

COMPOSITION EN ACIDES GRAS ET EN TRIACYLGLYCEROLS DE L'HUILE DE LA GRAINE DE SAFOU

KINKELA Thérèse, SILOU Thomas*

*Equipe Pluridisciplinaire de Recherche en Alimentation et Nutrition (EPRAN) Equipe -
Mixte DGRST-UMNG, B.P.1286 centre IRD, Pointe Noire Congo
Fax : 00 242 94 31 84 - E-mail : eprancongo@yahoo.fr*

(Reçu le 15/05/2002 – Révisé le 23/10/2003 – Accepté le 17/09/2003)

Summary : Scientific works undertaken until now consider pulp oil. The seed was studied very little and studies refer to fatty acids the (FA) analysis. This work will supplement results on FA by those relating to triacylglycerols (TAG).

If these two oils present the same FA profile : % palmitic acid (C16 : 0) > % oleic acid (C18 : 1 n-9) > % linoleic acid (C18 : 2 n-6), they are clearly different by the TAGs chromatograms in HPLC. The safou pulp oil has 5 major TAG (PPO > POO > PPL > POL > PLL) whereas that of seed has only 2 of them (PPO > POO). In addition, if C18 : 1 n-9 and C18 : 2 n-6 almost exclusively occupy sn-2 TAG position in pulp oil, C18 : 2 almost never occupies it in the seed one. This study brings a new lighting on the use of the whole fruit (pulp + seed) in the oil production.

Keywords : Fatty acids, triacylglycerols, seed, oils, Dacryodes edulis

I – INTRODUCTION

Le safou nom local du fruit de *Dacryodes edulis* en Afrique Centrale, se présente généralement sous forme d'une drupe ellipsoïdale de 4 – 8 cm long sur 3 – 6 cm de large. Une pulpe de 0,3 à 1cm d'épaisseur entoure une graine pentalobées. Seule la pulpe est

* Auteur de correspondance

comestible, et de nombreux travaux scientifiques ont mis en évidence son caractère oléagineux ^[1].

L'huile extraite de la pulpe avec des teneurs pouvant atteindre les 70 % présente un intérêt nutritionnel certain. En particulier elle contient de l'acide linoléique à des teneurs de l'ordre de 30% et cet acide occupe préférentiellement la position sn-2 des triacylglycérols. Cette huile est de ce fait une bonne source d'Acides Gras Essentiels (AGE) facilement utilisables par l'organisme^{[2], [3]}.

D'où la mise en œuvre dans la sous région de quelques travaux orientés vers la production d'huile à partir de la pulpe de safou ^{[4], [5], [6]}.

La première étape du procédé de production de cette huile est l'ouverture manuelle des fruits pour séparer les pulpes des graines. C'est une activité pénible.

Le traitement des fruits entiers (pulpe + graine) occasionnerait un gain en temps, mais aussi en rendement parce que la graine contient près de 10 % de l'huile par rapport à la matière sèche, qui s'ajouterait à l'huile de la pulpe

Encore faudrait-il s'assurer que l'huile de la graine ne vienne pas compromettre la qualité nutritionnelle de l'huile de la pulpe.

C'est dans ce contexte que nous avons réalisé une étude exploratoire de l'analyse de la fraction glycéridique de l'huile de la graine de safou, devant l'absence des données fiables sur la question dans la littérature.

En effet, la plupart des travaux sur le safou se sont focalisés sur la pulpe ^[1], seuls KINKELA et BEZARD^[7] d'une part et SOULIER^[8] d'autre part se sont intéressés à la graine, notamment à la détermination de sa composition en acides gras.

Dans cet article nous reprenons l'analyse des acides gras de l'huile de la graine que nous complétons par celle des triacylglycérols. Les résultats obtenus sont comparés à ceux venant de l'huile de la pulpe des mêmes de fruits.

I- MATERIELS ET METHODES

1- Matériel végétal

L'arbre étudié est localisé à Loufoulakari (District de Louingui, Région du Pool, Congo-Brazzaville). Il est âgé de 10 ans environ et atteint, pour la production fruitière, sa vitesse de croisière (100 kg/an).

Dix fruits safous mûrs sont prélevés puis ouverts pour en dégager les graines. Les pulpes et les graines fraîches sont séchées à l'étuve à 105°C pendant 6 heures et broyées. La poudre obtenue est utilisée pour l'extraction de l'huile de la pulpe ou de la graine.

