritables usines de la nature, produisent des métabolites primaires (glucides, lipides, protéines) et des métabolites secondaires (terpènes, alcaloïdes etc...). Les premiers concernent essentiellement l'alimentation et les seconds, la santé.

Les huiles végétales (lipides) sont extraites des différentes parties des plantes oléagineuses, notamment des graines (arachide, tournesol, colza, soja) et de la pulpe des fruits (olive, noix de palme, safou).

Depuis quelques années, la culture d'oléagineux intéresse de plus en plus des industries chimiques. En effet, dans les années 60, les surproductions céréalières répétées, ont déclenché aux Etats Unis d'Amérique, un vaste programme international d'exploration de nouvelles plantes sauvages présentant des acides gras nouveaux pouvant intéresser l'industrie chimique, l'objectif étant une diversification des cultures (EARLE et al, 1959 ; WHITE et WOLFF, 1968). Deux organismes ont dirigé ce programme, le U.S.A.D (United States Department of Agriculture) et le N.R.R.C (North Regional Research Center). On découvrit 75 acides gras nouveaux sur environ 800 espèces examinées (PRINCEN, 1979).

Le Congo a des potentialités encore inexploitées qui peuvent être valorisées. Outre le palmier à huile et l'arachide, les conditions climatiques et pédologiques favorisent bien le développement d'autres spéculations oléagineuses telles que : le safoutier, le raphia, le sésame, les cucurbitacées etc...

Le Congo importe actuellement plusieurs tonnes par an de matière grasse d'origine végétale (plus de 5476 tonnes de 2003 à 2005). La capacité de production du pays en graines ou fruits, oléagineux est pourtant très considérable. Après l'indépendance acquise en 1960, jusque dans les années 80, le Congo produisait de quantités appréciables d'huile d'origine végétale (huile de palme, huile d'arachide).

Souvenons-nous qu'en France, l'huile d'arachide était massivement importée des colonies et d'autres pays producteurs pour l'alimentation humaine.

Si la culture d'arachide ou de palmier à huile a été encouragée par l'Etat, celle des cucurbitacées n'en est point. L'agriculture « priorité des priorités » a été malheureusement ignorée au profit du secteur pétrolier. En plus, des troubles successifs depuis 1993, surtout dans les régions sud du pays ont fortement perturbé la culture des plantes oléagineuses dont les cucurbitacées. C'est pour cette raison qu'une politique de valorisation ou de revalorisation des plantes oléagineuses présentes au Congo est nécessaire pour faire face au déficit énorme des matières grasses d'origine végétale. En dehors des huiles importées, la consommation des

huiles par les ménages peut être ventilée entre deux espèces oléagineuses, le palmier à huile et l'arachide.

Dans le cadre d'une étude systématique des oléagineux du Congo, notre attention a été retenue par les cucurbitacées pour plusieurs raisons :

- les graines de cucurbitacées ont une teneur en lipides très élevée. Ces huiles sont de bonne qualité ; elles présentent également une bonne teneur en protéines
- les cucurbitacées sont cultivées dans toutes les régions du Congo
- ce sont les plantes polyvalentes, cultivées pour leur pulpe, leurs fruits et leur feuillage à des fins alimentaires et médicinales

Les cucurbitacées peuvent présenter un intérêt économique considérable pour la production d'huile consommable. De ce point de vue, la richesse en huile des cucurbitacées est remarquable.

Au Congo, la culture des cucurbitacées n'est pas destinée à fournir l'huile de table ou de friture mais uniquement des graines pour la consommation humaine.

Nous avons donc entrepris l'exploration de la composition en huile de toute une série de cucurbitacées du Congo de façon à procéder à une sélection des variétés les plus intéressantes du point de vue de la productivité et de la qualité alimentaire. Sur chaque variété, une étude de la variabilité génétique des caractères suivants est déterminée : production en masse et en nombre de graines, production d'huile, qualité de l'huile (teneur en triglycérides, taux d'insaturation des acides gras). Une étude comparée des huiles de graines des cucurbitacées comestibles et non comestibles a été nécessaire afin de dégager l'intérêt alimentaire de celles-ci. Nous voulons par cette étude approfondir la connaissance fondamentale des cucurbitacées tant du point de vue physico-chimique que nutritionnel en vue de dégager leur intérêt dans l'alimentation humaine et animale.

Notre travail s'articule ainsi en cinq chapitres.

Dans le premier chapitre, nous faisons une revue bibliographique de la biochimie des lipides végétaux. Cette mise au point bibliographique nous a semblé utile et nécessaire dans ce domaine de recherche très compétitif des lipides afin de bien comprendre l'intérêt de notre étude sur les cucurbitacées.

Le second chapitre concerne l'étude des caractéristiques physicochimiques et potentialités technologiques des huiles des cucurbitacées alimentaires du Congo. Ce chapitre ayant fait l'objet d'un mémoire de diplôme d'ingénieur, nous a fortement incité à poursuivre nos recherches sur les cucurbitacées. Ce second chapitre répond donc aux potentialités de la technologie des cucurbitacées.

Le troisième chapitre concerne la nature et composition des classes lipidiques de quatre espèces de cucurbitacées alimentaires. Nous abordons à partir de ce chapitre la biochimie (étude du nutriment) des cucurbitacées.

Dans le quatrième chapitre nous abordons la composition et la variabilité de la fraction glycéridique des lipides de quatre espèces de cucurbitacées alimentaires, afin d'évaluer d'une part le degré d'homogénéité des semences et, d'autre part de mettre en évidence les différences interspécifiques.

Le dernier chapitre concerne l'étude des lipides de *Luffa cylindrica*, sa valorisation alimentaire et étude comparative avec les cucurbitacées consommées au Congo. Le *Luffa cylindrica* n'étant pas consommé au Congo, nous voulons à travers cette étude, marquer notre intérêt sur cette espèce afin de dégager son importance alimentaire.

Le document se termine par une conclusion qui reprend et résume les principaux résultats puis ouvre quelques perspectives de recherche qui pourront être discutées.

CHAPITRE 1

REVUE BIBLIOGRAPHIQUE DE LA BIOCHIMIE DES LIPIDES VEGETAUX

I. FORMATION DES RESERVES LIPIDIQUES DANS LES GRAINES OLEAGINEUSES

Au cours de leur maturation, les graines des plantes oléagineuses s'enrichissent considérablement en lipides. L'accumulation de ces lipides de réserve dans les différentes espèces a fait l'objet de plusieurs travaux : études sur le carthame (SIMS et al., 1961), le colza (APPELQVIST, 1975 ; CHERIF, 1975), le tournesol (CHERIF et MAZLIAK, 1978 ; TRIKI, 1891 ; MONGA et al., 1983).

L'accumulation des lipides suit la même cinétique dans toutes les espèces. On distingue en général trois phases dans cette accumulation. La première phase est une période de latence où la synthèse des lipides est faible. Les cotylédons des graines renferment alors très peu de lipides. Durant cette phase de latence, les tissus sont probablement dépourvus d'enzymes intervenant dans la lipogenèse.

La deuxième phase est caractérisée par une synthèse active des lipides neutres et plus particulièrement des triacylglycérols (TAG).

La phase finale est une période où la synthèse lipidique diminue ; ce ralentissement des synthèses coïncide avec la déshydratation des graines. Bien des points demeurent obscurs cependant quant aux mécanismes de synthèse et aux organites cellulaires intervenant dans la formation des TAG.

Grâce aux études au microscope électronique effectuées sur des graines mûres, on sait que les lipides sont contenus dans les « oléosomes » (GURR, 1980).

Les oléosomes sont des amas, généralement sphériques, de TAG entourés d'une enveloppe constituée de phospholipides. Les oléosomes sont donc au niveau de la cellule des graines oléagineuses des organites subcellulaires d'accumulation des TAG.

Ces oléosomes sont délimités par un seul feuillet phospholipidique dans lequel sont intégrées des protéines membranaires spécifiques de ces organites, les oléosines (VANCE et HUANG, 1987 ; MURPHY et CUMMINS, 1989a, b ; MURPHY, 1990 ; TZEN et al, 1990 ; HERMAN et al, 1990 ; KALINSKI et al, 1990).

Plusieurs hypothèses ont été émises concernant l'origine des oléosomes (figure 1).

D'après les travaux de WANNER et THEIMER (1978) ; WANNER et al, (1981), les oléosomes dérivent de la membrane du réticulum endoplasmique ou de l'enveloppe du plaste. La première hypothèse selon ces auteurs suggère que les TAG, synthétisés au niveau du réticulum endoplasmique s'accumuleraient entre les deux feuillets membranaires et seraient libérés dans le cytoplasme sous forme d'une gouttelette lipidique limitée par une demi-membrane.

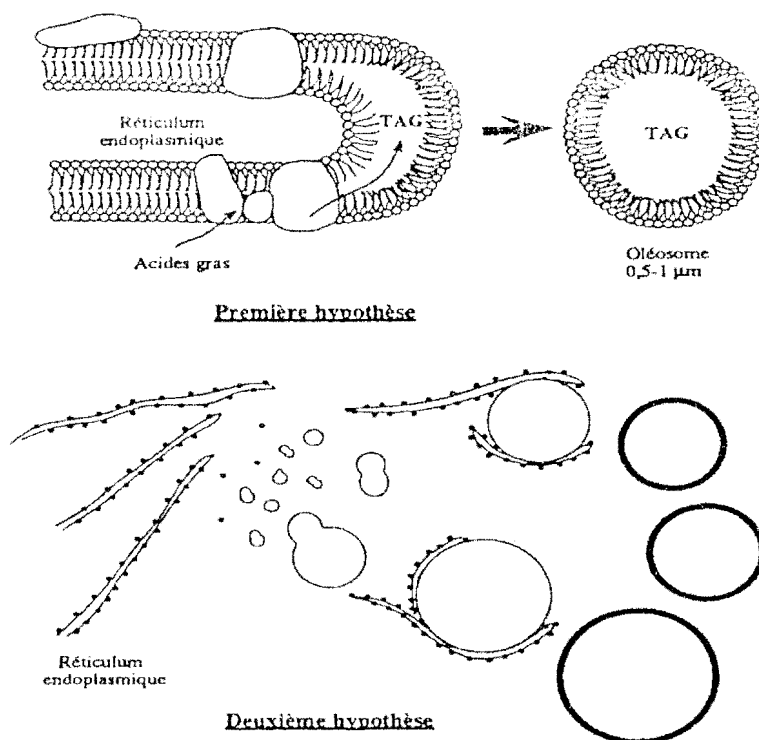


Figure 1 : Schéma illustrant les deux hypothèses proposées pour la formation des oléosomes.

Selon la seconde hypothèse, les TAG synthétisés s'accumuleraient dans le cytoplasme sous forme de gouttelettes lipidiques qui présenteraient à un certain stade de développement des contacts avec le réticulum endoplasmique. Une demi-membrane pourrait alors être synthétisée autour de ces gouttelettes suivies d'une synthèse de protéines membranaires. Ce modèle a été proposé à partir d'une étude réalisée sur l'accumulation *in vitro* des TAG (STOBART et al., 1986) et a été renforcé par la mise en évidence d'un décalage dans le temps entre l'accumulation des TAG à la synthèse des oléosines (MURPHY et CUMMINS, 1989b). Des travaux réalisés chez le soja ont mis en évidence la synthèse simultanée d'une oléosine et des TAG (HERMAN et al, 1990).

Dans les akènes de carthame en développement, plusieurs travaux réalisés « *in vitro* » ont montré que les microsomes sont impliqués dans la désaturation de l'oléyl-CoA. Le linoléate produit est incorporé dans la phosphatidylcholine servant de précurseur pour la synthèse des TAG (STYMNE et APPELQVIST, 1978 ; SLACK et al, 1979 ; BROWSE et SLACK, 1983 ; STYMNE et al, 1983 ; STOBART et al, 1983 ; STOBART et al, 1985 ; STYMNE et al, 1984a). Ces résultats indiquent qu'à l'origine l'oléosome est lié au réticulum endoplasmique. La séparation a lieu quand l'oléosome est chargé en TAG.

Les mécanismes de biosynthèse des TAG commencent à être élucidés.

Trois voies biochimiques sont proposées.

La synthèse des TAG dans les graines oléagineuses se réaliserait de la même façon que chez les animaux, selon la voie décrite par KENNEDY (1961).

Cette voie est résumée par la figure suivante :

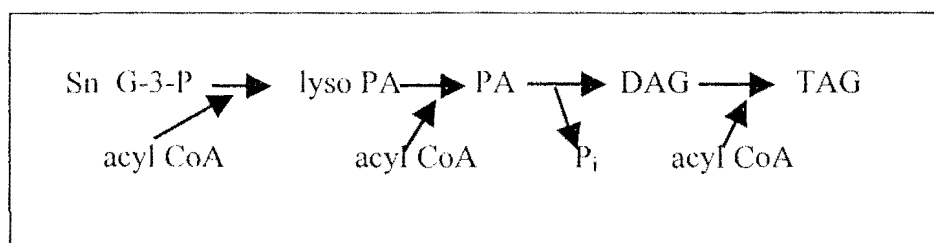


Figure 2 : Synthèse des triacylglycérols selon la voie classique.

La deuxième voie de biosynthèse a été proposée par ROUGHAN et SLACK (1982), SLACK et al (1979).

En utilisant les cotylédons de lin, soja et carthame en présence de [2-³H]-glycérol et de [1-¹⁴C]-acétate, ces auteurs ont montré que les précurseurs sont incorporés d'abord dans la PC, puis dans les DAG et TAG. Leurs résultats suggèrent que les DAG proviennent du PC plutôt que de PA. Ces résultats furent confirmés par les travaux de STYMNE et APPELQVIST (1978), APPELQVIST (1980), après utilisation de [1-¹⁴C]-oléate sur les microsomes des cotylédons de carthame. La figure 3 illustre la voie proposée par ROUGHAN et SLACK (1982).

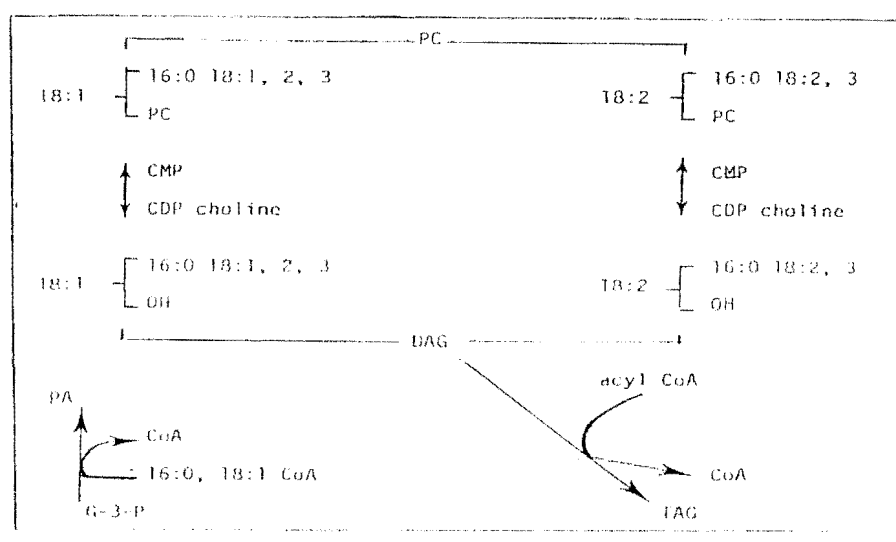


Figure 3 : Synthèse des triacylglycérols selon la voie proposée par ROUGHAN et SLACK (1982)

D'après les travaux de STYMNE et al, (1983), STOBART et al, (1983), STYMNE et STOBART (1984b, 1985), la synthèse des TAG dans les cotylédons de carthame se fait principalement selon la voie de KENNEDY. En mettant en incubation des microsomes de carthame en présence de sn-glycérol-3-p et de [1-¹⁴C]-oléate, ils ont montré que :

- l'oléate de l'oléyl-CoA est sélectivement transféré en position 2 du PC
- l'oléyl-PC est désaturé en linoléyl-PC
- le linoléate nouvellement formé est transformé en acyl-CoA
- finalement se produirait une acylation du sn-glycérol-3-p avec formation d'acide phosphatidique, puis on aurait la chaîne finale de réaction :



STOBART et STYMNE (1985) ont proposé le schéma suivant :

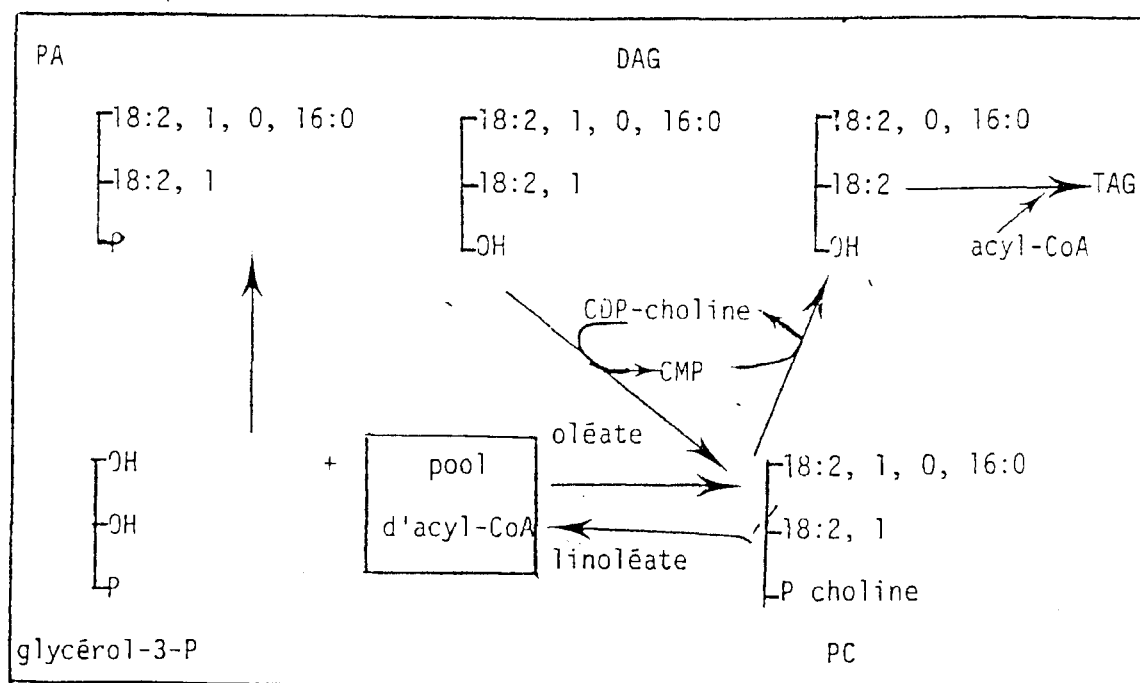


Figure 4 : Voie de biosynthèse des triacylglycérols selon STOBART et STYMNE (1985)

Ces auteurs ont montré en outre que :

- l'équilibre entre les DAG et le PC est dû à la cytidine-5'-diphosphate diacylglycérol choline phosphotransférase (SLACK et al, 1979)
- l'échange entre les acyl-CoA et le PC est catalysé par la lysophosphatidylcholine acyl transférase. Cette réaction enzymatique est également réversible (STYMNE et STOBART, 1984a).

II. UTILISATION DES RÉSERVES LIPIDIQUES DANS LES PLANTES OLEAGINEUSES.

Les réserves lipidiques stockées dans les graines oléagineuses sont activement hydrolysées au moment de la germination. Les produits d'hydrolyse sont soit oxydés pour fournir de l'énergie nécessaire à la croissance de la plantule, soit transformés en glucide au niveau de l'embryon. La nucléogénèse nécessite l'intervention de plusieurs organites cellulaires : oléosomes (sphérosomes), glyoxysomes, mitochondries et enzymes solubles cytoplasmiques.

1. Hydrolyse des réserves

La majeure partie des réserves lipidiques est dégradée pendant les cinq premiers jours de la germination. Cette dégradation est l'œuvre des lipases présentes dans les cotylédons. Dans l'albumen des graines de ricin on a pu mettre en évidence deux lipases actives : une lipase acide associée aux oléosomes hydrolysant les tri- et diacylglycérols avec un maximum d'activité au deuxième jour de la germination et une lipase alcaline hydrolysant les monoacylglycérols. Cette enzyme serait liée aux glyoxysomes (MUTO et BEEVERS, 1974). Dans le cas des autres espèces étudiées, une seule lipase alcaline a été détectée.

2. Cycle glyoxylique

Les produits de la lipolyse ne s'accumulent pas dans les graines. Les travaux de BEEVERS (1980) dans l'albumen de ricin montrent qu'ils sont transformés en succinate dans les organites spécialisés, les glyoxysomes, par les enzymes de la β -oxydation puis celles du cycle glyoxylique. Les mitochondries interviennent dans la transformation du succinate en malate. Une partie du malate est reprise dans le cycle de KREBS et sert de substrat pour les oxydations terminales. L'autre partie est convertie en glucose par les enzymes solubles du cytoplasme. La transformation des lipides en sucres a donc lieu dans les compartiments différents ; elle est facilitée par la proximité des organites cellulaires. La coopération entre organites implique le transport des métabolites d'un compartiment à un autre. Jusqu'à présent les mécanismes de ce transport ne sont pas connus. Les différentes étapes sont résumées dans la figure 5.

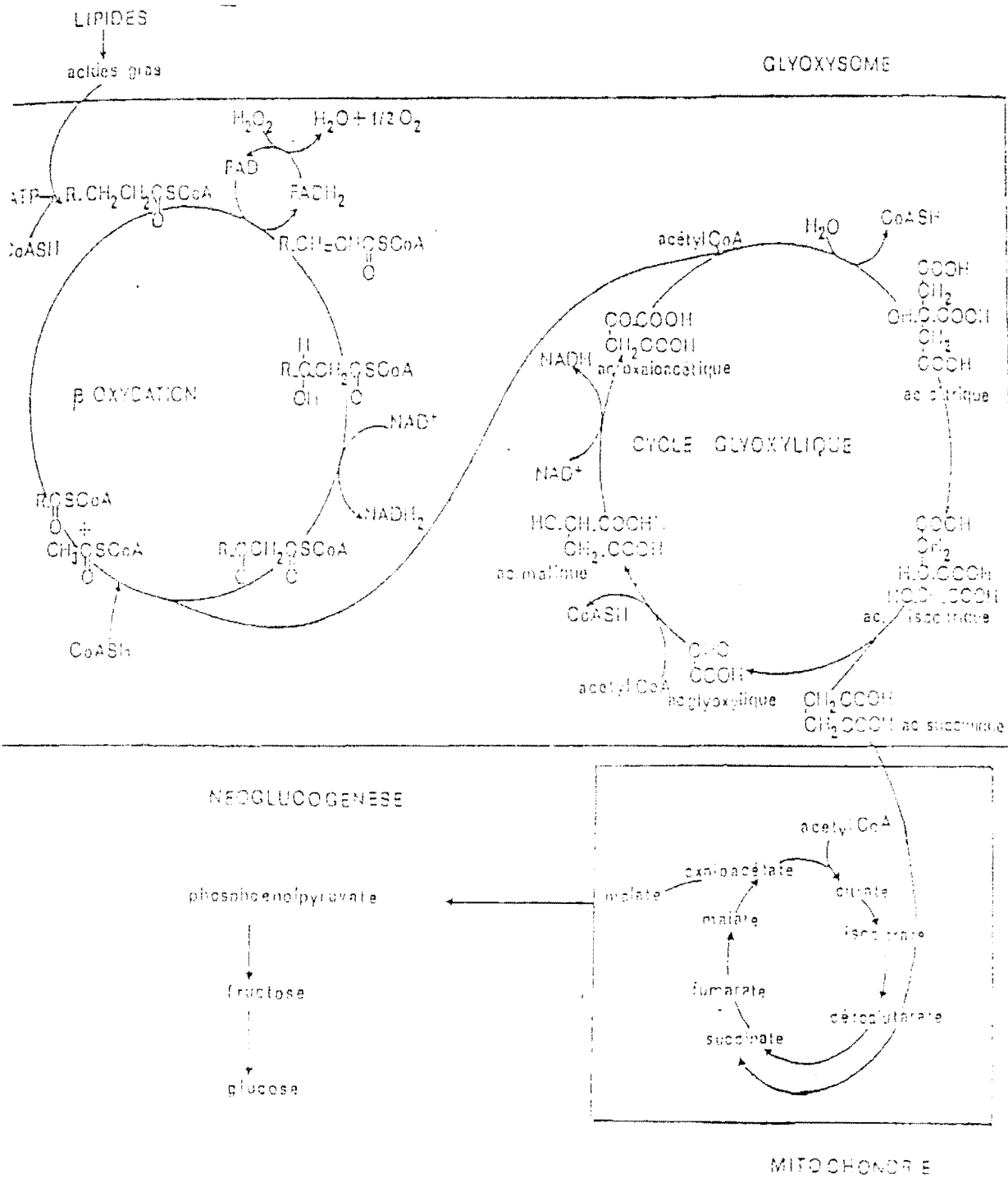


Figure 5 : Conversion des réserves lipidiques en glucides dans les graines oléagineuses (d'après BEEVERS, 1980 ; MAZLIAK et TCHANG, 1983)

La figure 6 nous montre une présentation générale du métabolisme des lipides dans la graine en germination.

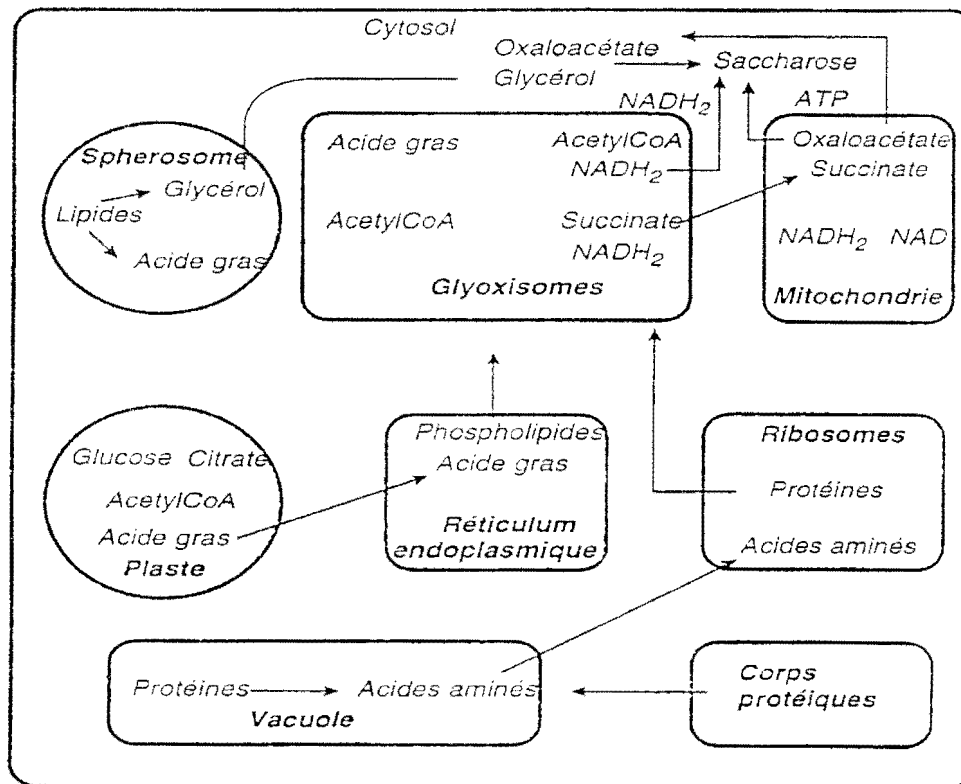


Figure 6 : Métabolisme des lipides dans la graine en germination (TREMOLIERES, 1988)

III. DIVERSITE DES ACIDES GRAS ACCUMULES DANS LES TRIACYL-GLYCEROLS (TAG).

1. Structure d'une molécule de TAG

La structure des TAG a pour base une molécule de glycérol dont les trois groupes hydroxyles (OH) sont estérifiés au groupe carboxylique (COOH) de trois acides gras (figure 7). La molécule de TAG ne présente pas de symétrie, et les trois carbones de squelette glycérol peuvent être considérés comme distincts. Un numéro est attribué à chaque carbone, déterminant ainsi leur position stéréochimique dans la molécule de TAG.

L'incorporation des acides gras aux différentes positions du glycérol n'est pas faite au hasard. En règle générale, les acides gras saturés occupent les positions sn-1 et sn-3 du glycérol, avec une préférence pour la position sn-1, et les acides gras poly-insaturés en C₁₈ occupent la position sn-2 (HILDITCH et WILLIAMS, 1964 ; GUNSTONE et al., 1965).

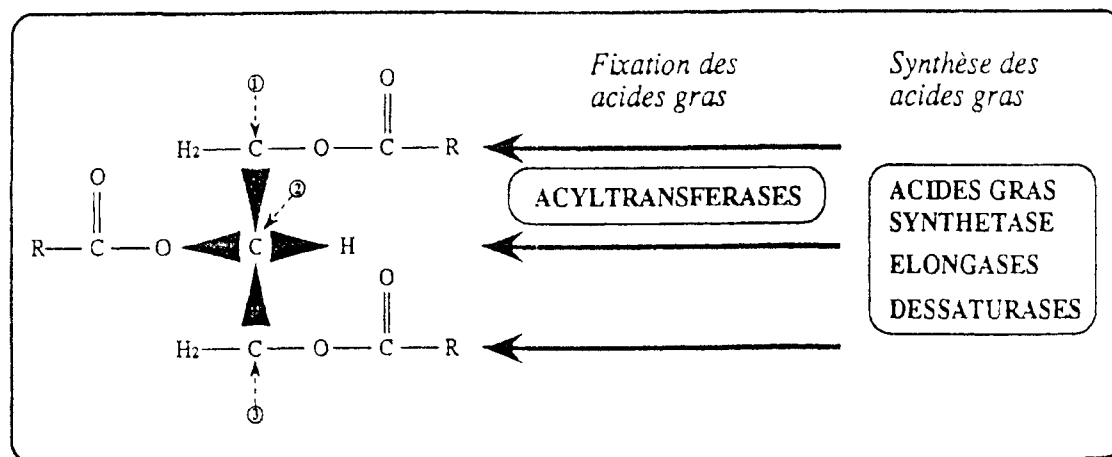


Figure 7 : Structure d'une molécule de triacylglycérol et présentation schématique des enzymes impliquées dans la synthèse des lipides de réserves. R : chaîne acyle de l'acide gras.

Concernant les acides gras peu communs, leur répartition dans les trois positions du glycérol dépend de l'espèce. L'acide caprique (C₁₀) et laurique (C₁₂) peuvent occuper les trois positions du glycérol chez certaines variétés de *Cuphea* (*Cuphea lanceota* par exemple ROBBELEN et HIRSINGER, 1982) de même que les acides gras à très longue chaîne (AGTLC) en C₂₀ et C₂₂ chez l'espèce *Limnanthes alba* (NIKOLOVA-DAMYANOVA et al, 1990 ; LARDANS et TREMOLIERES, 1992). Par contre, dans les graines de variétés de colza riches en acide érucique (C_{22:1}), cet acide occupe la position sn-1 et sn-3 du glycérol et est totalement exclu de la position sn-2 (APPELQVIST, 1975 ; BROCKERHOFF, 1975 ; NORTON et HARRIS, 1983). La structure finale des TAG met en jeu de nombreuses étapes enzymatiques qui peuvent être regroupées en deux catégories :

- les enzymes impliquées dans la synthèse des différents types d'acides gras (complexe acide gras synthétase, désaturases, élongases)
- les enzymes catalysant la fixation de ces acides gras sur le squelette glycérol (acyltransférase) (figure 7).

2. Acides gras saturés ou monosaturés en C₁₆ et C₁₈

La synthèse de ces acides gras a lieu chez les végétaux supérieurs essentiellement dans le chloroplaste des tissus photosynthétiques (WEAIRE et KEKWICK, 1975 ; YAMADA et USANI, 1975 ; VICK et BEEVERS, 1978 ; OHLROGGE et al, 1979 ; ROUGHAN et al.,

1979 ; BROWSE et SLACK, 1985). Une synthèse a été mise en évidence dans les mitochondries végétales, mais celle-ci est négligeable par rapport à la source principale d'acides gras qu'est le chloroplaste (CHUMAN et BRODY, 1989).

Dans les plastes, la synthèse des acides gras consiste en une série de cycles de condensation de malonyl-ACP (donneur de C₂) avec un résidu acyl lié au site actif de la 3- kétoacyl-ACP-synthétase (HARWOOD, 1988 ; BROWSE et SOMERVILLE, 1991). A chaque cycle de la réaction, 2 atomes de carbone sont ajoutés à une chaîne acyl. Le produit final, le C_{16:0}-ACP peut être allongé en C_{18:0}-ACP qui peut être désaturé en C_{18:1}-ACP. Le transfert de ces acides gras dans le cytoplasme nécessite l'hydrolyse de l'acyl-ACP qui est catalysée dans le chloroplaste par une acyl-ACP thioestérase (OHLROGGE et al, 1978). L'acide gras libéré peut traverser les deux membranes du chloroplaste pour être fixé sur une molécule de CoA grâce à une acyl-CoA synthétase localisée dans l'enveloppe externe du plaste (JOYARD et DOUCE, 1977 ; ROUGHAN et SLACK, 1977 ; OHLROGGE et al, 1979). Les acyl-CoA, solubles, sont véhiculés dans le cytoplasme et principalement dirigés vers le réticulum endoplasmique pour être utilisés comme substrats des enzymes du métabolisme lipidique.

3. Acides gras polyinsaturés en C₁₈

Les acides gras poly-insaturés en C₁₈ sont synthétisés par un processus de désaturation de l'oléate (C_{18:1}) en linoléate (C_{18:2}) (SLACK et al, 1978 ; STYMNE et APPELQVIST, 1978 ; STOBART et STYMNE, 1985) et du linoléate en linoléate (C_{18:3}) (BROWSE et SLACK, 1981). La réaction de désaturation est réalisée après estérification de l'acide gras à la phosphatidylcholine qui fait intervenir une acyl-CoA : lyso PC-acyltransférase (STYMNE et APPELQVIST, 1978 ; STYMNE et al, 1983 ; STYMNE et STOBART, 1984 ; STYMNE et STOBART, 1985). La désaturation de l'oléate (C_{18:1}) en linoléate (C_{18:2}) et du linoléate en linoléate (C_{18:3}) est catalysée par une Δ_{12} désaturase (GENNITY et STUMPF, 1985) et une Δ_{15} désaturase (FERRANTE et KATES, 1986) respectivement. Ces enzymes sont localisées dans le réticulum endoplasmique et nécessitent la présence d'une chaîne de transport d'électrons (HARWOOD, 1988).

4. Biosynthèse des triacylglycérols (TAG)

4.1. Acylation du diacylglycérol (DAG)

L'enzyme acyl-CoA (ou acyl-ACP) sn-1,2-diacylglycérol acyltransférase (DAGAT) catalyse l'acylation en position sn-3 du squelette de glycérol d'une molécule de DAG et représente la seule enzyme responsable de la biosynthèse des TAG. Elle est localisée dans les membranes microsomales, essentiellement dans le réticulum endoplasmique, dans les graines ou les fruits en développement et dans les graines en germination. Dans les feuilles la DAGAT est localisée dans les membranes de l'enveloppe chloroplastique. Elle est plutôt spécifique aux acylthioesters-CoA saturés et peut vraisemblablement utiliser aussi des acylthioesters-ACP. Les TAG s'accumulent dans les plastides dans de faibles proportions mais leur taux peut augmenter de façon significative dans des conditions de stress, conditions sous lesquelles la DAGAT convertit le DAG libéré par dégradation des membranes lipidiques (déphosphorylation de PA) en TAG correspondant (figure 8).

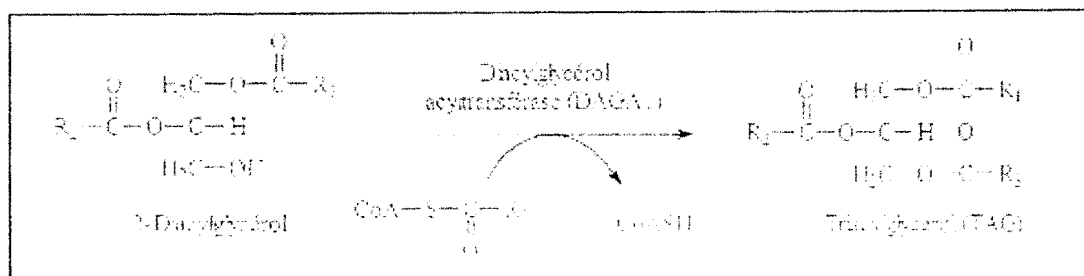


Figure 8 : Biosynthèse des TAG

4.2. Les triacylglycérols polyinsaturés

Chez de nombreuses espèces végétales, les TAG sont estérifiés avec des acides gras en C₁₈ poly-insaturés. Depuis quelques années, les recherches sur les lipides de réserve se sont orientées vers l'élucidation des mécanismes responsables de la synthèse de tels TAG (figure 9).

Des expériences de marquage et des études enzymatiques ont montré que PC (et en proportion moindre PE) était un intermédiaire clef et que deux activités enzymatiques étaient impliquées dans le transfert de chaînes poly-insaturées de PC sur les DAG. La cholinephosphotransférase catalyse non seulement la conversion des DAG en PC, mais aussi la réaction inverse sans aucune spécificité vis-à-vis de l'espèce moléculaire du substrat (GRAY et KEKWICK, 1996a, b). Via cette activité, les pools de PC et DAG sont équilibrés et l'espèce DAG s'enrichit en acides gras poly-insaturés en C₁₈.

Les thioesters de CoA correspondants sont produits par une réaction réversible de transestérification des groupes acyles (en position sn-2 de PC) catalysée par la lyso-PC acyltransférase (LPCAT). Les thioesters de CoA en C₁₈ et poly-insaturés deviennent alors substrats de la DAGAT. De plus, le pool en acyl-CoA peut approvisionner les acyltransférases, la G-3-P-acyltransférase (GPAT) et la lyso-PA-acyltransférase (LPAAT), en substrat, ainsi du linoléyl-CoA ou du linolényl-CoA peuvent être directement incorporés sur PA, préférentiellement en position sn-2 (FRENTZEN, 1993) (figure 9).

Les échanges de chaînes acyles semblent être un fait communément rencontré non seulement dans les graines mais aussi dans les feuilles. Toutes les réactions d'acylation semblent être catalysées par des enzymes différentes et spécifiques mais ceci n'est pas encore très bien clarifié.

4.3. Les acides gras « particuliers »

Les triacylglycérols constituent une réserve d'acides gras « particuliers ». Naturellement, les TAG permettent à la cellule de stocker des acides gras dits « particuliers » ou peu communs tels que l'acide ricinoléique (C_{18:1}, 12-OH), des acides gras à chaînes de longueur moyenne tels que l'acide caprique (C₁₀) ou à très longues chaînes comme par exemple l'acide érucique (C_{22:1}). Plus de 300 acides gras différents sont répertoriés comme pouvant être stockés dans les TAG. Tous ces acides gras possèdent des propriétés intéressantes pour des valorisations industrielles ; c'est pourquoi tout un domaine de recherche s'est développé autour de la compréhension des mécanismes responsables de leur

biosynthèse (surtout via des approches génétiques) en vue de favoriser leur accumulation et permettre une production suffisante pour constituer de nouvelles huiles à hautes valeurs ajoutées dans des domaines aussi divers que la synthèse de réactifs, l'industrie des détergents et des lubrifiants, et l'industrie agroalimentaire (figure 10).

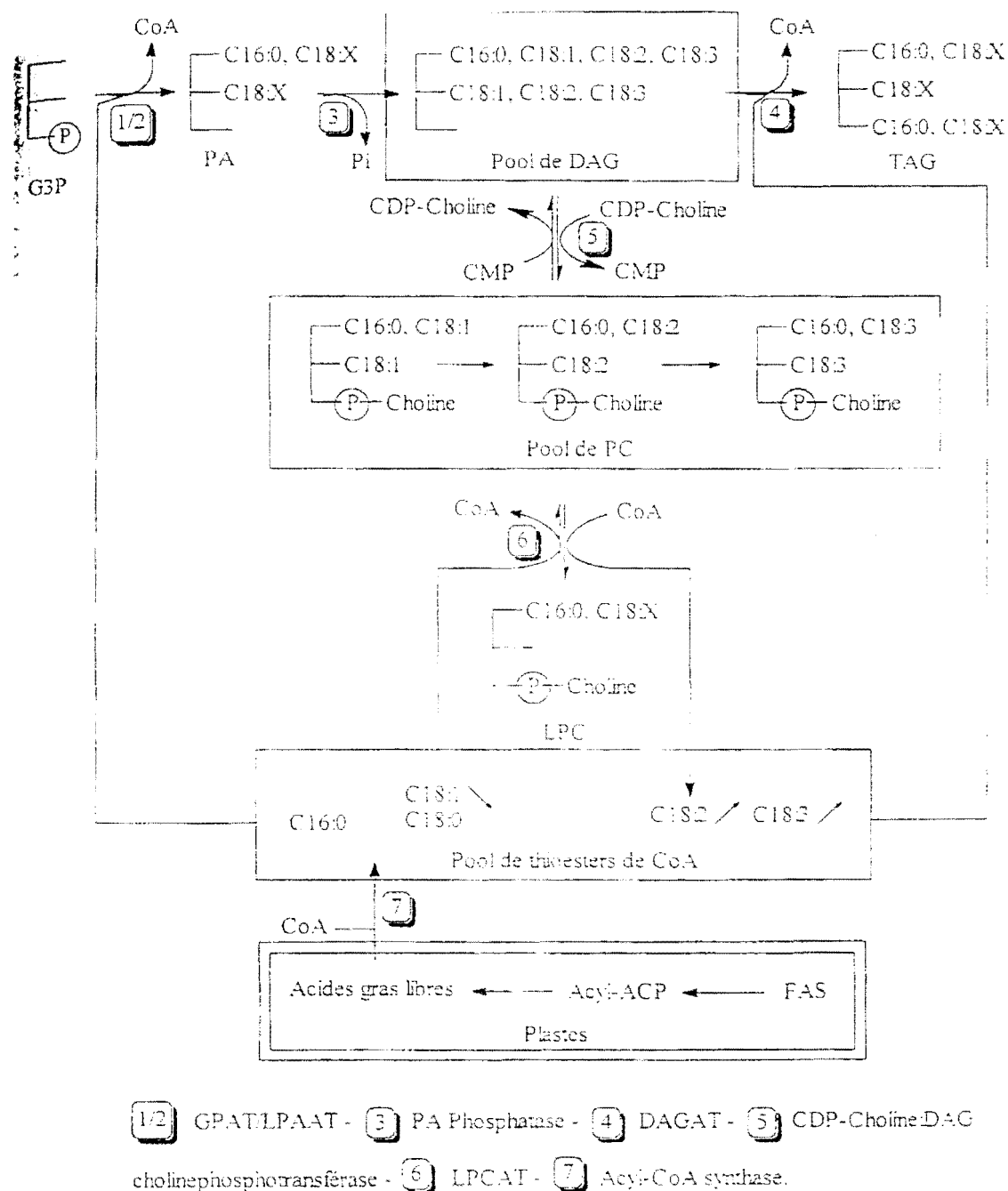
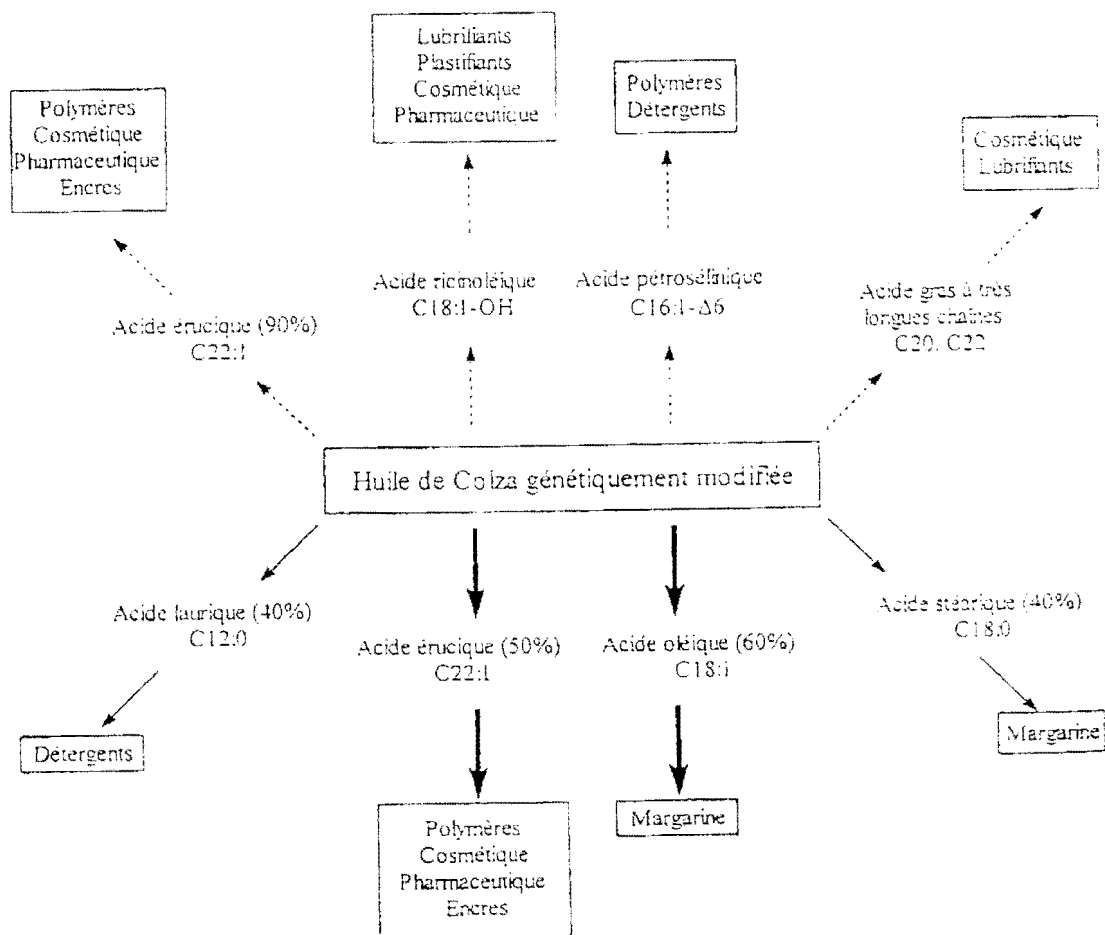


Figure 9 : Biosynthèse des TAG comportant des acides gras poly-insaturés en C18

4.3.1. L'acide ricinoléique

L'acide ricinoléique est le seul acide gras hydroxylé commercialisé à l'heure actuelle. La biosynthèse de l'acide ricinoléique à partir de l'acide oléique a été relativement bien étudiée par BAFOR et al, 1991 ; RICHARDS et al., 1993. Cet acide gras est synthétisé dans la graine de ricin (*Ricinus communis*) par hydroxylation du C₁₂ de l'acide oléique et représente plus de 90% des acides gras de cette graine (HILDITCH et WILLIAMS, 1964). Le substrat de

l'hydrolase est donc l'acide oléique estérifié en position sn-2 de PC. Le ricinoléate est ensuite relargué sous forme d'acide gras libre avant d'être incorporé dans les TAG. Il est en effet présumé qu'une phospholipase A2 hydrolyse spécifiquement l'espèce PC hydroxylée pour former le lyso-PC et libérer les acides ricinoléiques convertis en acyl-CoA correspondants par une acyl-CoA synthase que l'on trouve dans les microsomes de ricin. Ce thioester est substrat de la DAGAT et suit le même chemin métabolique qu'un acide gras poly-insaturé pour la biosynthèse des TAG.



- 2 types de variétés de Colza sont aujourd'hui utilisés à l'échelle industrielle, la plus commune étant la variété de type "Canola" contenant 60% d'acide oléique
- Développées en 1992, 2 nouvelles variétés de colza génétiquement modifiées sont actuellement à l'essai aux Etats-Unis.
- > Au moins 4 nouvelles variétés sont actuellement en phase de développement dans des instituts et des compagnies anglaises, américaines et allemandes.

Figure 10 : Intérêts industriels des huiles modifiées (MURPHY, 1994)

4.3.2. Acides gras à chaîne de longueur moyenne

De nombreuses thioestérases acyl-ACP, responsables de la formation d'acides gras à chaînes de longueur moyenne ont été isolées chez diverses espèces de plantes (TÖPFER et al, 1995). Une acyl-ACP thioestérase spécifique aux chaînes acyles de longueur moyenne, a été extraite

de graines d'un laurier de Californie, purifiée et séquencée. Exprimée dans le génome du colza, l'enrichissement obtenu en acide laurique est de 40% (espèce trans-génique colza canola) (LASSNER, 1997).

4.3.3. Acides gras à très longues chaînes

Un complexe pluri-enzymatique est responsable de l'élongation des acides gras dans le réticulum endoplasmique des cellules végétales. Les composantes de ce complexe ont été solubilisées et partiellement caractérisées sur des graines de *Lunaria amma* et *Limnanthes alba*. Les mécanismes biochimiques mis en jeu ressemblent à ceux du complexe FAS localisés dans les plastides. La différence essentielle réside en le fait que le complexe élongase est membranaire et utilise des acyl-CoA comme substrats plutôt que les acyl-ACP (MURPHY, 1994).

4.3.4. Acides gras époxydés et comportant des doubles liaisons conjuguées

L'époxydation d'acides gras et la formation de doubles liaisons conjuguées sont fréquemment observées chez un grand nombre de plantes (en particulier de type oléagineux). La localisation et les mécanismes d'action des oxygénases impliquées dans leur biosynthèse n'ont pas été encore déterminés. Cependant il semble fort possible que se soient des enzymes membranaires, localisées dans le réticulum endoplasmique (en raison de la localisation des autres acides gras modifiés). Ces produits présentent un intérêt industriel tel, que l'on peut imaginer que des progrès rapides seront faits dans l'élucidation des processus de leur formation (MURPHY, 1994). L'acide vernolique (dérivé de *Vernonia galamensis* par exemple) est l'acide époxylé le plus utilisé. Il présente un intérêt dans l'industrie des plastiques, des revêtements et des peintures.

Ces acides gras « particuliers » sont vraisemblablement incorporés dans les TAG, via le glycérol-3-phosphate. Il n'y a pas de mécanisme général de synthèse de tels TAG, il semblerait plutôt que chaque espèce ait un mécanisme spécifique et particulier à chaque acide gras. Une fois les TAG formés, il est admis qu'ils s'accumulent dans des gouttelettes lipidiques (oléosomes), dans le réticulum endoplasmique.

