



**HAL**  
open science

# Étude de la fraction lipidique des graines de Cucurbitacées tropicales des genres *Lagenaria*, *Luffa*, *Momordica*

Pulchérie Rosanne Armougom

► **To cite this version:**

Pulchérie Rosanne Armougom. Étude de la fraction lipidique des graines de Cucurbitacées tropicales des genres *Lagenaria*, *Luffa*, *Momordica*. domain\_other. Université de la Réunion, 1998. Français. NNT: . tel-00489158

**HAL Id: tel-00489158**

**<https://theses.hal.science/tel-00489158>**

Submitted on 4 Jun 2010

**HAL** is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

**UNIVERSITÉ DE LA REUNION**

**THÈSE**

**Présentée pour obtenir**

**LE GRADE DE DOCTEUR EN SCIENCES**

par

**Mademoiselle Pulchérie Rosane ARMOUGOM**



**ÉTUDE DE LA FRACTION LIPIDIQUE DES GRAINES  
DE CUCURBITACÉES TROPICALES DES GENRES  
*Lagenaria, Luffa, Momordica***

*Soutenue le 23 juillet 1998 devant le jury composé de :*

Mademoiselle M. FARINES	Professeur-Université de Perpignan (rapporteur)
Monsieur J. GRAILLE	Professeur-CIRAD-AMIS Montpellier (rapporteur)
Mademoiselle I. GRONDIN	Maître de Conférences-Université de La Réunion
Mademoiselle M. RIVIERE	Professeur-Université de Toulouse
Madame J. SMADJA	Professeur-Université de La Réunion

## Avant-Propos

Ce travail est le fruit d'une riche entreprise. Entreprise dont les acteurs n'ont pas ménagé leur effort pour me permettre d'atteindre ce résultat. Je voudrais en ces premières lignes les remercier tous.

J'exprimerais tout d'abord ma gratitude à Monsieur le Professeur Jacques-Yves CONAN qui durant de nombreuses années a dirigé le laboratoire de Chimie Organique dans lequel il a bien voulu m'accueillir au sein de son équipe.

Je souhaiterais présenter à Madame le Professeur Jacqueline SMADJA, directrice du nouveau laboratoire de Chimie des Substances Naturelles et des Sciences des Aliments, des remerciements pour la confiance qu'elle m'a accordée dès le début de ma recherche. Tout au long de mon étude, ma motivation, mes conduites réflexives, ma force de travail sont restées intactes grâce à Madame le Professeur Jacqueline SMADJA qui a su par une présence attentive, perspicace et patiente me guider sereinement.

Je tiens à accorder une reconnaissance toute particulière à Mademoiselle Isabelle GRONDIN, Maître de Conférences, qui avec l'efficacité de sa supervision et sa rigueur scientifique, a toujours trouvé les mots pertinents pour me rassurer, me conseiller, m'encourager et me faire constamment profiter de son expérience. Sa disponibilité, son attitude calme et responsable ainsi que ses nombreuses qualités humaines resteront pour moi un exemple.

Je voudrais remercier vivement Madame le Professeur Marie FARINES, Doyen de la Faculté de Perpignan ainsi que Monsieur le Professeur Jean GRAILLE du CIRAD de Montpellier qui ont bien voulu témoigner de l'intérêt qu'ils portent à ce travail en acceptant de l'examiner.

J'adresse à Mademoiselle RIVIERE toute ma reconnaissance pour sa présence au sein du jury de cette thèse.

Toute l'équipe du laboratoire, par sa bonne humeur et son aide, m'a soutenue tout au long de ce travail et plus spécialement au moment de la rédaction. Je remercie donc Alain, Anne, Carole, Jean, Jean-Bernard, Jean-Christophe, Jimmy, Maryline et Suzelle.

Je remercie vivement Philippe RONDEAU pour son aide bienveillante et je souhaiterais témoigner à Mademoiselle Emmanuelle VALENCIENNES une amicale attention pour sa présence en des moments critiques.

Je remercie vivement le Conseil Régional pour son aide financière soutenue par l'Europe au travers du Fond Social Européen.

Je remercie affectueusement mes parents pour leur soutien matériel et surtout moral et affectif. J'adresse à ma petite sœur, Sylvie, toute mon affection pour avoir accepté avec beaucoup de tolérance toutes mes sautes d'humeur.

Bien d'autres sont à citer, mais leur modestie admettra une pensée reconnaissante qui sera en permanence inscrite au travers des lignes composant l'ensemble de ce manuscrit.

*Un' femm' mascarin*

*Ça l'est des fois margoze*

*Un' femm' mascarin*

*Comm' des fois tamarin*

**Jean ALBANY**

## LISTE DES ABREVIATIONS

A.G.	: Acide Gras
A.G.E.	: Acide Gras Essentiel
A.G.L.	: Acide Gras Libre
A.T.	: Alcool Triterpénique
C.L.C.	: Chromatographie sur Colonne Ouverte
C.C.M.	: Chromatographie sur Couche Mince
C.L.H.P.	: Chromatographie Liquide à Haute Performance
C.P.G.	: Chromatographie en Phase Gazeuse
C.P.L.	: Chromatographie en phase liquide
C.P.S.	: Chromatographie en Phase Supercritique
D.A.G.	: Diacylglycérol
D.L. <sub>50</sub>	: Dose létale à 50 %
E.M.A.G.	: Ester Méthylique d'Acide Gras
I.A.	: Indice d'Acide
I.C.	: Indice de cétane
I.I.	: Indice d'iode
I.S.	: Indice de Saponification
M.A.G.	: Monoacylglycérol
N.C.	: Nombre de Carbone
N.C.E.	: Nombre de Carbone Equivalent
N.I.	: Nombre d'Insaturation
N.P.	: Nombre de Partition
R.M.N.	: Résonance Magnétique Nucléaire
S.M.	: Spectrométrie de masse
T.A.G.	: Triacylglycérol
T.R.	: Temps de Rétention
T.R.R.	: Temps de Rétention Relatif
U.V.	: Ultra-Violet

# SOMMAIRE

Liste des abréviations	3
<b>INTRODUCTION GENERALE</b>	<b>7</b>
<b>Première partie : Généralités sur les méthodes d'extraction des corps gras</b>	<b>10</b>
INTRODUCTION	11
1. 1 - Généralités sur les corps gras	13
1. 2 - Méthodes d'extraction et d'analyses	18
1. 2. 1. Extraction des corps gras	18
1. 2. 2. Les différentes techniques chromatographiques	20
CONCLUSION	28
Références bibliographiques	31
<b>Deuxième partie : Les Cucurbitacées tempérées : Rôle et importance</b>	<b>33</b>
INTRODUCTION	34
2. 1 - Généralités sur les Cucurbitacées tempérées	35
2. 1. 1. Description botanique	35
2. 1. 2. Composition chimique des graines	39
2. 2 - Botanique, culture et production	42
2. 2. 1. Les Cucurbitacées alimentaires	42
2. 2. 1. 1. Le genre <i>Cucurbita</i>	43
2. 2. 1. 2. Le genre <i>Cucumis</i>	45
2. 2. 1. 3. Le genre <i>Citrullus</i>	50
2. 2. 2. Les Cucurbitacées toxiques	52
2. 2. 2. 1. Le genre <i>Bryonia</i>	52
2. 2. 2. 2. Le genre <i>Ecballium</i>	53
2. 3 - Activités biologiques et propriétés médicinales des Cucurbitacées	54
2. 4 - Composition de la fraction lipidique des huiles extraites des graines de Cucurbitacées tempérées	59
2. 4. 1. Le genre <i>Cucurbita</i>	59
2. 4. 2. Le genre <i>Cucumis</i>	63
2. 4. 3. Le genre <i>Citrullus</i>	64
2. 4. 4. Le genre <i>Ecballium</i>	65

CONCLUSION	66
Références bibliographiques	67
<b>Troisième partie : <i>Les Cucurbitacées tropicales : Résultats et discussion</i></b>	68
INTRODUCTION	69
3. 1 - Méthodologie	71
3. 1. 1. Extraction	71
3. 1. 2. Fractionnement, isolement et identification	74
3. 1. 2. 1. Etude de la fraction saponifiable	74
3. 1. 2. 1. 1. Les acides gras	74
3. 1. 2. 1. 2. Les triacylglycérols	75
3. 1. 2. 2. Etude de la fraction insaponifiable	78
3. 1. 2. 2. 1. Obtention de l'insaponifiable	78
3. 1. 2. 2. 2. Fractionnement en différentes classes de triterpènes	79
3. 1. 2. 2. 3. Fractionnement des différentes classes de triterpènes	82
3. 1. 2. 2. 4. Identification des A.T et des stérols	84
3. 1. 2. 2. 4. 1. Les alcools triterpéniques	84
3. 1. 2. 2. 4. 2. Les stérols	89
3. 2. - Etude des genres <i>Lagenaria</i> , <i>Luffa</i> et <i>Momordica</i>	110
3. 2. 1. Le genre <i>Lagenaria</i>	110
3. 2. 1. 1. Description botanique	110
3. 2. 1. 2. Composition chimique	111
3. 2. 1. 2. 1. Fraction saponifiable	111
3. 2. 1. 2. 1. 1. Les acides gras	111
3. 2. 1. 2. 1. 2. Les triacylglycérols	116
3. 2. 1. 2. 2. Fraction insaponifiable	122
3. 2. 1. 2. 2. 1. Les alcools triterpéniques	122
3. 2. 1. 2. 2. 2. Les stérols	125
3. 2. 2. Le genre <i>Luffa</i>	128
3. 2. 2. 1. Description botanique	128
3. 2. 2. 2. Composition chimique	130
3. 2. 2. 2. 1. Fraction saponifiable	130
3. 2. 2. 2. 1. 1. Les acides gras	130

3. 2. 2. 2. 1. 2. Les triacylglycérols	134
3. 2. 2. 2. Fraction insaponifiable	139
3. 2. 2. 2. 1. Les alcools triterpéniques	139
3. 2. 2. 2. 2. Les stérols	142
3. 2. 3. Le genre <i>Momordica</i>	144
3. 2. 3. 1. Généralités et description botanique	144
3. 2. 3. 2. Composition chimique	147
3. 2. 3. 2. 1. Fraction saponifiable	147
3. 2. 3. 2. 1. 1. Les acides gras	147
3. 2. 3. 2. 1. 2. Les triacylglycérols	156
3. 2. 3. 2. 2. Fraction insaponifiable	164
3. 2. 3. 2. 2. 1. Les alcools triterpéniques	166
3. 2. 3. 2. 2. 2. Les stérols	167
3. 2. 4. Etude comparative de la composition chimique des trois genres étudiés <i>Lagenaria, Luffa</i> et <i>Momordica</i> .	169
3. 2. 4. 1. La fraction saponifiable	169
3. 2. 4. 1. 1. Les acides gras	169
3. 2. 4. 1. 2. Les triacylglycérols	172
3. 2. 4. 2. La fraction insaponifiable	172
3. 2. 4. 2. 1. Les alcools triterpéniques	172
3. 2. 4. 2. 2. Les stérols	176
 <b>CONCLUSION GENERALE</b>	 179
Références bibliographiques	184
Partie expérimentale	189
Références bibliographiques	205
Annexes	206
Glossaire	211
Liste des tableaux	215
Liste des figures	219

# INTRODUCTION GENERALE

# INTRODUCTION GENERALE

Ce travail est consacré à l'étude chimique de la fraction lipidique extraite des graines de cinq Cucurbitacées tropicales de l'île de la Réunion. Deux variétés de l'espèce *Lagenaria leucaritha* (calebasse), deux espèces du genre *Luffa* (pipangaille) et une espèce *Momordica charantia* (margoze) ont retenu notre attention. Leurs cultures, très anciennes, dans l'île sont destinées principalement à l'alimentation car les fruits immatures sont appréciés crus ou cuits tandis que la médecine traditionnelle leur attribue des propriétés curatives.

Des études menées sur les genres *Lagenaria* et *Luffa* cultivés dans diverses régions du monde attestent aussi bien de la qualité nutritive de leur fruit que de celle de l'huile extraite de leurs graines. L'extrait lipidique de l'espèce *Momordica charantia* est particulièrement intéressant pour les industries de revêtement et de peintures. Ce sont les raisons qui nous ont incité à entreprendre ce travail jusqu'à présent jamais effectué sur les Cucurbitacées de l'île.

La famille des Cucurbitacées comprend généralement des espèces oléoprotéagineuses cultivées dans de nombreux pays pour répondre aussi bien aux besoins lipidiques que protéiniques dans l'alimentation de l'homme. Certains genres comme *Cucurbita*, *Cucumis*, *Citrullus* sont des plantes fruitières ayant une grande importance commerciale en région tempérée. Les graines de Cucurbitacées sont également utilisées en thérapeutique comme vermifuge non irritant et sans toxicité tandis que l'huile extraite de ces graines posséderait des propriétés calmantes et cicatrisantes pour le tube digestif ainsi qu'une activité vivifiante et tonifiante sur les systèmes nerveux, ostéomusculaire et cardiovasculaire. Par ailleurs, certaines huiles de Cucurbitacées sont appréciées dans l'alimentation en raison de leur richesse en acides gras insaturés ; elles présentent une composition comparable à celles des huiles commerciales.

L'objectif de ce travail est double :

- susciter un regain d'intérêt pour ces légumes dont la culture dans l'île est malheureusement de plus en plus délaissée,

- mettre en exergue, par l'identification des principaux constituants des huiles ou beurre, les caractéristiques chimiques propres à chaque genre afin d'établir des critères chimiotaxonomiques au sein de la famille des Cucurbitacées.

Ce mémoire regroupe trois principales parties.

La première partie est consacrée à une mise au point sur les méthodes d'extraction et d'analyses des corps gras argumentée par des commentaires relatifs aux avantages et aux inconvénients de chaque technique utilisée.

La seconde partie s'intéresse aux Cucurbitacées de pays tempérés en mettant l'accent sur leur rôle et leur importance : composition chimique des graines, types d'huiles obtenues (alimentaires ou siccatives), production, propriétés médicinales...

La troisième partie concerne les résultats obtenus à partir des cinq Cucurbitacées tropicales étudiées tant pour la fraction saponifiable que pour la fraction insaponifiable des huiles ou beurre extraits. D'une part, une comparaison entre ces cinq espèces et d'autre part, avec des Cucurbitacées de zone tempérée est également menée en parallèle.

L'analyse des constituants des différentes fractions a fait principalement appel aux techniques classiques de chromatographies liquides, gazeuses et de chromatographie gazeuse couplée à la spectrométrie de masse. L'identification des différents composés a été réalisée par spectrométrie de masse et par résonance magnétique nucléaire du  $^1\text{H}$  et du  $^{13}\text{C}$ .

*Ce travail a donné lieu à une publication dans O.C.L. qui paraîtra en septembre 1998 intitulée «Composition en acides gras des huiles de quelques graines de Cucurbitacées tropicales» P.R. Armougom, I. Grondin, J. Smadja et à une affiche présentée aux Journées Internationales de Digne les Bains en 1995 : "Etude de quelques Cucurbitacées oubliées de La Réunion" I. Grondin, P.R. Armougom, J. Smadja, (Actes de Colloques Rivista Italiana E.P.P.O.S. numéro spécial, septembre 1995, 654-658).*

**Les mots marqués d'un astérisque sont définis dans le glossaire à la page 211**

PREMIERE PARTIE

GENERALITES SUR LES METHODES  
D'EXTRACTION ET D'ANALYSES  
DES CORPS GRAS

## INTRODUCTION

L'histoire des corps gras commence avec celle de l'homme. Actuellement, grâce à leurs nombreuses propriétés, l'usage des corps gras s'étend du domaine alimentaire au domaine industriel en passant par la pharmacutique et la cosmétologie.

Les textes anciens rapportent que les corps gras étaient utilisés principalement comme combustibles : par exemple dans l'Egypte ancienne, ces derniers alimentaient des lampes à huile ou servaient à la fabrication des chandelles.

La propriété lubrifiante des huiles était aussi connue des égyptiens qui les utilisaient afin de déplacer des matériaux lourds ou de graisser les essieux. En Grèce, Homère rapporte que l'huile d'olive facilitait le tissage par graissage des fibres.

Les bateaux étaient rendus étanches par l'application de mélanges de cires, d'huiles et de goudrons.

L'utilisation des huiles pour décorer les murs des maisons, soit associées à des couleurs soit comme produit de protection des fresques remonte à des millénaires. Les vernis transparents à base d'huiles siccatives\* et de résines naturelles se développèrent au XV ème siècle.

La médecine médiévale préparait des huiles à base de camphre, d'iode, de goménol... Le corps gras jouait le rôle de solvant ou de véhicule des principes actifs. Aujourd'hui, les pommades appliquées sur la peau ou sur les muqueuses sont encore d'usage.

La fabrication de savons à partir des corps gras était déjà connue des phéniciens bien qu'ils ignoraient le mécanisme de la réaction désigné plus tard sous le terme de saponification [1].

Néanmoins, si quelques propriétés chimiques étaient connues, la nature chimique des corps gras demeurait mystérieuse. Il faudra attendre la fin du XVII ème siècle pour assister aux premiers balbutiements sur la connaissance chimique des corps gras avec les travaux de Otto TACHEN qui émet l'hypothèse qu'il existait dans les lipides un « acide caché ».

En 1779, Karl Wilhelm SCHEELE indique que le glycérol est un constituant de la fraction lipidique. Mais ce n'est qu'en 1815 que la nature chimique exacte d'un corps gras

est démontrée par Michel Eugène CHEVREUL : il résulte d'une combinaison du glycérol avec des acides gras. Ses travaux célèbres parurent en 1823 dans l'ouvrage intitulé : « Recherches chimiques sur les corps gras d'origine animale ». Quelques années plus tard, C. A. GUSSEROW réussit à séparer des acides gras solides des acides gras liquides, postulant ainsi l'existence d'au moins deux types d'acides gras. Les travaux menés par les pionniers tels que PELOUZE, BOUDET, BERTHELOT, WURTZ, HUBL, HAZURA, HESSE, ont permis de déterminer l'essentiel de la constitution et de la structure des corps gras à la fin du XIX ème siècle.

Après la première guerre mondiale, les travaux de T. P. HILDITCH consacrés à l'étude de la fraction glycéridique font avancer de façon spectaculaire les connaissances sur les lipides.

En 1960, l'étude chimique progresse grâce à l'apparition de nombreuses techniques d'extraction et de méthodes d'analyses de plus en plus performantes. Parallèlement, de nombreuses applications des extraits lipidiques étudiés découlent de ces recherches[2].

Après une description des fonctions remplies par les corps gras dans les règnes animaux et végétaux, ainsi que de leur composition chimique, nous nous attacherons aux différentes méthodes de séparations et d'identifications mises en œuvre dans le domaine des lipides.

Depuis leurs premières applications, ces différentes techniques ont connu diverses modifications afin de les rendre plus efficaces pour l'analyse. Nous nous proposerons de récapituler dans un premier temps les différents principes des chromatographies utilisées puis de préciser leurs diverses applications dans l'analyse des corps gras. Nous nous intéresserons à :

- ♦ la chromatographie liquide sur colonne (C.L.C.)
- ♦ la chromatographie liquide sur couche mince (C.C.M.)
- ♦ la chromatographie liquide à haute performance (C.L.H.P.)
- ♦ la chromatographie en phase gazeuse (C.P.G.)
- ♦ la chromatographie en phase supercritique (C.P.S.)

A chaque technique chromatographique a été attribuée une abréviation qui sera utilisée dans le rapport afin d'en faciliter la lecture.

## 1. 1 - Généralités sur les corps gras

Le terme lipide regroupe les substances qui sont insolubles dans l'eau et solubles dans les solvants organiques non ou peu polaires tels que le chloroforme, l'éther ou le benzène [3].

Les corps gras correspondent à la partie « graisses neutres » de la fraction lipidique totale. Ces graisses neutres s'accumulent sous formes de micro-gouttelettes dans certains tissus animaux ou végétaux et constituent des réserves énergétiques [2].

Selon leur nature, les lipides remplissent essentiellement trois fonctions [1, 4] :

- *structurale* : ce sont des constituants des membranes cellulaires. Certains participent aux activités dont les membranes sont le siège (transport de molécules, fonctionnement des enzymes...). Chez les végétaux ou les insectes, les cires forment un revêtement de protection.
- *de réserves* : les lipides sont apportés par l'alimentation ou sont formés par l'organisme à partir de glucides ou de certains acides aminés. La valeur énergétique d'un gramme de lipide est de 9 kcal ou 38 kJ, ce qui est deux fois supérieur à l'énergie fournie par l'ingestion des sucres ou des protéines. Chez le végétal, les lipides sont concentrés généralement dans la graine pour permettre à l'embryon de disposer d'une source d'énergie primordiale à son développement.
- *métabolique* : les acides linoléique (18 : 2, n-6) et linoléique (18 : 3, n-3) ainsi que leurs dérivés polyinsaturés à 20 et 22 atomes de carbone sont essentiels au fonctionnement de l'organisme : multiplication et différenciation des cellules, reproduction et croissance des animaux, précurseurs de prostaglandines, thromboxanes et leucotriènes...

Les acides linoléique et linoléique, acides gras essentiels (A.G.E.), ne sont pas synthétisés par les animaux et doivent donc être apportés en quantité suffisante par l'alimentation. Ainsi 7 à 10 g d'acide linoléique par jour couvrent les besoins en A.G.E. [5].

Les corps gras occupent une place importante dans le monde ; les trois quarts de la production sont destinés à l'alimentation, le reste se partage entre les applications industrielles, pharmaceutiques et cosmétiques.

Dans l'alimentation, certaines huiles végétales apportent à l'organisme des vitamines liposolubles et des acides gras essentiels. Contrairement aux corps gras animaux, elles contiennent une teneur élevée en acides insaturés ce qui limite avantageusement l'accroissement du cholestérol sanguin [1].

Les oléagineux industriels sont particulièrement importants sur le plan économique en raison de leur caractère irremplaçable.

La première application industrielle des corps gras est la fabrication de savons. La fabrication ancienne en cuves par des « maîtres savonniers » a cédé la place à un procédé continu. Actuellement, les savons traditionnels sont préférés aux détergents pétrochimiques tels que les alkylbenzènesulfonates de sodium à longue chaîne non ramifiée (10 à 14 atomes de carbone) en raison de leur biodégradabilité.

Dans le domaine des produits de revêtements, deux huiles sont principalement utilisées : l'huile de lin (*Linum usitatissimum*) et l'huile de ricin (*Ricinus communis*). L'huile de lin est dite siccativante, c'est-à-dire qu'elle est capable de sécher à l'air lorsqu'elle est déposée en couche mince, ce qui explique son emploi dans l'industrie des peintures et vernis. Cette propriété est due à la présence des acides linoléique et linolénique. L'huile de ricin se distingue des autres huiles par la présence d'un acide gras comportant une fonction alcool : l'acide ricinoléique. Elle est à la base des hauts polymères, des lubrifiants, des peintures et des vernis. Des dérivés de l'huile de ricin, des sels des métaux lourds et divers esters de diacides sont utilisés en lubrification.

Dans les matières plastiques, les dérivés des corps gras sont surtout utilisés comme plastifiants-stabilisants tels que l'huile de soja époxydée.

En pharmacologie et en cosmétique, les corps gras sont utilisés comme excipient ou comme source de substances actives (amande douce, noisette, avocat, karité...). Les nutritionnistes s'intéressent à des huiles végétales particulières (onagre,

bourrache, cassis) en raison de leur forte teneur en acide  $\gamma$ -linoléique. Cet acide gras joue, en effet, un rôle essentiel dans la biosynthèse des prostaglandines.

De nombreux autres domaines font appel aux corps gras et à leurs dérivés car ce sont des produits respectant non seulement l'environnement mais également renouvelables.

Un corps gras est constitué en moyenne de 98 à 99 % de glycérides et de 1 à 2 % d'insaponifiable. Les glycérides sont constitués d'une molécule de glycérol dont les trois fonctions sont estérifiées par trois acides gras : ce sont des triacylglycérols (T.A.G.). Au sein du règne végétal, on les trouve généralement dans la graine où ils constituent une réserve énergétique qui s'est formée aux dépens de l'amidon [1,4].

La composition glycéridique est spécifique d'un corps gras et elle détermine ses propriétés physiques, chimiques et physiologiques. En effet, la répartition des acides gras sur les fonctions du glycérol ne s'effectue pas en fonction de l'abondance relative de chacun d'entre eux dans le corps gras mais en fonction de l'affinité qui existe entre les diverses positions et la nature des acides gras. Ainsi, les acides gras insaturés occuperont préférentiellement la position *sn*-2 tandis que les acides gras saturés ou à courtes chaînes seront indifféremment sur les positions *sn*-1 et/ou *sn*-3. Des acides gras particuliers estérifieront majoritairement la position *sn*-3 du glycérol [6,7]. Une connaissance de la répartition des acides gras sur la chaîne de glycérol est nécessaire pour comprendre la digestion chez les mammifères. La lipase pancréatique hydrolyse préférentiellement les positions *sn*-1 et *sn*-3 des T.A.G. ingérés lors de l'alimentation. Les acides gras libres (A.G.L.) correspondants ainsi que les 2-monoacylglycérols sont ensuite absorbés par les muqueuses intestinales [8,9].

Les glycérides partiels sont représentés par les monoacylglycérols (M.A.G.) (acylation du glycérol par une chaîne d'acides gras) et les diacylglycérols (D.A.G.) (acylation du glycérol par deux chaînes d'acides gras). De même la position relative des acides gras confèrent des propriétés particulières à ces glycérides partiels [2].

Bien que majoritaire, les T.A.G. ne sont pas les seuls constituants des huiles. Parmi les composés contenus en quantité minoritaire, on distingue les familles suivantes : phosphatides, cérides, constituants de l'insaponifiable, chlorophylles et produits d'altération [2].

L'insaponifiable d'un corps gras correspond à l'ensemble de ses constituants qui à la suite d'une saponification ne sont pas hydrosolubles mais solubles dans les solvants organiques classiques des corps gras (éther, hexane, chloroforme, benzène...). La fraction insaponifiable représente en moyenne 0,2 à 2 % d'un corps gras et elle comprend des constituants qui se distinguent par la diversité de leur nature chimique et par la variabilité de leurs proportions [2,6]. Elle contient ainsi :

- des hydrocarbures aliphatiques (saturés ou insaturés), triterpéniques ou tétraterpéniques...
- des composés terpéniques : les alcools triterpéniques penta ou tétracycliques, les 4 $\alpha$ -méthylstéroïdes, les stéroïdes. Ces composés représentent environ 30 à 70 % de l'insaponifiable.
- les alcools gras
- les vitamines liposolubles : les vitamines A, D, E. L' $\alpha$ -tocophérol dont les trois atomes de carbone asymétrique ont une configuration absolue R est plus connu sous le terme de la vitamine E. Celle-ci est omniprésente dans tous les lipides naturels végétaux et joue un rôle antioxydant.

En raison de l'extrême complexité de la composition d'un corps gras, il est illusoire de croire qu'une seule technique pourrait déterminer sa structure. Une connaissance approfondie d'un corps gras ne pourra se faire que par la combinaison de multiples techniques d'analyses.

La première étape consiste à extraire le corps gras de sa matrice. Par la suite, des méthodes physiques (densité, indice de réfraction...) ou chimiques (indices de saponification, d'iode, d'acide...) fournissent des informations générales qui demeurent toutefois insuffisantes [2].

Pour une connaissance complète, le recours à différentes techniques chromatographiques est nécessaire. Le terme chromatographie signifie en grec « écriture en couleur » et a été employé pour la première fois en 1905 par le botaniste russe TSWETT pour décrire la séparation de pigments végétaux colorés sur une colonne d'alumine [10]. Une définition plus élaborée du terme chromatographie indique qu'il s'agit d'une méthode d'analyse immédiate qui permet de séparer les constituants d'un mélange en utilisant les différences entre les constantes d'équilibres de ces composés lors de leur partage entre une phase mobile dans laquelle ils sont solubles, et une phase fixe ou

stationnaire qui exerce sur eux un effet retardateur. Grâce à une mise en œuvre adéquate, l'opération élémentaire de partage est répétée un grand nombre de fois d'une manière logique et automatique. Sous l'influence des deux effets antagonistes (effet d'entraînement exercé par la phase mobile et effet de rétention exercé par la phase stationnaire), les constituants du mélange se déplacent à des vitesses différentes et sont séparés [11].

## 1. 2 - Méthodes d'extraction et d'analyses

### 1. 2. 1. Extraction des corps gras

L'extraction industrielle des lipides fait appel à deux procédés : extraction par pression et extraction par solvant. Les caractéristiques de chaque procédé sont regroupées dans le tableau I-1.

Tableau I-1  
Procédés d'extraction des corps gras

<i>Procédés d'extraction</i>	<i>Matières premières à extraire</i>	<i>Techniques d'extraction</i>	<i>Commentaires</i>	<i>Produits obtenus</i>
Extraction par pression	graines décortiquées subissant un traitement thermique à 90-100 °C qui entraîne la rupture des structures cellulaires.	presse hydraulique	- procédé démodé. - mauvais rendement car cette technique laisse dans le tourteau beaucoup d'huile.	huiles dites « vierges » ou de « première pression à froid ».
		presse à vis	donne un meilleur rendement	
Extraction par solvant (hexane)	graines broyées ou partiellement déshuilées	mode continu	très bon rendement car récupère 95 à 99 % des corps gras présents dans les organes traités.	Tourteau (farine deshuilée) et miscella (mélange huile/solvant)
		mode discontinu, technique de filtration-extraction		

Les huiles brutes ainsi obtenues sont raffinées, c'est-à-dire lavées à l'eau (précipitation des lécithines), neutralisées par la soude, à nouveau lavées à l'eau, décolorées par des terres, et enfin désodorisées par le traitement à la vapeur sous vide [11].

Au laboratoire, l'extrait lipidique est préparé à partir d'une petite quantité de graines broyées traitées à l'éther de pétrole ou à l'hexane dans un appareil à extraction continue à chaud du type Soxhlet [10].

L'étude chimique de cette fraction lipidique repose sur les propriétés chimiques de la fonction ester ou acide et de la chaîne carbonée des corps gras. Ainsi, leur propriété fondamentale est d'être saponifiable en glycérol et en acides gras. La structure des acides gras ainsi que leur position sur la molécule de glycérol sont des données primordiales pour juger de la qualité d'une huile. Les acides gras sont des monoacides aliphatiques à longues chaînes comportant généralement un nombre pair d'atomes de carbone. Néanmoins, cette définition de l'acide gras n'est pas exhaustive et de nombreuses exceptions existent dans la nature. Chimiquement actifs, les acides gras ont les caractéristiques suivantes [13] :

- ⇒ Tous les acides gras sont solubles généralement dans les solvants organiques classiques des corps gras et insolubles dans l'eau. Pour un nombre d'atomes de carbone supérieur à 10, les acides gras saturés sont solides à température ordinaire.
- ⇒ Les acides gras forment des sels (saponification) : sels métalliques alcalins ou savons, hydrosolubles, mouillants et émulsifiants...
- ⇒ Le traitement des acides gras insaturés par un halogène permet d'apprécier le degré de saturation de l'acide. La détermination de l'indice d'iode s'appuie sur ce principe.
- ⇒ L'estérification des acides gras fournit des esters qui sont suffisamment volatils pour être séparés et identifiés par la chromatographie en phase gazeuse.

Cette dernière propriété est couramment utilisée pour préparer différents esters d'acides gras. Les techniques de dérivation doivent répondre à certains critères pour être efficaces [14] :

- Elles doivent pouvoir être mise en œuvre à l'échelle micropréparative.

- L'analyse quantitative doit pouvoir être pratiquée.
- Les dérivés d'acides gras formés peuvent induire des fragmentations spécifiques en spectrométrie de masse qui sont directement exploitables pour l'identification.

Dans le tableau I-2, sont présentés quelques esters d'acides gras préparés à partir de divers réactifs ainsi que leurs avantages et inconvénients.

## 1.2.2. Les différentes techniques chromatographiques

### • *Les chromatographies et leur principe de séparation*

#### *Phase liquide*

*Adsorption* : la phase stationnaire est un adsorbant, généralement un gel de silice et la séparation est fondée sur les différences d'interactions spécifiques des solutés avec les sites actifs du solide.

*Partage* : elle met en œuvre des gels de silice greffés de molécules variées ou des polymères (gels). Un des paramètres de la séparation est constitué par les différences de solvation des solutés par la phase liquide qui imprègne les greffons ou le polymère [11].

#### *Phase gazeuse*

*Partage* : la séparation est provoquée par un partage de molécules à analyser entre le gaz qui circule et une phase liquide qui imprègne le support inerte. Les molécules qui ont le moins d'affinité pour le support sortent les premières de la colonne et ainsi de suite. Ces molécules sont ensuite détectées à la sortie par un détecteur approprié [10].

#### *Phase supercritique*

Chaque fluide est caractérisé par un état supercritique qui est atteint pour une température ( $T_c$  : température critique) et une pression ( $P_c$  : pression critique) précises. Si l'on se place au dessous des valeurs de ces deux paramètres  $T_c$  et  $P_c$ , le fluide se présente sous la forme gazeuse ou liquide. Pour des valeurs de pression et de température supérieures à  $T_c$  et  $P_c$ , il n'existe qu'une seule phase, le fluide supercritique, dont la nature est intermédiaire entre le gaz et le liquide.

Tableau I-2  
Différents types d'esters d'acides gras

Types d'esters d'A.G.		Avantages	Inconvénients
méthylliques	BF <sub>3</sub> -Méthanol [17,18]	<ul style="list-style-type: none"> <li>huiles ayant une acidité élevée</li> <li>préparation à la concentration choisie prête commercialement</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>réactif toxique et instable au cours du stockage</li> <li>obtention de résultats erronés dans le cas d'huiles contenant des A.G. particuliers (A.G. à double liaisons conjuguées...)</li> <li>chauffage risque de dénaturer et de volatiliser certains A.G.</li> </ul>
	Méthylate de sodium [18, 19, 20]	<ul style="list-style-type: none"> <li>méthode micropréparative et méthanolyse basocatalysée rapide</li> <li>opère à température ambiante : idéale pour les huiles contenant des A.G. thermolabiles ou dégradables en milieu acide</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>huile doit avoir une teneur en acides gras libres inférieure ou égale à 3 %</li> </ul>
pentafluorobenzyles [21]		<ul style="list-style-type: none"> <li>dérivés de prédilution pour séparer les A.G. en fonction du nombre de doubles liaisons sur une colonne de silice et en fonction de la longueur de la chaîne sur une colonne en phase inverse (RP-18) couplée à un détecteur U.V.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>détecteur U.V. limite l'utilisation de nombreux solvants nécessaires pour solubiliser les A.G.</li> <li>ne permet pas la séparation de mélange d'A.G. saturés</li> </ul>
<i>La séparation d'esters méthylliques d'acides gras insaturés est améliorée par la formation de dérivés époxydés</i>			
époxydes [14,22]		<ul style="list-style-type: none"> <li>clarifie le chromatogramme dans la zone où sont élués les esters saturés pairs, impairs et ramifiés, en évitant l'interférence des insaturés.</li> <li>sépare les isomères <i>trans</i> naturels pairs et impairs</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>problème dans le cas des A.G. diéniques : dédoublement des pics chromatographiques à cause de la formation d'isomères stériques résultant de l'attaque des doubles liaisons en deux temps.</li> </ul>
<i>La séparation d'esters méthylliques d'acides gras insaturés est améliorée par une deuxième estérification. Des dérivés ont été préparés à partir des diols obtenus par hydroxylation des doubles liaisons par le tétraoxyde d'osmium :</i>			
isopropylidènes [14,22]		<ul style="list-style-type: none"> <li>réaction totale et sélective</li> <li>donne des fragments caractéristiques en C.P.G.-S.M. qui permettent de déterminer le nombre de doubles liaisons sans les localiser néanmoins.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>réactifs anhydres</li> <li>séparation insuffisante des isomères de position des monoènes et des diènes.</li> </ul>
Triméthylsilyléthers [14,22]		<ul style="list-style-type: none"> <li>dérivés précieux pour la localisation des doubles liaisons en S.M.</li> <li>utile pour caractériser les isomères des positions <i>cis</i> et <i>trans</i> en CPG et en C.P.G.-S.M.</li> <li>permet des séparations plus fines</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>utilisation limitée : ce type de dérivé est inefficace dès qu'on aborde l'analyse des esters polyinsaturés</li> <li>température élevée : risque de dénaturer les A.G.</li> </ul>

Ce fluide supercritique dissout, d'une part de nombreuses substances car son pouvoir solvant est proche de celui des liquides et, d'autre part il peut les transporter rapidement à travers la matière car son coefficient de diffusion est proche de celui des gaz [15].

### *La chromatographie argentique*

Elle est basée sur les différences dans l'aptitude à former des complexes donneurs-accepteurs entre les ions  $Ag^+$  et les liaisons insaturées des composés. Plus le nombre de double liaisons augmente, plus la force de la liaison dans le complexe augmente. La modification des adsorbants par le nitrate d'argent présente un grand intérêt puisqu'il permet la séparation des constituants suivant le nombre, la position et la configuration des doubles liaisons [16].

Les tableaux I-3, I-4 et I-5 présentent les applications ainsi que les inconvénients et avantages de chaque type de chromatographie.

La plupart des méthodes chromatographiques nécessitent la présence d'un détecteur. Les caractéristiques d'un détecteur efficace sont les suivantes [11] :

- donner une réponse stable, rapide et reproductible par le biais d'une image fidèle du pic chromatographique.
- garantir une bonne sensibilité de détection.
- ne pas altérer la qualité de la séparation fournie par la colonne chromatographique.

Les détecteurs utilisés en chromatographie sont classés en fonction du degré de l'information fournie en [11] :

⇒ détecteurs simples : système de détection visualisant le chromatogramme (ultraviolet, réfractomètre, diffusion de la lumière, ionisation de flamme...).

⇒ détecteurs semi-informatifs : permet le contrôle de la pureté d'un pic d'élution (spectrophotomètre U.V. à deux longueurs d'onde...).

Des techniques complémentaires d'identification fournissent des précisions concernant la structure du composé (spectromètre de masse, spectromètre de résonance magnétique nucléaire...)

Le tableau I-6 présente les avantages et les inconvénients de quelques détecteurs utilisés en chromatographie.

Tableau I-3  
Chromatographie en phase liquide

On distingue deux types de chromatographies en phase liquide :  
 ♦ de surface : C.C.M., chromatographie sur papier  
 ♦ de colonne : C.L.C., C.L.H.P.

Méthodes	Appareillages	Applications	Inconvénients	Avantages
C.L.C.	<ul style="list-style-type: none"> <li>▶ colonne en verre</li> <li>▶ phase stationnaire solide (silice, alumine...)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▶ utilisée préférentiellement en mode préparatif</li> <li>▶ purification des composés</li> <li>▶ fractionnement de l'insaponifiable en différentes classes pour des analyses ultérieures</li> <li>▶ séparation des constituants de la fraction glycéridique (T.A.G., D.A.G., M.A.G., A.G.L...)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▶ utilisation d'un grand volume de solvant</li> <li>▶ méthode longue, fastidieuse et faiblement résolutive</li> <li>▶ dosage quantitatif laborieux</li> <li>▶ exige de travailler sur des grosses quantités d'échantillons [24]</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▶ gradient de solvant</li> <li>▶ permet de travailler sur des grosses quantités d'échantillon de l'ordre de 1 gramme [11]</li> </ul>
C.C.M. classique	<ul style="list-style-type: none"> <li>▶ plaque de verre ou feuille plastifiée ou en aluminium recouverte de gel de silice ou d'alumine</li> </ul>	<p><u>C.C.M. préparative :</u></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>▶ purification des composés</li> <li>▶ fractionnement de l'insaponifiable en différentes classes [2]</li> <li>▶ séparation des <math>\Delta 5</math>-stéroïdes, des <math>\Delta 7</math>-stéroïdes [25]</li> </ul> <p><u>C.C.M. analytique :</u></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>▶ fractionnement des produits issus de la dégradation ménagée des T.A.G.</li> <li>▶ analyse qualitative des diverses classes de constituants par comparaison avec des étalons commerciaux [24]</li> <li>▶ vérification de la pureté d'un composé</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▶ méthode longue, fastidieuse</li> <li>▶ dosage quantitatif laborieux</li> <li>▶ résolution insuffisante pour des composés de structures proches</li> <li>▶ ne sépare pas les constituants (A.G., T.A.G.) qui diffèrent uniquement par le degré d'insaturation [11,17]</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▶ elle remplace avantageusement la C.L.C. quand la quantité d'échantillon est moindre</li> <li>▶ facile à utiliser</li> <li>▶ sépare les composés (A.G.) qui diffèrent par la présence sur leur chaîne de fonctions oxygénées de polarités variées comme époxy, céto, hydroxy... [26]</li> </ul>
C.C.M. argentique	<ul style="list-style-type: none"> <li>▶ plaque de verre ou de plastique recouverte de gel de silice imprégnée d'une solution de concentration précise de nitrate d'argent.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▶ séparation de mélange de composés polyinsaturés (A.G., T.A.G., A.T., stéroïdes ...)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▶ séparation longue et fastidieuse</li> <li>▶ la concentration de la solution de nitrate d'argent varie en fonction du mélange à séparer [11]</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▶ séparation des constituants selon le nombre, la position et la configuration des doubles liaisons [17]</li> <li>▶ temps long exigé pour la séparation [26]</li> </ul>

Tableau I-3 (suite)  
Chromatographie en phase liquide

Méthodes	Appareillages	Applications	Inconvénients	Avantages
C.L.H.P. classique	pompe, injecteur, colonne spécifique  détecteur : réfractomètre différentiel	<i>en phase normale :</i> <ul style="list-style-type: none"> <li>► séparation quantitative des lipides neutres, d'A.G., de phospholipides [26]</li> </ul> <i>en phase inverse :</i> A.G. <ul style="list-style-type: none"> <li>► conditions douces permettant aux composés polaires de faible volatilité ou sensibles à la chaleur d'être chromatographiés</li> <li>► réduit la possibilité d'isomérisation au cours de l'analyse [27]</li> </ul> T.A.G. <ul style="list-style-type: none"> <li>► par C.L.H.P., leur analyse est rapide</li> <li>► sur colonne RP-18, un des paramètres de la séparation des T.A.G. est le nombre de partition [28]</li> <li>► séparation des isomères de positions des T.A.G. monoinsaturés en les époxydant [29]</li> </ul> <b>Tocophérols</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>► sur colonne RP-18, séparation des tocophérols en fonction du nombre et de la position des groupes méthyliques [30]</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>► prix élevé de l'appareillage</li> <li>► emploi exclusif de solvants de grande pureté [10]</li> <li>► pas de détecteur universel comme la C.P.G., de plus certains détecteurs ne peuvent être utilisés qu'au cours d'une élution isocratique</li> <li>► ne permet pas de détecter les A.G. minoritaires [25]</li> <li>► ne sépare pas les T.A.G. qui ont le même nombre de partition (paires critiques) [29]</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>► analyse aisée de composés de haut poids moléculaire non volatils et thermolabiles [10]</li> <li>► un traitement préalable (méthylation...) des échantillons avant analyse n'est pas nécessaire [27]</li> <li>► grand choix de colonnes et de solvants autorisant une grande sélectivité pour des analyses spécifiques [27]</li> <li>► grande précision quantitative contrairement à la C.C.M. ou C.L.C. [7]</li> <li>► C.L.H.P. préparative permet de récupérer et de purifier une quantité appréciable de composés pour des analyses ultérieures</li> </ul>
C.L.H.P.-U.V.	détecteur : spectrophomètre U.V.	<ul style="list-style-type: none"> <li>► permet le dosage quantitatif des isomères de configuration d'A.G. polyinsaturés [31]</li> <li>► permet de doser les T.A.G.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>► méthode sélective, adaptée uniquement aux composés insaturés [31]</li> <li>► zone d'absorption des T.A.G. est à 210 nm ce qui implique un choix restreint de solvants [23]</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>► permet de séparer et de doser des composés thermolabiles (A.G. polyinsaturés...) [31]</li> </ul>
C.L.H.P. argentique	détecteur : réfractomètre différentiel	<ul style="list-style-type: none"> <li>► séparation des T.A.G. en fonction du degré d'insaturation et selon le type d'isométrie (<i>cis</i> ou <i>trans</i>) [32]</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>► fractions obtenues en quantités insuffisantes pour d'autres analyses (C.L.H.P. classique...) [23]</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>► méthode rapide qui fournit simultanément une grande résolution</li> <li>► grande reproductibilité, dosage quantitatif plus précis que la C.C.M. argentique [32]</li> </ul>
C.L.H.P. chirale	colonne chirale phase stationnaire : N-1-( $\alpha$ -naphthyl)-ethyl-aminocarbonyl-(S)-valine	<ul style="list-style-type: none"> <li>► détermination de la répartition glycéridique des T.A.G. [38]</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>► longue, onéreuse délicate à mettre en place car exige l'emploi de plusieurs méthodes chromatographiques [38]</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>► généralement la détermination est faite par une analyse stéréospécifique. Celle-ci est longue et fastidieuse par les méthodes traditionnelles (dégradation chimique ou enzymatique des T.A.G...)</li> </ul>

Tableau I-4  
Chromatographie en phase gazeuse

Méthodes	Appareillages	Applications	Inconvénients	Avantages
C.P.G. classique	<ul style="list-style-type: none"> <li>gaz vecteur, colonne, détecteur à ionisation de flamme</li> <li><i>étude des A.G.</i></li> <li>le choix de la phase stationnaire est dicté principalement par la nature des constituants à séparer [2,10]</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>A.G.</li> <li>avant leur analyse en C.P.G., les A.G. sont estérifiés afin de les rendre plus volatils [14]</li> <li>séparation des esters d'A.G. en fonction du type de colonne utilisée ; l'identification de chaque composé se fait par la détermination du temps de rétention réduit ou par la co-injection d'étalons standards.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>A.G. inhabituels comme les A.G. cycliques (A.G. cyclopenténiques) et ceux à chaînes longues se chevauchent (temps de rétention identique) sur le chromatogramme [33]</li> <li>analyse quantitative erronée dans le cas des A.G. polyinsaturés conjugués (perte occasionnée par la température élevée) [31]</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>détecteur universel : le détecteur à ionisation de flamme [34]</li> <li>séparation et identification aisée des A.G. habituels</li> <li>colonnes adaptées à la séparation de nombreux composés d'esters d'A.G. (isomères de configuration...)</li> </ul>
C.P.G. à haute température	<ul style="list-style-type: none"> <li><i>étude des T.A.G.</i></li> <li>colonnes appropriées permettant d'atteindre des températures élevées exigées pour l'analyse des T.A.G. ou la filière triterpénique. La séparation se fait sur colonne apolaire ou polaire [29,34]</li> <li><i>étude des classes de la fraction insaponifiable</i></li> <li>nécessite l'utilisation de colonnes apolaires (OV-1) [23]</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li><i>colonne capillaire apolaire OV-1</i> : séparation en fonction de nombre d'atomes de carbone quelque soit le nombre de doubles liaisons [28]</li> <li><i>colonne capillaire polaire OV-17</i> : séparation en fonction du nombre d'atomes de carbone et en fonction du nombre de doubles liaisons [33]</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>méthode longue, fastidieuse, induisant des dégradations importantes des T.A.G. conduisant à des résultats analytiques erronés et donc insuffisamment reproductibles pour l'analyse de routine [28]</li> <li>composés triterpéniques sont d'une part, détruits par le détecteur à ionisation de flamme et d'autre part, un même pic chromatographique peut recouvrir plusieurs produits [22]</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>méthode sensible utilisant un faible volume d'échantillon</li> <li>colonne OV-1 : informations intéressantes obtenues dans le cas de mélanges saturés. [22]</li> </ul>
C.P.G.-SM		<ul style="list-style-type: none"> <li>identification des constituants de la fraction saponifiable (A.G.) et insaponifiable (A.T., stérols, ...)</li> <li>généralement une étape de dérivatisation est nécessaire (acétylation....) [34]</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>n'identifie pas de façon précise la molécule</li> <li>ne différencie pas les isomères optiques R et S</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>fragmentations caractéristiques permettant d'identifier les composés selon leur classe (exemples : stérols, A.T....)</li> </ul>

Tableau I-5  
Chromatographie en phase supercritique

Méthodes	Appareillages	Applications	Inconvénients	Avantages
C.P.S. classique	chromatographie préparative	<ul style="list-style-type: none"> <li>▶ séparation de M.A.G., D.A.G. et T.A.G. sur gel de silice : colonne <i>Sic60</i> (25 cm) phase mobile : CO<sub>2</sub> / méthanol [35]</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▶ exige un volume d'échantillon important or le volume qui est injecté est faible</li> <li>▶ addition de co-solvant pour permettre l'élution de composés polaires</li> <li>▶ problème pour séparer les solutés du CO<sub>2</sub> supercritique car la dépressurisation entraîne un accroissement considérable du volume de CO<sub>2</sub> ce qui gêne énormément l'isolement des solutés [15]</li> <li>▶ analyse d'A.G. saturés (5 à 18 atomes de carbone) ou séparation d'un mélange d'A.G. (12 à 24 atomes de carbone) sont meilleures par C.P.G. [35]</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▶ fractionnement de composés thermolabiles non volatils irréalisable par C.P.G. [15]</li> <li>▶ contrairement à la C.L.H.P., les différentes fractions recueillies sont exemptes de solvant et l'obtention de produits de grande pureté est une qualité recherchée par l'industrie pharmaceutique [15]</li> <li>▶ permet de travailler à basse température (40-60°C) alors qu'en C.P.G., des températures de l'ordre de 180-240°C sont nécessaires</li> <li>▶ temps de rétention sont plus courts qu'en C.L.H.P. et l'utilisation d'un seul solvant est requis [36]</li> </ul>
	chromatographie analytique	<ul style="list-style-type: none"> <li>▶ séparation de mélange d'E.M.A.G. qui diffèrent par le nombre d'atomes de carbone ou de doubles liaisons sur colonne de silice [36]</li> <li>▶ séparation des T.A.G.</li> <li>▶ séparation des tocophérols par CO<sub>2</sub> + co-solvant (méthanol) [35]</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▶ force éluante du CO<sub>2</sub> est insuffisante pour leur séparation [15]</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▶ séparation de composés labiles</li> <li>▶ analyse rapide par addition de méthanol dans la phase mobile</li> </ul>
C.P.S. argentique		<p>T.A.G.</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>▶ séparation et identification effectuées par le couplage C.L.H.P. préparative / C.P.S. argentique/S.M. [37]</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▶ pas de véritable innovation par rapport aux méthodes chromatographiques habituelles</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▶ couplage de ces deux méthodes optimise la séparation. Ensuite, l'utilisation d'un détecteur S.M. permet d'obtenir des informations intéressantes [37]</li> </ul>

Tableau I-6  
 Détecteurs utilisés en chromatographie et techniques complémentaires d'identification

Détecteurs ou techniques	Inconvénients	Avantages
Ultraviolet (C.L.H.P.)	<ul style="list-style-type: none"> <li>♦ malheureusement des solvants utilisés pour la dissolution des corps gras comme le chloroforme... absorbent à la longueur d'onde choisie [39]</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>♦ les lipides absorbent généralement autour de 190-210 nm [10]</li> <li>♦ couplée à la C.L.H.P., il permet le dosage quantitatif des isomères d'A.G. polyinsaturés [31]</li> </ul>
Réfractomètre différentiel (C.L.H.P.)	<ul style="list-style-type: none"> <li>♦ impose la réalisation de l'analyse sous des conditions isocratiques [25]</li> <li>♦ moins sensible que le détecteur U.V.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>♦ surtout utilisé en chromatographie préparative [11]</li> <li>♦ utilisé pour orienter les recherches dans le cas de mélanges complexes de nature <i>a priori</i> inconnue [10]</li> </ul>
Diffusion de la lumière (C.L.H.P., C.P.S.)	<ul style="list-style-type: none"> <li>♦ sa mise en œuvre est limitée à l'emploi de phases éluantes volatiles et de solutés non volatils [11]</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>♦ adapté à tous les composés non volatils liquides ou solides qui n'absorbent pas dans l'U.V. ou qui nécessite un gradient d'éluion pour une meilleure séparation [39]</li> <li>♦ particulièrement adapté à l'analyse des T.A.G. [40]</li> </ul>
Ionisation de flamme (C.P.G., C.L.H.P.)	<ul style="list-style-type: none"> <li>♦ C.L.H.P. : implique l'élimination complète de la phase éluante, restreint son utilisation aux solvants volatils mais autorise la mise en œuvre de gradients d'éluion [11]</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>♦ détecteur universel de la C.P.G. [10]</li> </ul>
Spectromètre de masse (C.P.G., C.L.H.P.)	<ul style="list-style-type: none"> <li>♦ une étape de dérivatisation est nécessaire pour obtenir des fragments caractéristiques</li> <li>♦ ne différencie pas les isomères optiques (R ou S)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>♦ détecteur sensible, universel et autorisant une identification de la classe des solutés</li> <li>♦ gain de temps considérable pour l'obtention des données permettant par la suite une identification plus rigoureuse du composé [11]</li> </ul>
Spectromètre de résonance magnétique nucléaire (C.L.H.P.)		<ul style="list-style-type: none"> <li>♦ détecteur sensible permettant une identification rigoureuse du composé</li> <li>♦ R.M.N <sup>13</sup>C : - identifie les A.G. particuliers sans aucun traitement préalable de l'huile. Les A.G d'une part ne sont pas affectés par des réactions d'estérifications et d'autre part sont rigoureusement identifiés [20]</li> <li>♦ - identification des T.A.G. : technique fiable, efficace pour déterminer la distribution régiospécifique des A.G. sur le glycérol [41]</li> </ul>

## CONCLUSION

La production de matières grasses a connu une forte augmentation ces dernières années et les huiles végétales qui représentent actuellement environ 77 millions de tonnes occupent une place de plus en plus prépondérante au sein de cette production [23].

Plusieurs techniques chromatographiques ont été mises au point pour identifier et quantifier les différents constituants présents dans un corps gras. Depuis leur première application, chaque technique a évolué en fonction du progrès de l'instrumentation et des supports chromatographiques, chaque modification étant destinée à améliorer leur performance et à rendre leur mise en œuvre aisée et efficace [39].

La chromatographie sur colonne ouverte est une technique très ancienne ayant connu peu de modifications. C'est une chromatographie essentiellement préparative qui permet de travailler sur de grandes quantités d'échantillons [23].

Lorsque la quantité est moindre, la chromatographie sur couche mince remplace avantageusement la C.L.C.. Elle permet le fractionnement de mélanges complexes afin de faciliter l'analyse par d'autres techniques [10]. L'ajout du nitrate d'argent a permis d'obtenir des séparations plus fines qui tiennent compte du nombre de doubles liaisons et de leur configurations [16]. Néanmoins, les fractionnements par C.C.M. donnent des résultats qui sont insatisfaisants (dosage quantitatif laborieux et pertes de constituants).

Ces inconvénients sont palliés par la chromatographie liquide à haute performance. Les T.A.G. sont habituellement résolus par la C.L.H.P.. Ils sont séparés en fonction du nombre d'atomes de carbone et du nombre d'insaturations. Le fractionnement des T.A.G. en fonction du degré de leur insaturation est réalisé par la C.L.H.P.-argentique[32]. L'utilisation récente de colonnes chirales a permis de déterminer avec précision la répartition glycéridique des T.A.G.. Elle présente néanmoins l'inconvénient d'être longue et onéreuse [38].

Le dosage quantitatif des constituants de la filière triterpénique est réalisée généralement par C.L.H.P.. Elle est adaptée à l'analyse de composés thermolabiles et se prête ainsi à l'analyse des A.G. particuliers tels que les A.G. polyinsaturés.

Cependant, l'analyse des A.G. habituels demeure la panacée de la chromatographie en phase gazeuse. Sa grande sensibilité lui permet de détecter des constituants minoritaires dans un mélange. La chromatographie en phase gazeuse à haute température permet la résolution de mélanges de T.A.G et des différentes classes de la fraction insaponifiable. Cependant, une dégradation des T.A.G. au cours de l'analyse aboutit à des résultats analytiques erronés [29].

L'essor de ces différentes chromatographies a été freiné dernièrement par les nouvelles directives de la législation de contrôle qui limitent ou suppriment l'utilisation de solvants toxiques et dangereux pour l'environnement. Cela a permis le développement de la chromatographie par fluide supercritique. Celle-ci utilise comme phase mobile du dioxyde de carbone qui ne présente aucun danger pour l'environnement et qui, en outre, est vendu à un prix raisonnable. Elle devrait devenir très compétitive dans les prochaines années [35].