2 - Méthodes d'analyse

♦ Extraction de l'huile

La poudre sèche de la pulpe ou des graines est soumise à l'extraction dans un soxhlet avec l'éther de pétrole pendant 10 heures. L'extrait est séché sur du sulfate de sodium et filtré. Après l'évaporation du solvant, l'huile obtenue est séchée pendant 12 heures à l'étuve à 105°C puis conservée sous azote avant l'utilisation^[1]

♦ Analyse des acides gras

Les esters méthyliques des acides gras des lipides totaux sont préparés sur échantillon de 100 mg en présence de méthylate de sodium 0.5 N obtenu par dilution d'une solution-mère à 30% (Merck-Schuchard) dans le méthanol (1 : 9 V/V, à température ambiante pendant 2 min. sous agitation^[2].

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

température constante de 195°C avec un débit d'azote de 3 ml/min sous une pression de 0,5 bar. L'appareil est muni d'un injecteur à 230°C et d'un détecteur à ionisation de flamme à 220°C. Les aires sous pics sont mesurées à l'aide d'un enregistreur-intégrateur ICAP 10 (LTT, France, Paris). La réponse du détecteur aux différents esters méthyliques est étudiée avec des mélanges quantitatifs (Nu Chek-Prep. Elysian, MN, USA) et des coefficients de correction des aires ont été établis ^[2].

♦ Analyse des triacylglycérols (TAG)

Les TAG totaux sont isolés des lipides totaux par chromatographie sur colonne d'acide silicique. Leur pureté est testée par chromatographie sur couche mince (CCM) de gel de silice avec le système de solvants : hexane – éther diéthylique – méthanol – acide acétique (90 : 20 : 3 : 2, en volumes) ^[2].

Les TAG purifiés sont analysés par chromatographie liquide à haute performance (CLHP) en phase inverse à l'aide d'une colonne en acier inoxydable de 250 mm de longueur, de 4.6 mm de diamètre intérieur remplie de silice (4µm de diamètre) greffée de radicaux octadecyl (Hibar Lichrospher 100 CH-18) de chez Merck. La colonne est montée sur l'appareil Waters ALC : GPC 20, modèle 6000A, qui est muni d'un réfractomètre différentiel R 401 (Waters, Milford, MA, USA). Les conditions d'analyses sont celles décrites par Semporé et Bézard , à savoir : analyse isocratique, à température ambiante (19 à 21°C), à l'aide d'une phase mobile acétone – acétonitrile (70 :30, en volumes) avec un débit de 1 ml / min. La fraction majeure de TAGs est collectée à la sortie du détecteur (réfractomètre différentiel). Elle est ensuite rechromatographiée dans les mêmes conditions afin d'éliminer d'éventuels pics contaminants. Les acides gras de chaque fraction isolée sont analysés par chromatographie en phase gazeuse (CPG) sous forme d'esters méthyliques comme précédemment ^[2].

II - RESULTATS ET DISCUSSION

1 - Composition en acides gras de l'huile de la graine

Le tableau 1 donne la composition en acides gras (AG) de l'huile de la pulpe et de la graine des différents échantillons ainsi que des valeurs rencontrées dans la littérature.

Il présente en particulier des résultats obtenus par la même méthode sur les différents parties des fruits d'un même arbre . Cette précaution nous permet d'éviter les biais par les méthodes utilisées ou à cause de la variabilité inter-arbre.

On constate :

- ◆ Premièrement que les résultats obtenus pour l'huile de la pulpe concordent avec ceux antérieurement publiés et confirment pour l'huile de la pulpe de safou, le profil suivant pour les trois acides gras majeurs : % C 16 : 0 > %C 18 : 1 n-9 > %C18 : 2 n-6.

- ◆ Deuxièmement que l'huile de la graine diffère de celle de la pulpe par la quasi-absence de l'acide linoléique C18 : 2 n-6. Sa teneur chute de 20 à 3% de la pulpe à la graine, ce qui est surprenant puis que c'est la première fois que nous le constatons .

Un tel constat indique une dépréciation la valeur nutritionnelle de l'huile de la graine.

TABEAU 1 : *Composition en Acides Gras (AG) (%Moles) de l'huile de la pulpe et de la graine de safou et de ses triacylglycérols (TAGs) totaux*

Acides gras	Pulpe (huile totale)		Graine	
	Littérature * [1]	Présent travail	Huile totale	Triacylglycerols totaux
C 14 :0	-	-	0,70	0,60
C 15 :0	-	-	0,09	-
C 16 :0	47,4 (6,8)	48,82	58,70	48,37
C 16 :1	-	0,27	0,64	0,77
C 17 :0	-	0,11	0,15	0,17
C 18 :0	2,8 (1,1)	2,58	7,74	9,11
C 18 :1	29,6 (4,2)	25,50	24,03	32,89
C 18 :2 n-6	18,8 (7,1)	20,60	3,21	4,84
C 18 :3 n-3	-	1,69	tr	tr
C 20 :0	-	0,16	1,46	1,71
C20 :1 n-9	-	0,07	0,93	1,00
Autres	-	-	2,35	0,54
Saturés	50,2	51,51	69,42	
Mono insaturés	29,6	25,84	26,53	
Poly insaturés	18,8	22,29	4,05	

*Moyenne sur 25 échantillons () écart-type.