5- Biosynthèse des glycérolipides

Les glycérolipides représentent de loin le plus grand groupe de lipides chez les plantes. Ce groupe inclut les glycodiacylglycérolipides et les phosphoglycérolipides, lipides polaires qui constituent les membranes des cellules végétales, et les acylglycérols tels que les TAG, lipides de réserves. Les glycodiacylglycérols sont caractéristiques des membranes plastidiales tandis que les phospholipides sont majoritaires dans les membranes extraplastidiales.

Les végétaux supérieurs possèdent deux voies métaboliques distinctes pour la synthèse des glycérolipides : la voie métabolique procaryote, à l'intérieur de l'enveloppe chloroplastique et la voie métabolique dans le réticulum endoplasmique (HEINZ et ROUGHAN, 1983). Nous n'aborderons ici que la seconde voie.

5.1. La voie extrachloroplastique

Cette voie est aussi appelée voie eucaryote (KINNEY, 1993 ; BROWSE et SOMERVILLE, 1991). La synthèse des glycérolipides dans le réticulum endoplasmique commence par deux réactions d'acylation qui consistent en un transfert des acides gras libres issus de la synthèse de *novo* sur le glycérol-3-phosphate par l'action de deux acyltransférases pour former l'acide phosphatidique (PA). Ces acyltransférases utilisent des substrats de type acylthioesters de CoA, hydrosolubles, pour produire PA, hautement enrichi en C₁₈, en position sn-2, caractéristique de la voie extrachloroplastique.

L'action d'une phosphatase spécifique convertit PA en diacylglycérol (DAG). Comme pour la voie chloroplastique, PA peut réagir avec une molécule de cytidine-5'-triphosphate (CTP). Il en résulte la formation de CDP-DAG.

Le DAG et le CDP-DAG sont les précurseurs de PG, PS, PC, PE, PI, phospholipides constituant les membranes extrachloroplastiques.

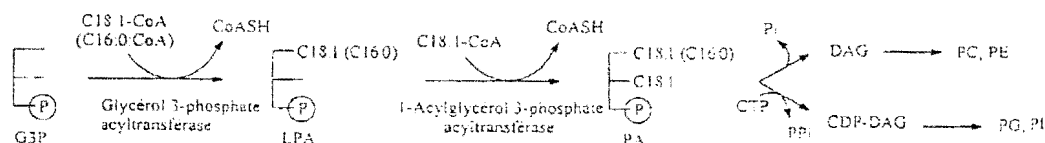


Figure 11 : Schéma de la biosynthèse des glycérolipides dans le compartiment extrachloroplastique

Schématiquement, il existe trois voies de synthèse des phospholipides (PL) : les PL synthétisés de *novo* à partir du DAG, ou bien à partir du CDP-DAG ou encore par des réactions d'échanges de têtes polaires entre différents PL.

5.1.1. Synthèse des phospholipides à partir de CDP-DAG

5.1.1.1. Biosynthèse du phosphatidylinositol (PI)

La PI synthase catalyse la réaction entre l'inositol libre et le CDP-DAG. Elle nécessite la présence d'un cation divalent tel que Mg²⁺ ou Mn²⁺ et elle est plus spécifique à l'espèce (C_{16:0}/C_{18:2})-PI.

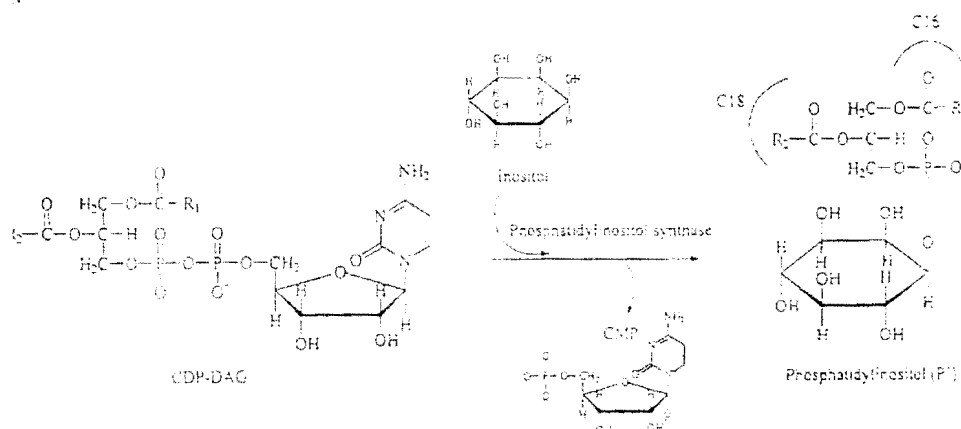


Figure 12 : Biosynthèse de PI

5.1.1.2. Biosynthèse de la phosphatidylsérine (PS) et de ses métabolites

La PS est essentiellement produit *via* l'activité du PS synthase (détectée dans de nombreux végétaux) qui catalyse la réaction entre la L-sérine et le CDP-DAG.

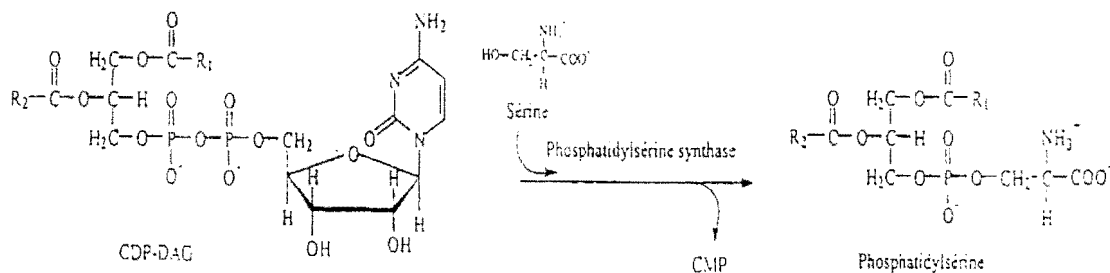


Figure 13 : Biosynthèse de PS

Chez de nombreuses espèces de plantes, la PS contient des acides gras à très longues chaînes que l'on ne trouve dans aucune autre classe de lipides. Ceci suggère que les acides gras de PS puissent être précurseurs des lipides épidermiques et PS jouerait alors le rôle de transporteur de groupes acyles. La phosphatidylsérine peut être décarboxylée en phosphatidyléthanolamine (PE) par action d'une PS décarboxylase (figure 14).

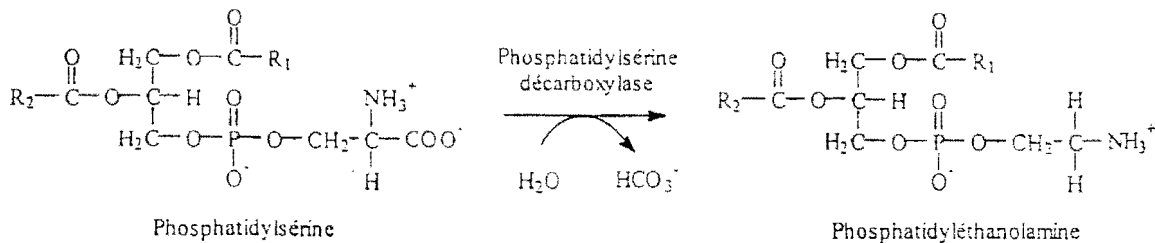


Figure 14 : Décarboxylation de PS

PE est alors méthylée en phosphatidylcholine (PC) par action de deux N-méthyltransférases qui utilisent la S-Adosylméthionine (SAM) comme donneur de méthyle (figure 15).

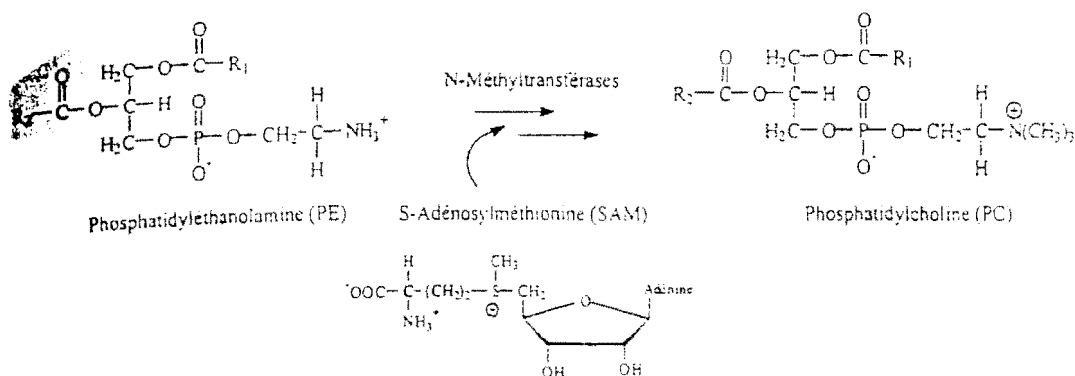


Figure 15 : Méthylation de PE

Cette voie de synthèse de PC à partir du CDP-DAG reste encore très discutée chez les plantes.

5.1.2. Synthèse des phospholipides à partir du DAG

5.1.2.1. Biosynthèses de la phosphatidylcholine (PC) et de la phosphatidyléthanolamine (PE) (voie nucléotidique)

La PE peut être synthétisée chez les plantes comme dans toute cellule eucaryote, en trois étapes à partir d'éthanolamine libre. La phosphorylation de l'éthanolamine par l'éthanolamine kinase, dépendante d'ATP, conduit à la phosphoéthanolamine qui réagit à son tour avec du CTP pour former, après libération de pyrophosphate inorganique, la CDP-éthanolamine.

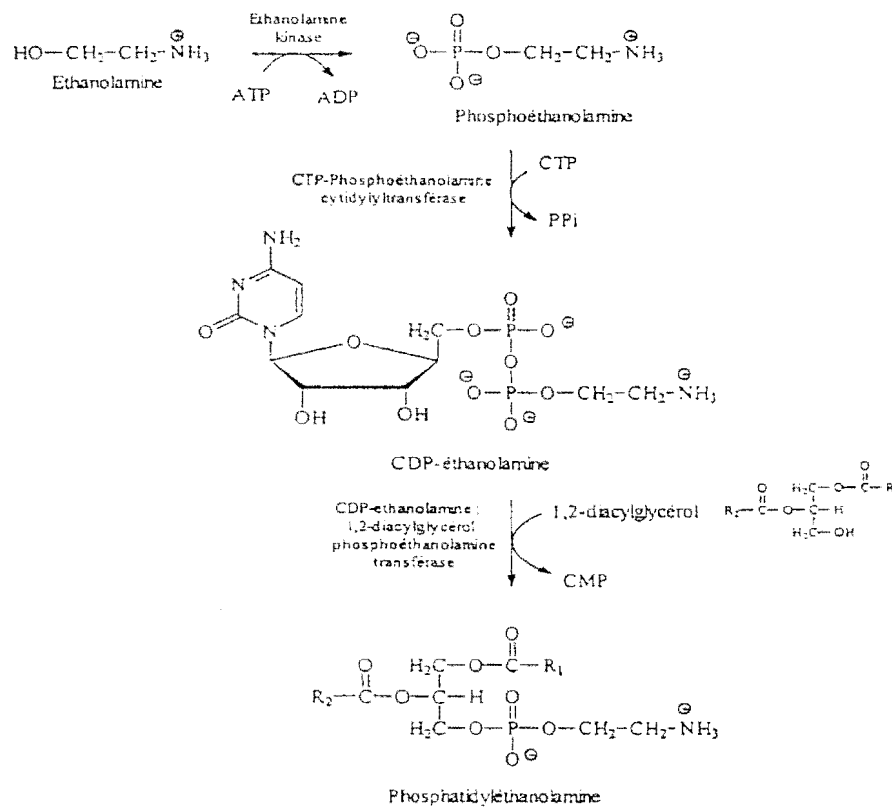


Figure 16 : Biosynthèse de PE

L'activité phosphoéthanolamine cytidylyltransférase qui serait l'unique responsable de la formation de la CDP-éthanolamine a été détectée dans les mitochondries de cellules de ricin, tandis que les substrats sont produits dans le cytosol et les produits utilisés dans le réticulum endoplasmique.

Le groupe phosphoéthanolamine du CDP-éthanolamine est ensuite transféré en C₃ du 1,2-diacétylglycérol et conduit à la phosphatidyléthanolamine.

La phosphatidylcholine peut être synthétisée à partir de choline libre (figure 17).

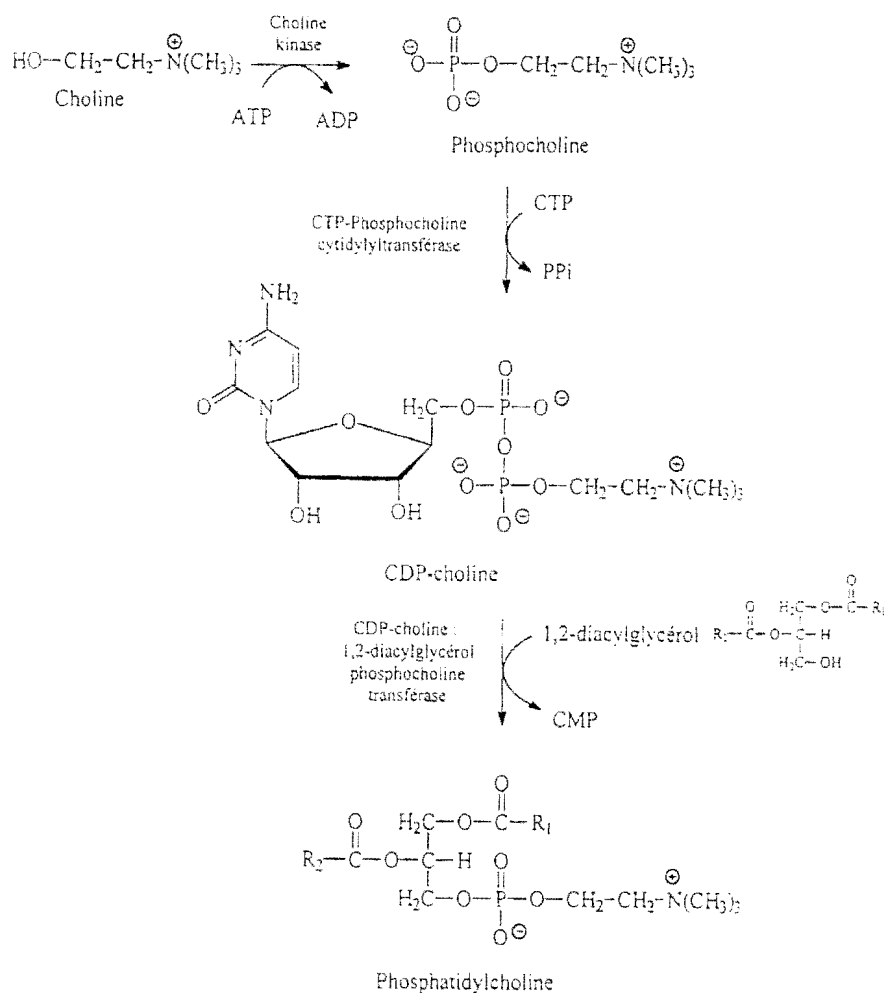


Figure 17 : Biosynthèse de PC

La choline phosphate cytidylyltransférase, responsable de la formation de la CDP-choline et localisée dans le réticulum endoplasmique ou dans le cytosol, semble jouer un rôle déterminant dans la régulation de la biosynthèse de PC.

De plus, la biosynthèse de PC à partir de choline libre est sans doute une voie minoritaire chez les végétaux supérieurs. La source de choline libre qui pourrait être de la phosphocholine stockée dans le cytosol, ne semble pas être une source suffisante pour expliquer la biosynthèse totale de la PC. Il semble raisonnable de penser que, dans la plupart des tissus de végétaux, à la fois PC et PE dérivent de l'éthanolamine.

5.1.3. Echange de têtes polaires

Comme dans les cellules animales, il existe dans les cellules végétales, des enzymes capables de catalyser des réactions d'échange de têtes polaires entre différents phospholipides. La réaction la mieux caractérisée est la synthèse de PS par échange de sérine avec la tête polaire de PE. Cette réaction est réversible et catalysée par une enzyme microsomale, dépendante des ions Ca^{2+} : la L-sérine phosphatidyltransférase.

IV. STRUCTURE DES ACIDES GRAS MAJEURS ET DES GLYCERO-LIPIDES CHEZ LES VEGETAUX SUPERIEURS

Les lipides peuvent être classés de plusieurs façons. La plus satisfaisante est fondée sur la structure de leur squelette carboné. Les lipides complexes contenant des acides gras comprennent les acylglycérols, les phosphoglycérides, les sphingolipides et les cires qui diffèrent par le composé auquel les acides gras sont liés de façon covalente. Ils sont ainsi appelés lipides saponifiables. Les lipides simples, l'autre grand groupe de lipides, ne contiennent pas d'acides gras et sont donc insaponifiables. Les acides gras diffèrent entre eux par la longueur de leur chaîne et par le nombre et la position de leurs doubles liaisons.

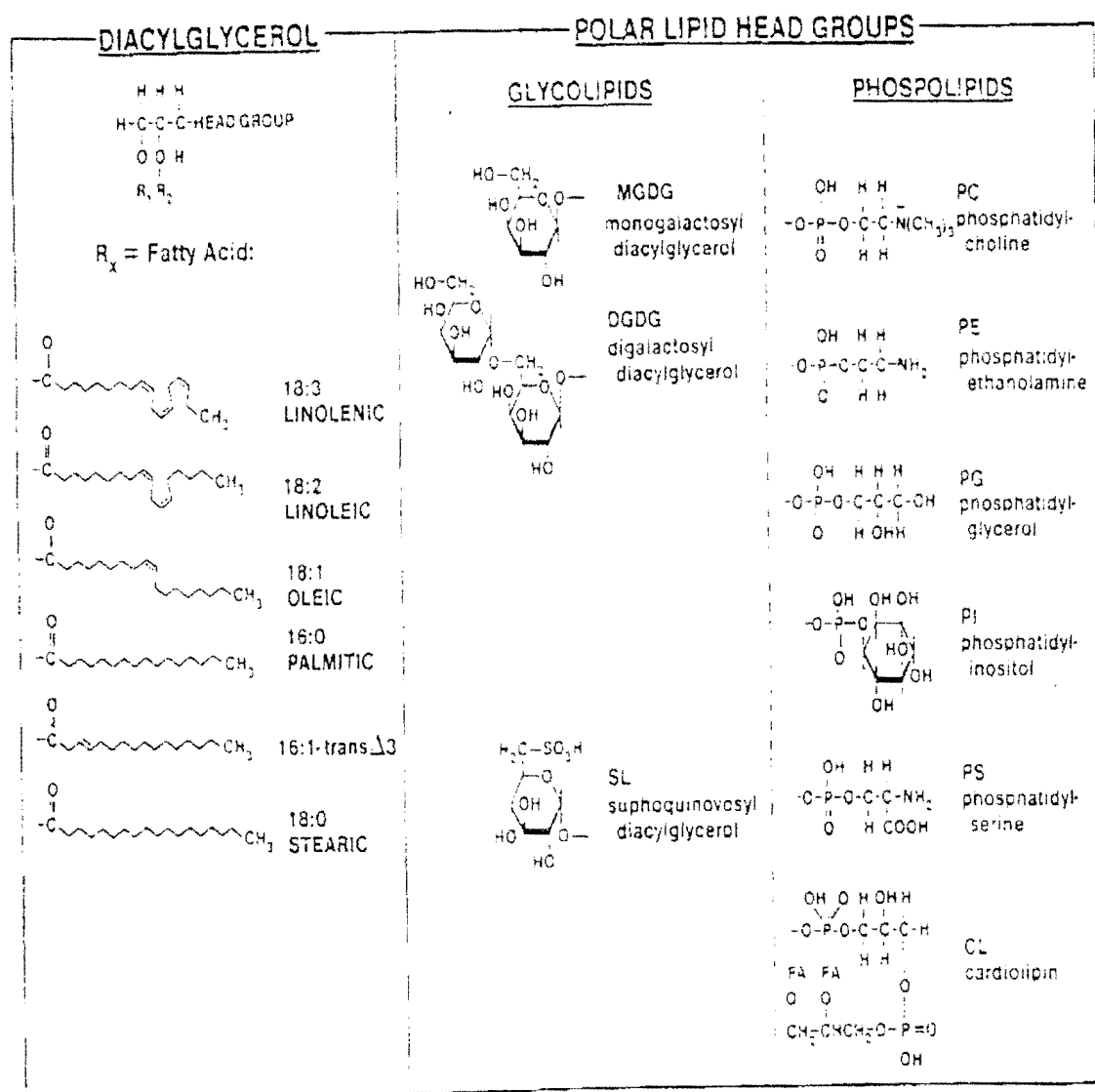


Figure 19 : Acides gras majeurs et glycérolipides chez les végétaux supérieurs (OHLROGGE et BROWSE, 1995)

V. LES HUILES VEGETALES

1. Huile alimentaire

La composition des huiles contient principalement les acides gras suivants (Tableau I) : palmitique (C_{16:0}), stéarique (C_{18:0}), oléique (C_{18:1}), linoléique (C_{18:2}) et linoléique (C_{18:3}).

Tableau I : Composition moyenne (%) des principales huiles alimentaires par rapport aux acides gras totaux (MURPHY, 1994 ; KACHOURI et al, 1994 ; KARLESKIND, 1990)

	C _{16:0}	C _{18:0}	C _{18:1}	C _{18:2}	C _{18:3}
Soja	11	4	23	54	8
Palme	45	4	39	9	0
Colza	1,5- 6	0,5- 3,1	8- 60	11- 23	5- 13
Colza à faible teneur en C _{22:1}	2,5- 7	0,8- 3	51- 70	15- 30	5-14
Tournesol	7	5	19	68	0
Tournesol haut oléique	3	2	88	7	0
Noix	6-8	1-3	14-21	54-65	9-15
Olive	15	3-6	68	17	<1
Arachide d'Afrique	8-13	3-4	48-66	14-28	0
Coton	17-31	1-3	13-21	34-60	<1
Maïs	8-13	1-4	24-32	55-62	<2
Canola	4,1	1,7	63	19-21	10

La distinction entre huile pour assaisonnement et huile pour friture repose pratiquement sur la stabilité des huiles à la chaleur. La norme Française pour l'utilisation en friture est de 3% d'acide linoléique, la teneur d'acide linoléique ne faisant pas l'objet de restriction. De ce fait, l'huile de colza ne peut être considérée comme l'huile de friture puisqu'elle contient 8 à 10% d'acide linoléique (C_{18:3}). L'instabilité de cet acide gras se traduit par son oxydation lors de la cuisson, ce qui dégage une odeur désagréable dite de poisson. En revanche ni l'huile de tournesol, ni l'huile d'arachide ne présente un tel inconvénient. Pourtant ces deux huiles, qui sont les huiles les plus consommées en tant qu'huiles de table ou de friture avec celle du maïs, sont loin d'avoir une composition idéale, pas plus pour l'assaisonnement que pour la friture. C'est ce qui ressort de l'état de l'art d'un brevet (EP0326198 A2) déposé en Europe en 1998 par la société « Procter & Gamble » visant à protéger une composition spécifique en acide gras d'une huile alimentaire de table et de cuisson.

La qualité des huiles alimentaires est en fait généralement examinée par rapport au degré d'insaturation des acides gras.

1.1. Acides gras saturés et mono-insaturés

Le brevet de « Procter & Gamble » mentionne notamment que les acides gras saturés tel que l'acide palmitique (C_{16:0}) et l'acide stéarique (C_{18:0}) augmentent le cholestérol plasmatique et donc le risque d'artériosclérose et des maladies du cœur. Cette relation entre acides gras saturés et risques cardiovasculaires est également mentionnée par JACOTOT (1994), lequel ajoute que ces acides gras seraient avantageusement remplacés par des acides gras mono-insaturés tel que l'acide oléique (C_{18:1}). Il semblerait en effet que cet acide gras diminue la

quantité de LDL-cholestérol (le mauvais cholestérol plasmatique) tandis qu'il facilite le transport du HDL-cholestérol (le bon cholestérol cellulaire) vers le foie. Ainsi, l'huile d'olive qui contient 65 à 70% d'acide oléique (KACHOURI et al. 1994) a un intérêt moindre parce qu'elle contient également 15 à 17% d'acide palmitique, ce que souligne le brevet déposé en 1988 par la société « Pioneer hi-bred international » (EP0566216 A2)

1.2. Acides gras poly-insaturés

Concernant les acides gras poly-insaturés tel que l'acide linoléique et l'acide linoléique, le brevet de la société « Procter & Gamble » indique qu'un régime contenant une teneur élevée en acide linoléique provoque chez des rats une augmentation de la fréquence et de la taille des tumeurs, et qu'il est lié à l'apparition des cellules cancéreuses chez les rats femelles en expérimentation. Rappelons que l'huile de tournesol classique contient environ 70% de cet acide gras et l'huile d'arachide 30% (MURPHY, 1993). Par contre et c'est relativement récent puisque de nombreuses études ont été initiées en 1989, l'acide linoléique est maintenant reconnu pour avoir des influences positives sur la santé en général et sur celle des enfants en particulier. L'acide linoléique est le précurseur des acide eicopentaénoïque (C_{20:5}) et décosahexaénoïque (C_{22:6}) qui jouent un rôle fondamental dans la production des prostaglandines, thromboxanes et leucotriènes (FOSSATI, 1994). Ces acides sont présents dans le lait maternel, ce qui a conduit à dire qu'ils pouvaient être au nombre des facteurs nutritionnels responsables des différences de développement intellectuel observées chez des enfants élevés ou non au lait maternel (CRASTES De PAULET, 1994).

Aussi, des laits maternisés destinés aux nourrissons prématurés ont été complétés par des huiles de poisson riche en C_{20:5} et C_{22:6}. Mais il semblerait que cela ait eu des conséquences dramatiques.

1.3. Acides gras « cis » et « trans »

Les acides gras insaturés sont des molécules de lipides contenant au moins une double liaison. Selon la structure de la double liaison présentée par la molécule, on distingue les acides gras « cis » (forme courbée) et les acides gras « trans » (forme rectiligne).

Dans la plupart des acides mono-insaturés (monoénoïques) des organismes supérieurs, la double liaison se situe entre les carbones 9 et 10. Pour les poly-insaturés (polyénoïques), une double liaison se trouve entre les carbones 9 et 10 et les autres entre le carbone 10 et le méthyl terminal de la chaîne. Dans la plupart des cas, ces doubles liaisons sont séparées par un groupe méthylène : -CH=CH-CH₂-CH=CH- ; seuls quelques rares acides gras des végétaux ont des doubles liaisons conjuguées ; -CH=CH-CH=CH-. La plupart de ces doubles liaisons ont une configuration « cis » ; un très petit nombre a une configuration « trans » (ROTHFIELD, 1971 ; BRETSCHER, 1973).

Les acides gras saturés et insaturés ont donc des conformations différentes. La conformation des premiers dont la chaîne hydrocarbonée est flexible, est très variable à cause de l'extrême liberté de rotation des simples liaisons.

Les acides gras insaturés présentent une ou plusieurs angulations rigides dues aux doubles liaisons. A l'état cristallin, la configuration « cis » des doubles liaisons produit un angle d'environ 30° C dans la chaîne aliphatique, tandis que la configuration « trans » ressemble à la forme étirée des chaînes saturées.

Le traitement de nombreuses huiles détruit une partie des acides gras « indispensables » ou les transforme en d'autres composés chimiques qui ne sont pas utiles à notre organisme. Ces composés sont appelés acides gras »trans «.

Dans le lait des ruminants, il y a bioconversion de l'acide vaccénique en acide conjugué chez l'homme.

Les huiles sont très sensibles à l'oxydation, la chaleur et à la lumière. Le chauffage en présence de certains catalyseurs permet le passage de la forme « cis » à la forme « trans » ; ainsi, l'acide oléique est aisément converti en acide élaïdique (C_{18:1} n-9 trans) au point de fusion plus élevé (13,4°C). L'acide élaïdique n'est pas un acide gras naturel ; il est cependant formé en quantité appréciable au cours de l'hydrogénation catalytique des huiles végétales liquides. C'est une étape dans la fabrication des graisses de cuisson solides et de la margarine. La plupart des lipides insaturés de notre alimentation se trouvent sous la forme « cis ».

Les acides gras « trans » (AGT) présents dans la plupart des aliments proviennent de trois sources principales :

- la transformation bactérienne des acides gras insaturés dans le rumen des ruminants tels que la vache et le mouton (ils passent alors dans la graisse, la viande et le lait du ruminant) ;
- l'hydrogénation industrielle ou solidification des huiles, afin de les rendre utilisables pour les pâtes à tartiner et les matières destinées à la pâtisserie ;
- le chauffage et la cuisson des huiles à haute température.

Les acides gras « trans » se comportent dans notre organisme comme s'ils étaient des acides gras saturés. Ils diminuent notre « bon » cholestérol et augmentent notre « mauvais ».

1.4. Acides gras indispensables

Des rats immatures ou sevrés, mis à un régime sans lipides, croissent mal, ont une peau squameuse, perdent leurs poils et finissent par mourir, montrant un tableau pathologique complexe. L'addition d'acide linoléique et arachidonique à leur alimentation prévient ces symptômes (HORTON, 1971 ; BERGSTRÖM et SAMUELSSON, 1968).

Les acides gras saturés et mono-insaturés n'ont aucun effet. On peut en conclure que les mammifères peuvent synthétiser les acides gras saturés ou mono-insaturés pas les poly-insaturés tel que l'acide linoléique ou l'acide γ -linoléique. Ces acides gras nécessaires à l'alimentation des mammifères, sont dits *indispensables*. Parmi ceux-ci, le plus abondant chez les mammifères est l'acide linoléique, qui représente jusqu' à 10 à 20% des acides gras des triacylglycérols et des phospholipides.

Les acides linoléique et γ -linoléique ne sont pas synthétisés par les mammifères qui les trouvent en abondance dans leur alimentation végétale. Chez les mammifères, l'acide linoléique est un précurseur obligatoire de l'acide arachidonique qui ne se rencontre pas chez les végétaux.

Les fonctions spécifiques des acides gras essentiels sont restées mystérieuses pendant de nombreuses années. Cependant une de leur fonction a été découverte : ils sont nécessaires à la synthèse des prostaglandines (BERGSTRÖM et SAMUELSSON, 1968), groupe d'acides gras se trouvant à l'état de traces et jouant un rôle hormonal et immunitaire dans de nombreux et importants phénomènes physiologiques.

1.5. Composition idéale de l'huile alimentaire

Le brevet « Procter & Gamble » (1989) revendique le mélange suivant : 60 à 92% d'acide oléique, 5 à 25 % de linoléique, 0 à 15% de linoléique et moins de 3% d'acides saturés. Le brevet de la société Pioneer (1988) porte sur des lignées de colza ayant la composition suivante : au moins 79% d'acide oléique, moins de 5% d'acide linoléique et moins de 2% d'acide érucique. Il est indiqué que cette composition est mieux adaptée à l'utilisation en

friture, car elles contiennent moins d'acide linoléique et qu'elle présente un intérêt diététique supérieur à celle de l'huile de canola : au moins 63% d'acide oléique, 19 à 21% d'acide linoléique, de 0 à 10% d'acide linoléique et moins de 7% d'acides gras saturés (Mc DONALD, 1995) puisque la teneur en acides poly-insaturés a été diminuée.

Cependant certains nutritionnistes précisent qu'il ne suffit pas que l'huile contienne un taux déterminé d'acides gras essentiels pour être idéale, mais qu'il faut également que ces acides gras soient facilement assimilables.

Chez le colza, les acides poly-insaturés se trouvent majoritairement en position interne sur le glycérol (ils sont en position externe chez le soja) et sont, de ce fait, mieux absorbés par l'organisme (BOUSTANI et al, 1987). C'est la raison pour laquelle la solution retenue par CRASTES De PAULET (1994) pour apporter de l'acide linoléique dans les laits maternisés pour nourrissons est d'ajouter de l'huile de colza et non pas de l'huile de soja. La proportion préconisée est de 2% d'acide linoléique avec un rapport acide linoléique / acide linoléique de 6.

CRASTES De PAULET conclut que « si la remarquable biodisponibilité de l'acide linoléique valorise l'huile de colza dans un contexte particulièrement sensible qu'est l'alimentation du prématuré, il ne peut qu'en être de même, à fortiori, lors de l'utilisation de cette huile dans l'alimentation courante ».

Sachant que les graisses d'origine animale, exceptées les huiles et graisses de poisson, sont très riches en acides gras saturés, il n'est effectivement pas souhaitable que l'huile de table et de friture en contienne une proportion importante. Finalement l'huile qui satisferait au mieux l'ensemble de ces impératifs serait une huile qui contiendrait moins de 5% d'acides saturés, 75 à 80% d'acide oléique, 10 à 15% de linoléique et 2 à 3% de linoléique, ces deux derniers acides gras devant être préférentiellement estérifiés en position interne du glycérol. Aucune huile actuellement commercialisée pure en tant qu'huile de table ou de cuisson ne présente une telle composition. Cependant les compositions en acides gras de nouvelles variétés de soja, de tournesol et de colza obtenues principalement par mutagenèse chimique, s'en rapprochent de plus en plus.

2. Huiles industrielles

Une grande variété d'acides gras peut être potentiellement utilisée dans l'industrie et devient actuellement la cible de nombreux programmes de recherche (BATTEY et al, 1989 ; EVRARD, 1993 ; PRINCEN et ROTHFUS, 1984 ; MURPHY, 1992)

L'acide laurique (C_{12:0}) est l'acide gras à moyenne chaîne le plus utilisé dans l'industrie et notamment pour la production de savons et de détergents.

Ce sont les huiles de palme, de palmiste ou de noix de coco (huile laurique) qui sont de loin les plus utilisées (42% des utilisations industrielles), tandis que le groupe des huiles de lin et de ricin représentent comme le groupe des huiles de colza, soja et tournesol environ 10% des utilisations industrielles (MORIN et al 1994). Le secteur industriel consomme de l'huile de colza à forte et à faible teneur en acide érucique.

L'huile de colza brute, biodégradable peut aussi être employée comme supports de produits phytosanitaires.

Les domaines d'utilisation sont variés (Tableau II). En fait, les exigences de ce secteur concernant les huiles végétales sont liées à deux phénomènes : la fluidité (d'autant plus importante qu'il y a plus de doubles liaisons) et la résistance à l'oxydation (d'autant plus forte que la proportion d'acides gras di et surtout tri-insaturés est faible). Ainsi, les acides gras mono-insaturés sont particulièrement appréciés car ils apportent la fluidité tout en étant

stables à haute température et de bonne valeur énergétique. Pour le sous secteur de la lipochimie, l'idéale serait de disposer d'huiles comportant presque exclusivement qu'un seul acide gras, ce qui simplifierait les processus industriels de fractionnement et diminuerait les coûts de production (RENARD et PELLETIER, 1994). Actuellement, l'huile de colza riche ou pauvre en acide érucique contient une proportion importante d'acides linoléique et linoléinique, ce qui est difficilement compatible avec certains usages industriels (comme celui des huiles pour moteur). Ces acides gras sont donc éliminés par traitement chimique. L'huile végétale, d'une manière générale, même si elle n'est pas précisément en adéquation avec les exigences industrielles, est une matière première renouvelable et présente une très bonne biodégradabilité (supérieure à 90%). Le contexte actuel de protection de l'environnement a conduit à la mise en place de réglementations de plus en plus strictes pour les industriels. Aussi, l'huile végétale est une matière de substitution des produits dérivés du pétrole qui intéresse les professionnels (BUREAU et MESSEAN, 1994), et qui les intéressera d'autant plus que les nouvelles variétés oléagineuses proposées auront des caractéristiques mieux adaptées à leur demande.

Il n'y a pas aujourd'hui une seule qualité d'huile de colza commercialisée, mais trois : une qualité industrielle à forte teneur en acide érucique et deux qualités mixtes (alimentaire et industrielle) à faible teneur en acide érucique et à forte teneur en acide linoléinique. Ce sont les seules compositions actuellement disponibles. Mais il existe des lignées dont les compositions sont radicalement différentes, soit parce que leur équilibre en acides gras C_{18} a été bouleversé, soit parce qu'elles présentent des proportions importantes d'acides gras qui ne sont pas naturellement synthétisés chez le *Brassica*. De plus il existe également des possibilités très importantes de création de nouveaux profils en acides gras grâce à des introductions de constructions génétiques dans le génome du colza. Les colza de demain pourront être composés presque exclusivement (> 90%) d'acide oléique ou érucique, être riches en acide laurique, ou stéarique, ou bien encore en acide pétrosélinique (isomère en $\Delta 6$ de l'acide oléique) ou γ -linoléinique. En effet, de nombreux gènes impliqués dans la biosynthèse des acides gras ont été clonés et séquencés chez le colza, le soja, le ricin, mais également chez d'autres espèces moins cultivées telle que le *Limnanthe* ou des espèces 'modèles' comme *Arabidopsis thaliana*. Ces gènes pourraient être utilisés dans des constructions particulières (promoteurs plus ou moins forts, d'expression spécifique dans la graine, sens ou anti-sens...) pour modifier la teneur en huile ou la composition en acides gras de l'huile de colza. Cependant ces gènes sont très souvent sous le coup d'un ou plusieurs brevets déposés soit en Europe, soit aux Etats Unis. Le dépôt des brevets dans le secteur végétal a pris une ampleur considérable dans les 20 dernières années, ampleur qui s'est fortement accentuée depuis 10 ans. C'est une des composantes de la création variétale que les sélectionneurs doivent désormais gérer. Cela montre combien l'enjeu des nouveaux débouchés des plantes oléagineuses est important. D'ores et déjà la Société Calgène (CALGENE, 1995) expérimente des colzas riches en acide laurique obtenus par intégration d'une construction comportant un gène de thioestérase (Brevet WO 9220236) et possède des lignées de colza riche en acide stéarique obtenus par intégration d'une construction anti-sens du gène de la $\Delta 9$ désaturase (Brevet WO 9413814). La production d'acide pétrosélinique par les plantes a été brevetée par le ministère de l'agriculture anglais (Brevet WO 9401565) et celle de δ -linoléinique par la Société Rhône Poulenc (WO 9306712). Il existe également des brevets sur les $\Delta 12$, $\Delta 15$ désaturases. Ces quelques exemples montrent le dynamisme de la recherche dans ce secteur, ce qui se traduira nécessairement par des adaptations de la création variétale.

Tableau II : Domaines d'utilisation de l'huile végétale
(RENARD et PELLETIER, 1994 ; MORIN et DRONNE, 1995)

Savonnerie
Secteur des tensioactifs
Adoucissant
Emulsionnant
Produits mouillants
Détergents
Produits anti-mousses
Produits dispersants
Secteur des lubrifiants
Fluides hydrauliques
Huiles de coupe
Autres secteurs
Biocarburants
Cosmétiques
Peintures et vernis
Nylons
Pesticides
Caoutchouc
Encres

VI. TRAVAUX ANTERIEURS SUR LES CUCURBITACEES

Des travaux sur les cucurbitacées du Congo ont réellement débuté en 1986. Les études ont été réalisées sur quatre espèces de cucurbitacées (KISSOTOKENE-NTINO, 1987 ; SILOU et al, 1990). La teneur en huile des quatre espèces étudiées varie entre 40 et 60%, résultats en accord avec d'autres déjà publiés (VASCONCELLOS et al, 1980).

L'analyse de certains paramètres chimiques tels que l'indice d'iode et la teneur en insaponifiables ont permis de conclure que les huiles de graines de quatre espèces étudiées sont caractéristiques des huiles fortement insaturées (indice d'iode de 110 à 150) ; le taux d'insaponifiables compris de 1 à 4% atteste leur richesse en composés terpéniques et stéroliques (KISSOTOKENE-NTINO, 1987).

L'analyse des acides gras, montre la présence de quatre acides gras majoritaires : palmitique, stéarique, oléique et linoléique. Le même profil a été observé par l'étude de la composition globale et caractéristique des huiles extraites de cinq espèces de cucurbitacées du Niger (SILOU et al, 1999).

Une étude comparative de la composition globale des graines et de la composition en acides gras des lipides extraits de *Citrullus lanatus*, *Cucurbita pepo* et de *Lagenaria siceraria* du Congo et du Nigéria a été réalisée (SILOU et al, 1990 ; GIRGIS et TURNER, 1972 ;

BADIFU, 1991 ; ODERINDE et al, 1990 ; OMOTI et OKIY, 1987). Il ressort de cette étude que l'acide gras prédominant est l'acide linoléique.

KINKELA et BEZARD (1993a ; 1997) ont constaté sur un échantillon de *Citrullus lanatus* du Congo que les teneurs élevées d'acide linoléique devraient vraisemblablement conduire à une fréquence élevée de ce même acide en position 2 des triacylglycérols. Selon ces auteurs, pour cette huile les triacylglycérols majeurs sont LLL (21,0%), PLL (18,8%), OLO (12,8%), PLO et SLO (12,7%). Ces résultats ont des conséquences importantes sur le plan nutritionnel puisque c'est sous la forme 2- mono-acylglycérol que les AG sont préférentiellement absorbés par les cellules de la muqueuse intestinale.

VII- CONCLUSION

Cette revue bibliographique présente un grand intérêt pour la compréhension de notre travail. En effet, les cucurbitacées sont cultivées dans un but nutritionnel et utilitaire. Nous nous sommes intéressés à l'aspect nutritionnel car les graines des cucurbitacées rentrent dans l'alimentation humaine.

Ainsi notre travail concerne l'étude des lipides de cinq cucurbitacées d'intérêt alimentaire au Congo-Brazzaville. L'étude des potentialités de la technologie des cucurbitacées et du nutriment sera donc abordée afin de dégager leur importance dans l'alimentation humaine.

CHAPITRE 2

CARACTERISTIQUES PHYSICO-CHIMIQUES ET POTENTIALITES TECHNOLOGIQUES DES HUILES DES CUCURBITACEES ALIMENTAIRES DU CONGO-BRAZZAVILLE

I. INTRODUCTION

Les substances végétales dont on peut extraire de l'huile (lipides ou corps gras) sont nombreuses et variées. En fait, toutes les graines et tous les fruits contiennent de l'huile. On réserve cependant l'appellation d'**oléagineux** aux plantes qui servent à produire artisanalement ou industriellement de l'huile ou des beurres, avec au moins 10-15 % de rendement par rapport à la matière fraîche. L'huile peut être consommée directement ou entrer dans la fabrication des produits dérivés (savon, cosmétiques, médicaments...). Les sous-produits de l'extraction (tourteaux) sont presque toujours utilisés et contribuent largement à la rentabilité de la transformation de la matière première.

En milieu urbain, les huiles industrielles ont conquis le marché. Dans les campagnes, une part importante des oléagineux est transformée et consommée sur le lieu de production. Le plus souvent, cette transformation a lieu au moyen de méthodes traditionnelles qui donnent des produits ayant une odeur et un goût bien particuliers, fortement appréciés des consommateurs.

Les lipides, qu'ils soient "apparents" comme dans le beurre et les huiles, ou "dissimulés" comme dans le lait, le fromage, la viande, les œufs, les fruits ou les graines jouent un rôle important dans l'alimentation ; rôle nutritionnel tout d'abord, grâce à l'apport énergétique (8,5 cal/g) d'acides gras essentiels et de vitamines liposolubles, rôle organoleptique ensuite par leur contribution à la texture et à la sapidité des aliments ainsi par leurs emplois culinaires.

Les **corps gras**, terme plus englobant, admet plusieurs définitions.

L'expérience quotidienne établit que les corps gras sont des substances qui se présentent soit à l'état solide (graisse) soit à l'état fluide (huile) et qui laissent sur le papier une tâche persistante, le rendant semi transparent.

Pour le chimiste, les corps gras sont des composés de carbone, hydrogénés et oxygénés, qui, par combustion libèrent une grande quantité de chaleur. Ce sont des combinaisons complexes d'un trialcool (glycérol) et de divers acides particuliers, appelés acides gras.

Pour le physiologiste, les corps gras ou lipides forment avec les protides (protéines) et les glucides (saccharides) les trois grandes classes de substances organiques que l'on rencontre chez les êtres vivants. Les lipides sont donc des constituants des êtres vivants ; ils sont fournis à la fois par le règne végétal (huiles et graisses végétales) et par le règne animal (huiles et graisses animales).

L'appellation corps gras renvoie plus à la technologie des huiles et graisses alors que celle de lipides à leur biochimie.

L'industrie des corps gras se consacre à l'obtention des huiles et des graisses à partir des plantes oléagineuses ainsi qu'à la transformation de ces premières (lipochimie). Les huiles et graisses végétales sont obtenues principalement par pression ou par extraction aux solvants.

stérols, tocophérols, sucres, etc.), certains métaux lourds (Fe, Cu etc.) et des traces de pesticides provenant des cultures.

Le raffinage, l'hydrogénation, le fractionnement et l'interestérisation constituent les différentes opérations industrielles de l'industrie des corps gras.

De ce bref survol de l'industrie des corps gras, il apparaît que l'étude des caractéristiques physico-chimiques et de la détermination de la composition chimique des huiles brutes permet une évaluation de leurs potentialités technologiques.

C'est dans ce contexte que nous inscrivons l'étude des huiles des cucurbitacées alimentaires du Congo-Brazzaville.

II. MATERIEL ET METHODES

1. Matériel végétal

L'étude porte sur les graines de 4 espèces de cucurbitacées : *Citrullus lanatus*, *Cucurbita moschata*, *Cucurbita pepo* et *Lagenaria siceraria*.

1.1. *Citrullus lanatus*

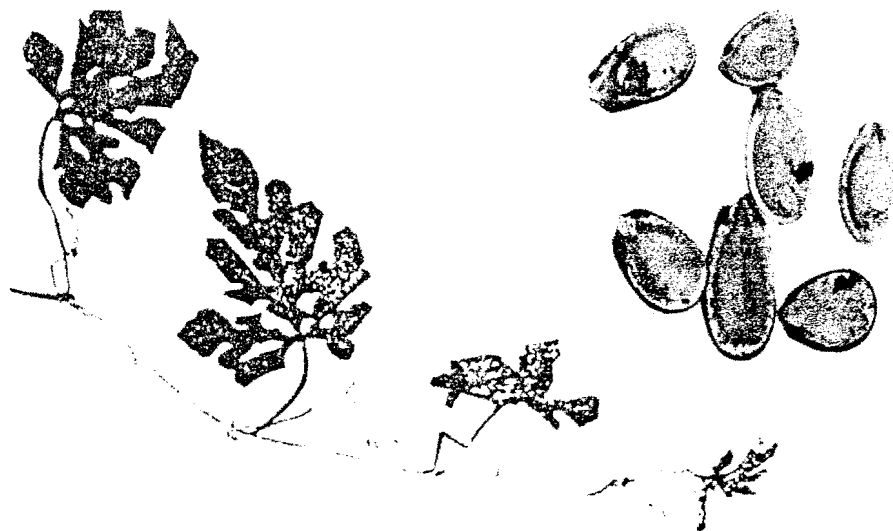


Figure 20 : *Citrullus lanatus*

Citrullus lanatus est une plante herbacée annuelle, monoïque, à tige anguleuse avec sillons longitudinaux, rampante, couverte de poils laineux blanchâtres.

Les feuilles sont pétiolées (le pétiole est long de 6-12 cm). Le limbe est ovale. Il est vert clair, les deux faces recouvertes de poils. Les vrilles sont bifides, pubescentes à leurs bases, assez

robustes mais courtes. Les fleurs mâle et femelle de couleur jaune sont solitaires. Les pétales sont foliacés, ovales, obtus au sommet et trinerves. Les nervures portent à la face extérieure des poils longs et souples. Les étamines sont insérées au fond de la coupe florale.

Les fruits sont globuleux, de couleur verte jaunâtre en maturité. La pulpe est douce et blanchâtre.

Les graines sont brunes, aplaties, petites et dispersées dans la pulpe (mésocarpe). Un fruit peut contenir 100 à 200 graines.

L'espèce est répandue dans toutes les zones tropicales, équatoriales du globe et est probablement originaire des zones subdésertiques de l'Afrique Australe (KERAUDREN, 1967).

Au Congo, cette espèce est cultivée pour ses graines qui rentrent dans l'alimentation humaine.

Nom français : Melon à pistache

Noms vernaculaires : Ya kala (laari), Ntété za batéké ou Ntété za bamiroir (beembé), Bibéré (téké)

1.2. *Cucurbita moschata*



Figure 21 : *Cucurbita moschata*

Cucurbita moschata est une plante herbacée monoïque, rampante, à tige molle de section circulaire.

Les feuilles sont pétiolées (jusqu'à 20 cm) ; le limbe est entier et parcheminé, de taille variable pouvant atteindre 20 cm de longueur : elles sont lobées.

Les vrilles multifides portent quelques poils à la base de la partie rectiligne.

Les fleurs sont solitaires, synanthérées ; la corolle jaune, à lobes soudés à leur base sur 1/3 de leur longueur.

Les étamines sont groupées au centre de leur périanthe. Le pédoncule fructifère est épais. Les fruits sont ovoïdes ou de forme variée. La coloration varie d'un fruit à un autre pour une même espèce : la pulpe fibreuse renferme de nombreuses graines qui sont nettement marginées sur les bords.

Les feuilles de cette espèce, sont utilisées dans nos ménages comme légume. Cette espèce est cultivée pour ses graines qui rentrent dans l'alimentation humaine.

Nom français : Citrouille musquée

Noms vernaculaires : Nsouéki (laari), Bikototo (beembé)

1.3. *Cucurbita pepo*



Figure 22: *Cucurbita pepo*

Cucurbita pepo est une plante herbacée, rampante, monoïque. La tige couverte de poils présente des entre-nœuds courts.

Les feuilles sont longuement pétiolées, avec des poils assez raides. Le limbe un peu coriace, de taille variable est long et large, à lobes aigus. Les limbes sont hérissés des poils sur les deux faces, à bords dentés. Les vrilles sont multifides.

Les fleurs mâles à pédicelle long sont solitaires. Les sépales sont petits et la corolle jaune est campanulée. La corolle est longue de 5 cm et large de 3 cm environ, lobe aigu.

Les fleurs femelles également solitaires portent un ovaire de forme variable, renfermant de nombreux ovules longitudinaux. Le pédoncule fructifère dur, anguleux n'est pas élargi à son insertion sur le fruit.