Il n'existe pas de chromatographie « universelle » qui pourrait analyser chacun des constituants d'un corps gras mais il existe plutôt une complémentarité entre ces diverses techniques dont les particularités sont reportées dans le tableau I-7.

Tableau I-7  
 Comparaison des différentes techniques chromatographiques

<p><b>C.P.G.</b>  <b>Chromatographie en phase gazeuse</b></p>	<p><b>C.P.L.</b>  <b>Chromatographie en phase liquide</b></p>	<p><b>C.P.S.</b>  <b>Chromatographie en phase supercritique</b></p>
<p>⇒ méthode plus rapide, plus sensible que la C.P.L.                      ⇒ détecteur universel (ionisation de flamme)                      ⇒ méthode principale pour l'analyse des esters d'A.G.</p>	<p>⇒ substances peu volatiles                      ⇒ substances sensibles à une élévation de température                      ⇒ phases stationnaires plus variées                      ⇒ analyse à température ambiante : les interactions moléculaires augmentent d'intensité lorsque la température diminue d'où l'intérêt de travailler à basse température.                      ⇒ intéressant pour l'analyse des T.A.G. et les composés de la filière triterpénique</p>	<p>⇒ CO<sub>2</sub> : phase mobile présentant de nombreux avantages                      • ses paramètres critiques (T<sub>c</sub>= 31,1°C et P<sub>c</sub>=73,8 bars) sont facilement obtenus [15]                      • elle est pure, non toxique, non inflammable et non polluante [42]                      • elle est disponible en quantité illimitée et à faible coût                      • elle est éliminée simplement et sans grande dépense d'énergie [42]                      ⇒ majorité des séparations habituellement effectuées par des techniques traditionnelles (C.P.G., C.L.H.P....) qui ont déjà fait leur preuve et qui donnent entièrement satisfaction. Cependant grâce à la nouvelle législation, la quête de solvant non toxique et peu onéreuse a ravivé l'intérêt de la C.P.S. [15]</p>

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- 1 - *Encyclopaedia Universalis*, vol. 6, 618, Paris, 1989.
- 2 - A. KARLESKINFG, « Manuel des Corps Gras », 1, Tec.&Doc., Lavoisier, Paris, 1992.
- 3 - MORRIS KATES, « Techniques of lipidology », Ed. by R.H. BURDON, P.H. Van KNIPPENBERG, Elsevier, New-York 1986.
- 4 - *Encyclopaedia Universalis*, vol. 13, 866, Paris, 1989.
- 5 - Laboratoire Coopératif, Le vocabulaire de la nutrition, 1985, 164, 37.
- 6 - J. ADRIAN, J. POTUS, R. FRANGNE, « La science alimentaire de a à z », Tec.&Doc., Lavoisier, Paris, 1995.
- 7 - R.J. HAMILTON, J.B. ROSSEL, « Analysis of Oils and Fats », Ed. Elsevier Applied Science Publisher, Londres, 1986.
- 8 - J.H. WEIL, « Biochimie générale », Masson, 1972, Paris.
- 9 - Y. GARGOURI, A. BEN SALAH, R. VERGER, Rev. Fr. Corps gras, 1992, 18, 207.
- 10 - P. KAMOUN, « Appareils et méthodes en biochimie », 3<sup>e</sup> édition, Flammarion, France, 1987.
- 11 - R. ROSSET, M. CAUDE, A. JARDY, « Chromatographies en phase liquide et supercritique », 3<sup>e</sup> édition, Masson, Paris, 1991.
- 12 - R.R. PARIS, H. MOYSE, « Précis de matière médicale », vol. 1, 2<sup>e</sup> édition, Masson, Paris, 1975.
- 13 - J. BRUNETON, « Eléments de phytochimie et de pharmacognosie », Tec.&Doc., Lavoisier, Paris, 1978.
- 14 - G. MALLET, C. DIMITRIADES, E. UCCIANI, Rev. Fr. Corps Gras, 1985, 32, 439.
- 15 - C.D. BEVAN, P.S. MARSHALL, Natural Product Report, 1994, 451.
- 16 - H. GRYNBERG, K. CEGLOWSKA, Rev. Fr. Corps Gras, 1970, 2, 89.
- 17 - INFORM, 1992, 3, 1031.
- 18 - KARE LARSSON, « Lipids-Molecular organization, physical functions and technical applications », The oily press, 5, Ed. by Bell & Bain, Glasgow, 1994.
- 19 - J.C. LECERF, « Composition chimique du beurre de cacao et de graisses apparentée », Thèse de doctorat, I.N.P. de Toulouse, 1990.
- 20 - M. MAGLIOZZI, « Etude comparative des lipides de graines de cultivars de Kenaf », Thèse de doctorat, I.N.P. de Toulouse, 1996.
- 21 - A.G. NETTING, A.M. DUFFIELD, J. Chromatogr., 1984, 336, 115.
- 22 - V. DOMMES, F. WIRTZ-PEITZ, W.H. KUNAU, J. Chromatogr. Sci., 1976, 14, 360.
- 23 - I. GRONDIN, « Etude chimique des lipides de *Litchi sinensis* Sonn. et *Euphoria longana* Lam. », Thèse de doctorat, I.N.P. de Toulouse, 1994.
- 24 - M.L. GHALEB-PELISSIER, « Composition chimique de quelques huiles de graines de Cucurbitaceae », Thèse de doctorat, I.N.P. de Toulouse, 1990.
- 25 - K. BHAT, G.A.S. ANSARI, J. Chromatogr., 1989, 483, 369.
- 26 - J.G. HAMILTON, K. GOMAI, Lipids, 1988, 12, 1150.
- 27 - V.K.S. SHUKLA, Prog. Lipid. Res., 1988, 27, 5.

- 28 - J.L. PERRIN, A. PREVOT, *Rev. Fr. Corps Gras*, 1986, *11*, 495.
- 29 - E. DEFFENSE, *Rev. Fr. Corps Gras*, 1993, *3*, 33.
- 30 - K. WARNER, T.L. MOUNTS, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 1990, *67*, 827.
- 31 - T. TAKAGI, Y. ITABASHI, *Lipids*, 1981, *16*, 546.
- 32 - B.S.J. JEFFREY, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 1991, *68*, 289.
- 33 - W.W. CHRISTIE, E.Y. BRECHANY, V.K.S. SHUKLA, *Lipids*, 1989, *24*, 116.
- 34 - A. KARLESKINFG, « *Manuel des Corps Gras* », 2, Lavoisier, Tec.&Doc., Paris, 1992.
- 35 - J.L. PERRIN, A. PREVOT, *Rev. Fr. Corps Gras*, 1988, *12*, 485.
- 36 - T. GODNER, M. PERRUT, *LC-GC*, 1989, *7*, 502.
- 37 - M. DEMIRBUKER, L.G.B. LOMBERG, N.U. OLSSON, M. BERGQVIST, B.G. HERSLOF, F.A. JACOBS, *Lipids*, 1992, *6*, 436.
- 38 - T. TAKAGI, Y. ITABASHI, *Lipids*, 1981, *7*, 542.
- 39 - J.L. PERRIN, A. PREVOT, *Rev. Fr. Corps Gras*, 1986, *11*, 437.
- 40 - N. FIEGA, F. BOCCI, G. LERCKER, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 1992, *69*, 447.
- 41 - P. BLAISE, R. WOLFF, M. FARINES, *O.C.L.*, 1997, *4*, 135.
- 42 - E. STAHL, K.W. QUIRIN, *Rev. Fr. Corps Gras*, 1982, *6/7*, 259.

DEUXIEME PARTIE  
LES CUCURBITACEES TEMPEREES :  
ROLE ET IMPORTANCE

## INTRODUCTION

Les Cucurbitacées constituent une famille de dicotylédones présentes aussi bien en région tempérée qu'en région tropicale et subtropicale.

Dans les pays tropicaux, les Cucurbitacées revêtent une grande importance économique en raison de la valeur nutritionnelle de leurs fruits et de leur culture qui nécessite peu de soins.

En région tempérée, cette famille est connue particulièrement par ses fruits comestibles : les courges, les citrouilles, les melons, les concombres, les pastèques... Ces espèces cultivées côtoient des espèces sauvages envahissantes comme la bryone à fruits toxiques dont les racines sont appelées « navets du diable ».

La famille des Cucurbitacées est constituée d'espèces qui sont différentes d'une part, sur le plan botanique et d'autre part, sur leurs compositions chimiques. Les Cucurbitacées tempérées comptent un nombre restreint d'espèces étudiées par de nombreux auteurs. Après quelques généralités sur cette famille, nous nous consacrerons à l'étude botanique des cinq genres présents en région tempérée. Ensuite, nous mettrons en exergue les particularités de chaque espèce qui découlent de l'étude de leur composition chimique.

## 2. 1 - Généralités sur les Cucurbitacées tempérées

### 2. 1. 1. Description botanique

La botanique, à laquelle incombe la classification des espèces végétales, différencie de la façon suivante la famille des Cucurbitacées :

**EMBRANCHEMENT** : *Ptéridophytes*

**SOUS-EMBRANCHEMENT** : *Angiospermes*

**CLASSE** : *Dicotylédones*

**SERIE** : *Gamopétales tétracycliques inférovariées à étamines libres*

**ORDRE** : *Cucurbitales*

**FAMILLE** : *Cucurbitaceae*

La classification subfamiliale, issue principalement des travaux de Cogniaux (1924) et de Jeffrey (1961), comprend deux sous-familles :

- d'une part les Zanonioideae (ou Fevileae selon certains) ayant des graines ailées comme les genres *Fevillea*, *Gerrardanthus*, *Xerosicyos* et *Zygosicyos* [1].
- d'autre part les Cucurbitoidae, à graines non ailées [1]. Une classification basée sur les diverses structures de l'androcée\* ainsi que des critères relatifs au gynécée\* et au pollen, constituant des critères de discriminations efficaces, permettent de diviser cette sous-famille en 8 tribus [1,2]. Le tableau II-1 résume les particularités botaniques de chaque tribu [3].

Tableau II-1

## Classification de la sous-famille des Cucurbitoideae

Tribus	Caractéristiques botaniques	Genres représentés
Melothrieae	tube réceptacle long chez fleurs mâles ou femelles, pollens réticulés, anthères simples	<i>Cucumis</i> (60 espèces), <i>Dendrosicyos</i> (1 à 2 espèces), <i>Gurania</i> (100 espèces), <i>Melothria</i> , <i>Apodanthera</i>
Schizopeponeae	tube réceptacle généralement court, pollens réticulés, 1 à 2 ovules, pétales non frangés	<i>Schizopepon</i>
Joliffieae	tube réceptacle en position supère, pétales frangés	<i>Momordica</i> (80 espèces), <i>Telfairia</i> , <i>Thladiantha</i>
Trichosantheae	tube réceptacle long, pollens striés ou verruqueux, fleurs larges, anthères unis	<i>Trichosanthes</i> (50 espèces), <i>Hodsonia</i>
Benincaseae	tube réceptacle court, pétales sans franges, infinité d'ovules, pollens réticulés	<i>Bryonia</i> (8 espèces), <i>Citrullus</i> , <i>Ecballium</i> , <i>Lagenaria</i> , <i>Luffa</i>
Cucurbitaea	pétales et ovules au sommet du tube réceptacle	<i>Cucurbita</i> (30 espèces)
Cyclanthereae	pétales et ovules au-dessus du tube réceptacle, pollens lisses, fruits s'ouvrant à maturité par « explosion »	<i>Cyclanthera</i> , <i>Marah</i>
Sicyoeae	tube réceptacle et pétales en position supère, un ovule	<i>Sechium</i> , <i>Sicyos</i>

Les espèces signalées en gras sont celles étudiées ou citées dans ce travail

Les Cucurbitacées comprennent environ 90 à 120 genres et 700 espèces. Ce sont généralement des plantes annuelles et prostrées, grimpantes ou rampantes à l'exception de quelques lianes ligneuses (*Ampelosicyos*, *Hodgsonia*), d'arbustes épineux (*Acanthosicyos*) et d'un arbuste à tronc épais mais mou (*Dendrosicyos*) [1,2].

Leurs tiges, assez grêles, souvent cannelées, peuvent dépasser 10 mètres. Au niveau de chaque noeud se différencie un « complexe axillaire\* » se composant d'une ou de plusieurs feuilles, d'une ou de plusieurs inflorescences, d'une ramification ou d'une vrille [2].

Les vrilles, simples ou ramifiées, permettent aux tiges de s'accrocher à un support ; certaines ont de petites ventouses adhésives (*Alsomitra*), d'autres se singularisent par l'absence totale de vrille (*Elaterium*). Les feuilles sont alternes\*, exstipulées\*, pétiolées\* à limbe généralement palmiparti\* (*Zehneria*, *Luffa*, *Cogniauxia*), plurifoliolées\* (*Nealsomitra*,

limbe généralement palmiparti\* (*Zehneria*, *Luffa*, *Cogniauxia*), plurifoliolées\* (*Neoalsomitra*, *Telfairia*). Des glandes se différencient sur les pétioles (*Lagenaria*), les limbes (*Cayaponia*) ou les bractées (*Telfairia*).

Les fleurs sont soit solitaires, soit sous forme d'inflorescence de type cimeux\*. Monoïques ou dioïques, les Cucurbitacées ont des fleurs généralement unisexuées, actinomorphes\* et pentamères\* à l'exception du gynécée qui comprend trois carpelles\*. Le calice est gamosépale\*, la corolle est souvent gamopétale\* ; l'androcée est polydelphe c'est-à-dire formé de deux faisceaux, de deux étamines et d'une étamine libre. L'ovaire infère\* est uniloculaire\* à placentation primitivement pariétale [1].

Le fruit dont la taille varie de celle d'un grain de raisin (*Zehneria*, *Bryonia*) à celle des grosses citrouilles est indéhiscent\* (*Lagenaria*) ou déhiscent\* par opercule (*Luffa*), par valves (*Momordica*) ou par une fente circulaire (pyxide des *Corallocarpus*). Ce fruit est une baie appelée, non pas cucurbité car ce terme désigne la partie pansue d'un alambic, mais pépon ou péponide\* qui peut être à épicarpe\* lignifié lisse chez *Lagenaria*, côtelé chez *Telfairia* ou *Luffa* ou charnu à pulpe formée par les placentas hypertrophiés (*Cucumis*, *Cucurbita*) [1].

Les graines, exalbuminées\*, aplaties, lisses ou ornementées, sombres ou claires mesurent entre 5 et 20 mm de long, ont une largeur de 8 à 12 mm et font 2 à 3 mm d'épaisseur. A une extrémité, elles sont amincies en goulot coupé obliquement, ce qui correspond au hile\* et au micropyle\*. Les téguments contiennent une amande formée par un embryon comportant une radicule courte, deux cotylédons charnus riches en matières de réserve et particulièrement en globules huileux [4]. La graine renferme, en poids, 25 à 30 % de téguments, 70 à 75 % d'amande qui est le siège de l'activité physiologique. Cette dernière se compose de 3 à 4 % de matières minérales, de 30 % de protides et de 45 à 50 % d'huile [4].

Les Cucurbitacées peuvent se propager par voie végétative (tubercule, enracinement aux noeuds, etc...) ou par leurs graines à dissémination autochore\*, zoochore\* ou plus rarement anémochore\*. On connaît actuellement les nombres chromosomiques d'une soixantaine d'espèces : il est de 7 (*Cucumis sativus*), de 11 (*Citrullus* spp., *Momordica*

spp., *Lagenaria* spp., *Sechium* spp., *Trichosanthes* spp.), de 12 (*Benincasa hispida*, *Coccinia cordifolia*), de 13 (*Luffa* spp.) et de 20 (*Cucurbita* spp.) [5].

Les Cucurbitacées forment une famille très typique tant du point de vue anatomique que biochimique. Ainsi, anatomiquement, ces plantes sont caractérisées par la présence au niveau de la tige de faisceaux libéro-ligneux bicollatéraux (c'est-à-dire avec liber\* normal et interne) à tubes criblés très gros. Le liber contient des cellules laticifères\* allongées. Quant aux tiges et aux feuilles, elles sont toujours recouvertes de poils tecteurs\*.

Sur le plan biochimique, les Cucurbitacées renferment fréquemment des triterpènes tétracycliques sous forme libre ou glucosidique nommés cucurbitacines. Ces composés sont responsables de l'amertume présente dans certaines parties de la plante. Des résines, des saponosides ainsi que des acides gras particuliers sont également présents dans cette famille[4].

Sur le plan botanique, la famille des Cucurbitacées se distingue, d'une part par l'étonnante disposition et forme de ses diverses pièces florales (corolle, étamines, vrilles plus ou moins complexes, fruit...). D'autre part, une évolution au sein de cette famille est manifestée par la présence d'espèces dioïques, d'une unification du calice et souvent de celle de la corolle, d'une soudure plus ou moins complète des étamines entre elles et d'un ovaire infère adhérent. Cette évolution est également perçue par la complication des formes du gynécée et de l'androcée, par l'apparition des fruits charnus et de graines sans albumen, ainsi que par la morphologie de l'appareil végétatif généralement lianescent et herbacé [6].

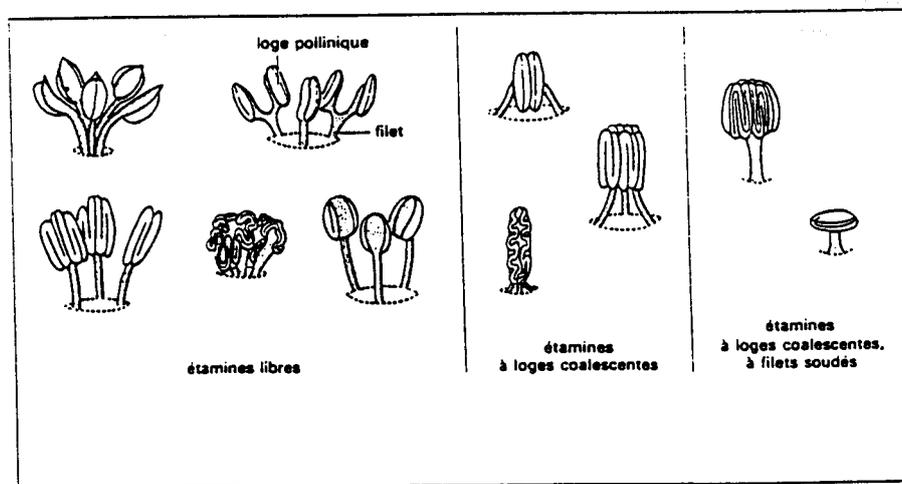


Figure 2-1 : Principaux types d'androcée des Cucurbitacées, définis par la structure des loges polliniques et le degré de soudure des étamines.

Les Cucurbitacées sont originaires principalement des pays tropicaux et subtropicaux. Quelques espèces de cette famille botanique se rencontrent dans les régions tempérées. Par exemple en France, on cultive les genres comme *Curcubita* (les courges), *Cucumis* (le concombre, le cornichon, le melon) et *Citrullus* (la pastèque) tandis qu'on trouve à l'état sauvage des espèces du genre *Bryonia* (la bryone) ou *Elatarium* (concombre d'âne) [7]. En région tempérée, elles sont cultivées comme plantes alimentaires, douées quelquefois de propriétés médicinales. Certaines de ces Cucurbitacées se prêtent également à des usages industriels et cosmétiques [8]. Les Cucurbitacées constituent une culture essentielle, économiquement et nutritionnellement, pour la plupart des pays tropicaux ou subtropicaux en voie de développement.

Les Cucurbitacées constituent, grâce à leurs fruits, une source de carbohydrates, tandis que leurs graines fournissent une huile qui possède des propriétés similaires à celles des huiles commerciales. Depuis longtemps, le fruit de ces plantes est consommé cru ou cuit. Ces dernières années, ce sont les graines qui ont inspiré de nombreuses recherches, en raison de l'importance économique que revêtent les graines oléagineuses comme source de protéines et d'huiles. Le nombre considérable de graines contenu dans les fruits des Cucurbitacées, identique à celui de nombreuses plantes oléagineuses commerciales, a conduit à la détermination de la composition lipidique et protéique de la graine. Une étude menée sur les huiles extraites de trente-sept espèces de plantes appartenant à cette famille a fourni des résultats présentés ci-dessous [8].

Cette description sommaire de la composition protéinique, glucidique et lipidique de quelques espèces de Cucurbitacées permet de caractériser chimiquement cette famille. En moyenne, les graines de Cucurbitacées contiennent 49,5 % d'huile et 35,0 % de protéines.

## 2. 1. 2. Composition chimique des graines

### ⇒ **PROTEINES**

La fraction protéinique est déterminée sur le tourteau\*, c'est-à-dire sur le résidu de graines oléagineuses dont on a extrait l'huile. Les protéines constituent en poids 35 % des graines et sont à 80 à 95 % composées de globulines. Les globulines, correspondant à la fraction contenant les protéines de poids moléculaire le moins élevé, contiennent 18 % d'azote et sont solubles dans les solutions salines diluées. Les albumines, correspondant à

la fraction de protéines de poids moléculaire le plus élevé, est également présente. Au cours de la germination des graines, les globulines sont utilisées avant les albumines ; ces dernières disparaissent d'une façon plus lente et régulière. La destruction préalable des globulines permet l'élaboration des protéines de la jeune plante [8,9].

La composition en acides aminés de la fraction protéinique totale et des globulines purifiées indique que les graines sont riches en arginine, acide aspartique et acide glutamique. L'acide aspartique constitue dans les plantes une réserve d'azote. Cet acide aminé conduit aux autres amino-acides par des réactions de transamination. La jeune plante a à sa disposition l'acide glutamique, si actif dans le métabolisme intermédiaire par ses possibilités de transamination et de désamination conduisant à l'acide  $\alpha$ -cétoglutarique s'incorporant dans le cycle de Krebs. On remarquera le rôle important que tient l'acide glutamique chez les animaux ; c'est le plus abondant des amino-acides du cerveau où il est le seul acide aminé susceptible d'entretenir la respiration du tissu cérébral et il représente une source d'énergie pour la cellule nerveuse.

Une partie des acides aminés dicarboxyliques sont sous forme d'amides ; l'asparagine et la glutamine sont ainsi incorporées dans les protéines mais elles sont également présentes en abondance dans les graines. Ces deux amides constituent, en outre, une réserve d'ammoniaque pour la plante. Les protéines des graines sont riches en arginine, ce qui compense en partie l'acidité apportée par les carboxyles non amidifiés des amino-acides dicarboxyliques. Sur le plan alimentaire, l'arginine est un acide aminé indispensable à la croissance [8,9].

La composition nutritionnelle en acides aminés du tourteau est semblable à celle de la plupart des plantes. Les graines de Cucurbitacées apparaissent, en revanche, pauvres en lysine et en acides aminés soufrés (cystéine, méthionine). Ces carences en lysine, acide aminé indispensable à la croissance et en cystéine, qui n'est pas un acide aminé indispensable pour l'homme car il est susceptible de se former à partir d'un autre acide aminé sulfuré à savoir la méthionine, qui elle est indispensable à la croissance, interdisent l'utilisation seule du tourteau. Un ajout de ces acides aminés pallie d'une part ces carences et, d'autre part accroît leur valeur nutritionnelle [8,9].

Les protéines des Cucurbitacées intéressent également l'industrie. Ainsi, en Roumanie, on rapporte une utilisation originale de ces protéines ; elles servent de

substituants aux protéines utilisées pour la fabrication de la colle pour le papier ou le bois[8].

Notons qu'un acide aminé non protéique présentant une activité anthelmintique\* a été identifié dans les graines de Cucurbitacées ; il s'agit de la 3-amino-3-carboxypyrrolidine ou cucurbitine.

### ⇒ GLUCIDES

L'acide phytique ou ester hexaphosphorique de l'inositol identifié dans les graines représente une source importante de phosphate. C'est le dérivé phosphoré naturel où le rapport moléculaire Phosphate/Carbone égal à 1 est le plus élevé, puisque chacune des six fonctions alcool secondaire est estérifiée par une molécule d'acide phosphorique. En outre, les graines contiennent 70 à 80 % de phytine (sels métalliques d'acide phytique) et une quantité importante de phosphate. Des triterpènes tétracycliques libres ou sous forme de glucosides appelés cucurbitacines sont présents. En revanche, l'amidon est apparemment absent [9].

### ⇒ LIPIDES

Les Cucurbitacées fournissent deux types d'huiles : les huiles alimentaires et les huiles siccatives. La composition moyenne qualitative et quantitative en acides gras des huiles extraites de 37 espèces de Cucurbitacées est reportée dans le tableau II-2 [8] :

Tableau II-2  
Composition en acides gras des huiles de graines de Cucurbitacées  
(Valeurs exprimées en % molaires)

Type d'huile	Acide palmitique 16 : 0	Acide stéarique 18 : 0	Acide oléique 18 : 1 (n-9)	Acide linoléique 18 : 2 (n-6)	Acides octadécatriénoïques conjugués 18 : 3 conj.
Huiles alimentaires	14,2 ± 3,1	8,4 ± 2,5	28,5 ± 4,1	47,3 ± 4,5	--
Huiles siccatives	7,8 ± 2,9	8,4 ± 5,9	22,4 ± 5,7	31,0 ± 8,4	29,2 ± 6,7

La composition qualitative et quantitative des acides gras des huiles comestibles sont similaires à celle des huiles commercialisées (huiles de soja, tournesol...). Leur richesse en acides gras insaturés ainsi que leur forte teneur en acide linoléique confèrent à ces huiles de bonnes propriétés diététiques. Ces huiles sont du type oléique-linoléique[10].

La présence d'acides triéthyléniques conjugués rendent les huiles inaptes à la consommation mais accroît considérablement leur valeur en industrie en les valorisant comme huiles siccatives. Ces huiles sont alors utilisées dans les formulations de peinture, de vernis... [11].

Cette description générale de la composition chimique de quelques espèces de la famille des Cucurbitacées sera suivie de l'étude des corps gras extraits de Cucurbitacées tempérées. Il s'agira principalement des espèces cultivées *Cucurbita*, *Cucumis*, *Citrullus*, et des genres sauvages *Bryonia* et *Ecballium*.

## 2. 2 - Botanique, culture et production

Cultivées pour leurs fruits ou exclues des potagers à cause de leur toxicité, les Cucurbitacées tempérées sont toutes douées de propriétés purgatives. Ces propriétés ainsi que les diverses qualités attribuées à leurs fruits, reconnues et utilisées depuis l'Antiquité, expliquent les nombreuses études menées sur les Cucurbitacées tempérées [4].

Les Cucurbitacées tempérées peuvent se diviser en deux groupes ; les Cucurbitacées alimentaires et celles qui sont toxiques mais douées de propriétés médicinales.

### 2. 2. 1. Les Cucurbitacées alimentaires

Les genres cultivés sont les genres *Cucurbita*, *Cucumis* et *Citrullus*. Plusieurs cultivars issus de manipulations génétiques destinées à améliorer et à mettre en exergue les qualités de chaque fruit sont actuellement cultivés par l'homme.

## 2. 2. 1. 1. Le genre *Cucurbita*

Le genre *Cucurbita* comprend une douzaine d'espèces désignées couramment sous le terme général de courge. Il serait originaire d'Amérique tropicale, même si aucun indice véritable n'est venu corroborer cette hypothèse, et aurait été introduit en France au XV<sup>ème</sup> siècle par des conquérants espagnols [12,13].

Ce genre est représenté par des herbes rugueuses qui se développent avec rapidité et qui sont caractérisées par de grandes fleurs jaunes, des vrilles bifides ou ramifiées, un stigmate bilobé ainsi que trois étamines triangulaires mal développées et cachées profondément à l'intérieur de la fleur. Les feuilles alternes et hispides\* sont entières ou plus ou moins lobées et soutenues par un long pétiole. La pollinisation s'effectue par l'intermédiaire des insectes, et le fruit est une baie globuleuse ou oblongue à épicarpe coriace. Les dimensions gigantesques des fruits produits par certaines variétés (diamètre de plusieurs dizaines de centimètres et des poids de l'ordre de plusieurs kilos allant jusqu'aux quintaux) singularisent ce genre [7,12]

L'eau est le constituant prépondérant de ces fruits (90,00 %) qui ont une faible teneur en sucres (1,22 %) et en substances ligneuses (0,73 %). Les graines ovoïdes, aplaties, de couleur claire, sont bordées d'un bourrelet périphérique et mesurent 2 cm de longueur [4,7].

Les espèces les plus cultivées de ce genre sont principalement les espèces *Cucurbita pepo*, *Cucurbita maxima* ainsi que la *Cucurbita moschata*, qui sont des variétés de courge.

*Cucurbita pepo* L. ou citrouille est une grande plante annuelle herbacée, à tige anguleuse atteignant une longueur de 10 m. et portant de grandes feuilles pentagonales, alternes, longuement pétiolées et des vrilles ramifiées. C'est une plante monoïque à grandes fleurs jaunes et dont le fruit est une baie cortiquée, globuleuse ou oblongue, de 15 à 40 cm de diamètre.

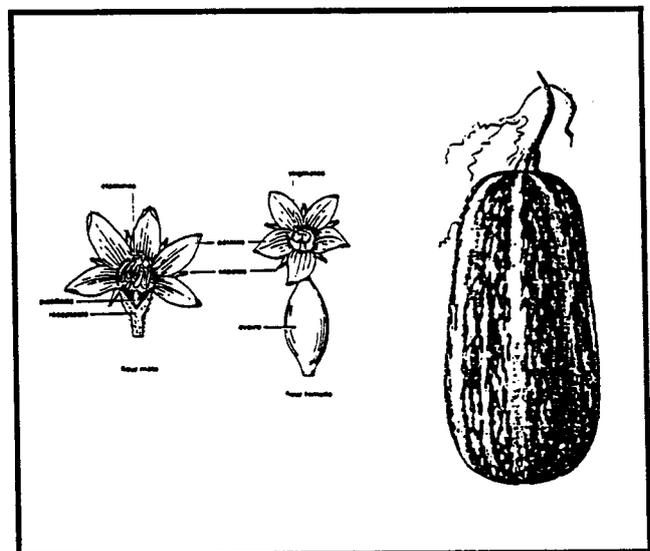


Figure 2-2 : La citrouille (fleurs et fruit)

La pulpe charnue, spongieuse, filamenteuse vers le centre, renferme de nombreuses graines blanchâtres, ovoïdes et aplaties et entourées d'un bourrelet périphérique [4,7,12].

*Cucurbita maxima* Duch. ou potiron est une plante à tige moins développée ; elle atteint 4 à 5 m de longueur. Les feuilles ont des lobes moins marqués, la fleur possède des sépales et des pétales avortés. Les fruits sont globuleux et côtelés . Les graines sont plus grosses que celles de la courge sont moins marginées [4,7,12].



Figure 2-3 : Le potiron

*Cucurbita moschata* Duch. se caractérise par des feuilles lisses, lobées à angles aigus qui sont souvent tachetées de blanc et le petit fruit a une pulpe orange et une odeur de musc [4,7].

Chacune de ces espèces compte, de plus, une multitude de variétés qui se différencient par la forme et la couleur du fruit [7].

La récolte des fruits s'effectue 3 à 4 mois après la plantation. Le rendement varie de 30 à 40 tonnes par hectare. En France, la production de courges est de l'ordre de 70 000 tonnes par an [7,11]. Cultivées principalement en Isère, en Corrèze, dans les Bouches-du-Rhône et dans les Basses-Alpes, ces Cucurbitacées sont produites essentiellement pour l'alimentation. Leurs fruits se mangent en potage, en friture et servent également d'aliments pour le bétail. Leurs fleurs se dégustent en friture alors que les graines de courges grillées sont fort appréciées en Russie comme apéritif [7,14].

## 2. 2. 1. 2. Le genre *Cucumis*

Le genre *Cucumis* comprend 60 espèces présentes principalement dans les régions les plus sèches de l'Afrique. Il se distingue par ses vrilles non ramifiées, ses fleurs jaunes à cinq sépales filiformes et à trois étamines indépendantes (dont une avec une anthère uniloculaire\*, les deux autres avec des anthères biloculaires\*) [12]. Parmi ce genre, deux espèces occupent une place importante dans l'alimentation.

### ► *Cucumis sativus*

L'espèce *Cucumis sativus* est cultivée principalement sous la forme de deux variétés plus connues sous les noms de cornichon et de concombre.

Le cornichon est une plante grimpante aux fleurs jaunes en roues, monoïques. Sa culture au nord des Indes est vieille de plus de 3000 ans. Les fruits mesurant environ 5 cm sont confits dans du vinaigre et sont des condiments très appréciés[12].

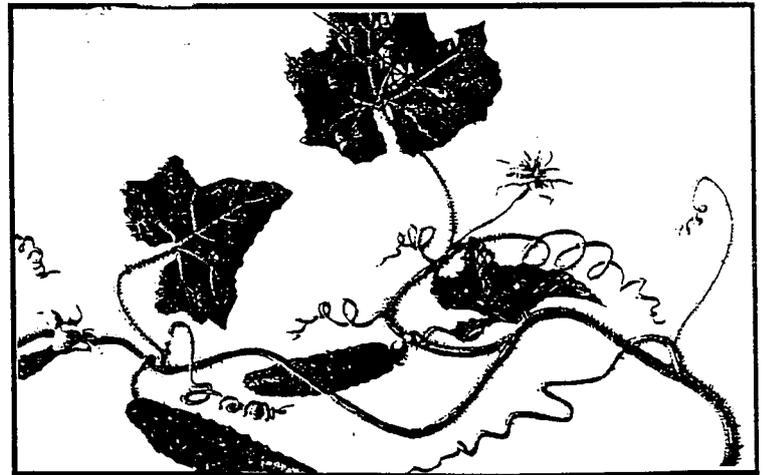


Figure 2-4: Le cornichon

Parmi les nombreuses formes cultivées de cette espèce, celle qui donne de grands fruits est appelée le concombre. C'est une plante herbacée, annuelle, grimpante à feuilles alternes entières ou lobées, à fleurs jaunes monoïques. Le fruit de couleur vert-claire est ovoïde [7].

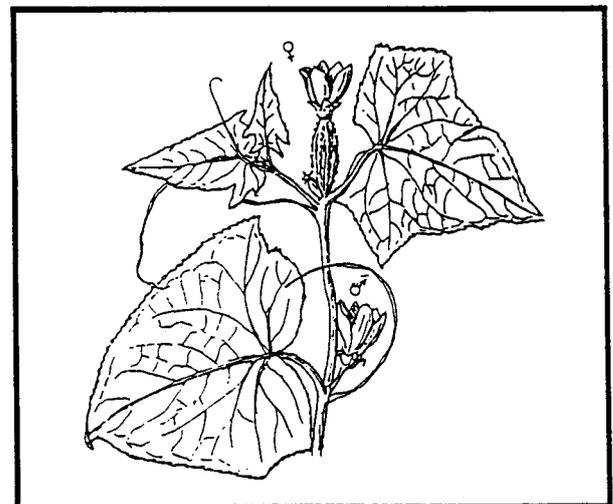


Figure 2-5 : Le concombre

Cultivée anciennement aux Indes et en Égypte, le concombre est exclusivement destiné à l'alimentation et il est inutile de s'attarder sur les usages culinaires, bien connus, du fruit frais ou en conserve [7]. L'amertume de certaines variétés, surtout localisée dans les assises externes du fruit, est due à la présence de cucurbitacine C ; ces variétés sont à rejeter de l'alimentation [4]. Ce légume contient une quantité importante d'eau (95 à 97 %), peu de protides (1 %), peu de glucides (2 à 3 %) et est exempt de lipides. Sa faible valeur nutritionnelle ainsi que sa richesse en vitamines le rend adéquat aux régimes des diabétiques[15].

Le concombre et le cornichon sont des espèces préférant le climat tempéré, les terrains moyennement lourds, bien fumés, profonds et bien exposés. Les semis ont lieu en avril-mai. Les 3 à 4 graines de chaque trou seront recouvertes d'une très légère couche de sable. On laissera les fruits se développer jusqu'à ce que le pédoncule commence à se dessécher. La récolte normale se déroule de juin à septembre, réalisant une moyenne de 10 à 15 fruits par plant, ce qui fait 150 quintaux environ par hectare [7].

Les principaux pays européens producteurs sont les Pays-Bas, l'Espagne et la Grèce. En France, le concombre est en 1997 le neuvième légume dont la production a rapporté 752 millions de francs. En 1994, la production mondiale de concombres et de cornichons a été de 19 261 milliers de tonnes ; la production de chaque pays est présentée à la figure 2-6. La Chine, avec une production de 8 051 milliers de tonnes, est le principal producteur de concombres et de cornichons.

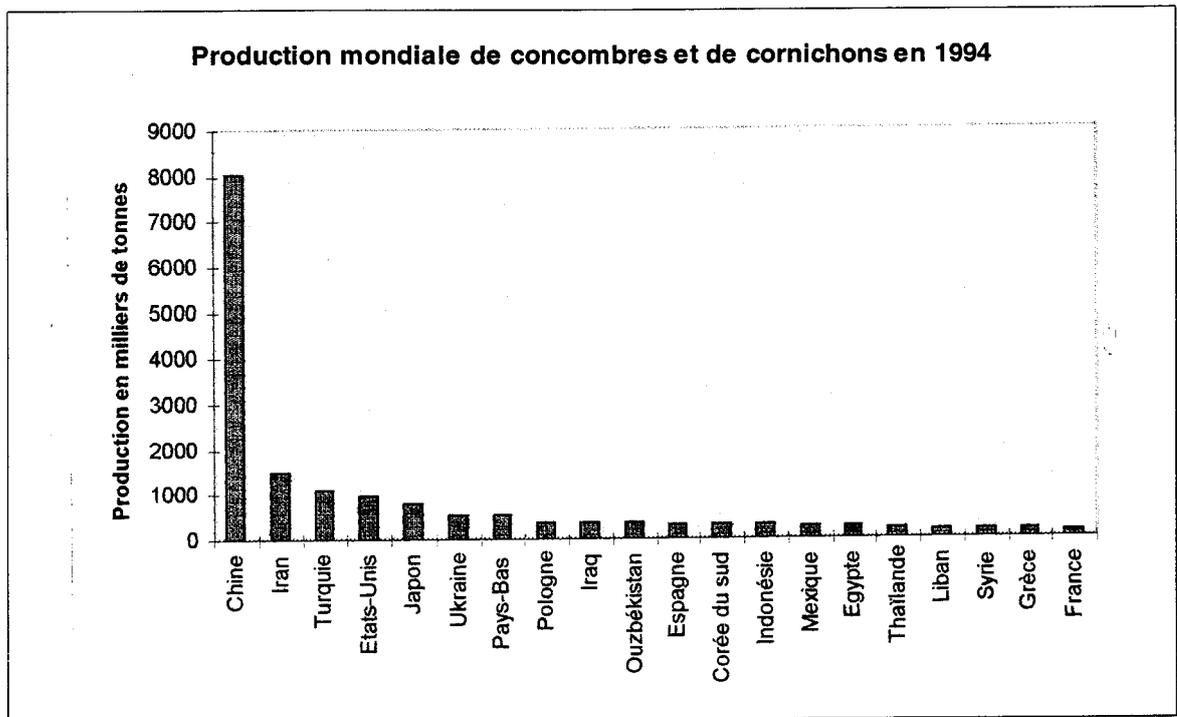


Figure 2-6: La production mondiale de cornichons et de concombres en 1994

► *Cucumis melo*

Les innombrables variétés de melon, connues aujourd'hui, ont principalement deux origines :

- celles originaires de l'Afrique tropicale et australe qui se rapprochent plus de la pastèque et des melons légumes (melon serpent).

- celles originaires de l'Asie, plus précisément de l'Himalaya au cap Cormoran. Les variétés françaises actuelles proviennent du Caucase et d'Arménie où elles furent ramenées par des moines italiens. Christophe Colomb introduisit ces formes primitives en Amérique en 1494 tandis que Charles VIII les ramena en France en 1495. C'est au XVI<sup>ème</sup> siècle que les moines ont vaincu définitivement l'amertume de ces premiers melons, dans les terres entourant la résidence d'été des Papes, Cantalupi, près de Rome, qui laissera par ailleurs son nom au melon Cantaloup ou charentais (variété *cantalupensis*). C'est de cette époque que date l'introduction du melon dans ce secteur, depuis Carpentras jusqu'à Cavaillon. Parallèlement, les premières grandes cultures se développent à Narbonne [16].

Le melon se distingue du concombre par ses lobes foliaires arrondis, et non pas aigus. Plante annuelle, elle a des tiges rampantes assez grêles, hérissées de poils raides. Les feuilles entières ou lobées, toujours pétiolées, se développent au niveau des noeuds, axillant chacune une vrille fine et simple. Les petites fleurs jaunes sont groupées ou solitaires à l'aisselle des feuilles [2].

Le fruit a une écorce qui peut être gris brunâtre, richement réticulée (var. *cantalupo*) ou lisse (var. *melitensis*) ou encore cylindrique, allongée et flexible (var. *flexuosus*). En général la pulpe est jaune, son odeur rappelle le musc [7].



Figure 2-7 : Le melon

Le melon est consommé frais, nature ou sucré. Leurs graines sont appréciées grillées et salées dans les régions méditerranéennes comme les « pipas » (graines de tournesol) en Espagne [13].

Des personnages célèbres témoignèrent d'une extrême gourmandise pour ce fruit : il est le fruit préféré de Charles IX, Henri IV, Montaigne et Louis XIV. Il serait responsable de la mort des Papes Paul II et Clément VIII, victimes d'une indigestion.

Actuellement, le melon est le 7<sup>ème</sup> légume commercialisé dans le monde (12976 milliers de tonnes). L'Asie en est le premier producteur devant l'Europe, suivie de l'Amérique du Nord et de l'Afrique. L'Espagne, cultivant toutes les espèces, domine la production en Europe, suivie par l'Italie et la France qui reste leader en variété charentaise. Les figures, 2-8 et 2-9, présentent la production mondiale de melons et la répartition des importations et exportations des melons français au cours de l'année 1994.

## Production mondiale de melons

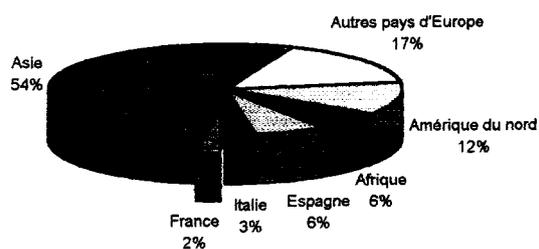
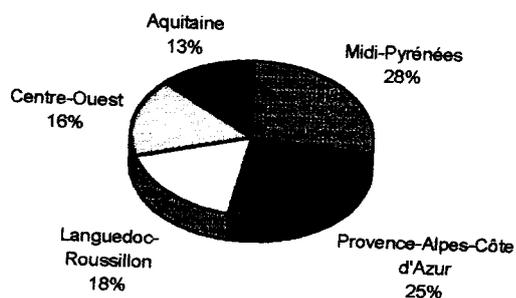
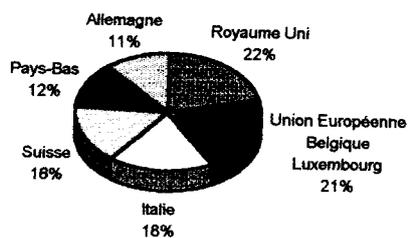


Figure 2-8 : Production mondiale de melons en 1994.

## Production française de melons



## Exportations de melons français



## Importations de melons en France

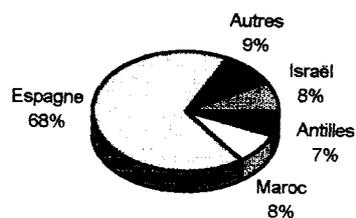


Figure 2-9 : La production, l'importation et l'exportation de melons en France en 1994

La production française se répartit à 58 % en cultures de plein air ainsi qu'à 33 % en abris et 9 % en serres. La région du Midi-Pyrénées est la première productrice et possède le premier département producteur (16 % en Tarn-et-Garonne). Elle est suivie de la région Provence-Alpes-Côte d'Azur ou PACA avec le deuxième département (Vaucluse 14,5 %). Viennent ensuite le Languedoc-Roussillon, le Centre-Ouest et l'Aquitaine (avec le Lot-et-Garonne qui figure pour 10 %, troisième département français).

La France a exporté en 1994 environ 42 668 tonnes de melons principalement vers les pays de l'Europe. Les importations de melons en France ont subi une nette augmentation de 1989 (17 825 tonnes) à 1994 (54 136 tonnes). Les nouveaux pays fournisseurs sont le Brésil, le Sénégal, récemment la République Dominicaine, le Costa-Rica, l'Israël ainsi que les pays tels que la Grèce, le Portugal et la Tunisie qui rivalisent fortement avec l'Italie, le Maroc et l'Espagne.

### 2. 2. 1. 3. Le genre *Citrullus*

#### ► *Citrullus vulgaris*

D'origine sud-africaine, l'espèce *Citrullus vulgaris* (*pastèque*) est maintenant cultivée sous la forme de nombreuses variétés dans les régions chaudes, surtout autour de la Méditerranée. C'est une plante annuelle aux fleurs jaunes et aux feuilles divisées en segments eux-mêmes laciniés. C'est une plante de pays chauds, provenant de l'Afrique tropicale, où il existe une forme (var. *amarus*) qui fait pendant à la forme cultivée (var. *caffer*).

Le fruit, un peu sucré, marbré ou vert, brillant, lisse et extrêmement juteux peut atteindre 20 kilos. La couleur de la pulpe varie du rouge profond, qui contraste avec le noir des graines brillantes, jusqu'au jaune clair. En Chine, les graines torréfiées sont très appréciées[12].



Figure 2-10 : La pastèque

Cette espèce était connue des égyptiens, qui la représentèrent dans leur art, et des hébreux, qui la nommèrent « abbaticim » qui donna le terme arabe « batteca », d'où est tiré le terme français « pastèque ». Elle se répandit rapidement aux Indes, gagna la Méditerranée occidentale, à Rome dans les premières années de l'ère chrétienne, ensuite parvint en Gaule [7].

En France, le semis se fait au mois d'avril-mai et la récolte a lieu en août-septembre. La production française était de 2 500 tonnes en 1993-1994 pour une superficie de 82 hectares, selon les sources du Ministère de l'Agriculture. Ce fruit est consommé cru, en confiture et autres sucreries [17]. Dans certains pays tels que le Nigéria, les graines, décortiquées et broyées, sont ajoutées pour enrichir et épaissir les soupes [18].

#### ► *Citrullus colocynthis*

C'est une plante monoïque herbacée bisannuelle, à tiges rampantes munies de feuilles profondément palmipartieses, parsemées de poils courts et rugueux. Les fleurs sont jaunes, les fruits sphériques sont des baies cortiquées de la grosseur d'une petite orange. D'une couleur verte tachetée ou marbrée, le fruit devient jaune à maturité ; la pulpe blanchâtre contient de très nombreuses graines marron et est extrêmement amère [4].

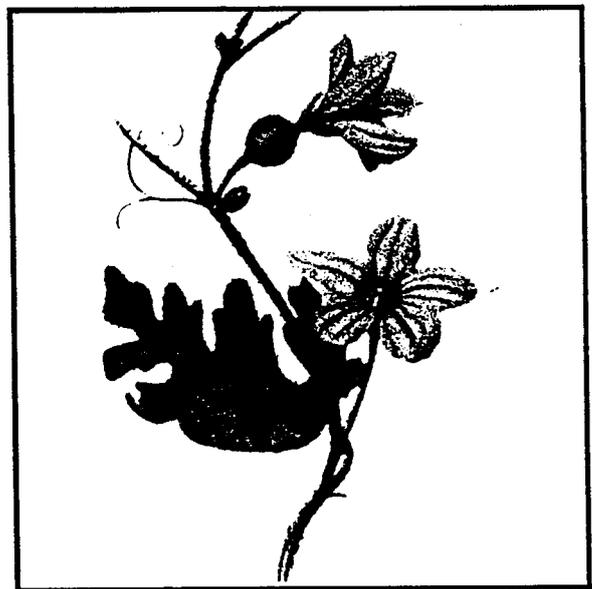


Figure 2-11 : La coloquinte

La section transversale du fruit montre à l'intérieur une fente étoilée à 3 branches rayonnantes ; chaque secteur comprend les placentas volumineux portant de très nombreuses graines ovoïdes, jaunâtres [4].

Cette plante pousse spontanément dans le bassin méditerranéen et la zone prédésertique d'Afrique et d'Asie (Inde et Ceylan) Elle est cultivée essentiellement dans les

îles grecques, en Syrie, en Egypte pour ses fruits. Récoltés à l'automne lorsqu'ils commencent à jaunir, ces derniers sont pelés au couteau et séchés au soleil ou à l'air chaud[4].

Les graines peuvent être ôtées et rôties pour un usage alimentaire. Broyées, elles servent comme épaississant de soupe ou agent de saveur [5].

Cette espèce constitue la transition entre les espèces alimentaires et les espèces toxiques, puisqu'une consommation excessive de ses fruits peut entraîner la mort.

## 2. 2. 2. Les Cucurbitacées toxiques.

### 2. 2. 2. 1. Le genre *Bryonia*

#### ► *Bryonia dioica*

L'espèce *Bryonia dioica* se rencontre principalement dans les lieux non cultivés et le long des haies des régions tempérées de l'Europe occidentale et centrale, en Asie, dans le Proche-Orient et en Afrique du nord [4,12,19].

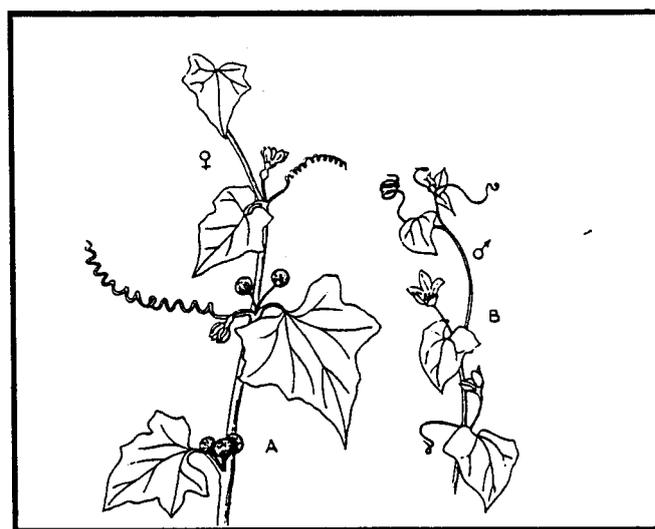


Figure 2-12 : La bryone

(A : rameau femelle avec des fleurs et des fruits ; B : rameau mâle)

Cette plante vivace à vrilles et à tiges aériennes annuelles qui peuvent atteindre 5 m de long se caractérise par une racine charnue volumineuse. Les feuilles palmiparties à 5 lobes sinués sont recouvertes de poils. Généralement dioïques, les fleurs mâles groupées au sommet des rameaux allongés ont un calice en cloche à 5 lobes, une corolle blanc-jaunâtre et 5 étamines uniloculaires, dont 4 sont soudées deux à deux par leurs filets. Les

fleurs femelles, de forme identique, ont un ovaire infère à 3 carpelles surmonté par les styles soudés à la base et terminés chacun par un stigmate à lobes poilus. Le fruit est une baie globuleuse, verte puis rouge à maturité, de 7 à 8 mm de diamètre, renfermant 3 à 6 petites graines brunes aplaties, dépourvues d'albumen [4].

► *Bryonia blanca*

Moins connue, la bryone blanche (*Bryonia alba* L.) est une espèce monoïque d'Europe centrale (Suisse). Voisine de la précédente, elle s'en distingue par ses fruits noirs et elle est parfois cultivée [12].

## 2. 2. 2. 2. Le genre *Ecballium*

► *Ecballium elaterium*

Cette plante, *Ecballium elaterium* ou concombre d'âne, est dispersée dans toute la région méditerranéenne jusqu'en Crimée et en Syrie. Présente dans le midi de la France, en Corse, à Malte, au Proche-Orient, on la trouve à proximité de la mer ou sur des terrains en jachère.



Figure 2-13 : Le concombre d'âne

C'est une herbe robuste, vivace, monoïque à tiges couchées, rameuses de 20 à 60 cm de long sans vrille, aux fleurs jaunâtres veinées de vert, aux feuilles épaisses à pétiole charnu et à limbe triangulaire sinué denté, croissant en une broussaille courte, vert-bleu. Le fruit ovoïde charnu, couvert de poils, mesure 3 à 4 cm de long et est vert-jaunâtre à maturité. La pulpe juteuse, très sucrée, est soumise à une pression d'environ 27 atmosphères ; sous cette pression, le fruit se détache spontanément du pédoncule et par l'ouverture postérieure ainsi faite, les graines enveloppées de mucilage se trouvent éjectées sous l'effet de la pression interne [4].

## 2. 3 - Activités biologiques et propriétés médicinales des Cucurbitacées

Les Cucurbitacées sont reconnues comme source de métabolites secondaires : les cucurbitacines [5]. Appartenant aux groupes des triterpènes tétracycliques, ces composés oxygénés sont constitués de 7 à 9 atomes d'oxygène pour des molécules en C30 ou C32 possédant plusieurs groupes méthyle et souvent un groupe acétyle. Leur présence chez de nombreuses Cucurbitacées engendre une amertume qui, par ailleurs, est responsable des propriétés purgatives de diverses drogues extraites de différents organes de Cucurbitacées (racine de bryone, fruit de coloquinte, suc d'élatérium) [4].

Les cucurbitacines sont spécifiques des espèces de Cucurbitacées comprenant des variétés dites « amères ». Généralement, elles sont réparties uniformément dans tous les organes mais elles sont particulièrement localisées dans les racines fraîches et le suc des fruits. Leur présence est liée à des facteurs génétiques ainsi qu'à des facteurs influençant l'environnement et le stade de développement de la plante.

Ces composés apparaissent sous forme libre ou associés à un sucre. Ce sucre peut être attaché directement au noyau stéroïdien ou/et à la chaîne latérale aliphatique [20].

De nombreux travaux sur l'isolement de ces principes actifs ont été menés avec succès. C'est ainsi qu'une quinzaine de ces substances ont été isolées et ont été désignées par les lettres de l'alphabet : cucurbitacines A, B, C, D, E ... [4]

Le tableau II-3 rapporte les diverses cucurbitacines rencontrées chez les Cucurbitacées ainsi que leurs propriétés [20].

Tableau II-3

Cucurbitacines rencontrées chez les espèces de Cucurbitacées.