Sachant que dans le fruit entier, la pulpe apporte 60% d'huile contre 10% pour la graine, cette dépréciation serait négligeable dans une huile extraite à partir du fruit entier.

Par ailleurs, les résultats obtenus antérieurement^[7], signalent un échantillon d'huile de la graine contenant 36% de C18:2. Il faudrait donc s'attendre à une forte variabilité de la quantité de cet acide d'un échantillon à un autre contrairement à ce qui est observé pour l'huile de la pulpe. Un travail systématique est en cours au Laboratoire.

2 - Composition en triacylgcérols (TAG)

Le tableau 2 compare les résultats obtenus au cours de ce travail à ceux déjà disponibles dans la littérature. Il apparaît à la lecture de ce tableau, que le présent travail met en évidence les mêmes composés majoritaires qui s'inscrivent parfaitement dans le profil de la composition en triacylgcérols de l'huile de la pulpe de safou tel qu'il se dégage des valeurs moyennes de la littérature à savoir : % Dipalmitoléine (PPO) > % Palmitodioléine (POO) > % Dipalmitiloléine (PPL) > % Palmito oléo linoléine POL > % Palmitodiloléine(PLL)

Le tableau 1 donne la composition en acides gras (% molaire) des triacylgcérols totaux de l'huile de la graine. Il montre que cette dernière contient 48,37% d'acide palmitique (16 : 0), 32,89% d'acide oléique (C18 :1 n-9), 9,11% d'acide stéarique et seulement 4,84% d'acide linoléique (C18 :2 n-6) confirmant ainsi les résultats déjà obtenus sur les acides gras de l'huile totale.

Les huiles de la pulpe et de la graine présentent des différences notables en chromatographie liquide haute performance, en phase inversée (figures 1 et 2).

FIGURE 1 : Chronogramme HPLC des triacylgcérols de l'huile de la pulpe de safou

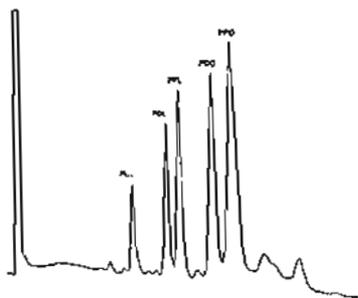
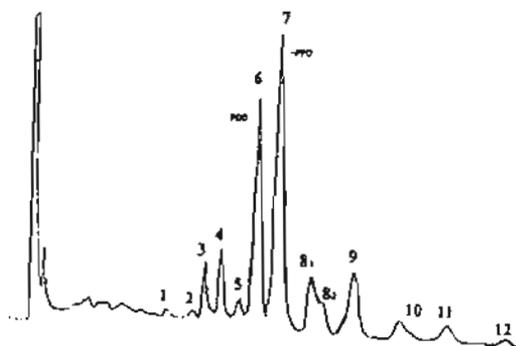


FIGURE 2 : *Chronogramme HPLC des triacylglycérols de l'huile de la graine de safou*



TABIEAU 2 : *Composition en triacylglycérols majeurs de l'huile de la pulpe de safou*

	PPO	POO	PPL	POL	PLL	TOTAL
TCHENDJI et al [9]	27,1	15,9	24,0	14,1	5,7	86,8
KINKELA et al [2]	29,3	23,0	16,9	13,9	8,4	91,5
BEZARD et al [10]	24,2	21,6	16,8	15,9	9,3	87,8
	21,2	7,2	37,0	12,3	12,5	90,2
SILOU et al [11]	20,8	24,3	17,0	14,9	7,0	84,0
SOULIER [8]	26,0	16,2	24,4	12,6	12,2	91,4
KAPSEU [12]	16,2	17,2	16,3	18,5	16,1	84,3
Moyenne	23,5	17,9	21,8	14,6	10,2	-
Ecart type	4,5	5,8	7,5	2,1	3,6	-
Présent travail	28,43	18,94	21,65	13,11	7,43	89,56

Le chromatogramme de l'huile de la graine présente 8 fractions distinctes correspondant aux numéros portés sur le chromatogramme de la figure 2 (pics 3, 4, 6, 7, 8, 10, 11, 12) dont les plus importantes sont représentées par les pics 6 et 7. Ces fractions ont été collectées à

la sortie du détecteur et leurs acides gras déterminés par chromatographie en phase gazeuse. Pour les fractions 8 et 9, elles ont été purifiées en les chromatographiant séparément. L'ensemble des résultats obtenus sont regroupés dans le tableau 3.