Le fruit de forme et de taille variables contient une pulpe fibreuse renfermant de nombreuses graines largement ovales. Le fruit est comestible : elle est cultivée par les paysans pour ses graines qui sont très appréciées.

L'espèce est largement cultivée à la surface du globe : seules les régions polaires s'opposent à sa culture (KERAUDREN, 1967). Cette espèce contient de nombreuses variétés.

Nom français : Citrouille courge

Noms vernaculaires : Lengué (laari), Nsoucké ou Malengué (beembé), Bipara (téké)

1.4. *Lagenaria siceraria*



Figure 23: *Lagenaria siceraria*

Lagenaria siceraria est une plante herbacée annuelle, monoïque grimpante ou rampante, à tige anguleuse assez épaisse et recouverte de poils souples et fins.

Les feuilles longuement pétiolées (pétiole épais long de 5-20 cm). Les pétioles sont cylindriques et souvent creusés en dessous.

Le limbe entier est parfois légèrement trilobé, obtus ou aigu au sommet, denté sur les bords. Les deux faces du limbe sont recouvertes d'une pubescence fine, courte, plus dense à la face inférieure.

Les vrilles d'abord rectilignes, puis bifides à branche subégale, sont enroulées et pubescentes dans leur partie inférieure.

Les fleurs mâles et femelles sont solitaires à pétales blancs. L'ovaire est ovoïde ou cylindrique. Les fruits de taille variable, glabres à maturité sont d'abord verts puis deviennent blanchâtres ou jaunâtres. Les graines de couleur blanche sont nombreuses et aplaties.

Lagenaria siceraria est largement répandu dans toutes les zones chaudes ou tempérées du monde (KERAUDREN, 1967). Son fruit qui peut se présenter sous diverses formes est utilisé par la population locale comme récipient.

Au Congo, plusieurs espèces poussent naturellement, quelques unes sont cultivées.

Nom français : Calebasse

Noms vernaculaires : Nsiya (laari), Nsiya ou Ntété za babinda ou Ntété ou Ntété za mabinda (beembé), Ntsiya ou Souhou-souhou (téké)

2. Extraction des huiles

Les graines séchées, broyées et pesées (masse m_1) sont introduites dans une cartouche d'un soxhlet.

Après extraction pendant 6 heures (extraction par épuisement) avec de l'éther de pétrole, 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 est donnée par :

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

3. Produits chimiques

Les réactifs et les solutions suivants, pour analyse, sont conformes aux exigences des normes UICPA (1979) : sulfate de sodium (Na_2SO_4) ; hydroxyde de potassium (KOH) ; acide chlorhydrique (HCl) ; iodure de potassium (KI) ; thiosulfate de sodium ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5, 5\text{H}_2\text{O}$) ; réactif de WIJS ; indicateur coloré (phénolphtaléine).

4. Détermination des caractéristiques physico-chimiques et des indices chimiques des huiles

4.1. Masse volumique et densité

La masse volumique d'une substance est le quotient de sa masse (en gramme) par son volume (en millilitre).

Elle a été déterminée à une température de 29°C (température ambiante) au moyen d'un pycnomètre à partir de l'expression suivante :

$$\rho = (m_1 - m_0) / V$$

m_0 = masse, en grammes, du pycnomètre vide ;

m_1 = masse, en grammes, du pycnomètre rempli d'huile ;

V = volume du pycnomètre

La densité, c'est le rapport entre la masse d'un corps et la masse du même volume d'eau pure à 4°C. La densité est aussi égale au rapport entre la masse volumique du corps et la masse volumique d'eau. La densité est une grandeur sans unités.

$$d = (m_1 - m_0) / (m_2 - m_0)$$

m_2 = masse d'eau

Le pycnomètre a été étalonné selon les données du HANDBOOK (1968) relatives à l'eau distillée.

4.2. Indice de réfraction

L'indice de réfraction d'une substance est le rapport entre la vitesse de la lumière c à une longueur d'onde définie dans le vide et sa vitesse v dans la substance.

$n = c/v$, n est le nombre sans dimension et supérieur à 1.

L'indice de réfraction est caractéristique du groupe auquel appartient le corps gras. Il a été mesuré à l'aide d'un réfractomètre de type ABBE selon la méthode de IUPAC (1979). Les prismes sont lavés à l'acétone, puis séchés avec du coton. Le thermostat porte la température ambiante (celle du laboratoire). Deux gouttes du corps gras sont déposées sur le prisme. La lecture de l'indice est effectuée sur la règle de la mire. L'indice de réfraction est donné par la formule :

$$n = \text{chiffre lu} - (40 - T^\circ \text{ de lecture}) \times 0,00035$$

4.3. Viscosité

La viscosité est la résistance qu'une couche fluide offre à l'écoulement d'une couche contiguë. On assimile généralement la viscosité au coefficient de viscosité qui est la force nécessaire pour obtenir une différence de vitesse d'une unité entre deux plans parallèles du fluide ayant une surface unité et une distance de 1 cm.

$$\eta = A_0 \exp(E/RT)$$

A_0 = Constante

E = Energie mise en jeu dans le processus d'écoulement élémentaire

\exp = exponentiel

R = Constante des gaz parfaits

T = Température

4.4. Indice d'acide

Les corps gras en s'hydrolysant donnent naissance à des acides gras libres et du glycérol. La mesure de l'acidité libre d'un corps gras est l'un des meilleurs moyens de déterminer son altération par hydrolyse. L'indice d'acide est le nombre de milligrammes de potasse nécessaire pour neutraliser l'acidité de 1 gramme de corps gras. L'indice d'acide sera déterminé selon la méthode IUPAC (1979).

$$I_A = (M_{\text{KOH}} \times V_E \times 0,1)/m$$

M_{KOH} = Masse molaire de KOH

V_E = Volume de potasse alcoolique nécessaire pour neutraliser l'essai (en ml).

m = Prise d'essai (en gramme).

0,1 = Normalité de la potasse alcoolique

4.5. Indice d'iode

L'indice d'iode exprime le nombre de grammes d'iode fixé par 100 grammes de matières grasses ; les liaisons éthyléniques, en particulier celles des acides gras, fixent les halogènes.

Cette réaction peut être utilisée pour déterminer qualitativement l'insaturation globale des chaînes grasses. La méthode internationale IUPAC (1979) au réactif de Wijs servira pour cette analyse.

$$I_I = (12,7 \cdot C \cdot (V_T - V_E))/m$$

V_T = Volume de thiosulfate versé dans le témoin (en ml).

V_E = Volume de thiosulfate versé dans l'essai (en ml).

C = Concentration du thiosulfate en moles / litre.

m = Prise d'essai en grammes.

4.6. Indice de saponification

L'indice de saponification représente le nombre de milligrammes de potasse nécessaire pour saponifier les acides gras combinés et neutraliser les acides gras libres d'un gramme de corps gras. La méthode IUPAC (1979) a été utilisée pour la détermination.

La réaction se fera à chaud en présence de la potasse alcoolique en excès.

$$I_S \text{ (mg KOH/g)} = ((M_{\text{KOH}} \times (V_T - V_E) \times 0,5)/m$$

V_E = Volume d'acide chlorhydrique nécessaire pour doser l'essai (ml).

V_T = Volume d'acide chlorhydrique pour doser le témoin (ml).

m = Prise d'essai (en grammes).

0,5 = Normalité de l'acide chlorhydrique

4.7. Teneur en insaponifiables

La fraction insaponifiable représente l'ensemble des substances qui ne réagissent pas avec les alcalis pour donner du savon et qui, après saponification, restent solubles dans les solvants des corps gras (hexane, éther éthylique). La norme Française T 60 205 (WOLF, 1968) par extraction à l'éther éthylique a été utilisée pour la détermination.

La teneur en insaponifiables est le pourcentage des produits présents dans la substance à analyser qui, après saponification de celle-ci par hydrolyse alcaline et extraction par un solvant spécifié, restent non volatils dans des conditions précises.

$$\text{Insaponifiable (\%)} = (100 \times m_1)/m_2, \text{ avec}$$

m_1 = Masse en grammes du résidu.

m_2 = Prise d'essai en grammes.

5. Détermination de la composition en acides gras

Après transestérification dans un bain marie à 90°C pendant 10 min avec BF_3 dans du méthanol, les esters méthyliques ont été analysés par chromatographie en phase gazeuse sur un appareil DELSI 3000 équipé d'un détecteur FID, d'un injecteur évaporateur et d'une colonne capillaire de 25 cm de long de 0,32 mm de diamètre et de 0,25 μm d'épaisseur, imprégnée de carbowax 20 M. La température du four est de 190°C, celle de l'injecteur de 250°C, celle du détecteur de 250°C ; le gaz vecteur est l'hélium, à la pression de 0,7 bar.

6. Etude de la stabilité thermique des huiles

Une récente mise au point présente de façon critique des méthodes actuellement disponibles pour l'analyse de l'oxydation lipidique (COMBE, 1996).

En vue de déterminer dans des délais raisonnables les seuils d'oxydation des huiles, nous avons utilisé la technique d'accélération de l'oxydation par chauffage à l'étuve et les produits de la réaction ont été analysés par les méthodes normalisées (AFNOR, 1981 ; IUPAC, 1979) présentées plus haut.

Deux espèces ont été étudiées *Citrullus lanatus* et *Cucurbita pepo*.

Un échantillon de 150 g d'huile contenue dans des ballons de 250 ml a été chauffé à 170°C dans un bain d'huile pendant 30 minutes, deux fois par jour et pendant 5 jours ; soit 10 chauffages de 30 minutes chacun.

Après chaque chauffage, 10ml d'huile ont été prélevés pour analyse.

7. Essai d'optimisation de l'extraction au soxhlet

La quantité d'huile extraite d'un échantillon dépend de différents paramètres, certains sont liés au matériel végétal d'autres au procédé d'extraction.

Pour optimiser le rendement de l'extraction des huiles des graines des cucurbitacées, nous avons considéré les facteurs suivants:

- la durée d'extraction
- la nature du solvant d'extraction
- le rapport : masse des graines / solvant.

Le mode opératoire utilisé est celui déjà décrit au point 2 du présent chapitre.

III. RESULTATS ET DISCUSSIONS

1. Teneur en huile

Les résultats consignés dans le tableau III donnent la teneur en huile des graines étudiées

Tableau III : Teneur en huile des graines de 4 cucurbitacées étudiées

Espèces	Teneur en huile (en %)
<i>Citrullus lanatus</i>	45,7
<i>Cucurbita moschata</i>	55,0
<i>Cucurbita pepo</i>	53,9
<i>Lagenaria siceraria</i>	42,5

On constate que la teneur en huile des graines de ces quatre espèces varie entre 42 et 55%. Ces résultats sont en accord avec les résultats déjà publiés dans la littérature (tableau IV)

Comparées à d'autres espèces oléagineuses, les graines de cucurbitacées ont une teneur en huile de même ordre que l'arachide, le sésame, le tournesol et le coprah sec, tandis qu'elles dépassent de loin le coton, le soja (tableau V), ce qui les place parmi les meilleurs oléagineux du monde.

Tableau IV : Teneur en huile des graines de cucurbitacées de différentes origines, étudiées dans la littérature.

Espèces	Origine	Teneur en huile (%)	Référence
<i>Citrullus lanatus</i>	Congo -Brazzaville	37,7	Silou et al. 1990
	Niger	18,3	Silou et al. 1999
	Nigeria	46,5	Oderinde et al. 1990
<i>Cucurbita moschata</i>	Cameroun	50,8	Achu et al., 2005
	Congo-Brazzaville	42,5	Silou et al. 1990
	Erythré	35,0	Younis et al., 2000
	Niger	33,7	Silou et al. 1999
<i>Lagenaria siceraria</i>	Cameroun	40,4	Silou et al. 1990
		54,1	Achu et al., 2005
	Congo-Brazzaville	24,7	Silou et al. 1990
		55,3	Bintoungui (2005)
		38,5	Nakavoua (2005)
	Niger	9,8	Silou et al 1999
		31,1	Bintoungui (2005)
	Nigeria	33,4	Badifu et al. 1991
34,2		Idem	
38,0		Oderinde et al. 1990	
<i>Cucumis sativus</i>	Cameroun	44,2	Silou, non publiés (2005)
		53,6	Achu et al., 2005
<i>Cucumeropsis manii</i>	Cameroun	36,1	Silou, non publiés (2005)
		44,9	Achu et al, 2005
<i>Cucurbita maxima</i>	Cameroun	49,1	Silou, non publiés (2005)

Tableau V: Teneur en huile de quelques oléagineux courants (AUTRET M., 1984)

Espèces	Teneur en huile (en %)
Soja	18
Arachide	46 – 52
Coton	20
Sésame	50
Tournesol	40
Coprah sec	55
Palme	

2. Caractéristiques physico-chimiques et indices chimiques des huiles

Le tableau VI regroupe les caractéristiques physico-chimiques et indices chimiques des huiles.

Tableau VI : Caractéristiques générales des huiles extraites de quatre espèces de cucurbitacées du Congo

Espèces	Densité à 25°C ou ρ	Indice de réfraction à 27°C	Viscosité en cSt à 30°C	Indice d'acide	Indice d'iode	Indice de saponification	Teneur en insaponifiables (%)
<i>Citrullus lanatus</i>	0,9149	1,4715	41,38	2,23	126,8	181,3	2,20
<i>Cucurbita moschata</i>	0,8693	1,4589	46,60	2,64	138,8	179,7	1,42
<i>Cucurbita pepo</i>	0,8926	1,4665	55,35	1,09	115,0	181,8	1,90
<i>Lagenaria siceraria</i>	0,9116	1,4725	45,82	0,906	157,7	178,0	3,90

cSt = centi stockes

2.1 .Masse volumique (ρ)

Sauf pour *Cucurbita moschata*, la masse volumique varie très peu d'une espèce à une autre avec des valeurs comprises entre 0,8693 et 0,9149. Ce résultat est en parfait accord avec ceux déjà publiés (OYENUGA et al, 1975 ; ADRIAENS, 1951 ; KABELE NGIEFU et al, 1982 ; VASCOCELLOS et al, 1980).

2.2. Indice de réfraction

Pour les quatre espèces, l'indice de réfraction, mesuré à 27°C varie très peu d'une espèce à une autre (tableau VI).

Pour chaque espèce, il diminue faiblement lorsque la température augmente (tableau VII).

Tableau VII : Variation de l'indice de réfraction des huiles de cucurbitacées avec la température

Température(°C)	27	44	60
Espèces			
<i>Citrullus lanatus</i>	1,4715	1,4652	1,4615
<i>Cucurbita moschata</i>	1,4589	1,4589	1,4515
<i>Cucurbita pepo</i>	1,4665	1,4620	1,4565
<i>Lagenaria siceraria</i>	1,4725	1,6650	1,4612

2.3. Viscosité (η)

A 30°C, la viscosité de ces quatre huiles varie entre 41 et 55 (constante), l'huile de *Cucurbita pepo* a la valeur la plus grande. C'est le moins fluide de toutes.

Le tableau VIII permet de situer, sur le plan physique, les huiles des cucurbitacées parmi les principaux groupes d'huiles.

Tableau VIII : Propriétés physico-chimiques de quelques huiles végétales (ROSOANANTOANDRO, 1986)

Caractéristiques	Huile (type/nom)					
	Laurique	Palmitique	Oléique	Siccative		*Linoléique
	Coprah	Palme	Colza	Lin	Tung	<i>Cucurbita pepo</i>
Densité à 20°C	0,907 – 0,909	0,897 – 0,900	0,913 – 0,930	0,927 – 0,930	0,938 – 0,940	0,8926
Indice de réfraction à 25°C	1,448 – 1,458	1,454 – 1,458	1,480 – 1,481	1,480 – 1,481	1,516 – 1,520	1,4665
Plage de fusion (°C)	23 – 30	18	-10	-25 à -20	5	-
Indice d'iode	5 – 9	45 – 58	97 – 108	170 – 202	160 – 175	115
Insaponifiables	0,2 – 0,4	0,5 – 1,2	0,5 – 1,5	0,5 – 1,3	1	1,9

* Nos résultats (Densité à 25°C)

Selon leur composition en acides gras et leurs propriétés physico-chimiques, les huiles se répartissent en cinq (5) catégories :

- type laurique : ces huiles contiennent principalement les acides laurique et myristique. Ce sont des huiles saturées (huiles de coprah et de palmiste).

- type palmitique stéarique : ces huiles contiennent plus de 25% d'acide palmitique (huile de palme) ou stéarique (beurre de cacao) et sont solides à la température ambiante à cause de leur faible teneur en acides gras insaturés. Ces huiles sont peu sensibles à l'oxydation.

- type oléique : plus répandues, les huiles de type oléique contiennent peu d'acides polyinsaturés, linoléique et linoléinique (huiles d'olive, de colza et d'arachide). Ce sont des huiles de friture et d'assaisonnement.

- type linoléique ou semisiccative : elles sont très fluides et possèdent une certaine aptitude à la polymérisation, à cause de la présence du système diénique (huiles de coton, de maïs, de soja, de tournesol).

- type tri-insaturé ou siccative : ces huiles contiennent des acides gras di et tri-insaturés possédant parfois plus de 18 atomes de carbone telles que les huiles de lin, tung et moutarde. Leurs teneurs élevées en acide linoléinique leur confèrent une bonne aptitude à la polymérisation et les rendent très facilement oxydables.

2.4. Indice d'acide (I.A.)

Les espèces *Citrullus lanatus* et *Cucurbita moschata* donnent des huiles deux fois plus acides que les espèces *Cucurbita pepo* et *Lagenaria siceraria*. Toutefois avec un indice d'acide maximum de 2,6 nous avons des huiles brutes acides.

2.5. Indice de saponification (I.S.)

L'indice de saponification est de l'ordre de 180 pour les quatre espèces ; ce résultat est en accord avec les données de la littérature qui indique une fourchette de 180-200 pour l'indice de saponification des huiles de graines de cucurbitacées.

2.6. Indice d'iode (I. I.)

Les valeurs de l'indice d'iode (de 110 à 150) sont caractéristiques des huiles fortement insaturées ; ceci est confirmé par l'analyse des acides gras. Le tableau IX montre que l'huile de LS a un pourcentage d'insaturation plus élevée que les autres cucurbitacées étudiées. Le CL et le CM ont un taux d'insaturation presque identique.

CP « CL ~ CM « LS

2.7. Teneur en insaponifiables

La teneur en insaponifiables compris entre 1 et 4% atteste la richesse de ces huiles en composés terpéniques et stéroliques.

3. Détermination de la composition en acides gras

Les figures 24 à 27 donnent les chromatogrammes des esters méthyliques d'acides gras des échantillons d'huile des cucurbitacées considérées.

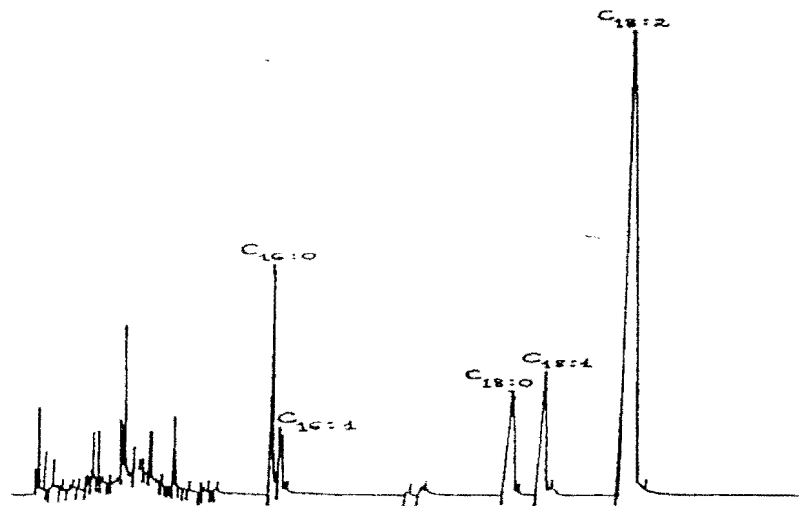


Figure 24: Chromatogramme des esters méthyliques d'acides gras de l'huile de graines de *Citrullus lanatus*

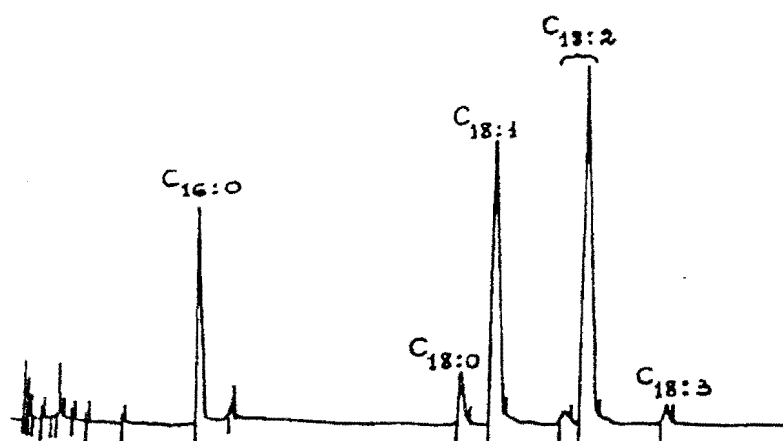


Figure 25: Chromatogramme des esters méthyliques d'acides gras de l'huile de graines de *Cucurbita moschata*

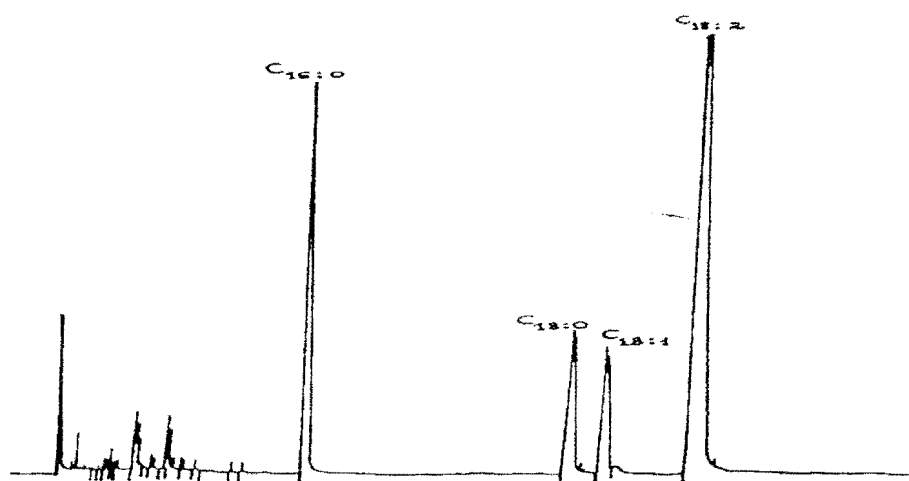


Figure 26 : Chromatogramme des esters méthyliques d'acides gras de l'huile de graines de *Cucurbita pepo*.

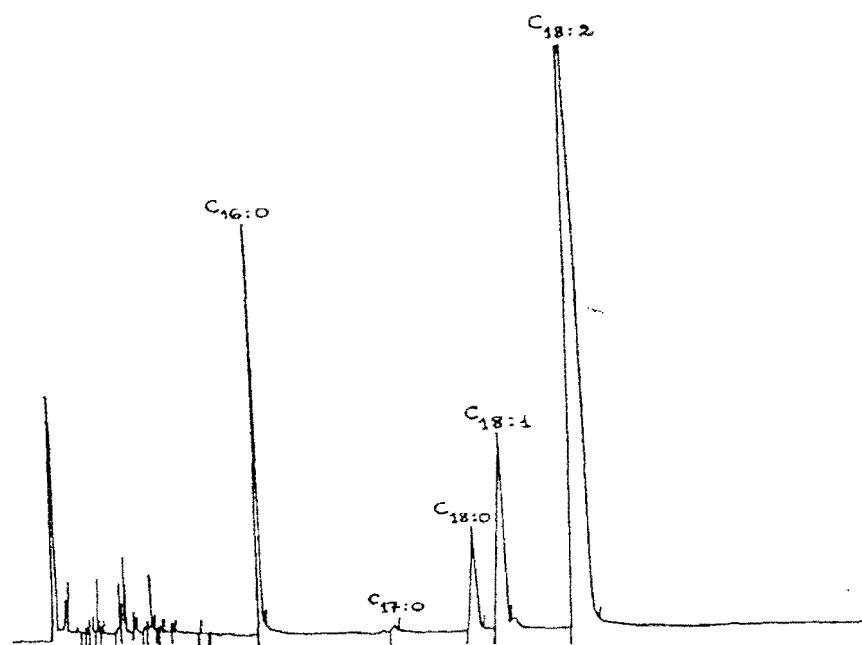


Figure 27 : Chromatogramme des esters méthyliques d'acides gras de l'huile de graines de *Lagenaria siceraria*.

La plupart des acides gras détectés sont courants (tableau IX).

Tableau IX : Composition en acides gras totaux de quatre espèces de cucurbitacées du Congo.

Espèces	<i>Citrullus lanatus</i>	<i>Cucurbita moschata</i>	<i>Cucurbita pepo</i>	<i>Lagenaria siceraria</i>
Acides gras				
C _{16:0}	10,3	12,3	13,7	11,0
C _{16:1}	3,7	-	-	-
C _{17:0}	-	-	-	0,3
C _{18:0}	9,3	6,0	10,2	6,0
C _{18:1}	10,7	31,8	9,1	10,2
C _{18:2}	66,0	47,4	67,0	72,5
C _{18:3}	-	2,5	-	-
R	4,1	4,5	3,2	4,8

$$R = \% (\text{acides gras insaturés}) / \% (\text{saturés})$$

Tableau X : Composition en acides gras totaux des espèces de Cucurbitacées étudiées dans la littérature

Espèces	Origine	C _{16:0}	C _{18:0}	C _{18:1}	C _{18:2}	C _{18:3}	Référence
<i>Citrullus lanatus</i>	Congo-Brazzaville	10,3	9,3	10,7	66,0	-	Silou et al. 1990
	Niger	18,3	11,3	14,4	60,6	0,5	Silou et al. 1999
	Nigeria	11,0	6,6	24,8	57,6	-	Oderinde et al. 1990
<i>Cucurbita moschata</i>	Cameroun	18,1	9,1	14,3	58,1	0,5	Silou LETIAM
<i>Cucurbita pepo</i>	Congo - Brazzaville	13,7	10,2	9,1	67,0	-	Silou et al. 1990
	Erythrée	13,3	8,0	29,0	47,0	-	Younis et al. 2000
	Niger	17,8	9,4	40,4	31,4	-	Silou et al. 1999
<i>Lagenaria siceraria</i>	Cameroun	13,6	5,2	40,5	39,8	1,0	Bintoungui (2005)
	Congo - Brazzaville	11,0	6,0	10,2	72,5	-	Silou et al. 1990
		13,4	5,4	10,4	69,9	0,9	Bintoungui (2005)
		12,0	6,6	7,0	77,0	0,4	Nakavoua (2005)
	Niger	11,3	8,0	12,5	56,7	0,6	Silou et al. 1999 Bintoungui (2005)
	Nigeria	13,1	5,2	13,6	66,6	-	Badifu et al. 1991
12,8		4,9	7,1	73,3	-	Idem	
16,6		4,6	-	72,2	0,6	Oderinde et al. 1990	
<i>Cucumis melo</i>	Niger	11,3	8,0	12,5	67,7	0,6	Silou et al. 1999
<i>Cucumis multiflorus</i>	Niger	13,1	11,3	16,2	56,7	-	Silou et al. 1999
<i>Cucumis satini</i>	Cameroun	11,7	5,8	10,5	70,8	1,0	Silou, non publiés (2005)
<i>Cucumeropsis manii</i>	Cameroun	16,2	8,3	22,6	51,2	1,8	Silou, non publiés (2005)

En accord avec les résultats déjà disponibles dans la littérature (tableau X), les huiles de cucurbitacées sont de type linoléique. L'acide linoléique (C_{18:2}) est de loin le constituant majoritaire de ces huiles à plus de 60%, sur un total de 80% en moyenne d'acides gras insaturés.

Ce résultat confirme les valeurs d'indice d'iode obtenues. Comparativement aux huiles usuelles, les huiles de cucurbitacées sont proches des huiles de tournesol, de soja, de coton (huile de type linoléique) et assez différentes des huiles d'arachide et d'olive (huile de type oléique) comme le montre le tableau XI.

Tableau XI : Composition en acides oléique et linoléique de quelques huiles végétales usuelles.

Acides gras	C _{18:1}	C _{18:2}
Espèces		
<i>Citrullus lanatus</i>	10,7	66,0
<i>Cucurbita moschata</i>	31,8	47,4
<i>Cucurbita pepo</i>	9,1	67,0
<i>Lagenaria siceraria</i>	10,2	72,50
Coton	30,00	54,00
Tournesol	19	68
Soja	22,00	54,00
Arachide	54,00	22,00
Olive	68	17

La teneur élevée en acide linoléique dans les huiles de cucurbitacées laisse supposer une certaine fragilité au chauffage.

L'acide linoléique (C_{18:3}) est absent sauf dans *Cucurbita moschata* où il est présent à 2,5%. Les quatre espèces contiennent les acides stéarique (C_{18:0}), oléique (C_{18:1}) et palmitique (C_{16:0}).

On note en outre la présence de l'acide palmitoléique (C_{16:1}) dans *Citrullus lanatus* et l'acide margarique (C_{17:0}) dans *Lagenaria siceraria*.

4. Etude de la stabilité thermique des huiles

Les huiles chauffées ont fait l'objet depuis plusieurs décennies d'un grand nombre de travaux parfois contradictoires. Cette absence de consensus peut s'expliquer par la complexité du problème (GUILLAUMIN, 1973).

En effet, le chauffage de l'huile à l'air libre par exemple, par effets conjugués de la température et de l'oxygène conduit à un nombre impressionnant de composés chimiques, regroupés sous le vocable « Espèces Chimiques Nouvelles » (E.C.N.).

Déjà GUILLAUMIN signalait en 1973 l'existence de plus de 400 composés isolés et identifiés.

Les réactions qui ont lieu dans une huile ou graisse chauffée sont complexes et se déroulent simultanément. On peut les répartir en trois groupes :

- les réactions d'hydrolyse qui conduisent à des produits de scissions de corps gras. Certains d'entre eux sont volatils et sont responsables des odeurs particulières des fritures.
- Les réactions d'oxydation qui conduisent à des E.C.N. comportant de nouvelles fonctions et peuvent parfois aboutir à la formation des composés cycliques.
- Les réactions de polymérisation qui aboutissent à la formation des polymères (éventuellement cancérigènes).

Par ailleurs, d'autres auteurs (THOMPSON et al, 1967 ; FAUR, 1975 ; WALKING et al, 1970) indiquent que l'altération des huiles dépend du traitement subi par cette dernière. Les

conditions expérimentales tiennent donc une place importante dans l'étude des huiles chauffées.

Les éléments importants dans le chauffage sont d'une part, la nature du chauffage (continue ou discontinue) et d'autre part, la présence ou non des aliments (ou des produits chimiques) dans l'huile.

Des résultats plus récents confirment l'importance et la complexité de cette question (OTTAVIANI et al, 1979 ; DOBARGANES, 1998 ; SEBEDIO et al, 1998).

L'étude de l'altération des huiles chauffées est un axe de recherche très important sur la physico-chimie des corps gras. Cette recherche utilise deux approches :

- la première consiste à évaluer le degré d'altération par la mesure des caractéristiques physico-chimiques globales de l'huile sans se préoccuper de la nature des E.C.N. formées ;
- la deuxième plus analytique, isole et identifie ces E.C.N. par des méthodes physico-chimiques usuelles (chromatographie, spectrométrie, etc...)

Nous avons évalué le degré d'altération par chauffage des huiles de cucurbitacées en utilisant la première approche.

4.1. Variation des caractéristiques physico-chimiques

Nous avons retenu 4 indicateurs physico-chimiques pour évaluer et suivre l'évolution du degré d'altération des huiles chauffées à 170°C.

Ce sont : l'indice d'acide I_A , l'indice d'iode I_I , les coefficients d'extinction à 232 et 268 nm et la viscosité.

Tableau XII : Variation des caractéristiques chimiques et physico-chimiques pendant le chauffage des huiles des deux de cucurbitacées.

	Indice d'acide			Indice d'iode			$E_{1cm}^{1\%}$ à 232nm			$E_{1cm}^{1\%}$ à 268 nm			Viscosité 30°C (cSt)		
	N=0	N=10	R	N=0	N=10	R	N=0	N=10	R	N=0	N=10	R	N=0	N=10	R
<i>Citrullus lanatus</i>	2,23	1,63	0,62	126,8	93,4	0,74	5,1	25,2	4,94	2,2	3,4	1,55	41,3	56,89	1,4
<i>Cucurbita pepo</i>	1,09	1,83	1,7	115,0	103,5	0,90	4,6	18,1	3,93	0,4	3,1	7,75	55,35	63,28	1,1

N = nombre de chauffage à T = 170°C
 R = Valeur à N=10(5h)/Valeur à N=0(0h)

Tableau XIII : Variation des caractéristiques chimiques et physico-chimiques pendant le chauffage des huiles d'arachide et d'olive (LARRUSO et PASCUSI, 1983)

	Indice d'acide			Indice d'iode			E _{1cm} ^{1%} à 232nm			E _{1cm} ^{1%} à 268 nm			Viscosité 30°C (cSt)		
	t=0h	t=6h	R	t=0h	t=6h	R	t=0h	t=6h	R	t=0h	t=6h	R	t=0h	t=6h	R
Arachide	0,22	0,62	2,9	97,6	91,8	0,94	5,44	6,48	1,2	0,52	1,47	2,8	65,73	161,13	2,5
Olive	0,78	1,02	1,3	83,3	81,3	0,98	2,14	7,85	3,7	0,18	1,24	6,9	71,24	86,17	1,2

t = durée du chauffage à T = 170°C

R = Valeur à t=6h/Valeur à t=0h.

La comparaison des résultats fait ressortir :

- pour l'indice d'acide, que les huiles de cucurbitacées ont un comportement plus proche de celui de l'huile d'olive que celui de l'huile d'arachide. Le chauffage pendant 5 ou 6 heures à 170°C multiplie l'indice d'acide des huiles de cucurbitacées et d'olive par un facteur de $1,36 \pm 0,15$; alors que ce facteur est de 2,8 pour l'huile d'arachide. Ces résultats confirment une meilleure stabilité thermique à l'hydrolyse de l'huile d'olive.
- pour l'indice d'iode, que la diminution est de l'ordre de 26% (R=0,74) pour *Citrullus lanatus* et de 10% (R=0,90) pour *Cucurbita pepo*, contre 6% (R=0,94) pour l'huile d'arachide et de 2% (R=0,98) pour l'huile d'olive. Ces résultats sont presque identiques sauf pour *Citrullus lanatus*. Cette décroissance de variation d'indice d'iode du *Citrullus lanatus* à l'arachide laisse supposer au cours du chauffage une variation de plus en plus faible pour *Citrullus lanatus*. *Cucurbita pepo*, arachide et olive sont voisins. *Citrullus lanatus* et *Cucurbita pepo* étant presque identiques, la seule différence proviendrait de C_{16:1} qui se dégrade dans *Citrullus lanatus*.
- Pour les coefficients d'extinction, d'une façon générale, les variations sont beaucoup plus grandes pour les huiles de cucurbitacées et d'olive que pour l'huile d'arachide. En toute absence des phénomènes dus aux effets de concentration, la formation de peroxyde linoléique et des diènes conjuguées provenant de cet acide ($\lambda=232$ nm) et celle des triènes et des produits d'oxydation ($\lambda=268$ nm) sont donc du même ordre au cours du chauffage des huiles de cucurbitacées que de l'huile d'olive. Toutefois, il convient de signaler que les valeurs de R voisines pour les huiles de *Citrullus lanatus* et d'arachide à $\lambda=268$ nm conduisent à admettre que pour ces huiles, la formation des triènes et des produits d'oxydation est comparable et moins importante que pour les autres huiles de cucurbitacées et d'olive. Les huiles de *Citrullus lanatus* et d'arachide ont une stabilité au chauffage comparable. Une mesure des coefficients d'extinction dans deux solvants différents mais de constantes diélectriques comparables confirme ces résultats (KISSOTOKENE-NTINO, 1987).
- la faible variation des viscosités des huiles de cucurbitacées (R=1,1 ; 1,4) contre 1,2 et 2,5 respectivement pour l'huile d'olive et d'arachide indique une certaine stabilité de ces huiles au chauffage.

On sait également que tout en dépendant en premier lieu de la nature du fluide, la viscosité dépend de 3 principaux paramètres :

- la température dont l'augmentation détermine une diminution de la viscosité dans le cas des fluides.
- La pression dont l'augmentation entraîne un accroissement de la viscosité.
- Le gradient de vitesse qui intervient seulement dans le cas des liquides complexes.

Nous nous sommes intéressés à la relation viscosité-température exprimée par :

$$\eta = A_0 \exp (E/RT)$$

Nous avons mesuré à différentes températures, les viscosités des huiles de *Citrullus lanatus* et de *Cucurbita pepo* non chauffées et au dixième chauffage, de *Cucurbita moschata* et de *Lagenaria siceraria* non chauffées.

Le tableau XIV représente les valeurs des coefficients de viscosité des huiles de cucurbitacées. Les valeurs de E déduites de la relation : $\eta = A_0 \exp (E/RT)$ sont regroupées dans le tableau XV.

Tableau XIV : Coefficients de viscosité en (cSt) des huiles de cucurbitacées à différentes températures .

Espèces étudiées	Etat de l'huile	Température absolue (en k) ; T = 273 + t (°C)			
		293	303	313	373
<i>Citrullus lanatus</i>	non chauffée	57,3	41,1	29,34	6,83
	chauffée	-	58,44	37,55	3,15
<i>Cucurbita pepo</i>	non chauffée	83,23	55,95	39,2	8,7
	chauffée	-	61,9	42,5	8,83
<i>Cucurbita moschata</i>	non chauffée	66,8	46,5	32,64	7,0
<i>Lagenaria siceraria</i>	non chauffée	66,34	46,21	33,34	8,01

Tableau XV: Valeurs d'énergie E mise en jeu dans le processus d'écoulement élémentaire des huiles de cucurbitacées.

Espèces		E (KJ)	Coefficient de corrélation (r)
<i>Citrullus lanatus</i>	non chauffée	24,10	0,999
	chauffée	39,49	0,999
<i>Cucurbita moschata</i>		25,50	0,999
<i>Cucurbita pepo</i>	non chauffée	25,39	0,996
	chauffée	25,90	0,999
<i>Lagenaria siceraria</i>		23,79	0,998

On constate que pour l'huile de *Citrullus lanatus* chauffé, l'énergie E est de 39,49 KJ au lieu de 25±1KJ pour les autres huiles considérées. Cette augmentation d'énergie est en parfait accord avec la disparition dans l'huile de *Citrullus lanatus* de l'acide palmitoléique (C_{16:1}) au cours du chauffage.

4.2. Variation de la composition en acides gras

La composition en acides gras des huiles de cucurbitacées avant et après chauffage a été déterminée par chromatographie en phase gazeuse. Les résultats obtenus sont regroupés dans le tableau XVI et la figure 28 donne, à titre d'illustration le chromatogramme des esters méthyliques d'acides gras de l'huile des graines de *Citrullus lanatus* chauffé.

Tableau XVI : Composition en acides gras des huiles avant et après chauffage

Acides gras	<i>Citrullus lanatus</i>		<i>Cucurbita pepo</i>		Arachide		Olive	
	Avant	Après	Avant	Après	Avant	Après	Avant	Après
C _{16:0}	10,3	10,9	13,7	15,7	13,0	14,4	12,4	11,7
C _{16:1}	3,7	-	-	-	-	-	-	-
C _{18:0}	9,3	10,9	10,2	11,3	3,0	3,4	2,4	2,3
C _{18:1}	10,7	16,1	9,1	12,1	55,1	60,8	77,5	78,6
C _{18:2}	66,0	61,9	67,0	60,9	27,3	20,1	7,8	6,8
C _{18:3}	-	-	-	-	-	-	0,5	0,4
C _{20:0}	-	-	-	-	1,6	1,3	0,3	0,2
R*	3,8	3,6	3,2	2,7	5,2	4,5	5,7	6,1

R* : acides gras insaturés/acides gras saturés

On constate à l'examen du tableau XVI que l'altération des huiles, dans nos conditions de travail, résulte essentiellement de la destruction de l'acide linoléique (C_{18:2}) qui voit sa teneur passée de 66,0 à 61,9 % pour *Citrullus lanatus*, de 67,0 à 60,9 % pour *Cucurbita pepo*, et de 27,3 à 20,1 pour l'arachide.

Chez *Citrullus lanatus* chauffé on note également la disparition de C_{16:1}.

Tous composés qui ne sont pas modifiés voient leur teneur augmentée.

Les mêmes observations ont été faites dans les huiles d'arachide et d'olive (LARRUSO et PASCUSI, 1983).

Aucune altération mesurable n'a été notée pour l'huile d'olive.

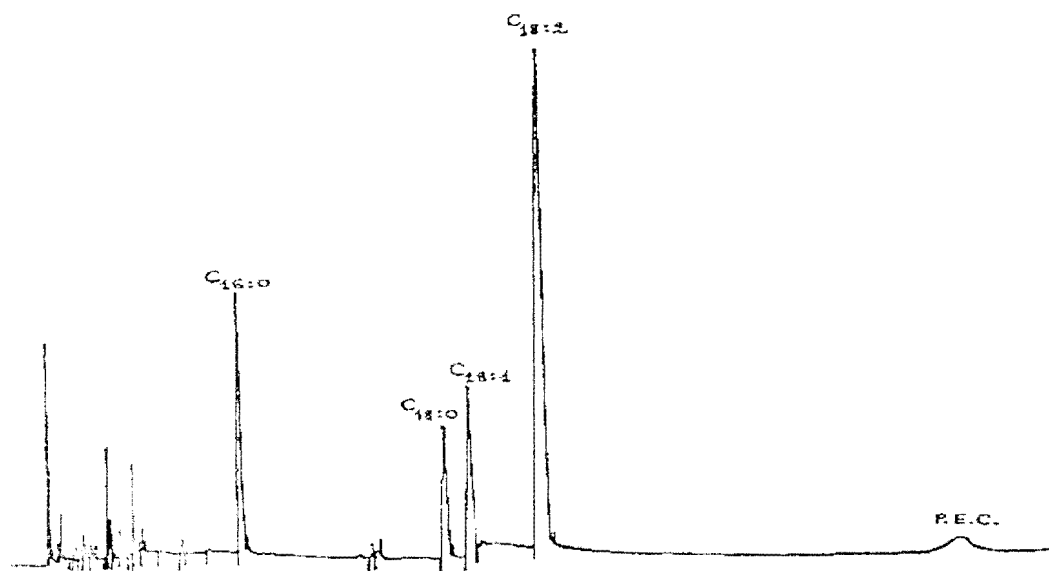


Figure 28: Chromatogramme des esters méthyliques d'acides gras des huiles des graines de *Citrullus lanatus* chauffé

5. Essai d'optimisation des conditions d'extraction.

Nous avons étudié l'influence du temps d'extraction de la nature du solvant et du rapport échantillon/solvant sur la teneur en huile. L'étude a porté sur *Citrullus lanatus*. Les résultats obtenus sont regroupés dans les tableaux XVII et XVIII

Tableau XVII : Influence du temps d'extraction à l'éther de pétrole sur la teneur en huile des deux échantillons de *Citrullus lanatus*.

Temps (h)	1	2	4	6	8	10	12
Teneur en huile (%) (échantillon 1)	26,92	37,97	46,15	44,75	42,47	38,35	31,25
Teneur en huile (%) (échantillon 2)	37,35	40,04	54,38	48,98	44,96	43,32	43,20

On constate, quelque soit l'échantillon (prise d'essai 40 g) une augmentation de la quantité d'huile extraite avec un maximum situé aux environs de 4 heures (figure 29).

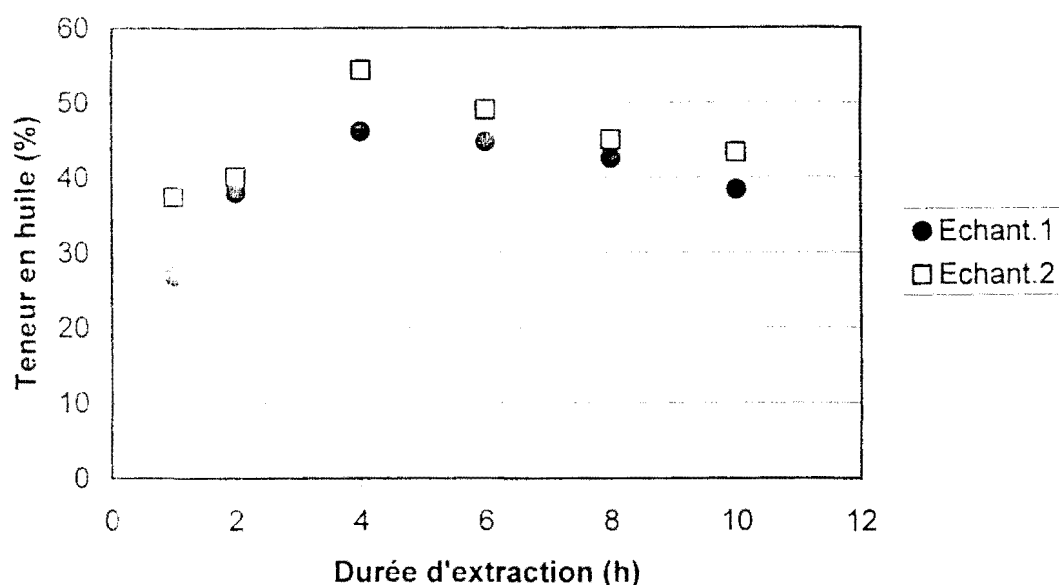


Figure 29: Courbes représentatives de la variation de la teneur en huile de *Citrullus lanatus* en fonction du temps d'extraction

Tableau XVIII: Influence du solvant sur la teneur en huile de *Citrullus lanatus*

Solvant	ϵ à 25°C	Teneur en huile
n-hexane	1,8773	33,38
Cyclohexane	2,0148	64,10
Tétrachlorure de carbone	2,2000	67,76
Ether de pétrole	-	45
Ether éthylique	4,2500	46,04
Chloroforme	4,8060	74,08
Acétone	20,7000	62,82
Ethanol	24,3000	18,06
Méthanol	32,6000	6,95

En fixant le temps d'extraction à 6 heures conformément aux méthodes normalisées UICPA (1979), on note une augmentation du pouvoir d'extraction avec la constante diélectrique pour les solvants peu dissociants et une diminution de ce pouvoir avec la constante diélectrique pour les solvants dissociants, en général $\epsilon > 15$. Ce comportement est à élucider.

Tableau XIX : Influence du rapport échantillon/solvant sur la teneur en huile.
Solvant : éther de pétrole (*Citrullus lanatus*)

$R = \frac{\text{masse (g) échantillon}}{250 \text{ ml de solvant}}$	$\frac{10}{250}$	$\frac{20}{250}$	$\frac{30}{250}$	$\frac{40}{250}$
Teneur en huile (en %)	38,00	41,50	35,53	33,50

L'huile a été extraite pendant 6 heures avec 250 ml d'éther de pétrole en utilisant des masses variables d'échantillon. A l'examen du tableau XIX, nous constatons que la teneur en huile passe par un maximum qui correspond au rapport $R = 20/250$ soit 10%.

Ce travail de contrôle à posteriori constitue une validation, pour notre cas précis des normes recommandées de manière générale, notamment sur le rapport de masse échantillon solvant et sur la durée de l'extraction.

6. Conclusion

Les graines de cucurbitacées nous donnent une huile dont la teneur est de même ordre de grandeur que celle des huiles d'arachide, de tournesol, de sésame... et dépasse de loin les huiles de coton, de soja. Ces huiles constituées en majorité des acides gras courants sont des huiles de type linoléique.

Un essai d'optimisation des conditions d'extraction nous a permis de montrer que :

- le cyclohexane, le chloroforme, le tétrachlorure de carbone, l'acétone extraient une plus grande quantité d'huile que l'éther de pétrole, le n-hexane et l'éther éthylique ;
- le temps d'extraction optimale se situe aux environs de 4 heures ;
- le rapport échantillon/solvant rentable est de 10%.

L'évaluation de l'altération des huiles de CL et de CP par mesure globale des caractéristiques physico-chimiques ou par analyse des acides gras indique un comportement assez proche ou intermédiaire de celui des huiles d'arachide et d'olive.

L'absence d'acide linoléique ($C_{18:3}$) renforce cette idée de stabilité relativement bonne jusqu'à 170°C.

Les valeurs obtenues de l'indice d'iode, caractéristiques des huiles fortement insaturées, sont conformes à la composition en acides gras, avec plus de 60% de teneur en acides gras insaturés. Les valeurs de l'indice d'acide sont en faveur des huiles faiblement acides. La teneur en insaponifiables atteste leur richesse en composés terpéniques et stéroliques.

Le chauffage prolongé jusqu'à 170°C n'altère que très faiblement ces huiles. L'oxydation semble être la cause de cette altération car la polymérisation n'a pas été mise en évidence.

Les huiles de CL et de CP peuvent être considérées comme de très bonnes huiles de table ou des assez bonnes huiles de fritures douces.

CHAPITRE 3

NATURE ET COMPOSITION DES CLASSES DES LIPIDES DE QUATRE ESPECES DE CURCUBITACEES ALIMENTAIRES DU CONGO BRAZZAVILLE.

Les cucurbitacées sont de consommation courante dans le Golfe de Guinée. Les feuilles sont utilisées comme légume vert tandis que les graines entrent dans l'épaississement des sauces des différents repas.

Des études entreprises sur les cucurbitacées au Nigéria (ONYEIKE et al, 1995 ; GIRIS et TURNER, 1972 ; BADIFU, 1991 ; ODERINDE et al, 1990), au Niger (SABO, 2004 ; SILOU et al, 1999) témoignent de l'importance accordée à la connaissance scientifique de cette ressource oléo-protéagineuse.

La presque totalité de ces études tendent à établir l'intérêt alimentaire de ces spéculations.

Nous avons donc initié une étude plus fondamentale sur les lipides en faisant l'inventaire systématique des lipides des cucurbitacées alimentaires du Congo, travail à notre connaissance inexistant jusqu'à présent.

Dans ce chapitre, nous avons déterminé la composition en AG de chaque classe ou catégorie lipidique identifiée. L'analyse chromatographique des différents échantillons de cucurbitacées a permis d'identifier les lipides neutres et polaires. Nous avons ensuite étudié par chromatographie en phase gazeuse, les différents acides gras au sein de chaque classe lipidique.