Cucurbitacines	formules brutes	espèces	propriétés
Bryodulcosigenine	C <sub>30</sub> H <sub>50</sub> O <sub>4</sub>	apparaît sous forme de glucoside : bryodulcoside, dans les racines de <i>Bryonia dioica</i> .	sucré
Carnosifloside I	C <sub>42</sub> H <sub>68</sub> O <sub>13</sub>	<i>Hemsleya carnosiflora</i>	amer
Carnosifloside III	C <sub>48</sub> H <sub>78</sub> O <sub>18</sub>	<i>Hemsleya carnosiflora</i>	amer
Carnosifloside VI	C <sub>48</sub> H <sub>80</sub> O <sub>18</sub>	<i>Hemsleya carnosiflora</i>	sucré
Cucurbitacine A	C <sub>32</sub> H <sub>46</sub> O <sub>9</sub>	<i>Cucumis hookeri</i> , <i>C. leptodermis</i> , <i>C. myriocarpus</i>	goût amer très intense toxique : DL <sub>50</sub> * (par intraveineuse chez les lapins) = 0,7 mg.kg <sup>-1</sup>
Cucurbitacine B ou amarine ou 1,2-dihydro- $\alpha$ -élatérine	C <sub>32</sub> H <sub>46</sub> O <sub>8</sub>	plusieurs espèces de Cucurbitacées dont <i>Cucumis africanus</i>	rôle attractif pour les coléoptères du concombre ( <i>Diabrotica undecimpunctata howardii</i> ) et répulsif vis à vis des autres insectes. toxicité élevée : DL <sub>50</sub> (par intraveineuse chez les lapins) = 0,5 mg.kg <sup>-1</sup> , DL <sub>50</sub> (par prise orale chez les souris) = 5 mg.kg <sup>-1</sup> activités cytotoxique, antitumorale et antigibérelline...
Cucurbitacine C	C <sub>32</sub> H <sub>48</sub> O <sub>8</sub>	<i>Cucumis sativus</i> var. <i>Hanzhi</i> (concombre variété amère)	amer
Cucurbitacine D ou élatéricine A	C <sub>30</sub> H <sub>44</sub> O <sub>7</sub>	présent chez plusieurs espèces de <i>Cucumis</i> et autres Cucurbitacées.	rôle attractif pour les coléoptères du concombre et répulsif pour l'abeille ( <i>Apis mellifera</i> ).. activités cytotoxique et antitumorale.
Cucurbitacine E ou $\alpha$ -élatérine	C <sub>32</sub> H <sub>44</sub> O <sub>8</sub>	plusieurs espèces de Cucurbitacées dont <i>Ecballium elaterium</i> . apparaît sous forme de 2-O- $\beta$ -D-glucoside chez <i>Citrullus colocynthis</i> .	rôle attractif pour certains coléoptères tachetés du concombre ( <i>Diabrotica undecimpunctata howardii</i> ) et répulsif vis à vis des autres insectes. activités cytotoxique, antitumorale, antigibérelline. toxique : DL <sub>50</sub> (par prise orale chez les souris) = 340 mg.kg <sup>-1</sup>
Cucurbitacine F	C <sub>30</sub> H <sub>46</sub> O <sub>7</sub>	<i>Cucumis angolensis</i>	amer
Cucurbitacine H	C <sub>30</sub> H <sub>46</sub> O <sub>8</sub>	<i>Acanthosicyos horrida</i> , <i>Citrullus naudinianus</i> et autres.	amer
Cucurbitacine I ou ibamarine ou élatéricine B	C <sub>30</sub> H <sub>42</sub> O <sub>7</sub>	plusieurs espèces de <i>Citrullus</i> .	activités cytotoxique, antitumorale, antigibérelline.
Cucurbitacines J et K : même structure mais différent par la configuration du groupe hydroxyle en C-24.	C <sub>30</sub> H <sub>44</sub> O <sub>8</sub>	<i>Citrullus ecirrhosus</i> , <i>Citrullus naudinianus</i> <i>Bryonia dioica</i>	activité antigibérelline
Cucurbitacine L ou 23,24-dihydrocucurbitacine I	C <sub>30</sub> H <sub>44</sub> O <sub>7</sub>	apparaît sous forme de 2-O- $\beta$ -D-glucoside chez <i>Citrullus colocynthis</i> .	amer
Cucurbitacine O	C <sub>30</sub> H <sub>46</sub> O <sub>7</sub>	apparaît sous forme aglycone libre dans <i>Brandegea bigelovii</i>	activité cytotoxique
Cucurbitacine P	C <sub>30</sub> H <sub>48</sub> O <sub>7</sub>	apparaît sous forme aglycone libre dans <i>Brandegea bigelovii</i>	activité cytotoxique
Cucurbitacine Q	C <sub>32</sub> H <sub>48</sub> O <sub>8</sub>	apparaît sous forme aglycone libre dans <i>Brandegea bigelovii</i>	activité cytotoxique
Cucurbitacine S	C <sub>30</sub> H <sub>42</sub> O <sub>6</sub>	<i>Bryonia dioica</i>	amer

Néanmoins, les cucurbitacines ne sont pas limitées à la seule famille des Cucurbitacées. Ainsi, certaines d'entre elles sont également présentes dans d'autres familles végétales telles que les Cruciféracées (*Iberis amara*) ou les Scrophulariacées (*Gratiola officinalis*) pour la cucurbitacine I. D'autres cucurbitacines, non détectées chez les Cucurbitacées, se rencontrent également dans d'autres familles telles que la 11-déoxocucurbitacine I ou la spinoside A présentes chez *Desfontainia spinosa* (Desfontainiacées) [20].

L'amertume des plantes due à ces cucurbitacines sont un moyen de défense efficace contre plusieurs herbivores. Cependant, certains insectes comme les coléoptères, se nourrissant des feuilles de concombre, se sont adaptés à la présence de ces cucurbitacines. Occasionnellement, ils les absorbent lors de leur repas et les stockent à des fins défensives. Les cucurbitacines sont, en outre, des substances très toxiques pour les mammifères et sont utilisées à titre préventif pour leur action antitumorale\* [20].

La dose létale à 50 % est de 1 mg/kg chez divers animaux. A dose sublétales\*, on observe une chute de la pression artérielle, une diminution de la fréquence respiratoire ainsi que des actions inotrope\* et chronotrope\* négatives sur le cœur. Des injections intrapéritonéales\* répétées de doses sublétales amènent des lésions du foie, de la rate et des reins. Du fait de leur toxicité cellulaire, elles ont été testées comme molécules antitumorales. Ainsi, plusieurs substances se sont montrées actives sur des tumeurs expérimentales chez l'animal (sarcome 180 de la souris, carcinome d'ascite d'Ehrlich). Cependant, il n'y a pas actuellement d'applications thérapeutiques en raison de leur toxicité trop élevée. Cette toxicité se manifeste par une augmentation de la perméabilité capillaire qui entraîne des phénomènes d'œdème. Leur action sur les poumons se traduit par la formation d'un œdème aigu, sur les muscles elle provoque l'hypoexcitabilité puis l'inexcitabilité [4,20].

Enfin, les cucurbitacines sont des purgatifs drastiques au niveau de l'intestin in situ par accroissement de la motilité\* [13].

Les Cucurbitacées tempérées destinées à l'alimentation ne renferment quasiment aucune cucurbitacine. Le genre *Cucurbita* en est, par exemple, exempt alors que le genre *Cucumis* contient les cucurbitacines A, B, C, D et F. L'espèce *Bryonia dioica* renferme des cucurbitacines telles que les bryodulcosides, J, K et S. La cucurbitacine E est présente dans

l'espèce *Ecballium elaterium* alors que l'espèce *Citrullus colocynthis* contient les cucurbitacines E et L.

Bien que la composition en cucurbitacines soit un critère de différenciation de ces espèces, elles ont une propriété commune : elles sont vermifuges ou purgatives.

Les diverses propriétés médicinales de chaque Cucurbitacée sont répertoriées dans le tableau II-4.

Quelques recettes « traditionnelles » préconisant l'utilisation de ces Cucurbitacées sont présentées en annexe 1.

Tableau II-4  
Propriétés médicinales de quelques Cucurbitacées.

Genres	Noms scientifiques	Principes actifs	Propriétés
<b>CUCURBITA</b>	<i>Cucurbita pepo</i> (citrouille) <i>Cucurbita maxima</i> (potiron) <i>Cucurbita moschata</i> (courge)	cucurbitine (3-amino-3-carboxypyrrrolidine)	⇒ graines : émolliente*, laxative, cicatrisante du tube digestif, activité antitumorale, ténifuge ⇒ fruits : purgatif drastique*, antinéoplasique*, anhydrosipisic*, anti-goutte*, antiarthrite*, apoplexie*, congestion cérébrale*, sciaticque*
<b>CITRULLUS</b>	<i>Citrullus colocynthis</i> (coloquinte)  <i>Citrullus vulgaris</i> (pastèque)	hétérosides de cucurbitacines	⇒ graines : leucorrhée*, gonorrhée*
<b>BRYONIA</b>	<i>Bryonia dioica</i> (navet du diable)	bryorésine bryocimine	⇒ racines : <i>usage interne</i> purgative, vomitive, diurétique, expectorante*, anticonspation par atonie*, anhydrosipisic*, antitumorale, antihumastmale, antiinflammatoire des voies respiratoires, émménagogue* <i>usage externe</i> résolutive*, anti-ecchymotique*, rubéfiante*, révulsive*, vésicante*
<b>ECBALLIUM</b>	<i>Bryonia alba</i> (bryone blanche)  <i>Ecballium elaterium</i> (concombre d'âne)	bryopolyose  α-élatérine (cucurbitacine E) β-élatérine	⇒ racines : laxative, antiarthrite, anhydrosipisic, pyrétogène ⇒ fruits : purgatif puissant et hydragogue anhydrosipisic, anticirrhotique*, antitumorale
<b>CUCUMIS</b>	<i>Cucumis sativus</i> (concombre)		⇒ fruits : <i>usage interne</i> hypnotique léger, dépuratif, dissolvant des urates et de l'acide urique <i>usage externe</i> adoucissant pour la peau, antipurigineuse, astringent, aromatisant

## 2. 4 - Composition de la fraction lipidique des huiles extraites des graines de Cucurbitacées tempérées.

Le tableau II-5 regroupe la composition en acides gras des huiles extraites des graines de quelques espèces de Cucurbitacées tempérées.

L'huile extraite des graines de Cucurbitacées tempérées contient des acides gras couramment rencontrés chez les végétaux supérieurs [13]. Ces huiles ont une composition qualitative homogène : les différences découlant soit de la présence d'acide gras particulier soit de l'hétérogénéité de la composition quantitative en acides gras.

### 2. 4. 1. Le genre *Cucurbita*

L'huile extraite des graines de courge a suscité un nombre important de travaux. La littérature rapporte que l'huile de pépins de courge est utilisée contre l'hypercholestérolémie et l'artériosclérose [21]. Certains auteurs attribuent ces propriétés à la richesse de l'huile en acides gras polyinsaturés. Par ailleurs, la présence de la vitamine E dans l'huile de pépins de courge favoriserait une meilleure oxygénation des cellules et une régulation du cycle oestral [21].

Selon Schormuller, des quantités appréciables d'huile de *Cucurbita* sont produites en Autriche, Hongrie et dans les régions situées au sud de la Russie. En Yougoslavie, l'huile de *Cucurbita* (*C. maxima*, *C. moschata* ...) extraite des graines décortiquées occupe une place particulière dans ce pays où elle est produite semi-industriellement dans les régions de Slovanie et de Macédoine.

Les graines de *Cucurbita* cultivées en Yougoslavie sont particulièrement riches en huile avec une teneur de l'ordre de 42-49 % alors qu'une teneur de 30-40 % constitue la moyenne obtenue au sein des diverses espèces végétales. Le tourteau par sa grande richesse en protéines et sa faible teneur en cellulose constitue une denrée de qualité pour le bétail [22].

Trois espèces de *Cucurbita* à savoir *C. maxima*, *C. pepo* et *C. moschata* sont décrites. Les indices physico-chimiques déterminés sur les huiles extraites des espèces *Cucurbita maxima* et *Cucurbita pepo*, cultivées toutes les deux en France,

Tableau II-5  
Caractéristiques de quelques huiles extraites de Cucurbitacées.

Caractéristiques	CUCURBITA										CUCUMIS				
	C. maxima		C. pepo		C. moschata			C. sativus			C. melo				
	France [13]	Etats-Unis [25]	France [13]	Yougoslavie [22]	Etats-Unis [25]	Thaïlande [23]	Congo [26]	Argentine [24]	Uruguay [11]	Inde [27]	France [13]	Inde (Calcutta) [27]	Inde [25]		
Indice de cétane (I.C.)	-	-	-	-	-	54,5	-	-	-	-	-	-	-		
Indice d'Iode (I.I.)	105	-	117	-	-	88,9	138,8	138	127,2	-	124	-	-		
Indice d'Acide (I.A.)	1,7	-	0,9	-	-	-	2,64	-	-	-	6,0	-	-		
Indice de saponification (I.S.)	185	-	187	-	-	193,2	179,7	-	-	-	188	-	-		
Indice de réfraction (n)	1,4685	-	1,4723	-	-	-	1,4589	-	1,4759	-	1,4714	-	-		
Tocophérols (mg/kg d'huile)	603	-	750	-	-	-	-	-	-	-	1196	-	-		
• γ-tocophérols	40	-	65	-	-	-	-	-	-	-	61	-	-		
• α-tocophérols	12	-	25	-	-	-	-	-	-	-	13	-	-		
• δ-tocophérols	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
Acides Gras (%)	-	-	-	-	-	-	-	0,1	-	-	-	-	0,4		
14 : 0	13,1	16,0	12,2	11,2	19,0	22,4	12,1	13,0	15,5	21,3	10,5	12,2	10,5		
16 : 1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
18 : 0	5,9	6,0	5,2	5,0	7,0	7,5	6,0	4,7	4,9	5,9	4,8	1,0	11,1		
18 : 1	34,9	47,0	19,2	27,1	40,0	35,9	31,2	9,9	7,6	24,1	12,6	14,1	10,2		
18 : 2	45,4	31,0	62,7	56,7	34,0	33,6	48,2	70,9	71,4	48,7	71,4	72,7	64,1		
18 : 3	-	-	-	-	-	0,1	2,5	-	-	-	-	-	-		
Acide linoléique	-	-	-	-	-	-	-	traces	0,6	-	0,7	-	-		
18 : 3 conjugués	0,7	-	0,7	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
• Acide β-éléostéarique	-	-	-	-	-	0,3	-	0,2	-	-	-	-	0,6		
• Acide punicique	-	-	-	-	-	-	-	0,2	-	-	-	-	1,1		
20 : 0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
22 : 0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
22 : 1	-	-	-	-	-	-	-	1,0	-	-	-	-	-		

Tableau II-5 (suite)  
Caractéristiques de quelques huiles extraites de Cucurbitacées.

Caractéristiques	<i>CITRULLUS</i>				<i>ECBALLIUM</i>	
	<i>C. vulgaris</i>			<i>C. colocyntis</i>	<i>E. elaterium</i>	
	Congo [26]	Etats-Unis [25]	Inde [27]	Inde-Nigéria [25]	Turquie [25]	Canada [28]
Indice de cétane (I.C.)	-	-	-	-	-	-
Indice d'Iode (I.I.)	126,8	-	-	-	-	-
Indice d'Acide (I.A.)	2,23	-	-	-	-	-
Indice de saponification (I.S.)	181,3	-	-	-	-	-
Indice de réfraction (n)	1,4715	-	-	-	-	-
Tocophérols (mg/kg d'huile)	-	-	-	-	-	-
• $\gamma$ -tocophérols	-	-	-	-	-	-
• $\alpha$ -tocophérols	-	-	-	-	-	-
• $\delta$ -tocophérols	-	-	-	-	-	-
<b>Acides gras (%)</b>						
14 : 0	-	0,5	-	0,1-0,4	-	-
16 : 0	10,3	11,2	20,5	11,9-13,5	7,4	9,0
16 : 1	3,7	-	-	0-0,3	-	-
18 : 0	9,3	6,7	5,8	6,0-10,6	6,1	3,0
18 : 1	10,7	10,2	24,1	13,5-25,0	17,9	9,0
18 : 2	66,0	71,3	49,6	50,6-63,4	48,8	57,0
18 : 3	-	0,1	-	0-0,7	-	-
Acide linoléique	-	-	-	-	-	-
18 : 3 conjugués	-	-	-	-	-	-
• Acide $\beta$ -éléostéarique	-	-	-	-	19,8	22,0
• Acide punicique	-	-	-	0-0,3	-	-
20 : 0	-	-	-	-	-	-
22 : 0	-	-	-	-	-	-
22 : 1	-	-	-	-	-	-

ainsi que dans l'espèce *Cucurbita moschata* de Thaïlande indiquent que ces huiles sont fortement insaturées avec des longueurs de chaînes moyennes en se référant aux indices d'iode et de saponification. Ces huiles sont en outre peu acides [13].

La teneur en tocophérols des huiles extraites des espèces de *Cucurbita* cultivées en France est élevée. Cette teneur est proche de celle rencontrée chez les huiles de pépins de raisin (700 mg/kg) et de maïs (900 mg/kg). Cette fraction tocophérolique est exempte de  $\beta$ -tocophérol et majoritaire en  $\gamma$ -tocophérol. De ce fait, ces huiles bénéficient d'une résistance importante à l'oxydation [11].

Leur composition qualitative et quantitative en acides gras révèlent que les huiles extraites des trois espèces de *Cucurbita* sont particulièrement riches en acides gras mono- et diinsaturés ; elles sont du type oléique-linoléique car ces acides représentent plus de 70 % des acides gras totaux.

Les huiles extraites des graines de *Cucurbita* ont une valeur diététique indéniable en raison de leur teneur élevée en acide linoléique, ce qui les rapproche des huiles de tournesol, soja, maïs [10]. En effet, cet acide gras essentiel à la santé de l'homme ne peut lui être apporté que par son alimentation.

Néanmoins, ces huiles de composition en acides gras qualitativement similaire se différencient quantitativement par leur teneur en acides oléique et linoléique. Ainsi, une même composition qualitative serait une caractéristique du genre étudié alors que les différences quantitatives seraient un critère de différenciation entre les espèces. La présence d'un acide gras particulier, l'acide  $\beta$ -éléostéarique, est mise en évidence dans les huiles de *Cucurbita maxima* et *Cucurbita pepo* ; cet acide gras semble spécifique des espèces cultivées en France puisque celles cultivées aux Etats-Unis et en Yougoslavie n'en contiennent pas.

Par ailleurs, l'espèce *Cucurbita maxima* cultivée aux Etats-Unis se distingue de celle cultivée en France en ayant pour acide gras majoritaire l'acide oléique.

L'acide oléique est également l'acide gras majoritaire dans les huiles extraites des graines de *Cucurbita moschata* à l'exception de celle originaire du Congo où l'acide gras prépondérant est l'acide linoléique. En outre, l'espèce *Cucurbita moschata* du Congo et celle de la Thaïlande se singularisent par la présence d'acide linoléique. L'espèce thaïlandaise contient par ailleurs une faible quantité d'acide arachidique.

Récemment, une étude menée sur la recherche de nouvelles huiles végétales comme sources éventuelles d'essence pour les engins diesels a montré que l'huile extraite de l'espèce *Cucurbita moshata* présente une composition en acide gras qui se prête à cet usage [23]. Pryde suggère, en effet, que les huiles végétales utilisées dans les engins diesels doivent avoir un indice de cétane supérieure à 35-40 et un indice d'iode compris entre 80 et 145, conditions remplies par l'huile de *Cucurbita moschata* [23].

## 2. 4. 2. Le genre *Cucumis*

L'étude de la composition en acides gras des deux espèces de *Cucumis* montre que la composition qualitative en acide gras est relativement proche entre les espèces étudiées qui sont *Cucumis sativus* et *Cucumis melo*. L'acide linoléique, acide gras majoritaire, confère à ces huiles de bonnes propriétés nutritionnelles.

### ► *Cucumis sativus*

L'huile de concombre est utilisée dans plusieurs pays à des fins alimentaires [24].

L'huile du genre *Cucumis sativus* contient les acides gras habituellement présents chez les végétaux, à savoir les acides palmitique, stéarique, oléique et linoléique [10]. L'acide gras prépondérant, l'acide linoléique, confère à cette huile de bonnes propriétés diététiques.

L'espèce cultivée en Argentine et en Uruguay présente une composition qui dans l'ensemble est quantitativement et qualitativement similaire si nous tenons compte que des acides gras contenus à plus de 1,0 %. Ces huiles se différencient, d'une part, par la présence d'acide linoléique présent à 0,6 % chez l'espèce cultivée en Uruguay et inexistant chez celle cultivée en Argentine. D'autre part, de faibles quantités d'acides arachique, béhénique et érucique sont observées dans l'espèce cultivée en Argentine.

L'espèce cultivée en Inde et en Uruguay présente une composition qualitativement similaire bien que différente quantitativement. Ainsi, l'espèce de l'Inde se distingue par une faible teneur en acides oléique, linoléique et par l'absence d'acide linoléique.

La composition en acides gras, relativement proche qualitativement et quantitativement, chez l'espèce cultivée en Argentine et en Uruguay peut s'expliquer par le fait que ces pays, situés sur le même continent, bénéficient d'un climat identique. En

revanche, l'espèce présente en Inde, se différencie par sa composition quantitative en acides gras.

#### ► *Cucumis melo*

L'espèce française produit une huile fortement insaturée avec des longueurs de chaînes moyennes comme l'indiquent les valeurs de l'indice d'iode et de saponification. Sa forte acidité serait due à une mauvaise conservation des graines. Les acides gras présents dans l'huile sont des acides gras habituels à l'exception de l'acide  $\beta$ -éléostéarique. Les acides mono- et diinsaturés représentent environ 80 % des acides gras totaux ; cette huile est donc du type oléique-linoléique [13].

Les huiles extraites des espèces cultivées en Inde ont une composition qualitative en acides gras proches bien que différente quantitativement. L'espèce provenant de Calcutta se distingue par une teneur élevée en acide linoléique (72,7 %) et très faible en acide oléique (1,0 %). Contrairement à l'espèce française, elle ne contient pas d'acides octadécatriénoïques conjugués. La deuxième espèce cultivée en Inde (sans précision de la localisation) contient l'acide linoléique comme acide gras prépondérant et des faibles teneurs d'acides arachidique et béhénique. Comme l'espèce de Calcutta, elle ne contient pas d'acides conjugués.

La composition en acides gras de trois espèces de *Cucumis melo* présente des similitudes. Les acides gras présents (acides palmitique, stéarique, oléique et linoléique) sont habituellement rencontrés dans de nombreuses huiles végétales. Par ailleurs, l'acide linoléique est l'acide gras majoritaire de ces espèces. Ces huiles se différencient par la présence d'acides gras inhabituels tels que l'acide  $\beta$ -éléostéarique pour l'espèce française ou par celle des acides arachidique et béhénique, plus rarement rencontrés, pour celle de l'Inde.

### 2. 4. 3. Le genre *Citrullus*

#### ► *Citrullus vulgaris*

L'huile extraite des graines est utilisée en cuisine comme huile de salade [IG14]. Les huiles extraites de la même espèce cultivée dans différents pays présentent une composition en acides gras qualitativement similaire. L'acide linoléique est l'acide gras majoritaire.

L'huile extraite des graines de l'espèce cultivée au Congo est fortement insaturée avec des longueurs de chaînes moyennes comme le soulignent les indices d'iode et de saponification. En plus des acides gras précédemment rencontrés (acides palmitique, stéarique, oléique et linoléique), elle contient l'acide palmitoléique.

En revanche, l'espèce présente aux Etats-Unis se singularise par la présence d'acides myristique et linoléique ainsi que par une très forte teneur en acide linoléique.

L'huile extraite de la plante cultivée en Inde a une composition quantitative en acides gras différente des deux huiles précédentes. Elle se différencie par une forte teneur en acides palmitique et oléique ainsi que par une teneur en acide linoléique inférieure à 50,0 %.

L'espèce cultivée aux Etats-Unis fournit, quant à elle, une huile qui présente des qualités nutritives et diététiques intéressantes alors que celle de l'Inde conviendrait à l'industrie de la savonnerie [10].

#### ► *Citrullus colocynthis*

Les acides gras habituels (acides palmitique, stéarique, oléique et linoléique) se retrouvent dans l'huile de coloquinte avec l'acide linoléique pour acide gras majoritaire.

Cette huile est du type linoléique-oléique-palmitique et possède de bonnes propriétés diététiques [10].

### 2. 4. 4. Le genre *Ecballium*

#### ► *Ecballium elaterium*

Outre les acides gras habituels rencontrés dans les huiles végétales, la présence d'un acide gras de structure particulière, à trois doubles liaisons conjuguées, a été détectée ; il s'agit de l'acide punique. Cette huile, rendue inapte à la consommation par la présence de cet acide gras, présente, en revanche, des qualités qui peuvent être exploitées dans l'industrie de la peinture ou du vernis en raison de ses propriétés siccatives. L'acide linoléique, comme pour de nombreuses huiles de Cucurbitacées est l'acide gras prépondérant.

## CONCLUSION

Les Cucurbitacées tempérés sont représentées par des espèces qui sont cultivées essentiellement pour leurs fruits ainsi que par des espèces toxiques.

Ces espèces se différencient par leurs particularités botaniques, par leurs activités biologiques et propriétés médicinales et par la composition en acides gras des huiles extraites de leurs graines.

Les cucurbitacines contenues dans certaines espèces leur confèrent des propriétés spécifiques qui sont utilisées avantageusement par l'homme. Par ailleurs, les Cucurbitacées sont employées depuis très longtemps pour leurs propriétés purgatives. La médecine traditionnelle leur reconnaît d'autres qualités qui sont à l'origine de la confection de nombreuses « recettes » réputées bénéfiques.

Leurs graines constituent une source non négligeable de protéines et de lipides. La composition en acides gras des huiles extraites des graines de Cucurbitacées tempérées est similaire à celle déterminée pour de nombreuses huiles végétales. On retrouve les acides gras couramment présents dans les huiles à savoir les acides palmitique, stéarique, oléique et linoléique. Par ailleurs, ce dernier est souvent l'acide gras majoritaire et il confère à ces huiles de bonnes propriétés nutritionnelles et diététiques.

Des acides gras octadécatriénoïques à doubles liaisons conjuguées sont présents dans les huiles de *Cucurbita*, de *Cucumis* et d'*Ecballium*. Deux isomères sont identifiés, les acides  $\beta$ -éléostéarique et punique. Ces acides gras qui rendent ces huiles impropres à la consommation sont valorisés grâce à leurs propriétés siccatives.

De manière générale, une même composition qualitative en acides gras est retrouvée chez les diverses espèces étudiées. Les variations observées au sein de la composition en acides gras proviendraient de différents facteurs comme le lieu de culture, le type de climat... [13]

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- 1 - H. GAUSSEN, J.F. LEROY, P. OZENDA, « Précis de botanique », 2, Masson, Paris, 1982, 300.
- 2 - *Encyclopaedia universalis*, 5, Paris, 1989.
- 3 - D.J. MABBERLEY, « The Plant book », Cambridge University press, Cambridge, 1987.
- 4 - R.R. Paris, H. MOYSE, « Précis de matière médicale », 3, Masson, Paris, 1971, 307.
- 5 - T.J. Ng, « New opportunities in the Cucurbitaceae », Ed. New Crops. Wiley, New-York, 1993, 538.
- 6 - M.C. NOAILLES, « L'évolution botanique », Le rayon de la science, Paris, 1968, 152.
- 7 - Encyclopédie du monde végétal, 1, Quillet, Paris, 1964, 458.
- 8 - T.J. JACKS, T.P. HENSARLING, L.Y. YATSU, *Economic botany*, 1979, 2, 135.
- 9 - J.E. COURTOIS, R. PERLES, « Précis de chimie biologique », 2, Masson, Paris, 1981.
- 10 - A. KARLESKING, « Manuel des Corps Gras », 1, Tec.&Doc., Lavoisier, 1992, Paris.
- 11 - M.A. GROMPONE, *Fat Sci. Technol.* 90. Jahrgang, 1988, 12, 487.
- 12 - H. DE WIT, « Les plantes du monde », 1, Ed. Hachette, Paris, 1963, 239.
- 13 - M.L. GHALEB-PELISSIER, « Composition chimique de quelques graines de Cucurbitaceae », Thèse de doctorat, I.N.P. de Toulouse, 1990.
- 14 - « Légumes oubliés de l'île de La Réunion », SUAD, Chambre d'Agriculture, Saint-Denis, 1990.
- 15 - R. LAVERGNE, « Fleurs de Bourbon », 7, Ed. Cazal, Saint-Denis, 1984.
- 16 - Fruits et Légumes Divers (F.L.D.), Fiche technique, Chambre d'Agriculture, 1997.
- 17 - D. OLLIVIER, C. TISSE, M. DORDONNAT, C. TISSE, M. GUERERE, *Science des Aliments*, 1994, 14, 189.
- 18 - E. BOSA OKOLI, *Economic botany*, 1984, 38, 350.
- 19 - M. CARON, H. CLOS JOUVE, « Plantes médicinales », Le petit guide, Ed. Deux Coqs d'Or, Paris, 1966.
- 20 - « Phytochemical Dictionary, A handbook of bioactive compounds from plants », Ed. B. HARBORNE, H. BAXTER, New-York, 1993.
- 21 - M.W. ROMART, « Les plantes médicinales en gélules, petit manuel de la phytothérapie », Ed. de la rue aux herbes, Paris, 1980.
- 22 - V.V. MARKOVIC, L.V. BASTIC, *JAOCS*, 1976, 53, 42.
- 23 - P. KALAYASIRI, N. JEYASHOKE, K. KRISNANGKURA, *JAOCS*, 1996, 73, 471.
- 24 - M.E. CARRERAS, E. FUENTES, C.A. GUZMAN, *Biochemical Systematics and Ecology*, 1989, 17, 287.
- 25 - E. UCCIANI, « Nouveau dictionnaire des huiles végétales », Tec.&Doc., Lavoisier, Paris, 1995.
- 26 - T. SILOU, O. KISSOTOKENE-NTINO, M. MVOULA TSIERI, J.M. OUAMBA, S. KIAKOUAMA, *Journal de la société chimique de Tunisie*, 1990, 2, 13.
- 27 - T. HALDER, V.N. GADGIL, *Phytochemistry*, 1983, 22, 1965.
- 28 - M.J. CHISHOLM, C.Y. HOPKINS, *Canadian Journal of Chemistry*, 1964, 10, 560.

TROISIEME PARTIE

LES CUCURBITACEES TROPICALES :

RESULTATS ET DISCUSSION

## INTRODUCTION

La famille botanique des Cucurbitacées est caractérisée par son ubiquité. Nous les rencontrons aussi bien en zone tempérée qu'en zone tropicale, avec une nette préférence pour cette dernière. La Chine et l'Inde sont, comme nous l'avons vu précédemment, le foyer des Cucurbitacées. Cette famille y est représentée par des espèces dites « tempérées » et « tropicales ». La présence simultanée de ces deux types de Cucurbitacées permet ainsi au marché chinois de disposer continuellement de ces produits. Les espèces tropicales (*Lagenaria*, *Luffa*, *Momordica*...) sont cultivées durant l'été et la saison des pluies, période durant laquelle les Cucurbitacées tempérées ne sont pas présentes sur les marchés [1]. En Inde, les Cucurbitacées tropicales sont une source non négligeable de protéines. Leur culture aisée nécessitant peu de soins, leur production abondante et des temps de récoltes courts font de ces espèces une denrée de choix. Bien qu'elles soient cultivées pour l'alimentation, les espèces de cette famille occupent aussi une place privilégiée dans la médecine traditionnelle. En Chine, certaines Cucurbitacées des genres *Lagenaria*, *Luffa*, *Momordica* et *Sechium* sont utilisées dans la thérapie diététique inaugurée par la médecine traditionnelle chinoise [1].

Dans l'Océan Indien, de nombreuses Cucurbitacées sont cultivées à des fins alimentaires, médicinales ou artisanales. A l'île de la Réunion par exemple, cette famille botanique alimente le marché local en fruits (pastèques, melons...) et en légumes (margoze, citrouille). Parmi les légumes, nous distinguons ceux qui sont d'origine tempérée tels que la courge, la courgette, le concombre ... et ceux d'origine tropicale, nous intéressant plus particulièrement. Les Cucurbitacées tropicales de l'île proviennent de divers horizons [2] :

- ♦ le chouchou, *Sechium edule*, provient du Mexique.
- ♦ la patole, *Trichosanthes anguina*, est importée de l'Inde.
- ♦ la calebasse, *Lagenaria leucaritha*, avec trois variétés, bouteille, la gale et longue, vient de la Chine.
- ♦ le pipangaille, *Luffa*, comprenant deux espèces, à côtes et lisse, est originaire de l'Inde.
- ♦ la margoze, *Momordica charantia*, vient de l'Inde.

Localement, ces plantes sont consommées sous la forme de leurs jeunes feuilles et tiges (chouchou, citrouille) et de leurs fruits immatures (chouchou, pipangaille). Certains fruits des genres *Luffa* et *Momordica* sont amers en raison de la présence de cucurbitacines. Les fruits de ces diverses espèces sont consommés tels quels ou après cuisson. La pulpe renferme jusqu'à 95 % d'eau, 2 à 3 % de glucides, 1 à 2 % de protides et 0,1 à 1 % de lipides [3]. A ces utilisations nutritionnelles, se rajoutent des propriétés médicinales. Le chouchou, par exemple, favoriserait la sécrétion lactée et contiendrait un suc guérissant la coqueluche [2]. Quant à la patole, ses graines sont utilisées contre la fièvre et le ténia en Inde [2].

Ces Cucurbitacées tropicales occupent une place particulière dans la vie et la culture réunionnaise ; aussi avons-nous entrepris l'étude de trois de ces genres les plus communs de l'île : *Lagenaria*, *Luffa* et *Momordica*.

La classification botanique de Jeffrey (1980) indique la taxonomie de ces trois espèces [1,4,5,6] :

Classification des espèces *Lagenaria*, *Luffa*, *Momordica*

## 3 . 1 - Méthodologie

Dans un souci de clarté, nous reportons dans cette partie les différentes méthodes et protocoles nécessaires à l'extraction, au fractionnement, à l'isolement et à l'identification des différents composés. Les procédés utilisés sont identiques pour les trois genres retenus.

### 3. 1. 1. - Extraction

Les graines des genres *Lagenaria* et *Luffa* nous ont été fournies gracieusement par M. Grondin J.B., agriculteur-grainetier de la côte ouest. Seuls les fruits de *Momordica charantia* ont été récoltés à maturité chez un fournisseur du nord de l'île. Les graines ont été séchées puis broyées finement. La poudre obtenue est à nouveau séchée à l'étuve pendant 12 heures à 50° C. Cette dernière est ensuite extraite par de l'hexane au Soxhlet pendant 14 heures [7]. Après évaporation du solvant sous pression réduite, les huiles sont obtenues et le rendement de chaque huile est calculé par rapport au poids sec.

Une étude préalable de ces huiles par des méthodes physico-chimiques nous fournit des informations globales sur leur teneur en acides gras libres par la détermination de l'indice d'acide (I.A.), sur la masse moléculaire moyenne des acides gras obtenue par l'indice de saponification (I.S.) et sur le nombre de doubles liaisons par la mesure de l'indice d'iode (I.I.)[8].

Les rendements en huile ainsi que les résultats obtenus pour l'indice de réfraction et pour les indices chimiques sont donnés dans le tableau III-1.

Tableau III-1

Rendement, indices physico-chimiques des huiles et beurre de graines de Calebasse, pipangaille et margoze.

Graines		Rendement %	Indice de réfraction	Indice d'acide	Acidité par rapport à l'acide oléique	Indice de saponification	Indice d'iode
noms scientifiques	noms vernaculaires						
<i>Lagenaria leucaritha var.ssp</i>	Calebasse bouteille	22,3	1,4704	44,0	22,1	201,5	118,2
<i>Lagenaria leucaritha var.ssp</i>	Calebasse la gale	16,4	1,4717	7,5	3,8	192,5	127,0
<i>Luffa acutangula</i>	Pipangaille à côtes	24,7	1,4634	65,3	32,8	195,5	102,6
<i>Luffa cylindrica</i>	Pipangaille lisse	27,4	1,4635	42,2	21,2	188,0	103,8
<i>Momordica charantia</i>	Margoze	32,6	1,5025	6,7	3,4	189,8	133,1

A 20° C, l'huile de calebasse bouteille d'une couleur jaune-orangée présente deux phases, une phase inférieure minoritaire visqueuse et une phase supérieure liquide. En revanche, l'huile de calebasse la gale de couleur vert-clair est entièrement fluide à cette température. L'huile de calebasse bouteille est très acide (I.A.=44,0) contrairement à celle de calebasse la gale (I.A.=7,5). Cette acidité de l'huile de calebasse bouteille pourrait s'expliquer par une dégradation chimique ou enzymatique des graines au cours du stockage ou résulterait de la mise en contact d'enzymes lipasiques contenues dans les graines avec l'huile au moment du broyage des graines et de l'extraction [9].

Les valeurs des indices d'iode et de saponification indiquent que ces huiles contiennent des acides gras fortement insaturés qui présentent des longueurs de chaînes moyennes. Par comparaison avec l'indice de saponification de l'huile de tournesol (I.S.=190) qui contient en majorité les acides linoléique et oléique, les indices de

saponification des différentes variétés du genre *Lagenaria* ( 192,5-201,5) laissent supposer que ces huiles contiennent principalement des acides gras à 18 atomes de carbone [8].

Les huiles de pipangaille à côtes et pipangaille lisse sont de teinte rouge-sombre et sont légèrement visqueuses à 20 °C. Les huiles des espèces à côtes et lisse sont également très acides ; une dégradation chimique ou enzymatique au cours du stockage pourrait être responsable de ce fort taux d'acidité [9]. Les indices de saponification (188,0-201,5) indiquent que ces huiles ont une composition prépondérante en acides gras à 18 atomes de carbone [8].

En raison de la valeur élevée des indices d'acide rencontrés chez les espèces de calebasse bouteille, pipangaille lisse et pipangaille à côtes, il nous a semblé intéressant de déterminer la teneur de l'huile en monoacylglycérols, diacylglycérols et triacylglycérols, ainsi que la composition en acides gras de ces diverses fractions. Les résultats obtenus figurent à l'annexe 2.

A 20° C, l'extrait lipidique de margoze est un beurre de couleur brun-verdâtre. Ce terme désigne les corps gras qui sont solides à température ambiante [10]. L'indice d'acide ( 6,7 ) montre que le beurre de margoze contient très peu d'acides gras libres. La valeur de l'indice de saponification (189,8) révèle que ce beurre contient des acides gras à longueur de chaîne moyenne. Elle est en accord avec les valeurs attribuées à la famille des Cucurbitacées dont l'indice de saponification est compris entre 180 et 200 [11]. La valeur élevée de l'indice de réfraction indique la présence d'acides gras à double liaisons conjugués [12].

Les valeurs des indices d'iode, selon la classification de Jamieson, définissent les huiles de pipangailles (102,6 et 103,8) et de calebasse bouteille (118,2) comme étant semi-siccatives car elles sont comprises entre 101,5 et 121,1 [10].

L'huile de calebasse la gale et le beurre de margoze présentent une insaturation importante en raison de leurs indices d'iode respectivement de 127,0 et de 133,1. Ces valeurs les classent dans la catégorie des corps gras siccatifs selon la classification de Jamieson puisqu'elle est supérieure à 121,1 [13].

### 3. 1. 2. Fractionnement, isolement et identification

#### 3. 1. 2. 1. Etude de la fraction saponifiable

##### 3. 1. 2. 1. 1. Les acides gras

- ① La détermination de la composition qualitative et quantitative des acides gras présents dans les différentes huiles et le beurre de margoze se fait par C.P.G. sur colonne capillaire *BPX-70 (polaire)*.

Les acides gras ont été préalablement méthylés en présence de catalyseur ( $\text{BF}_3$ ), selon la norme NFT 60-233 [14]. Cette méthode a été appliquée sur les A.G. des huiles des genres *Lagenaria* et *Luffa* en raison de leur fort taux d'acidité. L'utilisation de cette méthode fournit cependant des résultats erronés dans le cas d'huiles contenant des acides gras inhabituels (acides gras cyclopropaniques, acides gras à doubles liaisons conjuguées...).

La méthylation des acides gras du beurre de margoze a été réalisée par méthanolyse basique catalysée par le méthylate de sodium. Cette méthanolyse rapide et micropréparative s'effectue par du méthanol en présence de méthylate de sodium. Elle se fait à température ambiante et est adaptée aux huiles peu acides contenant des A.G. thermolabiles [15].

La séparation des E.M.A.G. par C.P.G s'effectue d'une part en fonction de la nature de la phase, de la température du four et de la pression du gaz vecteur et d'autre part en fonction de la nature des acides gras ( c'est-à-dire de la longueur de la chaîne carbonée, du nombre de doubles liaisons ainsi que de la localisation et de la configuration de ces doubles liaisons) [16, 17].

- ② L'aspect caractéristique du spectre ultraviolet vers 270 nm met en évidence la présence d'acides gras triéthyléniques conjugués [18]. La densité optique mesurée à 272 nm permet de calculer l'absorbance spécifique selon la norme NFT 60-223[14].

- ③ Par chromatographie liquide à haute performance, il est possible de déterminer la composition qualitative et quantitative des différents isomères de l'acide octadécatriénoïque conjugué. Les E.M.A.G du beurre de margoze obtenus par méthanolyse basique [15] sont élués sur une colonne en phase inverse par un mélange acétonitrile-eau (4 : 1, v/v). La détection est réalisée par spectrophotomètre U.V. à la longueur d'onde de 284 nm [19].
- ④ Une analyse par R.M.N. du carbone 13 à haute résolution a permis de lever toute ambiguïté par rapport à la nature des différents isomères de l'acide gras polyéthylénique conjugué du beurre de margoze [20,21,22].

### 3. 1. 2. 1. 2. Les triacylglycérols

- ① Par chromatographie sur colonne ouverte de gel de silice, les triacylglycérols sont isolés par élution avec du benzène selon la norme IUPAC 2-321 [14]. La méthanolyse basique des T.A.G. suivie de l'analyse en C.P.G. des E.M.A.G. correspondants fournit leur composition en A.G.
- ② L'analyse régiospécifique des T.A.G. qui consiste à déterminer la distribution des différents A.G. sur les positions interne et externes du glycérol est réalisée par deux méthodes :
  - ◆ La réaction de GRIGNARD : l'utilisation du bromure d'éthylmagnésium permet la dégradation chimique ménagée indifférenciée des acides gras estérifiant le glycérol car c'est un réactif sans spécificité de chaîne, ni régiosélectif [23].
  - ◆ La méthode de BROCKERHOFF : la détermination des A.G. estérifiant la position 2 du glycérol s'effectue par digestion enzymatique de T.A.G. par la lipase pancréatique de porc [24]. Cette enzyme hydrolyse préférentiellement les positions

*sn*-1 et *sn*-3 d'un T.A.G. [25]. Cette méthode n'a été appliquée qu'aux T.A.G. du beurre de margoze.

③ Le profil total de la fraction contenant les triacylgcérols est obtenue par C.L.H.P. sur colonne de silice en phase inverse ; l'éluant utilisé est un mélange acétone-acétonitrile (2 : 1, v/v) et la détection se fait par réfractométrie différentielle. La séparation des divers constituants de la fraction contenant les triacylgcérols se fait en fonction de plusieurs paramètres :

- ♦ On appelle **nombre de partition** la valeur obtenue par la formule suivante :

$$\text{N.P.} = N - 2n$$

où N est le nombre d'atomes de carbone des trois acides gras estérifiant le glycérol et n le nombre total de liaisons éthyléniques présentes dans la molécule.

En chromatographie en phase inverse, les T.A.G. sont élués selon l'ordre croissant des nombres de partition. Il n'est pas possible de se baser uniquement sur l'ordre d'éluion fourni par les N.P. puisque des T.A.G. de structures différentes peuvent avoir un même nombre de partition [26,27,28,29]. On remarquera néanmoins que les T.A.G. présentant le même N.P. sont élués par ordre décroissant du nombre d'insaturations.

Il est possible d'apporter une précision supplémentaire aux valeurs de N.P. grâce à l'emploi de coefficients correcteurs relatifs aux acides oléique, linoléique et  $\alpha$ -linoléique [27].

On appelle alors nombre de carbone équivalent (N.C.E.) la valeur déterminée par la formule suivante :

$$\text{N.C.E.} = N - 2,60 \cdot n_o - 2,35 \cdot n_L - 2,17 \cdot n_{Ln}$$

où  $n_o$ ,  $n_L$  et  $n_{L_n}$  représentent le nombre d'insaturations des acides oléique, linoléique et  $\alpha$ -linoléique.

- ◆ Un autre paramètre intervenant dans l'analyse des T.A.G. est le **temps de rétention relatif** (T.R.R.). Goiffon et coll. [27,28] ont établi que le logarithme décimal du T.R.R. d'un triacylglycérol donné (XYZ) est égal à la somme des coefficients attribuables à chaque acide gras constitutif. Par exemple :

$$\text{Log T.R.R. (XYZ)} = \text{Log T.R.R. (X)} + \text{Log T.R.R. (Y)} + \text{Log T.R.R. (Z)}$$

où :

$$\text{Log T.R.R. (X)} = 1/3 \text{ Log T.R.R. (XXX)}$$

$$\text{Log T.R.R. (Y)} = 1/3 \text{ Log T.R.R. (YYY)}$$

$$\text{Log T.R.R. (Z)} = 1/3 \text{ Log T.R.R. (ZZZ)}$$

L'analyse des T.A.G. homogènes commerciaux permet alors de calculer les T.R.R. théoriques des divers T.A.G. existants.

- ◆ Une **quantification statistique** des différents T.A.G. susceptibles d'être présents dans le corps gras est obtenue à partir de leur composition en A.G. Cette détermination permet de déceler les T.A.G. majoritaires probables et est donc une aide précieuse dans l'identification des différents pics d'un chromatogramme.

Soient, par exemple, P, O et L trois A.G. identifiés et p, o et l leurs proportions centésimales respectives dans les T.A.G. déterminées par C.P.G. Les proportions statistiques de chacun des T.A.G., en supposant une distribution au hasard sur les trois positions de la molécule du glycérol, s'obtiennent par les calculs suivants :

$$\% \text{ PPP} = p^3 \cdot 10^{-4}$$

$$\% \text{ PPO} = 3 \cdot p^2 \cdot o \cdot 10^{-4}$$

$$\% \text{ POL} = 6 \cdot p \cdot o \cdot l \cdot 10^{-4}$$

En utilisant les résultats issus de la dégradation chimique ménagée des T.A.G., il a été possible de préciser les proportions statistiques en considérant cette fois-ci, une distribution "2-random - 1,3-random" des A.G. au sein des T.A.G.

La proportion statistique de chacun des T.A.G. est calculée de la façon suivante :

$$\% \text{ PPP} = p_{1,3}^2 \cdot p_2 \cdot 10^{-4}$$

$$\% \text{ PPO} = [2 (p_{1,3} \cdot p_2 \cdot o_{1,3}) + (p_{1,3}^2 \cdot o_2)] \cdot 10^{-4}$$

$$\% \text{ POL} = [2 (p_{1,3} \cdot o_2 \cdot l_{1,3}) + 2 (l_{1,3} \cdot p_2 \cdot o_{1,3}) + 2 (p_{1,3} \cdot l_2 \cdot o_{1,3})] \cdot 10^{-4}$$

où  $p_{1,3}$ ,  $o_{1,3}$  et  $l_{1,3}$  représentent les pourcentages respectifs des acides gras P, O et L en positions  $m-1,3$  ; et  $p_2$ ,  $o_2$  et  $l_2$  représentent les pourcentages respectifs des acides gras P, O et L en position  $m-2$ .

### 3. 1. 2. 2. Etude de la fraction insaponifiable

#### 3. 1. 2. 2. 1. Obtention de l'insaponifiable

La saponification du corps gras est réalisée par une solution alcoolique de KOH 1M (norme NFT 60-205.1) [14]. La fraction insaponifiable est extraite par de l'éther. Après filtration et évaporation du solvant, cette fraction est placée à l'étuve à la température de 103°C jusqu'à poids constant. L'insaponifiable est obtenu avec les rendements suivant :

- huile de calabasse bouteille : 2,3 %
- huile de calabasse la gale : 1,3 %
- huile de pipangaille à côtes : 2,1 %
- huile de pipangaille lisse : 1,7 %
- beurre de margoze : 2,0 %

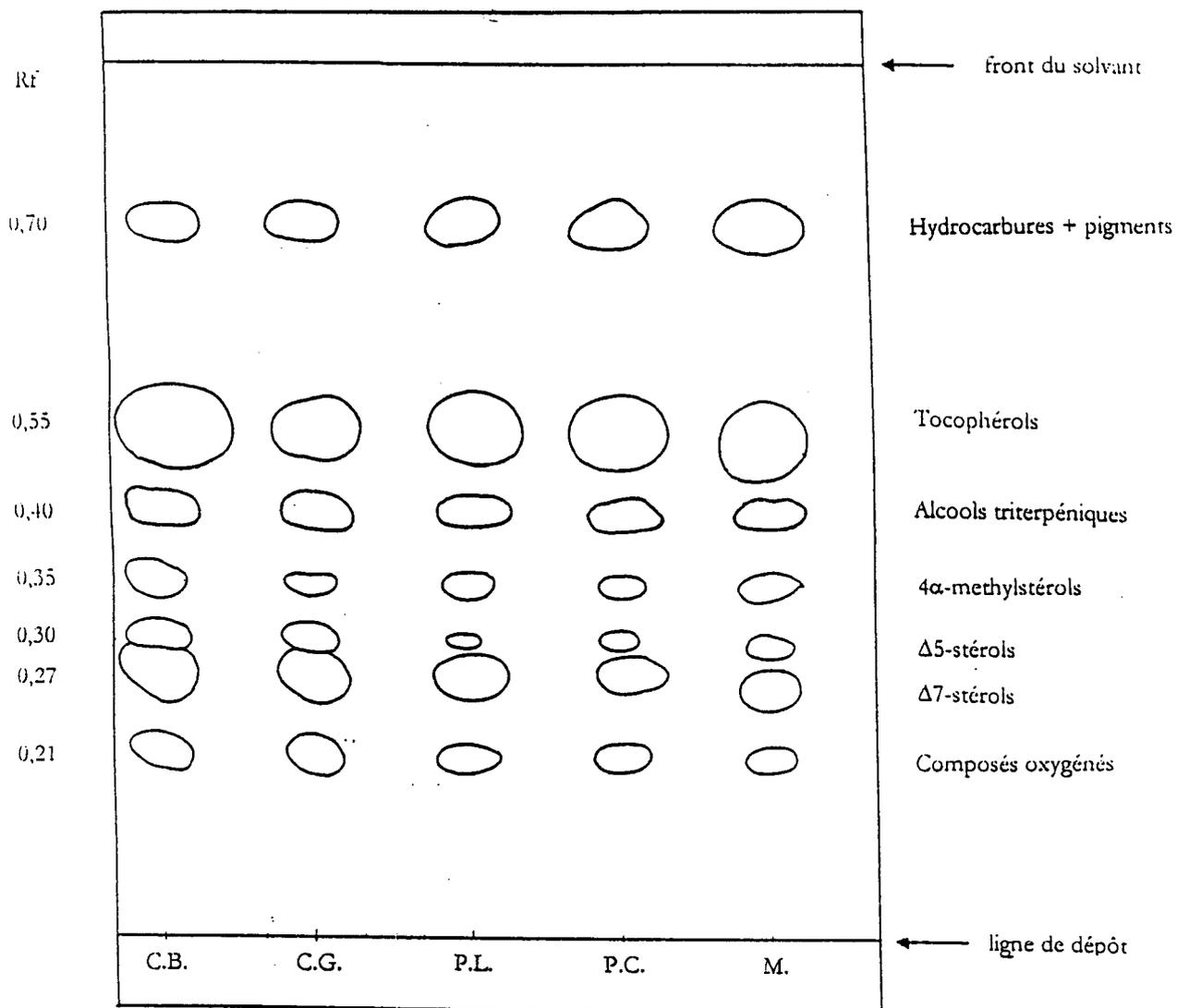
Les corps gras étudiés ont des teneurs en insaponifiable similaires à celles de nombreuses huiles végétales [8,30] avec, cependant, des teneurs élevées pour les huiles de calabasse bouteille, de pipangaille à côtes ainsi que pour le beurre de margoze.

### 3. 1. 2. 2. Fractionnement en différentes classes de triterpènes

La partie insaponifiable d'un corps gras est un mélange complexe dont l'étude impose divers fractionnements préalables. Ce mélange hétérogène est tout d'abord séparé en ses différentes classes (pigments et hydrocarbures, tocophérols, alcools triterpéniques, 4 $\alpha$ -méthylstérols, stérols et composés oxygénés) qui seront par la suite fractionnées en leurs différents constituants. Plusieurs techniques chromatographiques sont mises en œuvre au cours de ces fractionnements :

☞ **La C.C.M. de silice** permet d'estimer qualitativement les diverses classes de constituants [16]. Le profil des insaponifiables des extraits lipidiques des graines des genres *Lagenaria*, *Luffa* et *Momordica* a été obtenu par C.C.M. de silice sur plaque analytique. L'éluant utilisé est un mélange hexane-éther-acide formique (70 : 30 : 1, v/v/v). Après deux migrations successives, on pulvérise une solution aqueuse d'H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> à 50% puis on minéralise à 103°C. Les profils sont représentés à la figure 3-1. Les huiles des genres *Lagenaria* et *Luffa* ainsi que le beurre de *Momordica charantia* se caractérisent par la présence simultanée de  $\Delta$ 5- et  $\Delta$ 7-stérols. L'intensité des taches montre que ces espèces contiennent majoritairement des stérols dont la double liaison intracyclique est située sur le carbone 7 ; cette particularité serait un critère de différenciation de cette famille botanique.

☞ **La chromatographie préparative sur colonne ouverte** permet l'isolement des différentes classes de triterpènes. De l'alumine hydratée à 5 %, taux d'humidité permettant d'avoir le meilleur fractionnement, a été utilisée comme support [31]. L'insaponifiable déposé en tête de colonne est élué par un mélange hexane/éther de polarité croissante. On récupère en bas de colonne les fractions contenant respectivement les pigments et hydrocarbures, les tocophérols, les alcools triterpéniques, les 4 $\alpha$ -méthylstérols, les stérols et les composés oxygénés. La pureté de ces diverses fractions est ensuite vérifiée par C.C.M.. La composition de la fraction insaponifiable totale de chaque genre étudié est présentée dans les tableaux III-2, III-3 et III-4.



C.B. : calabasse bouteille, C.G. : calabasse la gale  
 P.L. : pipangaille lisse, P.C. : pipangaille à côtes  
 M. : mangoze

Figure 3-1 : Profils des insaponifiables des corps gras de graines des genres *Lagenaria*, *Luffa* et *Momordica*.

Tableau III-2

Proportions des différentes classes de l'insaponifiable des huiles de graines du genre *Lagenaria*

Eluant hexane/éther (v/v)	Produits recueillis	Rf	<i>Lagenaria leucaritha</i>	
			variété bouteille % <sup>1</sup>	variété la gale % <sup>1</sup>
100 : 0 99 : 1	hydrocarbures + pigments	0,70-60	19,2	13,6
99 : 1	tocophérols	0,55	23,0	26,0
98 : 2	alcools triterpéniques	0,40	12,1	15,7
98 : 2	alcools triterpénique + 4α- méthylstérols	0,40-0,35	2,0	1,8
98 : 2	4α-méthylstérols + stérols	0,35-0,30	6,4	5,7
98 : 2 97 : 3	stérols	0,20-0,27	28,8	28,0
96 : 4	composés oxygénés	0,21	8,5	9,2

<sup>1</sup> : % en masse dans l'insaponifiable

Tableau III-3

Proportions des différentes classes de l'insaponifiable des huiles de graines du genre *Luffa*

Eluant hexane/éther (v/v)	Produits recueillis	Rf	<i>Luffa acutangula</i>	<i>Luffa cylindrica</i>
			% <sup>1</sup>	% <sup>1</sup>
100 : 0 99 : 1	hydrocarbures + pigments	0,70-0,60	19,4	20,4
99 : 1	tocophérols	0,55	25,3	26,4
99 : 1	alcools triterpéniques	0,40	13,8	12,7
98 : 2	alcools triterpénique + 4α- méthylstérols	0,40-0,35	3,6	4,4
98 : 2	4α-méthylstérols + stérols	0,35-0,30	1,7	2,5
98 : 2 97 : 3	stérols	0,30-0,27	23,7	21,9
96 : 4	composés oxygénés	0,21 à 0,03	12,5	11,7

<sup>1</sup> : % en masse dans l'insaponifiable

Tableau III-4

Proportions des différentes classes de l'insaponifiable du beurre de graines de *Momordica charantia*

Eluant hexane/éther (v/v)	Produits recueillis	Rf	<i>Momordica charantia</i>
			% <sup>1</sup>
100 : 0 99 : 1	hydrocarbures + pigments	0,70-0,60	16,9
99 : 1	tocophérols	0,55	24,2
99 : 1 98 : 2	tocophérols + alcools triterpéniques	0,55-0,40	17,2
98 : 2	alcools triterpéniques + 4α- méthylstérols	0,40-0,35	4,0
98 : 2	4α-méthylstérols	0,35	5,2
98 : 2 97 : 3	stérols	0,30-0,27	24,1
96 : 4	composés oxygénés	0,21 à 0,03	8,4

<sup>1</sup> : % en masse dans l'insaponifiable

Les fractions insaponifiables totales des genres *Lagenaria*, *Luffa* et *Momordica* sont particulièrement riches en tocophérols et en stérols avec des teneurs variant de 20 à 30%. Ces huiles et beurre bénéficient d'une résistance importante à l'oxydation en raison de cette forte teneur en tocophérols. Le fait que les A.T. et les 4 $\alpha$ -méthylstérols soient des intermédiaires biosynthétiques dans la formation des stérols explique les faibles teneurs en ces différents composés pour les insaponifiables des trois genres étudiés. L'analyse de la fraction stérolique par C.C.M. de silice montre que ces corps gras sont fortement majoritaires en  $\Delta^7$ -stérols. Cette classe de composés est caractéristique d'un certain nombre de familles botaniques telles que les Théacées, les Sapotacées... [32,33,34].

### 3. 1. 2. 2. 3. Fractionnement des différentes classes de triterpènes

Dans les corps gras étudiés, nous nous sommes attachés à la détermination de la composition des mélanges contenant les A.T. et les stérols. Les faibles quantités de produits recueillis pour les fractions 4 $\alpha$ -méthylstéroliques n'ont pas permis d'analyses ultérieures.