On peut voir que la première fraction correspondant au pic n° 3 sur le chromatogramme (figure 2) est constituée approximativement au 1/3 de l'acide palmitique, 1/3 d'acide linoléique et plus du tiers d'acide oléique. Le TAG majeur est la palmitooléolinoléine (POL) ; c'est probablement l'acide oléique C18 : 2 n-6 qui occupe la position interne du triglycéride, car il est admis dans la littérature^[13], que sur les triacylglycérols des huiles végétales la position interne est préférentiellement occupée par les acides gras insaturés et ce d'autant que l'insaturation est plus grande, il faut tout de même signaler que dans un travail antérieur nous avons constaté que cette règle n'était strictement suivie et en retrouvant préférentiellement C18 : 1 n-6 en position interne par rapport à C18 : 2 n-6 ^[11, 17], 19].

La deuxième fraction (pic n°4) contient environ 2/3 d'acide palmitique et plus du tiers d'acide linoléique. Le TAG majeur est la dipalmitolinoléine (PPL) avec probablement le C18 : 2n-6 en position interne.

A coté de cette fraction et en petite proportion, on note la présence d'un petit (pic 5) qui semble ne pas être pur, notamment avec la présence de C16 : 0 en quantité non négligeable ; toutefois le TAG majoritaire de ce pic semble être la trioleine (OOO).

La troisième fraction (pic n°6) comporte 2/3 de C18 : 1n-9 et 1/3 de C16 : 0 ; elle est donc constituée principalement de la palmitodioléine (POO) avec le C18 : 1n-9 en position interne.

La quatrième fraction (pic n°7) est constituée essentiellement de dipalmitooléine (PPO) avec probablement le 18 : 1 n-9 probablement en position interne.

La cinquième fraction (pic n°8₁) est constituée essentiellement de la tripalmitine (PPP).

La sixième fraction (pic n°8₂) est formée principalement de 1/3 de C18 : 0 et de 2/3 de C18 : 1 ; c'est la stéarodioléine (SOO).

La septième fraction (pic n°9) comporte environ 1/3 de C18 : 0 et de 18 : 1 chacun et plus d'un tiers de 16 : 0 c'est la stéarooléopalmitine (SOP).

Les dernières fractions (pics 10, 11, 12) sont plus difficiles à interpréter

A partir des aires sous pics, les pourcentages pondéraux des différents triacylglycérols ont été déterminés. Les résultats figurent sur la première ligne du tableau 3.

TABLEAU 3 : Composition en Acides Gras (%moles) des fractions de triacylglycérols (TAG) de l'huile des graines de safou

Fractions	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	
%(m/m)	5,01	6,15	2,91	24,17	36,0	6,15	3,44	9,44	3,52	2,56	0,65
14:0											0,31
15:0											0,67
16:0	29,18	57,49	14,78	27,50	62,48	68,58	13,86	35,78	46,13	32,65	49,13
16:1	0,95		0,54								
17:0						1,26			0,72		
18:0	3,7	1,38	3,03	2,54	2,21	6,54	25,80	29,42	21,20	25,54	17,96
18:1	35,88	4,79	76,71	66,91	33,41	16,08	54,53	29,73	21,58	28,38	20,13
18:2	29,54	36,34	2,97	2,73	1,90	2,48	1,47	2,6	2,40	2,33	2,44
18:3											
20:0	0,75		0,61			1,50	0,92	1,4	5,07	11,1	7,76
20:1			1,36	0,32		2,98	3,42	1,07	2,90		1,60
TAGs	POL	PPL	OOO	POO	PPO	PPP	SOO	PSO	PSO		

Ces résultats montrent que l'huile des graines de safou étudiée contient essentiellement deux triacylglycérols majeurs qui sont le dipalmitooléine (PPO) représentant 36 % des TAG totaux et la palmitodioléine (POO) représentant 24,17 % des TAGs totaux.

Par ailleurs si l'on compare la composition acides gras et en triacylglycérols de l'huile des graines de safou à celle de la pulpe de ces mêmes safous on constate que l'huile de la graine ne contient que deux TAGs majeurs (PPO > POO) alors que dans l'huile de la pulpe en contient cinq (PPO > POO > PPL ≥ POL > PLL). Toutefois, dans les deux cas, les TAG majeurs sont PPO et POO.