Une telle approche assure une visibilité plus grande dans la valorisation possible des différentes espèces de cucurbitacées du Congo-Brazzaville.

I- MATERIEL ET METHODES

1. Matériel végétal

Citrullus lanatus ; *Cucurbita moschata* ; *Cucurbita pepo* et *Lagenaria siceraria*. Ce matériel végétal est déjà décrit dans le chapitre 2.

2. Méthodes d'extraction, de séparation et d'analyse

2.1. Extraction des lipides

Il s'agit de récupérer tous les lipides neutres ou polaires des graines. Les graines décortiquées avant broyage sont fixées dans l'eau bouillante. L'ébullition, maintenue environ 5 minutes, permet d'inactiver les enzymes.

L'extraction proprement dite se fait suivant la méthode de BLIGH et DYER (1959). Après broyage dans le méthanol (10 ml), on ajoute les mêmes quantités de chloroforme et d'eau distillée. De cette manière, les lipides sont libérés de leurs interactions avec les molécules protéiques et se retrouvent dans la phase inférieure du système biphasique obtenu après centrifugation (10mn, 4000xg). Cette phase est ensuite récupérée et le solvant évaporé. Les lipides totaux ainsi extraits sont conservés à -20°C dans du chloroforme.

2.2. Séparation des classes lipidiques par chromatographie sur couche mince (CCM)

Le fractionnement des lipides en différentes classes se fait par la chromatographie d'adsorption sur couche mince de gel de silice (plaques TTC 60F-254, Merck). La méthode consiste à déposer un aliquot de l'extrait lipidique total dans du chloroforme à 2 cm du bord inférieur de la plaque sous courant d'azote. Le témoin utilisé est le WT (tabac). La plaque est ensuite placée dans une cuve hermétiquement fermée contenant un solvant de polarité donnée. Le solvant LEPAGE (1964) dont la composition est faite de : chloroforme/méthanol/acétone/acide acétique/eau (50/10/20/10/5, V/V/V/V/V) permet de séparer les lipides neutres des lipides polaires eux-mêmes fractionnés en différentes classes. Le solvant de MANGOLD (1964) composé de : éther de pétrole/éther éthylique/acide acétique (70/30/0,4, V/V/V) permet quant à lui le fractionnement des lipides neutres.

2.3. Révélation des classes lipidiques

Les lipides séparés sur plaque de gel de silice sont révélés dans une cuve saturée de vapeurs d'iode. Les lipides apparaissent sous forme de tâches jaunes. Ils sont identifiés par comparaison avec les Rf des témoins (figure 30). Les spots détectés sur le gel de silice, qui contiennent les lipides sont grattés après évaporation de l'iode afin de méthyler leurs acides gras.

2.4. Détermination de la composition en acides gras par chromatographie en phase gazeuse (CPG)

2.4.1. Méthylation des acides gras

Pour pouvoir analyser les acides gras de l'extrait lipidique total ou des différentes classes lipidiques, une étape de méthylation est nécessaire. La méthylation se fait en présence d'un standard interne (C_{17:0}).

La méthode de méthylation utilisée est celle décrite par METCALFE et al (1966). Un aliquot de l'extrait lipidique total préalablement séché sous azote où les spots récupérés sur plaque de silice sont mis à incuber au bain marie (60°C) pendant 20 minutes dans 1 ml de méthanol contenant 14% (V/V) de tri-fluorure de bore en tant que catalyseur acide. La réaction se déroule dans un tube fermé. Après refroidissement du tube de méthylation, les esters méthyliques sont extraits par 3 ml de pentane et 0,5 ml d'eau distillée. Le pentane est ensuite évaporé à 50°C et les esters méthyliques d'acides gras sont conservés au froid dans du méthanol.

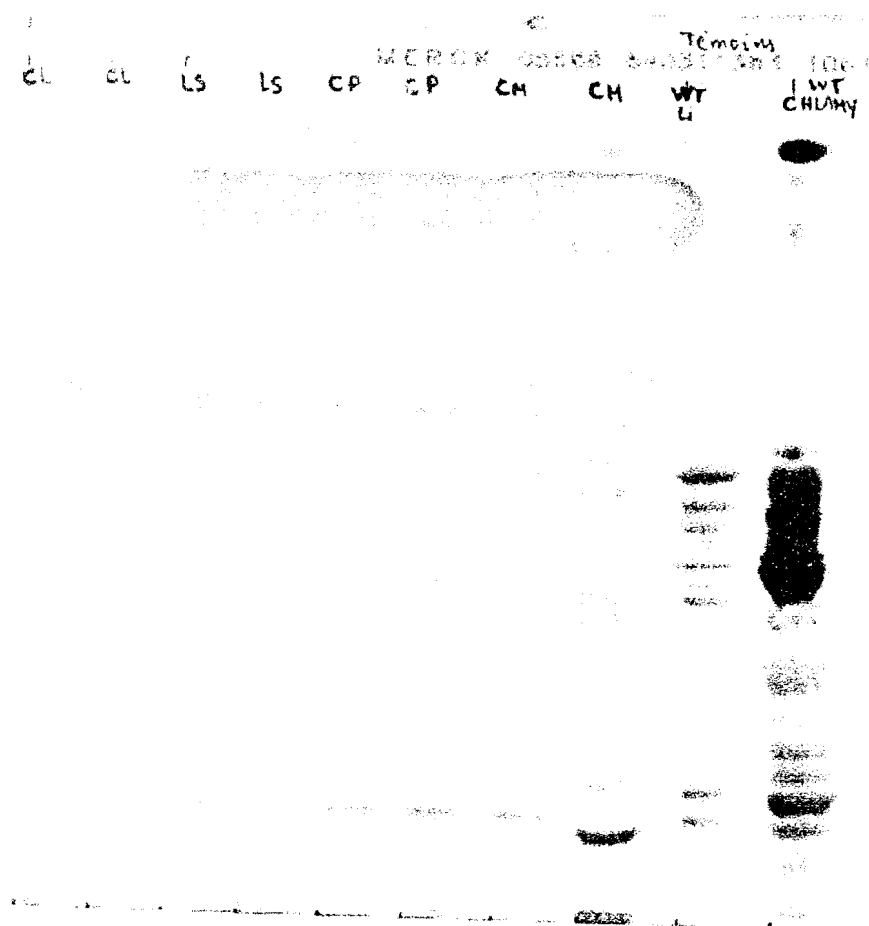


Figure 30 : Séparation des lipides totaux des cucurbitacées

2.4.2. Séparation et analyse des esters méthyliques d'acides gras par CPG

La séparation des esters méthyliques d'acides gras s'effectue sur un chromatographe (Delsi série 30) relié à un traceur intégrateur (Enica 21). La colonne capillaire utilisée est de type carbowax (longueur = 25m, diamètre = 0,25mm et épaisseur = 0,25 μ m). La température de l'injecteur et du détecteur est de 250°C. Le gaz vecteur utilisé est l'hélium à 0,5 bars en tête de colonne et de débit 3 ml/mn. L'éluion des différents esters d'acides gras se fait à température constante (température du four de la colonne = 200°C).

Le traceur intégrateur détermine la surface de chaque pic. Les acides gras sont identifiés par référence aux temps de rétention des standards correspondants obtenus dans des conditions citées ci-dessus: c'est l'analyse qualitative. Par comparaison de la surface de chaque pic avec celle du standard interne (acide heptadécanoïque), on calcule la quantité de chaque acide gras : c'est l'analyse quantitative.

II. RESULTATS ET DISCUSSION

1. Les classes de lipides des cucurbitacées

1.1. Lipides neutres.

L'analyse chromatographique sur couche mince représentée par la figure 31, montre que les lipides neutres des cucurbitacées sont essentiellement constitués de triacylglycérols, accompagnés de quantités relativement importantes de diacylglycérols et d'acides gras libres. Quatre tâches ont pu être décelées : trois tâches (A, B, C) entre les acides gras libres et les triacylglycérols n'ont pu être identifiées malgré leur présence constante. Ces trois tâches pourraient être des stérols non estérifiés ou des alcools à longue chaîne; une tâche (P) vers le front du solvant représente des composés non estérifiés qui pourraient correspondre à des paraffines, squalène etc...

1.2. Lipides polaires.

La figure 32, montre que la phosphatidylcholine (PC), la phosphatidyléthanolamine (PE) et la phosphatidylinositol (PI) sont les principaux constituants des lipides polaires. Il faut noter une prédominance de la PC. Une tâche (D) non identifiée a été détectée entre PE et TAG, plus proche de PE. PI semble être aussi importante que la PC.

Comme dans la plupart des compositions lipidiques plantes, les triacylglycérols demeurent les constituants majeurs des lipides neutres, ce qui est en parfait accord avec les données de la littérature (WEETE, 1980 ; GUNSTONE, 1986 ; OHLROGGE, 1995 ; FACCIOTI et VIC KNAUF, 1955).

Les lipides polaires contiennent toujours plus de phosphatidylcholine que de phosphatidyléthanolamine, ce qui semble être une règle habituelle chez la plupart des plantes dont les cucurbitacées.

La composition des lipides neutres reste remarquablement constante dans les différentes espèces de cucurbitacées étudiées c'est-à-dire que les triacylglycérols sont les catégories dominantes.

Les résultats des analyses chromatographiques sont regroupés dans le tableau XX. Nous avons également déterminé la composition des lipides neutres et polaires, des inconnus ainsi que celle assimilable aux composés non estérifiés.

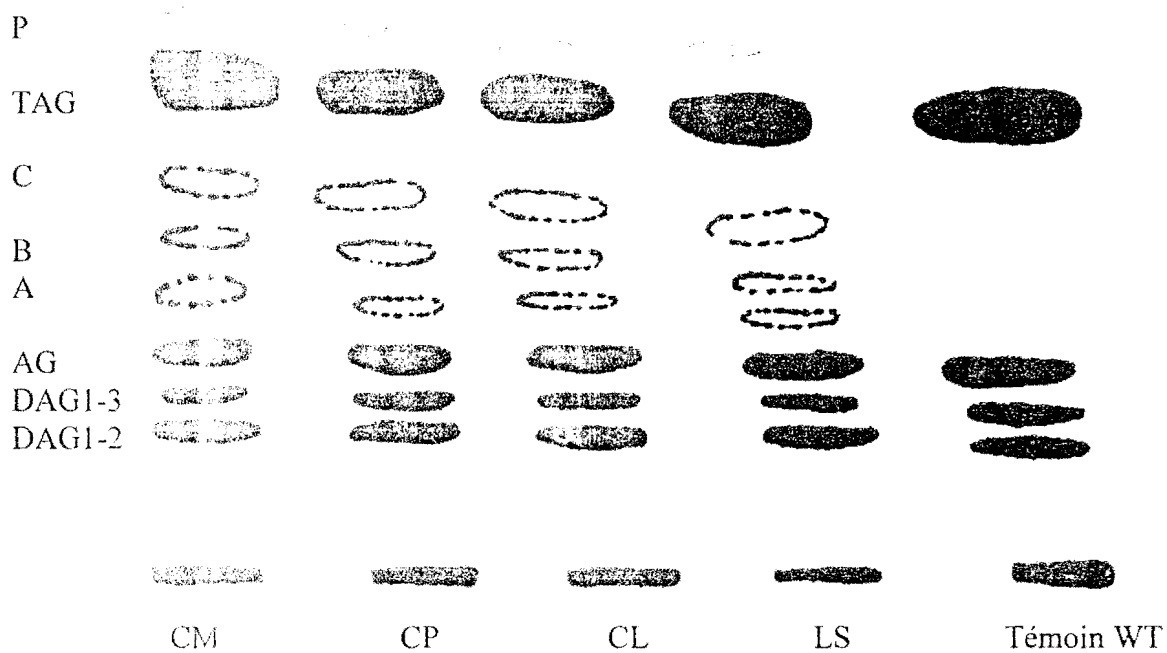


Figure 31 : Séparation des lipides neutres des cucurbitacées par chromatographie sur couche mince

Les lipides résiduels non identifiés après la séparation des lipides neutres n'ayant pas migré pourraient correspondre aux monogalactosides (hypothèse à vérifier)

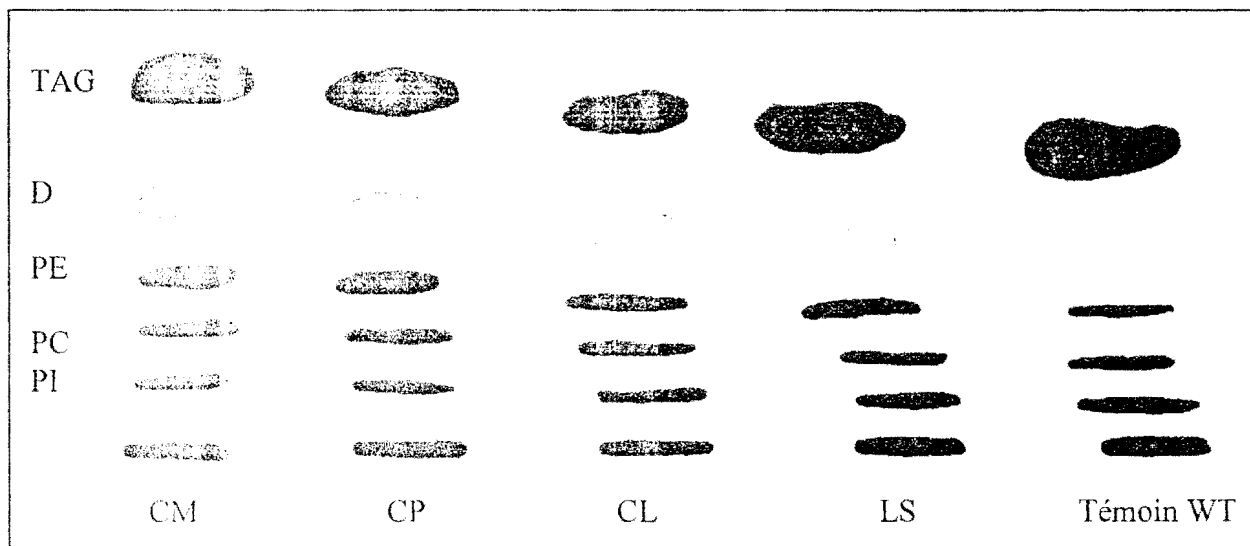


Figure 32 : Séparation des lipides polaires des cucurbitacées par chromatographie sur couche mince.

De même, les lipides résiduels non identifiés n'ayant pas migré après la séparation des lipides polaires pourraient correspondre aux céramides polyhexosides (hypothèse à vérifier).

Tableau XX : Composition des lipides neutres et polaires des cucurbitacées (% de la masse des acides gras totaux)

	<i>Citrullus lanatus</i>	<i>Cucurbita moschata</i>	<i>Cucurbita pepo</i>	<i>Lagenaria siceraria</i>
Lipides neutres				
Lipides résiduels *	2,36	6,34	3,90	1,81
DAG ₁₋₂	2,65	6,27	4,16	1,55
DAG ₁₋₃	0,53	5,28	1,57	1,68
AG	1,89	4,14	3,60	2,46
TAG	84,56	65,75	81,55	81,50
A	2,07	2,99	1,61	1,43
B	2,40	2,86	0,61	1,60
C	1,71	4,69	0,64	2,93
Composés non estérifiés	1,78	1,63	2,34	7,03
Total	99,95	99,95	99,98	101,99
Lipides polaires				
PI	15,20	19,65	11,65	14,57
PC	42,35	37,26	48,56	44,27
PE	23,50	22,42	16,58	18,03
D	18,96	20,75	25,34	23,13
Total	100,01	100,08	102,13	100,00

* Lipides résiduels : lipides n'ayant pas migré.

Les résultats obtenus (Tableau XX) confirment bien que les triacylglycérols sont les constituants majeurs : 85% dans *Citrullus lanatus*, 66% dans *Cucurbita moschata*, 82% dans *Cucurbita pepo* et *Lagenaria siceraria*. Les diacylglycérols sont les constituants les mieux représentés dans presque toutes les espèces. Viennent enfin les acides gras libres présents en quantités non négligeables.

Les triacylglycérols sont toujours les constituants les plus importants, ce qui est normal puisque l'accumulation des réserves se fait habituellement sous cette forme ; ceci est en parfait accord avec les données de la littérature (OHLROGGE et BROWSE, 1995 ; FACCIOTTI et VIC KNAUF, 1995). Les diacylglycérols, bien que ne constituant pas une forme habituelle d'accumulation, sont également bien représentés notamment dans le *Cucurbita moschata*. Du fait qu'ils sont intermédiaires de synthèse essentielle pour les phospholipides les plus importants (PC et PE), et pour les triacylglycérols, il paraît normal qu'on retrouve des quantités non négligeables de diacylglycérols.

Trois composés A, B et C (à faible teneur), non identifiés ont été mis en évidence.

La phosphatidylcholine, phosphatidyléthanolamine et la phosphatidylinositol sont les principaux phospholipides identifiés chez les cucurbitacées. PC et PE sont les deux phospholipides majeurs. La PC étant, quelle que soit l'espèce considérée, nettement plus dominant comme phospholipide, avec des teneurs variant de 37 à 49%.

Il ressort de ces analyses que, chez les cucurbitacées étudiées d'une manière générale, PE et PC sont les deux phospholipides très dominants avec une dominance très nette pour la PC (PC>PE>PI) : ce qui semble être une règle habituelle chez la plupart des plantes dont les cucurbitacées. Ces tendances peuvent certainement être vérifiées au niveau des différentes voies de synthèse des phospholipides.

Un composé D non identifié, a été mis en évidence avec des teneurs relativement élevées de 19 à 25%.

2. Composition en acides gras des différentes classes des lipides

Les résultats d'analyse des acides gras sont consignés dans les tableaux XXI à XXIV.

2.1. *Citrullus lanatus*

Tableau XXI : Composition (%) en acides gras des lipides neutres et polaires de *Citrullus lanatus*.

Acides gras	C _{16:0}	C _{16:1}	C _{18:0}	C _{18:1}	C _{18:2}	C _{18:3}
Lipides résiduels*	34,9	3,1	16,7	7,5	36,6	1,3
DAG _{1,2}	21,7	6,0	13,5	10,8	48,0	-
DAG _{1,3}	27,8	2,8	23,5	26,4	18,1	1,3
AG	24,3	3,4	13,7	12,0	45,7	0,9
TAG	13,4	-	9,3	10,1	67,0	0,2
A	24,4	-	15,1	12,1	46,9	1,5
B	20,2	0,9	15,4	9,7	52,3	1,5
C	19,4	3,2	18,6	12,6	43,6	2,6
Composés non estérifiés	21,4	1,3	16,5	12,7	46,6	1,4
PI	23,5	-	30	15,2	28,0	3,8
PC	32,1	5,0	14,3	12,5	35,3	0,8
PE	33,3	0,5	12,1	14,6	27,6	11,9
D	27,3	5,9	32,3	15,7	17,7	1,1

* Lipides résiduels : lipides n'ayant pas migré.

Dans les lipides résiduels, C_{16:0} (acide palmitique) et C_{18:2} (acide linoléique) sont les acides gras les plus abondants avec une légère prédominance de C_{18:2}. Par ordre d'importance nous trouvons ensuite C_{18:0} (acide stéarique) et une faible quantité de C_{18:3} (acide linoléique). Nous remarquons également une légère abondance des acides gras saturés (52%) par rapport aux acides gras insaturés (48%).

L'acide C_{18:2} est l'acide gras prédominant dans tous les lipides neutres.

Au niveau des diacylglycérols, nous retrouvons le même profil en acides gras que dans le cas des lipides résiduels, sauf pour les DAG_{1,2} où le C_{18:3} est absent. C_{16:0} et C_{18:2} sont les plus abondants avec une légère abondance de C_{18:2}. Les acides gras C_{18:0} et C_{18:1} sont présents en quantités égales.

L'acide gras libre le plus abondant est le C_{18:2}. Le C_{16:0}, deuxième acide gras libre diminue de moitié par rapport à C_{18:2}.

Au niveau des triacylglycérols, l'acide gras le plus abondant est le C_{18:2}. Nous observons une diminution considérable du taux d'autres acides gras dans cette catégorie lipidique.

Au niveau des inconnus (A, B et C) et des composés non estérifiés (tâche observée au-dessus des triacylglycérols), le C_{18:2} est également l'acide gras majeur.

Pour les lipides polaires :

-Phosphatidylinositol : les acides gras majeurs sont C_{18:0} et C_{18:2}. L'acide gras C_{18:0} étant légèrement plus abondant que le C_{18:2}. Viennent ensuite C_{16:0} et C_{18:1}.

C_{18:0}>C_{18:2}>C_{16:0}>C_{18:1}.

-Phosphatidyletholine : les acides gras majeurs sont C_{18:2} et C_{16:0}

C_{18:2}>C_{16:0}>C_{18:0}>C_{18:1}

-Phosphatidyléthanolamine : les acides gras majeurs sont C_{16:0} et C_{18:2} avec C_{16:0} légèrement plus abondant. Curieusement dans ce lipide polaire C_{18:3} et C_{18:0} sont sensiblement identiques.

C_{16:0}>C_{18:2}>C_{18:1}>C_{18:0}

Dans *Citrullus lanatus*, C_{16:0} et C_{18:2} sont généralement les acides gras les plus abondants observés pratiquement dans tous les cas de figure. C_{18:3} n'est présent qu'en quantités très faibles, sauf dans le cas de la phosphatidyléthanolamine.

2.2. *Cucurbita moschata*

Tableau XXII : Composition (%) en AG des lipides neutres et polaires de *Cucurbita moschata*.

Acides gras	C _{16:0}	C _{18:0}	C _{18:1}	C _{18:2}	C _{18:3}
Lipides résiduels*	33,0	9,7	17,2	34,1	6,0
DAG ₁₋₂	25,8	8,8	21,2	39,1	5,1
DAG ₁₋₃	42,5	15,5	38,2	3,3	0,5
AG	22,0	13,5	38,0	19,4	7,1
TAG	18,3	8,1	29,1	43,5	1,0
A	49,8	20,7	20,6	7,5	1,3
B	26,6	12,8	24,0	33,6	3,0
C	31,0	14,0	26,7	26,2	2,1
Composés non estérifiés	67,1	18,3	7,2	-	7,5
PI	68,5	18,2	3,5	3,3	6,6
PC	53,1	13,9	26,0	4,8	2,3
PE	63,6	12,5	15,3	8,7	-
D	57,6	18,4	20,7	-	3,3

* Lipides résiduels : lipides n'ayant pas migré.

Dans les lipides résiduels les acides gras les plus abondants sont C_{18:2} et C_{16:0} avec une quantité sensiblement supérieure pour C_{18:2}.

C_{18:2}>C_{16:0}>C_{18:1}>C_{18:0}>C_{18:3}

Les acides gras majeurs au niveau des diacylglycérols sont le C_{16:0} et le C_{18:1} avec une prédominance de C_{16:0}. Viennent ensuite le C_{18:2} et le C_{18:0}.

C_{16:0}>C_{18:1}>C_{18:2}>C_{18:0}>C_{18:3}

Les acides gras libres majeurs sont le C_{18:1} et le C_{16:0} sont les acides gras majeurs comme dans le cas des diacylglycérols avec une prédominance de C_{18:1}

C_{18:1}>C_{16:0}>C_{18:2}>C_{18:0}>C_{18:3}

Le C_{18:2} est l'acide gras majeur des triacylglycérols. Nous avons ensuite le C_{18:1} et le C_{16:0}.

C_{18:2}>C_{18:1}>C_{16:0}>C_{18:0}>C_{18:3}

La situation des acides gras des inconnus et des composés non estérifiés est totalement différente par rapport aux observations faites dans *Citrullus lanatus*. Dans A, C et les composés non estérifiés, l'acide gras le plus abondant est le C_{16:0} et dans B, c'est le C_{18:2}.

Contrairement à *Citrullus lanatus*, l'acide gras le plus abondant chez cette espèce varie pour les différents lipides neutres : C_{18:1} pour les acides gras libres, C_{16:0} pour les DAG et C_{18:2} pour les TAG. Globalement C_{18:2} est l'acide gras le plus abondant dans les lipides résiduels, suivi de près par C_{16:0}.

Dans les lipides polaires et l'inconnu D, l'acide gras majeur est le C_{16:0}. Cet acide gras est plus abondant dans le PI que dans les deux autres phospholipides. Nous avons ensuite le C_{18:1} qui est plus abondant dans le PC.

Nous remarquons que dans *Cucurbita moschata* les acides gras les plus abondants sont le C_{16:0} et le C_{18:1} sauf au niveau des lipides résiduels et des triacylglycérols où le C_{18:2} est toujours l'acide gras le plus abondant. Ainsi, il apparaît, d'après nos observations que le profil en acides gras est totalement opposé à celui de *Citrullus lanatus*. Les lipides polaires ont le même acide gras le plus abondant, alors que ce dernier varie pour les lipides neutres.

2.3. *Cucurbita pepo*

Les acides gras majoritaires des lipides résiduels sont le C_{16:0} et le C_{18:2} avec une dominance de C_{16:0}. La quantité de C_{18:0} n'est pas négligeable.

C_{16:0}>C_{18:2}>C_{18:0}>C_{18:1}>C_{18:3}

Le C_{18:2} et le C_{16:0} sont nettement plus abondants avec une prédominance de C_{18:2} au niveau des diacylglycérols.

C_{18:2}>C_{16:0}>C_{18:0}>C_{18:1}>C_{18:3}

L'acide gras majeur est le C_{18:2} suivi de C_{16:0} dans la catégorie des acides gras libres.

$C_{18:2} > C_{16:0} > C_{18:0} > C_{18:1} > C_{18:3}$.

Comme dans les cas précédents, le $C_{18:2}$ est toujours majeur dans les triacylglycérols..

$C_{18:2} > C_{16:0} > C_{18:1} > C_{18:0}$.

Dans A et C (inconnus), le $C_{16:0}$ est l'acide gras majeur. Dans B (inconnu), le $C_{16:0}$ et le $C_{18:2}$ sont de teneurs équivalentes. Par contre dans les composés non estérifiés, le $C_{18:2}$ est largement plus abondant.

Au niveau des lipides polaires :

-Phosphatidylinositol : les acides gras majeurs sont $C_{18:0}$ et $C_{16:0}$ avec une prédominance de $C_{18:0}$.

-Phosphatidylcholine : les deux acides gras majeurs sont le $C_{16:0}$ et le $C_{18:2}$ avec une prédominance de $C_{18:2}$.

-Phosphatidyléthanolamine : le $C_{16:0}$ est plus abondant que le $C_{18:2}$, situation inverse observée dans le cas de la phosphatidylcholine.

Inconnu D : le $C_{16:0}$ est largement plus abondant avec 80%.

Cucurbita pepo présente un profil comparable à celui de *Citrullus lanatus* : même acide gras prédominant dans les lipides neutres ($C_{18:2}$), acide gras variable avec la nature des lipides polaires

Tableau XXIII : Composition (%) en acides gras des lipides neutres et polaires de *Cucurbita pepo*

Acides gras	$C_{16:0}$	$C_{16:1}$	$C_{18:0}$	$C_{18:1}$	$C_{18:2}$	$C_{18:3}$
Lipides résiduels*	46,5	-	14,6	6,8	31,4	0,7
DAG ₁₋₂	21,2	-	17,4	17,2	43,2	1,0
DAG ₁₋₃	39,4	2,7	17,3	13,0	27,7	-
AG	22,3	0,8	12,9	9,3	53,6	1,1
TAG	20,4	-	12,8	14,4	52,4	-
A	40,0	-	35,3	20,6	4,2	-
B	34,8	12,3	2,4	17,00	33,6	-
C	62,4	5,6	8,2	8,3	11,7	3,9
Composés non estérifiés	9,8	3,9	19,5	12,2	54,4	0,2
PI	38,9	-	43,8	3,4	14,0	-
PC	34,0	-	17,7	11,3	37,1	-
PE	49,2	9,5	9,3	4,8	27,4	-
D	80,1	-	17,8	0,5	1,6	-

* Lipides résiduels : lipides n'ayant pas migré.

2.4. *Lagenaria siceraria*

Tableau XXIV: Composition (%) en acides gras des lipides neutres et polaires de *Lagenaria siceraria*.

Acides gras	C _{16:0}	C _{16:1}	C _{18:0}	C _{18:1}	C _{18:2}	C _{18:3}
Lipides résiduels*	38,4	1,8	11,8	10,8	36,3	1,0
DAG ₁₋₂	36,5	4,0	20,1	15,3	17,5	6,6
DAG ₁₋₃	40,1	7,0	22,5	13,2	2,1	5,0
AG	2,7	13,4	22,7	29,3	30,3	1,7
TAG	17,6	-	8,4	-	73,9	0,2
A	33,6	8,7	5,0	0,2	35,7	6,9
B	22,5	6,5	11,5	12,0	35,4	12,2
C	19,5	-	13,2	11,8	13,4	42,1
Composés non estérifiés	3,4	2,6	2,7	2,3	88,4	0,5
PI	33,6	8,3	23,6	17,7	-	16,7
PC	32,4	3,7	13,1	6,1	34,8	-
PE	49,6	5,9	18,9	18,2	3,7	3,8
D	46,3	4,9	25,7	16,0	3,0	4,1

* Lipides résiduels : lipides n'ayant pas migré.

Les acides gras des lipides résiduels C_{16:0} et C_{18:2} sont présents en quantités sensiblement égales.

Dans la catégorie des diacylglycérols, le C_{16:0} est plus abondant que le C_{18:0}. Le C_{18:1} et le C_{18:2} sont présents en quantités sensiblement égales.

Les acides gras libres C_{18:1} et C_{18:2}, en quantités sensiblement égales, sont les acides gras majoritaires. Le C_{18:0} est également présent en quantité non négligeable.

L'acide gras majoritaire et très abondant est le C_{18:2} dans les triacylglycérols.

Au niveau des inconnus et des composés non estérifiés, les acides gras suivants ont été observés

Inconnu A : le C_{16:0} et le C_{18:2} sont présents en quantités sensiblement égales.

Inconnu B : le C_{18:2} est plus abondant que le C_{16:0}

Inconnu C : le C_{18:3} est l'acide gras majoritaire. Le C_{16:0} est légèrement plus abondant que le C_{18:2} qui est sensiblement égale à C_{18:0}.

Paraffine : le C_{18:2} est majoritaire et très abondant.

Pour les lipides polaires :

- Phosphatidylinositol : le C_{16:0} et le C_{18:0} sont abondants avec une prédominance de C_{16:0}. Le C_{18:1} et le C_{18:3} sont présents en quantités sensiblement égales.

- Phosphatidylcholine : le $C_{16:0}$ et le $C_{18:2}$ sont abondants avec une légère prédominance de $C_{18:2}$.

- Phosphatidyléthanolamine : le $C_{16:0}$ est l'acide gras majoritaire suivi de $C_{18:0}$ en quantité sensiblement égale à $C_{18:2}$.

Inconnu D : le $C_{16:0}$ est l'acide gras majoritaire.

Lagenaria siceraria a $C_{16:0}$ comme acide gras le plus abondant dans les DAG et les lipides résiduels, et $C_{18:2}$ dans les AG libres et les TAG. L'acide palmitique est l'acide gras le plus abondant dans les lipides polaires.

3. Discussion et conclusion

Étant donné que les analyses que nous avons réalisées ont porté sur les cucurbitacées provenant des zones écologiques différentes, les différences observées peuvent être considérées comme dépendant de certaines conditions. Les conditions de milieu par exemple peuvent influencer la production lipidique des cucurbitacées, non seulement quantitativement mais aussi de façon qualitative au niveau des acides gras.

3.1. Constituants des classes lipidiques

La comparaison des différents constituants des lipides neutres étudiés peut être faite en examinant les histogrammes représentés sur la figure 33. Trois échantillons reproductibles ont servi à ces résultats.

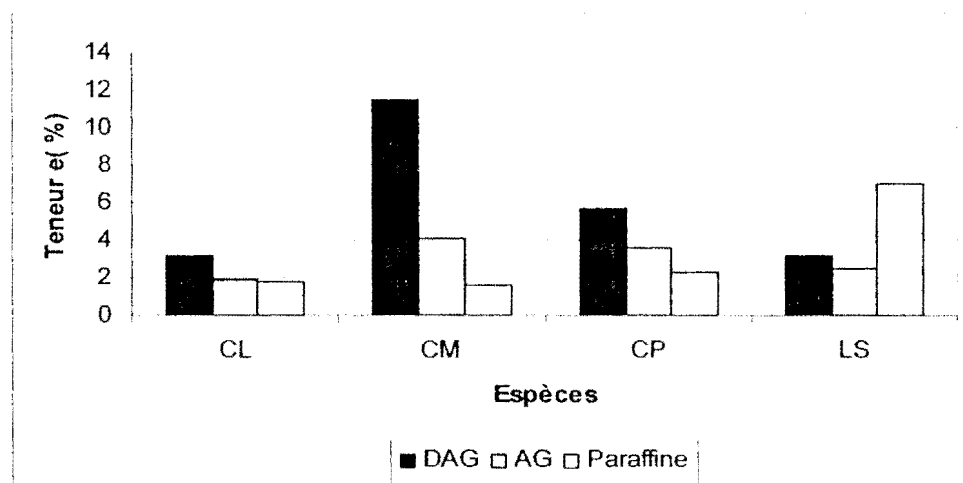


Figure 33 : Profil des constituants mineurs identifiés des lipides neutres.

Ces histogrammes sont construits d'une part, en retirant les TAG qui, à cause de leur trop grande quantité, entraînent l'aplatissement des autres constituants sur l'axe des abscisses, et d'autre part en regroupant les DAG.

Ceci revient à la recherche d'une discrimination des différentes espèces au niveau de mineurs, qui constituent finalement une sorte d'empreinte caractéristique. On constate que trois des

quatre espèces (CL, CM, CP) ont le même profil : TAG>DAG>AG>paraffines, même si l'amplitude de la variation est différente entre les trois espèces. Cette amplitude décroît dans le sens CM>CP>CL.

LS présente une inversion de la position des composés non estérifiés (paraffines, squalène...) qui viennent juste après les TAG d'une part, alors que les DAG sont toujours en quantités plus importantes que les AG, d'autre part : TAG>paraffines>DAG>AG.

Finalement, à l'inversion de la position des composés non estérifiés près, les quatre espèces présentent le même profil. Le même exercice pour les lipides polaires conduit à la figure 34 et au profil PC>PE>PI. On constate une parfaite similitude de la composition des quatre espèces.

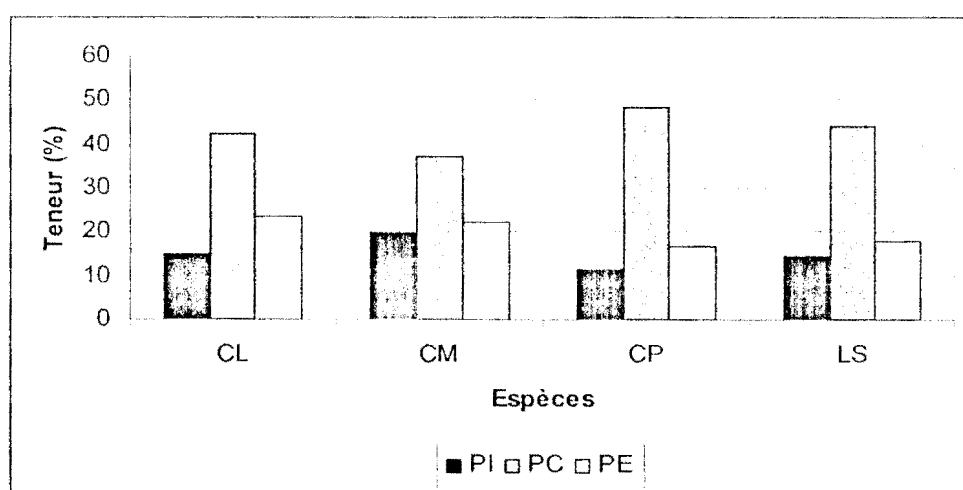


Figure 34 : Profil des constituants des lipides polaires identifiés.

3.2. Composition en acides gras des constituants des classes lipidiques

Une représentation de la répartition des cinq acides identifiés dans les différents constituants des classes lipidiques étudiées est extrêmement complexe. Cette complexité suggère une distribution totalement aléatoire des AG dans les différents composés.

Pour gagner en lisibilité, examinons successivement d'une part les lipides neutres, et d'autre part les lipides polaires.

3.2.1. Les lipides neutres

La figure 35 représente la distribution des acides gras, les DAG₁₋₂, DAG₁₋₃, AG, TAG pour les espèces de cucurbitacées CL, CP, CM, LS.

Pour l'acide palmitique C_{16:0}, on constate une totale ressemblance pour CL, CP et CM avec la même importance relative de cet acide dans les différentes classes. Dans LS, la quantité dans les AG libres baisse au détriment de celle dans les DAG. La quantité de C_{16:0} dans les TAG est faible, ce qui est une bonne situation quand on sait que les TAG constituent 60 à 80% des lipides ingérés par l'homme au cours de son alimentation.

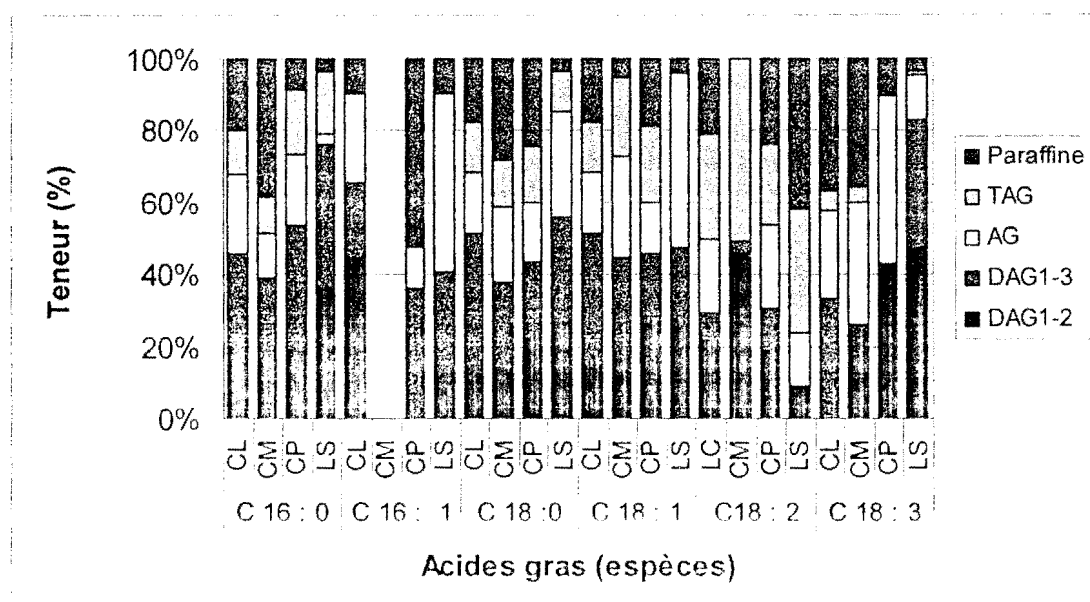


Figure 35 : Histogrammes représentant la répartition des acides gras dans les constituants des lipides neutres pour les 4 espèces de cucurbitacées.

Pour $C_{18:2}$, deux espèces sur quatre se ressemblent : CP et CL.

Pour $C_{18:0}$ et $C_{18:1}$, trois espèces se ressemblent (CL, CM et CP).

Pour $C_{18:3}$, les quatre espèces présentent des profils différents. Cet acide peut être utilisé dans la discrimination des espèces.

De manière globale, il est intéressant de remarquer que $C_{18:2}$ constitue 43 à 74% des acides gras des TAG ; les valeurs les plus élevées sont obtenues avec CL (67%) et LS (74%). On peut en première approximation, suggérer un classement décroissant d'intérêt nutritionnel, des espèces étudiées, en tant que source d'acides gras essentiels (AGE) : $LS > CL > CP > CM$.

3.2.2. Les lipides polaires

Comme pour la teneur en constituants des différentes classes lipidiques, la situation est plus simple pour les lipides polaires identifiés (Figure 36) ; elle peut être rendue par quatre cas limites :

- un des six acides identifiés peut être absent : c'est le cas de $C_{16:1}$ dans CM et de $C_{18:3}$ dans CP ;
- un seul des six acides peut constituer la quasi-totalité de la classe : c'est le cas de $C_{16:1}$ pour PE dans CP, de $C_{16:1}$ pour PC dans CL et de $C_{18:2}$ pour PC dans LS ;
- entre ces deux extrêmes, on peut noter une répartition équilibrée de l'acide dans les différentes classes ; c'est le cas de $C_{16:0}$ pour les quatre espèces ;
- les acides qui discriminent le mieux les quatre espèces sont le $C_{18:3}$ et le $C_{16:1}$; les différents histogrammes représentatifs des espèces sont totalement différents. La répartition de $C_{18:3}$ dans les lipides polaires des cucurbitacées pourrait servir de marqueur pour différentes espèces et $C_{16:1}$ comme marqueur spécifique.

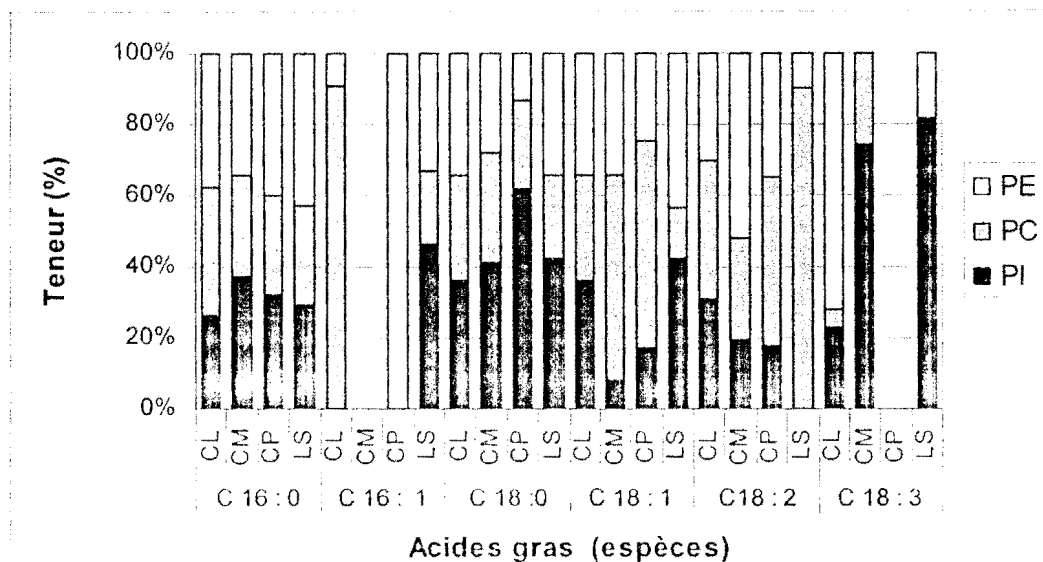


Figure 36 : Histogrammes représentant la répartition des acides gras dans les constituants des lipides polaires pour les 4 espèces de cucurbitacées.

De cette étude, illustrant l'extrême complexité de la répartition des AG dans les différentes classes des lipides extraites des graines de cucurbitacées, il ressort clairement que l'essentiel de $C_{18:2}$ est concentré dans les TAG et les acides $C_{18:3}$ et $C_{16:1}$ peuvent servir de facteur discriminant pour les quatre espèces étudiées.

Si nous considérons les lipides neutres, nous constatons que les cucurbitacées analysées ne présentent pas une grande originalité dans ce domaine. Chez les quatre espèces étudiées, ce sont les triacylglycérols qui constituent la majorité des lipides neutres, accompagnés parfois des diacylglycérols et d'acides gras libres en quantités plus ou moins importantes. Ceci permet d'être en accord avec les données de la littérature. En effet, les triacylglycérols sont les constituants les plus importants, l'accumulation des réserves lipidiques se faisant habituellement sous cette forme.

Les acides gras que nous avons trouvés dans les cucurbitacées ne montrent pas, à première vue, une grande originalité. Ils ne diffèrent pas de ceux qui sont présents dans tous les oléagineux. L'acide palmitique ($C_{16:0}$) et les acides gras de la série C_{18} : stéarique, oléique, linoléique et un peu de linoléique sont les plus importants.

Le $C_{16:0}$ est bien représenté dans toutes les catégories lipidiques. Les différences les plus significatives semblent résider au niveau des acides gras de la série C_{18} .

Si nous considérons les lipides polaires (phospholipides), nous constatons que les trois constituants essentiels identifiés sont : PC, PE et PI. PC et PE sont les plus abondants dans les quatre espèces étudiées.

Les phospholipides identifiés (lipides polaires) jouent des rôles très importants. Ils entrent notamment dans la constitution des membranes biologiques et principalement dans la formation des « oléosomes » où se déroulera la synthèse des triacylglycérols (GURR, 1980). Ils participent à la synthèse des TAG (ROUGHAN et SLACK, 1982).

Les inconnus n'ont pas été identifiés ; leur importance n'est pas négligeable.

Les cucurbitacées montrent entre elles certaines convergences. Elles sont très riches en TAG. On pense que la formation des TAG coïncide avec la diminution des taux des DAG, AG et phospholipides. Nos résultats montrent qu'il est possible d'établir des points de convergence entre les cucurbitacées. Ces résultats confirment une fois de plus que l'huile de courge est de type linoléique dont l'acide gras majoritaire est le C_{18:2}, acide gras essentiel et indispensable à l'homme.

CHAPITRE 4

COMPOSITION ET VARIABILITE DE LA FRACTION GLYCERIDIQUE DES LIPIDES DE QUATRE ESPECES DE CUCURBITACEES ALIMENTAIRES DU CONGO

L'étude des différentes classes des lipides de *Citrullus lanatus*, *Cucurbita moschata*, *Cucurbita pepo* et de *Lagenaria siceraria* a mis en évidence l'importance de la fraction glycéridique qui constitue près de 90% des lipides totaux.

Dans ce chapitre, nous présentons d'une part, l'étude de la variabilité de la composition en acides gras des graines issues d'une même espèce pour évaluer le degré d'homogénéité des semences telles qu'elles sont utilisées par les populations, et d'autre part, l'étude de la variabilité de la composition en acides gras et triacylglycérols des quatre différentes espèces étudiées pour mettre en évidence les différences inter spécifiques. Toutes ces données de base sont indispensables pour la mise en place d'un programme de sélection et d'amélioration des meilleures espèces en vue de la production des huiles à haut intérêt nutritionnel.

1. MATERIEL ET METHODES

1. Matériel végétal

Le matériel végétal étudié est celui déjà décrit au chapitre 2.

2. Méthodes d'analyse

L'extraction des lipides, la séparation des classes de lipides et l'analyse des acides gras par chromatographie en phase gazeuse avec détection par ionisation des flammes sont décrites aux chapitres 2 et 3.

Les triacylglycérols ont été transestérifiés afin d'analyser les acides gras correspondant sous forme d'esters méthyliques.

Nous présentons ici le matériel et les conditions opératoires pour la chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CPG/SM) et chromatographie liquide haute performance (HLPC) utilisées respectivement pour l'identification des acides gras mineurs et la détermination de la composition en triacylglycérols.

2.1. Couplage Chromatographie en phase gazeuse / spectrométrie de masse (CPG/SM)

Ce couplage permet l'identification non ambiguë des esters méthyliques majeurs et des composés mineurs.

Les esters des acides gras constituant l'huile de la graine, ont été analysés sur un dispositif constitué d'un chromatographe SHIMADZU GC-17A couplé à un spectromètre de masse de type quadripolaire SHIMADZU QP 500.

Le chromatographe est équipé d'une colonne DB5 (J & W) (5% phényle, 95% méthylsiloxane ; 30 m x 0,25 mm x 0,25 µm) ; gaz vecteur hélium (50 kpa) ; injection

splitless (température injection 300°C) ; programmation four de 40°C à 130°C à 9°C/min puis de 130°C à 290°C à 2°C/min ; palier de 10 min à 290°C.

Le spectromètre de masse fonctionne en mode d'ionisation par impact électronique à 70 ev, avec acquisition entre les rapports m/z 29 et 650 ; température de source : 160°C.

2.1.1. Chromatographie en phase gazeuse avec détection par ionisation de flamme

L'analyse quantitative est menée par étalonnage interne. Ainsi, la méthylation des acides gras de l'extrait lipidique total ou des différentes classes lipidiques se fait en présence d'un standard interne, C17 :0.

La séparation des esters méthyliques d'acides gras s'effectue sur un chromatographe (DELSI série 30) relié à un traceur intégrateur (Enica 21). La température de l'injecteur et du détecteur FID est de 250°C. Le gaz vecteur est l'hélium à 0,5 bar en tête de colonne et de débit 3 ml/min. Les esters méthyliques sont identifiés par référence aux temps de rétention des standards correspondants, obtenus dans les conditions citées ci-dessus.

2.2. Chromatographie Liquide Haute Performance (CLHP)

2.2.1. Conditions d'analyse

Les conditions sont celles décrites par HERON S. et TCHAPLA A., (1994).

La chaîne se décompose en : une pompe HP 1050 (HEWLETT PACKARD, PALO-ALTO, CA, Etats-Unis), une vanne d'injection Rhéodyne modèle 7125 avec une boule de 20 µl (RHEODYNE, COTATI, CA, Etats-Unis), un détecteur évaporatif à diffusion de lumière SEDERE SEDEX 75 (SEDERE, ALFORTVILLE, France). La température de la colonne a été contrôlée à l'aide d'un four CROCO-CIL (CLUZEAU, SAINTE-FOY-LA-GRANDE, France) à circulation d'eau régulée par un thermostat-cryostat JULABO UC F10 (TOUZART et MATIGNON, LES ULIS, France). L'acquisition des données s'est faite à l'aide du logiciel AZUR V2.0 (DATA LYS, SAINT-MARTIN D'HERES, France). Toutes les analyses ont été menées à 20°C avec la colonne KROMASIL C18 (5µm) 250×4,6 mm (THERMO QUEST, LES ULIS, France). La phase mobile est un mélange binaire optimisé MeCN/CH₂Cl₂ 63/37 avec un débit de 1 ml/min. Les paramètres du détecteur ont été optimisés et sont : T=37°C, P_{air}=2 bars, Gain=11, Constante de temps =1.

L'acétonitrile (ACROS, NEW JERSEY, Etats-Unis) 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 ; la concentration et le volume injecté ont été adaptés de telle façon qu'un pic pris en référence (LLL) ait toujours sensiblement la même aire.

Le standard utilisé la trilinoléine provient de chez SIGMA Chimie (ST-QUENTIN FALLAVIER, France).