Les A.T. et les stérols de chaque huile et beurre ont été extraits de l'insaponifiable sur colonne ouverte d'alumine en utilisant comme éluant un mélange hexane/éther de polarité croissante. Des généralités sur ces classes de triterpènes sont présentées en annexe 3 [35]. L'isolement et l'identification des constituants de chaque classe de triterpènes ont été réalisés sur leurs dérivés acétylés. L'acétylation de ces composés par l'anhydride acétique en présence de pyridine s'est déroulée à température ambiante sous agitation continue et à l'abri de la lumière. Ce type de dérivés améliore la séparation des divers constituants par les techniques chromatographiques utilisées.

Les profils totaux des A.T. et des stérols provenant respectivement de chacun des corps gras étudiés ont été obtenus par :

- la C.P.G : l'analyse est réalisée sur une C.P.G. comportant une colonne capillaire apolaire, HP-5MS couplée à un détecteur S.M.. La séparation s'effectue en fonction du nombre d'atomes de carbone et du nombre de doubles liaisons. Les différents pics chromatographiques sont caractérisés par leur T.R.R. calculé à partir du cholestérol acétylé.

Le couplage de la C.P.G. au détecteur S.M. permet d'établir pour chaque constituant du mélange son spectre de masse. Cette méthode présente néanmoins des inconvénients. D'une part, les produits sont détruits par ionisation par impact électronique à 70 eV et, d'autre part, deux ou plusieurs composés peuvent être présents sous un même pic. Par ailleurs, la configuration exacte des composés comportant un carbone asymétrique ne peut pas être identifiée avec certitude par leurs seuls spectres de masse.

- la **C.L.H.P.** : l'analyse est effectuée sur colonne de silice en phase inverse (RP-18) avec comme éluant le méthanol. Le fractionnement de chaque fraction triterpénique est réalisé en fonction de la masse moléculaire, du nombre et de la position des doubles liaisons ainsi que de la nature et de la position des substituants [36,37]. Le T.R.R. de chaque constituant est donné par rapport au cholestérol acétylé.
- la **C.C.M.-argentique** sépare les composés en fonction du nombre de doubles liaisons et de leur localisation [38,39]. L'éluant utilisé est un mélange de tétrachlorure de carbone et de dichlorométhane en proportions variables.

Il n'est pas possible d'identifier rigoureusement les différents composés en se basant uniquement sur l'analyse par C.P.G.-S.M. des diverses fractions totales d'A.T. et de stérols. L'utilisation conjointe de la C.L.H.P. et de la C.C.M.-argentique nous a permis de fractionner chaque classe de triterpènes en leurs différents composés constitutifs, qui ont été ensuite analysés chacun par R.M.N.  $^1\text{H}$  afin d'établir leur structure exacte.

Le fractionnement des A.T. et des stérols est effectué par C.C.M.-argentique. L'éluant utilisé est le mélange  $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{CCl}_4$  (1 : 5, v/v) et cinq ou sept développements successifs sont nécessaires. Après vaporisation d'une solution méthanolique de dichlorofluorescéine à 0,05 % sur les bords latéraux des plaques et observation sous U.V. à 350 nm, les différentes bandes ainsi délimitées sont grattées puis les composés sont désorbés par le mélange  $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$  (90 : 10, v/v) pendant 1h sous agitation magnétique. Après filtration et évaporation du solvant sous pression réduite, chaque fraction récupérée par C.C.M.-argentique est analysée par C.P.G. afin de contrôler leur pureté.

Par C.L.H.P., on récupère éventuellement un ou plusieurs constituants contenus majoritairement dans un mélange. La pureté de chaque pic recueilli est à nouveau vérifiée par C.P.G..

Les produits purs obtenus à la suite de ces différentes méthodes chromatographiques sont analysés par RMN du proton.

Un tableau récapitulatif regroupant respectivement les A.T. et stérols identifiés dans le corps gras étudié fournira leurs caractéristiques chromatographiques, à savoir leurs T.R.R. en C.P.G. et en C.L.H.P. exprimés par rapport au cholestérol acétylé, ainsi que leurs teneurs respectives.

### 3. 1. 2. 2. 4. Identification des A.T. et des stérols

Les A.T. et les stérols acétylés présentent des caractéristiques permettant de les différencier en S.M. et en R.M.N.  $^1\text{H}$  [40,41,42,43,44,45,46]. Dans un souci de clarté, nous avons fourni les caractéristiques spectrales des composés triterpéniques isolés de tous les extraits lipidiques confondus. Les A.T. identifiés sont numérotés de la façon suivante A1, A2, A3... tandis que les stérols sont différenciés par la numérotation S1, S2, S3...

La composition qualitative et quantitative de la fraction triterpénique totale respective de chaque genre étudié sera présentée dans le chapitre relatif au genre.

#### 3. 1. 2. 2. 4. 1. Les alcools triterpéniques

Les A.T. présentent des spectres de masse où nous notons les présences caractéristiques de l'ion moléculaire ( $\text{M}^+$ ), des ions résultant de la perte d'un groupe méthyle ( $\text{M-Me}$ ), d'un groupe  $\text{H}_2\text{O}$  ou  $\text{CH}_3\text{COOH}$  ( $\text{M-ROH}$ ) et d'un groupe  $\text{M-Me-ROH}$ . La chaîne latérale des A.T. tétracycliques est mise en évidence par la présence d'ions provenant de son clivage [41,46].

La R.M.N.  $^1\text{H}$  confirme la structure des A.T. acétylés par la présence d'un doublet dédoublé centré vers 4,5 ppm. La configuration du groupe hydroxyle est déterminée par les valeurs des constantes de couplage de H3. Les A.T. isolés présentent des valeurs de constantes de couplage de l'ordre de 10,0 Hz et 4,7 Hz, caractéristiques d'un proton axial en 3 couplé avec les deux protons en 2, ce qui définit une configuration  $\beta$  pour le groupe hydroxyle. La structure pentacyclique ou tétracyclique du noyau est déterminée par l'étude

de la zone de résonance des groupes méthyle (entre 0,8 et 1 ppm). L'étude de la zone de résonance des protons éthyléniques nous renseigne sur la position de la ou des doubles liaisons [40,46].

♦ *Etude du composé A1*

**En S.M.** : Ce composé tétracyclique comprend une chaîne latérale insaturée à huit atomes de carbone comme l'indique l'ion à 297 (M-C<sub>8</sub>H<sub>15</sub>-AcOH, 1 %) ainsi que les ions 301 (M-CL-C<sub>3</sub>H<sub>5</sub>-Me, 1 %) et 241 (301-AcOH, 3 %) résultant du clivage du cycle D avec transfert d'un groupe méthyle. L'ion 274 (M-C<sub>10</sub>H<sub>14</sub>-AcOH, 100 %) est caractéristique du clivage du cycle B d'un noyau  $\Delta^5$  cucurbitane selon une réaction de rétro Diels-Alder [47].

**En R.M.N. <sup>1</sup>H** : L'insaturation dans le noyau est indiquée par la présence d'un doublet dédoublé à  $\delta=5,580$  ppm ( $J=6,0$  Hz et 1,8 Hz). Cette valeur est caractéristique d'une insaturation en 5(6). Nous rappelons qu'un déplacement de 5,25 - 5,20 et 5,52 ppm sont caractéristiques respectivement d'une double liaison en 9(11), 7(8) et 5(6) [40]. Le proton éthylénique en 24 résonne sous la forme d'un triplet à  $\delta=5,085$  ppm ( $J=7,2$  Hz). Les groupes méthyle situés en 26 et 27 apparaissent sous forme de singulets à  $\delta=1,669$  et 1,590 ppm. La présence d'un doublet à  $\delta=0,894$  ppm ( $J=6,4$  Hz) et de cinq singulets à 0,800 - 0,841 - 0,909 - 1,015 et 1,129 ppm correspondant aux groupes méthyle 21, 18, 30, 19, 29 et 28. La comparaison avec les valeurs de la littérature confirme que ce composé est le cucurbita-5,24-diène-3 $\beta$ -ol [48,49,50,51].

Le composé A1 est le **cucurbita-5,24-diène-3 $\beta$ -ol** (figure 3-2).

♦ *Etude du composé A3*

**En S.M.** : Les pics  $m/z$  218 (18 %), 203 (7 %) et 189 (24 %) sont typiques de la série des lupanes. En raison de la faible intensité du pic à  $m/z$  218, la double liaison n'est pas située en 12-13. La présence du pic de base à  $m/z$  204 suggère que ce composé est le taraxérol [52,53].

**En R.M.N. <sup>1</sup>H** : Dans la région comprise entre 0,75 et 1,10 ppm, nous observons sept pics correspondant à huit groupes méthyle fixés chacun sur un atome de carbone quaternaire. Le

noyau présente donc une structure pentacyclique avec cinq cycles à six éléments. Dans la région des protons éthyléniques, l'analyse du spectre met en évidence la présence d'un seul proton sous forme d'un doublet dédoublé centré à 5,508 ppm de constantes de couplage  $J=8,1$  Hz et  $J=3,2$  Hz. La comparaison avec les données de la littérature [53] nous indique que la double liaison intracyclique est en 14-15. Les signaux centrés à 1,065 - 0,927 - 0,883 - 0,876 - 0,851 - 0,834 et 0,794 sont respectivement attribués aux groupes méthyle 26, 25/29, 27, 30, 24, 23 et 28 du taraxérol.

Le composé A3 est le **5 $\alpha$ -taraxer-14-én-3 $\beta$ -ol** ou **taraxérol** (figure 3-3).

♦ *Etude du composé A4*

**En S.M.** : L'ion à  $m/z$  297 indique que le composé est un A.T. tétracyclique avec une chaîne monoinsaturée comprenant huit atomes de carbone. Les ions 255 (M-CL-C<sub>3</sub>H<sub>5</sub>-H-AcOH, 7 %) et 301 (M-C<sub>11</sub>H<sub>20</sub>-Me, 2 %) proviennent du clivage du cycle pentacyclique D.

**En R.M.N. <sup>1</sup>H** : L'examen de la zone des groupes méthyle nous indique la présence de sept singulets et d'un doublet. Deux singulets apparaissant à des champs très faibles ( $\delta=1,569$  ppm et  $\delta=1,505$  ppm) correspondent à deux méthyles fixés sur un atome de carbone éthylénique. La double liaison de la chaîne latérale se trouve en fait en 24(25). Le seul signal observé dans la région de résonance des protons éthyléniques (t,  $\delta=5,158$  ppm,  $J=3,7$  Hz) est dû au proton H<sub>24</sub>. Les cinq autres singulets observés dans la zone de résonance des groupes méthyle ( $\delta=1,105$  - 0,943 - 0,939 - 0,846 - 0,806 ppm) sont respectivement attribués aux groupes méthyle 19 - 29 - 28 - 30 et 18 du lanostérol [53].

Le composé A4 est le **5 $\alpha$ -lanosta-8,24-dién-3 $\beta$ -ol** ou **lanostérol** (figure 3-4)

♦ *Etude du composé A5*

**En S.M.** : Les pics  $m/z$  218 (100%), 203 (72%) 189 (39%) sont typiques des séries des oléanes ou ursanes. L'ion  $m/z$  218 est caractéristique de la présence d'une double liaison en 12-13 chez un A.T. pentacyclique. Cet ion provient d'une réaction de rétro Diels-Alder[54].

L'ion 203 résulte de la perte d'un groupe méthyle en 17 (218-Me). Le pic 218 est accompagné de l'ion complémentaire 249 qui correspond au clivage du cycle A et B.

**En R.M.N.  $^1\text{H}$ :** Dans la région des groupes méthyle comprise entre 0,7 et 1,2 ppm, on observe huit singulets correspondant à huit groupes méthyle fixés sur des carbones  $\text{sp}^3$ . Nous sommes donc en série pentacyclique avec cinq cycles à six éléments. Les déplacements chimiques observés confirment la structure oléane. La présence d'un triplet à  $\delta=5,181$  ppm ( $J=3,7$  Hz) est due à un proton éthylénique situé sur le carbone 12. La comparaison avec les valeurs de déplacements chimiques fournies par la littérature nous indique que ce composé est la  $\beta$ -amyrine [55,56,57].

Le composé A5 est le  $5\alpha$ -oléan-12-én-3 $\beta$ -ol ou  $\beta$ -amyrine (figure 3-5).

#### ♦ Etude du composé A6

**En S.M. :** La présence des ions  $m/z$  218 ( $\text{M}-\text{C}_{14}\text{H}_{22}-\text{AcOH}$ , 30 %) et 189 ( $\text{M}-\text{C}_{16}\text{H}_{26}-\text{AcOH}-\text{H}$ , 100 %) montrent que le composé a une structure pentacyclique. Le pic de base situé à  $m/z$  189 exclut la possibilité que ce composé appartienne aux séries ursane et oléane pour lesquelles le pic de base est à  $m/z$  218. La présence d'un groupement *isopropényle* indiqué par le pic  $m/z$  365 ( $\text{M}-\text{C}_3\text{H}_5-\text{AcOH}$ , 2 %) suggère que ce composé appartient à la série des lupanes.

**En R.M.N.  $^1\text{H}$ :** Dans la région des protons éthyléniques, nous observons deux doublets centrés à  $\delta=4,662$  et  $4,548$  ppm ( $J=1,0$  Hz). Ces signaux correspondent à un faible couplage de deux protons éthyléniques entre eux. A  $\delta=1,665$  ppm, un signal sous forme d'un singulet est dû à un groupe méthyle fixé sur un atome de carbone  $\text{sp}^2$ . L'existence d'un groupe *isopropényle* est ainsi confirmée. Le triplet dédoublé centré à  $2,333$  ppm indique la présence d'un proton en  $\alpha$  d'une insaturation, couplé avec deux protons axiaux et un proton équatorial. Ce composé ne peut donc posséder une chaîne latérale. Nous sommes donc en série pentacyclique avec un cycle E à cinq éléments. Dans la région comprise entre 0,7 et 1,1 ppm nous observons six singulets à  $\delta=0,762 - 0,812 - 0,820 - 0,827 - 0,914$  et  $1,005$  ppm qui confirment bien cette structure du noyau, qui peut appartenir soit à la série lupane, soit à

la série hopane. Les déplacements chimiques observés sont en accord avec ceux du lupéol [56,58,59,60,61].

Le composé A6 est le **5 $\alpha$ -lup-20(29)-én-3 $\beta$ -ol** ou **lupéol** (figure 3-6).

♦ *Etude du composé A7*

**En S.M.** : La présence de l'ion  $m/z$  286 ( $M-C_9H_{13}-AcOH$ , 30%) caractérise selon Audier et Alpin [41,62] un noyau cyclopropanique en 9(19). L'ion 297 ( $M-C_8H_{15}-AcOH$ , 28%) indique que la chaîne latérale comprend huit atomes de carbone et une double liaison. La localisation de celle-ci en 24(25) est suggérée par l'ion  $m/z$  339 ( $M-C_5H_9-AcOH$ , 10 %). Le clivage du cycle D avec transfert soit d'un hydrogène soit d'un groupe  $CH_3$  est représenté par les ions 255 ( $M-C_3H_5-H-AcOH$ , 22%) et 241 ( $M-CL-C_3H_5-Me-AcOH$ , 10 %).

**En R.M.N.  $^1H$** : La structure cycloartane est confirmée par la présence de deux doublets à  $\delta=0,318$  et  $0,550$  ppm ( $J=4,0$  Hz) [63,64]. La localisation de l'insaturation en 24(25) est confirmée d'une part par le signal dû au proton éthylénique situé en 24, à savoir un triplet à  $5,080$  ppm ( $J=6,5$  Hz). D'autre part, les groupes méthyle 26 et 27 ont des déplacements chimiques respectivement de  $1,582$  et  $1,663$  ppm. Le groupe méthyle 21 résonne sous la forme d'un doublet à  $\delta=0,860$  ppm,  $J=8,0$  Hz alors que les autres groupes méthyle 18, 28, 29 et 30 sont représentés par un singulet. La correspondance de nos valeurs avec celle de la littérature identifie ce composé comme le cycloarténol [52,65,66,67]

Le composé A7 est le **5 $\alpha$ -cycloart-24-én-3 $\beta$ -ol** ou **cycloarténol** (figure 3-7).

♦ *Etude du composé A7'*

**En S.M.** : Le spectre est identique à celui de la  $\beta$ -amyrine où nous retrouvons les ions 218, 203 et 249.

**En R.M.N.  $^1H$** : Comme pour la  $\beta$ -amyrine, nous retrouvons le doublet dédoublé ( $\delta=5,123$  ppm ;  $J=3,8$  Hz et  $1,8$  Hz) qui est caractéristique d'une insaturation en position 12-13. Il se différencie par la présence de six singulets et de deux doublets dans la région des

groupes méthyle. La concordance des déplacements chimiques avec ceux de la littérature indique que ce composé est l' $\alpha$ -amyrine [55,56,57].

Le composé A7' est le  $5\alpha$ -urs-12-én-3 $\beta$ -ol ou  $\alpha$ -amyrine (figure 3-8).

• *Etude du composé A8*

**En S.M.** : L'ion  $m/z$  297 ( $M-C_9H_{17}-AcOH$ , 9%) provient du clivage d'une chaîne latérale monoinsaturée à neuf atomes de carbone. Ce composé tétracyclique comporte une double liaison en 24(28) comme l'indiquent les ions 379 ( $M-C_3H_7-AcOH$ , 18%) et 339 ( $M-C_6H_{11}-AcOH$ , 5%). Les ions 255 ( $M-CL-C_3H_5-H-AcOH$ , 2%) et 241 ( $M-CL-C_3H_5-Me-AcOH$ , 2%) proviennent du clivage du cycle D. La présence d'un noyau cyclopropanique est identifiée par l'ion  $m/z$  300 ( $M-C_9H_{13}-H-AcOH$ , 7%) [41,62].

**En R.M.N.  $^1H$**  : Les protons en 19 du noyau cyclopropanique résonnent sous la forme de deux doublets à  $\delta=0,320$  et  $0,550$  ppm ( $J=4,0$  Hz) [63,64]. Le groupe méthylénique situé en 24(24 $^1$ ) résonne sous la forme de deux doublets à  $\delta=4,641$  et  $4,693$  ppm ( $J=1,8$  Hz). Les groupes méthyle 26 et 27 résonnent quant à eux sous la forme de deux doublets centrés à  $1,010$  et  $1,005$  ppm avec  $J=6,8$  Hz. Le doublet attribué au méthyle 21 est centré à  $\delta=0,873$  ppm ( $J=5,0$  Hz) et les autres groupes méthyle résonnent sous la forme de singulets. Les valeurs observées sont en accord avec celles de la littérature relatives au 24-méthylèncycloartanol [60,65,67,68].

Le composé A8 est le 24-méthyl- $5\alpha$ -cycloart-24(24 $^1$ )-én-3 $\beta$ -ol ou 24-méthylèncycloartanol (figure 3-9).

3. 1. 2. 2. 4. 2. Les stérols

**En S.M.** : On observe rarement l'ion moléculaire  $M^+$  dans le cas des  $\Delta^5$ -stérols. Cependant, l'ion ( $M-AcOH$ ) est toujours net et abondant. L'ion moléculaire est au contraire toujours observé chez les stérols saturés et est particulièrement prononcé chez les  $\Delta^7$ -stérols [44,45,46].

*Quelques ions caractéristiques :*

*des  $\Delta 5$ -stérols :*

- la perte de la chaîne latérale à partir de l'ion (M-AcOH) conduit à l'ion m/z 255.
- l'ion 213 provient du clivage du cycle D impliquant la perte des atomes C15, C16 et C17 ainsi que de leurs substituants.
- la perte des cycles A et B conduit au fragment 247 (M-C<sub>8</sub>H<sub>12</sub>-AcOH)

*des  $\Delta 7$ -stérols :*

- La perte de la chaîne latérale conduit à l'ion m/z 313 [M-CL-2H].

**En R.M.N. <sup>1</sup>H :** Les stérols acétylés sont caractérisés par la présence d'un triplet détriplet centré vers 4,07-4,64 ppm (à 4,64 ppm pour les  $\Delta 5$ -stérols et à 4,07 ppm pour les  $\Delta 7$ -stérols). Ce signal est dû au proton en 3. Les valeurs des constantes de couplage  $J_{aa}=10,2\text{Hz}$  et  $J_{ae}=3,7\text{Hz}$  définissent une configuration  $\alpha$  pour H3 et  $\beta$  pour la fonction alcool. La position de la double liaison dans le noyau influence les déplacements chimiques du proton éthylénique intracyclique et des groupes méthyle 18 et 19. Ce proton éthylénique intracyclique résonne sous forme d'un doublet dédoublé situé aux environs de 5,12 ppm pour les  $\Delta 7$ -stérols et de 5,35 ppm pour les  $\Delta 5$ -stérols. Les groupes méthyle 18 et 19 résonnent entre 0,5 et 0,8 ppm dans le cas de  $\Delta 7$ -stérols et entre 0,6 et 1,1 ppm dans le cas de  $\Delta 5$ -stérols [42,43,46].

♦ *Etude du composé S1*

**En S.M. :** L'ion à 255 (M-C<sub>9</sub>H<sub>19</sub>-AcOH) indique que la chaîne latérale est saturée et compte neuf atomes de carbone. L'ion moléculaire 442 et le pic de base à 382 suggèrent que ce composé est le ergost-5-én-3 $\beta$ -ol [69].

**En R.M.N. <sup>1</sup>H :** Nous observons dans la région des protons éthyléniques un multiplet centré à 5,354 ppm correspondant au proton éthylénique en 5. Nous notons par ailleurs dans la région de résonance des méthyles la présence de doublets dus aux groupes méthyle 21, 26 et 27 ainsi qu'à un groupe méthyle fixé sur l'atome du carbone 24. Cet atome asymétrique peut avoir une configuration R ou S. Une étude approfondie de ce spectre montre que ces massifs sont constitués, en fait, de deux doublets à des champs très proches. Comme la pureté du produit a été vérifiée par C.P.G., nous concluons que nous sommes en présence d'un mélange d'épimères. Le dédoublement des signaux s'explique par la non-

équivalence magnétique des deux groupes 26 et 27 qui entraîne des déplacements chimiques différents pour les groupes méthyles 21, 24<sup>1</sup>, 26 et 27 des deux épimères. La valeur obtenue par la différence des déplacements chimiques des groupes méthyles 26 et 24<sup>1</sup> permet de déterminer la configuration de l'atome 24.

Les déplacements chimiques des groupes méthyle résonnant sous forme de doublets centrés à 0,778 ppm (d, J=6,8 Hz, Me24<sup>1</sup>), à 0,789 ppm (d, J=6,8 Hz, Me26), à 0,846 ppm (d, J=8,8 Hz, Me27) et à 0,886 ppm (d, J=6,4 Hz, Me21) conduisent à une valeur de  $\Delta\delta$  (26-24<sup>1</sup>) de 0,011 ppm. Cette valeur est caractéristique d'une configuration R [42,70,71,72]. Nous sommes en présence du campest-5-én-3 $\beta$ -ol ou **campestérol**.

Nous observons également des signaux à 0,789 ppm (d, J=6,8 Hz, Me24<sup>1</sup>), à 0,811 ppm (d, J=7,3 Hz, Me26), à 0,830 ppm (d, J=7,8 Hz, Me27) et à 0,897 ppm (d, J=6,4 Hz, Me21). En tenant compte de ces valeurs, nous obtenons un  $\Delta\delta$  (26-24<sup>1</sup>) de 0,022 ppm ce qui est caractéristique de la configuration S [42,70,71]. Nous sommes en présence de l'ergost-5-én-3 $\beta$ -ol ou **22-dihydrobrassicatérol**.

Le composé S1 est un mélange de deux épimères en 24, le **campest-5-én-3 $\beta$ -ol** ou **campestérol** et l'**ergost-5-én-3 $\beta$ -ol** ou **22-dihydrobrassicatérol** (figures 3-10 et 3-11).

#### ♦ Etude du composé S2

**En S.M.** : L'ion 255 (M-C<sub>10</sub>H<sub>19</sub>-AcOH, 47%) résulte de la perte d'une chaîne latérale monoinsaturée à dix atomes de carbone. La rupture des liaisons 20-22 et 24-25 donnent naissance respectivement aux ions 282 (M-C<sub>8</sub>H<sub>15</sub>-AcOH-H, 3%) et 351 (M-C<sub>3</sub>H<sub>7</sub>-AcOH, 9%). Ces ions suggèrent par ailleurs la présence d'une insaturation en 22-23.

**En R.M.N. <sup>1</sup>H** : La présence de deux doublets dédoublés à  $\delta=5,010$  et  $5,152$  ppm (J=15,1 et 8,2 Hz) est due à deux protons éthyléniques couplés entre eux. Ces signaux indiquent que la double liaison est située en 22-23 et qu'elle est de configuration E [42]. Les groupes méthyle 21, 26 et 27 résonnent sous la forme de doublets centrés respectivement à 1,016 ppm (J=6,8 Hz) ; 0,841 ppm (J=6,4 Hz) et 0,790 ppm (J=6,8 Hz). La présence d'un triplet à

$\delta=0,800$  ppm ( $J=6,8$  Hz) est attribuée au méthyle  $24^2$ . Ces valeurs conduisent à une configuration S pour l'atome de carbone 24 [42,69,70,71]. Les valeurs sont en accord avec celles de la littérature et identifient le composé comme étant le stigmastérol [73,74].

Le composé S2 est le **(22E,24S)-stigmasta-5,22-dièn-3 $\beta$ -ol** ou **stigmastérol** (figure 3-12).

♦ *Etude du composé S3*

**En S.M.** : La chaîne latérale est saturée et comporte dix atomes de carbone comme le suggère la présence de l'ion 255 ( $M-C_{10}H_{21}-AcOH$ , 7%). L'absence de l'ion moléculaire et la présence du pic de base à  $m/z$  396 suggère que le composé est le stigmast-5-én-3 $\beta$ -ol [69].

**En R.M.N.  $^1H$**  : Dans la région des méthyles, on observe trois doublets et un triplet. Les doublets centrés à 0,800 ppm ( $J=6,8$  Hz), à 0,813 ppm ( $J=7,3$  Hz) et à 0,898 ppm ( $J=6,3$  Hz) correspondent aux groupes méthyle 26, 27 et 21. Le triplet centré à 0,820 ppm ( $J=7,5$ Hz) est attribué au méthyle  $24^2$ . La chaîne latérale possède donc dix atomes de carbone. L'atome de carbone 24 a la configuration R [43,75,76]. Dans la zone des protons éthyléniques, la présence du seul signal correspondant à H5 indique que la chaîne latérale est saturée. La comparaison avec les données de la littérature nous indique que ce composé est le sitostérol [43,69,72,75,76]

Le composé S3 est le **stigmast-5-én-3 $\beta$ -ol** ou **sitostérol** (figure 3-13).

♦ *Etude du composé S4*

**En S.M.** : Les pics de masse  $m/z$  228 ( $M^+-C_{12}H_{22}-AcOH$ , 1%) ou  $m/z$  229 ( $M^+-AcOH-C_{12}H_{22}-1H$ , 1%) et  $m/z$  213 ( $M^+-AcOH-C_{13}H_{24}-1H$ , 25%) correspondent à des fragmentations du cycle D rencontrées fréquemment dans les  $\Delta^7$ -stérols [61]. Les ions 313 ( $M^+-C_{10}H_{21}$ , 100%) et 315 ( $M^+-C_{10}H_{19}$ , 6%) ainsi que leurs analogues désacétylés à  $m/z$  253 ( $M^+-AcOH-C_{10}H_{21}$ , 2%) et 255 ( $M^+-AcOH-C_{10}H_{19}$ , 50%) indiquent la présence d'une chaîne latérale monoinsaturée à dix atomes de carbone susceptible d'être hydrogénée par transfert de deux atomes d'hydrogène du cycle D.

En R.M.N.  $^1\text{H}$  : Deux doublets dédoublés centrés à  $\delta=5,193$  ppm ( $J=15,1/8,4$  Hz) et  $5,047$  ppm ( $J=15,2/7,0$  Hz) sont dus à deux protons éthyléniques couplés entre eux. Les valeurs des déplacements chimiques et des constantes de couplage indiquent que la double liaison est en 22-23 et qu'elle est de configuration E [46,72]. Dans la région des méthyles, nous observons un triplet centré à  $0,835$  ppm ( $J=7,5$  Hz) dû au méthyle  $24^2$ . Les groupes méthyle 21, 26 et 27 résonnent sous forme de doublets situés respectivement à  $1,052 - 0,877$  et  $0,827$  ppm. La configuration R ou S de l'atome de carbone 24 est déterminée par le calcul de la différence des déplacements chimiques des groupes méthyle  $24^2$  et 26. Selon la littérature, une valeur voisine de  $-0,032$  ppm correspond à la configuration R et de  $-0,043$  à celle de la configuration S [61,70,73]. Elle est de  $-0,042$  dans notre cas ; aussi, la configuration S est attribuée à l'atome de carbone 24.

Le composé S4 est le **(22E,24S)-5 $\alpha$ -stigmasta-7,22-di $\acute{e}$ n-3 $\beta$ -ol** ou **spinastérol**. (figure 3-14)

♦ *Etude du composé S4'*

En S.M. : L'ion moléculaire 452 indique que c'est un stigmastatriène [44]. L'ion à 255 ( $\text{M-C}_{10}\text{H}_{17}\text{-AcOH}$ , 48%) montre que la chaîne latérale comporte dix atomes de carbone et deux doubles liaisons. L'ion  $m/z$  343 ( $\text{M-C}_8\text{H}_{13}$ , 3%) provient du clivage de la liaison en 20-22 et suggère une double liaison en 22-23. Les ions 423 ( $\text{M-C}_2\text{H}_5$ , 5%) et 368 ( $\text{M-C}_6\text{H}_{11}\text{-H}$ , 3%) sont issus du clivage des liaisons 24- $24^1$  et 23-24 ce qui suggère la présence d'une double liaison en 25-27.

En R.M.N.  $^1\text{H}$  : Les deux doublets dédoublés à  $\delta=5,230$  ppm et  $5,175$  ppm ( $J=15,1$  et  $7,0\text{Hz}$ ) attestent de la présence d'une double liaison de configuration E en 22-23. Le déplacement chimique de deux doublets à  $\delta=4,673$  et  $4,684$  ppm avec  $J=1,2$  Hz suggère la présence d'un groupe méthylène en 25( $27$ ). Les groupes méthyle 26, 21 et  $24^1$  résonnent respectivement sous la forme d'un singulet à  $1,625$  ppm, d'un doublet à  $0,993$  ppm ( $J=6,1\text{Hz}$ ) et d'un triplet à  $0,813$  ppm ( $J=7,8\text{Hz}$ ). Le carbone 24 a la configuration S [77,87,91].

Le composé S4' est le **(22E, 24S) stigmasta-7,22,25-tri $\acute{e}$ n-3 $\beta$ -ol** (figure 3-15).

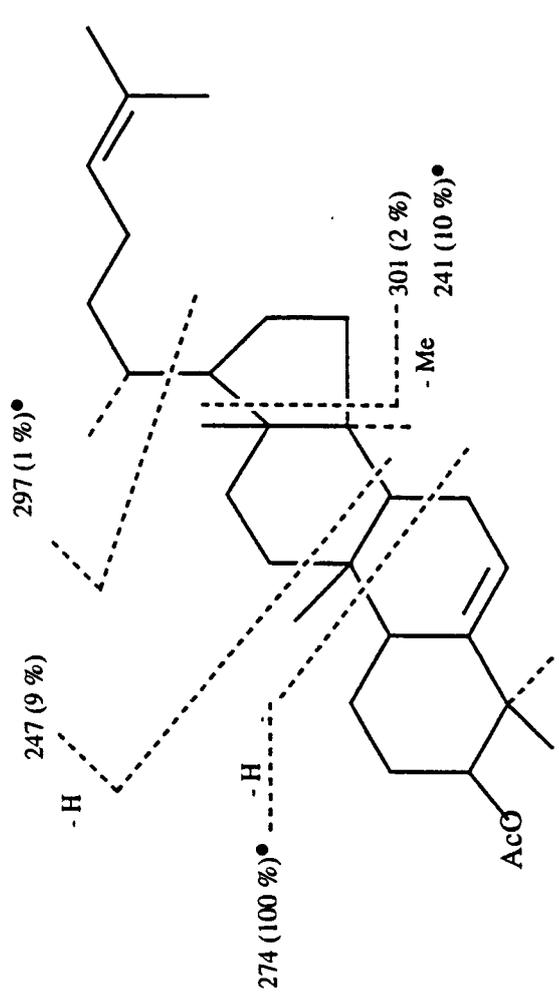
• *Etude du composé S5*

En S.M. : L'ion 255 (M-C<sub>10</sub>H<sub>19</sub>-AcOH, 22%) indique la présence d'une chaîne monoinsaturée à dix atomes de carbone. Les ions présents ne permettent pas de déduire la position de la double liaison sur la chaîne latérale, elle peut être en 24(24<sup>1</sup>), 25(27) ou 24(25).

En R.M.N. <sup>1</sup>H : Deux doublets centrés à 4,620 et 4,770 ppm (J=2,5 Hz) sont dus à un groupe méthylénique en 25(27). La présence de ce groupe est confirmée par le groupe méthyle 26 qui résonne sous forme d'un singulet à 1,550 ppm ; il est fixé sur un atome de carbone sp<sup>2</sup>. Les groupes méthyle 21 et 24<sup>2</sup> résonnent sous la forme d'un doublet à 0,884 ppm (J=6,5 Hz) et d'un triplet à 0,784 ppm (J=7,5 Hz). Par comparaison avec les données de la littérature, le carbone 24 est de configuration S [69,72,77,80].

Le composé S5 est le **(24S)-stigmasta-7,25-dién-3β-ol** (figure 3-16).

M : 468 (7 %)  
 M-Me : 453 (4 %)  
 M-AcOH : 408 (20 %)



• avec perte de AcOH

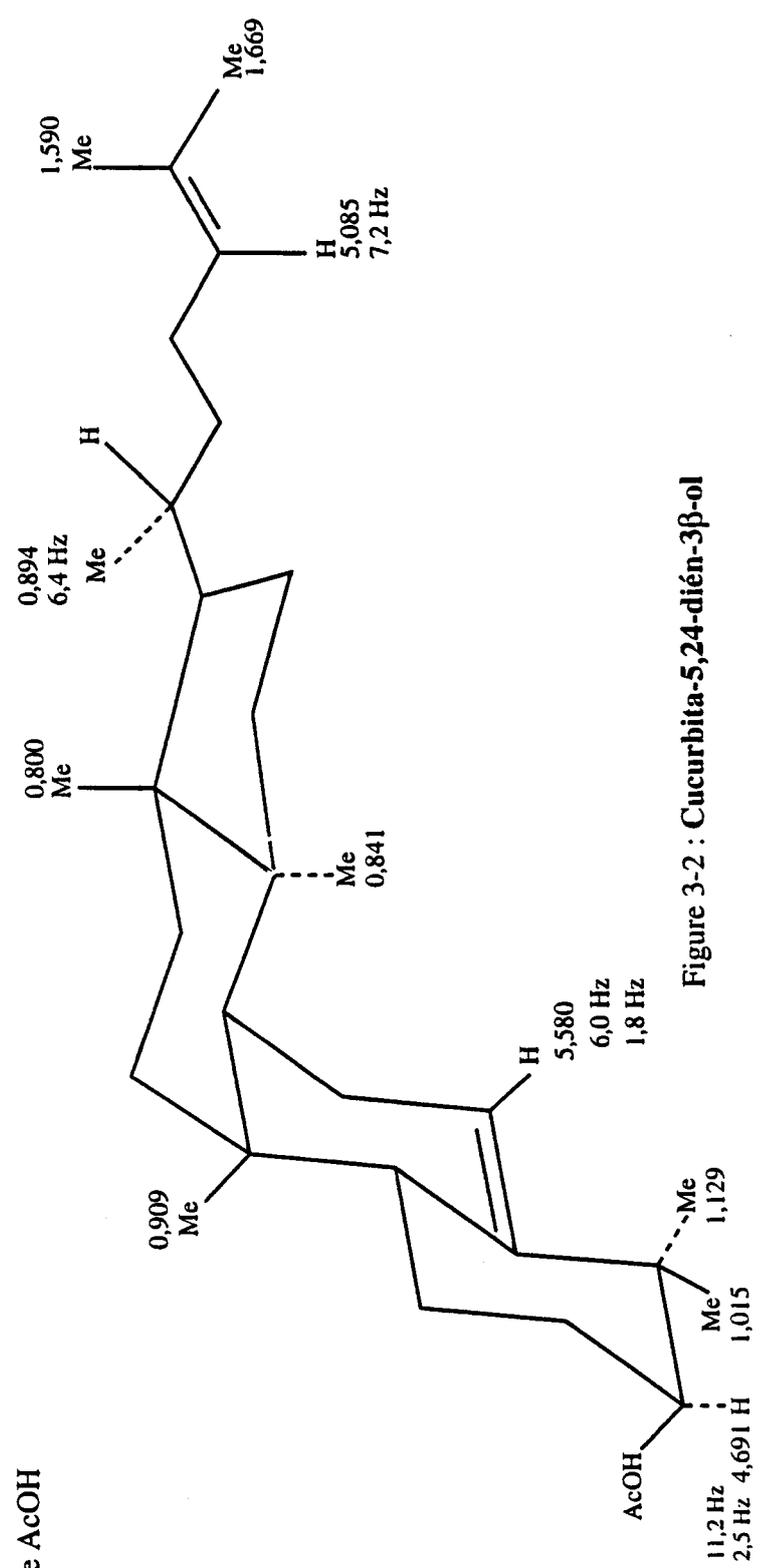
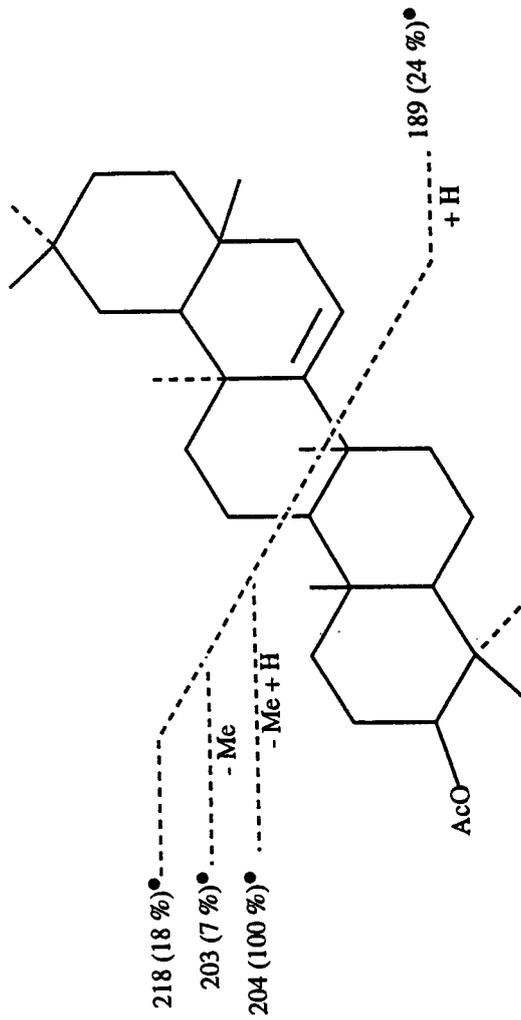


Figure 3-2 : Cucurbita-5,24-dien-3β-ol

M : 468 (2 %)  
 M-Me : 453 (1 %)  
 M-AcOH : 408 (9 %)  
 M-Me-AcOH : 393 (10 %)



• avec perte de AcOH

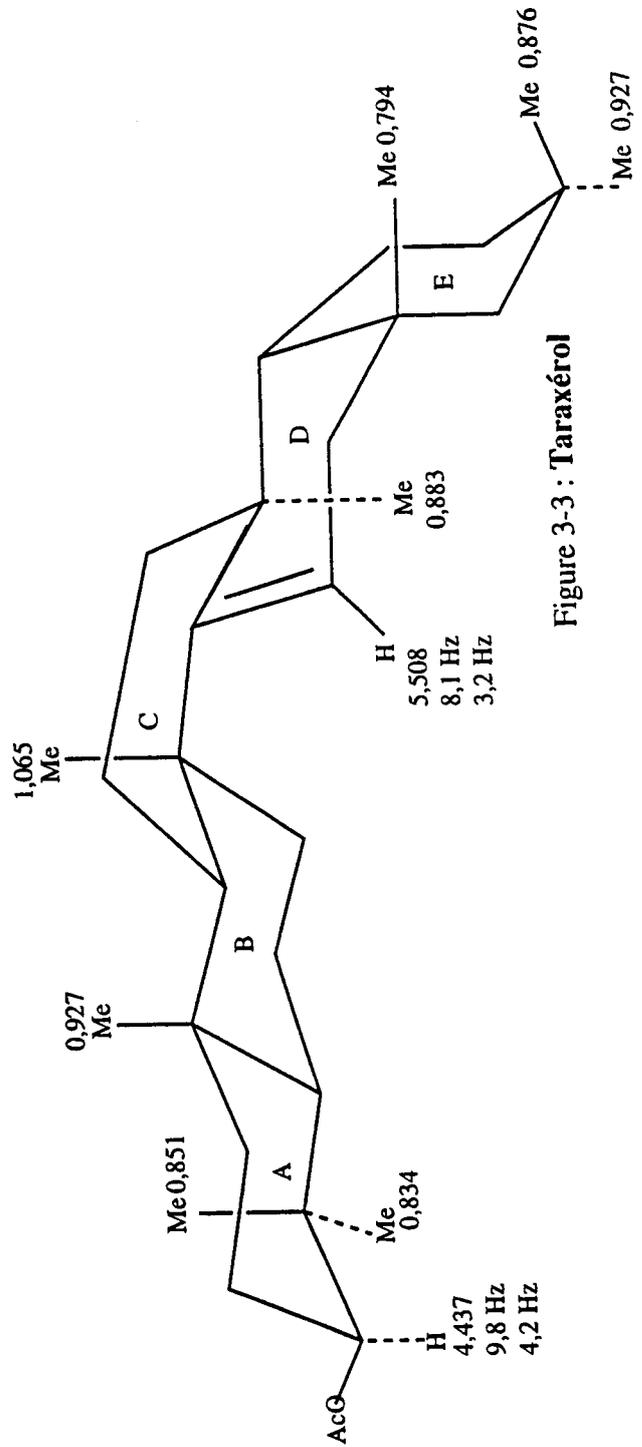
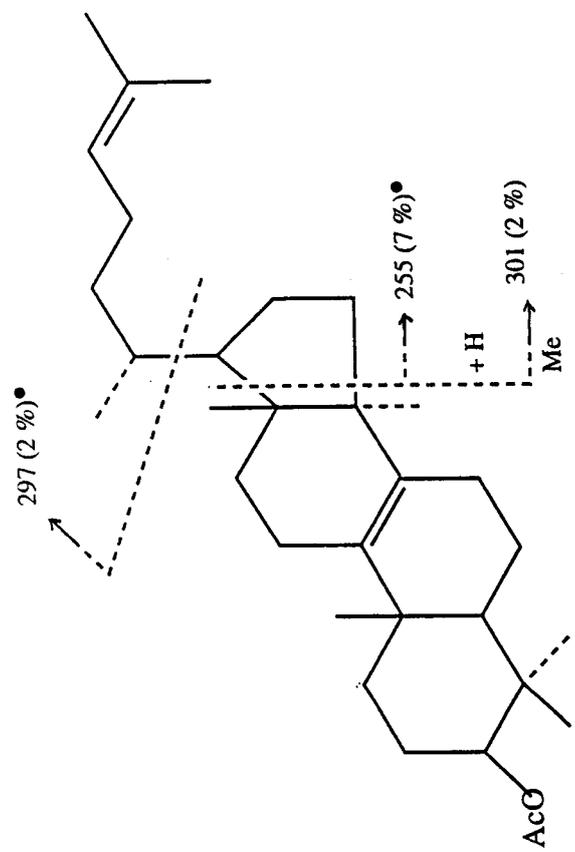


Figure 3-3 : Taraxérol

M : 468 (14 %)  
 M-Me : 453 (100%)  
 M-AcOH : 408 (2 %)  
 M-Me-AcOH : 393 (62 %)



• avec perte de AcOH

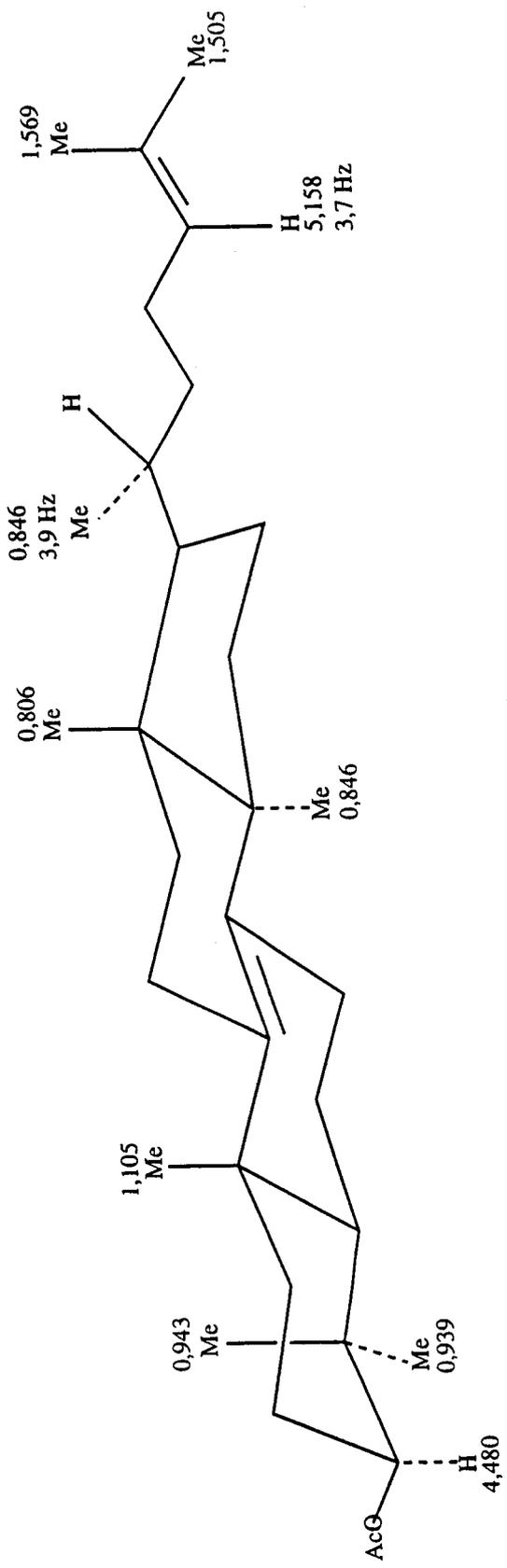
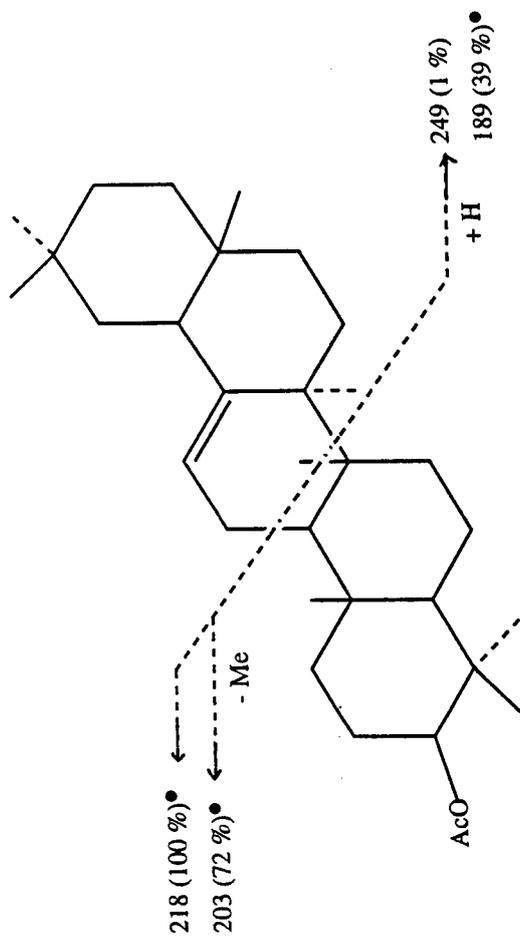


Figure 3-4 : Lanostérol

M : 468 (5 %)  
 M-Me : 453 (1 %)  
 M-AcOH : 408 (10 %)  
 M-Me-AcOH : 393 (2 %)



• avec perte de AcOH

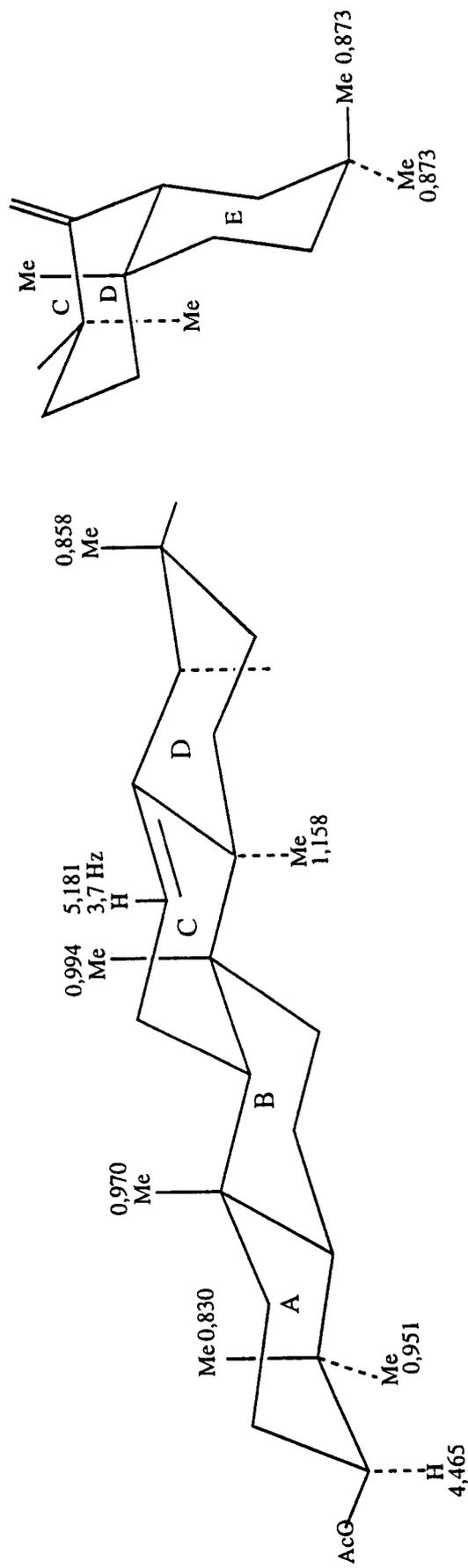
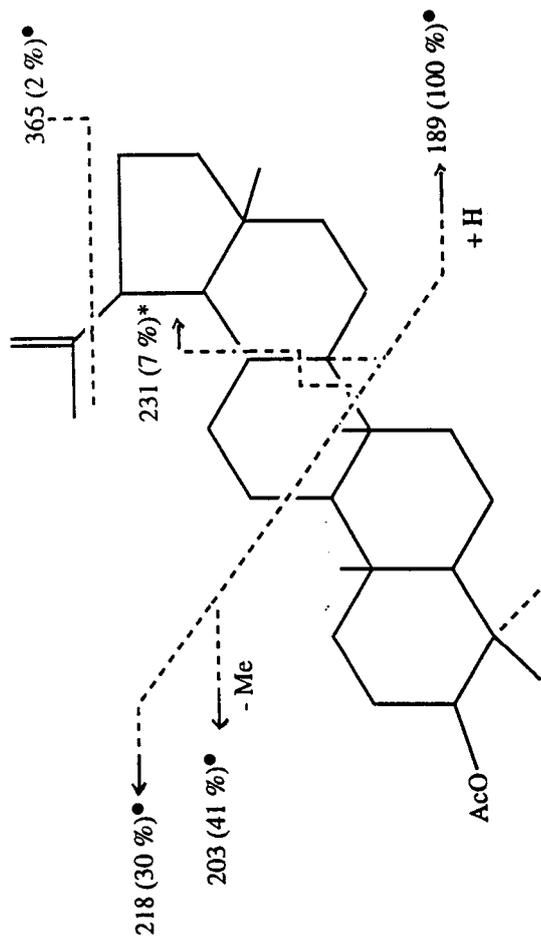


Figure 3-5 :  $\beta$ -amyryne

M : 468 (22 %)  
 M-Me : 453 (1 %)  
 M-AcOH : 408 (9 %)  
 M-Me-AcOH : 393 (7 %)



• avec perte de AcOH

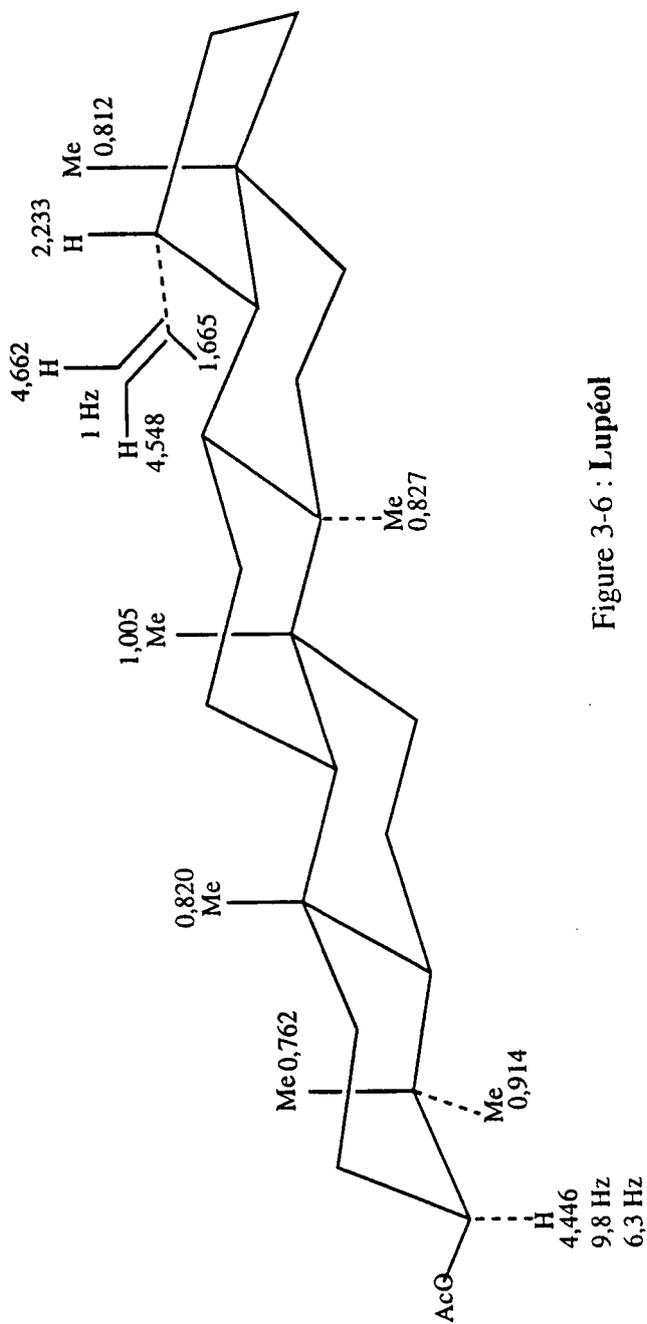
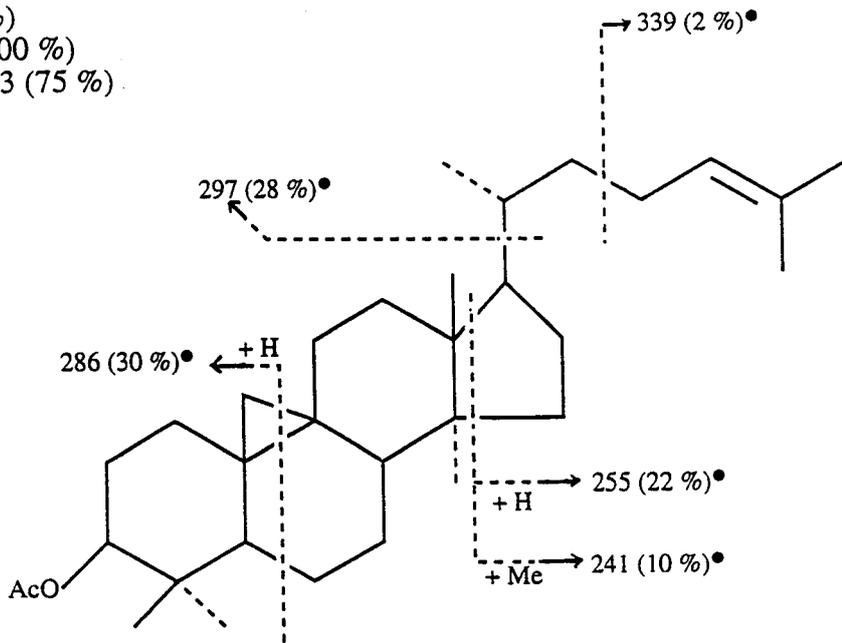