Si l'on considère les acides gras en position interne des triacylglycérols, dans les TAGs de l'huile de la pulpe, cette position est occupée préférentiellement par le C18 : 1n-9 suivi par le C18 : 2n-6, dans les TAGs de l'huile de la graine par le C18 : 1n-9 mais peut être aussi par le C16 : 0, vu son pourcentage élevé ; Ceci reste à vérifier, des études régiospécifiques des TAG par RMN du ¹³C devraient permettre d'identifier formellement les sn-2 monoacylglycérols des huiles de la graine ^[1].

III - CONCLUSION

L'huile des graines de safou étudiée présente une teneur élevée en acide palmitique (58,70%) et 24% d'acide oléique. C'est une huile de type oléopalmitique. La teneur en acide linoléique est négligeable. Cette huile ne contient que deux principaux triacylglycérols, la oléodipalmitine (PPO) et la palmitodioléine (POO), contrairement à celle de la pulpe qui en contient cinq (PPO , PPL , POO , POL , PLL).

De manière générale, il y a un enrichissement en acide palmitique dans la graine au détriment de l'acide linoléique. Il y a donc baisse de la qualité nutritionnelle , mais comme on l'a déjà souligné plus haut, il faudra relativiser cette baisse en considérant la très faible contribution de la graine à l'huile extraite du fruit entier.

Remerciements

Ce travail a été réalisé grâce à un appui financier de l'Agence pour Investissement de la Recherche à l'Étranger (Aire développement convention n° B-3-COG-004) et de l'Association des Universités partiellement ou entièrement de langue française (AUELF JER N° 6017)

BIBLIOGRAPHIE

- [1] - SILOU Th. *Le safoutier (Dacryodes edulis) un arbre mal connu*, Fruits (1996). 51 (1), 47 – 59.
- [2] - KINKELA T. BEZARD J., *Etude de la structure des triacylglycérols de l'huile de la pulpe de safou (Dacryodes edulis)* Rev. Fr. corps gras (1993) ,40, (11/12), 373 – 382.
- [3] - SILOU T. KAMA-NIAMAYOUA R. *Contribution à la caractérisation des safous d'Afrique (Dacryodes edulis)* V. Note sur l'étude régiospécifique des triacylglycérols de l'huile de la pulpe de safou, OCL, (1999), 6 (5), 439 – 443.
- [4] - KENMEGNE A.T., ALI A., TCHIEGANG, KAPSEU C. *Problématique de la production d'huile de safou au Cameroun*, Fruits, (1997), 52 (5), 325 – 330.
- [5] - SILOU T., MOUSSATA C.O., *Essai de décoloration de l'huile de la pulpe de safou (Dacryodes edulis)*, Rev. Fr. Corps Gras (1991), 38 (9/10) 315 - 320.
- [6] - ALI A., KOUMPO L., KAMDEM KENMGNE A., SILOU Th. *Séchage de la pulpe de safou pour sa valorisation*, Fruits (1997), 52 (3) 167 – 176.
- [7] - KINKELA Th., BEZARD, *Les lipides des quelques produits alimentaires congolais*, Sciences des aliments. (1993), 13, 567 – 575.
- [8] - SOULIER B., *Contribution à l'étude des huiles de la pulpe et de graines de safou*, DEA, Université de Toulouse, France, 48p. (1987)

- [9] - TCHENDJI C, SEVERIN M., WATHELET J.P., DEROANNE C.,
Composition de la graisse de Dacryodes edulis Rev. Fr. Corps Gras (1987), 28 (3), 123 - 125.
- [10] - BEZARD J., SILOU T., KIAKOUAMA S., SEMPORE G. *Variation de la fraction glycéridique de l'huile de la pulpe de safou avec l'état de maturité du fruit*, Rev Fr. Corps Gras (1991), 38 (7 /8) 233 - 241.
- [11] - SILOU T., KIAKOUAMA S., BEZARD J., SEMPORE G.. *Note sur la composition en acides gras et en triglycérides de l'huile de safou en relation avec la solidification partielle de cette huile*, Fruits (1991), 46 (3) 271 - 278.
- [12] - KAPSEU C. TCHIEGANG C.. *Composition de l'huile des fruits de deux cultivars de safou au Cameroun*, Fruits. (1996), 51 (3), 185 - 191.
- [13] - LITCHFIELD, *Analysis of triglycerides*, Academic Press, 1972. New York, London.