2.2.2. Comparaison des huiles

Le détecteur évaporatif à diffusion de lumière 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 :

$$\text{Aire} = ax (\text{masse injectée})^b \text{ avec } 0,66 < b < 2$$

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 chaque coefficient de réponse a et b de chaque TAG présent, ni faire l'hypothèse qu'ils sont égaux).

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

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

2.3. Traitement des données.

Les traitements statistiques ont été réalisés avec le logiciel Excel 8.0 de Microsoft.

II. RESULTATS ET DISCUSSION

1. Variabilité de la composition en acides gras des graines des cucurbitacées

1.1. Variation de la composition en acides gras des graines individuelles au sein d'une même espèce

Pour l'étude intra spécifique, l'extraction d'huile s'est faite graine par graine pour un total de 20 graines par espèce choisies au hasard chez les vendeurs de semences de cucurbitacées à Brazzaville.

L'intérêt de cette étude est de savoir si les graines d'une même espèce sont homogènes ou non de façon à minimiser leur variabilité ultérieure après semis ; pour cela, nous utilisons le coefficient de variation noté CV correspondant au rapport de l'écart type à la moyenne.

Un échantillon sera considéré comme homogène si $CV < 20\%$, moyennement variable si $20\% < CV < 50\%$ et très variable si $CV > 50\%$.

Les Tableaux XXV à XXVIII donnent la composition en acides gras de chaque graine pour les quatre espèces étudiées.

L'analyse des huiles extraites de ces graines a permis de mettre en évidence 5 acides gras principaux : les acides palmitique ($C_{16:0}$), stéarique ($C_{18:0}$), oléique ($C_{18:1}$ n-9), linoléique ($C_{18:2}$ n-6) et linoléinique ($C_{18:3}$ n-3).

La moyenne calculée ne correspond à aucune réalité sur le terrain, mais sert à la discussion de la variation intra spécifique.

L'examen des coefficients de variation de 20 graines pour chaque espèce prise isolément indique que :

- CM et CI présentent les coefficients de variation les plus faibles ($CV < 20\%$) pour l'ensemble des AG. Ces espèces conduisent donc aux semences les plus homogènes ;

- CP et LS qui ont $10\% < CV < 43\%$, présentent une variabilité totale plus élevée ; leurs semences sont plus hétérogènes. Cependant, ces deux espèces présentent une faible variabilité spécifique par rapport à $C_{18:2}$ n-6, acide gras essentiel (CV respectivement égal à 20% et 10%).

Si on ne tient compte que de la composition en $C_{18:2}$ n-6 pour sélectionner les graines, une très bonne stabilité de la teneur en cet acide avec $5\% < CV < 20\%$ est à noter pour l'ensemble des espèces.

Tableau XXV : Variation de la composition en acides gras des lipides des graines individuelles de *Cucurbita pepo*

Numéro de la graine	Masse en acides gras (mg/g frais)	% des acides gras				
		$C_{16:0}$	$C_{18:0}$	$C_{18:1}$	$C_{18:2}$	$C_{18:3}$
1	85,254	15,7	8,4	18,2	57,3	0,4
2	36,699	15,8	11,3	35,4	37,4	-
3	37,706	16,3	11,7	33,3	35,8	3,00
4	33,621	16,3	11,7	33,3	35,8	3,00
5	22,871	16,3	11,7	33,3	35,8	3,00
6	85,948	14,2	9,00	19,4	56,8	0,7
7	76,946	13,8	8,3	16,00	61,8	-
8	70,043	14,9	8,5	14,9	61,3	0,4
9	122,26	18,00	8,6	19,00	54,3	0,2
10	104,31	15,1	8,1	15,5	61,00	0,3
11	83,676	14,5	8,1	17,1	60,00	0,2
12	93,576	8,7	8,3	22,9	59,8	0,3
13	102,74	21,1	8,7	12,6	57,3	0,3
14	32,411	25,5	8,4	30,00	33,4	2,8
15	72,390	19,6	7,8	18,4	53,4	0,9
16	86,818	16,2	7,8	17,7	57,9	0,4
17	84,038	16,3	8,1	18,4	57,3	-
18	71,216	16,6	8,7	21,1	53,7	-
19	93,515	13,5	8,9	15,5	61,9	0,3
20	103,03	16,2	9,1	13,1	61,6	-
Moyenne	74,9	16,2	9,1	21,3	52,7	1,1
Ec. type	28,1	3,3	1,4	7,4	10,4	1,2
CV(%)	37	20	16	35	20	-

Tableau XXVI : Variation de la composition en acides gras des lipides des graines individuelles de *Cucurbita moschata*.

Numéro de la graine	Masse en acides gras (mg/g frais)	% des acides gras				
		C _{16:0}	C _{18:0}	C _{18:1}	C _{18:2}	C _{18:3}
1	75,577	15,9	8,2	30,1	45,6	0,3
2	69,782	15,8	7,8	31,00	45,00	0,4
3	79,290	13,4	7,9	35,8	42,5	0,3
4	78,363	15,3	7,7	29,6	47,1	0,2
5	73,858	13,8	7,7	30,2	47,9	0,4
6	94,282	15,1	7,2	27,1	50,4	0,3
7	93,214	15,2	8,7	39,4	36,5	0,3
8	109,79	17,00	6,9	23,3	52,5	0,3
9	91,289	15,2	7,8	29,3	47,7	-
10	89,799	15,7	7,2	30,3	46,4	0,5
11	78,253	14,2	7,8	33,4	44,2	0,4
12	84,577	13,7	7,6	31,9	46,4	0,4
13	59,603	14,9	7,5	33,8	43,5	0,3
14	88,975	16,4	7,3	25,9	50,00	0,3
15	64,020	16,7	7,9	31,5	43,7	0,3
16	111,57	16,1	7,3	30,1	46,3	0,3
17	73,600	14,9	8,9	33,5	42,4	0,3
18	89,909	13,4	6,7	32,9	47,00	-
19	30,628	6,3	10,8	39,8	43,1	-
20	21,845	-	-	49,5	50,5	-
Moyenne	77,9	14,7	7,8	32,4	45,9	0,3
Ec. type	22,1	2,3	0,9	5,6	3,6	0,1
CV(%)	28	16	12	18	8	

Tableau XXVII : Variation de la composition en acides gras des lipides des graines individuelles de *Citrullus lanatus*

Numéro de la graine	Masse en acides gras (mg/g frais)	% des acides gras				
		C _{16:0}	C _{18:0}	C _{18:1}	C _{18:2}	C _{18:3}
1	127,73	10,3	10,9	13,1	65,7	-
2	92,879	6,1	10,6	13,3	57,7	-
3	96,512	8,4	8,8	14,5	67,8	0,5
4	69,224	10,4	10,7	13,6	64,8	0,4
5	93,729	10,5	11,1	11,5	66,9	-
6	108,64	8,2	8,9	13,4	69,3	0,3
7	62,73	10,1	10,1	13,2	65,9	0,5
8	68,979	9,6	12,1	12,8	65,1	0,4
9	126,67	8,5	12,2	14,6	64,4	0,4
10	99,65	7,00	11,6	10,7	70,2	0,5
11	118,47	5,9	12,9	13,3	67,3	0,6
12	NR	NR	NR	NR	NR	NR
13	123,02	10,00	10,00	17,6	60,9	1,4
14	110,05	9,6	8,3	11,7	68,00	2,4
15	107,35	10,7	9,1	12,00	66,80	1,4
16	86,20	13,00	7,6	14,7	59,7	5,1
17	97,734	11,6	10,7	14,4	61,5	1,9
18	89,463	10,4	10,7	17,00	61,1	0,9
19	101,44	11,1	9,8	12,1	65,8	1,3
20	96,647	9,00	11,8	11,6	66,2	1,4
Moyenne	98,8	9,5	10,4	13,4	65,00	1,2
Ec. type	18,17	1,8	1,4	1,8	3,4	1,2
CV(%)	18	19	10	13	5	-

NR= non réalisé

Tableau XXVIII: Variation de la composition en acides gras des lipides des graines individuelles de *Lagenaria siceraria*.

Numéro de la graine	Masse en acides gras (mg/g frais)	% des acides gras				
		C _{16:0}	C _{18:0}	C _{18:1}	C _{18:2}	C _{18:3}
1	69,873	8,1	6,6	25,00	60,3	-
2	77,619	8,9	6,3	9,4	75,4	-
3	75,796	9,1	6,2	21,8	62,8	-
4	70,239	8,8	7,3	28,6	55,3	-
5	80,522	9,3	7,2	9,3	74,1	-
6	86,648	14,4	8,7	14,4	62,5	-
7	114,85	9,1	6,5	17,4	67,00	-
8	106,59	9,7	8,9	18,9	62,5	-
9	149,88	8,4	7,9	13,6	70,1	-
10	91,315	9,8	6,1	7,6	76,4	-
11	86,889	11,8	7,1	11,4	69,8	-
12	85,992	13,00	7,2	8,8	71,00	-
13	63,861	10,3	6,8	10,6	72,3	-
14	51,722	23,9	6,6	14,9	54,6	-
15	101,04	10,7	7,00	8,4	73,9	-
16	76,710	9,9	7,2	19,4	63,4	-
17	101,98	12,5	6,5	15,1	65,9	-
18	116,90	12,00	6,6	7,00	74,00	-
19	109,59	18,3	9,6	15,8	56,4	-
20	101,64	12,3	6,9	8,2	72,6	-
Moyenne	91	11,5	7,2	14,3	67,00	-
Ec. type	22,4	3,8	0,9	6,1	7,00	-
CV(%)	24	33	13	43	10	-

1.2. Variation de la composition en acides gras des huiles des graines des différentes espèces

1.2.1. Composition en acides gras majeurs

L'étude inter spécifique a été réalisée pour chaque espèce sur des échantillons de 5 graines prélevées dans un lot commercial d'une espèce donnée après brassage et sensés être représentatifs des différentes espèces.

Les résultats obtenus consignés dans le tableau XXIX montrent que les acides gras des espèces étudiées présentent le même profil que ceux reportés dans les tableaux XXV à XXVIII. Le calcul de la valeur moyenne de la teneur des 5 acides gras pour les 20 graines des quatre espèces et leur coefficient de variation sont présentés dans les tableaux XXV à XXVIII. Les chiffres sont comparables, et, en tenant compte des écarts types, statistiquement identiques, l'acide linoléique est l'acide gras majoritaire. Sa teneur varie de 52 à 74%. Des

teneurs élevées de l'acide linoléique ont déjà été observées quel que soit le lieu de la culture au Congo (SILOU et al, 1990), au Niger (SILOU et al, 1999) et au Nigeria (ODERINDE et al, 1990 ; BADIFU, 1991). Cet acide gras essentiel qui intervient dans les fonctions biologiques vitales telles que les fonctions immunitaires, plaquettaires, rénales ou épidermiques (KARLESKIND, 1990) doit couvrir 3 à 6% des besoins énergétiques de l'homme (PASCAL, 1996).

Cet acide gras présentant la plus faible variabilité inter spécifique confirme ainsi l'identité de l'intérêt nutritionnel de ces quatre espèces.

Tableau XXIX: Composition en acides gras (en pourcentage) des 4 espèces de cucurbitacées du Congo

Acides gras	C _{16:0}	C _{18:0}	C _{18:1} n-9	C _{18:2} n-6	C _{18:3} n-3	R*
<i>Citrullus lanatus</i>	6,99	11,64	10,69	70,2	0,46	4,4
<i>Cucurbita moschata</i>	16,99	6,94	23,26	52,48	0,31	3,2
<i>Cucurbita pepo</i>	13,45	8,85	15,45	61,92	0,31	3,5
<i>Lagenaria siceraria</i>	12,02	6,59	6,99	74	0,39	4,4
Moyenne	12,36	8,51	14,10	64,65	0,37	3,9
Écart type	4,1	2,3	7	9,6	0,1	-
CV (%)	33,2	27	50	13,7	27	-
Moyenne**	13	8,6	19,6	57,7	0,8	-
Écart type**	3	1,4	9,7	10	0,5	-

CV : coefficient de variation

R* = (% AG insaturés)/(% AG saturés)

** : Valeurs moyennes calculées à partir des tableaux XXV à XXVIII

L'acide oléique (C_{18:1} n-9) présentant la variabilité la plus élevée avec CV égal à 50%, permet une discrimination des espèces. On sait actuellement que cet acide gras est impliqué dans la réduction des risques cardiovasculaires (HEYDEN, 1994 ; GRUNDY, 1986). Par rapport à cet acide gras, *Cucurbita moschata* est l'espèce la plus intéressante et *Lagenaria siceraria*, la moins intéressante. Entre ces deux extrêmes se positionnent *Citrullus lanatus* et *Cucurbita pepo*.

Les coefficients de variation de C_{16:0} et de C_{18:0}, acides gras saturés, sont respectivement de 33% et 27%. Ces acides sont présents à des pourcentages assez faibles (respectivement à 12,4% et à 8,5% en moyenne pour l'ensemble des espèces). Ceci est intéressant car ces deux acides ont un effet néfaste pour la santé : ils provoquent une élévation du taux de cholestérol sanguin (HAYES et KHOSLA, 1992).

Le rapport (% AG insaturés)/(% AG saturés) est en moyenne pour les quatre espèces compris entre 3,6 et 3,9 avec un coefficient de variation faible. Cela témoigne d'une part de la stabilité et d'autre part du bon niveau de la qualité nutritionnelle des huiles étudiées.

Les histogrammes construits à partir des 4 acides gras majeurs identiques pour les 4 espèces sont reportés dans la figure 37.

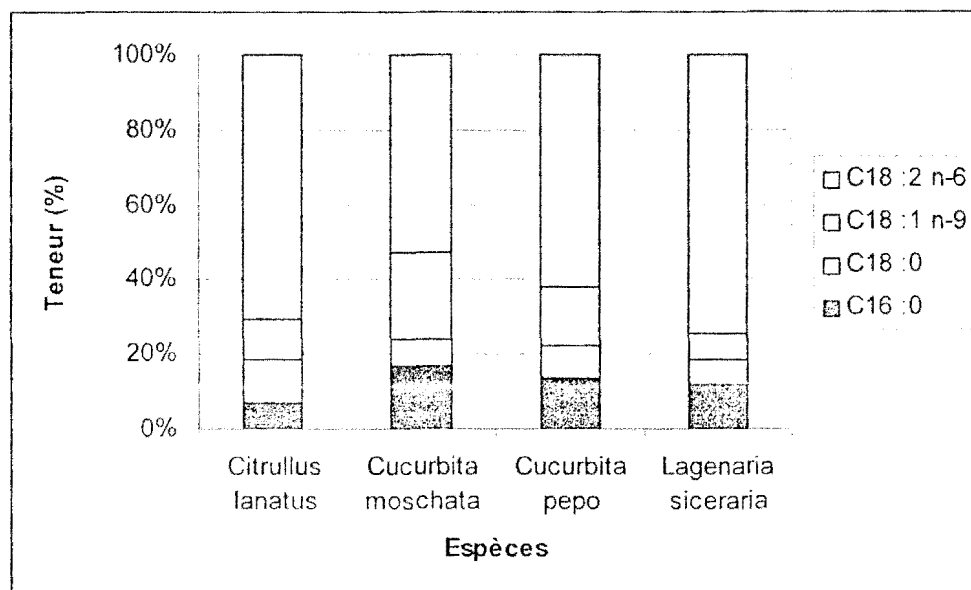


Figure 37 : Histogrammes des acides gras des huiles de 4 espèces de cucurbitacées alimentaires

Les teneurs respectives de ces AG varient de manière plus ou moins importante d'une espèce à une autre. On aboutit selon le cas à un maintien ou une modification du profil général des AG des huiles. Trois espèces sur quatre gardent le même profil en AG ; ce sont CL, CP et LS. CM présente une teneur en acide oléique plus importante, conduisant à un profil en AG différents du précédent.

1.2.2. Recherche des acides gras mineurs

La chromatographie en phase gazeuse ne permettant pas de déceler certains composés, le couplage CPG-SM peut-être considéré du point de vue méthodologique comme une technique complémentaire pour la détection et l'identification de composés caractéristiques présents en faibles quantités ou dans un chromatogramme complexe, avec la possibilité d'une recherche par fragmentométrie de masse (BLETON et al., 1998).

Les cucurbitacées sont caractérisées entre autre par la présence, dans certaines espèces de l'acide alpha oléostéarique $C_{18:3}$ (9Z, 11E, 13E) pouvant limiter l'intérêt nutritionnel de cette famille botanique. Dans la littérature, cet acide a été mis en évidence avec de très faibles teneurs dans *Cucurbita pepo*, *Cucurbita maxima* et *Cucumis melo* (GHALEB, FARINES et SOULIER, 1991). Pour les espèces du genre monordica, cet acide atteint des teneurs de l'ordre de 50% (ARMOUNGOM et al, 1998).

Afin de vérifier sa présence ou non dans les échantillons étudiés, nous avons recherché les produits mineurs présents par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse. Dans aucun cas nous n'avons décelé l'acide conjugué recherché.

2. Variabilité de la composition en TAG des graines des différentes espèces

Les triglycérides ont été identifiés grâce à des huiles témoins de composition parfaitement connue et étudiés dans les mêmes conditions chromatographiques (HERON et TCHAPLA, 1994).

A partir de la connaissance des différents AG obtenus par chromatographie en phase gazeuse et grâce à un programme informatique, on remonte à la composition théorique en TAG. Comme nous l'avons vu précédemment, la loi de réponse de DEDL est de la forme :

$$\text{Aire} = am^b$$

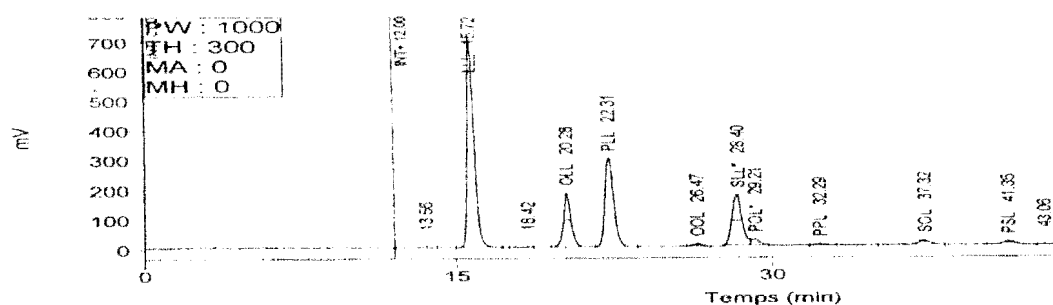
LLL étant un standard disponible, on a établi expérimentalement l'équation de la courbe d'étalonnage :

$$\text{Aire}_{\text{LLL}} = 8,915m^{1.4}$$

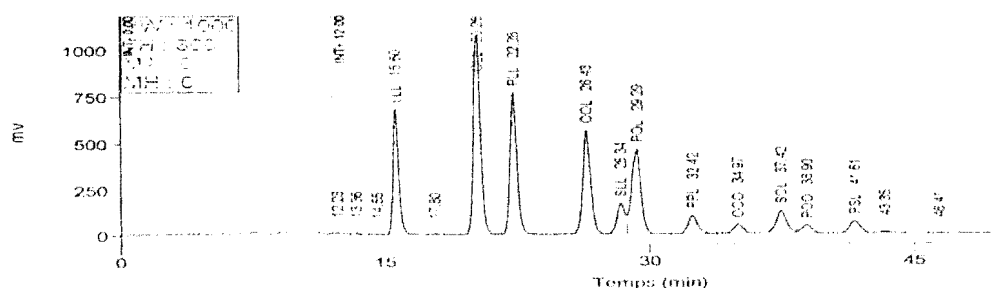
Si en première approximation, on suppose que a et b sont voisins (Thèse MALOUMBI, 2006), quel que soit le TAG, on peut comparer $(m_{\text{XYZ}}/m_{\text{LLL}})^{1.4}$ obtenu grâce au programme informatique et $\text{Aire}_{\text{XYZ}}/\text{Aire}_{\text{LLL}}$ valeurs déterminées expérimentalement pour les 4 espèces étudiées.

Sur les trente cinq (35) compositions triglycéridiques théoriquement possibles, on observe expérimentalement onze (11) de même nature dans les quatre espèces de cucurbitacées.

Cinq TAG majeurs ont été identifiés : LLL, OLL, PLL, OOL, SLL et six mineurs : POL, PPL, OOO, SOL, POO et PSL (figure 38).



(a) *Citrullus lanatus*



(b) *Cucurbita moschata*

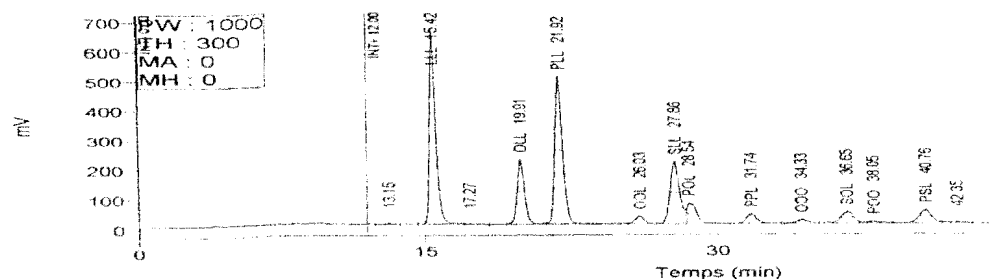
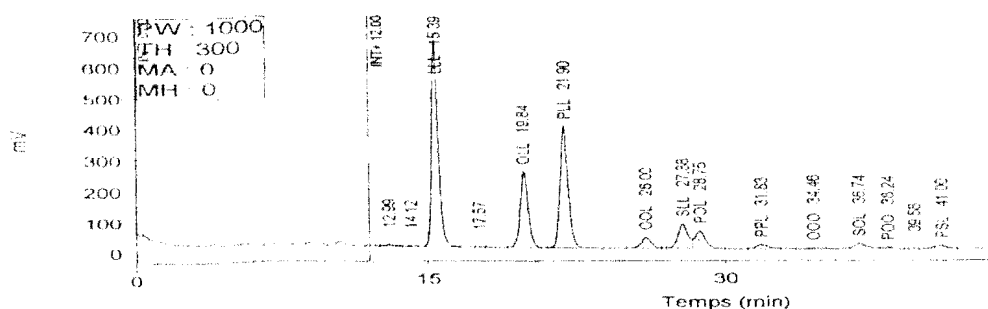
(c) *Cucurbita pepo*(d) *Lagenaria siceraria*

Figure 38 : Chromatogrammes des huiles de graines de 4 espèces de cucurbitacées étudiées

Les teneurs respectives de ces TAG varient de manière plus ou moins importante d'une espèce à une autre ; on aboutit selon le cas à un maintien ou une modification du profil général des TAG des huiles.

Ainsi, dans *Citrullus lanatus*, la composition quantitative de LLL, SLL, OLL et PLL représente plus de 80% des triglycérides totaux, avec prédominance de LLL (37%) ; dans *Cucurbita moschata*, la composition quantitative de OLL, LLL, PLL et POL représente plus de 60% des triglycérides totaux, avec prédominance de OLL (21%) ; dans *Cucurbita pepo*, la composition quantitative de LLL, OLL, PLL et SLL représente plus de 70% des triglycérides totaux, avec prédominance de LLL (25%) et dans *Lagenaria siceraria*, la composition quantitative de LLL, PLL, OLL et SLL représente plus de 80% des triglycérides totaux, avec prédominance de LLL (42%). Trois espèces sur quatre gardent un profil similaire en TAG ; il s'agit de *Citrullus lanatus*, *Cucurbita pepo* et *Lagenaria siceraria*. *Cucurbita moschata* présente une teneur en OLL qui est cinq fois plus élevée que la moyenne de cette teneur pour les trois espèces précédentes. Il s'en suit une modification de la hiérarchie dans la succession des TAG, conduisant à un profil en TAG différents du précédent. Ces résultats confirment les ressemblances observées dans les compositions en acides gras.

3. Conclusion

L'étude de quatre espèces de cucurbitacées alimentaires du Congo Brazzaville permet de constater que :

-la semence utilisée par les populations présente une homogénéité satisfaisante pour la production d'une huile ayant une teneur élevée en C_{18:2} n-6. La teneur en C_{18:1} n-9 est

meilleure dans *Cucurbita moschata* et *Citrullus lanatus* que dans *Cucurbita pepo* et *Lagenaria siceraria* ;

-les huiles extraites de quatre espèces se ressemblent totalement par leur composition qualitative en TAG : onze (11) des trente cinq (35) TAG attendus ont été identifiés ; ils sont les mêmes pour les quatre espèces. La teneur individuelle des TAG varie d'une espèce à une autre pour *Citrullus lanatus*, *Cucurbita pepo* et *Lagenaria siceraria* ; il y a conservation du profil général en TAG de l'huile. *Cucurbita moschata* a une teneur en OLL suffisamment élevée entraînant ainsi une modification de ce profil ;

-trois des cinq TAG majeurs contiennent les acides oléique et linoléique, les deux restants sont des combinaisons de deux acides linoléiques soit avec l'acide palmitique, soit avec l'acide stéarique. Les acides oléique et linoléique seraient donc préférentiellement fixés en position 2 du glycérol et donc totalement disponibles pour l'organisme. Une telle éventualité accroîtrait l'intérêt nutritionnel de cette famille botanique.

CHAPITRE 5

VALORISATION DES LIPIDES DES GRAINES DE *LUFFA CYLINDRICA*. ETUDE COMPARATIVE AVEC LES CUCURBITACEES ALIMENTAIRES

Les graines, la pulpe et les feuilles de certaines espèces de cucurbitacées sont très largement consommées par les populations d'Afrique Sub-Saharienne, notamment au Nigeria (BADIFU, 1991 ; GIRIS et TURNER, 1972 ; ONYEIKE et al, 1995 ; ODERINDE et al, 1990), au Niger (SABO SEINI, 2004 ; SILOU et al, 1999), au Congo-Brazzaville (SILOU et al, 1990) et au Congo Kinshasa (KABELE NGIEFU et WAKENG BULAMBO, 1982).

D'autres espèces de cucurbitacées non encore consommées dans cette région, se révèlent à l'analyse potentiellement intéressante pour l'alimentation humaine, c'est le cas de *Luffa cylindrica*. En effet, si les fruits jeunes de *Luffa cylindrica* sont consommés comme légumes dans certains pays tels que l'Inde et le Sénégal (BERHAUT, 1972), au Congo et dans la plupart des pays d'Afrique centrale, les fruits sont laissés à vieillir. Ils permettent d'obtenir une éponge végétale servant comme un gant de crin pour frotter la peau. Ni les graines, ni les feuilles ni les jeunes fruits sont destinés à l'alimentation en Afrique équatoriale.

A travers cette étude, nous voulons marquer notre intérêt à une meilleure connaissance de *Luffa cylindrica* afin de dégager son importance potentielle dans l'alimentation humaine.

I. MATERIEL ET METHODES

1. Matériel végétal



Figure 39 : *Luffa cylindrica*

Luffa cylindrica est une plante herbacée à tiges lianescentes de 3 à 6 m de long, marquées de fins sillons longitudinaux.

Les feuilles ont un pétiole de 3 à 10 cm, et un limbe qui est de 3 à 5 cm palmatilobé. La plante s'accroche à son support par des vrilles.

Les fleurs mâles sont jaunes, regroupées en racèmes portant 10 à 20 fleurs; les fleurs femelles sont solitaires. Le fruit est une baie pendante, cylindrique, de 15 à 20 cm de long. Le fruit a l'aspect d'une courgette dont l'intérieur est revêtu d'un système fibreux résistant.

Les jeunes pousses, les feuilles, les boutons floraux et les fruits peuvent être consommés.

Aux Antilles, les jeunes pépons à côtes lisses sont cuisinés en daube, ratatouille, carrys de poulet ou de porc.

Le fruit séché est mis à tremper durant plusieurs jours, il est nettoyé de sa pulpe et de ses graines, puis blanchi. Après séchage, il reste un pain fibreux utilisé comme éponge végétale, exfoliant dermique (gant de crin), aussi pour récurer les ustensiles de cuisine.

Originaire de l'Inde, cette plante est largement cultivée sous les tropiques.

Noms français : Eponge végétale ou liane torchon.

Noms vernaculaires : Nsana (laari), Minsana (beembé), Ntsana (téké).

2. Méthodes d'analyse

L'extraction des lipides, la détermination de la teneur en huile des graines, l'identification des classes lipidiques par chromatographie en couche mince, la détermination de la composition en acides gras par chromatographie en phase gazeuse (CPG) et en triglycérides en CLHP sont décrites dans les chapitres 3 et 4.

Les traitements statistiques ont été réalisés avec le logiciel Excel 8.0 de Microsoft.

II. RESULTATS ET DISCUSSION

1. Différentes classes des lipides

Contrairement aux autres cucurbitacées, au niveau de lipides neutres, nous avons dans le cas de *Luffa cylindrica* détecté une seule tâche vers le front du solvant qui pourrait être assimilable à des composés non estérifiés, tels que le squalène, les paraffines, etc.... Nous n'avons pas observé des tâches A, B et C comme dans les autres cucurbitacées étudiées.

Les TAG, principaux constituants de la fraction glycéridique sont en quantités très importantes.

Les lipides polaires de *Luffa cylindrica* sont formés exclusivement de phosphatidylinositol (PI), phosphatidylcholine (PC) et de phosphatidyléthanolamine (PE). Les deux premiers constituants sont présents en proportions presque égales de l'ordre de 40% et le dernier à près de 20%.

Nous n'avons pas observé comme dans le cas des cucurbitacées alimentaires, les deux classes de diacylglycérols 1-2 et 1-3.

Tableau XXX: Composition des lipides neutres et polaires de *Luffa cylindrica* (% de la masse des acides gras totaux).

Classe des lipides	Pourcentage de la masse des AG totaux (%)
DAG	2,0
AG	3,5
TAG	90,6
Composés non estérifiés (NE)	1,7
Total des lipides neutres	97,8
PI	38,6
PC	41,9
PE	19,5
Total des lipides polaires	100

2. Composition en acides gras des différentes classes

Les résultats des analyses chromatographiques sont regroupés dans le tableau XXXI.

Tableau XXXI: Composition (%) en acides gras des lipides neutres et polaires de *Luffa cylindrica*.

Acides gras	C _{16:0}	C _{18:0}	C _{18:1}	C _{18:2}	C _{18:3}
Lipides résiduels	25,8	9,0	16,3	42,5	6,4
DAG	17,2	11,4	15,6	40,2	15,8
AG	18,5	12,0	14,9	44,0	10,6
TAG	15,1	7,6	23,5	53,2	3,6
NE	23,3	11,5	17,1	36,0	12,0
PI	26,2	8,4	13,1	37,5	14,9
PC	26,8	13,1	13,9	36,1	10,1
PE	37,4	10,8	12,6	29,0	10,2

Comme pour les espèces alimentaires, l'acide gras majoritaire des lipides résiduels de *Luffa cylindrica* est C_{18:2} (43%) suivi de C_{16:0} (26%). Dans les DAG, C_{18:2} est l'acide gras le plus abondant avec une teneur de 40%. Au niveau des AG libres, C_{18:2} est l'acide gras majoritaire suivi de C_{16:0} et C_{18:1}. C_{18:2} est l'acide gras majoritaire des TAG et des composés non estérifiés.

C_{18:2} et C_{16:0} sont abondants avec prédominance de C_{18:2}, aussi bien dans les lipides neutres que dans PI, PC (lipides polaires). Par contre C_{16:0} est l'acide gras majoritaire dans PE.

Les quantités de C_{18:3} observées sont nettement supérieures à celles de *Cucurbita moschata*. Le taux de C_{18:3} pourrait être un paramètre de reconnaissance des cucurbitacées.

Ces résultats confirment que l'huile de *Luffa cylindrica* est fortement insaturée (GHALEB, FARINES et SOULIER, 1991) comme les huiles de *Citrullus lanatus*, *Cucurbita moschata*, *Cucurbita pepo* et *Lagenaria siceraria*.

3. Profil en triacylgcérols des huiles de graines de *Luffa cylindrica*.

Le tableau XXXII présente, pour chacun des 11 TAG identifiés, les rapports des aires théoriques et expérimentaux. L'identité des profils en TAG issus des 2 méthodes, valide la composition expérimentale de l'huile étudiée (figure 40).

Tableau XXXII : Composition (en %) des huiles de graines de *Luffa cylindrica*

Triacylgcérols	Résultats statistiques (%)	Résultats expérimentaux (%) AireTAG/Aire LL
OOL	149,1	96,4
LLL	100,0	100,0
PLL	92,0	100,0
POL	77,7	44,3
OOL	47,8	28,0
SLL	36,7	25,5
SOL	31,1	11,7
PPL	19,1	6,4
PSL	18,2	9,4
POO	9,4	7,9
OOO	3,3	4,7

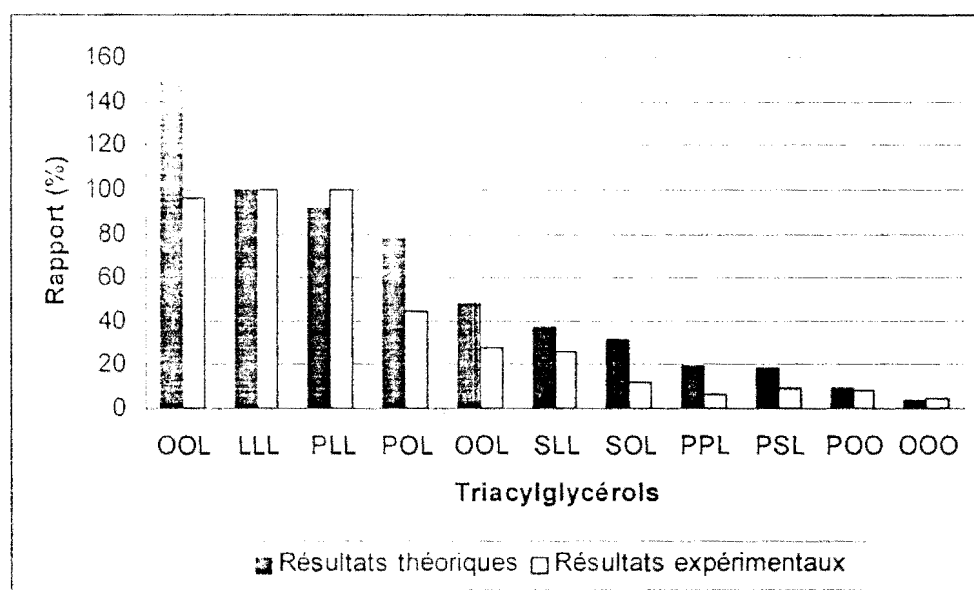


Figure 40 : Comparaison des résultats statistiques et expérimentaux (AireTAG/Aire LLL).

Cette identification a été confirmée par des résultats obtenus sur des huiles témoins de composition parfaitement connue et étudiées dans les mêmes conditions chromatographiques et présentant les mêmes TAG (HERON et TCHAPLA, 1994).

En définitive, sur les trente cinq 35 compositions de TAG théoriquement possibles dans cette étude, on observe expérimentalement 11 de même nature ; il s'agit de 5 TAG majeurs: LLL, OLL, PLL, OOL, SLL et 6 mineurs : POL, PPL, OOO, SOL, POO et PSL.

Cette technique conduit à une bonne résolution des pics du chromatogramme tout en étant semi quantitative comme le montre la figure 41. Pour une étude indépendante, la même conclusion ressort dans la thèse de MALOUMBI (2006) sur « l'étude de la biodiversité des graines de quelques cucurbitacées d'Afrique sub-saharienne. Mise au point d'une méthode de caractérisation de la fraction saponifiable».

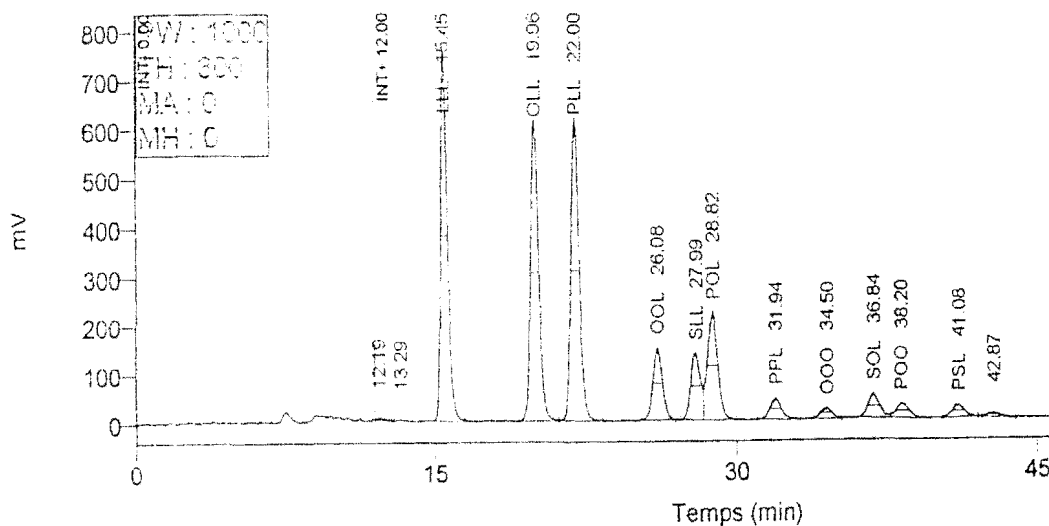


Figure 41 : Chromatogramme CLHP de *Luffa cylindrica*

Les huiles de *Luffa cylindrica* contiennent des acides gras couramment rencontrés dans les huiles végétales, à savoir les acides palmitique, stéarique, oléique et linoléique. Ce sont des huiles de type linoléique. La teneur en acide linoléique ($C_{18:2}$), acide gras essentiel dont la teneur est 50% par rapport à la teneur totale en acides gras, renforce l'intérêt nutritionnel et diététique des huiles de *Luffa cylindrica*.

L'acide linoléique $C_{18:2}$, qui est majoritaire dans l'huile totale semble s'accumuler préférentiellement dans les TAG aussi bien dans les cucurbitacées alimentaires que pour *Luffa cylindrica*. Comparativement avec *Cucurbita moschata*, cette accumulation est 20% de plus que dans *Luffa cylindrica*. Cette situation est très intéressante sur le plan nutritionnel d'autant plus que *Luffa cylindrica* a 90% de ses lipides constitués de TAG. L'acide linoléique $C_{18:3}$, autre acide gras essentiel est présent en plus grande quantité. Avec une teneur en $C_{18:3}$ de 4%, *Luffa cylindrica* conduirait plutôt à une huile d'assaisonnement qu'à une huile de friture. Les graines de *Luffa cylindrica* donnent une huile comestible, riche en AGE et pourrait être utilisée en cosmétologie.

4. Etude comparative avec les autres cucurbitacées

La comparaison des données (tableau XXXIII) d'une part de *Citrullus lanatus*, *Cucurbita moschata*, *Cucurbita pepo*, *Lagenaria siceraria* et d'autre part *Luffa cylindrica* permet de faire des rapprochements entre les différentes cucurbitacées.

4.1. Les lipides résiduels.

CL, CM et LC sont très proches.

CP et LS sont proches.

4.2. Les lipides neutres.

- Les diacylglycérols et les acides gras : CL, CP et LC sont proches.
- Les triacylglycérols : CL, CP et LS sont proches (inversion d'acides gras par ordre d'importance).

4.3. Les lipides polaires.

- Phosphatidylinositol : CM et LS sont proches
- Phosphatidylcholine : CL, CP, LS et LC sont proches
- Phosphatidyléthanolamine : CL, CP et LC sont proches.

Globalement, dans toutes les espèces étudiées, l'acide linoléique, C_{18:2} est l'acide gras majoritaire ; le rapport acides gras insaturés/ acides gras saturés est de 4,3 pour *Citrullus lanatus* et *Lagenaria siceraria*, 3,2 pour *Cucurbita moschata* et *Luffa cylindrica* et de 3,4 pour *Cucurbita pepo*.

Ces huiles ont des compositions quantitatives divergentes. Dans *Citrullus lanatus*, *Cucurbita pepo* et *Lagenaria siceraria*, les triglycérides majoritaires sont : LLL, SLL, OLL et PLL ; dans *Cucurbita moschata* et *Luffa cylindrica* ; ce sont : OLL, LLL, PLL et POL. Dans tous les cas, ces triglycérides contiennent au moins deux acides gras insaturés. Ces résultats sont en parfait accord avec ceux de la littérature. Il est donc possible d'établir des convergences entre les cucurbitacées. Outre les paramètres étudiés, le rapport acides gras insaturés/acides gras saturés montre qu'une classification peut être établie. *Cucurbita moschata* et *Luffa cylindrica* présentent une composition en acides gras quantitativement similaire. Les proportions respectives d'acides palmitique, stéarique, oléique et linoléique sont très proches. Cependant l'acide linoléique est plus important dans le *Luffa cylindrica*.

Dans une huile la quasi totalité des acides gras n'existent pas à l'état libre, ils entrent dans la constitution des TAG. C'est donc au niveau des TAG qu'il faudrait rechercher les similitudes et les différences.

A ce niveau si par exemple on considère *Cucurbita moschata* et *Luffa cylindrica*, on s'aperçoit que leur seule différence se situe sur les quantités de OLL et OOL ; on passe de *Luffa cylindrica* à *Cucurbita moschata* par simple augmentation de la quantité de OLL et OOL.

Le tableau XXXIV, montre à titre comparatif la composition en acides gras de quelques huiles alimentaires avec nos résultats sur les cucurbitacées étudiées. Les cucurbitacées donnent une huile dont la teneur est du même ordre que les huiles citées en référence.

Tableau XXXIV : Comparaison de la composition en acides gras de quelques huiles végétales alimentaires et des cucurbitacées étudiées par rapport aux acides gras totaux.

Acides gras	C _{16:0}	C _{18:0}	C _{18:1}	C _{18:2}	C _{18:3}
Soja	11	4	23	54	8
Noix	6-8	1-3	14-21	54-65	9-15
Tournesol	7	5	19	68	0
CL	7	12	11	70	0,5
CM	17	7	23	52	3
CP	13	9	15	62	0,3
LS	12	6	7	74	0,3
LC	15	8	24	53	3,6

Le tableau XXXIV, montre à titre comparatif la composition en acides gras de quelques huiles alimentaires avec nos résultats sur les cucurbitacées étudiées. Les cucurbitacées donnent une huile dont la teneur est du même ordre que les huiles citées en référence.

Tableau XXXIV : Comparaison de la composition en acides gras de quelques huiles végétales alimentaires et des cucurbitacées étudiées par rapport aux acides gras totaux.

Acides gras	C _{16:0}	C _{18:0}	C _{18:1}	C _{18:2}	C _{18:3}
Soja	11	4	23	54	8
Noix	6-8	1-3	14-21	54-65	9-15
Tournesol	7	5	19	68	0
CL	7	12	11	70	0,5
CM	17	7	23	52	3
CP	13	9	15	62	0,3
LS	12	6	7	74	0,3
LC	15	8	24	53	3,6

CONCLUSION GENERALE ET PERSPECTIVES

Nous avons entrepris l'exploration de la composition lipidique de cinq espèces de cucurbitacées dont quatre alimentaires.

Les graines des cucurbitacées étudiées nous donnent une huile dont la teneur est de même ordre que celle des huiles de tournesol, noix, et de soja. Ces huiles constituées en majorité des acides gras courants sont des huiles de type linoléique. Les graines de cucurbitacées étudiées, ont un profil similaire aux huiles de soja, de noix et de tournesol (tableau XXXIV). Dans ce cas leur utilisation est envisageable.

Les valeurs de l'indice d'iode, caractéristiques des huiles fortement insaturées, sont conformes à la composition en acides gras, avec plus de 60% de teneur en acides gras insaturés. Toutefois, le chauffage même prolongé, à des températures modérées (<150°C) n'altère que très faiblement ces huiles ; ce qui permet de conclure de leur stabilité à la chaleur.

Les valeurs de l'indice d'acide, sont en faveur des huiles acides.

La teneur en insaponifiables compris entre 1 et 4% atteste leur richesse en composés terpéniques et stéroliques.

L'étude des classes lipidiques (lipides neutres et polaires) a montré l'extrême complexité de la répartition des acides gras. Il ressort clairement que l'essentiel de l'acide linoléique $C_{18:2}$ est concentré dans les TAG et les acides linoléique $C_{18:3}$ et palmitoléique $C_{16:1}$ peuvent servir de facteur discriminant pour les espèces de cucurbitacées étudiées. Les cucurbitacées analysées ne présentent pas une grande originalité dans les lipides neutres. Les TAG constituent la majorité des lipides neutres. Au niveau des lipides polaires, les trois constituants identifiés sont PC, PE et PI avec PC et la PE comme les lipides les plus abondants.

L'étude de la variabilité de la composition en acides gras des graines issues d'une même espèce a permis de montrer d'une part que la semence utilisée par les populations présente une homogénéité satisfaisante pour la production d'une huile ayant une teneur élevée en $C_{18:2}$ et d'autre part que les huiles extraites présentent des similitudes par leur composition qualitative en TAG. L'étude de la variabilité de la composition en acides gras et triglycérides a mis en évidence les différences interspécifiques. En effet, la teneur individuelle des TAG varie d'une espèce à une autre ; cette variation n'entraînant aucune modification de l'importance relative des TAG. Il y a donc peu de variabilité dans les acides gras des graines de chacune des espèces donc l'huile est homogène. Comme $C_{18:2}$ est majoritaire, ces huiles sont intéressantes du point de vue nutritionnelle tout comme les huiles de soja, de noix et de tournesol.

Luffa cylindrica, cucurbitacée encore non consommée au Congo-Brazzaville a été comparée aux cucurbitacées traditionnellement consommées, afin d'approfondir nos connaissances sur cette espèce et en fin de compte, dégager son importance alimentaire.

Les huiles de *Luffa cylindrica* contiennent des acides gras couramment rencontrés dans les huiles végétales. La teneur en acide linoléique, $C_{18:2}$, acide gras essentiel dont la teneur est 50% par rapport à la teneur totale en acide gras renforce l'intérêt nutritionnel et diététique des huiles de *Luffa cylindrica*. Avec une teneur en acide linoléique, $C_{18:3}$, autre acide gras essentiel de 4%, *Luffa cylindrica* conduirait plutôt à une huile d'assaisonnement que de friture.

Une étude comparative de la composition en TAG entre d'une part, de *Citrullus lanatus*, *Cucurbita moschata*, *Cucurbita pepo*, *Lagenaria siceraria*, et d'autre part *Luffa cylindrica* a permis d'établir des rapprochements entre ces différentes cucurbitacées. Ces huiles ont des

compositions quantitatives divergentes. Les triglycérides majoritaires chez *Citrullus lanatus*, *Cucurbita pepo* et *Lagenaria siceraria* sont LLL, SLL, OLL et PLL ; par contre chez *Cucurbita moschata* et *Luffa cylindrica* sont OLL, LLL, PLL et POL. Dans tous les cas, ces triglycérides contiennent au moins deux acides gras insaturés. Les proportions respectives d'acides gras (palmitique, stéarique, oléique et linoléique) sont très proches dans *Cucurbita moschata* et *Luffa cylindrica* ; cependant l'acide linoléique est plus important dans le *Luffa cylindrica*. Il y a similitude entre les huiles de *Cucurbita moschata* et *Luffa cylindrica*. Toutefois les teneurs de ces différents TAG varient, parfois de façon importante, d'une espèce à une autre.

Le spectre de la qualité d'huile alimentaire contient principalement les acides palmitique, stéarique, oléique, linoléique et linoléique. Les résultats obtenus montrent bien que les huiles de graines des cinq cucurbitacées sont de bonnes huiles alimentaires. Si nous considérons la définition de certains nutritionnistes qui précisent qu'il ne suffit pas que l'huile contienne un taux déterminé d'acides gras essentiels pour être idéale, mais il faut également que ces acides gras soient assimilables, nous pouvons conclure que les graines de cucurbitacées du Congo sont de bonne qualité par leur teneur importante en acide linoléique, acide gras essentiel.

Nous pensons que l'huile de graines des cucurbitacées peut trouver ses lettres de noblesses auprès des consommateurs africains, européens, américains etc..., comme l'huile d'arachide, de tournesol, de soja, d'olive et autres.

Ce travail d'exploration est loin d'être terminé. L'étude de la qualité de l'huile est à poursuivre. Il restera à déterminer la position des acides gras sur les triglycérides et la composition de l'insaponifiable (tocophérols, stérols, alcools triterpéniques...).

Une recherche systématique des produits nouveaux, susceptibles de valoriser le matériel végétal nous intéresse. La mise au point de technique d'isolement de protoplastes et de mise en culture cellulaire sur certaines variétés pourront ouvrir les perspectives intéressantes de sélection et d'amélioration génétiques en conditions agronomiques.

En effet, l'étude de caractères agronomique et biochimique effectuée plante par plante, en serre dans des conditions contrôlées de température et d'hygrométrie pourrait permettre de sélectionner une population d'individus à teneur en huile élevée.

Dans le cas des cucurbitacées du Congo, il n'existe malheureusement aucun travail scientifique de nature botanique, agronomique.

Ainsi, à plus long terme, la poursuite de ce travail pourra s'articuler pour plusieurs raisons sur trois volets :

- évaluation de la situation agronomique et caractérisation de la ressource (biodiversité)
- mise en place des champs expérimentaux (éventuellement des serres agricoles)
- sélection et amélioration de la ressource.

De ce travail dépendra la réponse à la question suivante :

« Existe-t-il une variabilité en fonction des conditions de culture »?