Figure 3-6 : Lupéol

M : 468 (20 %)  
 M-Me : 453 (13 %)  
 M-AcOH : 408 (100 %)  
 M-Me-AcOH : 393 (75 %)



• avec perte de AcOH

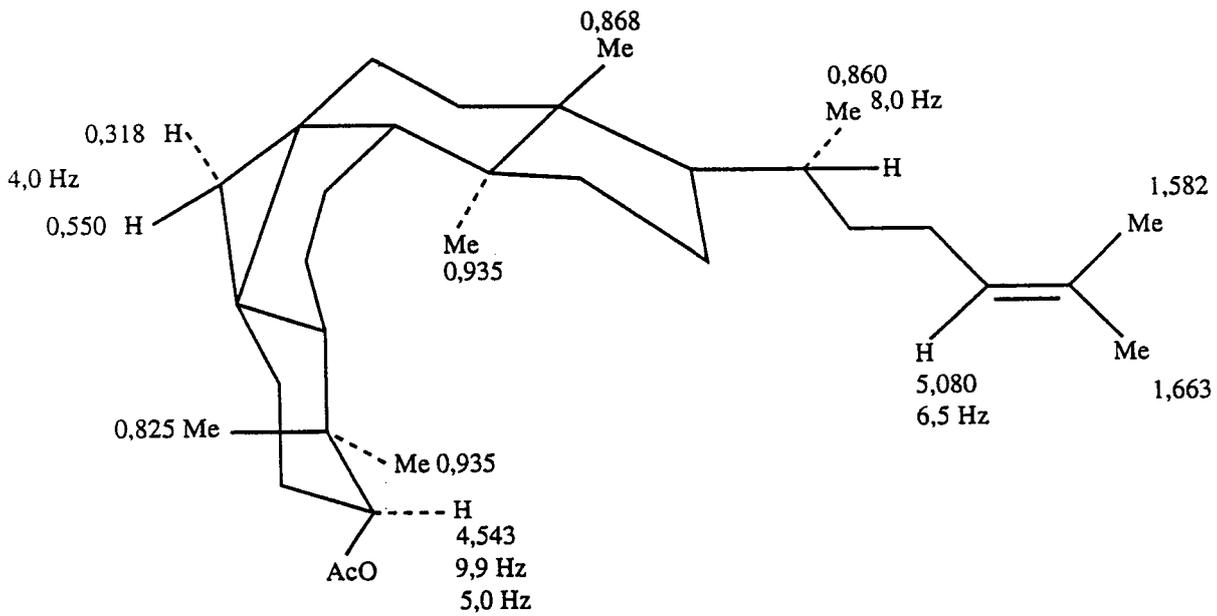
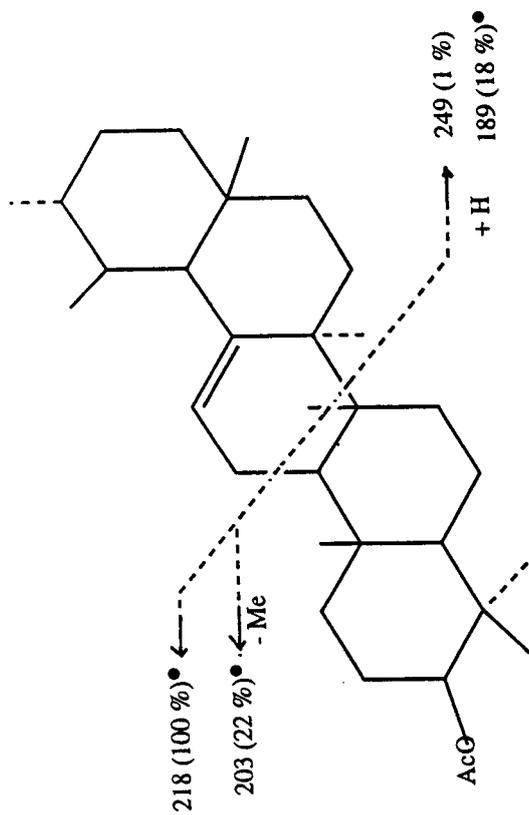


Figure 3-7 : Cycloarténol

M : 468 (4 %)  
 M-Me : 453 (1 %)  
 M-AcOH : 408 (1 %)  
 M-Me-AcOH : 393 (1 %)



• avec perte de AcOH

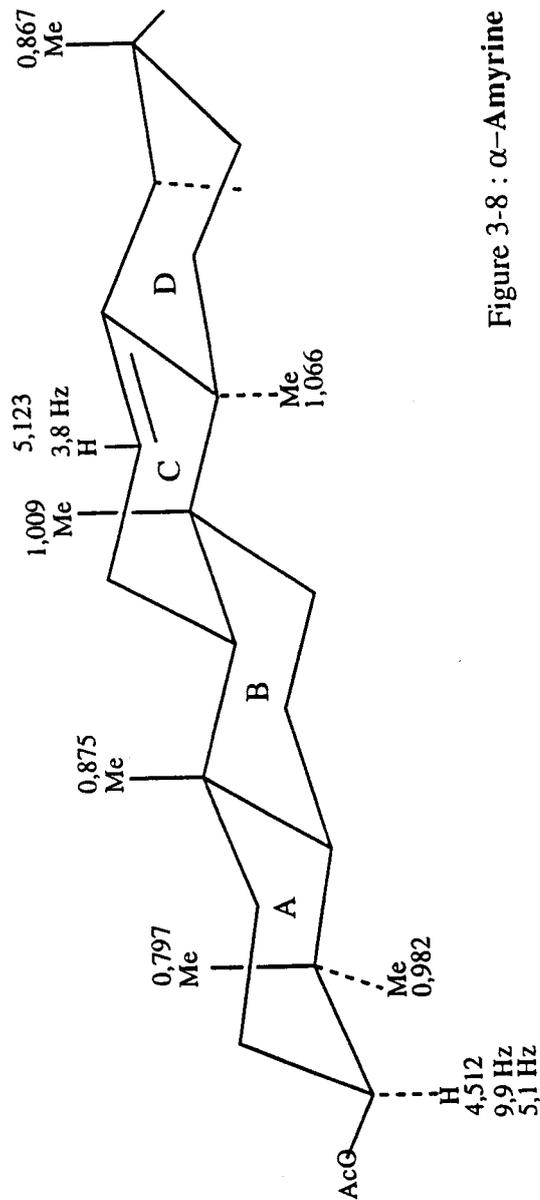
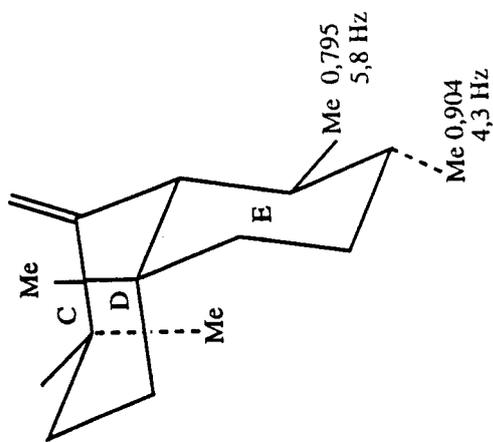
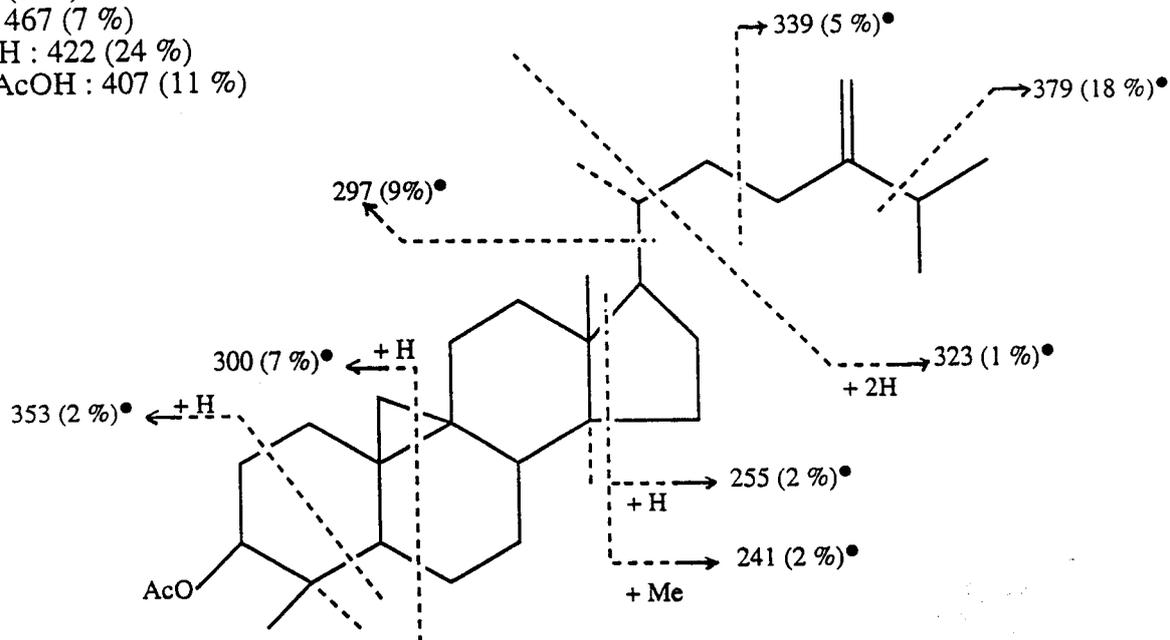


Figure 3-8 :  $\alpha$ -Amyryne

M : 482 (5 %)  
 M-Me : 467 (7 %)  
 M-AcOH : 422 (24 %)  
 M-Me-AcOH : 407 (11 %)



• avec perte de AcOH

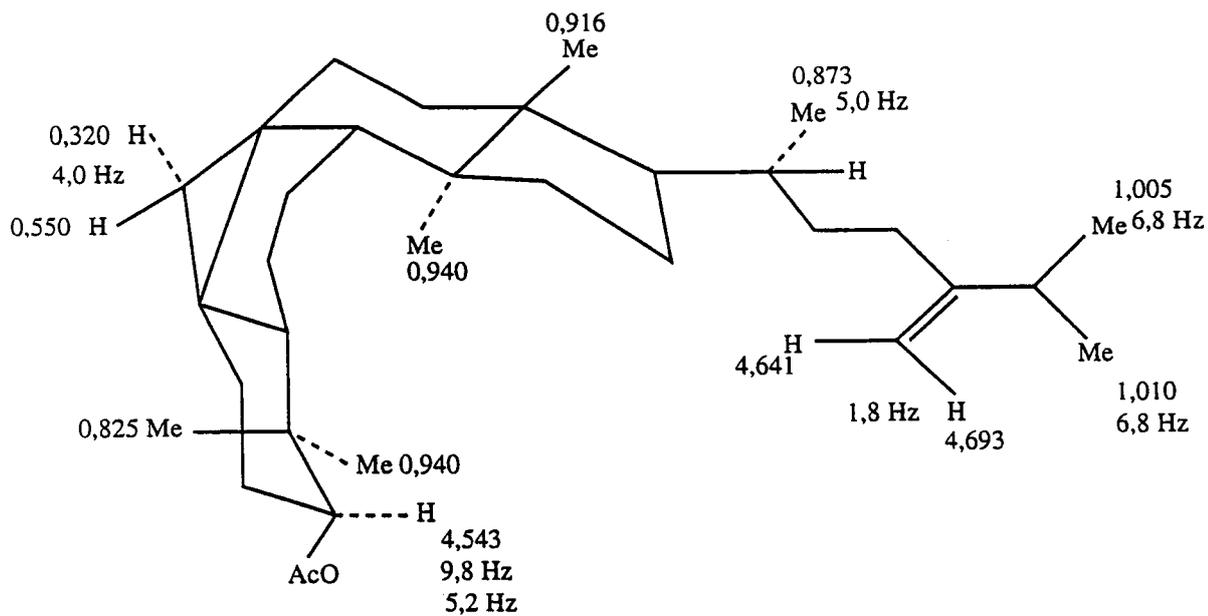
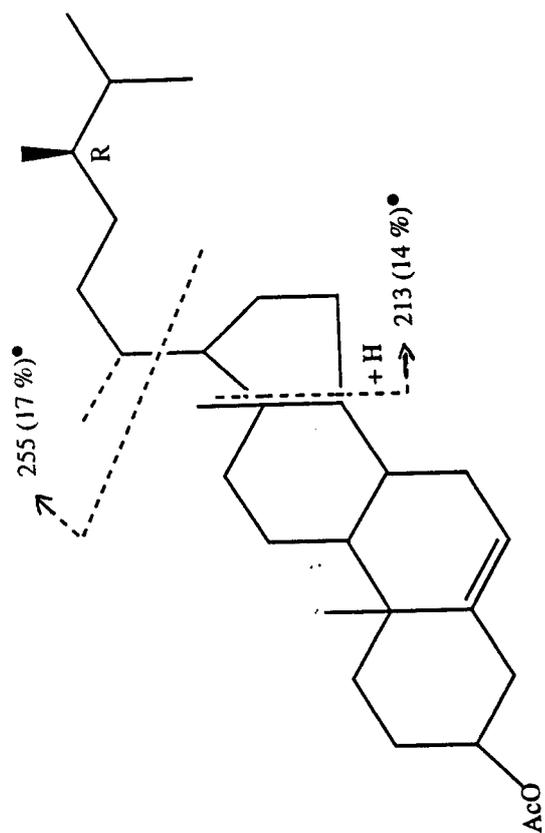


Figure 3-9 : 24-méthylèncycloartanol

M : 442 (-)  
 M-Me : 427 (4 %)  
 M-AcOH : 382 (100 %)  
 M-Me-AcOH : 367 (21 %)



• avec perte de AcOH

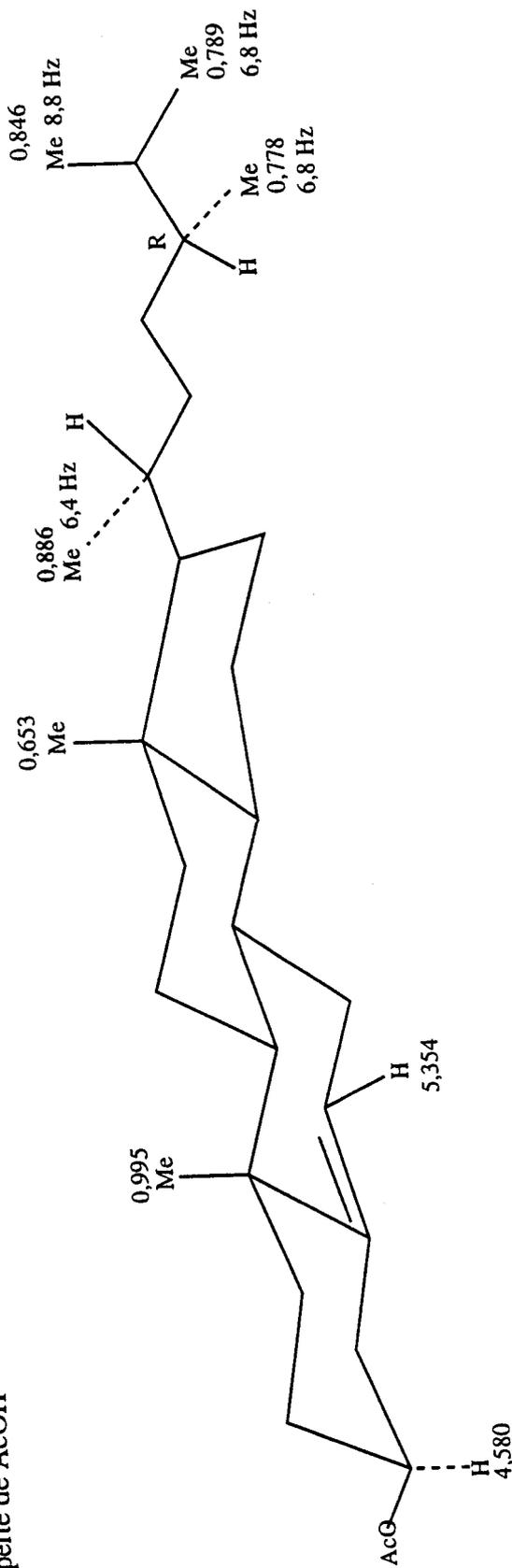
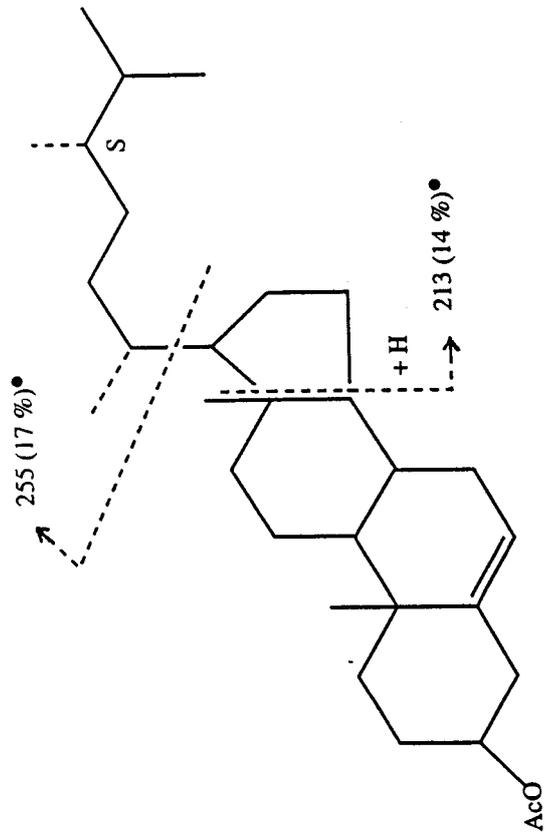


Figure 3-10 : Campesterol

M : 442 (-)  
 M-Me : 427 (4 %)  
 M-AcOH : 382 (100 %)  
 M-Me-AcOH : 367 (21 %)



• avec perte de AcOH

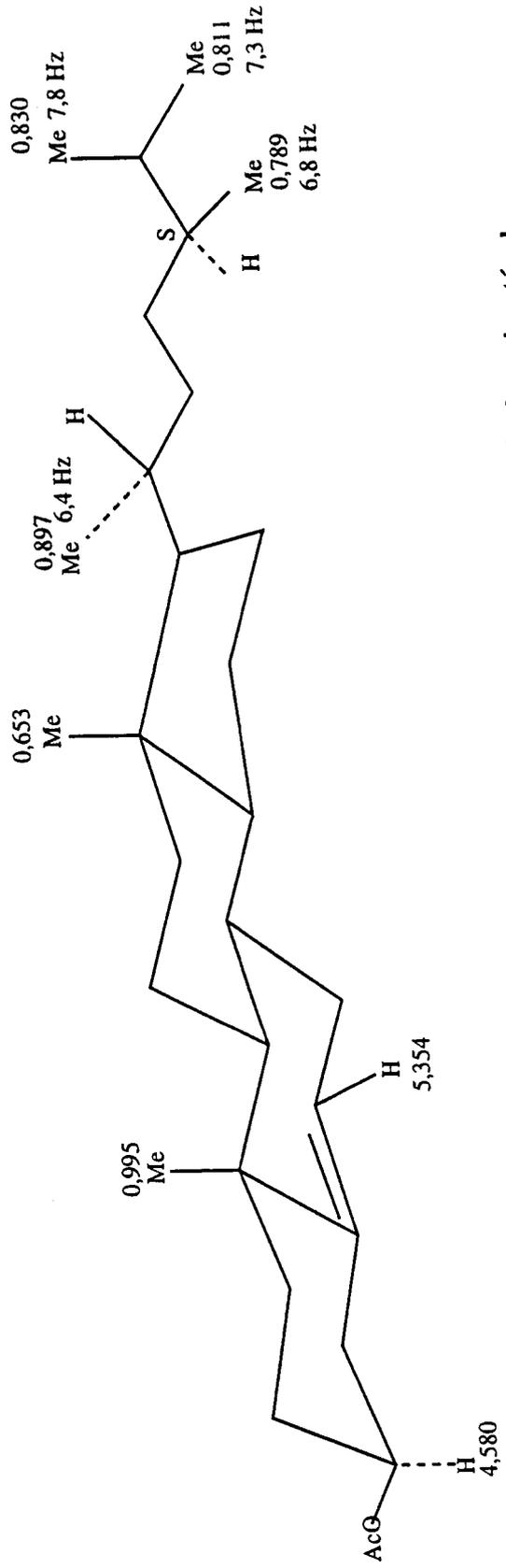
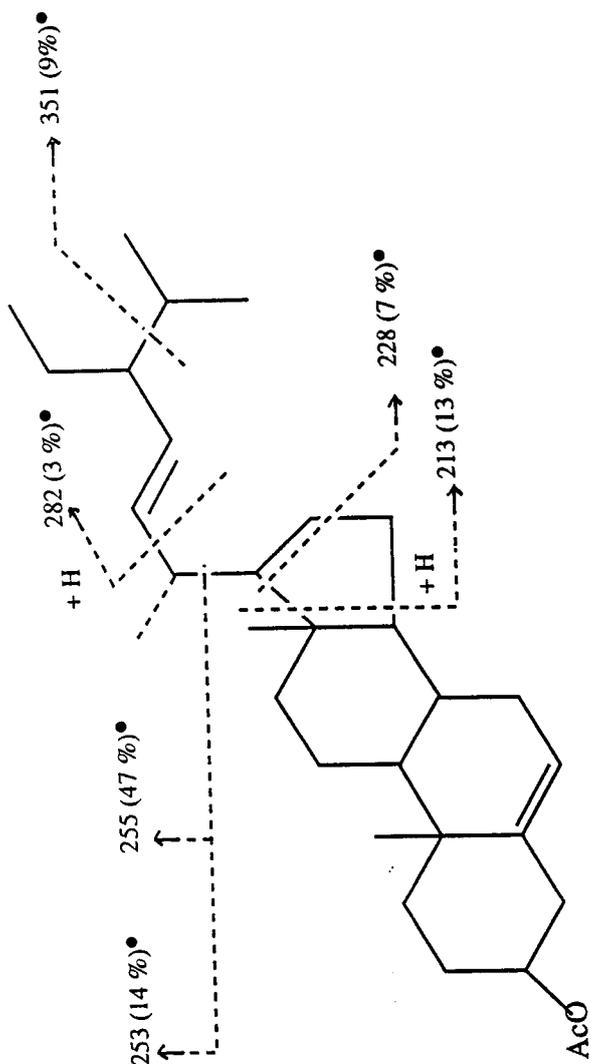


Figure 3-11 : 22-dihydrobrassicastérol



• avec perte de AcOH

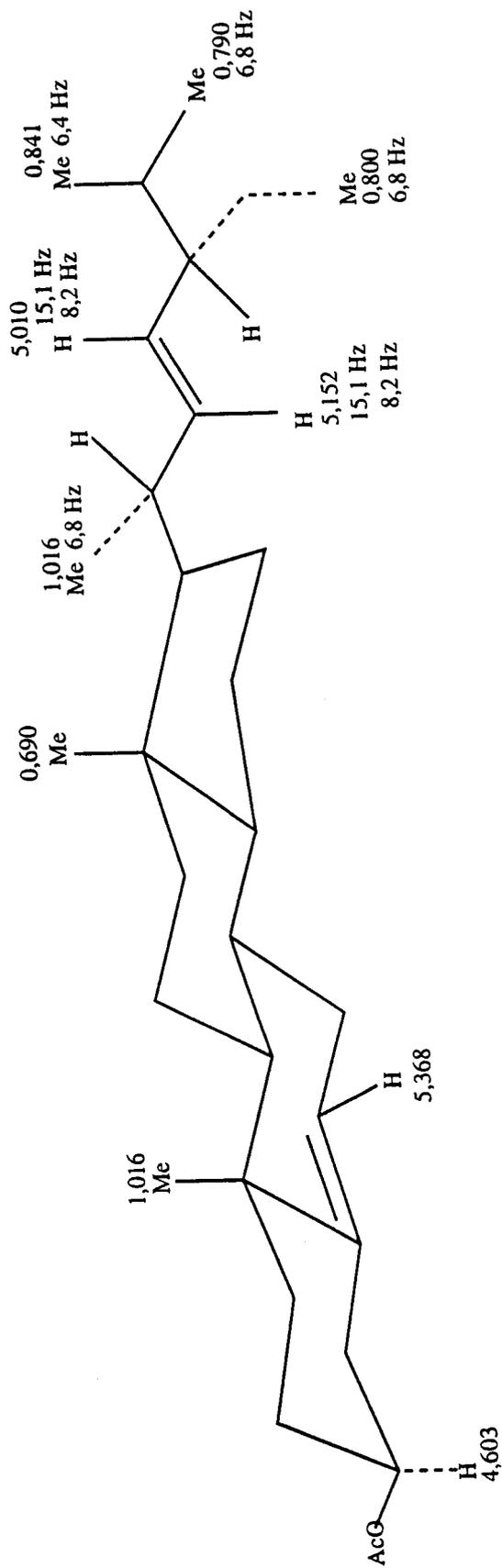
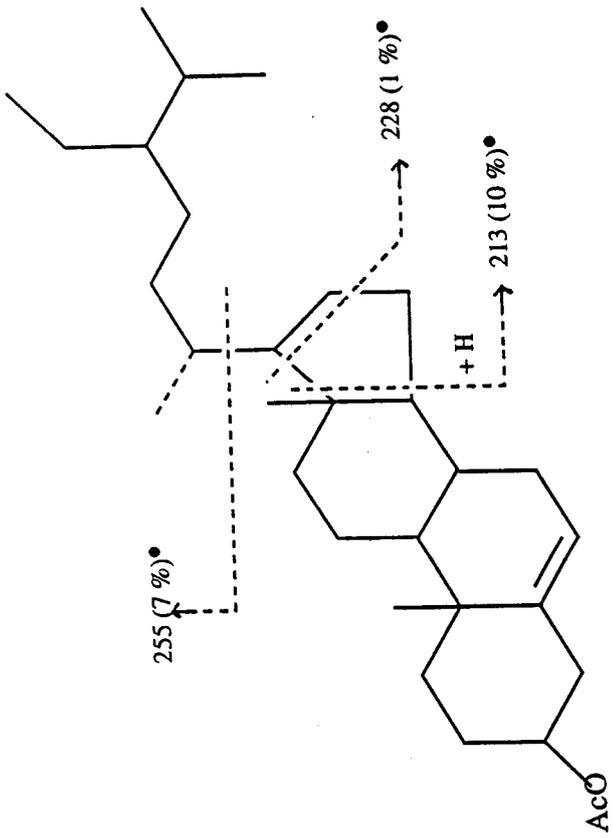


Figure 3-12 : Stigmastérol

- M : 456 (-)
- M-Me : 441 (7 %)
- M-AcOH : 396 (100 %)
- M-Me-AcOH : 381 (15 %)



• avec perte de AcOH

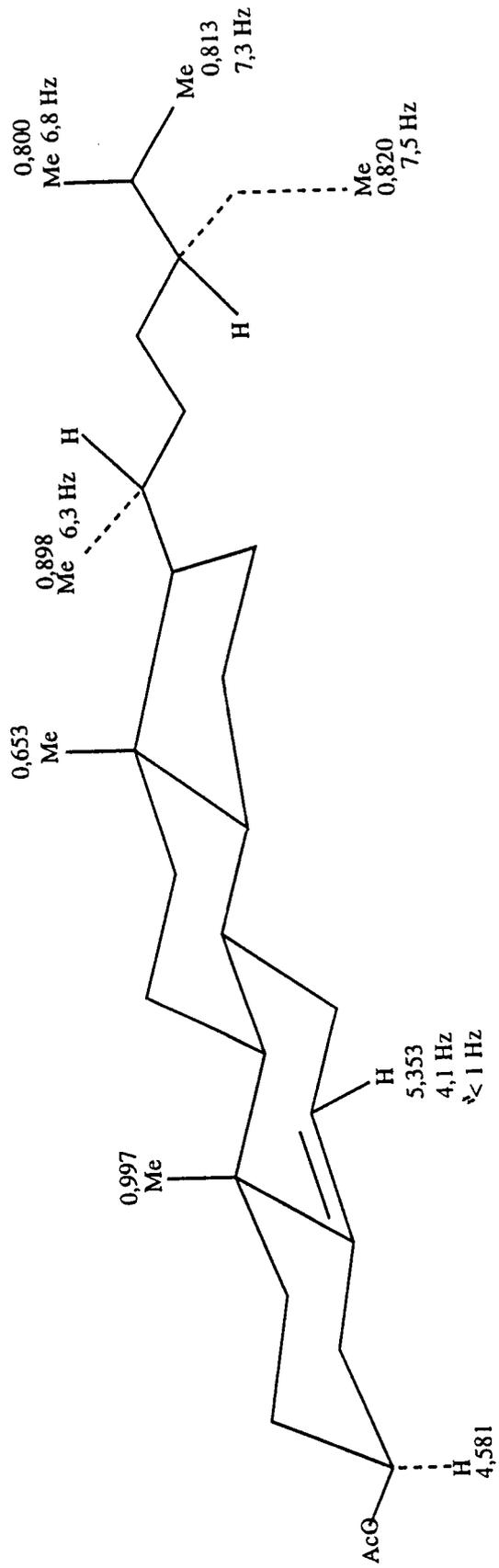


Figure 3-13 : Sitostérol

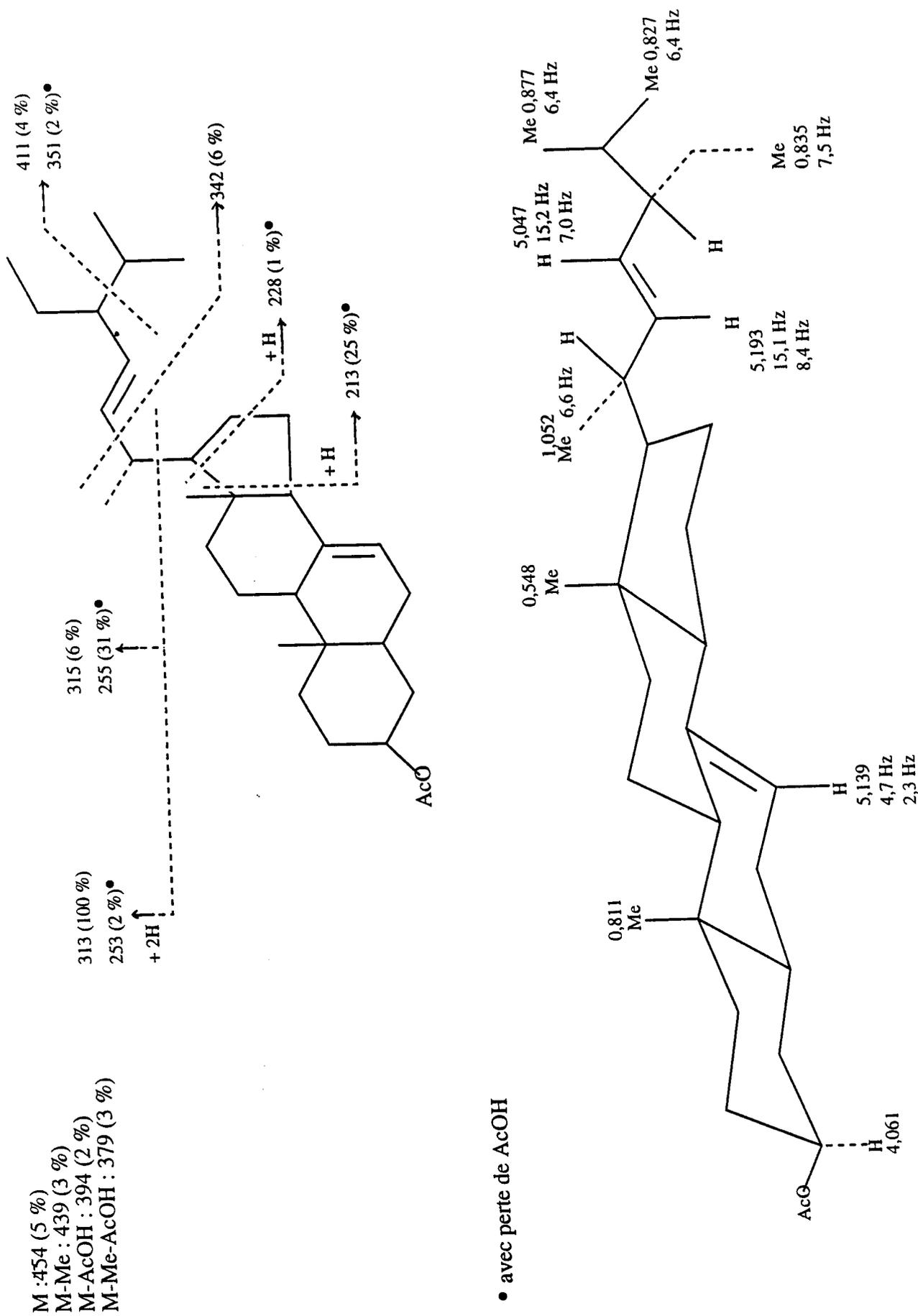
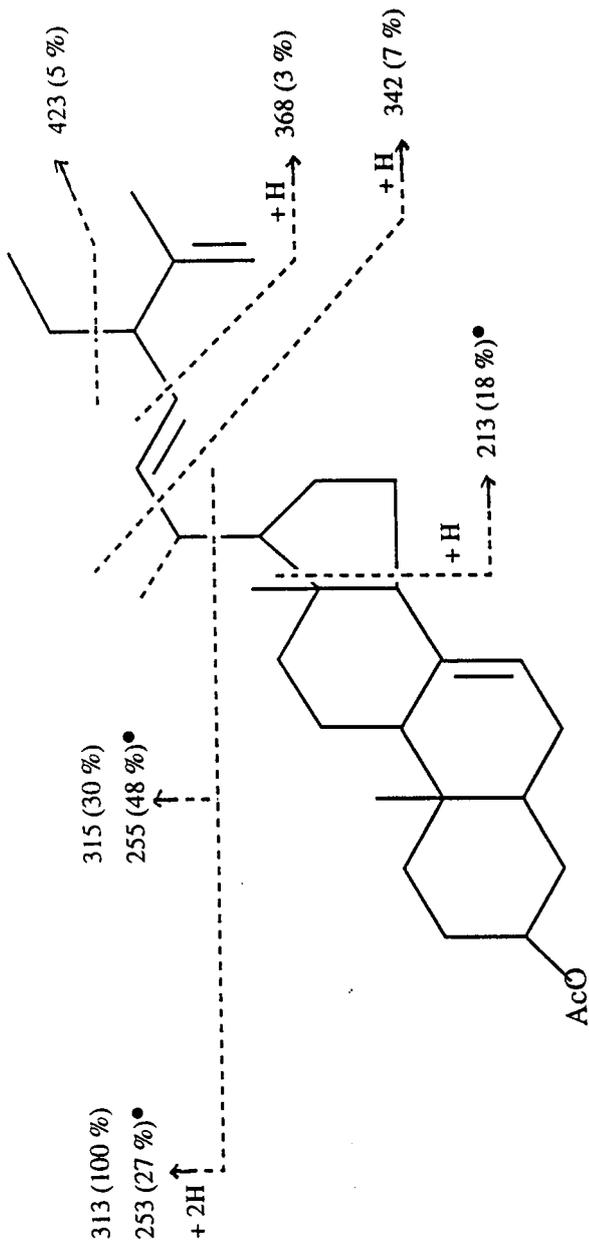


Figure 3-14 : Stigmasta-7,22-dién-3β-ol

M : 452 (7 %)  
 M-Me : 437 (3 %)



• avec perte de AcOH

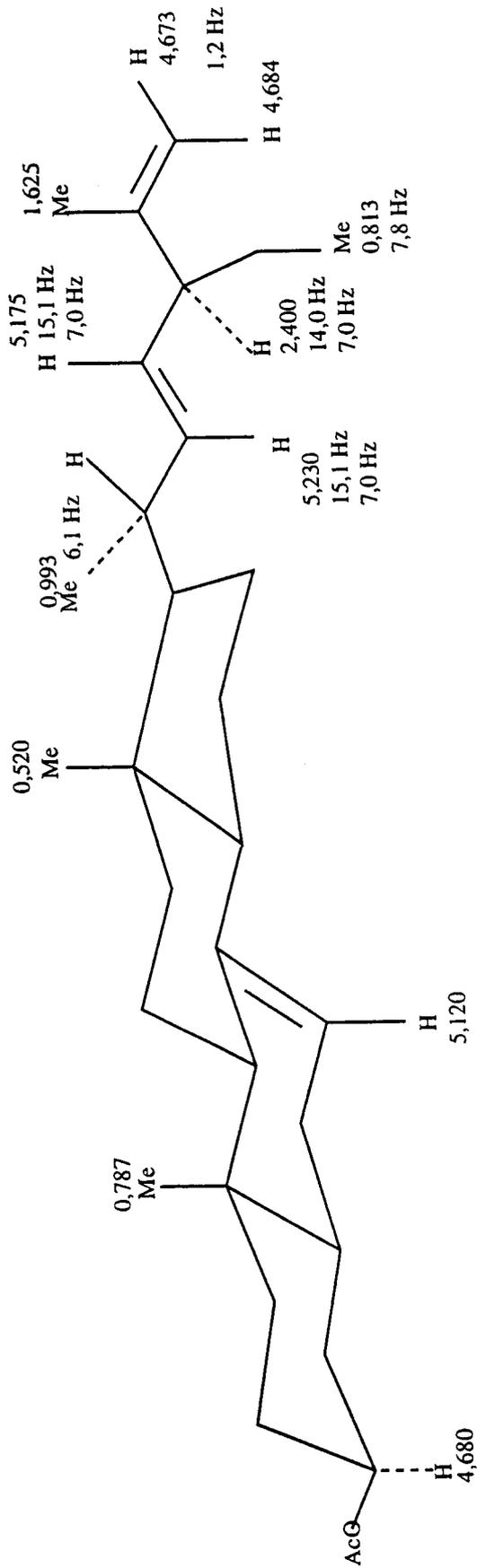
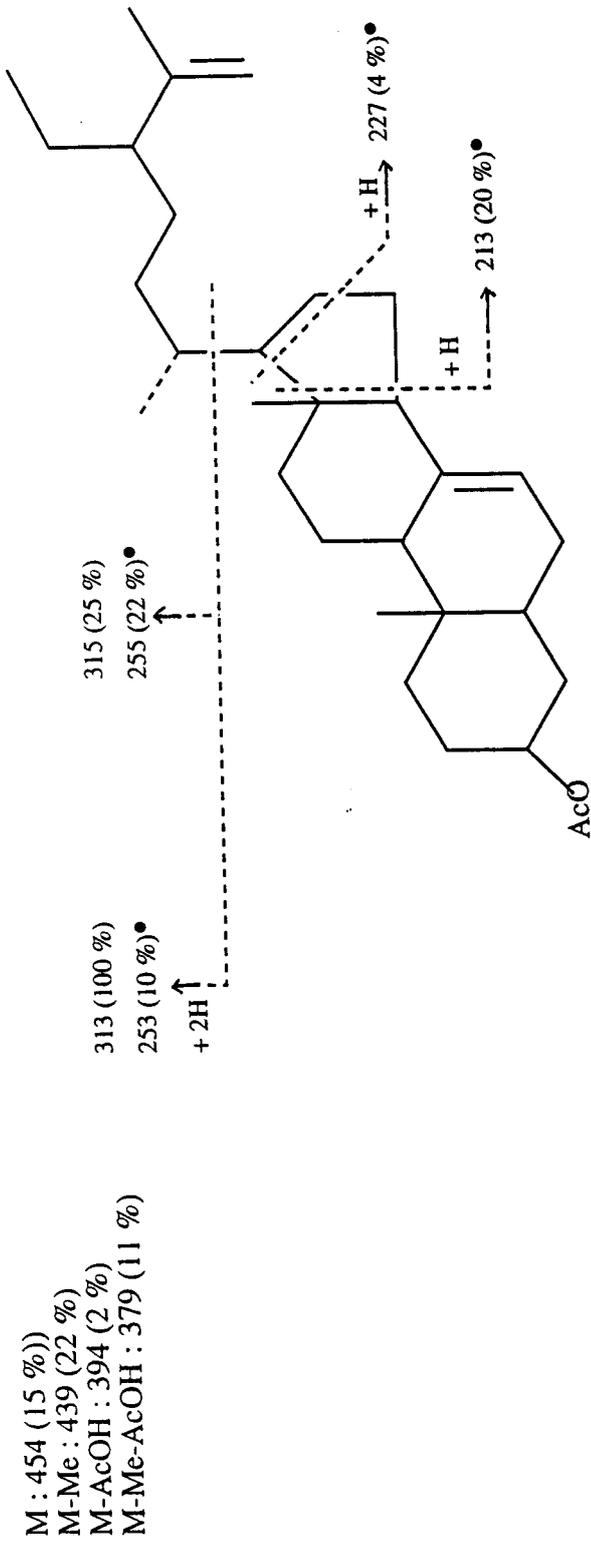


Figure 3-15 : Stigmasta-7,22,25-trien-3β-ol



• avec perte de AcOH

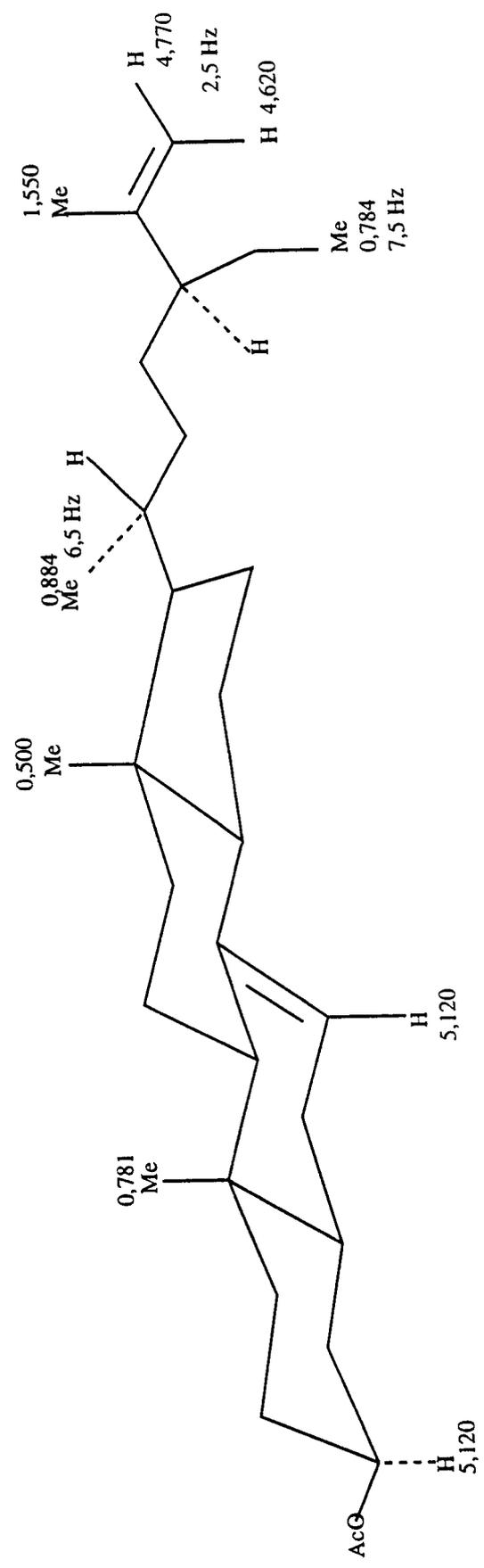


Figure 3-16 : Stigmasta-7,25-dien-3-ol

## 3 . 2 - Etude des genres *Lagenaria*, *Luffa* et *Momordica*

### 3. 2. 1. Le genre *Lagenaria*

#### 3 . 2. 1. 1. Description botanique

Originaire de l'Afrique pour certains ou de l'Asie pour d'autres, le genre *Lagenaria* a une distribution pantropicale [81]. Cette espèce aurait été domestiquée par l'homme vers l'an - 15 000 dans le Nouveau Monde et l'an - 12 000 dans l'Ancien Monde [81].

L'espèce la plus connue de ce genre, *Lagenaria siceraria* ou encore appelée *Lagenaria vulgaris*, est une des plus anciennes plantes de la Chine où elle se prête à de multiples usages ; ses graines bouillies dans l'eau salée sont des apéritifs appréciés dans les communautés rurales et ses fleurs servent d'antidotes aux morsures de serpents [5,82]. Au Nigeria, les Igbos utilisent le fruit et les graines pour tuer les poissons [83] ; l'huile extraite des graines est quant à elle utilisée sous forme d'huile d'assaisonnement, de mayonnaise, de friture... du fait de sa grande richesse en acide linoléique [84]. Au Soudan, les graines du fruit de *Lagenaria siceraria* fournissent une huile de couleur jaune pâle qui est utilisée également dans l'alimentation, alors que le tourteau riche en protéines sert d'alimentation au bétail [85].

Au sein de la famille des Cucurbitacées, une étude phylogénétique a montré que des liens étroits unissaient les genres *Lagenaria*, *Citrullus* et *Luffa*. De plus, l'hypothèse d'une évolution de *Citrullus vulgaris* à partir de *Lagenaria* ou l'inverse apparaît fort probable [86].

A l'île de la Réunion, le genre *Lagenaria* est représenté par une espèce, *Lagenaria leucaritha*, originaire de Chine et qui est cultivée sous la forme de trois variétés. Communément appelée la calebasse, les diverses variétés de cette espèce sont différenciées par la morphologie de leur fruit à laquelle se réfère leur nom vernaculaire. Semés à la Réunion du mois de septembre à mars, les fruits de *Lagenaria leucaritha* sont récoltés 4 à 5 mois plus tard.

La plante grimpante herbacée, monoïque et annuelle atteint une longueur de 8 à 10m. A chacun de ses noeuds s'insèrent une vrille et une large feuille palmée. A l'aisselle

des feuilles, de belles fleurs blanches apparaissent et après fécondation, elles se transforment en fruit caractéristique de la variété cultivée [87].

- ♦ Le fruit de la variété de calebasse la plus commune est appelé calebasse bouteille (Photographie 1) et comme son nom l'indique, celle-ci est renflée à sa base. Sa chair charnue contient en son centre des graines blanchâtres, ovales et plates qui font environ 9 mm de long [87]. Cette variété de calebasse a une morphologie qui se prête volontiers à la fabrication de récipients, d'instruments musicaux comme le sitar en Inde... En effet, le péricarpe de ce fruit est ligneux, mince et une fois évidé il devient un réceptacle imperméable que l'on peut décorer à son gré.
- ♦ La calebasse la gale (Photographie 2) présente un fruit de forme allongée presque cylindrique ayant un aspect rugueux dû à la présence de petites pustules à sa surface. Les graines noires, ovales et plates sont concentrées dans la partie médiane du fruit.

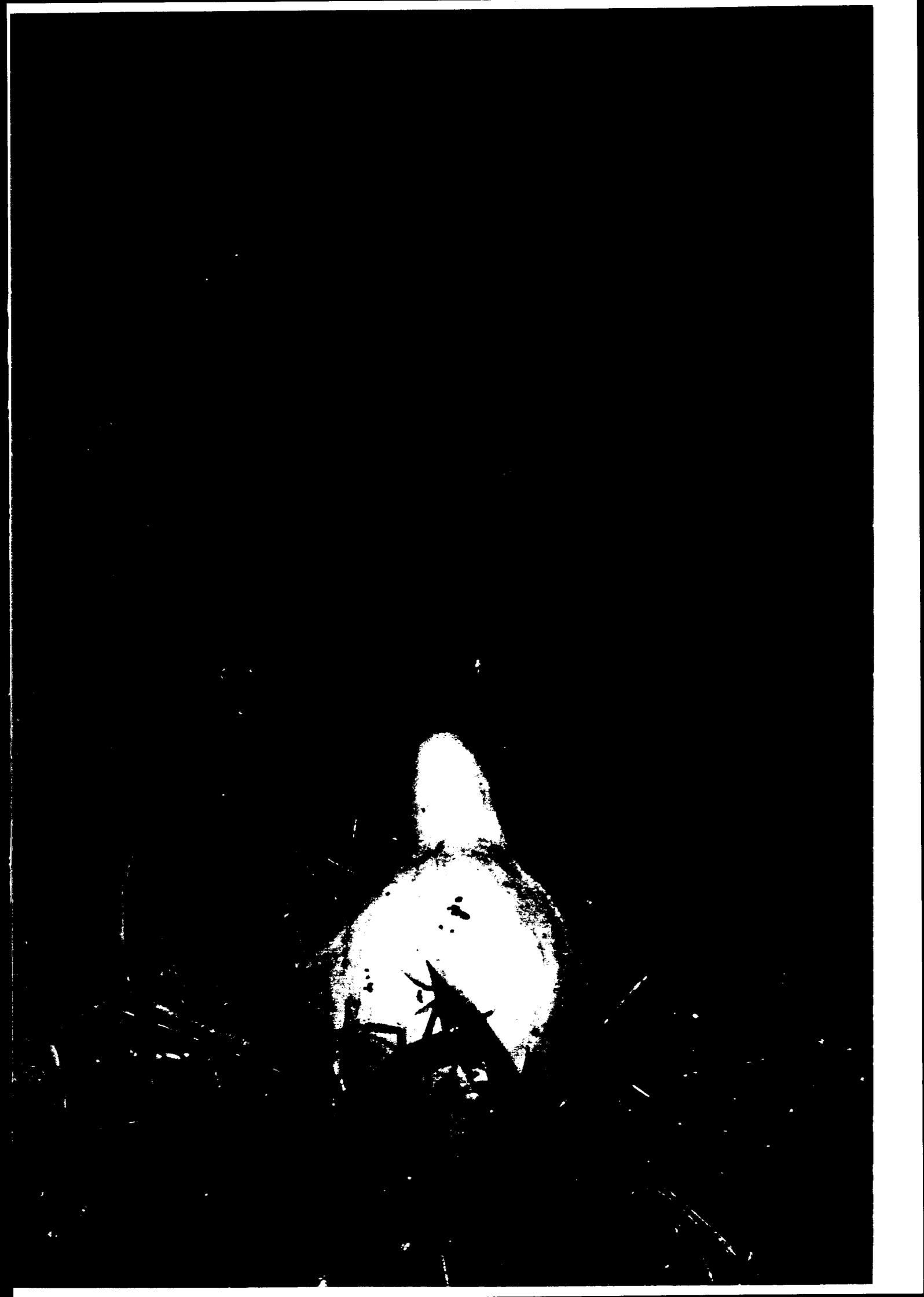
### 3. 2. 1. 2. Composition chimique

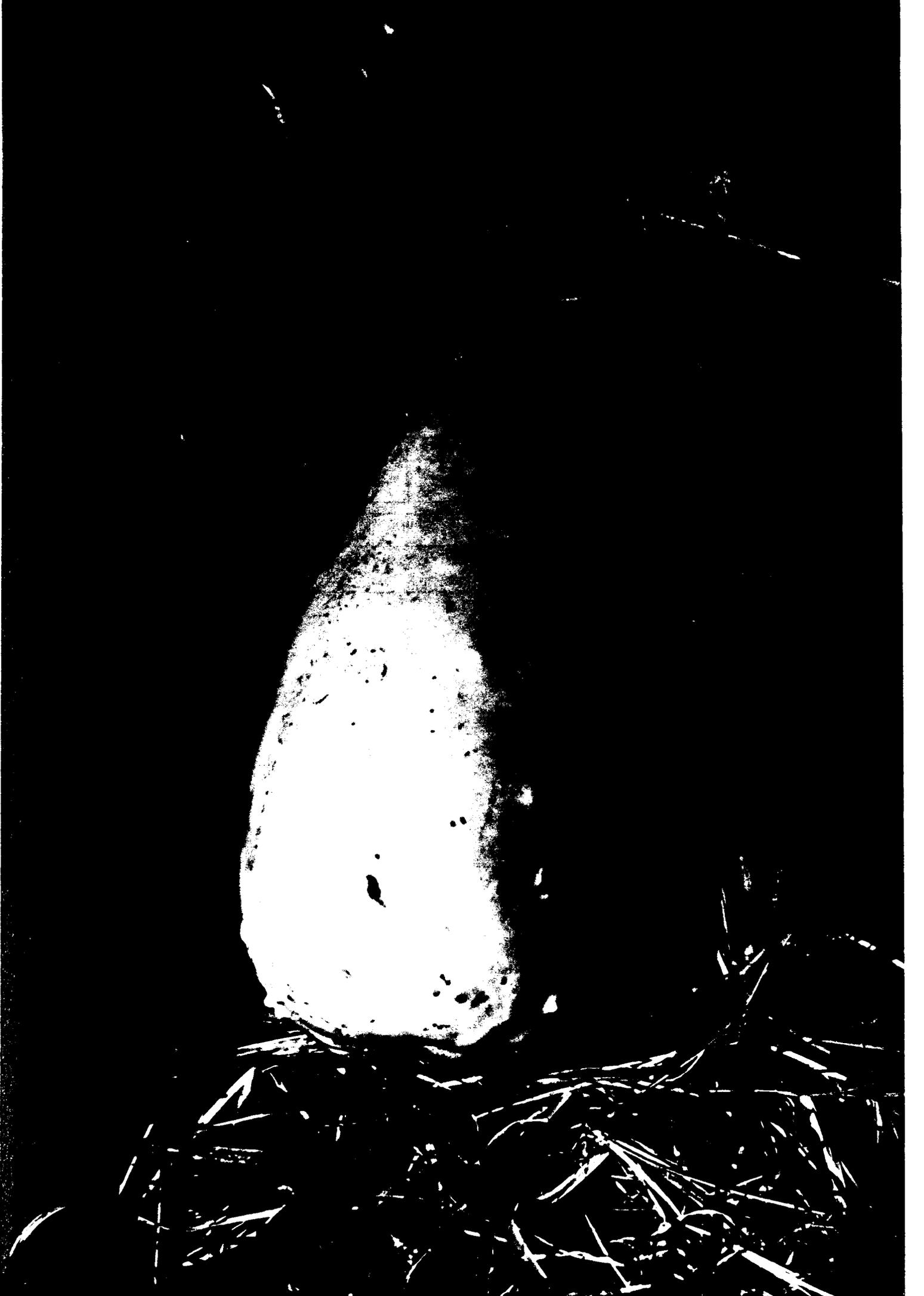
#### 3. 2. 1. 2. 1. Fraction saponifiable

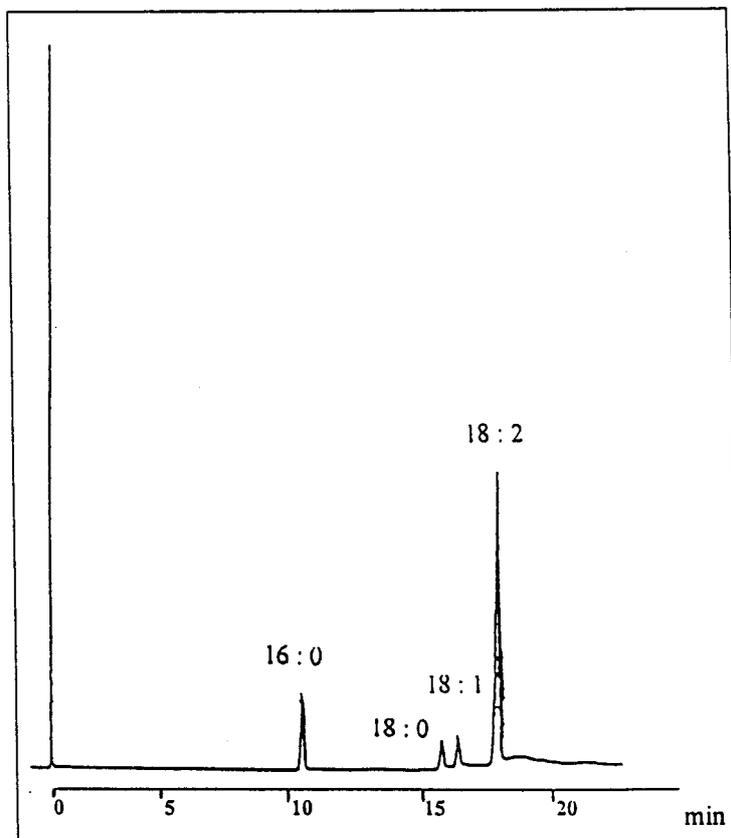
##### 3. 2. 1. 2. 1. 1. Les Acides Gras

Par C.P.G., nous obtenons la composition des acides gras des huiles de calebasse bouteille et de calebasse la gale. Les acides gras sont analysés sous forme d'esters méthyliques. A chaque E.M.A.G. correspond un temps de rétention qui est fonction de la longueur de la chaîne carbonée, du nombre, de la localisation et de la configuration des doubles liaisons [16,17]. L'identification des E.M.A.G. se fait par la comparaison de leur temps de rétention avec ceux des produits étalons commerciaux.

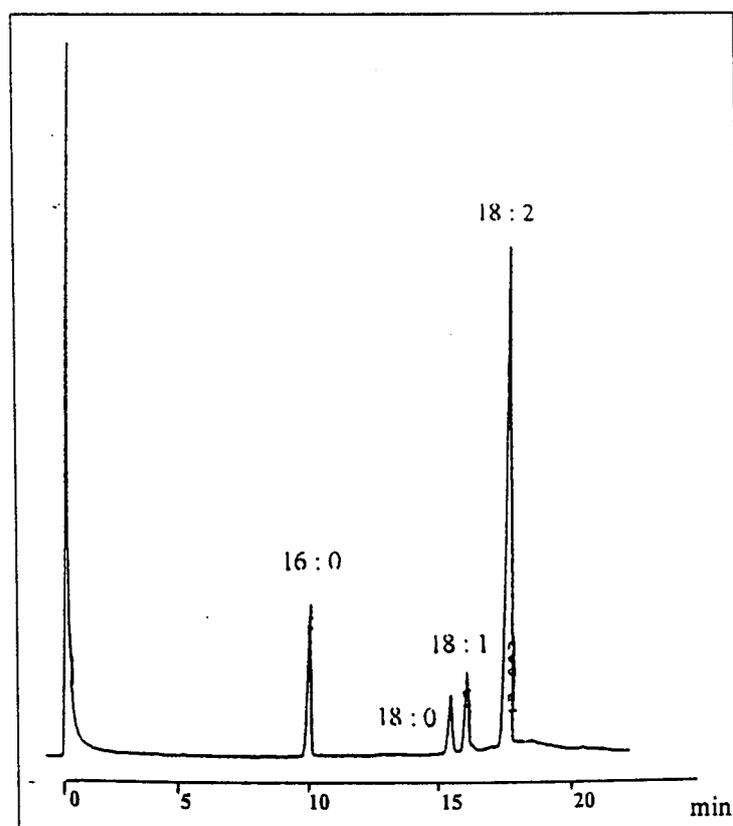
Les chromatogrammes obtenus sont présentés à la figure 3-17 et les résultats quantitatifs sont reportés dans le tableau III-5.







*Lagenaria leucaritha* variété bouteille



*Lagenaria leucaritha* variété la gale

Figure 3-17: Les acides gras des huiles de graines du genre *Lagenaria*.  
(Annexe 4, C.P.G. 1)

Tableau III-5

Composition en acides gras des huiles de graines du genre *Lagenaria*  
(Valeurs exprimées en % molaires)

Acides gras		<i>Lagenaria leucaritha</i>	
		variété bouteille	variété la gale
Acide palmitique	C16 : 0	14,0	11,7
Acide stéarique	C18 : 0	6,9	3,0
Acide oléique	C18 : 1 (n-9)	7,6	3,8
Acide linoléique	C18 : 2 (n-6)	71,5	81,5

Les huiles des variétés bouteille et la gale ont une composition proche tant qualitativement que quantitativement. Elles contiennent des acides gras habituellement rencontrés dans les huiles végétales tels que les acides palmitique, stéarique, oléique et linoléique. Celui-ci est, par ailleurs, l'acide gras majoritaire de ces huiles. Les extraits lipidiques des variétés bouteille et la gale se caractérisent par leur richesse en acides gras saturés et insaturés ; elles sont du type palmitique-linoléique car ces acides représentent plus de 80 % des acides totaux.

Les huiles de calebasse sont douées de propriétés nutritionnelles et diététiques en raison de leur forte teneur en acide linoléique. L'acide linoléique appartient à l'une des deux familles d'acides gras polyinsaturés qui sont essentiels pour l'homme. Cet acide gras indispensable, non synthétisé par l'organisme humain, doit lui être apporté par l'alimentation[12]. Ainsi, une carence en cet acide gras entraîne chez l'homme des symptômes tels que des lésions eczémateuses, un impétigo\* rebelle, une sécheresse et un aspect squameux\* de la peau, une rudesse et la rareté des cheveux... [12].

Les huiles des variétés bouteille et la gale avec des teneurs respectives de 70,5 et 81,6 % en acide linoléique peuvent être comparées avantageusement aux huiles de tournesol (67,0%), de soja (55,7%), et de maïs (58,2%) [8]. Une teneur de plus de 60 % en acide linoléique définit ces huiles comme siccatives [88].

Tableau III-6

Comparaison de la composition en acides gras des huiles de graines du genre *Lagenaria*  
(valeurs exprimées en % molaires)

Acides gras	<i>Lagenaria</i> sp.		<i>Lagenaria breviflora</i>		<i>Lagenaria siceraria</i>				<i>Lagenaria leucaritha</i>	
	Argentine [90]		Nigéria [91]		Inde [92]	Soudan [85]	Nigéria [84]	Congo [11]	var. B <sup>1</sup> La Réunion	var. G <sup>2</sup>
Acide myristique C 14 : 0	0,1		-		-	-	-	-	-	-
Acide palmitique C 16 : 0	13,2		9,8 - 11,1		42,4	6,7	13,0	11	14,0	11,7
Acide palmitoléique C 16 : 1	-		-		0,8	-	-	-	-	-
Acide margarique C 17 : 0	-		-		-	-	-	0,3	-	-
Acide stéarique C 18 : 0	4,3		2,3 - 2,7		6,7	13,0	5,0	6	6,9	3,0
Acide oléique C 18 : 1 (n-9)	6,0		22,9 - 27,0		9,7	38,2	7,1	10,2	7,6	3,8
Acide linoléique C 18 : 2 (n-6)	73,7		61,7 - 63,0		40,4	42,1	73,4	72,5	71,5	81,5
acides octadécatrién- oïques conjugués C 18 : 3 conj.	0,1		-		-	-	-	-	-	-
Acide arachidique C 20 : 0	0,2		-		-	-	-	-	-	-
Acide béhénique C 22 : 0	0,01		-		-	-	-	-	-	-
Acide érucique ou brassicidique (non précisé) C 22 : 1	0,9		-		-	-	-	-	-	-
Autres	1,49		-		-	-	1,5	-	-	-

<sup>1</sup> var. B : variété bouteille, <sup>2</sup> var. G : variété "la gale"

Néanmoins, cette quantité substantielle d'acide linoléique nuit à la qualité nutritionnelle de l'huile. Elle est alors susceptible de s'oxyder et de former des produits qui contribuent à l'athérosclérose\* et à la carcinogénèse\* comme le confirment des études menées sur des animaux [89]. Par adjonction d'acide oléique, acide gras engendrant une grande stabilité oxydative, les huiles de ce type voient leurs qualités nutritionnelles s'améliorer ; l'exemple de l'huile extraite de *Citrullus colocynthis* en est une illustration [89].

La comparaison des compositions en acides gras des huiles de *Lagenaria leucaritha* à celles des huiles extraites des graines du même genre *Lagenaria* provenant de diverses origines géographiques a permis de mettre en évidence quelques caractéristiques ( tableau III-6).

Ainsi, la variété bouteille a une composition en acides gras qualitative et quantitative similaire à celle de l'espèce *Lagenaria siceraria* du Nigéria. En revanche, la composition en acides gras de la variété la gale est comparable à celle de l'espèce *Lagenaria sp.* cultivée en Argentine. L'espèce d'Argentine contient, de plus, des faibles teneurs d'acides myristique, arachidique et béhénique ainsi que des isomères d'acides octadécatriénoïques conjugués non identifiés. La variété la gale provenant de la Réunion se distingue des autres huiles par sa très forte teneur en acide linoléique (81,5 %) tandis que les huiles extraites des graines de *Lagenaria breviflora* (Nigéria) et *Lagenaria siceraria* (Soudan) se particularisent par une teneur en acide oléique supérieure à 20 %. Exceptionnellement, une faible quantité d'acide margarique est présente dans l'huile extraite des graines de l'espèce *Lagenaria siceraria* du Congo tandis que l'acide palmitoléique est identifié dans l'huile de *Lagenaria siceraria* de l'Inde. Par ailleurs, cette dernière espèce se singularise par une composition en acides gras dominée quantitativement par l'acide palmitique (42,4 %).

En général, les huiles extraites des graines du genre *Lagenaria* ont une composition en acides gras homogène. Les différences observées seraient caractéristiques des espèces et de leurs lieux de culture.

### 3. 2. 1. 2. 1. 2. Les triacylglycérols

- *Détermination de la composition en acides gras des T.A.G. :*

L'éluion de l'huile sur colonne ouverte de silice permet l'isolement des T.A.G. [14]. Les acides gras des T.A.G. sont estérifiés en milieu basique par le méthylate de sodium [15] et les E.M.A.G. obtenus sont analysés par C.P.G.. Cette technique chromatographique fournit les compositions en acides gras des T.A.G. de Calebasse bouteille et de Calebasse la gale qui sont reportées dans le tableau III-7.

Tableau III-7

Composition en acides gras des T.A.G. des huiles de graines du genre *Lagenaria*  
(Valeurs exprimées en % molaires)

Acides gras	<i>Lagenaria leucaritha</i>			
	variété bouteille		variété la gale	
	T.A.G.	huile	T.A.G.	huile
Acide palmitique	15,2	14,3	17,2	11,7
Acide stéarique	5,9	6,2	3,8	3,0
Acide oléique	6,6	7,8	4,7	3,8
Acide linoléique	72,3	71,7	74,3	81,5

La composition qualitative et quantitative en acides gras des T.A.G. est similaire à celle des acides gras totaux de l'huile puisque les variations des différents A.G. sont de l'ordre de 1%. Néanmoins, la variété la gale présente quelques exceptions. Des variations de 7,2 % et de 5,5 % sont respectivement rapportées pour les acides linoléique et palmitique.

- *Détermination de la répartition des acides gras en sn-2 et sn-1,3 par dégradation chimique ménagée des T.A.G. :*

Les T.A.G. sont dégradés selon les méthodes décrites par Muderhwa et coll. [93] et Takagi et coll. [94]. Ils subissent une dégradation ménagée sous l'action du bromure d'éthylmagnésium qui est un réactif sans spécificité de chaîne ni régiosélectivité c'est-à-dire que les A.G. estérifiant le glycérol sont libérés quelles que soient leur nature et leur position sur la molécule de glycérol [93].

Une analyse refléterait fidèlement la distribution des différents A.G. sur le glycérol si elle reposait sur la préparation de mélanges représentatifs de D.A.G. obtenus par une dégradation véritablement aléatoire de T.A.G. [24]. Le réactif de Grignard convient à ce type d'analyse bien que des migrations de groupes acyles soient observées [95,96]. Par ailleurs, son utilisation est déconseillée dans le cas de corps gras comportant des fonctions époxyde, hydroxyde...qui seraient susceptibles de réagir avec le réactif [25].

Les T.A.G isolés sur colonne de silice sont dégradés durant une minute par une solution de bromure d'éthylmagnésium 3M dans de l'éther anhydre. Les divers produits de la réaction à savoir les M.A.G., les 1,2- et 2,3-D.A.G., les 1,3-D.A.G., les A.G.L. et les T.A.G. résiduels sont séparés par C.C.M.. Le solvant d'élution est un mélange hexane/éther (50 : 50, v/v). Les bandes correspondant aux 1,2- et 2,3-D.A.G. sont grattées et désorbées par 30 mL d'un mélange  $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$  (90 : 10, v/v). Après filtration et évaporation, les produits sont transformés par méthanolyse basique en leurs esters méthyliques puis analysés en C.P.G.. Par des calculs appropriés faisant intervenir la composition en A.G. du mélange 1,2- et 2,3-D.A.G., on détermine la composition en acides gras de la position *sn*-2 et des positions *sn*-1 et *sn*-3 [93].

En position interne, la concentration d'un acide gras A est :

$$A_i = 4 \cdot A_{D.A.G.} - 3 \cdot A_T$$

En position externes, la concentration d'un acide gras A est :

$$A_e = 3 \cdot A_T - 2 \cdot A_{D.A.G.}$$

Il en ressort que la concentration de l'acide gras A dans le mélange 1,2- et 2,3-D.A.G. est :

$$A_{D.A.G.} = (A_e + A_i) / 2$$

où :

$A_i$  et  $A_e$  représentent la concentration de l'acide gras A respectivement en positions interne et externes

$A_{D.A.G.}$  est la concentration de l'acide A dans le mélange de 1,2- et 2,3-D.A.G.

$A_T$  représente la concentration de l'acide gras A dans le mélange d'acides gras totaux.

Les résultats reportés dans les tableaux III-8 et III-9 constituent des moyennes de trois dégradations chimiques ménagées fournissant des résultats cohérents, suivies chacune de deux analyses par C.P.G.

Les valeurs numériques qui seront citées dans la suite du texte correspondent, sauf précision contraire, aux proportions centésimales pour un A.G. considéré par rapport aux positions interne et externes.

Tableau III-8

Répartition interne/externe des acides gras de l'huile de graines de *Lagenaria leucaritha* variété bouteille obtenue par dégradation chimique ménagée

Acides gras	T.A.G. totaux	Position 2		Positions 1+3	
		(a)	(b)	(a)	(b)
Acide palmitique	15,2	0,1	1	15,1	99
Acide stéarique	5,9	1,5	25	4,4	75
Acide oléique	6,6	1,7	26	4,9	74
Acide linoléique	72,3	30,0	42	42,3	58

(a) : pourcentage molaire de chaque A.G. par rapport aux A.G. totaux en  $sn-2$  et  $sn-1,3$ .

(b) : proportion centésimale de chaque A.G. entre les positions interne et externes.

L'acide palmitique estérifie préférentiellement les positions externes puisque 99 % de cet acide gras est présent en position  $sn-1,3$ . Les acides stéarique et oléique sont distribués de façon similaire. Ils occupent principalement les positions externes avec plus de 70 % de leur teneur totale. L'acide linoléique se répartit de manière presque équitable entre les positions interne et externes. Il se retrouve en effet à 42 % en position  $sn-2$  et à 58 % en positions  $sn-1,3$ .

Tableau III-9

Répartition interne/externe des acides gras de l'huile de graines de *Lagenaria leucaritha* variété la gale obtenue par dégradation chimique ménagée.

Acides gras	T.A.G. totaux	Position 2		Positions 1+3	
		(a)	(b)	(a)	(b)
Acide palmitique	17,2	2,7	16	14,5	84
Acide stéarique	3,8	0,9	24	2,9	76
Acide oléique	4,7	0,8	17	3,9	83
Acide linoléique	74,3	28,9	39	45,4	61

(a) : pourcentage molaire de chaque A.G. par rapport aux A.G. totaux en *sn*-2 et *sn*-1,3.

(b) : proportion centésimale de chaque A.G. entre les positions interne et externes.

Avec 84 % de sa concentration totale située en positions externes, l'acide palmitique est l'acide gras présentant le plus d'affinité avec les positions *sn*-1,3. Comme pour la variété bouteille, les acides stéarique et oléique se répartissent préférentiellement sur les positions externes. L'acide linoléique, quant à lui, est à 61 % en positions externes.

Dans le tableau III-10 est mentionnée la composition centésimale des A.G. présents sur la position interne et les positions externes pour les deux huiles étudiées.

Tableau III-10

Composition centésimale des A.G. présents sur les positions *sn*-2 et *sn*-1,3 pour les huiles du genre *Lagenaria*

Acides gras	<i>Lagenaria leucaritha</i> var. bouteille			<i>Lagenaria leucaritha</i> var. la gale		
	T.A.G. totaux	[ <i>sn</i> -2] %	[ <i>sn</i> -1,3] %	T.A.G. totaux	[ <i>sn</i> -2] %	[ <i>sn</i> -1,3] %
Acide palmitique	15,2	0,3	22,6	17,2	8,1	21,7
Acide stéarique	5,9	4,5	6,6	3,8	2,7	4,3
Acide oléique	6,6	5,1	7,3	4,7	2,4	5,8
Acide linoléique	72,3	90,1	63,4	74,3	86,8	68,1

Les résultats obtenus sont en accords avec les règles générales qui décrivent la distribution des A.G. sur le glycérol au sein des T.A.G. des corps gras végétaux naturels

[97,98]. Nous remarquons que les positions externes de la molécule de glycérol sont estérifiées par les A.G. saturés. Les acides palmitique et stéarique représentent en effet 29,2 % et 26,0 % des A.G. totaux en *m*-1,3 respectivement pour les huiles de Calebasse bouteille et de Calebasse la gale. Notons tout de même que l'acide linoléique représente pour les deux huiles plus de 60 % des A.G. totaux en positions externes, ce qui pourrait s'expliquer par la teneur élevée (plus de 72,0 %) des T.A.G. en cet A.G. La position interne, quant à elle, est estérifiée à 90,1 % par de l'acide linoléique.

• Détermination de la composition en triacylglycérols :

L'analyse des T.A.G. des huiles de Calebasse bouteille et de Calebasse la gale différant par la nature de leurs A.G. est effectuée par C.L.H.P. Les chromatogrammes obtenus sont présentés à la figure 3-18. La composition en T.A.G. des deux huiles extraites des graines du genre *Lagenaria* figure dans le tableau III-11.

Tableau III-11

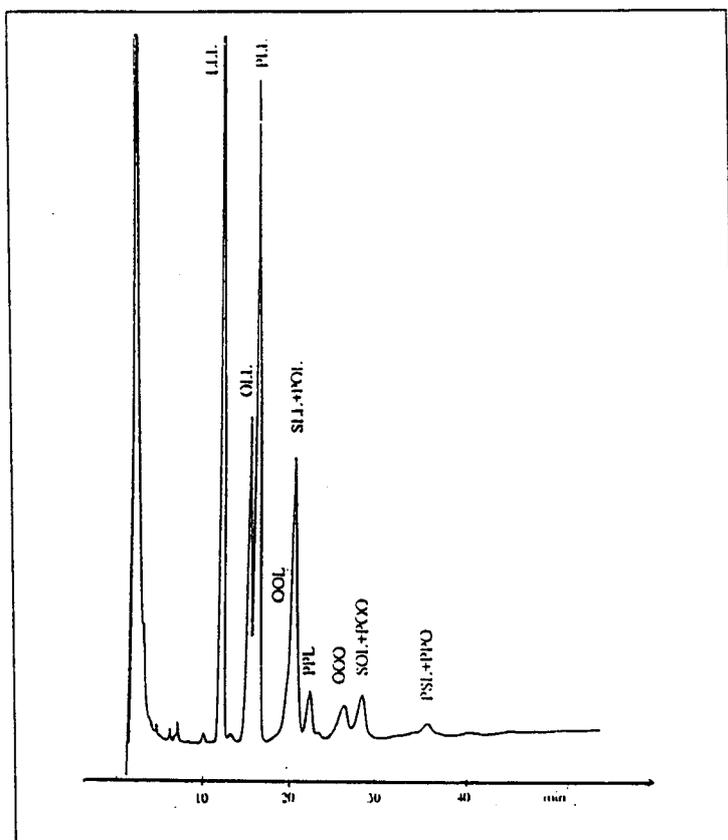
Composition en T.A.G. des huiles de graines du genre *Lagenaria*

T.A.G.	N.P.	N.C.E.	<i>Lagenaria leucaritha</i>	
			variété bouteille % exp.	variété la gale % exp.
LLL	42	39,9	34,6	34,4
OLL	44	42	12,6	11,4
PLL	44	42,6	24,7	29,0
OOL	46	44,1	traces	1,3
SLL+POL	46	44,6 / 44,7	17,8	13,8
PPL	46	45,3	2,8	3,7
OOO	48	46,2	3,2	2,5
SOL+POO	48	46,7 / 46,8	3,3	3,2
PSL+PPO	48	47,3 / 47,4	1,0	0,7

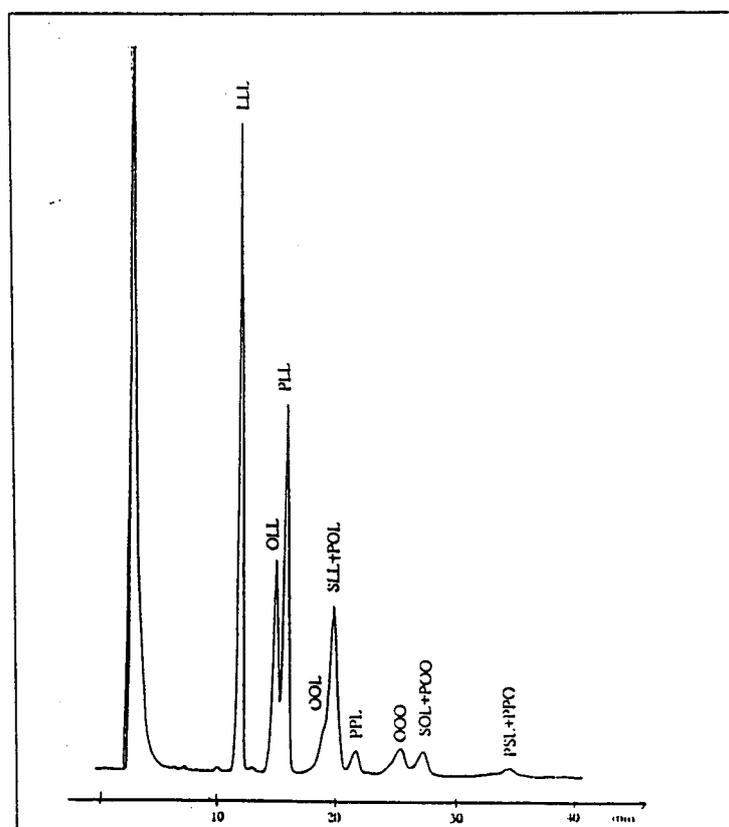
Les abréviations des différents A.G. sont :

P : acide palmitique, S : acide stéarique, O : acide oléique, L : acide linoléique

Les huiles du genre *Lagenaria* sont riches en T.A.G. formés par la combinaison des acides linoléique, oléique et palmitique. La trilinoléine est le T.A.G. majoritaire de ces huiles avec une teneur de l'ordre de 34 %. La palmitodilinoléine avec des teneurs respectives de



*Lagenaria leucaritha* variété bouteille



*Lagenaria leucaritha* variété la gale

Figure 3-18 : Les triacylgcérols des huiles de graines du genre *Lagenaria*.  
( Annexe 4, C.L.H.P. 2)

24,7% pour la variété bouteille et 29,0 % pour la variété la gale est le T.A.G. mixte le plus abondant. Les huiles extraites de ces deux variétés contiennent en quantités égales l'oléodilinéoléine. Ce T.A.G. représente 12,6 % des T.A.G. totaux de calabasse bouteille et 11,4% de ceux de calabasse la gale.

Les huiles de calabasse bouteille et de calabasse la gale ont une composition en T.A.G. similaire. Cependant, elles se différencient par leur teneur en dioléolinoléine. Elle est de 1,3% pour la variété la gale alors que la variété bouteille ne le contient qu'à l'état de traces. Le mélange constitué par la stéarodilinéoléine et la palmitooléolinoléine est présent à un taux de 17,8 % dans l'huile de calabasse bouteille contrairement à la variété la gale qui n'en contient que 13,8 %.

### 3. 2. 1. 2. 2. Fraction insaponifiable

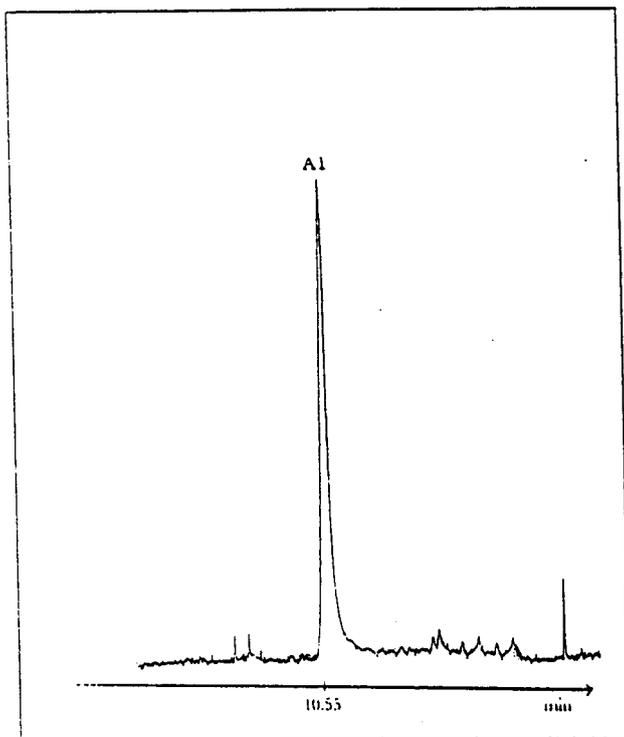
Les A.T. et les stérols extraits des insaponifiables des huiles du genre *Lagenaria* par la chromatographie préparative sur colonne ouverte ont été acétylés en présence de pyridine et d'anhydride acétique. Leur profil chromatographique respectif a été déterminé par C.P.G. et C.L.H.P. (figures 3-19 et 3-20).

#### 3. 2. 1. 2. 2. 1. Les alcools triterpéniques

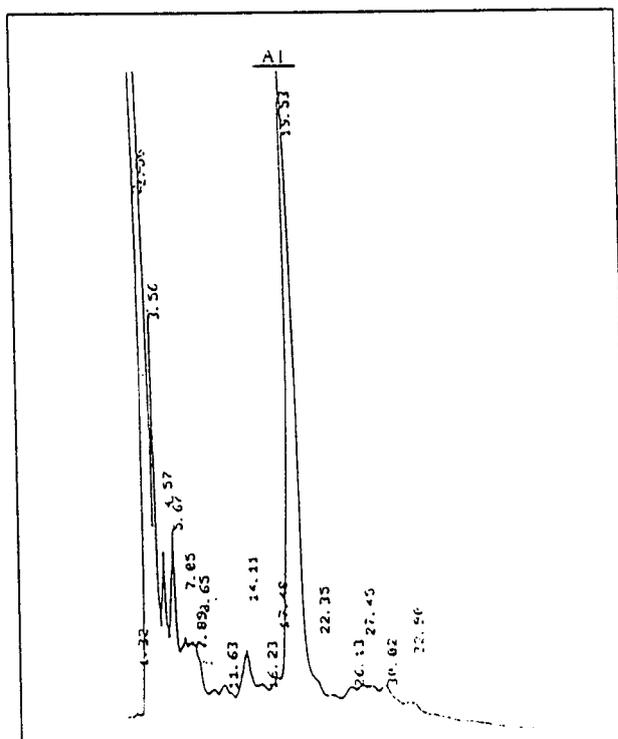
L'analyse de la fraction contenant les A.T. de l'huile extraite des graines de la variété bouteille présente un seul pic numéroté A1 en C.P.G.. Un pic unique également détecté par C.L.H.P. sur colonne RP-18 est récupéré puis la fraction obtenue est analysée par R.M.N.  $^1\text{H}$ .

La variété la gale présente une composition en A.T. différente de la variété précédente. Par C.P.G. quatre pics majoritaires notés A5, A6 A7 et A8 sont mis en évidence.

Le tableau III-12 regroupe les compositions en A.T. pour les deux huiles étudiées.

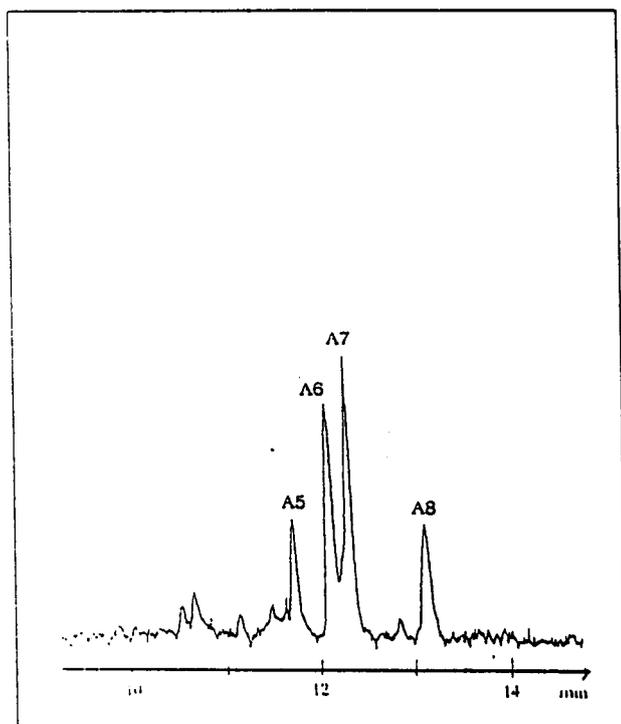


C.P.G.

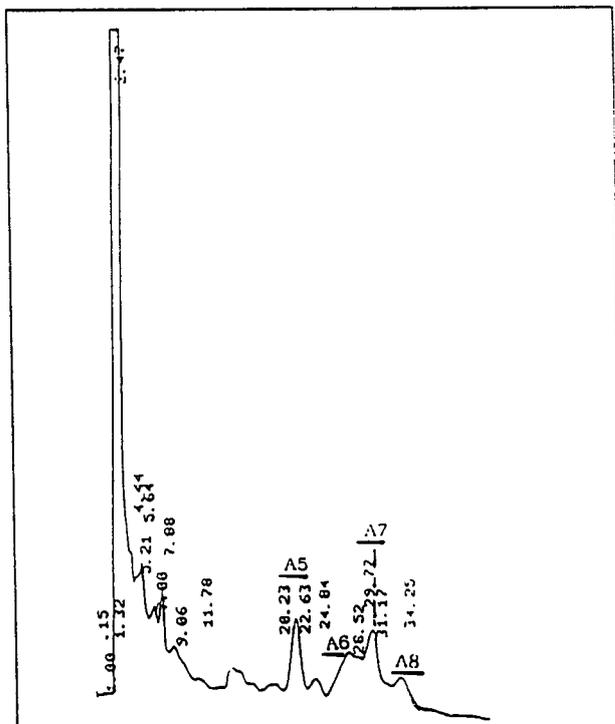


C.L.H.P.

*Lagenaria leucaritha* variété bouteille



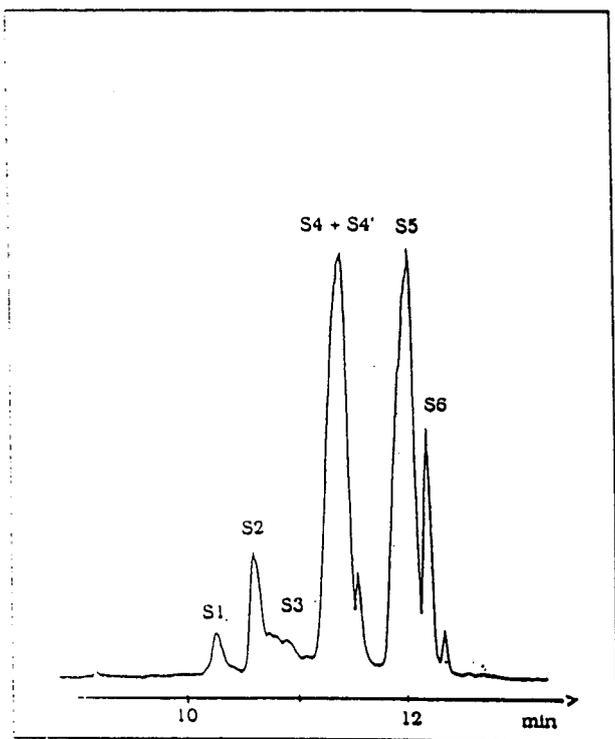
C.P.G.



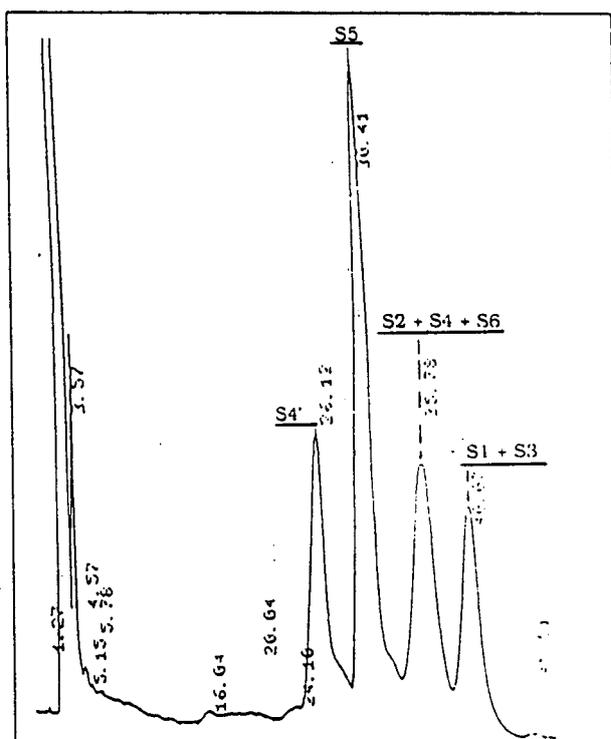
C.L.H.P.

*Lagenaria leucaritha* variété la gale

Figure 3-19 : Profils totaux des alcools triterpéniques des huiles de graines du genre *Lagenaria*.  
( Annexe 4, C.P.G. 2, C.L.H.P. 3)

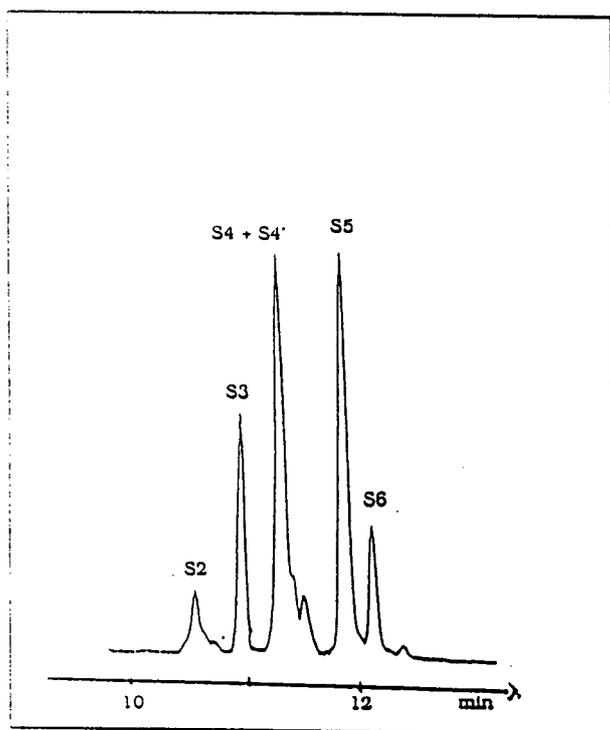


C.P.G.

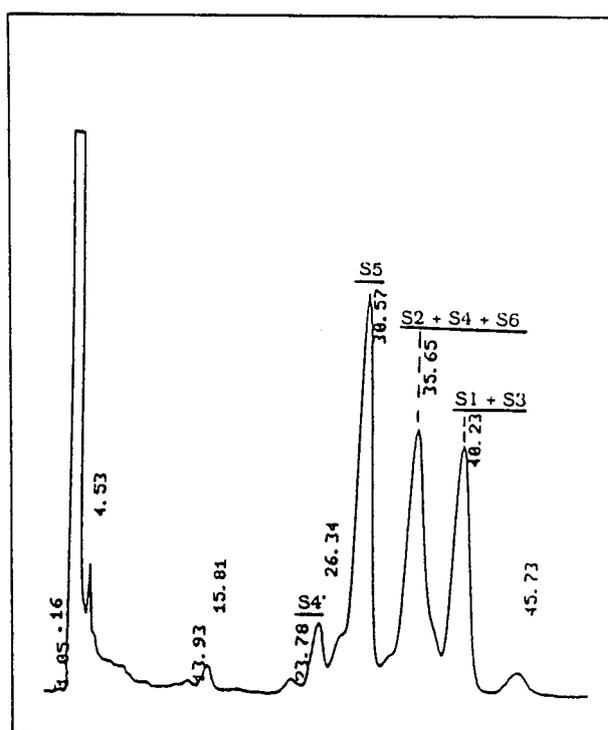


C.L.H.P.

*Lagenaria leucaritha* variété bouteille



C.P.G.



C.L.H.P.

*Lagenaria leucaritha* variété la gale

Figure 3-20 : Profils totaux des stérols des huiles de graines du genre *Lagenaria*.

( Annexe 4, C.P.G. 2, C.L.H.P. 3)

Tableau III-12

Les A.T. des huiles extraites des graines du genre *Lagenaria*

n°	T.R.R. C.P.G.	T.R.R. C.L.H.P.	Composés	<i>Lagenaria leucaritha</i>	
				variété bouteille (%)	variété la gale (%)
A1	1,16	0,64	Cucurbita-5,24-dién-3 $\beta$ -ol	98,0	-
A5	1,30	0,84	$\beta$ -amyrine	-	17,0
A6	1,34	0,92	Lupéol	-	29,4
A7	1,36	0,95	Cycloarténol	-	34,6
A8	1,47	1,11	24-Méthylèncycloartanol	-	19,0
Autres	-	-	N.I.*	2,0	-

\*N.I. : non identifié

*Lagenaria leucaritha* var. bouteille se distingue de la variété la gale par la présence unique d'un seul composé, le cucurbita-5,24-dién-3 $\beta$ -ol. Ce composé est rencontré uniquement dans la famille des Cucurbitacées où il devient ainsi un marqueur chimiotaxonomique intéressant [47]. Il est absent de l'huile de la variété la gale qui compte, en revanche, quatre A.T. identifiés dans de nombreuses plantes supérieures [57]. Il s'agit de deux A.T. pentacycliques, la  $\beta$ -amyrine et le lupéol avec des teneurs respectives de 17,0 et 29,4 %. Les deux autres A.T. se distinguent par la présence d'un noyau cyclopropanique à savoir le cycloarténol et le 24-méthylèncycloartanol qui constitue 19,0 % des A.T. totaux. Par ailleurs, le cycloarténol avec une teneur de 34,6 % est l'A.T. majoritaire.

### 3. 2. 1. 2. 2. 2. Les stérols

Les deux variétés du genre *Lagenaria* présentent des profils similaires (cf. figure 3-20). Ainsi, six pics sont observés en C.P.G. et quatre en C.L.H.P. sur colonne RP-18. L'étude complète de la fraction stérolique a été menée sur la seule variété bouteille. L'identification des stérols de la variété la gale a été effectuée par la comparaison des T.R.R. des composés identifiés ainsi que de leurs spectres de masse.

Par C.L.H.P., les quatre pics majoritaires des stérols de *Lagenaria leucaritha* var. bouteille ont été récupérés. Les fractions ainsi recueillies ont été analysées par C.P.G. afin de vérifier leur pureté. Le fractionnement du mélange stérolique total par C.C.M.-argentique montre quatre bandes après cinq développements successifs par le mélange éluant CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-CCl<sub>4</sub> (1 : 5, v/v). Les produits désorbés dans le mélange CHCl<sub>3</sub>-MeOH (90 : 10, v/v) sont purifiés par C.L.H.P.. D'autres C.C.M.-argentiques menées avec un mélange éluant CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-CCl<sub>4</sub> de polarité et de nombres de migrations différents de celle citée précédemment ont permis d'isoler divers composés.

Les stérols isolés ont été identifiés par les informations fournies conjointement par leurs spectres de masse et de résonance magnétique nucléaire du proton. Les résultats figurent au tableau III-13.

Tableau III-13

Les stérols des huiles extraites des graines du genre *Lagenaria*

n°	T.R.R. C.P.G.	T.R.R. C.L.H.P.	Composés	<i>Lagenaria leucaritha</i>	
				variété bouteille (%)	variété la gale (%)
S1	1,14	1,31	Campestérol + 22-dihydrobrassicastérol	2,7	-
S2	1,18	1,17	Stigmastérol	11,3	5,1
S3	1,25	1,31	Sitostérol	1,2	13,8
S4	1,27	1,17	Stigmasta-7,22-dién-3β-ol	40,1	32,4
S4'	1,27	0,85	Stigmasta-7,22,25-trién-3β-ol		
S5	1,33	1,00	Stigmasta-7,25-dién-3β-ol	34,8	28,6
S6	1,35	1,17	N.I.+	8,1	8,0
Autres	-	-	N.I.+	1,8	12,1

\*N.I. : non identifié

Les huiles de l'espèce *Lagenaria leucaritha* contiennent des stérols ayant une double liaison intracyclique en 5 et en 7. Les Δ<sup>5</sup>-stérols sont représentés par un mélange d'épimères, à savoir le campestérol et le 22-dihydrobrassicastérol, par le stigmastérol et par le sitostérol. Avec 11,3 %, le stigmastérol est le Δ<sup>5</sup>-stérol majoritaire de l'huile de calebasse bouteille alors que l'huile de la variété la gale est riche en sitostérol (13,8 %). En revanche, l'huile de

calebasse la gale est exempte de campestérol et de 22-dihydrobrassicastérol. Le mélange stérolique des huiles des deux variétés de calebasse contient principalement des stérols avec une double liaison intracyclique situé sur le carbone 7. Ainsi les  $\Delta^7$ -stérols représentent respectivement 83,0 et 69,9 % des stérols totaux de la variété bouteille et la gale respectivement. Ces stérols comportent une chaîne latérale insaturée de dix atomes de carbone. L'insaturation est en 22(23) ou/et en 25(27). Le mélange constitué par le stigmasta-7,22-dién-3 $\beta$ -ol et le stigmasta-7,22,25-trién-3 $\beta$ -ol est majoritaire avec 40,1 % pour la calebasse bouteille et 32,4 % pour la calebasse la gale. Ce dernier n'est que rarement rencontré dans les huiles végétales et est caractéristique de la famille des Cucurbitacées. Le stigmasta-7,25-dién-3 $\beta$ -ol est présent en grande proportion puisqu'il représente 34,8 % des stérols totaux de la variété bouteille et 28,6 % de la variété la gale. Ces divers stigmastadiènes et ce stigmastatriène sont rencontrés dans les lipides végétaux, mais avec des teneurs plus faibles [47].

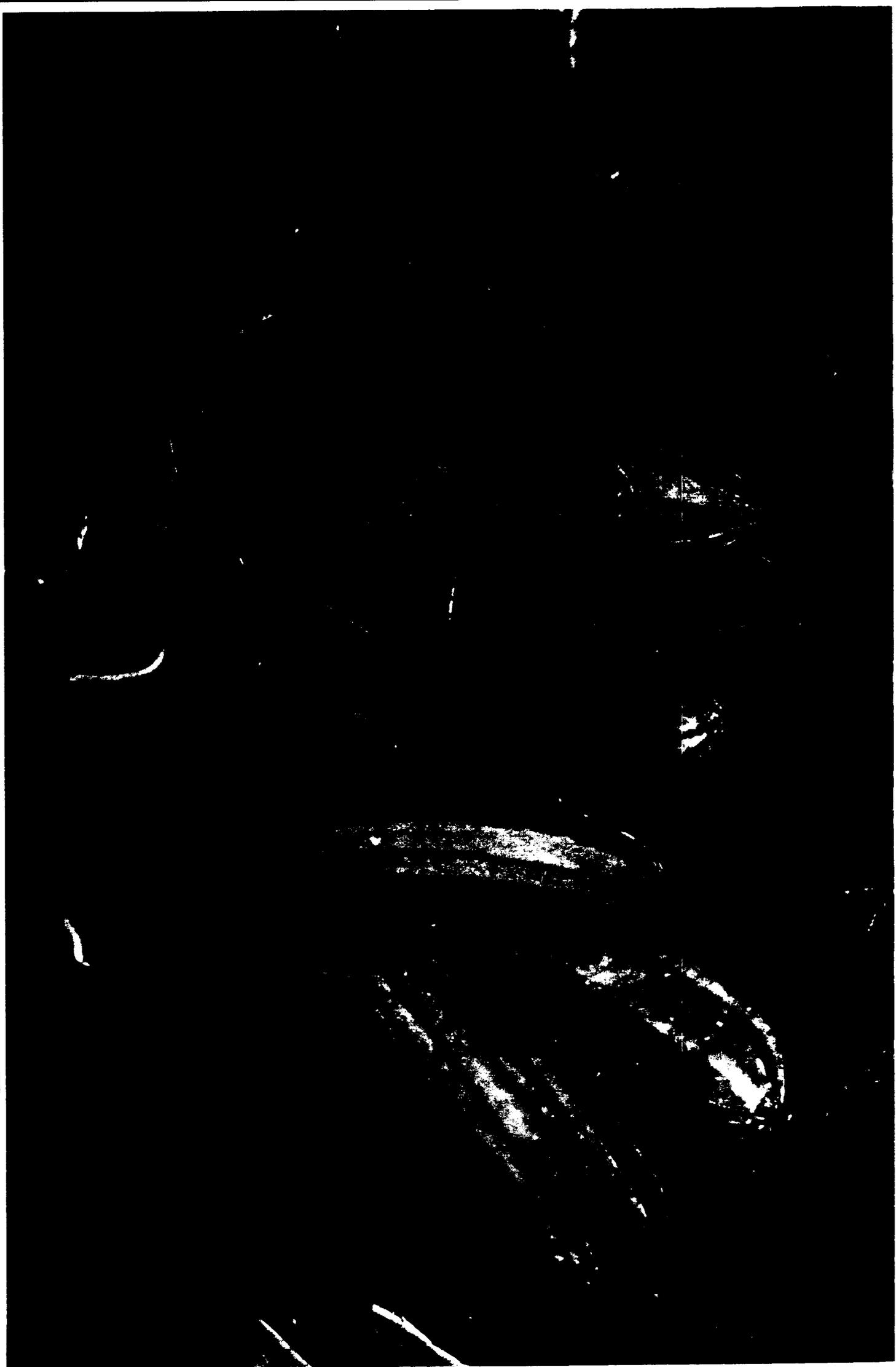
### 3 . 2. 2. Le genre *Luffa*

#### 3 . 2. 2. 1. Description botanique

Le genre *Luffa* compte deux espèces dans l'Ancien Monde (*Luffa acutangula*, *Luffa cylindrica* et leurs variétés) et trois espèces dans le Nouveau Monde (*Luffa astorii*, *Luffa quinquefida* et *Luffa operculata*) [99]. Leur dissémination en Inde, en Australie, en Chine, en Amérique du sud, en Afrique et en Turquie a été effectuée par l'homme et la mer [82]. Une étude phylogénétique s'appuyant sur la structure des flavonoides contenus dans les feuilles et fruits de ces divers espèces de *Luffa*, montre que les espèces *Luffa acutangula* et *Luffa cylindrica* ont un ancêtre commun et sont proches génétiquement [82,100]. Par ailleurs, ces deux espèces sont les seules domestiquées et leurs fruits sont consommés préférentiellement au sud de l'Asie [99]. En 1979, les recherches menées par Martin au Brésil montrent que les huiles extraites des graines de *Luffa acutangula* et de *Luffa cylindrica* peuvent servir de substitut à l'huile d'olive [101]. Le genre *Luffa* contient des variétés amères ; ainsi chez l'espèce *Luffa operculata*, l'isocucurbitacine ou cucurbitacine B est identifiée comme étant responsable de cette amertume. Ce composé montre une action décongestionnante sur les muqueuses, une action hémolytique\*, ainsi que des effets purgatifs\* et abortifs\* [110].

Le genre *Luffa* est présent à la Réunion sous la forme de deux espèces. Ce sont des plantes herbacées, monoïques et annuelles dont les tiges rampantes peuvent atteindre jusqu'à 5 m de hauteur.

- Le pipangaille à côtes, *Luffa acutangula* (photographie 3), possède de longues et larges feuilles à limbe palmé pentalobé. Son fruit vert foncé de forme oblongue (15-35 cm) se reconnaît aisément aux dix côtes saillantes. A maturité, le fruit contient des graines noires, ovales et plates à surface verruqueuse [87]. En Thaïlande, l'huile extraite des graines de l'espèce *Luffa acutangula* pourrait entrer dans la composition d'un nouveau carburant pour les engins de type diesel [9].
- Le pipangaille lisse, *Luffa cylindrica* (photographie 4), possède des feuilles dont le limbe est découpé profondément en cinq lobes. Le fruit de couleur vert-pâle, cylindrique et lisse, contient des graines blanchâtres, plates et ailées sur leur





pourtour [87]. Au Nigéria, ces fruits sont réputés toniques, diurétiques et émétiques\* en consommation excessive. Ils contiennent un principe purgatif, la lufféine, alors que les feuilles ou les fleurs sont appliquées en cataplasme pour soulager les douleurs [83]. Par ailleurs, le filtrat obtenu après que le fruit ait bouilli sert d'antidote aux morsures de serpents au Nigéria [103].

La culture du pipangaille à la Réunion se fait aux environs de 400 m d'altitude en zone sèche ou le long du littoral. La plantation a lieu pendant la saison des pluies, c'est-à-dire de novembre à mars. Les fruits sont récoltés au bout de deux mois pour la variété à côtes, six mois pour la variété lisse [2]. Les fruits de pipangailles doivent être cueillis rapidement, sinon leur pulpe disparaît progressivement pour ne laisser qu'un réseau fibreux à consistance spongieuse. De ce fait, cette péponide\* est appelée "éponge végétale" ou "liane torchon".

Au Japon, cette éponge végétale est exportée vers les Etats-Unis et l'Europe où leur utilisation est multiple. Elle est à l'origine de la confection des semelles intérieures des souliers ainsi que de celle des matériaux d'emballage [104].

Par ailleurs, certaines parties de la plante sont utilisées médicalement. Amère dans toutes ses parties, cette Cucurbitacée constitue un diurétique\* efficace par prise de l'infusion de ses tiges [85].

Les cataplasmes de feuilles servent à traiter la lèpre et les hémorroïdes. Le jus extrait des feuilles fraîches soigne la conjonctivite granuleuse et les eczémas. Quant aux graines, elles sont considérées comme diurétiques, ténifuges\*, vomitives et purgatives [87].

A la Réunion, ces légumes sont servis en soupe, daube, ratatouille ou se consomment sautés dans des plats asiatiques [87].

### 3. 2. 2. 2. Composition chimique

#### 3. 2. 2. 2. 1. Fraction saponifiable

##### 3. 2. 2. 2. 1. 1. Les Acides Gras

Les A.G. des huiles de pipangaille à côtes et de pipangaille lisse sont analysés par C.P.G. sous la forme de leurs esters méthyliques. Les chromatogrammes obtenus sont présentés à la figure 3-21. La comparaison des temps de rétention, spécifiques à chaque E.M.A.G., avec ceux des produits étalons commerciaux permettent l'identification de chaque constituant. Leurs proportions relatives dans le mélange d'E.M.A.G. totaux des deux variétés du genre *Luffa* sont reportées dans le tableau III-14.

Tableau III-14

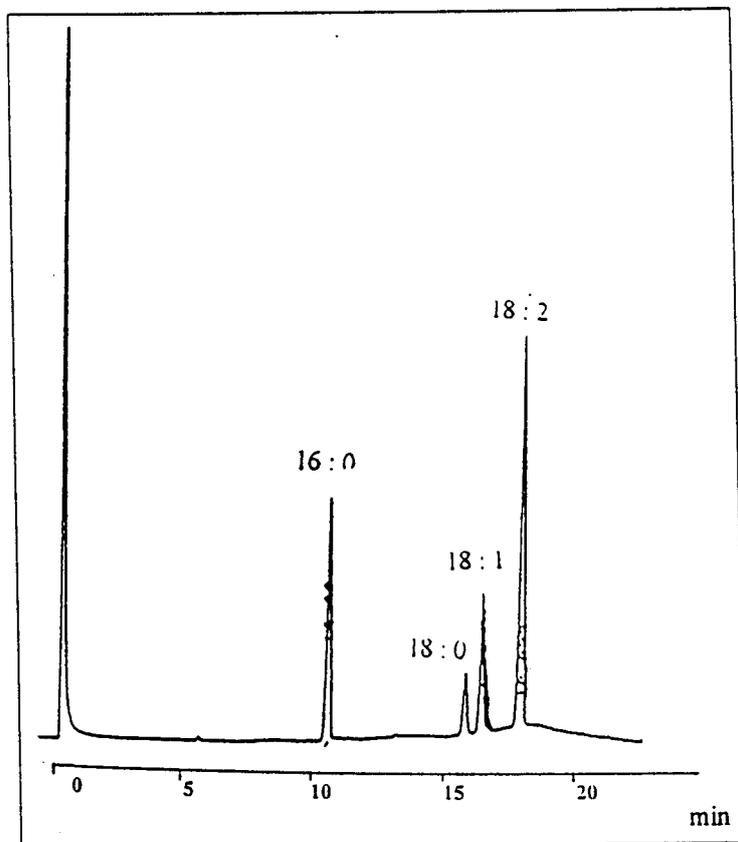
Composition en acides gras des huiles de graines du genre *Luffa*  
(Valeurs exprimées en % molaires)

Acides gras	<i>Luffa acutangula</i>	<i>Luffa cylindrica</i>
Acide palmitique C16 : 0	23,7	21,9
Acide stéarique C18 : 0	8,2	8,3
Acide oléique C18 : 1 (n-9)	16,9	14,5
Acide linoléique C18 : 2 (n-6)	51,2	55,3

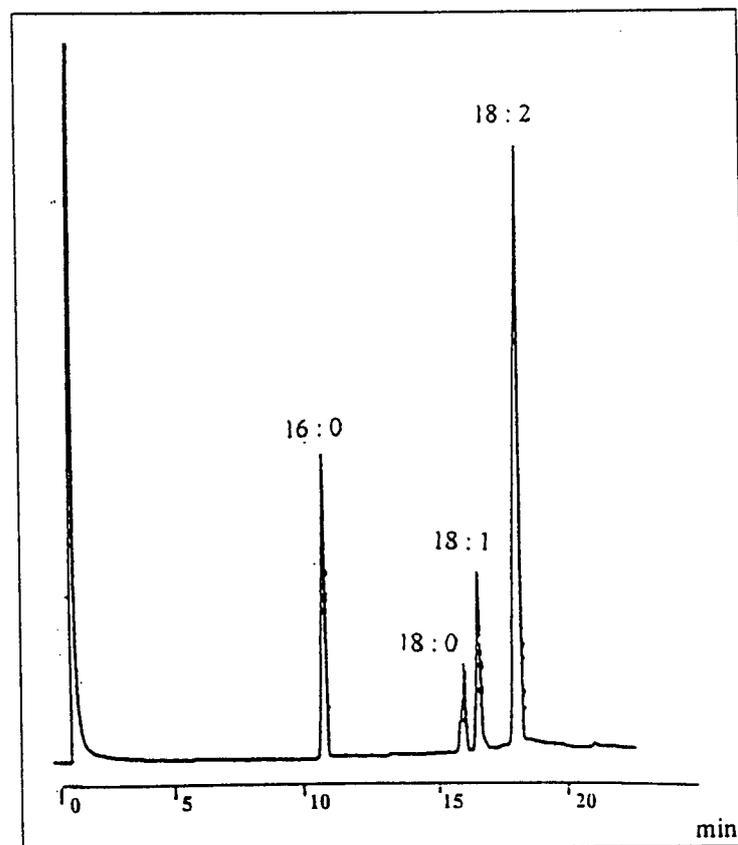
Les huiles de pipangailles lisse et à côtes ont une composition qualitative et quantitative similaire. Elles contiennent principalement trois acides gras dont les teneurs excèdent les 14 %. Il s'agit des acides palmitique, oléique et linoléique qui constituent plus de 90 % des acides gras totaux. Les huiles de pipangailles sont donc du type palmitique-oléique-linoléique.

L'acide linoléique, acide gras majeur de ces huiles avec une teneur de l'ordre de 50 %, leur confère de bonnes propriétés nutritionnelles et diététiques [105,106,107].