BIBLIOGRAPHIE

1. ACHU M.B., FOKOU E., TCHIEGANG C., FOTSO M., TCHOUAN GUEP F.M., (2005). Nutrive value of some cucurbitaceae from different regions in Cameroon. *Afr. J.Boitech.*, 4(11) 1329-1334.
2. ADRIAENS E.L., (1951). Les oléagineux du Congo Belge. Ministère des colonies ; Direction de l'Agriculture et de l'Elevage, Bruxelles, 2^{ème} édition, 291-296.
3. AFNOR, (1981). Recueil des normes françaises, corps gras, graines oléagineuses, Paris France, 2^{ème} Edition.
4. ANDERSON B.A., CHRISTIE W.W., HOLMAN R.T., (1975). Mass Spectrometric Determination of positions of double bonds in polyunsaturated fatty acid pyrrolidides. *Lipids*, 10, 215-219.
5. APPELQVIST L. A., (1975). Biochemical and structural aspects of storage and membrane lipids in developing of seed. In: Recent advances in the chemistry and biochemistry of plant lipids. T. GALLIARD, E.P. SPENCER ed., Academic press, New York, 247-286.
6. APPELQVIST L. A., (1980). Biogenesis of lipids in oilseed plants. In: Biogenesis and function of plant lipids. P. MAZLIAK, P. BENVENISTE, C. COSTES et R. DOUCE, ed. Elsevier/ North Holland, Biomedical Press, Amsterdam, 177-189.
7. ARMOUNGOM R., GRODIN I., SMADJA, (1998). Composition en acides gras des extraits lipidiques de quelques graines de cucurbitacées tropicales, *OCL*, 5(4): 323-328.
8. AUTRET M., (1984). Graines oléagineuses et nutrition protéique de l'homme. In, courrier, n° 86, Juillet-Août, 71-76.
9. BADIFU G.I.O., (1991). Chemical and physical analyses of oils from four species of cucurbitaceae. *J.Amer.Oil Chem.*, 68(6), 428-432.
10. BAFOR M., SMITH M.A., JONSSON L., STOBART K., STYMNE S., (1991), *Biochem.J.*, 280, 507-514.
11. BATTEY J.F., SCHMID K.M., OHLROGGE J.B., (1989). Genetic engineering for plant oils: potentiel and limitations. *Trends of Biotech.*, 7: 122-126.
12. BEEVERS H., (1980). The role of the glyoxylate cycle. In: Biochemistry of plants. IV Lipids: Structure and function. STUMPF P. K., ed. Academic Press New-York, London, 117-130.
13. BERGSTRÖM S., SAMUELSSON B., (1968). The prostaglandins Endeavour, 27: 109-113.
14. BERHAUT J., (1972). Flore illustrée du Sénégal, Gouvernement du Sénégal, Ministère du Développement rural et de l'hydraulique, Direction des eaux et forêts, tome III, 634 pages.
15. BINTOUNGUI J.P., (2005). Caractéristiques physico-chimiques, potentialités technologiques et variabilité intraspécifique des graines de *Lagenaria siceraria* d'Afrique. Mémoire de DEA, 50 pages
16. BLETON J., MEJANELLE S., GOURSAUD, TCHAPLA A., (1986). Identification of the main fatty acids component of the cork suberine by GC/MS. *Analisis Magazine* 26.
17. BLIGH L.G., DYER A.J., (1959). A rapid method for total lipid extraction and purification. *Can.J.Biochem.*, 37, 911-917.
18. BOUSTANI S., COLETTE C., MONNIER L., DESCOMPS B., CRASTES De PAULET A., MENDY F., (1987). Enteral absorption of eicosapentaenoic acid in different chemical forms. *Lipids*. 22: 711-714.

19. BRETSCHER M.S. (1973). Membrane Structure: Some General Principles, *Science*, 181: 622-629.
20. BROCKERHOFF H., (1975). Stereospecific analysis of triacylglycerides. *Lipids*, 6, 942-956.
21. BROWSE J.A., SLACK C.R., (1981). Catalase stimulates linoleate desaturation in microsome preparations from developing linseed cotyledons. *Febs Lett.*, 131, 111-114.
22. BROWSE J.A., SLACK C.R., (1983). The effects of temperature and oxygen on the rates of fatty acid synthesis and oleate desaturation in safflower (*Carthamus tinctorius* L.) seed. *Biochim. Biophys. Acta.*, 753, 145-152.
23. BROWSE J.A., SLACK C.R., (1985). Fatty acid synthesis in plastids from maturing safflower and linseed cotyledons. *Planta*, 166, 74-80.
24. BROWSE J.A., SOMERVILLE C., (1991). Glycerolipid synthesis: biochemistry and regulation. *Annu.Rev.Plant Physiol- Plant.Mol.Biol.*, 42, 467-506.
25. BUREAU J., MESSEAN A., (1994). La culture industrielle : des nouveaux enjeux pour les producteurs. *OCL1(2)*, 125-126.
26. CALGENE, (1995). Calgène cultive la première plante oléagineuse transgénique. La vie des sociétés. *Biofutur*, page 34.
27. CHERIF A., MAZLIAK P., (1978); Formation de l'acide linoléique dans les graines de tournesol. *Rev. Fr. Corps Gras*, 25, 15-20.
28. CHERIF A., (1975). Formation de l'acide linoléique dans les tubercules de pomme de terre et dans les graines de quelques espèces oléagineuses (lin, colza, tournesol). *Thèse de Doctorat d'Etat es-sciences naturelles*, Paris, 101p.
29. CHUMAN L., BRODY S., (1989). Acyl carrier protein is present in the mitochondrion of plants and eukaryotic microorganisms. *EUR. J. Biochem.*, 184, 643-649.
30. COMBE N., (1996). Les techniques d'analyses de l'oxydation lipidique. *O.C.L.3*, (3) 200-204.
31. CRASTES De PAULET A., (1994). Importance des apports lipidiques pour le développement psychomoteur du petit enfant : insuffisance en acides gras polyinsaturés des laits premier âge. *OCL1(1)* : 14-15.
32. DREUX M., LAFOSSE M., (1995). Chap.13, Evaporative Light Scattering Detection of Carbohydrates in HPLC dans EL RASSI Z « Carbohydrates analysis » Ed ELSEVIER Amsterdam Coll: *J. of Chromatography Library*, 58, 515-525.
33. DOBARGANES C. (1998). Formation and analysis of high molecular weight compound in frying fats and oils, *OCL*, 5 (1): 41- 47.
34. EARLE F.E., MELVIN E.H., MASON L.H., VAN ETTEN C.H., WOLFF I.A., (1959). Search for new industrial oils.I. Selected oils from 24 plant families. *J.Am.Oil chem.Soc.*, 36, 304-307.
35. EVRARD J., (1993). Valorisation industrielle des acides gras des huiles végétales. *Oleoscope* : II. (Proléa CETHOM, eds).
36. FACCIONI D., VIC KNAUF, (1955). Triglycerides as products of photosynthesis. Genetic Engineering. Fatty acid. Composition and Structure of triglycerides. *Lipid in photosynthesis*, 225-248.
37. FAUR L., (1975). Utilisation de l'huile de palme de friture profonde. Performances comparées. *Rev.Fsc. Corps Gras*, 47, 77-83.
38. FERRANTE G., KATES M., (1986a). Identification of oxygenated and related products of oleyl-CoA and linoleoyl-CoA metabolism by cell fractions of soybean suspension cultures. *Biochim.Biophys.Acta.*, 876, 417-428.

39. FERRANTE G., KATES M., (1986b). Characteristics of the oleyl- and linoleoyl-CoA desaturase and hydroxylase systems in cell fractions from soybean cell suspension culture. Biochim.Biophys.Acta., 876, 429-437.
40. FOSSATI P., (1994). Les huiles de poisson : actualités scientifiques et médicales. OCL1 (3) : 178-180.
41. FRENTZEN M., (1993). Acyltransferases and triacylglycerols. In Lipid Metabolism in Plants., T.S. MOORE, JR., ed (Boca Raton, FL: CRC Press), 195-231.
42. GENNITY J.M., STUMPF P.K., (1985). Studies on the A12 desaturase of *Carthamus Linctoruis L.* Arch.Biochem.Biophys., 239, 444-451.
43. GHALEB M.L., FARINES M., SOULIER J., (1991). Composition chimique des huiles de graines de citrouille, courge, melon. Revue française des corps gras n° 1 et 2.
44. GIRIS P., TURNER T.D., (1972). Lesser Known Nigerian edible oils and fats.III Fatty acid compositions are determined by gas-liquid chromatography. J. SCI. Fd Agric. 23: 259-262.
45. GRAY D.A., KEKWICK R.G.O., (1996a). Intracellular location of oleate desaturase and associated constituents in developing sunflower (*helianthus annuus*) seeds. Plant Science., 119, 11-21.
46. GRAY D.A., KEKWICK R.G.O., (1996b). Oleate desaturase activity in sunflower (*helianthus annuus*) seeds and its relation to associated constituents during seed development. Plant Science., 115, 39-47.
47. GRUNDY S.M., (1986). Monounsaturated fatty acids, plasma cholesterol, coronary heart disease. Am. J. Clin. Nutr. 1168-1175.
48. GUILLAUMIN R., (1973). Huiles chauffées, méthodes physico-chimiques d'appréciation. Résultats obtenus. Rev.Fsc. Corps gras 2 et 3, 457-462.
49. GUNSTONE F.D., (1986). Fatty acid structure. The lipid handbook (Gunstone); F.D. Harwood, J.L. and Padley, F.B., eds 1-24- Chapman-Hall, New-York.
50. GUNSTONE F.D., HAMILTON R.J., PADLEY F.B., ILYAS-QURESHI M., (1965). Glyceride Studies. V. The distribution of unsaturated acyl groups in vegetable triglycerides. J. Am. Oil chem. Soc., 42, 965-970.
51. GURR M.I, (1980). The biosynthesis of triglycerols. In Biochem Plant., 4 ed. Stumpf P.K. and Connee, 205-248.
52. HANDBOOK of Chemistry and physics, (1968), Editor R.C. WEAST, published by Chemical rubber Co Cleveland.
53. HARWOOD J.L., (1988). Fatty acid metabolism. Annu.Rev.Plant Physiol., 39, 101-138
54. HAYES K.C., KHOSLA P., (1992). Dietary and thresholds and cholesterolmia, Am. Soc. Exp. Biol., 6, 2600-2607.
55. HEINZ E., ROUGHAN P.C. (1983). Similarities and differences in lipid metabolism of chloroplast isolated from C_{18:3} and C_{16:3} plants. Plant Physiol., 72, 273-279.
56. HERMAN E.M., MELROY D.L., BUCKHOUT T.J., (1990). Apparent processing of a soybean oil body protein accompanies the onset of oil mobilization. Plant Physiol., 94, 341-349.
57. HERON S., TCHAPLA A., (1994). Choix des phases stationnaires et mobiles pour la séparation en chromatographie en phase liquide de triglycérides de corps gras. Analisis, 22, 114-126.

58. HERON S., TCHAPLA A., (1994). Utilisation d'un modèle d'interaction moléculaire pour l'optimisation de la séparation des triglycérides de corps gras en CPL. *OCL*, 1(3), 219-228.
59. HEYDEN S., (1994). Polyunsaturated and monounsaturated fatty acids in the diet to prevent coronary heart disease via cholesterol reduction, *An. Nutr. Metabol.*, **308**, 117-122.
60. HILDITCH T.P., WILLIAMS P.N., (1964). The chemical constitution of natural fats. Chapman and Hall, London, 745 pages.
61. HORTON E.W.: Prostaglandins, vol.7, Monographs on Endocrinology, Springer-Verlag, New York, 1971. Traité récent sur tous les aspects de la recherche sur les prostaglandines.
62. JACOTOT B., (1994). Acides gras mono-insaturés alimentaires et lipoprotéines: intérêt du régime méditerranéen. *OCL*(2) : 97-98.
63. JOYARD J., DOUCE R., (1977). Site of synthesis of phosphatidic acid and diacylglycerol in Spinach chloroplasts. *Biochim.Biophys.Acta.*, **486**, 273-285.
64. KABELÉ NGIEFU, WA KENG BULAMBO. (1982). Composition en acides gras totaux des huiles de *Citrullus lanatus* (Thumb) Mansfeld et de *Lagenaria siceraria* (Molina) Stanley. *Ann.Fac.Sci.Kinshasa* ; Zaïre, Vol.4, 91-102.
65. KACHOURI M., M'SALLEM.ZARROUK M., CHERIF A., (1994). Comparative study of oil composition in four olive varieties. In *Plant Lipid Metabolisms*. Ed. Kader J.C., Mazliak P. Kluwer academic publishers, Dordrecht, Boston, London: 567-569.
66. KADER J.C. (1996). Lipid-Transfer proteins in plant. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, **47**, 627-654.
67. KALINSKI A., WEISEMANN J.M., MATTHEWS B.F., HERMAN E.M., (1990). Molecular cloning of a protein associated with soybean seed oil bodies that is similar to thiol proteases of papain family. *J.Biol.Chem.*, **265**, 13843-13848.
68. KARLESKIND A., (1990). Manuel des corps gras. Paris. Lavoisier, Technique et Documentation, Vol.1
69. KENNEDY E. P., (1961). Biosynthesis of complex lipids. *Fed. Proc. Am. Exp. Biol.*, **20**, 934-940.
70. KERAUDREN, (1967). Flore du Cameroun. Cucurbitacées. Muséum National d'Histoire Naturelle. Paris.
71. KINKELA T., BEZARD J., (1993a). Les lipides de quelques produits alimentaires congolais. *Sci.Aliments.*, **13**, 567-573.
72. KINKELA T., BEZARD J., (1993b). Étude de la structure des triacylglycérides de l'huile de la pulpe de safou (*Dacryodes edulis*). *Rev. Fr. Corps Gras.*, **40** (11/12), 273-382.
73. KINKELA T., BEZARD J., (1997). Étude de la composition triglycéridique des lipides des graines de courges (*Citrullus lanatus*), *OCL*. Sous presse.
74. KINNEY A.J., (1993). Phospholipid Heat groups. *Lipid Metabolism in Plants*, T.S.Moore. ed. CRC Press, Boca Raton, Ann Arbor London Tokyo.
75. KISSOTOKENE-NTINOU O., (1987). Contribution à l'étude des corps gras de quatre espèces de cucurbitacées du Congo. *Mémoire d'Ingénieur*. Université Marien Ngouabi- Brazzaville. 152 pages.
76. KLIERE J., (1992). Histoire des corps gras in Manuel des corps gras, Lavoisier, Paris.
77. LARDANS A., TREMOLIERES A., (1992a). Fatty acid elongation activities in subcellular fractions of developing seeds of *Limnanthes alba*. *Phytochem.*, **31**, 121-127.

78. LARDANS A., TREMOLIERES A., (1992b). Fatty acid elongation activities in subcellular fractions of developing seeds of *Limnanthes alba*. Metabolism, structure and utilization of Plant Lipids.
79. LARRUSO S., PASCUSSE E., (1983). Riv.Ital.Sost.Grasse., **60**, 737.
80. LASSNER M., (1997). Transgenic oilseed crops: a transition from basic research to product development. Lipid Technology, 5-9.
81. LEPAGE M., (1964). The separation and identification of plant phospholipids and glycolipids by two-dimensional thin-layer chromatography. J.Chrom., **13**, 99-103.
82. MANGOLD H.K., (1964). Thin-layer chromatography of lipids. J.Am.Oil chem.Soc., **41**, 762-773.
83. MAZLIAK P., TCHANG F., (1983). Installation et utilisation des réserves lipidiques dans les graines oléagineuses. Bul. Soc. Bot. F., **34**, 49-56.
84. Mc DONALD B.E., (1995). Oil properties of importance in human nutrition, Brassica oilseeds: production and utilization, KIMBER D. and Mc GREGOR D.J. eds. Wallingford UK: CAB international, 291- 299.
85. METCALFE L.D. SCHMITZ A.A., PEKA J.R., (1966). Rapid preparation of fatty acids esters from lipids for gas chromatographic analysis. Anal. Chem., **38**, 514-515.
86. MONGA P.K., MUNSHI S.K., SUKHJA P.S., (1983). Lipid biosynthesis in the developing sunflower (*Helianthus annuus* L.) seeds. Plant Sci. Letters, **31**, 311-321.
87. MORIN L., DRONNE Y., (1995). Les débouchés industriels des huiles et graisses. Carrefour Colza, 17-19 Janvier 1995, Rennes.
88. MORIN L., DRONNE Y., REQUILLART V., (1994). La demande non alimentaire des huiles et des graisses. OCLI(3), 188-190.
89. MURPHY D.J., CUMMINS I., (1989a). Purification and immunogold localisation of the major oil-body membrane protein of oilseed rape. Plant Sci., **59**, 2563-2570.
90. MURPHY D.J., CUMMINS I., (1989b). Seed oil-bodies: isolation, comparison and role of oil-body apolipoproteins. Phytochemistry, **28**, 2063-2069.
91. MURPHY D.J., (1990). Structure, function and possible biotechnological uses of oleosins (oil body proteins) from oilseeds. Dans Plant Lipid Biochemistry, Structure and utilization (QUINN P. et HARWOOD J.L., eds), 477-479. Portland Press, London.
92. MURPHY D.J., (1992). Modifying oilseed crops for non-edible products. Tibtech. **10**: 84-87.
93. MURPHY D.J., (1994). Designer oil crops. Breeding, Processing and Biotechnology. Ed. Murphy D.J. VCH publishers, Weinheim, New-York, Basel, Cambridge, Tokyo.
94. MURPHY D.J., (1993). Structure, function and biogenesis of storage lipid bodies and oleosins in plants. Prog.Lipid.Res., **32**, 247-280.
95. MUTO S., BEEVERS H., (1974). Lipase activities in castor bean endosperm during germination. Plant Physiol., **54**, 23-28.
96. NAKAVOUA A., (2005). Thermo et photo-oxydation des huiles végétales tropicales. Mémoire de DEA. 45 pages.
97. NIKOLOVA-DAMYANOVA B.N., CHRISTIE W.W., HERSOLF B., (1990). The structure of the triacylglycerols of meadowfoam oil. J. Am. Oil chem. Soc., **67**, 503-507.
98. NORTON G., HARRIS J.F., (1983). Triacylglycerols in oilseed rape during seed development. Phytochemistry, **12**, 2703-2707.

99. ODERINDE R., TAIRO O., AWOFAL F., AYEDIRAN D., (1990). A study of the chemical composition of some members of cucurbitaceae family. Riv. Ital.Sostanze Grasse., 67, 259-262.
100. OHLROGGE J., BROWSE J., (1995). Lipid Biosynthesis. The Plant Cell, 7, 957-970, American Society of Plant Physiologists.
101. OHLROGGE J.B., KUHN D.N., STUMPF P.K., (1979). Subcellular localization of acyl carrier protein in leaf protoplasts of *Spinacia oleracea*. Proc.Natl.Acad.Sci. USA., 76, 194-198.
102. OHLROGGE J.B., SHINE W.E., STUMPF P.K., (1978). Characterization of plant acyl-ACP and acyl-CoA hydrolases. Arch.Biochem.Biophys.Acta., 189, 382-391.
103. OMOTI U., OKIY A.D., (1987). Characteristics and composition of the pulp oil and cake of the african pear, *Dacryodes edulis* (G. DON) H.J.LAM. Food Agric., 38, 67-72.
104. ONYEIKE E.N., OLUNGWE T., UWAKWE A., (1995). Effect of heat treatment and defating on proximate composition of some Nigerian soup thickeners, Food Chemistry, 53, 173-175.
105. OTTAVIANI P.; GRAILLE J.; PERFETTI P., NAUDET M. (1979). Produits d'altération thermo oxydatives des huiles chauffées II. Composés apolaires ou faiblement polaires, Chem. Phys. Lipids, 24, 57 – 77.
106. OYENUGA V.A., BABATUNDE L., FETUGA, (1975). Some aspects of the biochemistry and nutritive value of the water melon seed (*citrullus vulgaris*, schrad). J.Sci. Fd Agric., 26, 843-854.
107. PASCAL G. (1996). Les apports quotidiens recommandés en lipides et en acides gras. OCL, 3: 205-210
108. PIONEER HI-BREED International Inc., (1988). Improved rapeseed exhibiting an enhanced oleic acid content. Publication number EP0566216 A2.
109. PRINCEN L.H., ROTHFUS J.A., (1984). Development of new crops for industrial raw materials. J. Am. Oil Chem Soc. 61(2): 281-289.
110. PRINCEN L.H., (1979). New crop developments for industrial oils. J.Am.Oil chem.Soc., 56, 845-848.
111. PROCTER, GAMBLE Company, (1989). Salad/ cooking oil balanced for health benefits. Publication number EP0326198 A2.
112. RENARD M., PELLETIER G., (1994). Amélioration génétique de colza pour des utilisations non alimentaires. Colloque VANA, 18-19 Mai 1994, Nantes.
113. RICHARDS D.E., TAYLOR R.D., MURPHY D.J., (1993), Plant Physiol.Biochem., 31, 89-94.
114. ROBBELEN G., HIRSINGER T., (1982). Improvement of oil-seed and Industrial Crops by Induced Mutations, 161-170. IAEA, Vienne.
115. ROSOANANTOANDRO M.C., (1986). Transformation des huiles végétales par voie thermique et catalytique. Thèse. Montpellier, France. 250 Pages.
116. ROTHFIELD L.I. (ed): Structure and function of Biological Membranes, Academic, New York, 1971. Série d'articles sur les aspects biologiques des membranes.
117. ROUGHIAN P.G., SLACK C.R., (1977). Long-chain acyl-Coenzyme A synthetase activity of Spinach chloroplasts is concentrated in the envelope. Biochem.J., 162, 457-459.
118. ROUGHIAN P.G., SLACK C.R., (1982). Cellular organization of glycerols metabolism. Ann.Rev.Plant Physiol., 33, 97-132.

119. ROUGHAN P.G., HOLLAND R., SLACK C.R., (1979). On the control of long-chain fatty acid synthesis in isolated intact spinach (*Spinacia oleracea*) chloroplasts. Biochem.J., **184**, 193-202.
120. SABO SEINI A., (2004). Inventaire de sources mal connues de nutriments: etudes prospectives de la teneur en nutriments des graines de diverses cucurbitacées du Niger. Thèse Doctorat Université ABDOU MOUMOUNI, Niamey, 176 pages.
121. SEBEDIO J.L., CHRISTIE W.W., (1998). Trans fatty acids in human nutrition. The oily Press ed. Glasgow. Page 318.
122. SILOU TH., KISSOTOKENE-NTINO O., MVOULA TSIERI M., OUAMBA J.M., KIAKOUAMA S., (1990). Contribution à l'étude des corps gras de quatre espèces de cucurbitacées du Congo. J.Soc.Chim.Tunisie II., **11**, 13-21.
123. SILOU TH., MAMPOUYA D., LOKA LONYANGE W.D., SAADOU M., (1999). Composition globale et caractéristiques des huiles extraites de cinq espèces de cucurbitacées du Niger. La Rivista Italiana Delle Sostanze Grasse. Vol. LXXXVI. Marzo 1999.
124. SIMS R.P.A., Mc GREGOR W.G., PLESSERS A.G., MESS J.C., (1961) Lipid changes in maturing oil bearing plants. I Gross changes in safflower and flax. J. am. Oil. Chemist's Soc., **38**, 273-328.
125. SLACK C.R., ROUGHAN P.G. and BALASINGHAM N., (1978); Labelling of glycerolipids in the cotyledons of developing oilseeds by [1-¹⁴C] acetate and [2-³H] glycerol. Biochem.J., **170**, 421-433.
126. SLACK C.R., ROUGHAN P.G., BROWSE S., (1979). Evidence for an oleoyl phosphatidylcholine desaturase in microsomal preparations from cotyledons of safflower (*Carthamus tinctorius* L.) seed. Biochem.J., **179**, 649-656.
127. STOBART A.K., STYMNE S., (1985). The regulation of the fatty acid composition of the triacylglycerols in microsomal preparations from avocado mesocarp and the developing cotyledons of safflower. Planta, **163**, 119-125.
128. STOBART A.K., STYMNE S., GLAD G., (1983). The synthesis of linoleate and phosphatidic acid and its relationship to oil production in the microsomes of developing safflower (*Carthamus tinctorius* L.). Biochim. Biophys. Acta., **754**, 292-297.
129. STOBART A.K., STYMNE S., HOGLUND S., (1986). Safflower microsomes catalyse oil accumulation in vitro: a model system. Planta, **169**, 33-37.
130. STYMNE S., APPELQVIST L. A., (1978). The biosynthesis of linoleate from oleyl-CoA via oleyl phosphatidylcholine in microsomes of developing safflower seeds. Europ J. Biochem., **90**, 223-229.
131. STYMNE S., STOBART A.K., (1984a). Evidence for the reversibility of acyl-CoA: lysophosphatidylcholine acyltransferase in microsomal preparation from developing safflower (*Carthamus tinctorius* L.) cotyledons and rat liver. Biochem.J., **223**, 305-314.
132. STYMNE S., STOBART A.K., (1984b). The biosynthesis of triacylglycerols in microsomal preparations of developing cotyledons of sunflower (*Helianthus annuus* L.). Biochem.J., **220**, 481-488.
133. STYMNE S., STOBART A.K., (1985). Oil synthesis in vitro in microsomal membranes from developing cotyledons of *Linum usitatissimum* L. Planta, **164**, 101-104.
134. STYMNE S., STOBART A.K., GLAD G., (1983). The role of the acyl-CoA pool in the synthesis of polyunsaturated 18-carbon fatty acids and triacylglycerol production in microsomes of developing safflower seeds. Biochim.Biophys.Acta., **752**, 198-208.

135. THOMPSON J.A., PAULLOISE N.M., REDDY B.R., KRISHNAMURTHY R.G., (1967). A limited of fats and oil commercialy used deep fat frying. Food and technologies., 21, 87-89.
136. TÖPFER R., MARTINI N., SCHELL J., (1995). Modification of plant lipid synthesis. Science, 268, 681-686.
TREMOLIERES A., (1988); Les lipides végétaux. Voies de biosynthèse des glycérolipides. 50 pages. Bibliothèque des Universités. Paris Sud.
137. TRIKI S., (1981). Evolution des lipides de la graine de tournesol (*Helianthus annuus* L.) au cours de la maturation. Thèse de Doctorat de Spécialité. Faculté de Tunis, 102p.
138. TZEN J.T.C., LAI Y.K., CHAN K.L., HUANG A.H.C., (1990). Oleosin isoforms of high and low molecular weights are present in the oil bodies of diverse seed species. Plant Physiol., 94, 1282-1289.
139. U.I.P.C.A., (1979). Méthode d'analyse des matières grasses et dérivés. 6^{ème} édition, CNRS, Paris, 600 pages.
140. VANCE V.B., HUANG A.H.C., (1987). The major protein from lipid bodies of maize. Characterization and structure based on cDNA cloning., J.biol.chem., 262, 11275-11279.
141. VASCONCELLOS J., BERRY J.W., WEBER W., (1980). The property of cucurbita foetidissima seed oil. J.Ann.Oil chem.Soc., 310-313.
142. VICK B., BEEVERS H., (1978). Fatty acid synthesis in endosperm of young castor bean seedlings. Plant Physiol., 62, 173-178.
143. WALKING A.E., ZAMCHINSKI N.Z., (1970). Fatty acid methodology for heaving oil. J.Am.Oil chem.Soc., 47, 530-534.
144. WANNER G., THEIMER R.R., (1978). Membranous appendices of spherosomes (oleosomes). Possible role in fat utilization in germinating oil seeds. Planta, 140, 163-169.
145. WANNER G., FORMANECK H., THEIMER R.R., (1981). The ontogeny of lipid bodies (spherosomes) in plant cells.Ultrastructural evidences. Planta, 151, 109-123.
146. WEAIRE P.J., KEKWICK R.G.O., (1975). The synthesis of acids in avocado mesocarp and cauliflower bud tissue. Biochem.J., 146, 425-437.
147. WEETE J.D., (1980). Lipid biochemistry of Fungi and other organism. Plenum Press, New-York, London.
148. WHITE G.A., WOLFF I.A., (1968). From wild plants to new crops in USA. World Crops, 20, 70-76.
149. WOLFF J.P., (1968). Manuel d'analyse des corps gras, Paris.
150. YAMADA M., USAMI Q., (1975). Long chain fatty acid synthesis in developing castor bean seeds. IV. The synthetic system in proplastids. Plant Cell Physiol., 16, 879-884.
151. YOUNIS Y.H.M., GHIRMAY S., AL-SHISHRY S.S.,(2000). African Cucurbita pepo L.: properties of seed and variability in fatty acid composition of seed oil. Phytochemistry, 54(1), 71-74.

ANNEXIE

CONTRIBUTION A L'ETUDE DES CORPS GRAS DES GRAINES DE QUATRE ESPECES DES CUCURBITACEES CULTIVEES AU CONGO

TH. SILOU¹, O. KISSOTOKENE-NTINO¹, M. MVOULA TSIERI¹, J.M. OUAMBA¹, S. KIAKOUAMA¹

¹Laboratoire d'Etudes Physico-Chimiques

B.P.69 Faculté des Sciences Brazzaville CONGO.

RESUME :

Les huiles des graines de 4 espèces de Cucurbitacées du Congo (*Citrullus lanatus*, *Cucurbita moschata*, *Cucurbita pepo*, *Lagenaria siceraria*) ont été étudiées. Ce sont des huiles de type linoléique avec, en général, plus de 50% d'acide linoléique (C18 : 2 acide gras essentiel) et au total plus de 70% d'acides gras insaturés. On note, par ailleurs, la présence de l'acide palmitoléique (C16 : 1) dans *Citrullus lanatus* et de l'acide margarique (C17 : 0) dans *Lagenaria siceraria*. Leur teneur élevée en acide linoléique laisserait supposer une assez grande fragilité à chaud. Pourtant, l'évaluation de l'altération de ces huiles par mesure globale des caractéristiques physiques et chimiques (viscosité, E 268, Indice d'acide, Indice d'iode) ou par analyse des acides gras indique un comportement assez proche de celui des huiles d'arachide et d'olive. La teneur en acide linoléique qui, dans tous les cas, est inférieure à 2,5% renforce cette idée de stabilité relativement bonne jusqu'à 170°C. Elles peuvent être considérées comme de très bonnes huiles de table ou d'assez bonnes huiles de friture douce.

SUMMARY

Oils from 4 species of cucurbitaceae from Congo (*Citrullus lanatus*, *Cucurbita moschata*, *Cucurbita pepo*, *Lagenaria siceraria*) were studied. The oils are of the linoleic type and have in general more than 50% Linoleic acid (C18:2, essential fatty acid) and more than 70% unsaturated fatty acids. One also find some palmitoleic acid (C16:1) in *Citrullus lanatus* and some margaric acid (C17:0) in *Lagenaria siceraria*. Their high content in linoleic acid may suggest some instability at high temperature. However the evaluation of the alteration of these oils through their physical and chemical characteristics (viscosity, E323, E268, acid index iodine index) or through the analysis of the fatty acids shows a behavior similar to that of peanut and olive oils. The linolenic acid content which is in all cases less than 2.5% strongly supports the idea of relatively good stability up to 170°C. These oils may be considered as good dressing oil or good oil for low temperature frying.

I. INTRODUCTION

Les cucurbitacées sont des plantes oléoprotéagineuses qui sont utilisées à travers le monde pour la couverture des besoins aussi bien lipidiques que protéiques dans l'alimentation de l'homme (Réf. 1 à 9). Les graines de Cucurbitacées sont également utilisées en thérapeutique comme "vermifuge non irritant et sans toxicité" tandis que l'huile extraite de ces pépins sert à

"prévenir les caries" et posséderait "des propriétés calmantes et cicatrisantes pour le tube digestif, une activité vivifiante et tonifiante sur les systèmes nerveux, ostéomusculaire et cardiovasculaire" (Réf. 10).

Au Congo, les Cucurbitacées sont cultivées pour leurs graines, leurs fruits et leur feuillage à des fins alimentaires et médicinales. Elles occupent une superficie totale de 12,9 hectares environ, ce qui représente 50% de la surface occupée par l'arachide, principale source d'huile végétale avec le palmier à huile (Réf. 11). En médecine traditionnelle, les feuilles, appliquées aux abcès les font mûrir, tout comme elles sont utilisées contre les filaires et les diverses irritations de la peau ; les graines sont utilisées comme vermifuge et pour faciliter l'accouchement des femmes enceintes ; les lianes constituent un remède contre les règles douloureuses, la blennorragie chronique ; les tiges sont utilisées en bain de vapeur, contre les courbatures fébriles (Réf. 12).

C'est une famille végétale qui est donc au centre de la vie et des activités des populations du Congo. Nous allons, dans cet article, nous limiter à l'aspect oléagineux des 4 espèces de Cucurbitacées cultivées au Congo. L'analyse des matières grasses sera suivie d'une évaluation qualitative de leur altération à la suite d'un chauffage prolongé.

II. MATERIELS ET METHODES

1. Matériel végétal.

Les quatre espèces de Cucurbitacées étudiées viennent de Kinkoula, District de Mouyondzi, Région de la Bouéza au Congo.

Elles sont produites par des paysans sur des terrains en pentes, à sols ferrallitiques et argilo-sableux. Les parcelles de culture sont écobuées et se composent de planches dont les dimensions varient de 3 à 5m sur 0,80 à 1,10m.

Les Cucurbitacées sont des plantes herbacées à longues tiges qui rampent sur le sol ou s'accrochent à des supports variés par des vrilles. Les 4 espèces étudiées sont :

- *Citrullus lanatus*.

C'est une plante comprenant 2 à 7 branches à vrilles courtes. Les fruits sont ronds, durs et lisses à l'extérieur. Ses graines sont obovales et de couleur brune.

- *Cucurbita moschata*.

C'est une liane à tiges molles, section ronde et vrilles à trois branches. Les feuilles sont alternées, pétiolées, lobées Les fleurs sont jaunes. La tige et les feuilles sont couvertes de poils. Les graines, verdâtres à l'intérieur, sont recouvertes d'un tégument blanc.

- Cucurbita pepo.

C'est une plante rampante dont la tige présente des entrenœuds courts ; elle est recouverte de poils. Les feuilles sont anguleuses. Les fruits sont volumineux, à peau tachetée.

- Lagenaria siceraria.

C'est une liane annuelle avec des feuilles alternes, simples et arrondies. Les fleurs sont blanches. Les vrilles ont deux branches. Le fruit est sphérique, gros et dur.

2. Produits chimiques.

L'éther de pétrole d'extraction a été distillé juste avant l'utilisation. Les réactifs, pour les analyses, sont conformes aux exigences de l'UICPA (13).

3. Techniques d'extraction et d'analyse.

Les graines de courges préalablement séchées puis broyées ont été portées à l'étuve à 70°C pendant 24 heures pour inactiver les enzymes susceptibles de décomposer les triglycérides. Les lipides ont été extraits à l'éther de pétrole avec un extracteur soxhlet.

Les caractéristiques physiques, chimiques, physico-chimiques ont été déterminées selon des méthodes normalisées de l'UICPA (Réf. 13).

L'analyse des acides gras a été faite sur un chromatographe DELSI 3000 équipé d'une colonne capillaire de 25m de long, 0,32mm de diamètre, imprégnée de CARBOWAX. La température du four est de 190°C, celle de l'injecteur de 250°C, celle du détecteur de 250°C ; le gaz vecteur est l'hélium, à la pression de 0,7 bar.

4. Protocole d'étude de l'altération de l'huile par chauffage prolongé.

Dans un ballon de 100cm³ et grâce à un bain d'huile, on chauffe 50cm³ d'huile de graines de courges à 170°C pendant 30mn, deux fois par jour. L'expérience s'est étalée sur 5 jours, ce qui conduit au total de 10 chauffages de 30mn chacun.

III. RESULTATS ET DISCUSSIONS

1. Composition chimique de graines de Cucurbitacées.

L'analyse confirme l'équilibre entre les matières grasses et les protéines dans les 4 espèces étudiées, avec un niveau particulièrement élevé pour Cucurbita pepo (33% de protéines et 42% d'huile).

Tableau 1 :

Teneurs en matières azotées, grasses, minérales et cellulosiques (par rapport à la matière sèche) des graines de quatre espèces des cucurbitacées du Congo.

	Matières azo- tées totales (%)	Matières grasses (%)	Matières mi- nérales (%)	Matières cellu- losiques (%)	Autres constituants (%)
<i>Citrullus lanatus</i>	26,7	37,7	3,8	6,1	25,7
<i>Cucurbita moschata</i>	30,0	33,7	5,0	3,2	28,1
<i>Cucurbita pepo</i>	33,0	42,3	4,0	6,1	14,6
<i>Lagenaria siceraria</i>	24,7	37,4	3,4	3,0	26,5

2. Caractéristiques générales des huiles étudiées.

Tableau 2 :

Caractéristiques générales des huiles de quatre espèces de cucurbitacées du Congo.

	Densité à 25°C	Indice de réfraction	Viscosité (Cst) à 30°C	Indice d'acide	Indice d'iode	Indice de saponification	Taux d'insaponi- fiables (%)
<i>Citrullus lanatus</i>	0,9149	1,4715	41,38	2,23	126,8	181,3	2,20
<i>Cucurbita moschata</i>	0,8693	1,4589	46,60	2,64	138,8	179,7	1,42
<i>Cucurbita pepo</i>	0,8926	1,4665	55,35	1,09	115,0	181,8	1,90
<i>Lagenaria siceraria</i>	0,9116	1,4725	45,82	0,91	157,7	178,0	3,90

Sauf pour *Cucurbita moschata*, la masse volumique varie très peu d'une espèce à l'autre, avec des valeurs comprises entre 0,89 et 0,92. Ce résultat est en parfait accord avec ceux déjà publiés dans la littérature (Réf.1 à 9).

Pour les quatre espèces, l'indice de réfraction varie très peu d'une espèce à une autre.

La viscosité de ces quatre huiles varie entre 41 et 55 cst ; l'huile de Cucurbita pepo à la valeur la plus grande ; c'est l'huile la moins fluide de toutes.

Les espèces Citrullus lanatus et Cucurbita moschata donnent des huiles deux fois plus acides que les espèces Cucurbita pepo et Lagenaria siceraria. Toutefois, avec un indice d'acide de 2,6 au maximum pour les deux premières, et grâce au traitement de destruction enzymatique préalable, nous sommes très loin des indices d'huile de palme qui varient entre 5 et 14,5 (Réf. 17) ou de ceux de certaines huiles de Cucurbitacées qui atteignent l'impressionnante valeur de 57,39 (Réf. 18).

L'indice de saponification est de l'ordre de 180 pour les 4 espèces. Ce résultat est en accord avec les données de la littérature qui indiquent la fourchette 180 - 200 pour l'indice de saponification des huiles de graines de Cucurbitacées (18).

Les valeurs de l'indice d'iode (de 110 à 150) sont caractéristiques des huiles fortement insaturées ; ceci est confirmé par l'analyse des acides gras.

Le taux d'insaponifiable compris entre 1 et 4%, atteste la richesse de ces huiles en composés autres que les glycérides.

3. Analyse des acides gras.

Les huiles analysées (tableau 3) sont de type linoléique. L'acide linoléique (C18:2, acide gras essentiel), est de loin le constituant majoritaire de ces huiles: plus de 60%, sauf pour Cucurbita moschata, dans laquelle il existe dans la proportion de 48%.

espèces acides gras	Citrullus lanatus	Cucurbita moschata	Cucurbita pepo	Lagenaria siceraria
C16:0	10,3	12,1	13,7	11,0
C16:1	3,7	-	-	-
C17:0	-	-	-	0,3
C18:0	9,3	6,0	10,2	6,0
C18:1	10,7	31,2	9,1	10,2
C18:2	66,0	48,2	67,0	72,5
C18:3	-	2,5	-	-
insaturés saturés	4,1	4,5	3,2	4,8

L'acide linoléique (C18:3) est absent sauf dans *Cucurbita moschata* où il est présent à 2,5%.

Les quatre espèces contiennent les acides stéarique (C18:0), oléique (C18:1) et palmitique (C16:0).

On note en outre la présence de l'acide palmitoléique (C16:1) dans *Citrullus lanatus* et l'acide margarique (C17:0) dans *Lagenaria siceraria*.

4. Altération des huiles par chauffage prolongé.

Les huiles chauffées ont fait l'objet, depuis plus d'un quart de siècle, de très nombreuses publications parfois contradictoires (Réf. 14). Cette absence de consensus peut s'expliquer par la complexité du problème. En effet, le chauffage de l'huile à l'air libre, par exemple, par effets conjugués de la température et de l'oxygène, conduit à un nombre impressionnant de composés chimiques regroupés sous le vocable "Espèces Chimiques Nouvelles (E.C.N.)". déjà, en 1973, GUILLAUMIN (Réf. 14) signalait l'existence de plus de 400 composés déjà isolés et identifiés.

Ainsi, nous avons préféré, à l'approche analytique du problème qui consiste à isoler et à identifier les E.C.N., une approche plus globale. Elle consiste à évaluer le degré d'altération des huiles par la mesure des caractéristiques physico-chimiques globales.

D'autre part, comme l'indique LORRUSSO (Réf. 15), les valeurs des différentes caractéristiques des huiles aux conditions limites de friture sont purement conventionnelles. En effet, les études toxicologiques n'ont pas permis de mettre en évidence une relation entre la teneur en composés d'oxydation et l'apparition des symptômes au niveau des animaux des laboratoires. Nous ne discuterons pas les valeurs absolues des différentes caractéristiques mesurées : nous comparons de façon globale le comportement des huiles de graines de courges à celui de l'huile d'arachide d'une part, de l'huile d'olive d'autre part.

4.1 Caractéristiques chimiques et physico-chimiques.

Tableau 4 :

Variation des caractéristiques chimiques et physico-chimiques pendant le chauffage des huiles de deux espèces de cucurbitacées du Congo (N = nombre de chauffages à T = 170°C.

$$R = \frac{\text{valeur à } N = 10 \text{ (5 heures)}}{\text{valeur à } N = 0 \text{ (0 heure)}}$$

	Indice d'acide			Indice d'iode			$E_{1\text{cm}}^{1\%}$ à 232nm			$E_{1\text{cm}}^{1\%}$ à 268nm			Viscosité (Cst), 30°C		
	N = 0	N = 10	R	N = 0	N = 10	R	N = 0	N = 10	R	N = 0	N = 10	R	N = 0	N = 10	R
Citrullus lanatus	1,10	1,63	1,5	126,8	93,4	0,74	5,10	25,20	4,94	2,20	3,40	1,55	41,30	56,89	1,4
Cucurbita pepo	1,45	1,83	1,3	115,0	103,5	0,90	4,60	18,10	3,93	0,40	3,10	7,75	55,35	63,28	1,1

Tableau 5 :

Variation des caractéristiques chimiques et physico-chimiques pendant le chauffage des huiles d'arachides et d'olive (15). (t = temps de chauffage en heure à T = 170°C).

$$R = \frac{\text{valeur à } t = 6 \text{ heures}}{\text{valeur à } t = 0 \text{ heure}}$$

	Indice d'acide			Indice d'iode			$E_{1\text{cm}}^{1\%}$ à 232nm			$E_{1\text{cm}}^{1\%}$ à 268nm			Viscosité (25°C)		
	t = 0	t = 6	R	t = 0	t = 6	R	t = 0	t = 6	R	t = 0	t = 6	R	t = 0	t = 6	R
Huile d'arachide	0,22	0,62	2,8	97,6	91,8	0,94	5,44	6,48	1,2	0,52	1,47	2,8	65,73	161,13	2,5
Huile d'olive	0,78	1,02	1,3	83,3	81,3	0,98	2,14	7,85	3,7	0,18	1,24	6,9	71,24	86,17	1,2

Bien que les conditions expérimentales ne soient pas rigoureusement identiques pour les résultats consignés dans les tableaux 4 et 5, elles sont suffisamment proches pour permettre une comparaison qualitative. Pour ces deux groupes d'expériences, la température de chauffage est de 170°C ; le temps de chauffage de 5 heures en chauffage continu pour le tableau 4 et de 6 heures pour le tableau 5 ; les viscosités ont été mesurées respectivement à 30°C (tableau 4) et 25°C (tableau 5).

La comparaison des résultats consignés dans ces deux tableaux fait ressortir :

- pour l'indice d'acide, que les huiles des Cucurbitacées étudiées ont un comportement plus proche de celui d'olive que de celui de l'huile d'arachide. Le chauffage pendant 5 heures à 170°C multiplie l'indice d'acide par un facteur 1,5 alors que ce facteur est de 1,5 pour l'huile d'olive et de 2,8 pour l'huile d'arachide, pour un chauffage de 6 heures à 170°C ;

- pour l'indice d'iode, que la diminution varie entre 10 et 26% (R = 0,90 et 0,74) contre 2% (R = 0,98) pour l'huile d'olive et (R = 0,94) pour l'huile

d'arachide. Cette diminution est en parfait accord avec les résultats de l'analyse des acides gras avant et après le chauffage ;

- pour les coefficients d'extinction, les variations sont plus grandes à 232nm pour les huiles des Cucurbitacées et de même ordre de grandeur pour les 2 séries d'huiles à 268nm ;

- pour les viscosités, que leurs faibles variations ($R = 1,1$ et $1,4$) contre 2,5 pour l'huile d'arachide et 1,2 pour l'huile d'olive, semble indiquer une quasi absence de polymérisation au cours du chauffage des huiles de Cucurbitacées à 170°C.

En fin de compte, nous pouvons conclure que les huiles de *Citrullus lanatus* et *Cucurbita pepo* ont un comportement au chauffage compris entre celui de l'huile d'arachide et celui de l'huile d'olive. On pourrait donc les utiliser comme des huiles de friture douce, le cas échéant.

4.2 Variations de la composition en acides gras.

Pour *Cucurbita pepo*, l'altération de l'huile résulte essentiellement de la destruction de l'acide linoléique (C18:2), qui voit sa teneur passer de 67,0% à 60,9%.

Pour *Citrullus lanatus*, le fait le plus important est la disparition de l'acide palmitoléique (C16:1) pendant le chauffage.

D'une façon générale, on constate que tous les composés qui ne sont pas modifiés pendant l'altération voient leur teneur augmenter (tableau 6).

L'altération de l'huile d'arachide concerne à la fois l'acide oléique (C18:1) et l'acide linoléique (C18:2), alors qu'elle est presque inexistante dans l'huile d'olive (tableau 6).

Les huiles de Cucurbitacées ont un comportement plus proche de celui de l'huile d'arachide que de celui de l'huile d'olive.

	Citrullus lanatus		Cucurbita pepo		Arachide		Olive	
	avant	après	avant	après	avant	après	avant	après
C16:0	10,3	10,9	13,7	15,7	13,0	14,4	12,4	11,7
C16:1	3,7	-	-	-	-	-	-	-
C17:0	-	-	-	-	-	-	-	-
C18:0	9,3	10,9	10,2	11,3	3,0	3,4	2,4	2,3
C18:1	10,7	16,3	9,1	12,1	55,1	60,8	77,5	78,6
C18:2	66,0	61,9	67,0	60,9	27,3	20,1	7,8	6,8
C18:3	-	-	-	-	-	-	0,56	0,38
C20:0	-	-	-	-	1,53	1,33	0,35	0,18

IV. CONCLUSION

Les huiles des Cucurbitacées du Congo que nous avons étudiées sont constituées en majorité des acides gras courants. Nous avons néanmoins mis en évidence la présence des acides palmitoléïque et margarique.

Le chauffage prolongé à 170°C n'altère que très faiblement ces huiles.

REMERCIEMENTS

Nous tenons à remercier Monsieur le Professeur J. SOULIER et Mlle M. FARINES de l'Université de Perpignan pour leurs conseils dans la réalisation de ce travail, et pour l'assistance que leur laboratoire a accordée dans l'analyse chromatographique des esters méthyliques d'acides gras.

Soumis en septembre 1989

Accepté en septembre 1990

REFERENCES

- 1 OYENUGA V. A., BABATUNDE L., (1975) - Some aspects of the biochemistry and nutritive value of the water Melon seed (*Citrullus vulgaris*, schrad) *J. Sci. Food agric.* 26, p. 843-854.
- 2 SCHEERENS J. C., BEMIS W.P., DREHER M. L., BERRY J. W. (1978) - Phenotypic variation in fruit and seed characteristics of Buffalo Gourd. *J. Amer. Oil. Chem. Soc.*, 55, p. 537-533.
- 3 OYOLU C. (1979) - A quantitative and qualitative study of seed types in egusi (*colocynthis citrullus* l.) *Trop. Sc.*, 19, p. 55-62.
- 4 KAMEL B. S., BLACKMAN B. (1981) - Nutritional and oil characteristics of the seeds of Angled Luffa *acutangula*. *Food. chem.* 9, p. 277-282.
- 5 VANSCONCELIOS J. A., BERRY J. W., WEBER C. W., BEMIS W. P., SCHERENS (1980) The property of *Cucurbita foetidissima* seed oil. *J. Ann. Oil Chem. Soc.* p. 310-313.
- 6 JUILLET A., SUSPLUGAS J., COURP J., (1955) - Les Oléagineux et leurs tourteaux. Ed. Paul Lechevalier, Paris p. 569-576.
- 7 ANDRIAENS E. L. (1951) - Les Oléagineux du Congo-Belge. Ed. Ministère des Colonies ; Bruxelles, 2è édition. p. 291-196.
- 8 BUSSON F. (1965) - Plantes alimentaires de l'Ouest africain. Etude botanique, biologique et chimique. Ed. Leconte, Marseille, p. 413.
- 9 KABELE NGIEFU, WAKENG BULAMBO (1982) - Composition en acides gras totaux des huiles de *Citrullus lanatus* (Mansfeld) et de *Lagenaria siceraria* (Molema) Standley. *Ann. Fac. Scien. Kinshasa, Zaïre*, Vol 4. p. 91-102.
- 10 NUGELLE E., (1970) - Actualité de la médecine officielle et médecine naturelle. Septembre p. 2.
- 11 FAO PNUD (1977) - Recensement mondial de l'agriculture et établissement d'un système permanent de statistiques courantes. Résultats du recensement agricole 1972-1973 pour le Congo. FAO - Rome p. 160.
- 12 BOUQUET A. (1969) - Féticheurs et Médecines traditionnelles au Congo (Brazzaville). Mémoire ORSTOM n°36 Paris. p. 101-103.
- 13 UNION INTERNATIONALE DE CHIMIE PURE ET APPLIQUÉE. Division Chimie Appliquée. Méthodes d'analyse de Matières grasses et dérivés. ITERG 6è édition (1979).
- 14 GUILLAUMIN R. (1973) - Huiles chauffées. Méthodes physico-chimiques d'appréciation. Résultats obtenus, *Rev. Fac. Corps gras.* 2 et 3 p. 457-462.
- 15 LARRUSSO S., PASCUSSE E. (1983) - *Riv. Ital. Sost. Grasse*, 60 p. 737.
- 16 FAUR L. (1975) - Utilisation de l'huile de palme de friture profonde. Performances comparées. *Rév. Fac. Corps gras*, 47, p. 77-83.
- 17 LONG T. L. (1975) - Evaluation de la qualité de l'huile de palme. *Rév. Fr. Corps gras*, 22, p. 27-29.
- 18 KISSOTOKENE-NTINOU O. (1987) - Contribution à l'étude des corps gras de quatre espèces de Cucurbitacées du Congo. Mémoire de diplôme d'Ingénieur I.D.R. Brazzaville et références citées.

Nature et composition des classes des lipides de quatre espèces de cucurbitacées alimentaires du Congo-Brazzaville

M. MVOULA TSIERI¹, T. SILOU^{1*}, A. TREMOLIERES²

1) EQUIPE PLURIDISCIPLINAIRE DE RECHERCHE EN ALIMENTATION ET NUTRITION - BRAZZAVILLE - POINTE NOIRE - CONGO

2) INSTITUT DE BIOTECHNOLOGIE DES PLANTES - UNIVERSITE PARIS SUD - ORSAY - FRANCE

La nature et la composition des classes de lipides de 4 espèces de cucurbitacées alimentaires cultivées au Congo-Brazzaville ont été déterminées par chromatographie sur couche mince (CCM) et en phase gazeuse (CPG). La chromatographie en couche mince a permis de mettre en évidence, pour les 4 espèces, des lipides neutres (acides gras: AG, diacylglycérols: DAG, triacylglycérols: TAG) et des lipides polaires (phosphatidylcholine: PC, phosphatidylethanolamine: PE, phosphatidylinositol: PI).

Les TAG représentent 66 - 85% des lipides neutres et PE et PI sont les phospholipides dominants parmi les lipides polaires. La composition en AG des différentes classes a été déterminée par CPG et le profil de chaque classe a été établi, l'acide linoléique est généralement le premier acide gras du profil, notamment pour les TAG, conférant ainsi un intérêt nutritionnel indéniable à cette famille botanique.

Mots clés: cucurbitacées, lipides, AG, TAG, phospholipides, Congo-Brazzaville

NATURE AND COMPOSITION OF LIPID CLASSES OF FOUR CONGO-BRAZZAVILLE EDIBLE CUCURBITACEAE SPECIES

Nature and composition of lipids from 4 edible cucurbitaceous species cultivated in Congo-Brazzaville were determined by thin layer chromatography (TLC) and by Gas Chromatography (GC). Thin layer chromatography highlighted, for the 4 species, neutral lipids (fatty acids: FA, diacylglycerols: DAG, triacylglycerols: TAG) and polar lipids (phosphatidylcholine: PC, phosphatidylethanolamine: PE, phosphatidylinositol: PI).

Triacylglycerols (TAG, from 66 to 85%) are the most important constituents of neutral lipids and PE and PI are dominant phospholipids among polar lipids. FA composition of the various classes was determined by GC and the profile of each class was established; linoleic acid is generally the first major fatty acid of the profile, in particular for TAG, thus conferring an undeniable nutritional interest to this botanical family.

Key words: cucurbitaceae, lipids, FA, TAG, phospholipids, Congo-Brazzaville

I. INTRODUCTION

Les cucurbitacées sont de consommation courante dans le Golfe de Guinée. Les feuilles sont utilisées comme légume vert tandis que les graines entrent dans l'épaississement des sauces des différents repas.

Des études entreprises sur les cucurbitacées, au Nigéria [1 - 4] au Niger [5, 6] et au Congo-Brazzaville [7] témoignent de l'importance accordée à la connaissance scientifique de cette ressource oléo-protéagineuse.

La presque totalité de ces études tendent à établir l'intérêt alimentaire de ces spéculations.

Mais une fois cet intérêt établi, il faudra développer la production pour couvrir les besoins en énergie et en protéines qui sont énormes dans la sous-région. Nous avons donc initié une étude plus fondamentale sur les lipides en faisant l'inventaire systématique des lipides des cucurbitacées alimentaires du Congo, travail à notre connaissance inexistant jusqu'à présent, et nous avons déterminé la composition en AG de chaque classe identifiée.

Une telle approche assure une visibilité plus grande dans la valorisation possible des différentes espèces de cucurbitacées du Congo-Brazzaville.

II. MATERIEL ET METHODES

1. Matériel végétal

Les espèces suivantes ont été étudiées: *Citrullus lanatus* (CL), *Cucurbita moschata* (CM), *Cucurbita pepo* (CP), *Lagenaria siceraria* (LS). Compte tenu de la complexité de la systématique des cucurbitacées, nous reprenons avec suffisamment de détails les caractéristiques botaniques des espèces étudiées [8, 9].

1.1. *Citrullus lanatus*. Plante herbacée annuelle, à tige anguleuse avec sillons longitudinaux, rampante, couverte de poils laineux blanchâtres. Les feuilles ont une couleur vert clair, avec leurs deux faces recouvertes de poils. Les fruits sont globuleux, de couleur vert jaunâtre en maturité. La pulpe est douce et blanchâtre. Les graines sont brunes, aplaties, petites et dispersées dans la pulpe (mésocarpe). L'espèce est répandue dans toutes les zones tropicales, équatoriales du globe au Congo, elle est cultivée pour ses graines qui rentrent dans l'alimentation humaine.

1.2. *Cucurbita moschata*. Plante herbacée, rampante, à tige molle de section circulaire. Les feuilles sont de taille

*) Auteur correspondant: Prof. Thomas Silou, Equipe Pluridisciplinaire de Recherche en Alimentation et Nutrition BP 389, Brazzaville, Congo/BP 1286, Pointe-Noire, Congo - Fax 00242.943981, e-mail: eprancongo@yahoo.fr

variable pouvant atteindre 20 cm de longueur; elles sont lobées. Les fruits sont de couleur et de forme variées. Le fruit contient une pulpe fibreuse et de nombreuses graines qui sont nettement marginées sur les bords. Les feuilles de cette espèce sont utilisées dans les ménages comme légume et les graines comme épaississant des sauces.

1.3. *Cucurbita pepo*. Plante herbacée rampante. La tige est couverte de poils, présente des entre-nœuds courts. Les feuilles longuement sont recouvertes des poils assez raides. Les fruits de forme et de taille variables contiennent une pulpe fibreuse renfermant de nombreuses graines largement ovales. Les graines sont comestibles. L'espèce est largement cultivée à la surface du globe, sauf dans les régions polaires.

1.4. *Lagenaria siceraria*. Plante herbacée annuelle, grimpante ou rampante. Les feuilles longuement pétiolées sont cylindriques et souvent creusés en dessous. Les fruits de taille variable, glabres à maturité sont d'abord verts puis deviennent blanchâtres ou jaunâtres. Les graines de couleur blanche sont nombreuses et aplaties. *Lagenaria siceraria* est largement répandu dans toutes les zones chaudes ou tempérées du monde. Son fruit qui peut se présenter sous diverses formes est utilisé par la population locale comme récipient.

2. Extraction des lipides totaux

Les graines décortiquées avant broyage sont fixées dans l'eau bouillante environ 5 minutes permettant aussi d'inactiver les lipases. L'extraction se fait selon la méthode suivante [10]. Après broyage dans le méthanol (10 ml), les mêmes quantités de chloroforme et d'eau distillée sont ajoutées. Les lipides sont libérés de leurs interactions avec les molécules protéiques et se retrouvent dans la phase inférieure du système biphasique obtenue par centrifugation.

3. Identification des classes de lipides par chromatographie sur couche mince (CCM)

Le fractionnement des lipides en différentes classes se fait par la chromatographie d'absorption sur couche mince de gel de silice (plaque TLC 608-254, Merck). La méthode consiste à déposer un aliquot de l'extrait lipidique total dans du chloroforme. La plaque est ensuite placée dans une cuve hermétiquement fermée contenant un solvant de polarité donnée. Le solvant LEPAGE [11], chloroforme/méthanol/acétone/acide acétique/eau (50/10/20/10/5, V/V/V/V/V) permet de séparer les lipides neutres des lipides polaires et de fractionner ces derniers.

Le solvant de Mangold [12] éther de pétrole/éther diéthylique (70/30/0,4, V/V/V) permet le fractionnement des lipides neutres. Les lipides séparés sur une plaque de gel de silice sont révélés dans une cuve saturée de vapeurs d'iode grattés et récupérés, pour dosage et analyse.

4. Détermination de la composition en acides gras par chromatographie en phase gazeuse (CPG)

La composition en acides gras a été déterminée, avec des esters méthyliques préparés en présence d'un étalon interne [13], sur un chromatographe (DELSI série 30) muni d'une colonne de type Carbowax de 25 m de long et 0,30 mm de diamètre intérieur et relié à un enregistreur intégrateur (Enica 21). La température de l'injecteur et du détecteur FID est de

Tableau I - Composition des lipides neutres et polaires des cucurbitacées (% lipides neutres ou polaires totaux)

	<i>Citrullus lanatus</i>	<i>Cucurbita moschata</i>	<i>Cucurbita pepo</i>	<i>Lagenaria siceraria</i>
DAG ₁₋₃	2,65	6,27	4,16	1,55
DAG ₂₋₃	0,53	5,28	1,57	1,68
AG	1,89	4,14	3,6	2,46
TAG	84,56	65,75	81,55	81,50
A	2,07	2,99	1,61	1,43
B	2,40	2,86	0,61	1,60
C	1,71	4,69	0,64	2,93
Paraffines	1,78	1,63	2,34	7,03
Total lipides neutres	96,47	93,61	96,08	93,15
PI	15,20	19,55	11,65	14,57
PC	42,35	37,26	48,56	44,27
PE	23,50	22,42	16,58	18,03
D	18,96	20,75	25,35	23,13
Total lipides polaires	100,01	99,98	102,14	100,00

250 °C. Le gaz vecteur utilisé est l'hélium à 0,5 bars en tête de colonne et de débit 3 ml/mm.

5. Statistiques

Les traitements statistiques ont été réalisés sur Excel 8.0.

III. RESULTATS EXPERIMENTAUX

1. Différentes classes des lipides

1.1 *Lipides neutres*. Les résultats obtenus (Tableau I) confirment bien que les triacylglycérols sont les constituants majeurs: 85% dans *Citrullus lanatus*, 66% dans *Cucurbita moschata*, 82% dans *Cucurbita pepo* et *Lagenaria siceraria*.

Les triacylglycérols sont toujours les constituants les plus importants, ce qui est normal puisque l'accumulation des réserves se fait habituellement sous cette forme.

Cette conclusion est en parfait accord avec les données de la littérature [14, 15]. Les diacylglycérols, bien que n'étant pas une forme habituelle de réserve, sont également bien représentés, notamment dans CM, du fait qu'ils sont intermédiaires de synthèse des triacylglycérols, et des phospholipides.

Trois composés A, B, C, (à faible teneur < 5%), non identifiés ont été mis en évidence.

1.2 *Lipides polaires* (Tableau I). La phosphatidylcholine (PC), la phosphatidyléthanolamine (PE) et le phosphatidylinositol (PI) sont les principaux phospholipides identifiés chez les cucurbitacées. La PC est largement dominant avec des teneurs variant entre 37 à 49%.

On a finalement le profil PC > PE > PI; ce qui semble être une règle habituelle chez la plupart des plantes dont les cucurbitacées.

Un composé non identifié, D, a été mis en évidence avec des teneurs relativement élevées de 19 - 26%.

2. Composition en acides gras (AG) des différentes classes de lipides pour les différentes espèces étudiées

2.1. *Citrullus lanatus* (Tableau II). Les acides palmitique (C16:0) et linoléique (C18:2) sont les acides gras les plus

Tableau II - Composition en acide gras des lipides totaux, neutres, et polaires des espèces de cucurbitacées étudiées (% AG totaux)

Citrullus lanatus						
Acides gras	C 16:0	C 16:1	C 18:0	C 18:1	C 18:2	C 18:3
Lipides totaux	34,9	3,1	16,7	7,51	36,6	1,3
DAG ₁₋₃	21,7	6,0	13,5	10,8	48,0	-,-
DAG ₁₋₃	27,8	2,8	23,5	26,4	18,1	1,3
AG	24,3	3,4	13,7	12,0	45,7	0,9
TAG	13,4	-,-	9,3	10,1	67,0	0,21
A	24,4	-,-	15,1	12,1	46,9	1,5
B	20,2	0,9	15,4	9,7	52,3	1,5
C	19,4	3,2	18,6	12,6	43,6	2,6
Paraffines	21,4	1,3	16,5	12,7	46,6	1,4
PI	23,5	-,-	30,0	15,2	28,0	3,8
PC	32,1	5,0	14,3	12,5	35,3	0,8
PE	33,3	0,5	12,1	14,6	27,6	11,9
D	27,3	5,9	32,3	15,7	17,7	1,1
Cucurbita moschata						
Acides gras	C 16:0	C 18:0	C 18:1	C 18:2	C 18:3	
Lipides totaux	33,0		9,7	17,2	34,1	6,0
DAG ₁₋₃	25,8		8,8	21,2	39,1	5,1
DAG ₁₋₃	42,5		15,5	38,2	3,3	0,5
AG	22,0		13,5	38,0	19,4	7,1
TAG	18,3		8,08	29,1	43,5	1,0
A	49,8		20,7	20,6	7,5	1,3
B	26,6		12,8	24,0	33,6	3,0
C	31,0		14,0	26,7	26,2	2,1
Paraffines	67,1		18,3	7,2	-,-	7,5
PI	68,5		18,2	3,5	3,3	6,6
PC	53,1		13,9	26,0	4,8	2,3
PE	63,6		12,5	15,3	8,7	-,-
D	57,6		18,4	20,7	-,-	3,3
Cucurbita pepo						
Acides gras	C 16:0	C 16:1	C 18:0	C 18:1	C 18:2	C 18:3
Lipides totaux	46,5	-,-	14,6	6,8	31,4	0,7
DAG ₁₋₃	21,2	-,-	17,4	17,2	43,2	1,0
DAG ₁₋₃	39,4	2,7	17,3	13,0	27,7	-,-
AG	22,3	0,8	13,0	9,3	53,6	1,1
TAG	20,4	-,-	12,8	14,4	52,4	-,-
A	40,0	-,-	35,3	20,6	4,2	-,-
B	34,8	12,3	2,4	17,0	33,6	-,-
C	62,4	5,6	8,2	8,3	11,7	3,9
Paraffines	9,8	3,9	19,5	12,2	54,4	0,2
PI	38,9	-,-	43,8	3,4	14,0	-,-
PC	34,0	-,-	17,7	11,3	37,1	-,-
PE	49,2	9,5	9,3	4,8	27,4	-,-
D	80,1	-,-	17,8	0,50	1,6	-,-
Lagenaria siceraria						
Acides gras	C 16:0	C 16:1	C 18:0	C 18:1	C 18:2	C 18:3
Lipides totaux	38,4	1,8	11,8	10,8	36,3	1,0
DAG ₁₋₃	36,5	4,0	20,1	15,3	17,5	6,6
DAG ₁₋₃	40,1	7,0	22,5	13,2	2,1	5,0
AG	2,7	13,4	22,7	29,3	30,3	1,7
TAG	17,6	-,-	8,4	-,-	73,9	0,2
A	33,6	8,7	5,0	0,2	35,7	6,9
B	22,5	6,5	11,5	12,0	35,4	12,2
C	19,5	-,-	13,2	11,8	13,4	42,1
Paraffines	3,4	2,6	2,7	2,3	88,4	0,5
PI	33,6	8,3	23,6	17,7	-,-	16,7
PC	32,4	3,7	13,1	6,1	34,8	-,-
PE	49,6	5,9	18,9	18,2	3,7	3,8
D	46,3	4,9	25,7	16,0	3,0	4,10

abondants avec une légère prédominance de C18:2. dans les lipides totaux. L'acide C18:2 est l'acide gras prédominant dans tous les lipides neutres (AG, DAG, TAG)

Dans les lipides polaires cet acide varie avec les composés: C16:0 pour la phosphatidyléthanolamine, C18:0 pour la phosphatidylinositol, et C18:2 pour la phosphatidylcholine.

Les acides C16:0 et C18:2 sont généralement les acides gras les plus abondants observés chez *Citrullus lanatus*. C18:3 n'est présent qu'en quantité très faible, sauf dans le cas de la phosphatidyléthanolamine.

2.2. *Cucurbita moschata* (Tableau II). Contrairement à l'espèce précédente, l'acide gras le plus abondant chez cette espèce varie pour les différents lipides neutres: C18:1 pour les acides gras libres, C16:0 pour les DAG et C18:2 pour les TAG.

Globalement C18:2 est l'acide gras le plus abondant pour les lipides totaux, suivi de très près par C16:0.

L'acide palmitique (C16:0) est l'acide gras prédominant dans les lipides polaires.

On est dans la situation totalement opposée à celle de *Citrullus lanatus*. Les lipides polaires ont le même acide gras le plus abondant, alors que ce dernier varie avec la classe pour les lipides neutres.

2.3. *Cucurbita pepo* (Tableau II). *Cucurbita pepo* se comporte comme *Citrullus lanatus*: même acide gras prédominant dans les lipides neutres (C18:2), acides gras variables avec la nature des lipides polaires.

2.4. *Lagenaria siceraria* (Tableau II). Cette espèce a C16:0 comme acide gras le plus abondant dans les DAG et les lipides totaux et (C18:2) dans les AG libres et les TAG.

L'acide palmitique (C16:0) est l'acide gras le plus abondant dans les lipides polaires.

IV- DISCUSSION ET CONCLUSION

1. Constituants des classes lipidiques

La comparaison des différents constituants des lipides neutres étudiés peut être faite en examinant les histogrammes représentés sur la Figure 1.

Ces histogrammes sont construits d'une part en retirant les TAG qui, à cause de leur trop grande quantité, entraînent l'aplatissement des autres constituants sur l'axe des abscisses d'autre part en regroupant les DAG.

Ceci revient à la recherche d'une discrimination des différentes espèces au niveau de mineurs, qui constituent finalement une sorte d'empreinte caractéristique. On constate que 3 des 4 espèces (CL, CM, CL) ont le même profil: TAG > DAG > AG > paraffines, même si l'amplitude de la variation est différente entre les 3 espèces, cette amplitude décroît dans le sens: CM > CP > CL.

LS présente une inversion de la position des paraffines qui viennent juste après les TAG d'une part alors que les DAG sont toujours en quantités plus importantes que les AG d'autre part: TAG > paraffines > DAG > AG.

Finalement, à l'inversion de la position des paraffines près, les 4 espèces présentent le même profil. Le même exercice pour les lipides polaires conduit à la Figure 2 et au profil: PC > PE > PI. On constate une parfaite ressemblance des 4 espèces.

2. Composition en AG des constituants des classes lipidiques

2.1. Répartition des acides gras dans les lipides neutres.
La Figure 3 représente la distribution relative des AG dans le DAG₁₋₂, DAG₁₋₃, AG, TAG pour les espèces de cucurbitacées CL, CP, CM, LS.

Pour l'acide palmitique C16:0, on constate une totale ressemblance pour CL, CP et CM avec la même importance relative de cet acide dans les différentes classes. Dans LS, la quantité dans les AG libres baisse au détriment de celle dans les DAG.

La quantité de C16:0 dans les TAG est faible, ce qui est une bonne situation quand on sait que les TAG constituent 60 - 80% des lipides ingérés par l'homme au cours de son alimentation.

Pour C18:2, 2 espèces sur 4 se ressemblent: CP et CL.

Pour C18:0 et C18:1, les 4 espèces se ressemblent.

Pour C18:3 les 4 espèces présentent des profils différents. Cet acide peut être utilisé dans la discrimination des espèces.

De manière globale, il est intéressant de remarquer que C18:2 constitue 43 - 74% des AG des TAG; les valeurs les plus élevées sont obtenues avec CL (67%) et LS (74%). On peut, en première approximation, suggérer un classement décroissant d'intérêt nutritionnel, des espèces étudiées, en tant que sources d'Acides Gras Essentiels (AGE): LS > CL > CP > CM.

2.2. Lipides polaires. Comme pour la teneur en constituants des différentes classes lipidiques, la situation est plus simple pour les lipides polaires identifiés (Figure 4); elle peut

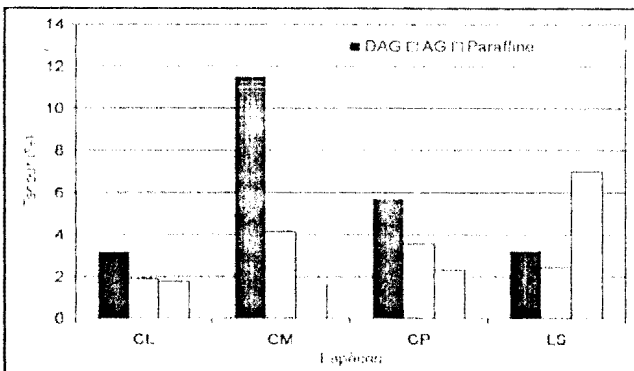


Figure 1 - Profil des constituants identifiés des lipides neutres pour les 4 espèces de cucurbitacées

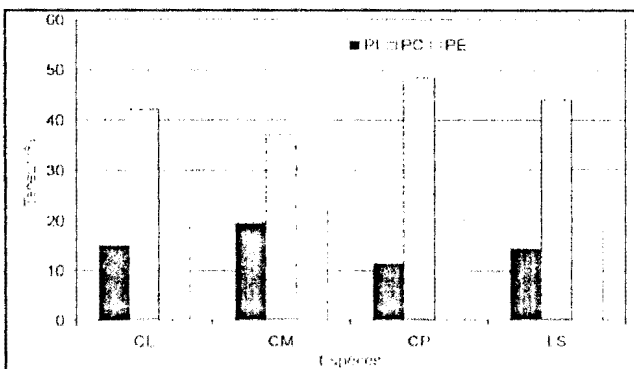


Figure 2 - Profil des constituants des lipides polaires identifiés pour les 4 espèces de cucurbitacées

être rendue de la manière suivante:

- un des 5 acides identifiés peut être absent: c'est le cas de C16:1 dans CM et C18:3 dans CL
- un seul des 5 acides peut constituer la quasi totalité de la classe; c'est le cas de C16:1 pour PE dans CP, de C16:1 pour PC dans CL et de C18:2 pour PC dans LS
- entre ces 2 extrêmes, on peut noter une répartition équilibrée de l'acide dans les différentes classes; c'est le cas de C16:0 pour le 4 espèces
- l'acide qui discrimine le mieux les 4 espèces est le C18:3; les 4 histogrammes représentatifs des espèces sont totalement différents. La répartition de C18:3 dans les lipides polaires des cucurbitacées pourrait servir de marqueur pour différentes espèces

De cette étude, illustrant l'extrême complexité de la répartition de AG dans les différentes classes des lipides extraites des graines de cucurbitacées, il ressort clairement que:

- l'essentiel de C18:2 est concentré dans les TAG
- C18:3 peut servir de facteur discriminant pour les 4 espèces étudiées

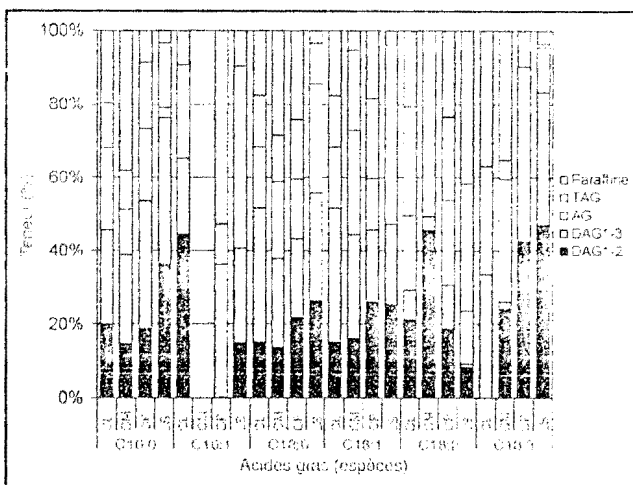


Figure 3 - Histogrammes représentant la répartition relative des acides gras dans les constituants des lipides neutres pour les 4 espèces de cucurbitacées étudiées

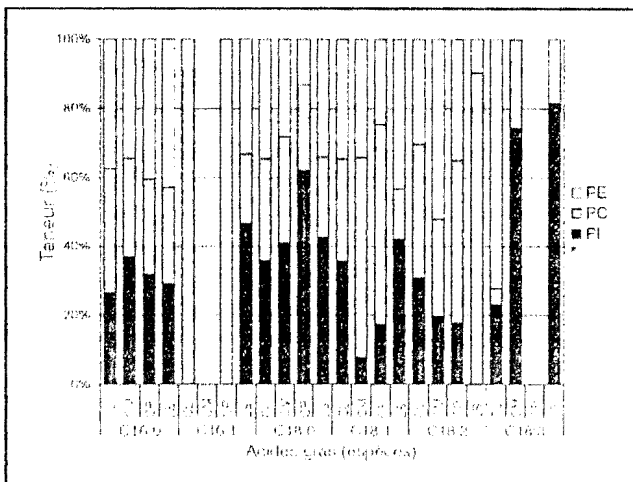


Figure 4 - Histogrammes représentant la répartition relative des acides gras dans les constituants des lipides polaires pour les 4 espèces de cucurbitacées étudiées

BIBLIOGRAPHIE

- [1] E. N. ONYEIKE, T. OLUNGWE A. UWAKWE, Effect of heat treatment and defating on proximate composition of some Nigerian soup thickeners. *Food Chemistry*, 53, 173-175 (1995)
- [2] P. GIRIS, T. D. TURNER, Lesser Known Nigerian edible oils and fats. III Fatty acid compositions are determined by gas-liquid chromatography. *J.Sci. Fd Agric.*, 23, 259-262 (1972)
- [3] G. I. O. BADIFU, Chemical and physical analyses of oils from four species of cucurbitaceae. *J. Amer. Oil Chem. Soc.*, 68 (6), 428-432 (1991)
- [4] R. ODERINDE, O. TAIRI, F. AWUFAL, D. AYEDIRAN, Study of the chemical composition of some members of cucurbitaceae family. *Riv. Ital. Sostanze Grasse*, 67, 259-262 (1990)
- [5] A. SABO SEINI, Inventaire de sources mal connues de nutriments: étude prospective de la teneur en nutriments des graines de diverses cucurbitacées du Niger. Thèse Doctorat Université ABDOU MOUMOUNI, Niamey, 2004, 176 p
- [6] TH. SILOU, D. MAMPOUYA, W. D. LOKA LOYANGE, Composition globale et caractéristiques des huiles extraites de 5 espèces de cucurbitacées du Niger. *Riv. Ital. Sostanze Grasse*, 76, 141-144 (1999)
- [7] TH. SILOU, O. KISSOTOKENE NTINOU, M. MVOULA TSIERI, J. M. OUAMBA, S. KIAKOUAMA, Contribution à l'étude des corps de quatre espèces de cucurbitacées cultivées au Congo. *J. Soc. Chimie, Tunisie*, // (11) 13-21 (1990)
- [8] J. KERAUDREN, Flore du Cameroun. Cucurbitacées - Muséum National d'Histoire Naturelle de Paris, 1967
- [9] S. N'KOUNKOU, E. KAMI, J. P. MAKITA-MADZOU, O. C. SAMINOU, A. P. BEMBE, G. NSONGOLA, J. MIEKOUNTIMA, Contribution à la taxonomie des cucurbitaceae oleifères au Congo-Brazzaville. Quatrième séminaire sur la valorisation du safoutier et autres oléagineux non conventionnels, 3-7 Décembre 2003, Brazzaville, Congo
- [10] L. G. BLIGH, A. J. DYER, A rapid method for total lipid extraction and purification. *Can J. Biochem*, 37, 911-917 (1959)
- [11] M. LEPAGE, The separation and identification of plant phospholipids and glycérolipids by two dimensional thin-layer chromatography. *J. Chromatog.*, 13, 99-102 (1964)
- [12] H. K. MANGOLD, Thin-layer chromatography of lipids. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 41, 762-773 (1964)
- [13] L. D. METCALFE, A. A. SCHMITZ, J. R. PEKA, Rapid preparation of fatty acids esters from lipids for gas chromatographic analysis. *Anal. Chem.*, 38, 514-515 (1966)
- [14] J. OHLROGGE, J. BROWSE, Lipid biosynthesis. *The Plant Cell*, 7, 957-970 (1995)
- [15] D. FACCIOTTI, VIC KNAUF, Triglycerids as products of photosynthesis. *Genetic Engineering. Fatty acid composition and structure of triglycerids. Lipids in Photosynthesis*, 225-248 (1995)

Received 29-12-2004, accepted 31-03-2005

COMPOSITION ET VARIABILITE DE LA FRACTION GLYCERIDIQUE DES LIPIDES DE QUATRE ESPECES DE CUCURBITACEES ALIMENTAIRES DU CONGO-BRAZZAVILLE

Michel MVOULA TSIERI (a), Thomas SILOU(a)*, Antoine TREMOLIERES (b)

Sylvie HERON (c), Alain TCHAPIA (c)

(a)Equipe Pluridisciplinaire de Recherche en Alimentation et Nutrition

BP 389, Brazzaville, Congo/ BP 1286, Pointe- Noire, Congo

Fax : 00 242 94 39 81 E mail : eprancongo@yahoo.fr

(b)Institut de Biotechnologie des Plantes, Université Paris Sud

(c)Groupe de Chimie Analytique de Paris Sud EA 3343, LETIAM, IUT d'Orsay
Plateau du Moulon, Orsay, France

RESUME

La composition de la fraction glycéridique des graines d'une même espèce et celle des graines de 4 espèces différentes de cucurbitacées alimentaires du Congo-Brazzaville a été étudiée en vue d'évaluer d'une part la variabilité de la semence au sein d'une même espèce et d'autre part la variabilité entre espèces. Cette évaluation constitue un préalable incontournable à tout travail de sélection et d'amélioration permettant d'en développer la culture en retenant les individus présentant la variabilité la plus faible.

La présente étude montre que *Cucurbita Moshata* (CM) et *Citrullus Lanatus* (CL) présentent la plus faible variabilité intra spécifique par rapport à l'ensemble des acides gras (AG) avec un coefficient de variation (CV) inférieur à 20 % ; ces espèces conduisent à des semences suffisamment homogènes pour donner une huile de qualité constante. *Cucurbita pepo* (CP) et *Lagenaria siceraria* (LS) qui ont $10\% < CV < 43\%$, présentent une variabilité totale plus élevée ; leurs semences sont plus hétérogènes, même si ces 2 espèces présentent une faible variabilité par rapport à l'acide linoléique (C18 :2 n-6), acide gras essentiel (CV respectivement égal à 20% et 10%).

Cette bonne stabilité de la teneur en acide linoléique avec $CV < 23\%$ se retrouve pour les 4 espèces. Ainsi, si l'objectif est de produire une huile riche en cet acide avec une teneur quasi constante, les 4 espèces présentent un intérêt identique. Si l'on doit tenir compte en plus de la teneur en acide oléique (C18 : 1 n-9), CM et CL sont plus intéressantes que CP et LS.

Mots clé : Cucurbitaceae, lipides, acides gras, triacylglycérols, Congo-Brazzaville.

SUMMARY

The glyceridic fraction composition of 4 edible cucurbitaceous seeds from Congo-Brazzaville was studied in order to evaluate *intra*- and *inter* specific variability . This evaluation is the base of any selection and improvement work.

The present study shows that *Cucurbita Moshata* (CM) and *Citrullus Lanatus* (CL) have lowest *intra* specific variability with a variation coefficient (VC) lower than 20 % ; these species lead homogeneous seeds for production of constant quality oil . *Cucurbita pepo* (CP) and *Lagenaria siceraria*(LS) which have $10\% < VC < 43\%$, have a higher variability ; their seeds are more heterogeneous; even these 2 species have a low variability linoleic acid (C18:2 n-6) content (VC are respectively 20% and 10%).

This good stability of linoleic acid content (VC < 23%) is found for the 4 species.

Key words: Cucurbitaceae, lipids, fatty acids, triacylglycérols, Congo-Brazzaville.

* A qui toute correspondance doit être adressée.

I. INTRODUCTION

L'étude des différentes classes de lipides de *Citrullus lanatus* (CL), *Cucurbita moschata* (CM), *Cucurbita pepo* (CP), *Lagenaria siceraria* (LS) reportée précédemment [1] a mis en évidence l'importance de la fraction glycéridique qui constitue près de 90% des lipides totaux. Cet article présente d'une part l'étude de la variabilité de la composition en acide gras (AG) de graines issues d'une même espèce pour évaluer le degré d'homogénéité des semences telles qu'elles sont utilisées par les populations, et d'autre part, l'étude de la variabilité de la compositions en AG et en triacylglycérols (TAG) des quatre différentes espèces étudiées pour mettre en évidence les différences inter spécifiques. Toutes ces données de bases sont indispensables pour la mise en place d'un programme de sélection et d'amélioration des meilleures espèces en vue de la production des huiles à haut intérêt nutritionnel.

II -MATERIEL ET METHODE

1. Matériel végétal

Les espèces suivantes ont été étudiées : *Citrullus lanatus* (CL), *Cucurbita moschata* (CM), *Cucurbita pepo* (CP), *Lagenaria siceraria* (LS). Compte tenu de la complexité de la systématique des cucurbitacées, nous reprenons avec suffisamment de détails les caractéristiques botaniques des espèces étudiées [2].

1.1. *Citrullus lanatus*

Citrullus lanatus est une plante herbacée annuelle, monoïque, à tige anguleuse avec sillons longitudinaux, rampante, couverte de poils laineux blanchâtres.

Les feuilles sont pétiolées (le pétiole est long de 6-12 cm). Le limbe est ovale. Il est vert clair, les deux faces recouvertes de poils. Les vrilles sont bifides, pubescentes à leurs bases, assez robustes mais courtes. Les fleurs mâle et femelle de couleur jaune sont solitaires. Les pétales sont foliacés, ovales, obtus au sommet et trinerves. Les nervures portent à la face extérieure des poils longs et souples. Les étamines sont insérées au fond de la coupe florale.

Les fruits sont globuleux, de couleur vert jaunâtre en maturité. La pulpe est douce et blanchâtre.

Les graines sont brunes, aplaties, petites et dispersées dans la pulpe (mésocarpe). Un fruit peut contenir 100 à 200 graines.

L'espèce est répandue dans toutes les zones tropicales, équatoriales du globe et est probablement originaire des zones subdésertiques de l'Afrique Australe.

Au Congo, cette espèce est cultivée pour ses graines qui rentrent dans l'alimentation humaine.

1.2. *Cucurbita moschata*

Cucurbita moschata est une plante herbacée monoïque, rampante, à tige molle de section circulaire.

Les feuilles sont pétiolées (jusqu'à 20 cm) ; le limbe est entier et parcheminé, de aille variable pouvant atteindre 20 cm de longueur ; elles sont lobées. Les vrilles multifides portent quelques poils à la base de la partie rectiligne. Les fleurs sont solitaires, synanthérées ; la corolle jaune, à lobes soudés à leur base sur 1/3 de leur longueur. Les étamines sont groupées au centre de leur périanthe. Le pédoncule fructifère est épais. Les fruits sont ovoïdes ou de forme variée. La coloration varie d'un fruit à un autre pour une même espèce : la pulpe fibreuse renferme de nombreuses graines qui sont nettement marginées sur les bords.

Les feuilles de cette espèce sont utilisées dans les ménages comme légumes.

1.3. *Cucurbita pepo*

Cucurbita pepo est une plante herbacée rampante, monoïque. La tige est couverte de poils présente des entre-nœuds courts.

Les feuilles sont longuement pétiolées, avec poils assez raides. Le limbe un peu coriace, de taille variable est long et large, à lobes aigus. Les limbes hérissés des poils sur les deux faces, bords dentés. Les vrilles sont multifides. Les fleurs mâles à pédicelle long sont solitaires. Les sépales sont petits et la corolle jaune est campanulée. La corolle est longue de 5 cm et large de 3 cm environ, lobe aigu.

Les fleurs femelles également solitaires portent un ovaire de forme variable, renfermant de nombreux ovules longitudinaux. Le pédoncule fructifère dur, anguleux n'est pas élargi à son insertion sur le fruit.

Les fruits de forme et de taille variables contiennent une pulpe fibreuse renfermant de nombreuses graines largement ovales. Le fruit est comestible ; elle est cultivée par les paysans pour ses graines qui sont appréciées. L'espèce est largement cultivée à la surface du globe ; seules les régions polaires s'opposent à sa culture.

Cette espèce contient de nombreuses variétés.

1.4. *Lagenaria siceraria*

Lagenaria siceraria est une plante herbacée annuelle, monoïque grimpante ou rampante, à tige anguleuse assez épaisse et recouverte de poils souples et fins.

Les feuilles longuement pétiolées (pétiole épais long de 5 – 20 cm). Les pétioles sont cylindriques et souvent creusés en dessous.

Le limbe entier est parfois légèrement trilobé, obtus ou aigu au sommet, denté sur les bords. Les deux faces du limbe sont recouvertes d'une pubescence fine, courte, plus dense à la face inférieure.

Les vrilles d'abord rectilignes, puis bifides à branche subégale, sont enroulées et pubescentes dans leur partie inférieure.

Les fleurs mâle et femelle sont solitaires à pétales blancs. L'ovaire est ovoïde ou cylindrique. Les fruits de taille variable, glabres à maturité sont d'abord verts puis deviennent blanchâtres ou jaunâtres. Les graines de couleur blanche sont nombreuses et aplaties.

Lagenaria siceraria est largement répandue dans toutes les zones chaudes ou tempérées du monde. Son fruit qui peut se présenter sous diverses formes est utilisé par la population locale comme récipient.

Le tableau 1 regroupe les noms courants et la description des fruits et graines des 4 espèces étudiées [3].

2. Extraction des lipides

Les graines entières décortiquées sont fixées dans l'eau bouillante environ 5 minutes pour inactiver les lipases. L'extraction se fait selon la méthode de BLIGH et DYER (4).

Après broyage dans le méthanol (10ml), les mêmes quantités de chloroforme et d'eau distillée sont ajoutées. Les lipides sont libérés de leurs interactions avec les molécules protéiques et se retrouvent dans la phase inférieure du système biphasique obtenue par centrifugation (10 min, 4000g). Cette phase est ensuite récupérée et le solvant évaporé. L'extrait est ensuite analysé.

3. Détermination de la composition en acide gras par chromatographie en phase gazeuse (CPG)

Les triacylglycérols ont été transestérifiés afin d'analyser les acides gras correspondant sous forme d'esters méthyliques.

3.1. Couplage Chromatographie en Phase Gazeuse / Spectrométrie de Masse

Ce couplage a permis l'identification non ambiguë des esters méthyliques majeurs et des composés mineurs.

Les esters des acides gras constituant l'huile de la graine, ont été analysés sur un dispositif constitué d'un chromatographe SHIMADZU GC-17A couplé à un spectromètre de masse de type quadripolaire SHIMADZU QP 500.

Le chromatographe est équipé d'une colonne DB5 (J & W) (5% phényl, 95% méthylsiloxane ; 30 m x 0,25 mm x 0,25 µm) ; gaz vecteur hélium (50 kPa) ; injection splitless (température injection 300°C) ; programmation four de 40°C à 130°C à 9°C/min puis de 130°C à 290°C à 2°C/min ; palier de 10 min à 290°C.

Le spectromètre de masse fonctionne en mode d'ionisation par impact électronique à 70 ev, avec acquisition entre les rapports m/z 29 et 650 ; température de source : 160°C.

3.2. Chromatographie en phase gazeuse avec détection par ionisation de flamme

L'analyse quantitative est menée par étalonnage interne. Ainsi, la méthylation des acides gras de l'extrait lipidique total ou des différentes classes lipidiques se fait en présence d'un standard interne, C17:0.

La séparation des esters méthyliques d'acides gras s'effectue sur un chromatographe (DELSI série 30) muni d'une colonne de type Carbowax de 25 m de long et 0,30 mm de diamètre intérieur et relié à un traceur intégrateur (Enica 21). La température de l'injecteur et du détecteur FID est de 250°C. Le gaz vecteur utilisé est l'hélium à 0,5 bars en tête de colonne et de débit 3ml/mm.

Les esters méthyliques sont identifiés par référence aux temps de rétention des standards correspondants, obtenus dans les conditions citées ci-dessus.

4. Analyse des triacylglycérols (TAG) en chromatographie en phase liquide haute performance (HLPC)

4.1 Conditions d'analyse (5,6).

La chaîne se décompose en : une pompe HP 1050 (Hewlett Packard, Palo-Alto, CA, Etats Unis), une vanne d'injection Rhéodyne modèle 7125 avec une boucle de 20µl (Rhéodyne, Cotati, CA, Etats Unis) un détecteur évaporatif à diffusion de lumière Sedere Sedex 75 (Sedere Alfortville, France). La température de la colonne a été contrôlée à l'aide d'un four Croco-cil (Cluzeau, Sainte-Foy-la-Grande, France) à circulation d'eau régulée par un thermostat-cryostat Julabo UC F10 (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 C18 (5µm) 250 x 4,6 mm (Thermo Quest, Les Ulis, France). La phase mobile est un mélange

binaire optimisé MeCN/CH₂Cl₂ 63/37 avec un débit de 1 ml/min. Les paramètres du détecteur ont été optimisés et sont les suivants : T = 37°C, P_{air} = 2 bars, Gain = 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; la concentration et le volume injecté ont été adaptés de telle façon qu'un pic pris en référence (LLL) ait toujours sensiblement la même aire.

Le standard utilisé la trilinoléine (LLL) provient de chez Sigma Chimie (St-Quentin Fallavier, France).

4.2 .Comparaison des huiles

Le détecteur évaporatif à diffusion de lumière ne donne pas une réponse directement proportionnelle à la quantité injectée (7). La loi de réponse du détecteur utilisé est de la forme Aire = a (masse injectée)^b (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 chaque coefficient de réponse (a) et (b) de chaque TAG présent, ni faire l'hypothèse qu'ils sont égaux).

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

La comparaison des différents huiles se fait donc en calculant le rapport de l'aire d'un TAG donné par rapport à l'aire du TAG de référence. En comparant ce rapport pour différentes huiles analysées, pour un TAG donné, plus ce chiffre est élevé, plus l'huile est riche en ce TAG.

Par ailleurs, partant de ces rapports des aires, on construit une figure sur laquelle les constituants sont repartis sur des axes gradués, uniformément distribués sur un cercle. 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 (radar-plot).

III. RESULTATS

1. Variation de la composition en AG des graines individuelles au sein d'une même espèce

Pour l'étude intraspécifique, l'extraction d'huile s'est faite graine par graine pour un total de 20 graines par espèce, choisies au hasard chez les vendeurs de semences de cucurbitacées à Brazzaville.

L'intérêt de cette étude est de savoir si les graines d'une même espèce sont homogènes ou non de façon à minimiser leur variabilité ultérieure, après semis.

Un échantillon sera considéré comme homogène si CV<15-20%, moyennement variable si 20% < CV < 50% et très variable si CV > 50%.

L'analyse des huiles extraites de ces graines a permis de mettre en évidence 5 AG principaux: l'acide palmitique (C16 :0), stéarique (C18 :0), oléique (C18 :1 n-9), linoléique (C18 :2 n-6) et linoléique (C18 :3 n-3).

Le tableau 2 donne la composition en AG de chaque graine pour les 4 espèces étudiées. La moyenne calculée ne correspond à aucune réalité sur le terrain, mais sert à la discussion de la variation intraspécifique.

L'examen des coefficients de variation (CV) de 20 graines pour chaque espèce prise isolément indique que:

- CM et CL présentent les CV les plus faibles (<20 %) pour l'ensemble des AG. Ces espèces conduisent donc aux semences les plus homogènes.
- CP et LS qui ont $10\% < CV < 43\%$, présentent une variabilité totale plus élevée ; leurs semences sont plus hétérogènes. Cependant ces 2 espèces présentent une faible variabilité spécifique par rapport à C18 :2 n-6, acide gras essentiel (CV respectivement égal à 20% et 10%).

Si on ne tient compte que de la composition en C18 :2 n-6 pour sélectionner les graines, une très bonne stabilité de la teneur en cet acide, avec $5\% < CV < 20\%$ est à noter pour l'ensemble des espèces.

2. Variation de la composition en AG des huiles des graines des différentes espèces

2.1 Composition en acides gras courants (AG)

L'étude interspécifique a été réalisée, pour chaque espèce sur des échantillons de 5 graines prélevées dans un lot commercial d'une espèce donnée, après brassage, et sensés être représentatif des différentes espèces.

Les résultats obtenus, consignés dans le tableau 3, montrent que les acides gras (AG) des espèces étudiées présentent le même profil que ceux reportés dans le tableau 1. Le calcul de la valeur moyenne de la teneur des 5 AG pour les 20 graines des 4 espèces et leur CV sont reportés dans le Tableau 2. Les chiffres sont comparables, et, en tenant compte des écart-types, statistiquement identiques. L'acide linoléique est l'acide gras majoritaire. Sa teneur varie de 52 à 74%. Des teneurs élevées d'acide linoléique ont déjà été observées quel que soit le lieu de la culture, au Congo (8) au Niger (9) et au Nigeria (10, 11). Cet acide gras essentiel qui intervient dans les fonctions biologiques vitales telles que les fonctions immunitaires, plaquettaires, rénales ou épidermiques (12) doit couvrir 3 à 6% des besoins énergétiques de l'homme (13).

Cet acide gras présentant la plus faible variabilité interspécifique, confirme ainsi l'identité de l'intérêt nutritionnel de ces 4 espèces.

L'acide oléique (C18 :1 n-6) présentant la variabilité la plus élevée avec $CV = 66\%$, permet une discrimination des espèces. On sait actuellement que cet acide gras est impliqué dans la réduction des risques cardiovasculaires (14,15). Ainsi, par rapport à cet acide gras, CM est l'espèce la plus intéressante et LS, la moins intéressante, entre ces 2 extrêmes se positionnent CL et CP.

Les coefficients de variation de C16 :0 et C18 :0, acides gras saturés sont respectivement de 33% et 27%. Ces acides sont présents à des pourcentages assez faibles (respectivement à 12,4% et à 8,5 %, en moyenne pour l'ensemble des espèces). Ceci est intéressant car ces deux acides ont un effet néfaste pour la santé : ils provoquent une élévation du taux de cholestérol sanguin (16).

Le rapport (%AG insaturés)/(%AG saturés) est en moyenne pour les 4 espèces compris entre 3,6 et 3,9 avec un coefficient de variation faible (13 à 15,9%). Cela témoigne d'une part de la stabilité et d'autre part du bon niveau de la qualité nutritionnelle des huiles étudiées.

Une représentation « radar plot » construit à partir des 5 AG majeurs identiques pour les 4 espèces est reportée figure 1.

Les teneurs respectives de ces AG varient de manière plus ou moins importante d'une espèce à une autre ; on aboutit selon le cas à un maintien ou une modification du profil général des AG des huiles.

3 espèces sur 4 gardent le même profil en AG ; ce sont CL, CP, LS.

CM présente une teneur en acide oléique plus importante, conduisant à un profil en AG différent du précédent ; le radar plot représentant CM est différent de ceux qui représentent CL, CP et LS qui se ressemblent entre eux.

2.2 Recherche des acides gras mineurs.

Les cucurbitacées sont caractérisées entre autre par la présence, dans certaines espèces, de l'acide alpha oléostéarique C18 :3 (9Z, 11E, 13E) pouvant limiter l'intérêt nutritionnel de cette famille botanique. Dans la littérature, cet acide a été mis en évidence avec de très faibles teneurs dans *cucurbita pepo*, *cucurbita maxima* et *cucumis melo* (17) ; Pour les espèces du genre *monordica*, cet acide atteint des teneurs de l'ordre 50% (18).

Afin de vérifier sa présence ou non dans les échantillons étudiés, nous avons recherché les produits mineurs présents dans ces échantillons par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse.

Dans aucun cas nous n'avons décelé l'acide conjugué recherché.

3. Variation de la composition en TAG des graines des différentes espèces.

Les TAG ont été identifiés grâce à des huiles témoins de composition parfaitement connue et étudiées dans les mêmes conditions chromatographiques (5, 6).

5 TAG majeurs ont été identifiés : LLL, OLL, PLL, OOL, SLL et 6 mineurs : POL, PPL, OOO, SOL, POO et PSL.

A partir de la connaissance des différents AG obtenus par CPG et grâce à un programme informatique, on remonte à la composition théorique en TAG.

Comme nous l'avons vu précédemment, la loi de réponse du DEDL est de la forme

$$\text{Aire} = a m^b$$

LLL étant un standard disponible, on a établi expérimentalement l'équation de la courbe d'étalonnage: Aire_{LLL} = 8,915 m^{1,4}

Si en première approximation on suppose que « a » et « b » sont voisins quelque soit le TAG, on peut comparer (m_{XYZ} / m_{LLL})^{1,4} obtenu grâce au programme informatique et

Aire_{XYZ} / Aire_{LLL} valeurs déterminées expérimentalement pour les 4 espèces étudiées.

La figure 2 illustre le degré de concordance obtenu et montre qu'il n'y a pas de biosynthèse stéréospécifique très évidente, sauf pour OOL dont la quantité est toujours plus forte que la quantité statistique calculée, ceci pour les 4 espèces.

Sur 35 compositions triacylglycérols (TAG) théoriquement possibles, on en observe expérimentalement 11, de même nature dans les quatre espèces cucurbitacées.

Une représentation « radar plot » des rapports des aires expérimentales ($Aire_{XYZ} / Aire_{LLL}$) construits à partir des 5 TAG majeurs identiques pour les 4 espèces est reportée figure 3.

Les teneurs respectives de ces TAG varient de manière plus ou moins importante d'une espèce à une autre ; on aboutit selon le cas à un maintien ou une modification du profil général des TAG des huiles.

3 espèces sur 4 gardent le même profil en TAG ; ce sont CL, CP, LS.

CM présente une teneur en OLL qui est 5 fois plus élevée que la moyenne de cette teneur pour les 3 espèces précédentes, il s'ensuit une modification de la hiérarchie dans la succession des TAG, conduisant à un profil en TAG différent du précédent ; le radar plot représentant CM est différent de ceux qui représentent CL, CP et LS qui se ressemblent entre eux, même si CL et CP sont les 2 espèces les plus proches.

IV. CONCLUSION.

L'étude de 4 espèces de cucurbitacées alimentaires du Congo - Brazzaville permet de constater que :

- la semence utilisée par les populations présente une homogénéité satisfaisante pour la production d'une huile ayant une teneur élevée en C18:2 n-6.
La teneur en C18 :1 n-9, est meilleure dans CM et CL que dans CP et LS.
- les huiles extraites des 4 espèces se ressemblent totalement par leur composition qualitative en TAG : 11 des 35 TAG attendus ont été identifiés; ils sont les mêmes pour les 4 espèces. La teneur individuelle des TAG varie d'une espèce à une autre ; pour CL, CP et LS, cette variation n'entraîne pas la modification de l'importance relative des TAG ; il y a conservation du profil général en TAG de l'huile. CM a une teneur en OLL suffisamment élevée qui conduit une modification de ce profil.
- 3 des 5 TAG majeurs contiennent les acides oléique et linoléique , les 2 restants sont des combinaisons de 2 acides linoléiques soit avec l'acide palmitique soit avec l'acide stéarique. Les acides oléique et linoléique seront donc préférentiellement fixés en position 2 du glycérol et donc totalement disponibles pour l'organisme. Une telle éventualité accroîtrait l'intérêt nutritionnelle de cette famille botanique. Une identification directe des 2 mono-acylglycérols est en cours .