Ainsi, ces huiles définies selon leurs indices d'iode comme semi-siccatives, conviennent à l'alimentation avec l'avantage d'être plus insaturées que les huiles



*Luffa acutangula*



*Luffa cylindrica*

Figure 3-21 : Les acides gras des huiles de graines du genre *Luffa*.  
( Annexe 4, C.P.G. 1)

habituelles [13]. En outre, les teneurs en acides gras saturés, à savoir les acides palmitique et stéarique, indiquent que ces huiles peuvent aussi être employées dans l'industrie de la savonnerie [108].

La composition en acides gras des huiles extraites des graines du genre *Luffa* de la Réunion a été comparée à celles des espèces identiques mais d'origines géographiques différentes (cf. tableau III-15).

L'espèce *Luffa cylindrica* présente une composition en acide gras similaire qualitativement en dépit de leurs localisations géographiques différentes. Les huiles extraites des graines de cette espèce contiennent des acides gras couramment rencontrés dans les huiles végétales à savoir les acides palmitique, stéarique, oléique et linoléique.

L'acide linoléique avec des teneurs supérieures à 48 % est l'acide gras majoritaire des huiles de l'espèce *Luffa cylindrica*. La teneur la plus élevée de cet acide gras essentiel (64,6%) a été rapportée chez l'espèce originaire du Soudan. Par ailleurs, cette dernière présente la plus faible teneur en acide palmitique (9,6 %) alors que des teneurs de l'ordre de 16 à 20 % sont enregistrées chez les espèces de Zambie, du Zaïre, du Nigéria et de la Réunion.

De même, l'acide oléique ne représente que 6,9 % des acides gras totaux de l'espèce cultivée au Soudan alors que des teneurs de l'ordre de 14 % sont déterminées pour celles originaires de zones géographiques différentes. L'espèce du Zaïre présente une teneur exceptionnelle en acide oléique de 20,6 %.

L'huile de *Luffa cylindrica* originaire de la Réunion a une composition en acides gras qui se rapproche de celle cultivée au Zaïre.

Les huiles extraites de l'espèce *Luffa acutangula* originaire de l'Inde, du Canada, de la Thaïlande et de la Réunion contiennent principalement des acides gras fréquemment identifiés dans les huiles végétales à savoir les acides palmitique, stéarique, oléique et linoléique.

L'acide linoléique est l'acide gras prépondérant des huiles de graines de *Luffa acutangula* avec une teneur minimum de 40,2 % pour l'espèce cultivée en Inde. La plus forte proportion en acide linoléique (51,2 %) est détenue par l'espèce originaire de la Réunion. La composition qualitative en acides gras de l'huile originaire de la Réunion est

Tableau III-15

Comparaison de la composition en acides gras des huiles de graines du genre *Luffa*  
(valeurs exprimées en % molaires)

Acides gras	<i>Luffa acutangula</i>					<i>Luffa cylindrica</i>					<i>Luffa cylindrica</i>	<i>Luffa acutangula</i>	
	Inde [109]	Canada [101]	Thaïlande [9]	Zambie [88]	Zaïre [110]	Nigéria [108]	Soudan [85]	La Réunion					
Acide myristique C14 : 0	-	0,5	0,4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Acide palmitique C16 : 0	21,2	20,9	7,6	16,0	20,0	18,9	9,6	21,9	23,7				
Acide palmitoléique C16 : 1	-	-	2,4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Acide stéarique C18 : 0	10,1	10,8	18,6	13,0	10,5	6,0	18,9	8,3	8,2				
Acide oléique C18 : 1 (n-9)	28,4	24,1	19,0	14,0	20,6	13,9	6,9	14,5	16,9				
Acide linoléique C18 : 2 (n-6)	40,2	43,7	46,1	57,0	48,2	61,0	64,6	55,3	51,2				
Acide arachidique C20 : 0	-	-	0,9	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Autres	0,1	-	5,0	-	0,7	0,2	-	-	-	-	-	-	-

celle cultivée en Inde. Des différences quantitatives proviennent de leur teneur en acides linoléique et oléique. L'acide oléique représente 28,4 % des acides gras totaux de l'espèce indienne alors que celle de la Réunion n'en contient que 16,9 %.

De faibles quantités d'acide myristique ont été détectées dans les huiles extraites des graines de *Luffa acutangula* provenant du Canada et de la Thaïlande. En outre, l'espèce thaïlandaise contient de faibles teneurs d'acides palmitoléique et arachidique.

### 3. 2. 2. 2. 1. 2. Les triacylglycérols

- *Détermination de la composition en acides gras des T.A.G. :*

Les T.A.G. sont isolés sur colonne ouverte de silice à partir de l'huile [7]. La détermination de la composition en acides gras des T.A.G. de pipangaille à côtes et de pipangaille lisse est réalisée par C.P.G. Les acides gras analysés sous la forme d'esters méthyliques sont identifiés en fonction de leur temps de rétention. Le tableau III-16 présente les résultats obtenus.

Tableau III-16

Composition en acides gras des T.A.G des huiles de graines du genre *Luffa*  
(Valeurs exprimées en % molaires)

Acides gras	<i>Luffa acutangula</i>		<i>Luffa cylindrica</i>	
	T.A.G.	huile	T.A.G.	huile
Acide palmitique	22,0	23,7	23,0	21,9
Acide stéarique	6,3	8,2	6,0	8,3
Acide oléique	15,1	16,9	11,4	14,5
Acide linoléique	56,6	51,2	59,6	55,3

La comparaison des compositions en acides gras obtenues à partir des T.A.G. et des huiles respectifs à chaque espèce du genre *Luffa* ne présente aucune différence marquée. Des fluctuations sont présentes mais elles ne dépassent pas le taux de 5,4 % (variation de l'acide linoléique de l'espèce pipangaille à côtes).

- Détermination de la répartition des acides gras en *sn*-2 et *sn*-1,3 par dégradation chimique ménagée des T.A.G. :

Le protocole expérimental ainsi que les méthodes de calcul ont été décrits lors de l'analyse des T.A.G. des espèces du genre *Lagenaria*.

La répartition des A.G. en positions *sn*-2 et *sn*-1,3 des T.A.G. des espèces du genre *Luffa* est réalisée par dégradation chimique ménagée. Le réactif utilisé est le bromure d'éthylmagnésium qui a la particularité de ne présenter aucune affinité vis à vis de la nature des A.G. et des différentes positions du glycérol [93].

Trois dégradations chimiques ménagées ainsi que deux analyses par C.P.G., toutes concordantes, ont permis d'obtenir les résultats présentés dans les tableaux III-17 et III-18.

Tableau III-17

Répartition interne/externe des acides gras de l'huile de graines de *Luffa acutangula* obtenue par dégradation chimique ménagée

Acides gras	T.A.G. totaux	Position 2		Positions 1+3	
		(a)	(b)	(a)	(b)
Acide palmitique	22,0	3,4	15	18,6	85
Acide stéarique	6,3	2,3	36	4,0	64
Acide oléique	15,1	8,3	55	6,8	45
Acide linoléique	56,6	19,3	34	37,3	66

(a) : pourcentage molaire de chaque A.G. par rapport aux A.G. totaux en *sn*-2 et *sn*-1,3.

(b) : proportion centésimale de chaque A.G. entre les positions interne et externes.

Les acides palmitique et stéarique se retrouvent préférentiellement en positions externes avec plus de 60 % de leur concentration des A.G. totaux. L'acide oléique estérifie à 55 % la position interne tandis que deux tiers de l'acide linoléique est présent en positions externes.

Tableau III-18

Répartition interne/externe des acides gras de l'huile de graines de *Luffa cylindrica* obtenue par dégradation chimique ménagée.

Acides gras	T.A.G. totaux	Position 2		Positions 1+3	
		(a)	(b)	(a)	(b)
Acide palmitique	23,0	1,6	7	21,4	93
Acide stéarique	6,0	0,8	13	5,2	87
Acide oléique	11,4	3,4	30	8,0	70
Acide linoléique	59,6	27,5	46	32,1	54

(a) : pourcentage molaire de chaque A.G. par rapport aux A.G. totaux en *sn*-2 et *sn*-1,3.

(b) : proportion centésimale de chaque A.G. entre les positions interne et externes.

Les A.G. saturés (palmitique et stéarique) se répartissent préférentiellement en positions externes avec respectivement 93 % et 87 % de chaque A.G. en position *sn*-1,3. Parmi les A.G. insaturés, l'acide oléique est à 70 % en positions externes, suivi de l'acide linoléique (54 %).

En nous intéressant à la composition centésimale en A.G. pour les positions interne et externes de la molécule de glycérol (tableau III-19), nous remarquons que la distribution des A.G. dans les T.A.G. des huiles de pipangaille à côtes et de pipangaille lisse se singularise par rapport à celles rencontrées habituellement pour les corps gras végétaux naturels, notamment pour l'huile de pipangaille à côtes.

Tableau III-19

Composition centésimale des A.G. présents sur les positions *sn*-2 et *sn*-1,3 pour les huiles du genre *Luffa*

Acides gras	<i>Luffa acutangula</i>			<i>Luffa cylindrica</i>		
	T.A.G. totaux	[ <i>sn</i> -2] %	[ <i>sn</i> -1,3] %	T.A.G. totaux	[ <i>sn</i> -2] %	[ <i>sn</i> -1,3] %
Acide palmitique	22,0	10,2	27,9	23,0	4,8	32,1
Acide stéarique	6,3	6,9	6,0	6,0	2,4	7,8
Acide oléique	15,1	24,9	10,2	11,4	10,2	12,0
Acide linoléique	56,6	58,0	55,9	59,6	82,6	48,1

La position interne des T.A.G. de cette huile est en effet estérifiée à hauteur de 17,1 % par des A.G. saturés. Si l'on compare les comportements des acides palmitique et stéarique pour les deux huiles de pipangaille, une différence fondamentale apparaît. L'acide palmitique, avec des proportions respectives en A.G. de T.A.G. totaux de 22,0 % et 23,0 % pour l'huile de pipangaille à côtes et de pipangaille lisse, estérifie 10,2 % de la position interne des T.A.G. de pipangaille à côtes et seulement 4,8 % de ceux de pipangaille lisse. De la même façon, l'acide stéarique, avec des pourcentages similaires en A.G. des T.A.G. totaux, estérifie 6,9 % de la position interne des T.A.G. de pipangaille à côtes tandis qu'il n'estérifie que 2,4 % de ceux des T.A.G. de pipangaille lisse. Les A.G. insaturés, quant à eux, estérifient 82,9 % et 92,8 % de la position interne des T.A.G. des huiles de pipangaille à côtes et de pipangaille lisse respectivement, ce qui constitue un résultat tout à fait classique. Du fait que l'acide linoléique constitue l'A.G. majoritaire des T.A.G. des deux huiles étudiées, la même remarque faite pour le genre *Lagenaria* s'applique ici, à savoir qu'une proportion importante des positions externes est estérifiée par cet A.G.

• *Détermination de la composition en triacylglycérols :*

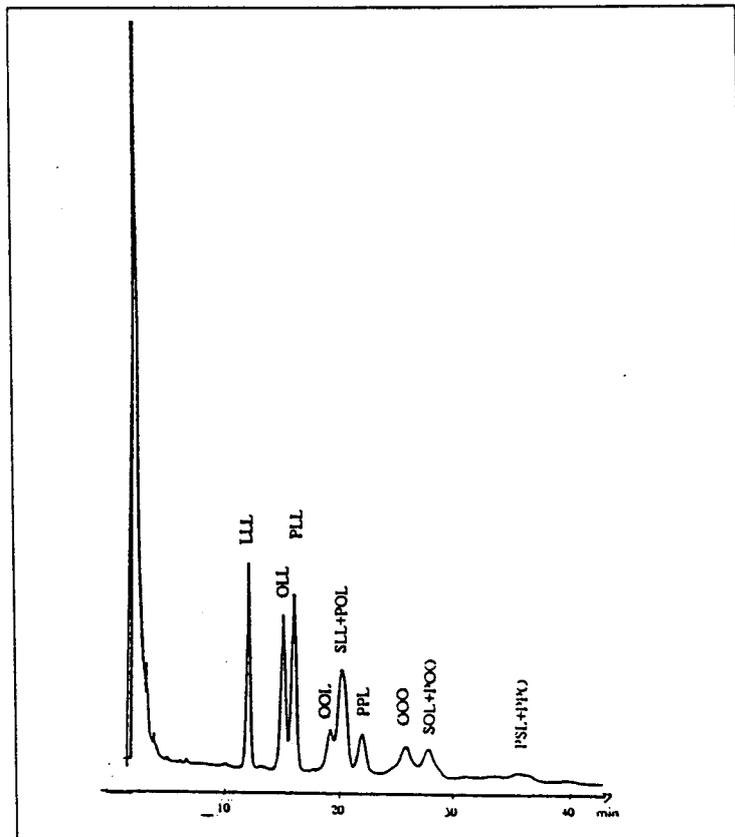
L'analyse des T.A.G. est réalisée par C.L.H.P. La composition en T.A.G. des huiles du genre *Luffa* est présentée dans le tableau III-20 ainsi qu'à la figure 3-22.

Tableau III-20  
Composition en T.A.G. des huiles de graines du genre *Luffa*

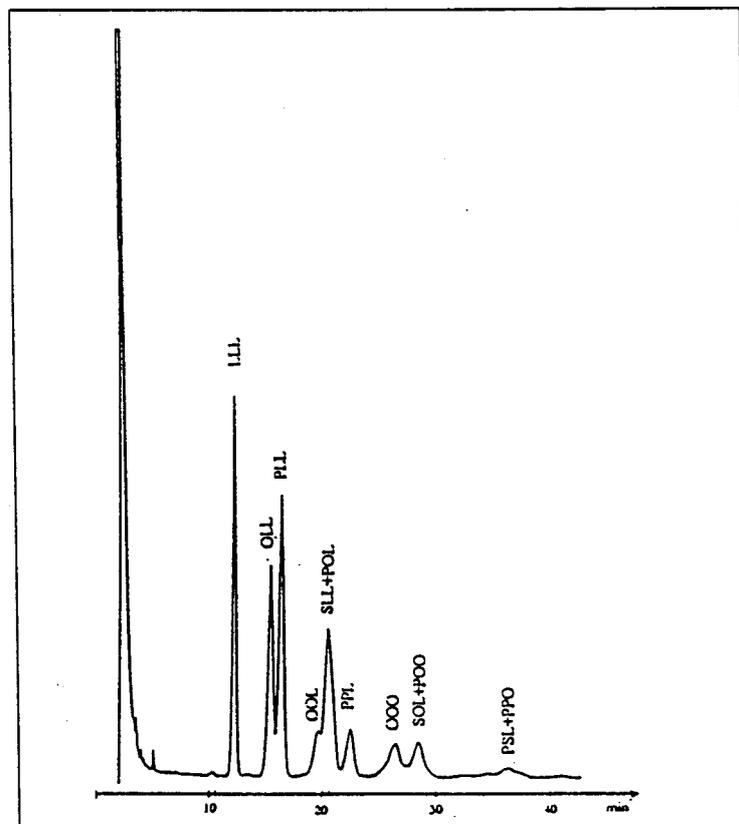
T.A.G.	N.P.	N.C.E.	<i>Luffa acutangula</i> % exp.	<i>Luffa cylindrica</i> % exp.
LLL	42	39,9	15,0	21,0
OLL	44	42	15,2	15,5
PLL	44	42,6	26,3	27,0
SLL+POL	46	44,6 / 44,7	17,9	17,8
PPL	46	45,3	7,0	5,0
OOO	48	46,2	8,8	6,0
SOL+POO	48	46,7 / 46,8	7,6	5,4
PSL + PPO	48	47,3 / 47,4	2,2	2,3

Les abréviations des différents A.G. sont :

P : acide palmitique, S : acide stéarique, O : acide oléique, L : acide linoléique



*Luffa acutangula*



*Luffa cylindrica*

Figure 3-22 : Les triacylgcérols des huiles de graines du genre *Luffa*.  
( Annexe 4, C.L.H.P. 2)

Les combinaisons d'acides linoléique, palmitique et oléique sont à l'origine des T.A.G. majoritaires. La palmitodilinéine est le T.A.G. majoritaire de ces huiles avec une teneur de l'ordre de 26,3 % pour la variété à côtes et de 27,0 % pour la variété lisse. Ces huiles contiennent à parts égales l'oléodilinéine dont la teneur avoisine les 15 % ainsi que le mélange constitué de stéarodilinéine et palmitoléolinéine qui constitue 17,8 % des T.A.G. totaux.

La composition des T.A.G. des huiles extraites du genre *Luffa* sont qualitativement proches. Les différences quantitatives sont dans l'ensemble faibles ; les variations du taux de trilinéine sont de l'ordre de 6 % et de 2 à 3 % pour les autres T.A.G..

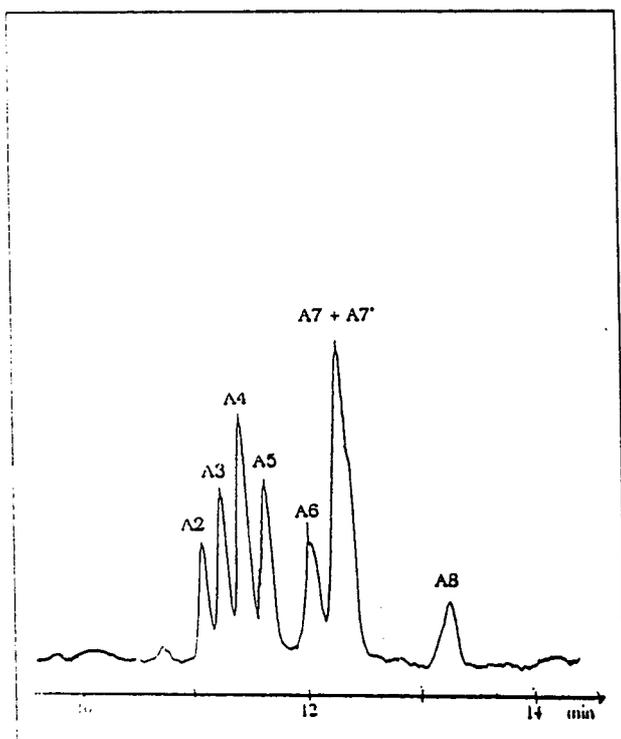
### 3. 2. 2. 2. Fraction insaponifiable

Les fractions contenant respectivement les A.T. et les stérols des deux espèces du genre *Luffa* sont acétylées en présence de pyridine et d'anhydride acétique. Leur profil chromatographique a été déterminé par C.P.G. et par C.L.H.P. ( figure 3-23 et 3-24). Les différents composés triterpéniques ont été isolés et identifiés à partir de l'espèce *Luffa cylindrica* puis la comparaison des T.R.R. en C.P.G. et des spectres de masse des divers composés ont permis d'identifier ceux de l'espèce *Luffa acutangula*.

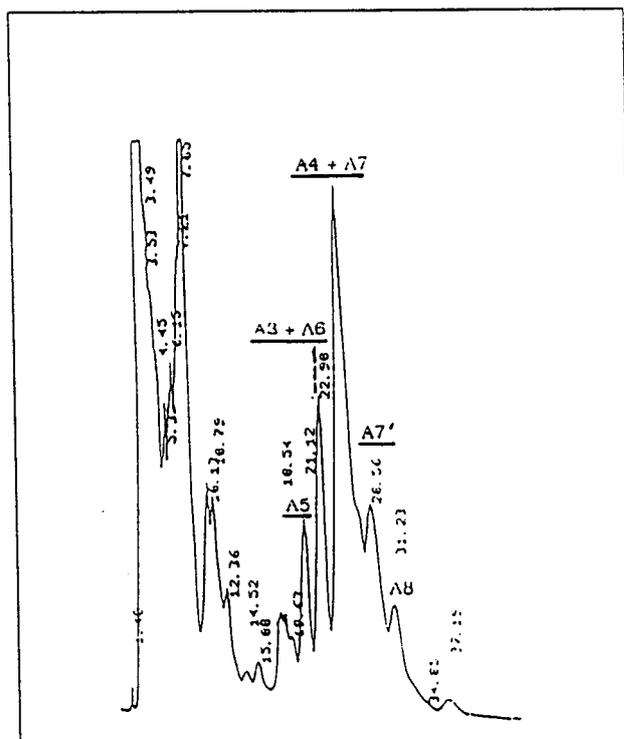
#### 3. 2. 2. 2. 1. Les alcools triterpéniques

Le mélange total des A.T. acétylés extrait de la fraction insaponifiable de *Luffa cylindrica* présente huit pics numérotés de A2 à A8 en C.P.G.. La détection de plusieurs pics qui se chevauchent par C.L.H.P. en phase inverse ne permet pas le recueillement de produits de grande pureté. Un fractionnement par C.C.M.-argentique apparaît alors plus judicieux. Le mélange éluant utilisé est le  $\text{CH}_2\text{Cl}_2\text{-CCl}_4$  (1 : 5, v/v) et quatre à sept migrations ont été nécessaires.

En revanche, l'espèce *Luffa acutangula* ne compte que sept A.T. majoritaires qui seront identifiés par comparaison de leurs T.R.R. en C.P.G. ainsi que de leurs spectres de masse. Les résultats obtenus sont mentionnés dans le tableau III-21.

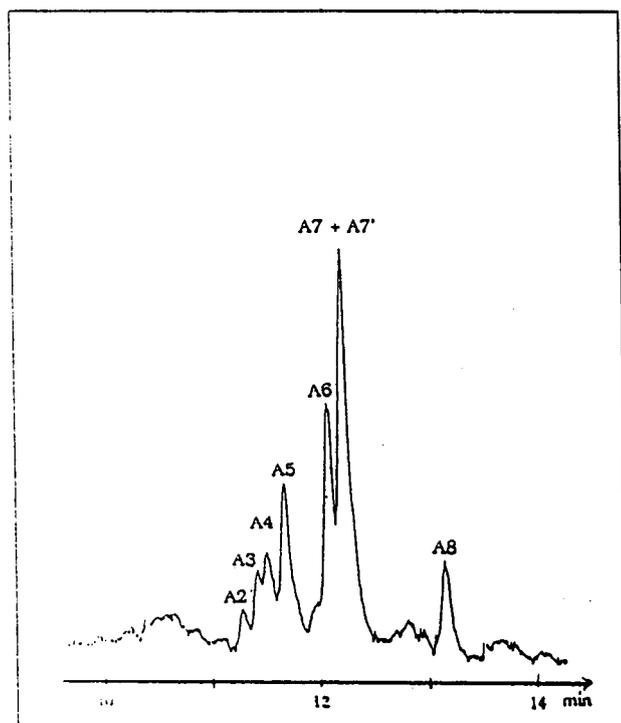


C.P.G.

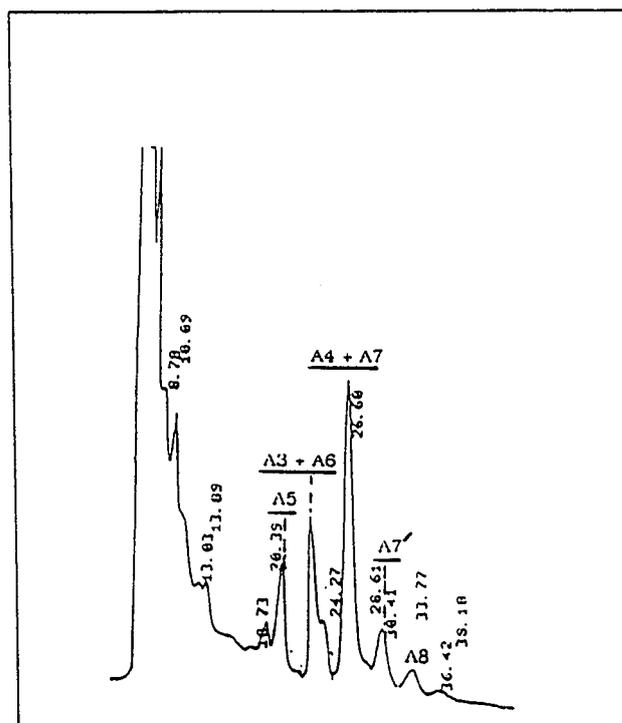


C.L.H.P.

*Luffa cylindrica*



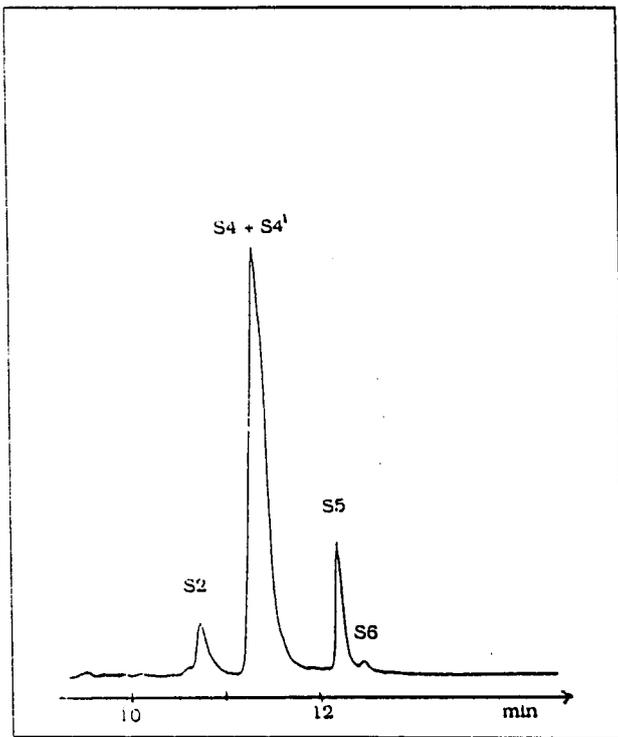
C.P.G.



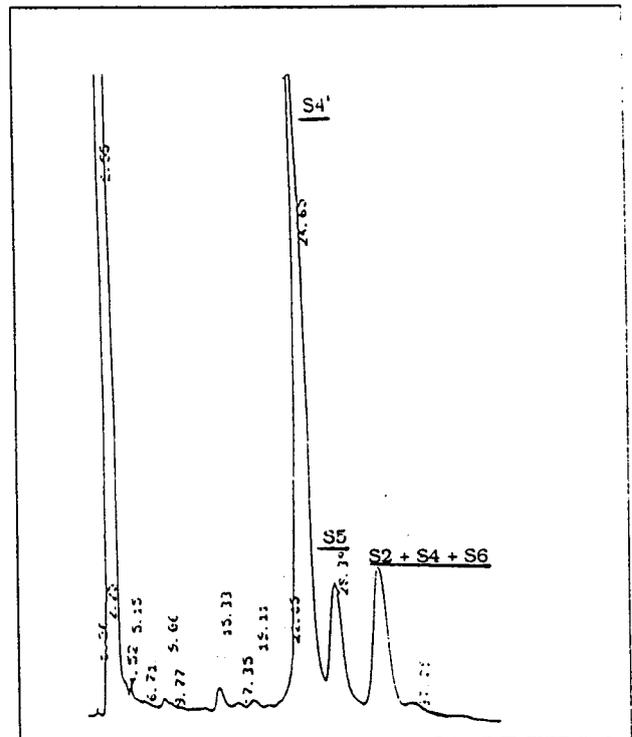
C.L.H.P.

*Luffa acutangula*

Figure 3-23 : Profils totaux des alcools triterpéniques des huiles de graines du genre *Luffa*.  
( Annexe 4, C.P.G. 2, C.L.H.P. 3)

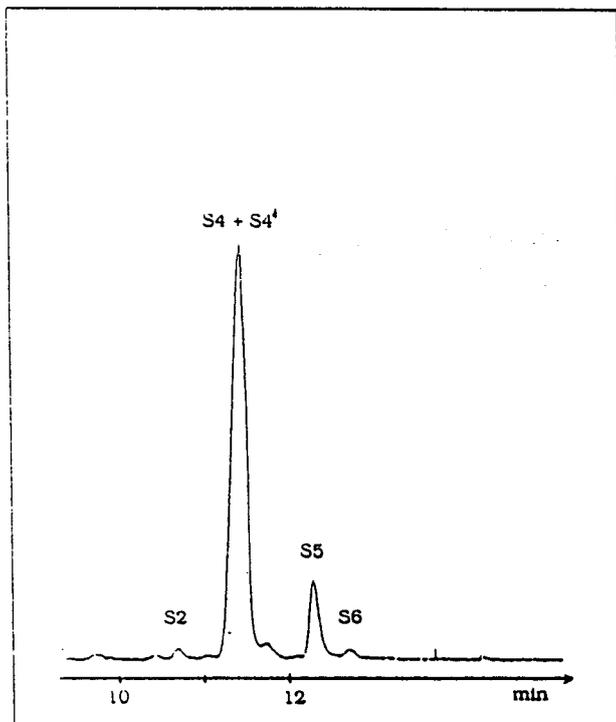


C.P.G.

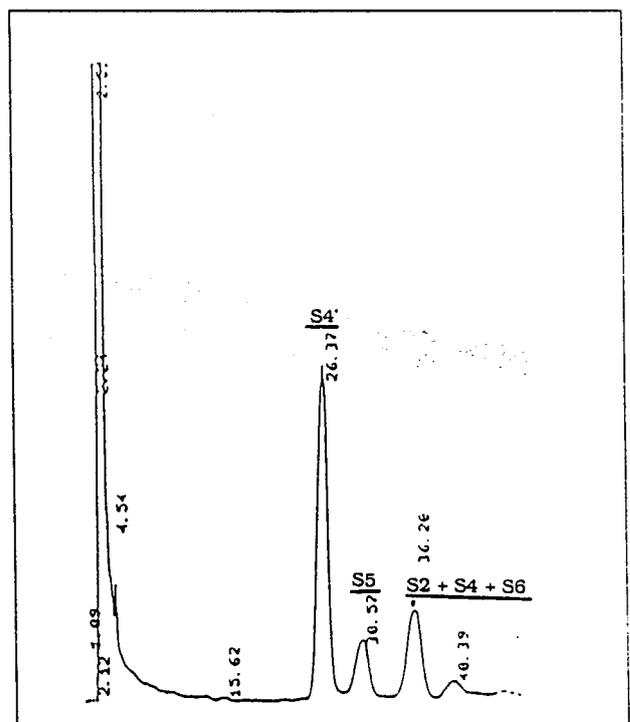


C.L.H.P.

*Luffa cylindrica*



C.P.G.



C.L.H.P.

*Luffa acutangula*

Figure 3-24 : Profils totaux des stérols des huiles de graines du genre *Luffa*.

( Annexe 4, C.P.G. 2, C.L.H.P. 3)

Tableau III-21

Les A.T. des huiles extraites des graines du genre *Luffa*

n°	T.R.R. C.P.G.	T.R.R. C.L.H.P.	Composés	<i>Luffa cylindrica</i> (%)	<i>Luffa acutangula</i> (%)
A2	1,25	-	N.I. <sup>+</sup>	7,9	3,1
A3	1,26	0,92	Taraxérol	11,7	5,0
A4	1,28	0,95	Lanostérol	17,9	8,1
A5	1,30	0,84	$\beta$ -amyrine	14,8	17,1
A6	1,34	0,92	Lupéol	13,1	18,9
A7	1,36	0,95	Cycloarténol	20,9	39,6
A7'	1,36	1,00	$\alpha$ -amyrine		
A8	1,47	1,11	24-Méthylèncycloartanol	6,8	8,2
Autres	-	-	N.I. <sup>+</sup>	6,9	-

\*N.I. : non identifiés

La composition en A.T. des deux espèces du genre *Luffa* est qualitativement similaire. Parmi les sept composés identifiés, le taraxérol et le lanostérol sont plus abondants dans l'huile de l'espèce *Luffa cylindrica* où ils représentent respectivement 11,7% et 17,9 % des A.T. totaux. En revanche, ils sont détectés chez l'espèce *Luffa acutangula* à des teneurs inférieures à 10 %. Le lanostérol est un composé généralement présent chez les organismes non photosynthétiques mais il est retrouvé par exemple chez les Euphorbiacées [111]. Le cycloarténol constitue avec l' $\alpha$ -amyrine 20,9 % du mélange des A.T. totaux de pipangaille lisse alors qu'il représente 39,6 % de l'huile de l'espèce à côtes. Le 24-méthylèncycloartanol est contenu en proportion équivalente dans les deux huiles (6,8 % pour l'espèce *cylindrica* et 8,2 % pour l'espèce *acutangula*).

### 3. 2. 2. 2. 2. Les stérols

Les profils totaux des stérols acétylés des deux espèces du genre *Luffa* ont été obtenus par C.P.G. et C.L.H.P. ( cf. figure 3-24).

Ces profils, tant en C.P.G. qu'en C.L.H.P., sont qualitativement identiques. Les trois pics observés en C.L.H.P. ont été récupérés. La pureté de chaque fraction est ensuite

vérifiée par C.P.G.. Parallèlement une partie de la fraction totale des stérols acétylés est séparée par C.C.M.-argentique. Le mélange éluant utilisé est le CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-CCl<sub>4</sub> (1 : 5, v/v) et cinq ou sept développements successifs ont permis d'isoler divers composés. Les produits désorbés dans le mélange CHCl<sub>3</sub>-MeOH (90 : 10, v/v) ont été ensuite purifiés par C.L.H.P..

Les stérols isolés ont été identifiés en fonction des données obtenues par leurs spectres de masse et de résonance magnétique nucléaire du proton. Le tableau III-22 répertorie les différents stérols isolés.

Tableau III-22  
Les stérols des huiles extraites des graines du genre *Luffa*

n°	T.R.R. C.P.G.	T.R.R. C.L.H.P.	Composés	<i>Luffa cylindrica</i> (%)	<i>Luffa acutangula</i> (%)
S2	1,18	1,17	Stigmastérol	8,0	1,9
S4	1,27	1,17	Stigmasta-7,22-dién-3β-ol	78,6	86,0
S4'	1,27	0,85	Stigmasta-7,22,25-trién-3β-ol		
S5	1,34	1,00	Stigmasta-7,25-dién-3β-ol	11,4	10,5
S6	1,36	1,17	N.I.+	2,0	1,6

\*N.I. : non identifié

Les huiles de genre *Luffa* présentent une composition en stérols qualitativement et quantitativement similaire. Le stigmastérol, seul Δ5-stérol identifié, représente 8,0 % des stérols totaux de l'espèce *Luffa cylindrica* alors que l'espèce *Luffa acutangula* n'en compte que 1,9 %. Ces huiles sont majoritaires en Δ7-stérols qui représentent 92,0 et 98,1 % des stérols totaux des espèces de pipangaille lisse et pipangaille à côtes. Quantitativement, le mélange composé du stigmasta-7,22-dién-3β-ol et du stigmasta-7,22,25-trién-3β-ol est majoritaire avec une teneur supérieure à 78,0 %. Le stigmasta-7,25-dién-3β-ol est contenu en proportion équivalente dans les huiles du genre *Luffa*. Il constitue 11,4 % de l'huile de l'espèce lisse et 10,5 % de celle de l'espèce à côtes.

### 3. 2. 3. - Le genre *Momordica*

#### 3. 2. 3. 1. Généralités et description botanique

Le genre *Momordica*, qui comprend plus de 600 espèces, est présent sous les tropiques d'Afrique et d'Asie. Ses représentants sont des herbes grimpantes aux fleurs jaunes ; leurs fruits sont souvent verruqueux.

Le genre *Momordica* est constitué de plantes présentant à la fois des qualités nutritionnelles et médicinales. Ainsi au Mozambique, l'adjonction des feuilles et des fruits de l'espèce *Momordica balsamina* permettent d'enrichir les régimes alimentaires pauvres en protéines [112]. Par ailleurs, la culture aisée de cette plante est un avantage qui atteste du faible coût de ce supplément protéinique. De nombreuses utilisations de *Momordica balsamina* dans les médecines traditionnelles du Mozambique, de l'Inde et de l'Amérique du sud sont rapportées. Ainsi, par exemple, ses parties aériennes sont réputées antibactériennes, analgésiques...[113]. L'espèce *Momordica dioica* est cultivée sous la forme de trois variétés en Inde. C'est une cucurbitacée appréciée pour sa valeur nutritionnelle au Bangladesh [114]. Les caractères astringents, diurétiques et anthelmintiques de toute la plante expliquent son utilisation dans la médecine locale [115].

L'espèce *Momordica charantia* est la plus répandue. Cultivée sous la forme de plusieurs variétés, elle est utilisée comme herbes médicinales et légumes potagers [104].

Le centre de domestication de cette espèce, plus connue sous le nom de « bitter melon », est la région de l'Inde et du sud de la Chine. Elle aurait été importée en Amérique par des esclaves indiens [104].

Cette espèce a fait l'objet de nombreuses recherches en raison de son importante utilisation alimentaire et médicinale. En 1988, des travaux menés dans le Bassin des Caraïbes ont permis d'identifier divers constituants chimiques présents dans la plante [116]. Ces résultats sont présentés dans le tableau III-23.

Tableau III-23

Constituants chimiques de divers organes de *Momordica charantia*

Parties de la plante	Types de constituants	Noms du constituant
Parties aériennes	triterpènes	momordicines I, II et III
Fruit	acides aminés et dérivés	alanine, $\beta$ -alanine, $\gamma$ -alanine, acide $\gamma$ -amino-butérique, acide glutamique, proline, tryptamine, polypeptide p
	stéroïdes	charantine, $\alpha$ -spinastérol, $\beta$ -sitostérol, stigmastérol et dérivés
	glucides	acide D-galacturonique
Fruit avant maturité en entier	saponines	diosgénine
	triterpènes	momordicosides E, F, H, I, J, K, L
Péricarpe du fruit	caroténoïdes	$\alpha$ , $\beta$ et $\gamma$ carotènes et dérivés lutéine, lycopène rubixanthine, zéaxanthine, zéinoxanthine
Graine	acides aminés et dérivés	alanine, arginine, asparagine, acide aspartique, acide glutamique, glycine, histidine, leucine, iso-leucine, lysine, ornithine, sérine, tyrosine et vicine $\alpha$ et $\beta$ -momorcharines, momordine, zéatine et zéatine riboside
	triterpènes	momordicosides A, B, C, D et E

Les triterpènes de l'espèce *Momordica charantia* ont un squelette du type cucurbitane. Les diverses parties de la plante ont un goût amer dû à la présence de momordicine [104]. L'amertume du fruit est causé par la présence de momordicosides qui sont en fait des cucurbitacines [117,118]. Ces substances amères confèrent aux drogues qui en renferment des propriétés purgatives drastiques [119].

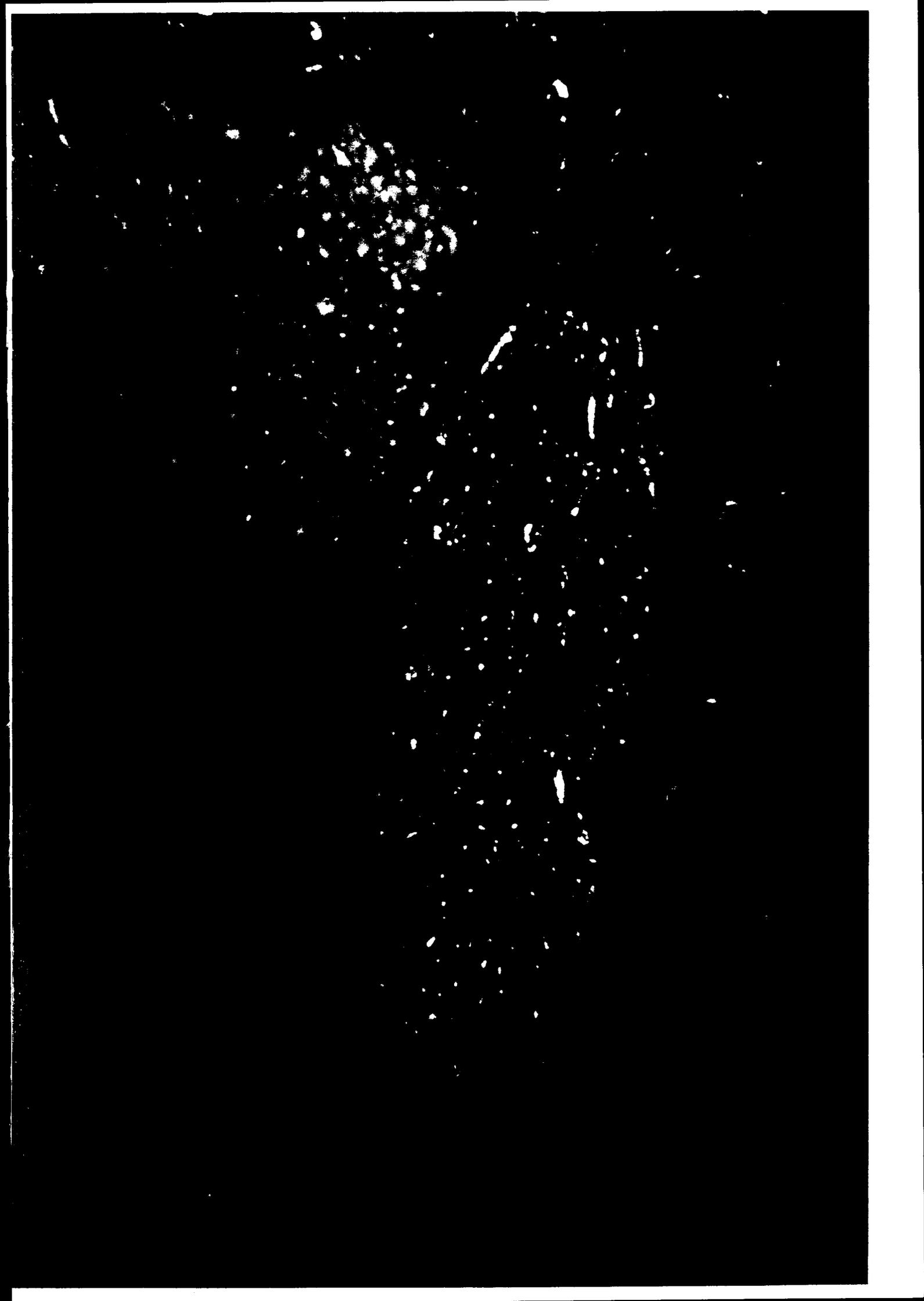
Des études ont montré que la présence de momordicine II dans les feuilles de *Momordica charantia* exerce un effet répulsif vis-à-vis des coléoptères rouges (*Aulacophora foveicollis* Lucas) qui sont généralement friands des feuilles des autres Cucurbitacées [120]. En revanche, la présence de cucurbitacines B et E stimule l'appétit de ces coléoptères rouges. Ces effets antagonistes découleraient de la structure différente de ces triterpènes. La momordicine II se caractérise par une fonction aldéhyde en C-19 ainsi qu'un groupe 23-O- $\beta$ -glucopyranosyl et, contrairement aux cucurbitacines, aucune fonction carbonyle n'est en C-11 [120].

Une saponine, la diosgénine, est présente dans le fruit non mature. Ce composé est connu pour sa participation dans la synthèse d'hormones sexuelles, utilisées dans la fabrication de pilules contraceptives, comme la progestérone [121].

*Momordica charantia* est reconnu pour ses qualités nutritionnelles et ses nombreuses utilisations :

- la plante est réputée insecticide en Chine [122], ses feuilles contenant des principes insecticides et antibactériens [124]. Le fruit cuit est un remède contre le rhume, la toux. Les fleurs traitent l'asthme et elles ont des propriétés abortives lorsqu'elles sont utilisées en décoction\*.
- les extraits de feuilles ou les feuilles écrasées sont utilisés contre l'eczéma et les brûlures ; on prend aussi les fruits et les graines comme remèdes laxatifs\* ou vermifuges. Le suc des racines est utilisé pour nettoyer les yeux [104].
- aux Caraïbes, les parties aériennes sont réputées fébrifuges\*, antigrippales, antirhumatismales, apéritives\* et vulnéraires\* [116].
- des principes hypoglycémiantes ont été mis en évidence dans la pulpe des fruits. Ces effets sont dus à la charantine [123]. Ce composé est un mélange, à parts égales, de dérivés glucosyl du sitostérol et du stigmasta-5,25-dién-3 $\beta$ -ol [124,125]. La charantine stimule la sécrétion de l'insuline en agissant sur les cellules  $\beta$  de Langerhans du pancréas [126].
- la graine montre une activité anthelminthique in vitro. Elle est abortive\* chez le rat à la dose de 8 mg/kg par voie péritonéale\* [116]. In vitro, c'est un inhibiteur de la synthèse protéique car elle contient des lectines. Deux d'entre elle ont pu être identifiés. Il s'agit de la momordine et de l'agglutinine [127].
- à Madagascar, les graines sont utilisées comme vermifuge et purgatif. En Inde, les fruits soignent la jaunisse, la lèpre et les vers intestinaux. Aux Antilles, les feuilles servent à préparer un onguent efficace contre la gale et les maladies de la peau. Au Sénégal, les racines sont réputées abortives et antisiphilitiques\* [87].

L'espèce *Momordica charantia* (photographie 5), introduite à La Réunion en 1764 par Brenier, est originaire du littoral indien bordant le Golfe du Bengale. La margoze, nom vernaculaire réunionnais, est cultivée sur le littoral et en moyenne altitude (500 m). Ses



graines sont semées au début de la saison des pluies, vers septembre-novembre. La culture s'étend sur six à sept mois tandis que la récolte peut se faire dès 3 mois [2]. La margoze est une plante herbacée, monoïque et annuelle, qui peut grimper jusqu'à 2 m. Les feuilles sont profondément découpées en cinq à sept lobes. Les fleurs de couleur jaune-pâle et à long pédoncule prennent naissance à l'aisselle des feuilles. Le fruit de couleur vert, charnu et oblongue, présente une surface verruqueuse. Il contient des graines ornementées, plates et blanchâtres [87]. La production annuelle de margoze, selon les sources de la Direction de l'Agriculture et de la Forêt de la Réunion, était de 360 quintaux en 1982. Cette production a connu une hausse remarquable vers les années 1986 à 1991 où près de 1065 quintaux ont été récoltés. Depuis, sa production a diminué ; elle était de 367 quintaux en 1995. Ce légume est cultivé fréquemment dans les potagers de l'île. Il est consommé cru, en salade, confit au vinaigre ou préparé en achards comme condiments ou en « rougail »\* [87]. Une cuisson préalable ou une macération dans de l'eau salée ou citronnée permet d'atténuer son amertume [2].

### 3. 2. 3. 2. Composition chimique

#### 3. 2. 3. 2. 1. Fraction saponifiable

##### 3. 2. 3. 2. 1. 1. Les Acides Gras

Les acides gras du beurre de margoze, préalablement estérifiés sous la forme d'esters méthyliques, sont analysés par C.P.G. Les A.G. ont été identifiés par comparaison de leurs temps de rétention avec ceux d'étalons standards.

La quantification des esters méthyliques d'acides octadécatriénoïques conjugués présents est déterminée par C.L.H.P. couplée à un spectromètre U.V. fixé à la longueur d'onde de 284 nm [19].

La composition quantitative en acides gras du beurre de margoze est obtenue par l'utilisation conjointe de la C.P.G. et de la C.L.H.P.. Elle figure dans le tableau III-24.

Tableau III-24

Composition en acides gras du beurre de graines de *Momordica charantia*  
(Valeurs exprimées en % molaires)

Acides gras		<i>Momordica charantia</i>
		Composition déterminée par l'utilisation conjointe de la C.P.G. et de la C.L.H.P.
Acide palmitique	C16 : 0	2,2
Acide stéarique	C18 : 0	34,0
Acide oléique	C18 : 1 (n-9)	2,2
Acide linoléique	C18 : 2 (n-6)	3,6
Acide punicique ou acide octadécatrién-9c,11t,13c-oïque		0,9
Acide catalpique ou acide octadécatrién-9t,11t,13c-oïque Acide $\alpha$ -éléostéarique ou acide octadécatrién-9c,11t,13t-oïque		56,2
Acide $\beta$ -éléostéarique ou acide octadécatrién-9t,11t,13t-oïque		0,9

Le beurre de margoze contient les acides gras couramment rencontrés dans les huiles végétales, à savoir les acides palmitique, stéarique, oléique et linoléique, ainsi qu'un mélange inhabituel d'acides octadécatriénoïques dont les trois doubles liaisons sont conjuguées. Quantitativement, ce mélange d'acide gras, où plusieurs isomères sont présents, est majoritaire (58,0 %) ; le beurre de margoze contient très peu d'acide linoléique (3,6 %) et une quantité élevée d'acide stéarique (34,0 %).

Le spectre U.V. du beurre de margoze à la longueur d'onde de 272 nm présente une absorption spécifique de l'ordre de 1227. Ce maximum d'absorption qui est caractéristique d'un système triéthylénique conjugué confirme la présence d'acides gras à trois doubles liaisons conjugués dans l'extrait lipidique de *Momordica charantia* [47].

La composition qualitative et quantitative des acides octadécatriénoïques conjugués est précisée par C.L.H.P.. Les différents isomères apparaissent en fonction de la configuration de leurs doubles liaisons dans l'ordre suivant : *cis,trans,cis* / *cis,trans,trans* et

*trans,trans,cis* / *trans,trans,trans* [19]. Le mélange d'isomères géométriques d'acide gras conjugué du beurre de margoze est composé de :

- ⇒ 1,5 % d'acide punique (acide octadécatrién-9*c*,11*t*,13*c*-oïque)
- ⇒ 97,0 % d'acide  $\alpha$ -éléostéarique (acide octadécatrién-9*c*,11*t*,13*t*-oïque) et acide catalpique (acide octadécatrién-9*t*,11*t*,13*c*-oïque)
- ⇒ 1,5 % d'acide  $\beta$ -éléostéarique (acide octadécatrién-9*t*,11*t*,13*t*-oïque)

Le beurre de margoze est majoritaire en acides  $\alpha$ -éléostéarique et catalpique. Leurs teneurs respectives n'ont pu être déterminées ; la C.L.H.P. ne sépare pas en effet ces deux isomères géométriques. La littérature rapporte néanmoins que les extraits lipidiques de *Momordica charantia* sont majoritaires en acide  $\alpha$ -éléostéarique [22,128,129,130].

Afin de vérifier cette plus forte proportion d'acide  $\alpha$ -éléostéarique par rapport à l'acide catalpique, une analyse du beurre de margoze a été réalisée par R.M.N. du carbone 13. Les déplacements chimiques des atomes de carbone éthyléniques de ces deux acides gras étant différents, il est possible de mettre en évidence par cette technique la présence ou non de ces deux isomères géométriques [20,21,25,131,132,133,134]. Le tableau III-25 regroupe les résultats obtenus.

Tableau III-25

Déplacements chimiques (en ppm) des atomes de carbone des A.G. majoritaires du beurre de *Momordica charantia*.

$\delta$ (ppm)	Attributions
13,91	E <sub>18</sub>
14,10	S <sub>18</sub>
22,25	E <sub>17</sub>
22,71	S <sub>17</sub>
24,87	E <sub>3</sub>
24,91	S <sub>3</sub>
27,83	E <sub>8</sub>
29,04 → 29,73	tous CH <sub>2</sub> confondus
29,72	E <sub>7</sub>
31,52	E <sub>16</sub>
31,96	S <sub>16</sub>
32,50	E <sub>15</sub>
34,06	E <sub>2</sub>
34,09	S <sub>2</sub>
125,97	E <sub>11</sub> en 2
125,99	E <sub>11</sub> en 1,3
128,81	E <sub>10</sub> en 1,3
128,83	E <sub>10</sub> en 2
130,63	E <sub>13</sub> en 2
130,64	E <sub>13</sub> en 1,3
131,70	E <sub>9</sub> en 2
131,74	E <sub>9</sub> en 1,3
132,91	E <sub>12</sub> en 1,3
132,93	E <sub>12</sub> en 2
135,16	E <sub>14</sub> en 1,3
135,18	E <sub>14</sub> en 2

E<sub>18</sub> : C<sub>18</sub> de l'acide  $\alpha$ -élostéarique ; E<sub>17</sub> : C<sub>17</sub> de l'acide  $\alpha$ -élostéarique ; ...

S<sub>18</sub> : C<sub>18</sub> de l'acide stéarique ; S<sub>17</sub> : C<sub>17</sub> de l'acide stéarique ; ...

Les déplacements chimiques des atomes de carbone des A.G. majoritaires, à savoir l'acide stéarique et le mélange d'acides octadécatriénoïques conjugués figurent dans le tableau III-25, du fait du seuil de détection des A.G. par R.M.N.. Dans la zone de résonance des protons éthyléniques, nous avons observé uniquement les signaux correspondant aux atomes de carbone 9, 10, 11, 12, 13 et 14 de l'acide  $\alpha$ -élostéarique [20]. Aucun signal, même très faible, n'a été observé pour l'acide catalpique. Remarquons que de très faibles signaux éthyléniques des acides oléique et linoléique ont été tout de même détectés, l'acide oléique ne représentant que 2,2 % des A.G. totaux. Toutes ces

observations nous amènent à conclure que l'acide  $\alpha$ -éléostéarique est l'acide gras octadécatriénoïque conjugué largement majoritaire du beurre de margoze. Le beurre de margoze serait donc du type stéarique- $\alpha$ -éléostéarique.

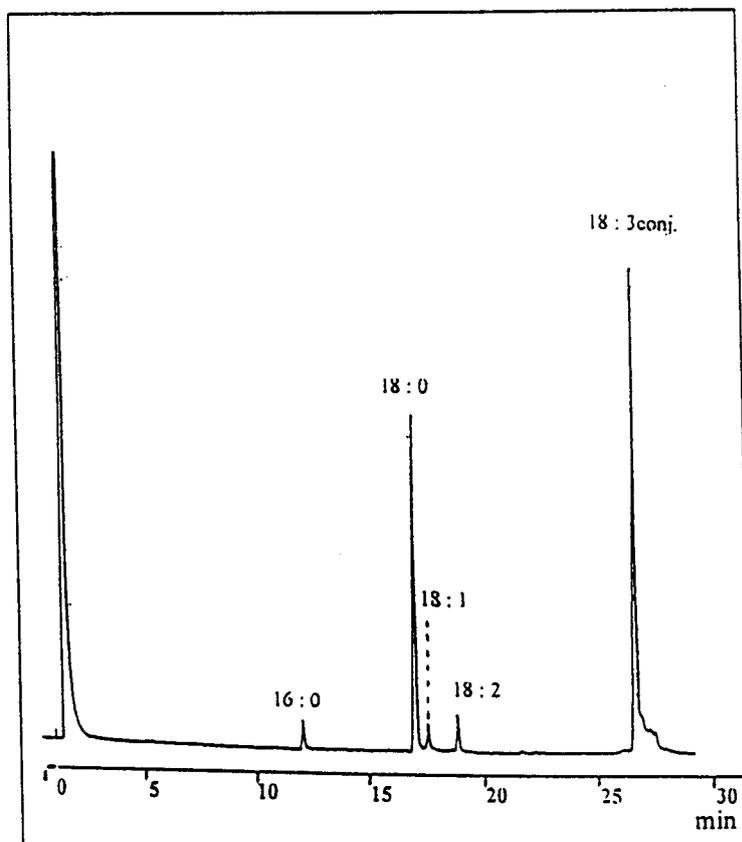
Les chromatogrammes des E.M.A.G. de *Momordica charantia* obtenus par C.P.G. et C.L.H.P., interprétés en se basant sur l'ensemble de ces observations, sont donnés à la figure 3-25.

D'après les données de la littérature, sept isomères d'acide octadécatriénoïque conjugué ont été isolés et identifiés [22,121,135,136]. Trois isomères ont des doubles liaisons localisées respectivement sur les carbones numérotés 8, 10 et 12. Il s'agit de l'acide octadécatrién-8*c*,10*t*,12*c*-oïque ou acide jacarique, de l'acide octadécatrién-8*t*,10*t*,12*c*-oïque ou acide calendique et de l'acide octadécatrién-8*t*,10*t*,12*t*-oïque. Quatre isomères ont des doubles liaisons sur les carbones numérotés 9, 11 et 13. Il s'agit de l'acide octadécatrién-9*c*,11*t*,13*c*-oïque ou acide catalpique, de l'acide octadécatrién-9*c*,11*t*,13*t*-oïque ou acide  $\alpha$ -éléostéarique, de l'acide octadécatrién-9*t*,11*t*,13*c*-oïque ou acide punique et de l'acide octadécatrién-9*t*,11*t*,13*t*-oïque ou acide  $\beta$ -éléostéarique. Ces sept isomères dérivent tous de  $\alpha$ -linolénoïque par oxydation et déshydratation.