BIBLIOGRAPHIE

- (1) MVOULA TSIERI M. ,SILOU T., TREMOLIERES A.2004, Nature et composition des classes des lipides de quatre espèces de cucurbitacées alimentaires du Congo-Brazzaville, soumis Rivista Italiana della Sostanze Grasse.
- (2) KERAUDREN J., Flore du Cameroun. Cucurbitacées- Muséum National d'Histoire Naturelle de Paris..

[3] S. N'KOUNKOU, E. KAMI, J. P. MAKITA-MADZOU, O. C. SAMINOU, A. P. BEMBE, G. NSONGOLA et J. MIEKOUNTIMA, 2003, Contribution à la taxonomie des *cucurbitaceae* oleifères au Congo-Brazzaville, Quatrième séminaire sur la valorisation du safoutier et autres oléagineux non conventionnels, 3-7 Décembre 2003, Brazzaville , CONGO.

(4) BLIGH LG. et DYER AJ. 1959, A rapid method for total lipid extraction and purification. *Can J Biochem*, 37, 911-917.

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

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

(7) DREUX M, LAFOSSE M, 1995. Chap 13, Evaporative Light Scattering Detection of Carbohydrates in HPLC dans EL RASSI Z " Carbohydrates analysis" Ed ELSEVIER Amsterdam Coll : J. of Chromatography Library, 58, 515 – 525.

(8) SILOU T. KISSOTOKENE-NTINOU O MVOULA TSIERI M OUAMBA JM KIAKOUAMA S. 1990, Contribution à l'étude des corps gras des graines de quatre espèces des cucurbitacées cultivées au Congo. *J.Soc. Chim. Tunisie*, 2 : 13 -21.

(9)SILOU Th., D. MAMPOUYA D., LOKA LONYANGE WD, SAADOU M, 1999, Composition globale et caractéristiques des huiles extraites de 5 espèces des cucurbitacées du Niger., *Rivista Italiana della sostanze Grasse* , LXXXVI,141 – 144.

(10) OPDERINDE R., TAIRO O., F. AWUFAL, AYEDIRAN D., Study of the chemical composition of some members of cucurbitaceae family, *Riv. Ital. Sostanse Grasse*, 67, 259 – 262 (1990).

(11) BADIFU G.I.O., 1991. Chemical and physical analyses of oils from four species of cucurbitaceae. *J. Amer. Oil Chem. Soc.* 68(6), 428-432 (1991).

(12) KARLESKIND A. 1990, Manuel des corps gras. Paris : Lavoisier , Tec et Doc, vol.1

(13) PASCAG G. (1996), Les apports quotidiens recommandés en lipides et en acides gras. *OCL*, 3 : 205 – 210.

(14) HEYDEN S., 1994. Polyunsaturated and monounsaturated fatty acids in the diet to prevent coronary heart disease via cholesterol reduction, *An. Nutr. Metabol.* ,308, 117 – 122.

(15) GRUNDY S.M., 1986. Mono unsaturated fatty acids, plasma cholesterol, coronary heart disease *Am. J. Clin. Nutr.* 1168 – 1175.

(16) HAYES K.C. KHOSLA P. , 1992. Dietary and thresholds and cholesteromia, *Am. Soc. Exp. Biol.*, 6 , 2600 – 2607.

(17) GHALEB ML, FARINES M, SOULIER J, 1991, Composition chimique des huiles des graines de citrouille, courge , melon, *Rev. Fr. corps Gras*, 38 (1/2) : 17 -22.

(18) ARMOUNGOM R, GRODIN I, SMADJA J (1998), Composition en acides gras des extraits lipidiques de quelques graines de cucurbitacées tropicales, *OCL*, 5 (4) : 323 -328.

Tableau 1: Noms courants et la description des fruits et graines de 4 espèces de cucurbitacées étudiées.

Noms scientifiques	Noms français et vernaculaires				Formes des courges (fruits)	Formes des graines
	Français	Laari	Beembe	Téké		
<i>Citrullus lanatus</i> (Thunb)Mans f.	Melon à pistache	Ya Kala	Ntété za Batéké ou Ntété za bamiroir	Bibéré	Courges (baies) • ovoïdes ; • ellipsoïdes.	<ul style="list-style-type: none"> • ovoïdes, aplaties ; • arrondies au sommet ; • blanches ou brunes • parfois noirâtres • marginées
<i>Cucurbita moschata</i> (Duch.ex Lam.)Poiret	Citrouille musquée	Nsouéki	Malengué	-	Courges (baies) • ovoïdes ; • multiformes.	<ul style="list-style-type: none"> • ovoïdes, aplaties; au • atténuées au sommet ; • rugueuses-veloutées ; • marginées (rainures).
<i>Cucurbita pepo</i> L.	Citrouille courge	Lengué	Nsouéké ou Malengué	Bipara	Courges (baies) • ovoïdes ; • multiformes.	<ul style="list-style-type: none"> • largement ovoïdes ; • obovoïdes ; • beige, lisses ; • marginées.
<i>Lagenaria siceraria</i> (Mol.)Stand.	Calebasse	Nsiya	Nsiya ou Nténté zababinda ou za mbinda	Nsiya ou Souhou-souhou	Courges (baies) • subglobuleuses • ellipsoïdes ; • pyriformes ; • avec un long col droit • avec un long col recourbé	<ul style="list-style-type: none"> • ellipsoïdes-triangulaire ; • obovoïdes comprimées ; • tronquées au sommet ; • bidentées.

Tableau 3 : Composition en acides gras (%) des 4 espèces de cucurbitacées du Congo.

	C16:0	C18:0	C18:1 n-9	C18:2 n-6	C18:3 n-3	R*
<i>Citrullus lanatus</i>	6,99	11,64	10,69	70,2	0,46	4,4
<i>Cucubita moshata</i>	16,99	6,94	23,26	52,48	0,31	3,2
<i>Cucubita pepo</i>	13,45	8,85	15,45	61,92	0,31	3,5
<i>Lagenaria siceraria</i>	12,02	6,59	6,99	74	0,39	4,4
Moyenne	12,36	8,51	14,10	64,65	0,37	3,9
Ecart-type	4,1	2,3	7,0	9,6	0,1	0,3
Coef. de variation	33,2	27,0	65,5	13,7	27,0	13
Moyenne **	13	8,6	19,6	57,7	0,8	3,6
Ecart-type **	3	1,4	9,7	10	0,5	

*R = (%AGinsaturés)/(%AG saturés)

** valeurs moyennes calculées à partir du tableau 2

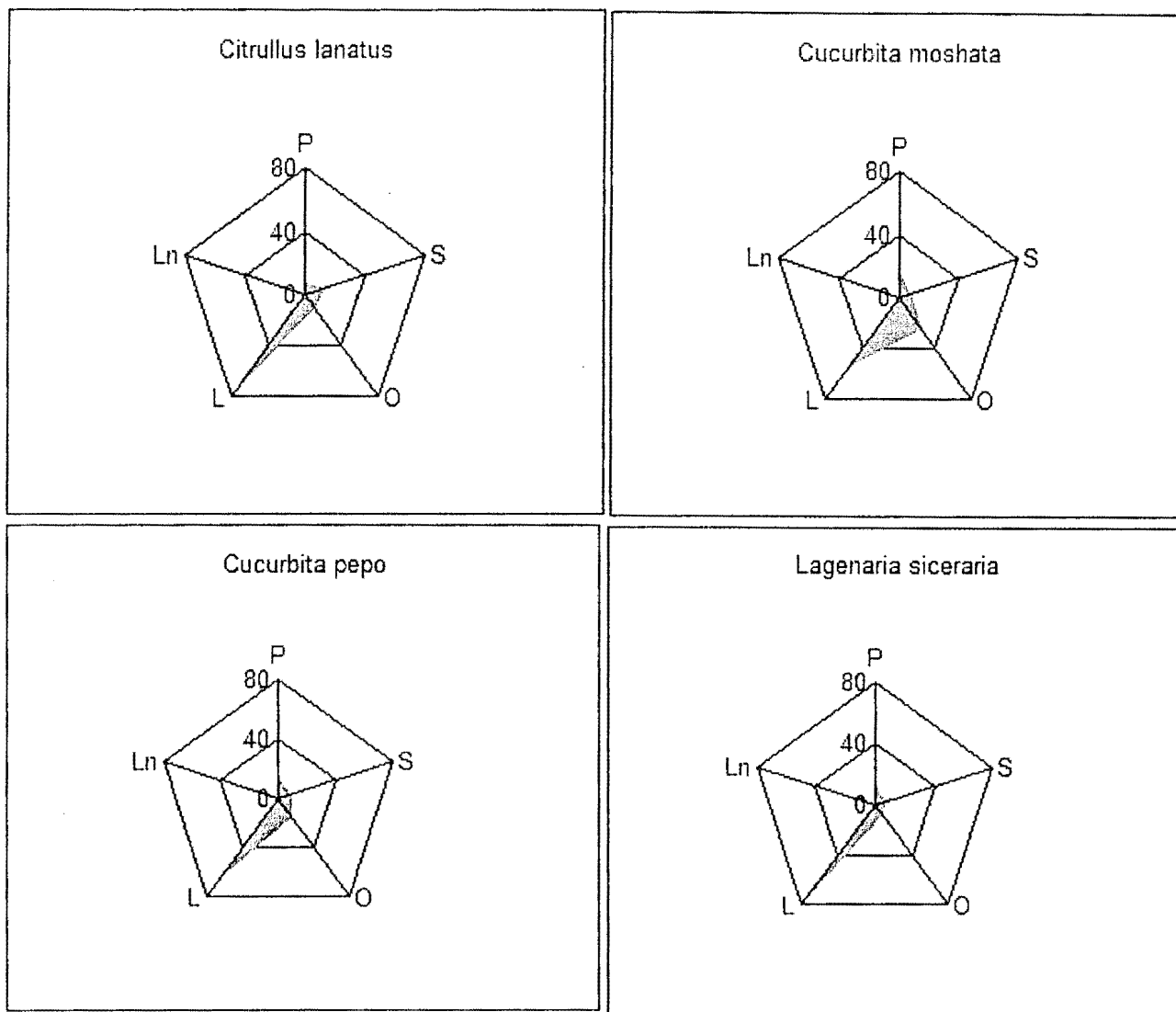


Figure 1 : Représentation en radar plots des AG des huiles de 4 espèces de cucurbitacées alimentaires du Congo-Brazzaville.

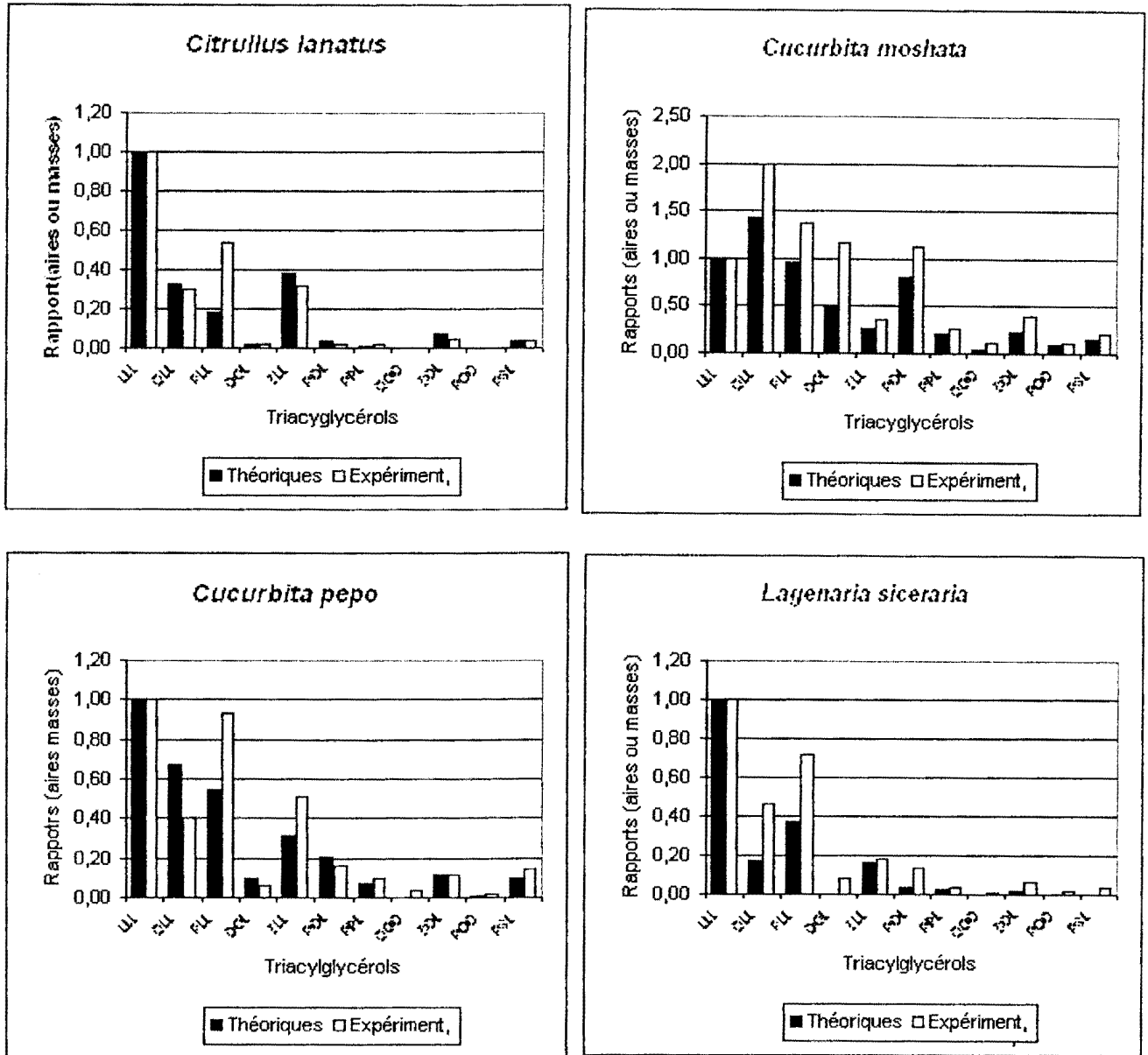


Figure 2 : Histogrammes représentant les résultats théoriques (m_{XYZ} / m_{LLL})^{1,4} et expérimentaux (aire TAG/aire LLL) de la composition en TAG de 4 espèces de cucurbitacées alimentaires du Congo-Brazzaville.

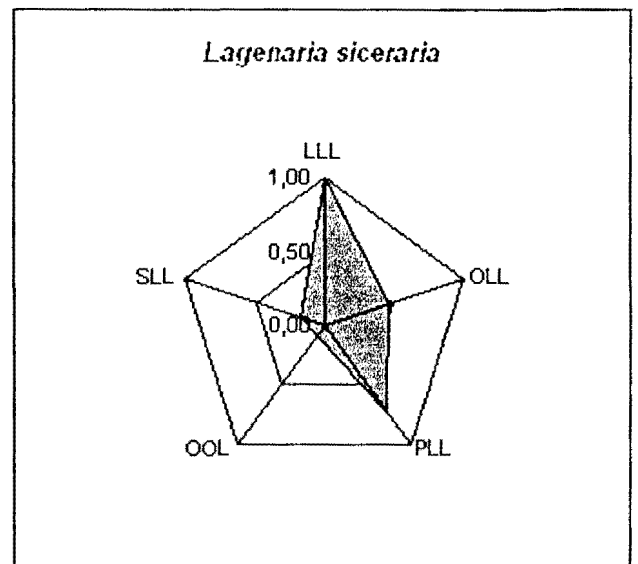
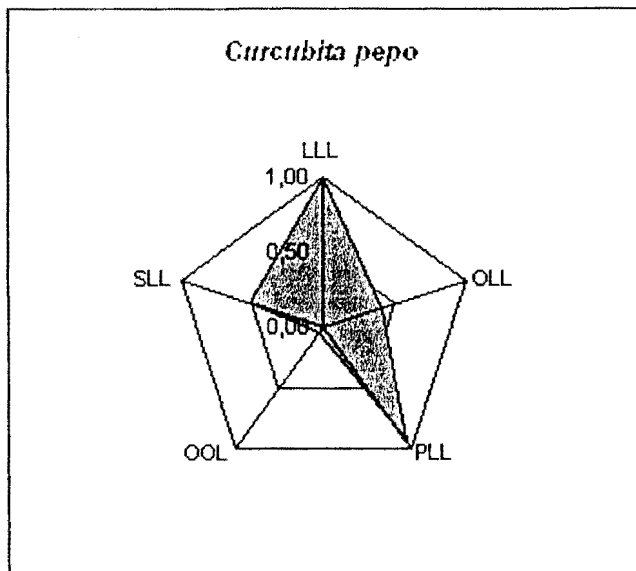
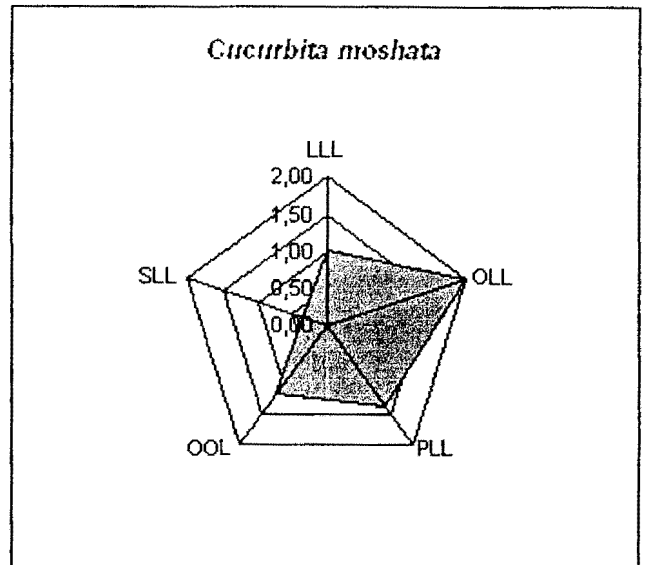
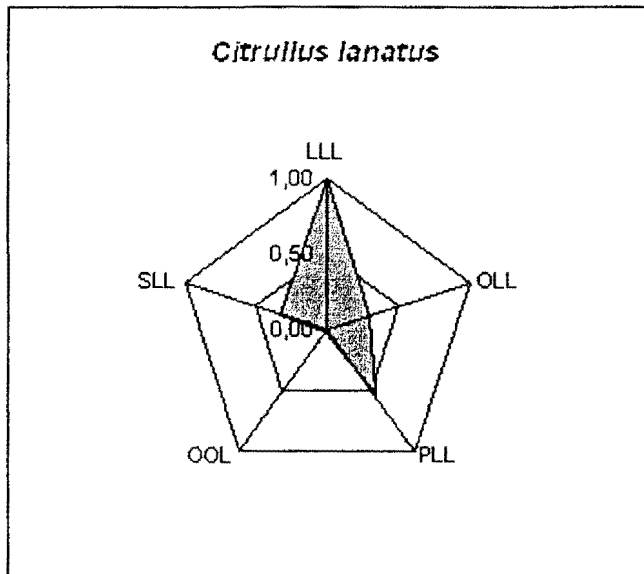


Figure 3 : Représentation en radar plots des TAG des huiles de 4 espèces de cucurbitacées alimentaires du Congo-Brazzaville.

**Etude comparée des lipides de graines
de *Cucurbita moschata* et de *Luffa cylindrica***

M. Mvoula Tsieri^(a), T. Silou^{(a)*}, A. Tremolières^(b)

(a) Equipe Pluridisciplinaire de Recherche en Alimentation et Nutrition
(EPRAN Congo), BP 389, Brazzaville, Congo, E mail : eprancongo@yahoo.fr

(b) Institut de Biotechnologie des Plantes, Université Paris Sud.

* Auteur correspondant

A travers cette étude, nous voulons marquer notre intérêt pour une meilleure connaissance de *Luffa cylindrica* afin de dégager son importance dans l'alimentation humaine. Une étude comparative avec *Cucurbita moschata*, permet de dégager les points de convergence et/ou divergence afin de valoriser cette espèce qui n'est pas encore utilisée en alimentation humaine au Congo-Brazzaville.

II. MATERIEL ET METHODES.

1. Matériel végétal [10].

1.1. *Cucurbita moschata*

Cucurbita moschata est une plante herbacée monoïque, rampante, à tige molle de section circulaire. Les feuilles sont pétiolées (jusqu'à 20 cm); le limbe est entier et parcheminé, de taille variable pouvant atteindre 20 cm de longueur ; elles sont lobées. Les vrilles multifides portent quelques poils à la base de la partie rectiligne. Les fleurs sont solitaires, synanthérées; la corolle jaune, à lobes soudés à leur base sur 1/3 de leur longueur. Les étamines sont groupées au centre de leur périanthe. Le pédoncule fructifère est épais. Les fruits sont ovoïdes ou de forme variées. La coloration varie d'un fruit à un autre pour une même espèce: la pulpe fibreuse renferme de nombreuses graines qui sont nettement marginées sur les bords.

1.2-*Luffa cylindrica*

Luffa cylindrica est une plante herbacée à tiges lianescentes de 3 à 6 m de long, marquées de fins sillons longitudinaux.

Les feuilles ont un pétiole de 3 à 10 cm, et un limbe qui est de 3 à 5 cm palmatilobé. La plante s'accroche à son support par des vrilles.

Les fleurs mâles sont jaunes, regroupées en racèmes portant 10 à 20 fleurs; les fleurs femelles sont solitaires. Le fruit est une baie pendante, cylindrique, de 15 à 20 cm de long. Le fruit a l'aspect d'une courgette dont l'intérieur est revêtu d'un système fibreux résistant.

Originnaire de l'Inde, cette plante est largement cultivée sous les tropiques.

2. Extraction des lipides totaux .

Les graines décortiquées avant broyage sont traitées par l'eau bouillante environ 5 minutes permettant ainsi d'inactiver les lipases. L'extraction se fait selon la méthode suivante [11].

Après broyage dans le méthanol (10ml), les mêmes quantités de chloroforme et d'eau distillée sont ajoutées. Les lipides sont libérés de leurs interactions avec les molécules protéiques et se

retrouvent dans la phase inférieure du système biphasique obtenu par centrifugation à 4000 x g pendant 10 min.

3. Détermination de la teneur en huile des graines (lipides totaux).

La teneur en huile a été déterminée par la méthode normalisée utilisant le soxhlet et l'hexane comme solvant d'extraction [12].

4. Identification des classes de lipides par chromatographie sur couche mince (CCM).

Le fractionnement des lipides en différentes classes se fait par la chromatographie d'absorption sur couche mince de gel de silice (plaque TLC 608-254, Merck). La méthode consiste à déposer 3µL de l'extrait lipidique total préalablement dissout dans 0,5 mL de chloroforme. La plaque est ensuite placée dans une cuve hermétiquement fermée contenant un solvant de polarité donnée. Le solvant Lepage [13], chloroforme / méthanol / acétone / acide acétique / eau (50/10/20/10/5, V/V/V/V/V) permet de séparer les lipides neutres des lipides polaires et de fractionner ces derniers.

Le solvant de Mangold [14] éther de pétrole / éther diéthylique/acide acétique (70/30/04 ; V/V/V) permet le fractionnement des lipides neutres.

Les lipides séparés sur une plaque de gel de silice sont révélés dans une cuve saturée de vapeurs d'iode grattés et récupérés, pour dosage et analyse.

5. Détermination de la composition en acides gras par chromatographie en phase gazeuse (CPG)

La composition en acides gras a été déterminée, avec des esters méthyliques préparés en présence d'un standard interne [15] sur un chromatographe (DELSI série 30) muni d'une colonne de type Carbowax de 25 m de long et 0,30 mm de diamètre intérieur et relié à un enregistreur intégrateur (Enica 21). La température de l'injecteur et du détecteur FID est de 250°C. Le gaz vecteur utilisé est l'hélium à 0,5 bars en tête de colonne et de débit 3ml/mm.

6. Nomenclature et abréviations

Les différents acides gras mis en évidence au cours de cette étude sont notés:

Acide palmitique (P), C_{16:0}; acide stéarique (S), C_{18:0}; acide oléique (O) C_{18:1 n-9}; acide linoléique (L) C_{18:2 n-6}; acide linoléique (Ln), C_{18:3 n-3}.

Par la suite, la position de la double liaison ne sera plus signalée pour alléger l'écriture.

7. Détermination de la composition en triacylglycérols.

Les triacylglycérols ont été analysés par chromatographie liquide haute performance en phase inverse.

La chaîne se décompose en : une pompe HP 1050 (Hewlett Packard, Palo-Alto, CA, Etats Unis), une vanne d'injection Rhéodyne modèle 7125 avec une boucle de 20 μ l (Rhéodyne, Cotati, CA, Etats Unis) un détecteur évaporatif à diffusion de lumière Sedere Sedex 75 (Sedere Alfortville, France). La température de la colonne a été contrôlée à l'aide d'un four Croco-cil (Cluzeau, Sainte-Foy-la-Grande, France) à circulation d'eau régulée par un thermostat-cryostat Julabo UC F10 (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 C18 (5 μ m) 250 x 4,6 mm (Thermo Quest, Les Ulis, France). La phase mobile est un mélange binaire optimisé MeCN/CH₂Cl₂ 63/37 avec un débit de 1 ml/min. Les paramètres du détecteur ont été optimisés et sont les suivants: T= 37 °C, P_{air} = 2 bars, Gain = 11, constante de temps= 1.

L'acétonitrile (Acros, New Jersey, USA) et le dichlorométhane (Carlo Erba, Rodano, Italie) sont de qualité HPLC grade. Les huiles ont été mises en solution dans un mélange MeCN/CH₂Cl₂ 50/50; la concentration et le volume injecté ont été adaptés de telle façon qu'un pic pris en référence (LLL) ait toujours sensiblement la même aire [16, 17]

Le standard utilisé la trilinoléine (LLL) provient de chez Sigma Chimie (St-Quentin Fallavier, France).

8. Statistiques

Les traitements statistiques ont été réalisés sur le logiciel Excel 8.0.de Microsoft.

III. RESULTATS ET DISCUSSION

1. Différentes classes des lipides (Tableau 1)

Cucurbita moschata a une composition plus complexe que *Luffa cylindrica*. Les 3 constituants des lipides neutres mis en évidence et non identifiés dans CM ne sont pas présent dans LC. Il en est de même pour l'inconnu D des lipides polaires.

Les TAG, principaux constituants de la fraction glycéridique sont en quantité plus importante dans *Luffa cylindrica* que dans *Cucurbita moschata*.

Les lipides polaires de *Luffa cylindrica* sont formés exclusivement de phosphatidylinositol (PI), phosphatidylcholine (PC) et phosphatidyléthanolamine (PE), les 2 premiers constituants sont présents en proportions presque égales de l'ordre de 40 % et le dernier est présent à près de 20 %. Dans *Cucurbita moschata*, PC est largement majoritaire (40 %) devant PE, PI et D qui sont présents chacun à près de 20 %.

Les teneurs en lipides totaux déterminées par la méthode au soxhlet est de 33,7% et 36,2% respectivement pour *Cucurbita moschata* et *Luffa cylindrica*.

2. Composition en acides gras des différentes classes pour les 2 espèces étudiées.

2.1 *Cucurbita moschata* (Tableau 2).

Les acides gras des lipides totaux les plus abondants sont $C_{18:2}$ et $C_{16:0}$ avec une légère prédominance de $C_{18:2}$

Les acides gras majoritaires des diacylglycérols sont $C_{16:0}$, et $C_{18:1}$, à un niveau sensiblement égal.

Comme dans le cas des diacylglycérols $C_{18:1}$ et $C_{16:0}$ sont les acides gras majoritaires des acides gras libres, avec une prédominance de $C_{18:1}$, alors que $C_{18:2}$ est l'acide gras majoritaire des triacylglycérols.

Dans les composés inconnus A, C et dans les paraffines, l'acide gras le plus abondant est $C_{16:0}$ alors que $C_{18:2}$ est majoritaire dans le composé inconnu B.

L'inconnu D, contient majoritairement $C_{16:0}$; cet acide gras est plus abondant dans le phosphatidylinositol (PI), le phosphatidyléthanolamine (PE) et dans le phosphatidylcholine (PC).

Nous remarquons que dans *Cucurbita moschata* les acides gras les plus abondants sont $C_{16:0}$ et $C_{18:1}$ sauf au niveau des lipides totaux et des triacylglycérols où $C_{18:2}$ est toujours l'acide gras le plus abondant.

2.2. *Luffa cylindrica* (Tableau 3).

Comme pour l'espèce précédente, l'acide gras majoritaire des lipides totaux de *Luffa cylindrica* est $C_{18:2}$ (42,5 %) suivi de $C_{16:0}$ (25,6 %). Dans les diacylglycérols, $C_{18:2}$, est l'AG le plus abondant avec une teneur de 40 %.

$C_{18:2}$ est l'acide gras majoritaire suivi de $C_{16:0}$ et $C_{18:1}$ des acides gras libres.

$C_{18:2}$ est l'acide gras majoritaire des triacylglycérols et des paraffines.

$C_{18:2}$ et $C_{16:0}$ sont abondants avec prédominance de $C_{18:2}$, comme dans le cas des lipides neutres dans PI, PC et $C_{16:0}$ est l'acide gras majoritaire dans PE.

Comparativement à *Cucurbita moschata*, les quantités de $C_{18:3}$ observées dans le *Luffa cylindrica* sont nettement supérieures. Le taux de $C_{18:3}$ pourrait être un paramètre non négligeable de reconnaissance entre les cucurbitacées.

3. Triacylglycérols de *Cucurbita moschata* et de *Luffa cylindrica*

Les TAG ont été identifiés grâce à des huiles témoins de composition parfaitement connue et étudiées dans les mêmes conditions chromatographiques (Héron et Tchaplà, 1994a, 1994b).

Sur les 35 compositions triacylglycérols théoriquement possibles dans cette étude, on observe expérimentalement 11, de même nature, dans les 2 cucurbitacées ; 5 TAG majeurs: LLL, OLL, PLL, OOL, POL et 6 mineurs: SLL, PPL, OOO, SOL, POO et PSL (figures 1 et 2)

Compte tenu du fait que la DEDL ne donne pas une réponse directement proportionnelle à la quantité injectée, l'analyse ne peut conduire qu'à des résultats semis quantitatifs [18]

La comparaison des 2 huiles s'est donc faite en calculant le rapport de l'aire d'un TAG donné à celui du TAG de référence et qui a une valeur constante pour les 2 chromatogrammes. Et, plus ce rapport est élevé plus la quantité de TAG présente dans l'huile est importante. Ramené à 100%, nous obtenons dans le tableau 5 l'importance relative des TAG ; il ressort de ce tableau que les 2 huiles présentent le même profil en TAG.

La représentation circulaire (radar plot) illustre mieux cette ressemblance.

Partant des rapports des aires déduits des chromatogrammes, on construit une figure sur laquelle les constituants sont repartis sur des axes gradués, uniformément repartis sur un cercle (360°). 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 (radar-plot).

Les 2 représentations « radar plot » construits sur les 6 premiers TAG majeurs (figure

2) sont quasi-identiques ; la quantité de LLL varie du simple au double en passant de *Cucurbita moschata* et de *Luffa cylindrica* d'une part et d'autre la teneur en OOL diminue avec la même ampleur et dans le même sens.

IV. CONCLUSION

Les huiles étudiées contiennent des acides gras couramment rencontrés dans les huiles végétales, à savoir les acides palmitique, stéarique, oléique et linoléique. Ce sont des huiles de type linoléique.

L'acide linoléique ($C_{18:2}$), acide gras essentiel (AGE) dont la teneur est de 34.2 % pour *Cucurbita moschata* et de 42,5 % pour *Luffa cylindrica* par rapport aux acides gras totaux, renforce l'intérêt nutritionnel et diététique de ces huiles. Il est majoritaire dans les lipides totaux et semble s'accumuler préférentiellement dans les TAG aussi bien pour *Cucurbita moschata* (43,5 %) que pour *Luffa cylindrica* (53,2 %). C'est une situation très intéressante sur le plan nutritionnel, notamment pour *Luffa cylindrica*, avec des TAG constituant 91 % de ses lipides totaux.

L'acide linoléique, $C_{18:3}$, autre AGE, est présente en quantité non négligeable de l'ordre de 6 %, limitant ainsi l'utilisation des huiles correspondantes à l'assaisonnement.

L'acide palmitique est très localisé dans les phospholipides (53 – 68%) en particulier chez *Cucurbita moschata*.

Dans une huile l'essentiel des acides gras n'existent pas à l'état libre, ils entrent dans la constitution des TAG, c'est donc au niveau des TAG que peut apparaître une discrimination éventuelle. Le présent travail met en évidence une identité qualitative des huiles de *Cucurbita moschata* et *Luffa cylindrica* pour les 11 TAG identifiés.

Il pourrait, dès lors, être suggérer l'utilisation de l'huile de *Luffa cylindrica* dans l'alimentation humaine, tout au moins en tant qu'huile d'assaisonnement, importante source d'AGE.

REMERCIEMENTS

La chromatographie liquide haute performance avec détecteur évaporatif à diffusion de lumière a été réalisée au LETIAM, IUT d'Orsay; nous présentons ici nos sincères remerciements au Pr. A. Tchaplé et au Dr. S. Héron pour leur aide multiforme.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

[1] Badifu G.I.O. Chemical and physical analyses of oils from four species of cucurbitaceae. *J.Amer.Oil Chem.Soc.* 1991; 68 (6): 428-432 .

- [2] Giris P., Turner T.D. Lesser Known Nigerian edible oils and fats. III Fatty acid compositions are determined by gas-liquid chromatography. *J.Sci. Fd Agric.* 1972; 23 : 259-262 .
- [3] Onyeike E.N., Olungwe T., Uwakwe A. Effect of heat treatment and defating on proximate composition of some Nigerian soup thickeners, *Food Chemistry* 1995; 53: 173 – 175.
- [4] Opederinde R., Tairo O., Awufal F., Ayediran D. Study of the chemical composition of some embers of cucurbitaceae family, *Riv. Ital. Sostanze Grasse* 1990; 67: 259 - 262 .
- [5] Sabo Seini A., 2004, Inventaire de sources mal connues de nutriments : étude prospectives de la teneur en nutriments des graines de diverses cucurbitacées du Niger. Thèse Doctorat Université ABDOU MOUMOUNI, Niamey, 176p.
- [6] Silou Th., Mampouya D., Loka Loyange W.D. Composition globale et caractéristiques des huiles extraites de 5 espèces de cucurbitacées du Niger. *Riv. Ital. Sostanze Grasse* 1999 ; 74 : 141 - 144.
- [7] Silou Th., Kissotokene Ntinou O., Mvoula Tsieri M., Ouamba J.M., Kiakouama S. Contribution à l'étude des corps de quatre espèces de cucurbitacées cultivées au Congo, *J. Soc. Chimie, Tunisie* 1990; II (11): 13 - 21.
- [8] Kabélé Ngiéfu C., Wakeng Bulambo. Composition en avides gras totaux des huiles de *Citrillus lanatus* et de *Lagenaria siceraria*, *Ann. Fac. Kinshasa, Zaïre* 1982 ; 4 : 91-102.
- [9] Berhaut J., *Flore illustrée du Sénégal*, Gouvernement du Sénégal, Ministère du Développement rural et de l'hydraulique, Direction des eaux et forêts, 1972, tome III, 634p.
- [10] Keraudren J., *Flore du Cameroun. Cucurbitacées*. Muséum de l'Histoire Naturelle, Paris 1967.
- [11] Bligh L.G. & Dyer A.J. A rapid method for total lipid extraction and purification. *Can. J. Biochem.* 1959; 37:911-917.
- [12] AFNOR , Recueil des normes françaises, corps gras, graines oléagineuses, paris France, 2^{ème} Edition 1981,
- [13] Lepage M., The separation and identification of plant phospholipids and glycolipids by two-dimensional thin-layer chromatography. *J. Chrom.* 1964; 13: 99-103.
- [14] Mangold H.K. Thin-layer chromatography of lipids. *J.Am.Oil. Chem.Soc.* 1964; 41 : 762-773.
- [15] Metcalfe L.D. Schmitz A.A. & Peka J.R. Rapid preparation of fatty acids esters from lipids for gas chromatographic analysis. *Anal. Chem.* 1966; 38 : 514-515.
- [16] Héron S & Tchaplà A. Choix des phases stationnaires et mobiles pour la séparation en chromatographie en phase liquide de triglycérides de corps gras. *Analisis* 1994 ; 22 : 114-126.
- [17] Héron S. & Tchaplà A. Utilisation d'un modèle d'interaction moléculaire pour l'optimisation de la separation des triglycerides de corps gras en CLPI. *OCL* 1994 ; 1 (3) : 219-228

[18] Dreux M, Lafosse M., Chap. 13, Evaporative Light Scattering Detection of Carbohydrates in HPLC dans EL RASSI Z "Carbohydrates analysis" Ed ELSEVIER Amsterdam 1995, Coll: J. of Chromatography Library, 58, 515 – 525

Tableau 1
Composition des lipides neutres et polaires
(% de la masse des acides gras totaux)

Nature	<i>Cucurbita moschata,</i>	<i>Luffa cylindrica</i>
Lipides neutres		
DAG ₁₋₂	6,3	2,0
DAG ₁₋₃	5,3	
AG	4,1	3,5
TAG	65,8	90,6
A	3,0	-
B	2,9	-
C	4,7	-
Paraffines	1,6	1,7
Total	93,6	95,7
Lipides polaires		
PI	19,6	38,6
PC	37,3	41,9
PE	22,4	19,5
D	20,8	-
Total	100	100

Tableau 2
Composition (%) en acide gras totaux neutres
et polaires de *Cucurbita moschata*

	C _{16:0}	C _{18:0}	C _{18:1}	C _{18:2}	C _{18:3}
Lipides résiduels*	33,0	9,7	17,2	34,1	6,0
DAG ₁₋₂	25,8	8,8	21,2	39,1	5,1
DAG ₁₋₃	42,5	15,5	38,2	3,3	0,5
AG	22,0	13,5	38,0	19,4	7,1
TAG	18,3	8,1	29,1	43,5	1,0
A	49,8	20,7	20,6	7,5	1,3
B	26,6	12,8	24,0	33,6	3,0
C	31,0	14,0	26,7	26,2	2,1
Paraffines	67,1	18,3	7,2	-	7,5
PI	68,5	18,2	3,5	3,3	6,6
PC	53,1	13,9	26,0	4,8	2,3
PE	63,6	12,5	15,3	8,7	-
D	57,6	18,4	20,7	-	3,3

*Constituants des lipides qui n'ont pas migré

Tableau 3
Composition (%) en acides gras des lipides totaux,
neutres et polaires de *Luffa cylindrica*

	C _{16:0}	C _{18:0}	C _{18:1}	C _{18:2}	C _{18:3}
Lipides résiduels*	25,8	9,0	16,3	42,5	6,4
DAG	17,2	11,4	15,6	40,2	15,8
AG	18,5	12,0	14,9	44,0	10,6
TAG	15,1	7,6	23,5	53,2	0,6
Paraffines	23,3	11,5	17,1	36,0	12,0
PI	26,2	8,4	13,1	37,5	14,9
PC	26,8	13,1	13,9	36,1	10,1
PE	37,4	10,8	12,6	29,0	10,2

*Constituants des lipides qui n'ont pas migré

Tableau 4
Composition relative (%) en triacylglycérols des huiles de graines
de *Cucurbita moschata* et de *Luffa cylindrica*.

Triacylglycérols	<i>Cucurbita moschata</i>	<i>Luffa cylindrica</i>
OLL	24,7	22,2
LLL	12,4	23,0
PLL	17,0	23,0
POL	13,9	10,2
OOL	14,4	6,4
SLL	4,3	5,9
SOL	4,2	2,7
PPL	3,3	1,5
PSL	2,6	2,2
POO	1,5	1,8
OOO	1,5	1,1

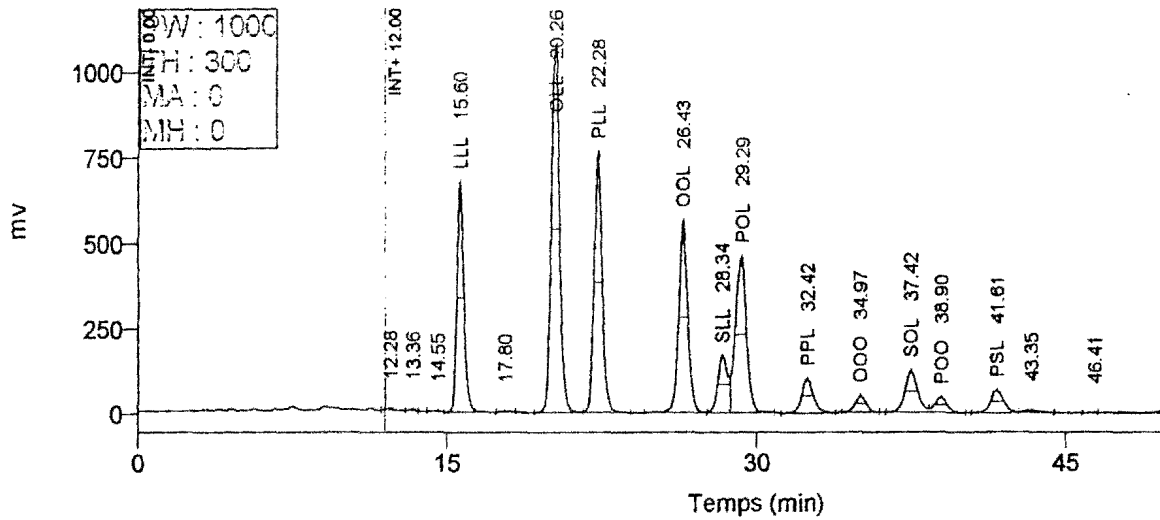


Figure 1: Chromatogramme HPLC des TAG de *Cucurbita moshata*

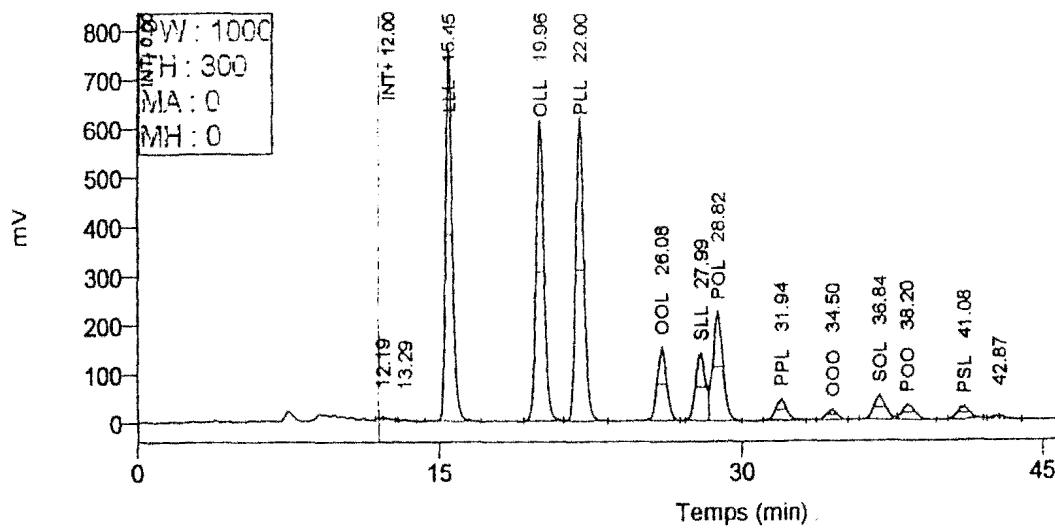


Figure 2: Chromatogramme HPLC des TAG de *Luffa cylindrica*

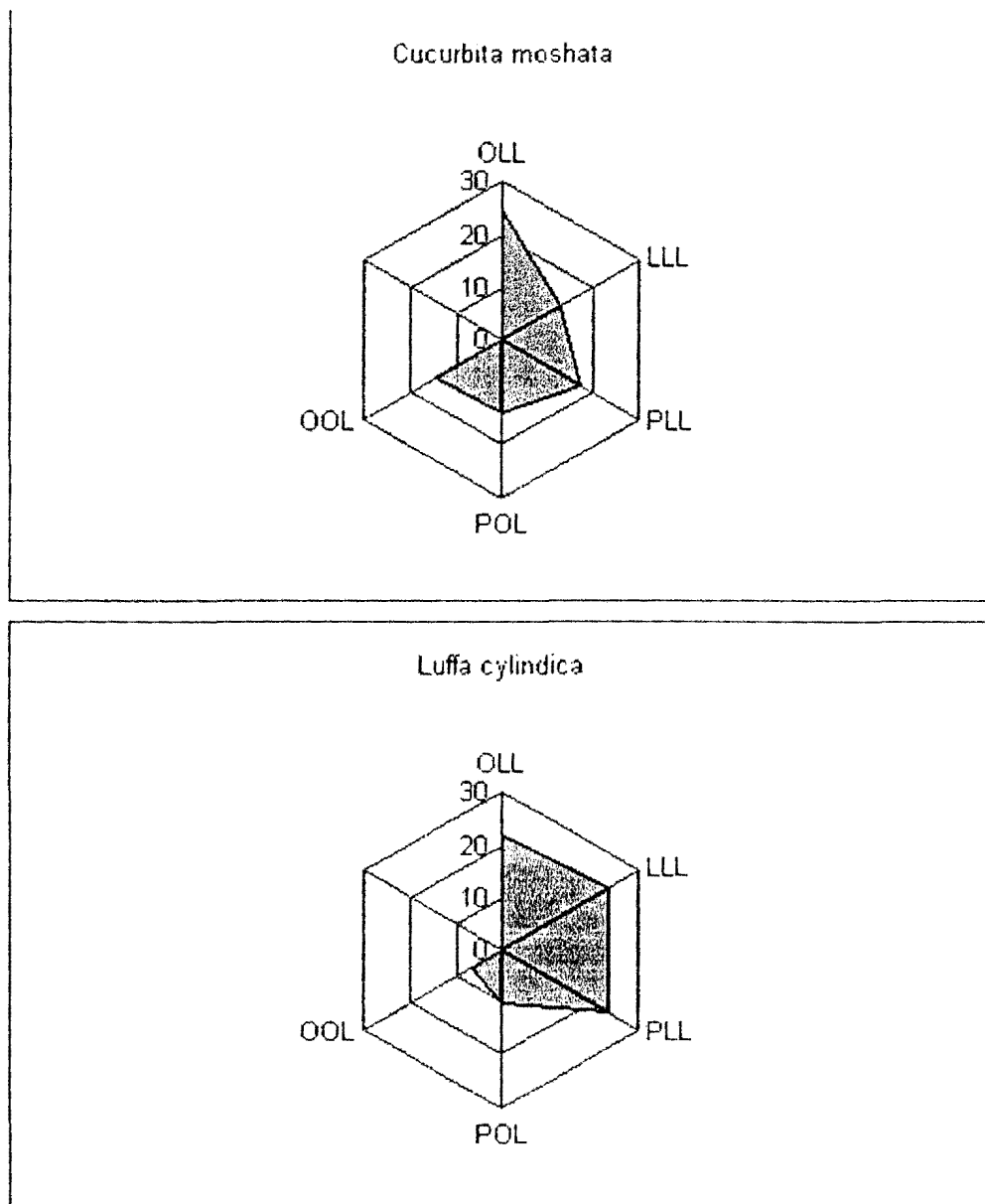


Figure 2 : Représentation « radar plot » de la composition relative en TAG des huiles de *Cucurbita moschata* et de *Luffa cylindrica*.



Les huiles de graines des cucurbitacées présentent des caractéristiques très intéressantes. Les indices d'iode et de saponification très élevées indiquent que ces huiles contiennent des acides gras qui sont fortement insaturés. L'insaturation assez élevée témoigne de leur richesse en acides gras essentiels. Les valeurs de l'indice d'acide obtenues sont en faveur des huiles faiblement acides et leur teneur en insaponifiables atteste leur richesse en composés terpéniques et stéroliques.

Ces huiles sont stables à la chaleur.

L'étude des classes lipidiques (lipides neutres et polaires) a montré l'extrême complexité de la répartition des acides gras. Il ressort clairement que l'essentiel de l'acide linoléique $C_{18:2}$ est concentré dans les TAG et les acides linoléique $C_{18:3}$ et palmitoléique $C_{16:1}$ peuvent servir de facteur discriminant pour les espèces de cucurbitacées étudiées. Les cucurbitacées analysées ne présentent pas une grande originalité dans les lipides neutres. Les TAG constituent la majorité des lipides neutres. Au niveau des lipides polaires, les trois constituants identifiés sont PC, PE et PI avec PC et la PE comme les lipides les plus abondants.

L'étude de la variabilité de la composition en acides gras des graines issues d'une même espèce a permis de montrer d'une part que la semence utilisée par les populations présente une homogénéité satisfaisante pour la production d'une huile ayant une valeur élevée en $C_{18:2}$ et d'autre part que les huiles extraites se ressemblent par leur composition qualitative en TAG. L'étude de la variabilité de la composition en acides gras et triglycérides a mis en évidence les différences interspécifiques. En effet, la teneur individuelle des TAG varie d'une espèce à une autre ; cette variation n'entraînant aucune modification de l'importance relative des TAG. Il y a donc peu de variabilité dans les acides gras des graines de chacune des espèces donc l'huile est homogène. Comme $C_{18:2}$ est majoritaire, ces huiles sont intéressantes du point de vue nutritionnelle tout comme les huiles de soja, de noix et de tournesol.

Luffa cylindrica, cucurbitacée encore non consommée au Congo -Brazzaville a été comparée aux cucurbitacées traditionnellement consommées, afin d'approfondir nos connaissances sur cette espèce et en fin de compte, dégager son importance alimentaire.

MOTS CLES :

Cucurbitacées – *Citrullus lanatus* – *Cucurbita moschata* – *Cucurbita pepo* – *Lagenaria siceraria* – *Luffa cylindrica* – Acides gras – Classes des lipides – Lipides neutres – Lipides polaires – Variabilité – Caractéristiques physico-chimiques – Huiles végétales.

INTITULE ET ADRESSE DE L'UNITE DE RECHERCHE :

Equipe Pluridisciplinaire de Recherche en Alimentation et Nutrition
BP 389, Brazzaville, Congo/ BP 1286, Pointe-Noire, Congo
E-mail : eprancongo@yahoo.fr