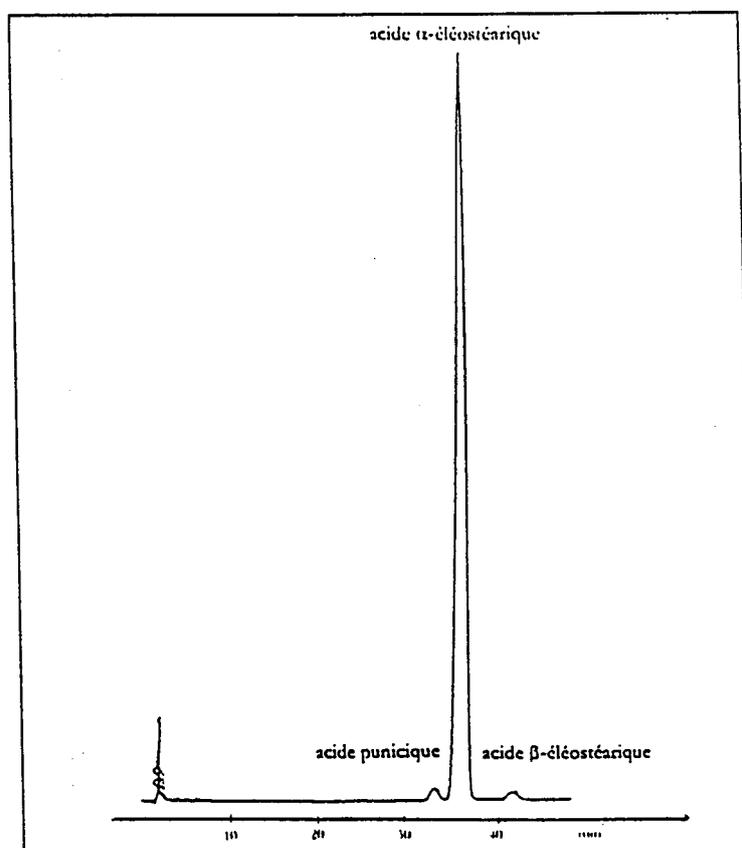
Historiquement, l'acide  $\alpha$ -éléostéarique a été décelé en 1887 par Cloëz mais c'est en 1925 que sa structure a été déterminée par Boëseken et Ravenswaay [136,137]. Les acides punique et catalpique ont été découverts pour la première fois dans les huiles extraites respectivement des graines de *Punica granatum* et *Catalpa ovata* [47]. Ces isomères identifiés dans les huiles végétales naturelles s'isomérisent en acide  $\beta$ -éléostéarique. Cet isomère *trans* serait vraisemblablement un produit issu de la dégradation des acides  $\alpha$ -éléostéarique et punique [19,136].

Le beurre de margoze est inapte à la consommation en raison de sa forte teneur en acides gras conjugués mais il est valorisé dans le domaine de la fabrication de peintures, de vernis, d'encres...[12]. En effet, selon Aggarwal, la présence d'acides gras à doubles liaisons conjuguées est responsable de la polymérisation et de la solidification de l'huile extraite de cette cucurbitacée [129].

Ainsi, depuis quelques années, les industriels orientent leur recherche vers la fabrication de produits « écologiques » ne présentant aucun danger pour l'environnement.



C.P.G.



C.L.H.P.

Figure 3-25 : Les acides gras du beurre de graines de *Momordica charantia*.  
( Annexe 4, C.P.G. 1, C.L.H.P. 1)

Dans l'industrie de la peinture, l'introduction des huiles végétales a permis de diminuer considérablement l'utilisation de solvants organiques souvent toxiques [138,139,140]. La recherche et le développement de nouvelles formulations de peintures conduisent les chercheurs vers des huiles contenant des acides gras particuliers qui remplaceraient avantageusement les matériaux bruts d'origine pétrochimique.

C'est ainsi que l'huile de lin qui contient comme acide gras majeur l'acide  $\alpha$ -linoléique a longtemps été employée dans les formulations de peintures. Dans les années 1990, de nouvelles huiles ont avantageusement remplacé ce corps gras. Citons par exemple, les huiles de soja, de colza, de tournesol, de tung... [138,139,140]. Remarquons que l'huile de tung, extraite des graines de *Aleurites fordii*, renferme 70 % d'acide  $\alpha$ -éléostéarique. Grâce à la présence de cet acide gras, l'huile est très sensible à la lumière et sèche rapidement ; on obtient alors un film rigide très résistant imperméable à l'eau et à la saponification [138].

L'huile de tung, par ses nombreux avantages, devint rapidement la panacée dans les formulations de peintures à base d'huiles végétales. Depuis 1970, les industries des Etats-Unis, d'Europe et du Japon dépendent entièrement de la production d'huile de tung en Amérique du sud. Néanmoins, la hausse spectaculaire du prix de cette huile de 1989 à 1993, une production aléatoire ainsi qu'une qualité inconstante ont poussé les industries à rechercher d'autres sources d'acide  $\alpha$ -éléostéarique.

Le beurre extrait des graines de *Momordica charantia* présente une composition qualitative en acide gras similaire à celle de l'huile de tung. Cette espèce végétale pourrait alors devenir une nouvelle source d'huile siccatrice [141]. *Momordica charantia* présente, par ailleurs, d'autres avantages. Sa forte teneur en acide stéarique augmente le temps de séchage contrairement à l'huile de tung à qui on reprochait un temps de séchage trop rapide. Le tourteau de *Momordica charantia* a également de bonnes propriétés nutritionnelles. Il constituerait un excellent aliment pour le bétail contrairement au tourteau d'*Aleurites fordii* qui était jugé toxique par la présence de saponines et de protéines délétères pour les animaux [141].

La littérature rapporte de nombreuses études réalisées sur la détermination de la composition en acides gras des espèces du genre *Momordica*. Dans le tableau III-26 est

Tableau III-26

Comparaison de la composition en acides gras des corps gras de graines du genre *Momordica*  
(valeurs exprimées en % molaires)

Acides gras	<i>Momordica charantia</i>					<i>Momordica balsamina</i>	<i>Momordica cochinchinensis</i>		<i>Momordica charantia</i>
	Mississippi [141]	Japon [142]	Inde [129]	Mexique [143]	Sénégal [142]		Vietnam [144]	Vietnam [85]	
Acide laurique C 12 : 0	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Acide myristique C 14 : 0	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Acide palmitique C 16 : 0	1,6-1,9	1,5	-	14,8	-	13,6	33,8	2,9	2,7
Acide palmitoléique C 16 : 1	0,12-0,16	-	-	-	-	-	-	0,3	-
Acide stéarique C 18 : 0	21,7-26,5	17,4	29,8	82,9	7,5	7,5	7,1	21,0	32,4
Acide oléique C 18 : 1 (n-9)	3,1-4,6	14,6	15,8	0,9	5,1	5,1	44,4	14,2	2,0
Acide linoléique C 18 : 2 (n-6)	3,1-4,6	8,6	7,7	0,5	6,5	6,5	14,7	7,9	3,2
Acide linoléinique C 18 : 2 (n-3)	0,5-0,6	-	-	0,9	-	-	-	-	-
Acides conjugués C 18 : 3 conj.	63,4-67,9	56,2	46,7	-	13,1	13,1	-	-	57,9
♦ acide $\alpha$ -éléostéarique					2,0	2,0			0,9
♦ acide catalpique		0,3			1,1	1,1		53,6	0,9
♦ acide $\beta$ -éléostéarique					50,6	50,6			0,9
♦ acide punicique									
Acide arachidique C 20 : 0	-	0,3	-	0,9	-	-	-	-	-
Acide gondoïque C 20 : 1 (n-9)	-	0,3	-	-	-	-	-	-	-
Autres	-	0,8	-	-	0,5	0,5	-	-	-

présentée la composition en acides gras des espèces *charantia*, *balsamina* et *cochinchinensis* du genre *Momordica*.

Le genre *Momordica* se caractérise par la présence majoritaire d'acides octadécatriénoïques conjugués à l'exception des espèces *Momordica charantia* et *Momordica cochinchinensis* cultivées respectivement au Mexique et au Vietnam. L'espèce provenant du Mexique contient comme acide gras principal l'acide stéarique qui représente 82,9 % des acides gras totaux. En revanche, l'espèce du Vietnam se différencie par une teneur de 44,4% d'acide oléique.

Plusieurs isomères de l'acide polyéthylénique conjugué ont été identifiés. Dans le beurre originaire du Japon, l'acide gras prépondérant est l'acide  $\alpha$ -éléostéarique, accompagné de faibles quantités d'acide  $\beta$ -éléostéarique. L'extrait lipidique de *Momordica balsamina* contient quatre isomères à savoir les acides  $\alpha$ -éléostéarique, catalpique,  $\beta$ -éléostéarique et punicique que l'on retrouve également chez l'espèce *Momordica charantia* de l'île de La Réunion. Bien que leur composition qualitative soit similaire, ces deux espèces sont quantitativement différentes. L'espèce *charantia* contient majoritairement le mélange d'acides  $\alpha$ -éléostéarique et catalpique alors que l'acide punicique est l'acide gras prépondérant du beurre de l'espèce *balsamina*. L'extrait lipidique de *Momordica cochinchinensis* se caractérise également par la présence dominante de l'acide punicique qui est, par ailleurs, le seul isomère détecté.

Les beurres de *Momordica cochinchinensis* originaires du Vietnam présentent une composition en acides gras qualitativement différente. La présence de l'acide punicique est rapporté dans un seul des deux corps gras où, par ailleurs, il est l'acide gras majoritaire. L'autre extrait lipidique se caractérise par une teneur prépondérante de 44,4 % en acide oléique ; cette valeur est exceptionnelle dans le genre *Momordica*.

Les beurres extraits de l'espèce *Momordica charantia* contiennent des isomères de l'acide octadécatriénoïque conjugué à l'exception de celle originaire du Mexique. L'isomère prépondérant est l'acide  $\alpha$ -éléostéarique. L'espèce réunionnaise contient majoritairement l'acide  $\alpha$ -éléostéarique comme le confirme la littérature [22,128,129,130]. La présence de cet acide gras octadécatriénoïque conjugué est accompagnée de quantités substantielles d'acide stéarique qui représente environ 20 à 30 % des acides gras totaux.

Des teneurs d'acide oléique inférieures à 4,6 % sont enregistrées pour les espèces originaires du Mississippi et de la Réunion tandis que celles du Japon et de l'Inde se caractérisent par des teneurs de l'ordre de 15 %. Les beurres de *Momordica charantia* contiennent de faibles quantités d'acide palmitique à l'exception des espèces du Japon où il est inexistant et de celle du Mexique où sa teneur est de 14,8 %. Le beurre originaire du Mississippi se différencie par sa faible teneur en acides palmitoléique et linoléique. La présence en faibles quantités d'acides arachidique et gondoïque seraient spécifiques de l'espèce cultivée au Japon.

### 3. 2. 3. 2. 1. 2. Les triacylglycérols

- *Détermination de la composition en acides gras des T.A.G. :*

Les T.A.G. sont extraits du beurre de margoze sur colonne ouverte de silice. Après méthanolyse basique, les acides gras estérifiés sont ensuite analysés par C.P.G. sous la forme d'E.M.A.G. La composition en acides gras des T.A.G. est reportée dans le tableau III-27.

Tableau III-27

Composition en acides gras des T.A.G du beurre de graines de *Momordica charantia*  
(Valeurs exprimées en % molaires)

Acides gras	Margoze	
	T.A.G.	beurre
Acide palmitique	1,0	2,2
Acide stéarique	34,8	34,0
Acide oléique	1,6	2,2
Acide linoléique	4,3	3,6
Acides octadécatriénoïques conjugués	58,3	58,0

La composition qualitative et quantitative en acides gras obtenue à partir des T.A.G. diffère peu de celle des acides gras totaux. Les variations minimales qui découlent de la

comparaison de la composition en acides gras des T.A.G. et du beurre sont de l'ordre de 1%.

- *Détermination de la répartition des acides gras en sn-2 et sn-1,3 par hydrolyse enzymatique des T.A.G.*

La présence de ces A.G. octadécatriénoïques conjugués dans le beurre de margoze n'a pas rendu possible la détermination de la répartition des A.G. en sn-2 et sn-1,3 par la dégradation chimique ménagée des T.A.G.. Afin d'accéder néanmoins à cette information, nous avons effectué une hydrolyse enzymatique des T.A.G par la lipase pancréatique de porc. Cette enzyme régiosélective hydrolyse préférentiellement les positions sn-1 et sn-3 du glycérol, la position sn-2 pouvant être hydrolysée mais à des vitesses plus faibles. La lipase pancréatique présente une spécificité vis-à-vis de la nature des A.G. constitutifs du corps gras[93].

L'hydrolyse des T.A.G. est réalisée dans des conditions favorables au fonctionnement optimal de l'enzyme. Elle se déroule à 40°C en milieu tamponné pendant une durée de 3 minutes afin de limiter les migrations possibles de groupes acyles de la position interne vers les positions externes [145].

Les produits de la réaction constitués de M.A.G., de D.A.G., d'A.G.L. et des T.A.G. résiduels sont fractionnés par C.C.M.. La bande correspondant aux M.A.G. est grattée et désorbée dans du méthanol. Après filtration et évaporation, les produits sont estérifiés et analysés en C.P.G.

La composition en acides gras des M.A.G. permet de déterminer la répartition des acides gras en positions sn-1,3 par la formule suivante :

$$\boxed{[\text{sn} - 1,3] \% = \frac{3 \cdot [\text{T.A.G.}] \% - [\text{sn} - 2] \%}{2}}$$

Les résultats présentés dans le tableau III-28 sont la moyenne de trois hydrolyses ayant conduit à des résultats concordants et de deux analyses par C.P.G..

Tableau III-28

Répartition interne/externe des acides gras des T.A.G. du beurre de *Momordica charantia* obtenue par hydrolyse enzymatique

Acides gras	T.A.G. totaux	Position 2		Positions 1+3	
		(a)	(b)	(a)	(b)
Acide palmitique	1,0	0,3	30	0,7	70
Acide stéarique	34,8	1,4	4	33,4	96
Acide oléique	1,6	1,3	81	0,3	19
Acide linoléique	4,3	4,1	95	0,2	4
Acides octadécatriénoïques conjugués	58,3	26,2	45	32,1	55

(a) : pourcentage molaire de chaque A.G. par rapport aux A.G. totaux en *sn*-2 et *sn*-1,3.

(b) : proportion centésimale de chaque A.G. entre les positions interne et externes.

Les acides saturés sont distribués préférentiellement sur les positions *sn*-1 et *sn*-3 du glycérol. Ainsi 70 % de l'acide palmitique et 96 % de l'acide stéarique estérifient les positions externes. En revanche, les acides oléique et linoléique se répartissent majoritairement en position interne, puisque 81 % et 95 % respectivement de ces A.G. y sont présents. Les acides gras particuliers sont distribués presque équitablement en positions interne et externes où sont présents respectivement 45 % et 55 % de sa teneur totale. Cette répartition des A.G. polyéthyléniques conjugués sur les positions interne et externes du glycérol se singularise par rapport à celles rencontrées dans la littérature [20,95,97,143]. Les A.G. particuliers sont en effet connus pour estérifier préférentiellement les positions externes, et plus précisément la position *sn*-3. Dans notre cas, 55 % de ces A.G. particuliers ne sont présents qu'en positions externes.

La détermination de la composition centésimale des A.G. présents sur les positions interne et externes du glycérol du beurre de margoze est reportée dans le tableau III-29.

Tableau III-29

Composition centésimale des A.G. présents sur les positions *sn*-2 et *sn*-1,3 pour le beurre de *Momordica charantia*

Acides gras	<i>Momordica charantia</i>		
	T.A.G. totaux	[ <i>sn</i> -2] %	[ <i>sn</i> -1,3] %
Acide palmitique	1,0	0,9	1,0
Acide stéarique	34,8	4,2	50,1
Acide oléique	1,6	3,9	0,4
Acide linoléique	4,3	12,3	0,3
Acides octadécatriénoïques conjugués	58,3	78,7	48,1

La position interne du glycérol est estérifiée majoritairement par les acides octadécatriénoïques conjugués (78,7 %) puis par l'acide linoléique (12,3 %). Les positions externes sont estérifiées à 50,1 % par l'acide stéarique, A.G. saturé, puis à 48,1 % par les acides polyéthyléniques conjugués.

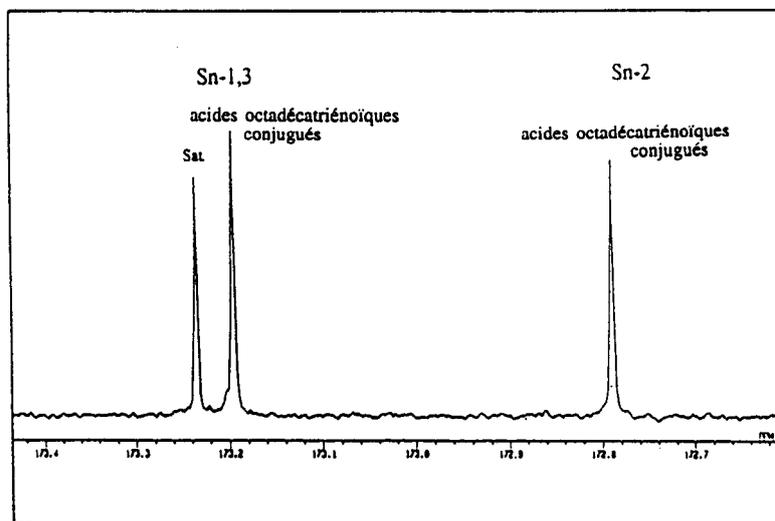
Afin de vérifier cette distribution des A.G. octadécatriénoïques conjugués, nous avons utilisé les résultats issus de l'analyse par R.M.N.  $^{13}\text{C}$  du beurre de margoze ( tableau III-25).

• *Analyse régiospécifique des T.A.G. par R.M.N.  $^{13}\text{C}$  haute résolution.*

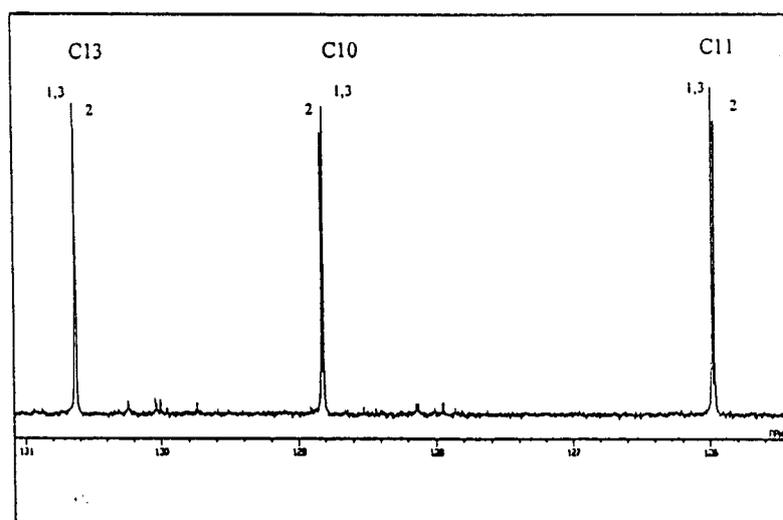
L'analyse régiospécifique des T.A.G. par R.M.N.  $^{13}\text{C}$  peut se faire à partir des zones de résonance des atomes de carbone des groupes carbonyle des T.A.G. (entre 172 et 174 ppm) et des atomes de carbone éthyléniques des A.G. (entre 120 et 140 ppm) [20,25].

• *étude de la zone de résonance des carbonyles :*

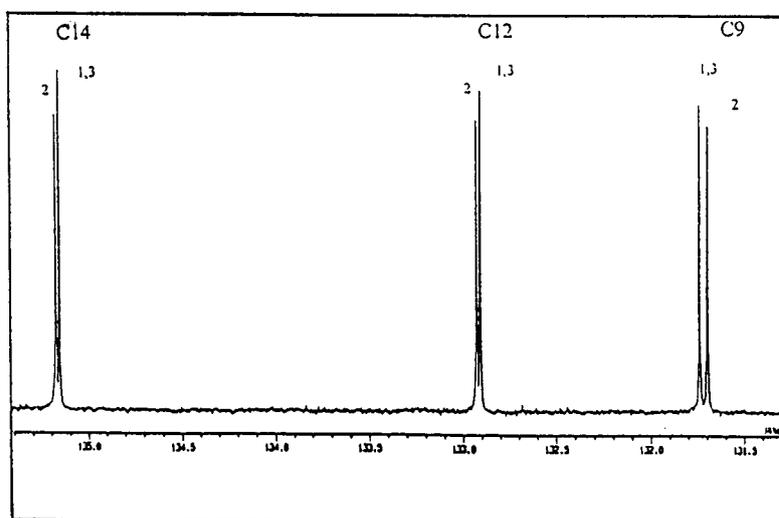
Il est possible de différencier les carbonyles des positions externes de ceux de la position interne. Les premiers résonnent en effet au dessus de 173 ppm et les seconds en dessous de cette valeur. Trois signaux sont observés dans cette zone (figure 3-26). Le pic à  $\delta=173,235$  ppm correspond aux carbonyles des A.G. saturés en positions externes. Les deux pics restants à  $\delta=173,196$  ppm et  $\delta=172,790$  ppm sont dus aux carbonyles des A.G. octadécatriénoïques conjugués respectivement en positions externes et interne. Seules sont



Zone des carbonyles



Zone des atomes de carbone éthyléniques



Zone des atomes de carbone éthyléniques

Figure 3-26 : Zone des carbonyles et des atomes de carbone éthyléniques de l'acide  $\alpha$ -élostéaric

observées les résonances de ces A.G. saturés et polyéthyléniques conjugués, majoritaires dans ce corps gras, puisqu'ils représentent 94,2 % des A.G. totaux. En raison de la prédominance de ces A.G. octadécatriénoïques conjugués, et donc de l'intensité du signal correspondant, et des valeurs de déplacements chimiques voisines de celles des acides oléique et linoléique, il n'est pas possible d'utiliser uniquement les rapports d'intégration de ces différents signaux afin de déterminer la répartition des A.G. sur les positions interne et externes du glycérol [20,25]. Nous nous sommes donc aidés de l'étude de la zone de résonance des atomes de carbone éthyléniques.

• étude de la zone de résonance des atomes de carbone éthyléniques :

Il est également possible de distinguer les déplacements chimiques des atomes de carbone éthyléniques d'A.G. insaturés en position interne de ceux de ces mêmes A.G. insaturés en positions externes. Six signaux, chacun d'entre eux étant dédoublé, sont observés entre 125 et 136 ppm, le dédoublement des signaux des atomes de carbone éthyléniques correspondant aux positions interne et externes. Les attributions de ces signaux sont précisés dans le tableau III-30. Tous correspondent à des déplacements chimiques de l'acide  $\alpha$ -éléostéarique [20,25].

Tableau III-30

Déplacements chimiques (en ppm) des atomes de carbone éthyléniques de l'acide  $\alpha$ -éléostéarique du beurre de graines de *Momordica charantia*.

n° C	$\delta$ (ppm)	Positions
C <sub>9</sub>	131,697	2
	131,740	1 + 3
C <sub>10</sub>	128,814	1 + 3
	128,832	2
C <sub>11</sub>	125,970	2
	125,991	1 + 3
C <sub>12</sub>	132,908	1 + 3
	132,929	2
C <sub>13</sub>	130,631	2
	130,640	1 + 3
C <sub>14</sub>	135,158	1 + 3
	135,178	2

Les résultats issus de ces deux zones de résonance nous a permis de déterminer la répartition des A.G. saturés et celle de l'acide  $\alpha$ -éléostéarique sur les positions interne et externes de la molécule de glycérol (tableau III-31).

Tableau III-31

Répartition interne/externe des acides gras des T.A.G. du beurre de *Momordica charantia* obtenue par R.M.N.  $^{13}\text{C}$

Acides gras	T.A.G. totaux	Position 2		Positions 1+3	
		(a)	(b)	(a)	(b)
Acides saturés	35,8	0,0	0,0	35,8	100,0
Acides octadécatriénoïques conjugués	58,3	27,6	47,4	30,7	52,6

(a) : pourcentage molaire de chaque A.G. par rapport aux A.G. totaux en *sn*-2 et *sn*-1,3.

(b) : proportion centésimale de chaque A.G. entre les positions interne et externes.

Les proportions molaires des A.G. saturés et octadécatriénoïques conjugués calculées à partir des deux zones de résonance en R.M.N.  $^{13}\text{C}$  se rapprochent de celles obtenues par hydrolyse enzymatique par la lipase pancréatique de porc. Nous avons en effet trouvé (tableau III-28) que 45 % et 55 % des A.G. polyéthyléniques conjugués estérifiaient respectivement les positions interne et externes. Par R.M.N.  $^{13}\text{C}$ , nous obtenons des valeurs respectives de 47,4 % et 52,6 %. Dans le cas des A.G. saturés, nous obtenons des résultats cohérents par ces deux méthodes d'analyse en négligeant la présence de l'acide palmitique qui ne représente en effet que 2,8 % des A.G. saturés.

• *Détermination de la composition en triacylglycérols :*

La composition qualitative et quantitative des T.A.G. du beurre de margoze est déterminée par C.L.H.P.. Cette technique chromatographique sépare les T.A.G. en fonction de la nature des A.G. qui les constituent. Le chromatogramme est présenté à la figure 3-27.

Les résultats de l'étude des T.A.G. du beurre de *Momordica charantia* présentés par T. A. Foglia et coll. [95] et ceux de M.K. Chang et coll. [141,143] ont aidés à l'identification des

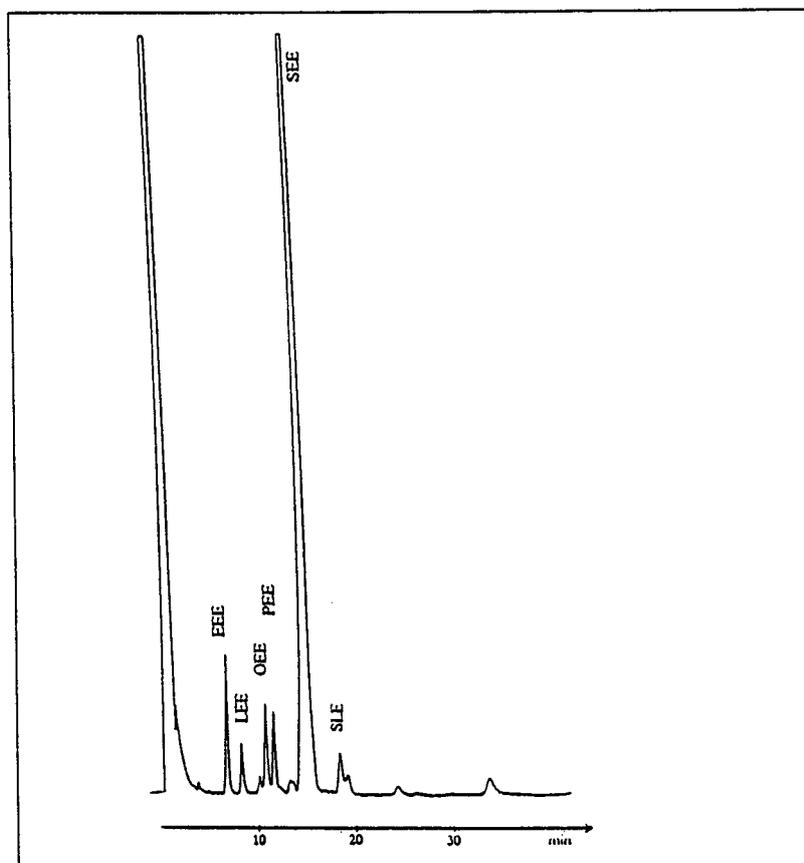


Figure 3-27 : Les triacylglycérols du beurre de graines de *Momordica charantia*.  
( Annexe 4, C.L.H.P. 2)

différents T.A.G. présents. Leur quantification dans le beurre de margoze est présentée dans le tableau III-32. Nous n'avons tenu compte ici pour la lettre-symbole E que de l'acide  $\alpha$ -éléostéarique dans le mélange d'acides octadécatriénoïques conjugués.

Tableau III-32  
Composition en T.A.G. du beurre de graines de *Momordica charantia*

T.A.G.	N.P.	% exp.
EEE	36	4,3
LEE	38	1,8
OEE	40	3,7
PEE	40	3,2
SEE	42	86,9
SLE	44	0,1

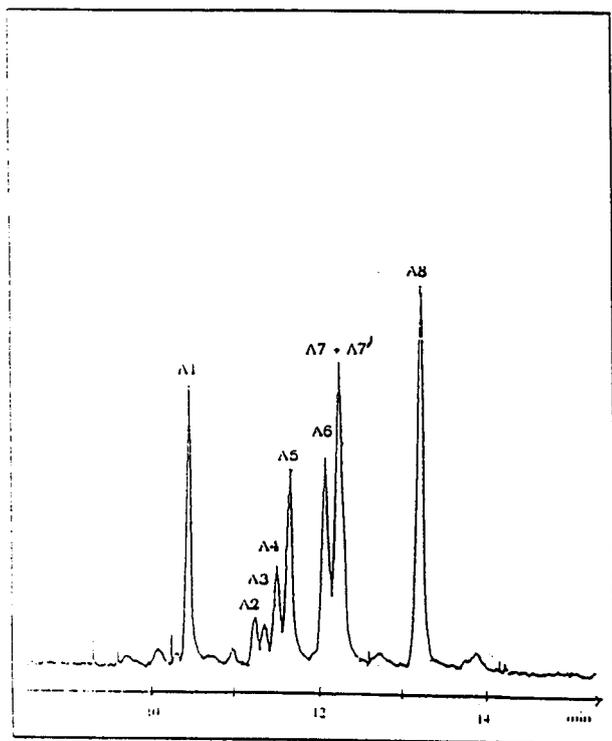
Les abréviations des différents A.G. sont :

P : acide palmitique, S : acide stéarique, O : acide oléique, L : acide linoléique, E : acide  $\alpha$ -éléostéarique

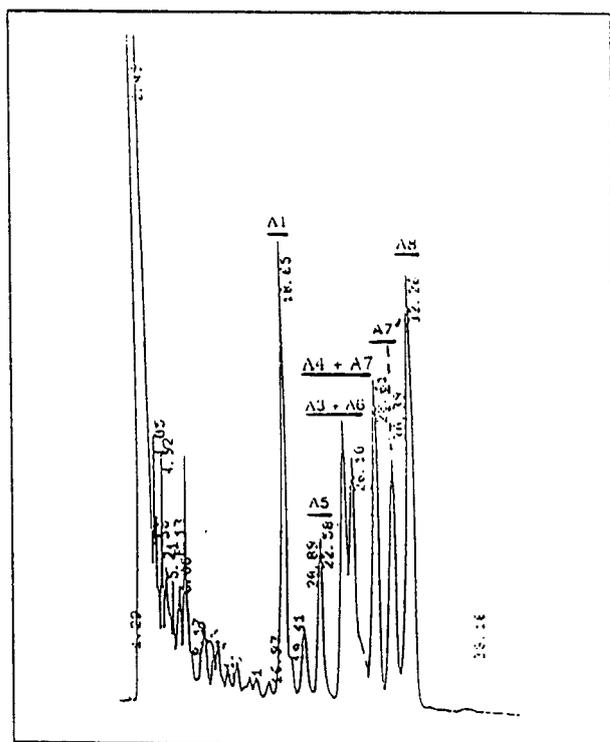
Les T.A.G. du beurre de margoze identifiés sont caractérisés par la présence de l'acide octadécatriénoïque conjugué. Les T.A.G. principaux sont obtenus par la combinaison de deux molécules d'acide  $\alpha$ -éléostéarique avec les acides linoléique, oléique, palmitique et stéarique. La stéarodieléostéarine est le T.A.G. majoritaire dans le beurre de margoze avec une teneur de 86,9 %. Ce résultat était prévisible car les acides  $\alpha$ -éléostéarique et stéarique sont les acides gras majeurs des T.A.G. L'oléodieléostéarine et la palmitodieléostéarine sont présentes avec des teneurs voisines de 3,5 % tandis que la linoléodieléostéarine ne représente que 1,8 % des T.A.G. totaux. Le T.A.G. mixte stéarolinoléostéarine n'est présent qu'en très faible quantité.

### 3. 2. 3. 2. 2. Fraction insaponifiable

Les mélanges contenant respectivement les A.T. et les stérols de *Momordica charantia* sont acétylés en présence de pyridine et d'anhydride acétique. Le profil chromatographique de chaque fraction totale a été réalisé par C.P.G. et C.L.H.P. (cf. figure 3-28).

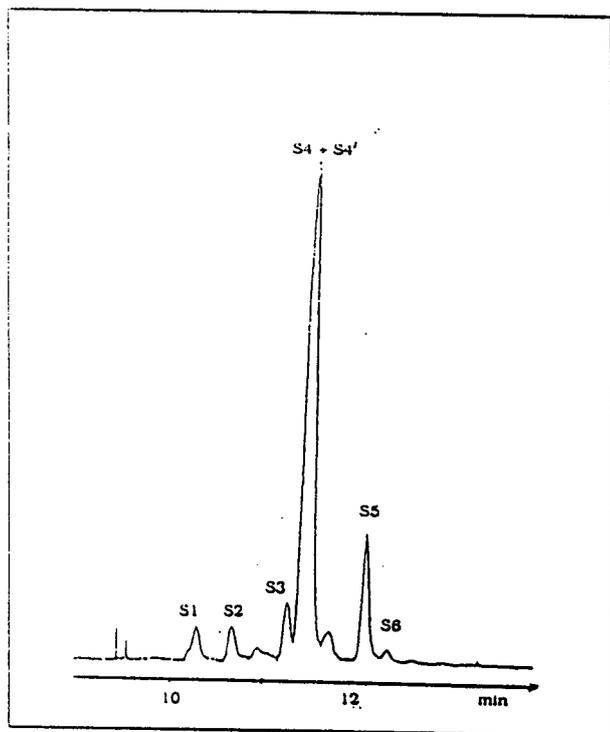


C.P.G.

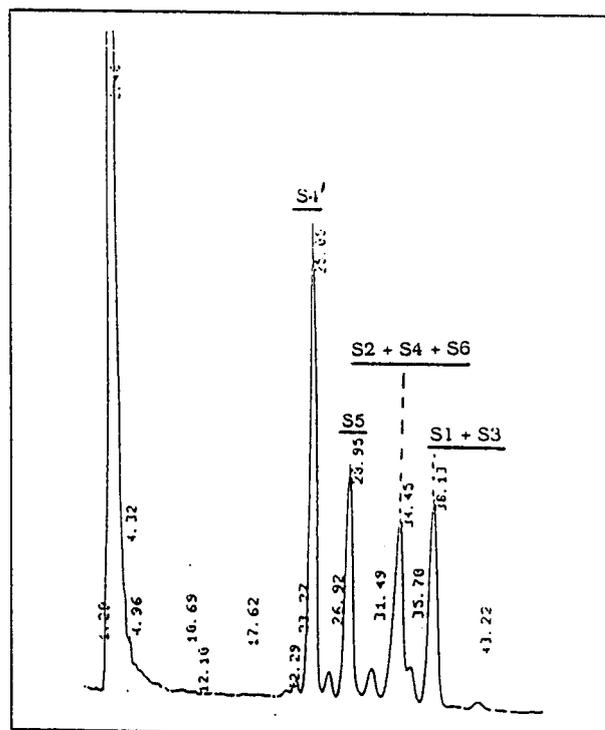


C.L.H.P.

Alcools triterpéniques



C.P.G.



C.L.H.P.

Stérols

Figure 3-28 : Profils totaux des alcools triterpéniques et des stérols du beurre de graines de *Momordica charantia*.

( Annexe 4, C.P.G. 2, C.L.H.P. 3 )

### 3. 2. 3. 2. 2. 1. Les alcools triterpéniques

Par analyse en C.P.G., la fraction totale des A.T. acétylés de margoze présente huit pics numérotés de A1 à A8. Ce mélange de composés a été fractionné par C.C.M.-argentique. L'éluant employé est le mélange CH<sub>2</sub>CL<sub>2</sub>-CCl<sub>4</sub> (1 : 5, v/v) et cinq à sept développements ont été nécessaires. Après purification ou non par C.L.H.P. des diverses fractions obtenues, les différents produits isolés ont été identifiés par S.M. et R.M.N. <sup>1</sup>H.

Les résultats sont présentés dans le tableau III-33.

Tableau III-33  
Les A.T. du beurre extrait des graines de *Momordica charantia*

n°	T.R.R. C.P.G.	T.R.R. C.L.H.P.	Composés	<i>Momordica charantia</i> (%)
A1	1,17	0,64	Cucurbita-5,24-dièn-3β-ol	13,2
A2	1,25	-	N.I*	2,7
A3	1,26	0,92	Taraxérol	1,0
A4	1,28	0,95	Lanostérol	5,8
A5	1,30	0,84	β-amyryne	12,9
A6	1,34	0,92	Lupéol	14,5
A7	1,36	0,95	Cycloarténol	25,7
A7'	1,36	1,00	α-amyryne	
A8	1,47	1,11	24-Méthylèncycloartanol	24,2

\*N.I. : non identifiés

La composition en A.T. de margoze se caractérise par la présence de trois A.T. particuliers. Il s'agit du cucurbita-5,24-dièn-3β-ol avec une teneur de 13,2% et de deux composés contenus en faibles proportions à savoir le taraxérol (1,0 %) et le lanostérol (5,8%). Le lanostérol est présent généralement chez les organismes non photosynthétiques [111]. Parmi les A.T. rencontrés couramment dans les huiles végétales, nous notons que le 24-méthylèncycloartanol constitue 24,2 % du mélange d'A.T. totaux. Ce composé est l'A.T.

majoritaire car la seule proportion équivalente est attribuée à un mélange composé de cycloarténol et de l' $\alpha$ -amyrine (25,7 %). La  $\beta$ -amyrine et le lupéol représentent quant à eux 12,9 et 14,5 % des A.T. du beurre de margoze.

### 3. 2. 3. 2. 2. 2. Les stérols

Le mélange stérolique total de *Momordica charantia* présente six pics en C.P.G. numérotés de S1 à S6. Les quatre pics observés en C.L.H.P. sont recueillis puis la pureté de chaque fraction est contrôlée par C.P.G.. Par ailleurs, une partie de la fraction totale des stérols acétylés est séparée par C.C.M.-argentique. L'éluant utilisé est le mélange CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-CCl<sub>4</sub> (1 : 5, v/v) et, après cinq et sept développements successifs, diverses fractions ont été obtenues. Les produits correspondants, désorbés dans le mélange CHCl<sub>3</sub>-MeOH (90 : 10, v/v), sont ensuite purifiés par C.L.H.P..

Les stérols isolés ont été identifiés en fonction des données obtenues conjointement par leurs spectres de masse et de résonance magnétique nucléaire du proton ( tableau III-34).

Tableau III-34  
Les stérols du beurre extrait des graines de *Momordica charantia*

n°	T.R.R. C.P.G.	T.R.R. C.L.H.P.	Composés	<i>Momordica charantia</i> (%)
S1	1,14	1,31	Campestérol + 22-dihydrobrassicatérol	4,4
S2	1,18	1,17	Stigmastérol	4,0
S3	1,25	1,31	Sitostérol	5,9
S4	1,27	1,17	Stigmasta-7,22-dién-3 $\beta$ -ol	70,3
S4'	1,27	0,85	Stigmasta-7,22,25-trièn-3 $\beta$ -ol	
S5	1,30	1,00	Stigmasta-7,25-dién-3 $\beta$ -ol	11,4
S6	1,34	1,17	N.I.*	1,6
Autres	-	-	N.I.*	2,4

\*N.I. : Non identifiés

Le beurre de margoze contient en majorité des  $\Delta^7$ -stérols puisqu'ils représentent 83,3% des stérols totaux. Au sein des  $\Delta^5$ -stérols nous notons la présence en quantité

équivalente du sitostérol (5,9 %), du stigmastérol (4,0 %) et d'un mélange d'épimères, à savoir le campestérol et le 22-dihydrobrassicastérol (4,4 %). Avec une teneur de 70,3 %, le mélange constitué par le stigmasta-7,22-diène-3 $\beta$ -ol et le stigmasta-7,22,25-triène-3 $\beta$ -ol est caractéristique de la famille des Cucurbitacées. Le stigmasta-7,25-diène-3 $\beta$ -ol représente 11,5% des stérols totaux.

### 3. 2. 4. Etude comparative de la composition chimique des trois genres étudiés *Lagenaria*, *Luffa* et *Momordica*.

#### 3. 2. 4. 1. La fraction saponifiable

##### 3. 2. 4. 1. 1. Les acides gras

Les huiles extraites du genre *Lagenaria* et *Luffa* présentent une similitude qualitative au niveau de leur composition en acides gras comme le montre le tableau III-35. Elles contiennent des acides gras couramment rencontrés dans les huiles végétales à savoir les acides palmitique, stéarique, oléique et linoléique. Ce dernier est par ailleurs l'acide gras majoritaire avec des teneurs supérieures à 50 %. Quantitativement, les huiles extraites des graines du genre *Lagenaria* sont du type palmitique-linoléique car ces acides gras représentent plus de 85 % des acides gras totaux. Contrairement aux Calebasses, les huiles de pipangaille contiennent trois acides gras en quantité importante qui les définissent comme du type palmitique-oléique-linoléique car ils constituent plus de 90 % des acides gras totaux. La composition en acides gras du beurre de margoze diffère de celles observées chez les genres *Lagenaria* et *Luffa*. Il contient d'une part les quatre acides gras identifiés précédemment chez les huiles de calebasse et de pipangaille et, d'autre part, un mélange d'isomères d'acide octadécatriénoïque conjugué qui est majoritaire (58,0 %). L'analyse des différents isomères déterminée par C.L.H.P. et par R.M.N. <sup>13</sup>C indique que l'acide  $\alpha$ -éléostéarique est prépondérant. Le beurre de margoze se distingue des huiles de calebasse et de pipangaille par sa faible teneur en acide linoléique (3,6 %) et sa proportion élevée en acide stéarique (34,0 %).

Bien qu'appartenant à la même famille botanique, la composition en acides gras diffère suivant le genre considéré. La présence ou l'absence d'acide octadécatriénoïque conjugué pourrait devenir un critère de classification des espèces. Une étude menée au sein de la famille des Cucurbitacées a permis de recenser les genres contenant ou non des acides gras à trois doubles liaisons conjuguées. Les résultats sont présentés dans le tableau III-36 [130].

Tableau III-35

Composition en acides gras des extraits lipidiques des graines des genres *Lagenaria*, *Luffa* et *Momordica*  
(valeurs exprimées en % molaires)

Acides gras	<i>Lagenaria leucaritha</i>		<i>Luffa</i>		<i>Momordica charantia</i>
	La Réunion var. bouteille	La Réunion var. la gale	La Réunion <i>L. acutangula</i>	La Réunion <i>L. cylindrica</i>	La Réunion
Acide palmitique	14,0	11,7	23,7	21,9	2,2
Acide stéarique	6,9	3,0	8,2	8,3	34,0
Acide oléique	7,6	3,8	16,9	14,5	2,2
Acide linoléique	71,5	81,5	51,2	55,3	3,6
Acide punicique ou acide octadécatrién-9c,11t,13c-oïque	-	-	-	-	0,9
Acide α-éléostéarique ou acide octadécatrién-9c,11t,13t-oïque	-	-	-	-	56,2
Acide β-éléostéarique ou acide octadécatrién-9t,11t,13t-oïque	-	-	-	-	0,9

Tableau III-36

Répartition des acides octadécatriénoïques conjugués  
au sein de divers genres de Cucurbitacées

Tribus	Genres	Nombre d'espèces examinées	Nombre d'espèces comportant des acides octadécatriénoïques conjugués	Nombre d'espèces ne comportant pas des acides octadécatriénoïques conjugués
Zanonieae	<i>Fevillea</i>	1	1	0
Melothriaceae	<i>Cucumis</i>	5	0	5
	<i>Apodanthera</i>	1	1	0
Joliffieae	<i>Telfairia</i>	2	1	1
	<i>Momordica</i>	3	3	0
Benincaseae	<i>Ecballium</i>	1	1	0
	<i>Benincasa</i>	1	0	1
	<i>Bryonia</i>	1	1	0
	<i>Citrullus</i>	3	0	3
	<i>Lagenaria</i>	2	0	2
	<i>Luffa</i>	5	0	5
Cucurbitaceae	<i>Acanthosicyos</i>	1	0	1
	<i>Cucurbita</i>	11	2	9
Trichosantheae	<i>Hodgsonia</i>	1	0	1
	<i>Trichosanthes</i>	5	5	0
Cyclanthereae	<i>Cyclanthera</i>	2	1	1
	<i>Echinocystis</i>	2	0	2
	<i>Marah</i>	2	0	2
Sicyoeae	<i>Sicyos</i>	1	0	1

Les genres *Trichosanthes*, *Momordica*, *Ecballium*, *Apodanthera* et *Fevillea* fournissent des huiles contenant des acides gras à trois doubles liaisons conjuguées. Certains genres comme *Telfairia*, *Cucurbita*, *Cyclanthera* contiennent aussi bien des espèces dont les huiles sont conjuguées ou non. Enfin, les genres *Cucumis*, *Citrullus*, *Lagenaria* et *Luffa* produisent des huiles exemptes d'acides octadécatriénoïques conjugués. Il apparaît ainsi que la présence de ces A.G. particuliers serait liée au genre et non à la tribu.

Les isomères de l'acide octadécatriénoïque conjugué ne sont pas spécifiques de la famille des Cucurbitacées puisque l'acide  $\alpha$ -éléostéarique se rencontre également en grande quantité dans la famille des Euphorbiacées (*Aleurites fordii* produisant l'huile de tung). L'acide punique est présent dans l'espèce *Punica granatum* (Punicasées) tandis que l'acide catalpique se retrouve chez les Bignoniacées (*Catalpa ovata*, *Jacaranda semiserrata*...) [128,136,137].

### 3. 2. 4. 1. 2. Les triacylglycérols

La composition en T.A.G. des espèces à côtes et lisse de pipangaille est qualitativement similaire alors que les variétés bouteille et la gale se différencient sur le plan quantitatif (c.f. tableau III-37). Une composition qualitative identique en T.A.G. se retrouve ainsi chez les huiles extraites des graines des genre *Lagenaria* et *Luffa*. Elles contiennent majoritairement les mêmes T.A.G. mais en proportions différentes. Il s'agit de la trilinoléine, la palmitodilinoléine, l'oléodilinoléine et le mélange comprenant la stéaroléolinoléine et le palmitoléolinoléine. Les huiles des variétés de l'espèce *Lagenaria leucaritha* se distinguent par leur richesse en trilinoléine alors que la palmitodilinoléine est le T.A.G. prépondérant des huiles du genre *Luffa*. La comparaison de la composition en T.A.G. de ces deux genres avec celle des genres *Cucurbita* et *Cucumis* montrent que ces genres ont une composition qualitativement similaire. La dioléolinoléine présente dans l'huile de courge avec une teneur importante de 20,7 % est en quantité moindre dans les huiles de citrouille (7,3 %) et de melon (4,5 %). En revanche, elle est inexistante des huiles du genre *Luffa* et les variétés de calabasse le contiennent en quantité infime. Le beurre de *Momordica charantia* a une composition en T.A.G. différente des genres précédents. La comparaison de sa composition en T.A.G. avec celle de la même espèce cultivée aux Etats-Unis révèle que l'espèce originaire de la Réunion se caractérise par une très forte teneur en stéarodioléostéarine (86,9 % contre 66,0 % pour l'espèce américaine) et par une faible quantité d'oléodioléostéarine (3,7 %). Ce T.A.G. représente 13,0 % des T.A.G. totaux de l'espèce provenant des Etats-Unis.

### 3. 2. 4. 2. La fraction insaponifiable

#### 3. 2. 4. 2. 1. Les alcools triterpéniques

Les genres *Luffa* et *Momordica* présentent une composition qualitative en A.T. presque similaire (Tableau III-38). Ils se différencient par la présence du cucurbita-5,24-dién-3 $\beta$ -ol dans le beurre de margoze. Par ailleurs, cet A.T. se retrouve également dans l'huile de *Lagenaria leucaritha* variété bouteille avec une teneur exceptionnelle de 98,0%. Ce composé est caractéristique de la famille des Cucurbitacées, constituant ainsi un marqueur

Tableau III-37

Composition en T.A.G. des extraits lipidiques de graines de genres *Lagenaria*, *Luffa*, *Momordica*, *Cucumis* et *Cucurbita*.  
(valeurs exprimées en % molaires)

T.A.G.	<i>Lagenaria leucaritha</i>		<i>Luffa</i>		<i>Momordica charantia</i>		<i>Cucumis melo</i>		<i>Cucurbita</i>	
	La Réunion var. bouteille	La Réunion var. la gale	La Réunion <i>L. acutangula</i>	La Réunion <i>L. cylindrica</i>	La Réunion	Etats-Unis [95]	France [47]	France <i>C. pepo</i> [47]	France <i>C. maxima</i> [47]	
EEE	-	-	-	-	4,3	5,0	-	-	-	
LEE	-	-	-	-	1,8	3,0	-	-	-	
OEE	-	-	-	-	3,7	13,0	-	-	-	
PEE	-	-	-	-	3,2	4,0	-	-	-	
SEE	-	-	-	-	86,9	66,0	-	-	-	
SLE	-	-	-	-	0,1	5,0	-	-	-	
LLL	34,6	34,4	15,0	21,0	-	-	34,4	27,8	10,4	
OLL	12,6	11,4	15,2	15,5	-	-	24,1	24,2	26,9	
PLL	24,7	29,0	26,3	27,0	-	-	24,3	19,9	10,8	
OOL	traces	1,3	-	-	-	-	4,5	7,3	20,7	
SLL+POL	17,8	13,8	17,9	17,8	-	-	10,9	13,9	13,6	
PPL	2,8	3,7	7,0	5,0	-	-	0,7	1,7	1,9	
OOO	3,2	2,5	8,8	6,0	-	-	-	0,9	5,4	
SOL+POO	3,3	3,2	7,6	5,4	-	-	0,5	3,0	7,8	
PSL + PPO	1,0	0,7	2,2	2,3	-	-	0,6	1,3	2,1	
PPP	-	-	-	-	-	-	-	-	0,4	

Les abréviations des différents A.G. sont :

P : acide palmitique, S : acide stéarique, O : acide oléique, L : acide linoléique, E : acide  $\alpha$ -oléostéarique

Tableau III-38

Composition en A.T. des extraits lipidiques de graines des genres *Lagenaria*, *Luffa*, *Momordica*, *Cucumis* et *Cucurbita*.  
(Valeurs exprimées en % molaires)

Composés	<i>Lagenaria</i>		<i>Luffa</i>		<i>Momordica charantia</i>	<i>Cucumis melo</i>		<i>Cucurbita</i>	
	La Réunion variété bouteille	La Réunion variété la gale	La Réunion <i>L. cylindrica</i>	La Réunion <i>L. acutangula</i>	La Réunion	France [47]	France <i>C. pepo</i> [47]	France <i>C. maxim</i> <sup>a</sup> [47]	
Cucurbita-5,24-diène- $\beta$ - ol	98,0	-	-	-	13,2	25,1	21,0	23,1	
Taraxérol	-	-	11,7	5,0	1,0	-	-	-	
Lanostérol	-	-	17,9	8,1	5,8	-	-	-	
$\beta$ -amyrine	-	17,0	14,8	17,1	12,9	13,1	8,3	12,7	
Lupéol	-	29,4	13,1	18,9	14,5	-	-	-	
Cycloartérol	-	34,6	20,9	39,6	25,7	13,8	14,0	16,2	
$\alpha$ -amyrine	-	-	-	-	-	9,1	5,7	4,1	
24- méthylencycloartanol	-	19,0	6,8	8,2	24,2	16,5	17,4	8,1	
Multiflorérol	-	-	-	-	-	-	-	-	
24-méthylélanostérol	-	-	-	-	-	2,3	5,7	2,8	
Isoutiflorérol	-	-	-	-	-	17,8	23,3	27,5	
Non identifiés	2,0	-	14,8	3,1	2,7	2,3	4,6	5,5	

chimiotaxonomique. L'huile de *Lagenaria leucaritha* variété la gale contient quatre A.T. présents également dans les huiles des genres *Luffa* et *Momordica*. Il s'agit de la  $\beta$ -amyrine, du lupéol, du cycloarténol et du 24-méthylèncycloartanol. Les différences quantitatives observées au sein des différentes fractions d'A.T. totaux semblent spécifiques du genre étudié. Ainsi, le genre *Lagenaria* contient majoritairement le cycloarténol avec une teneur de 34,6 %. Les huiles du genre *Luffa* et *Momordica* contiennent un mélange de cycloarténol et d' $\alpha$ -amyrine qui n'ont pu être quantifiés individuellement. Ce mélange est majoritaire puisqu'il représente respectivement 20,9 ; 39,6 et 25,7 % des A.T. totaux de *Luffa cylindrica*, *Luffa acutangula* et *Momordica charantia*. On note également que le 24-méthylèncycloartanol est contenu en grande proportion dans le beurre de margoze (24,2 %) et en quantité moindre dans l'huile de calabasse la gale (19,0 %) et dans les huiles de pipangaille où sa teneur n'excède pas les 10%.

Les genre *Momordica* et *Luffa* contiennent, en plus, deux autres A.T. à savoir le lanostérol et le taraxérol qui est rarement rencontrés dans les huiles végétales. L'huile de *Luffa cylindrica* est particulièrement riche en ces deux A.T. qui constituent 29,6 % des A.T. totaux alors que l'espèce *Luffa acutangula* n'en contient que 13,1 %. Ces deux composés ne représentent que 6,8 % des A.T. totaux du beurre de *Momordica charantia*.

La comparaison de la composition des A.T. des huiles de graines de Cucurbitacées tempérées (*Cucurbita*, *Cucumis*) avec celles des genres tropicaux étudiés permet de mettre en évidence leurs spécificités. Ainsi l'isomultiflorénol, le multiflorénol et le 24-méthylènelanostérol présents chez les espèces tempérées sont inexistantes dans les corps gras des espèces tropicales du genre *Lagenaria*, *Luffa* et *Momordica*. En revanche, les corps gras extraits des graines des genres *Luffa* et *Momordica* se caractérisent par la présence de taraxérol et de lanostérol. La littérature rapporte que le taraxérol a été identifié précédemment chez les genres *Luffa* et *Momordica* [52,57]. La présence du lanostérol pourrait provenir d'une transformation du cycloarténol comme cela a été observé chez les Euphorbiacées [146,147] et chez les Graminées [148].

### 3. 2. 4. 2. 2. Les stérols

Les genres *Lagenaria* et *Luffa* présentent une composition qualitative similaire (tableau III-39). Des stérols comportant une double liaison intracyclique en 5 et en 7 sont représentés dans ces huiles avec néanmoins une prédominance des  $\Delta^7$ -stérols. Les stérols constituent selon la position de l'insaturation du noyau intracyclique et de leur chaîne latérale des marqueurs chimiotaxonomiques intéressants [72,111]. La famille botanique des Cucurbitacées se caractérise ainsi par la présence de  $\Delta^7$ -stérols [72]. Parmi les  $\Delta^5$ -stérols présents, le stigmastérol se retrouve dans les trois genres étudiés avec des teneurs variant de 1,9 % pour l'huile de *Luffa acutangula* à 11,3 % pour celle de *Lagenaria leucaritha* variété bouteille. Le sitostérol ainsi que le mélange d'épimères (campestérol et 22-dihydrobrassicastérol) sont les autres  $\Delta^5$ -stérols identifiés dans le beurre de margoze et l'huile de calabasse bouteille. La calabasse la gale ne contient que le sitostérol et le stigmastérol. Les  $\Delta^5$ -stérols identifiés dans les corps gras du genre *Lagenaria*, *Luffa* et *Momordica* sont des stérols fréquemment rencontrés dans de très nombreuses huiles végétales où ils sont souvent des composés majoritaires [47].

Le mélange de stigmasta-7,22-dién-3 $\beta$ -ol et de stigmasta-7,22,25-trién-3 $\beta$ -ol est prépondérant dans les corps gras extraits de graines des genres *Luffa* et *Momordica* où il représente plus de 70 % des stérols totaux. Bien que ce mélange soit majoritaire chez les deux variétés de *Lagenaria leucaritha*, il ne constitue que 40,1 et 32,4 % des huiles de la calabasse bouteille et de la calabasse la gale. Par ailleurs, le stigmasta-7,25-dién-3 $\beta$ -ol est contenu en quantité importante (34,8 % pour la variété bouteille et 28,6 % pour la variété la gale) alors que le beurre de margoze n'en contient que 11,4 %. La teneur de ce stérol est de l'ordre de 10 % dans les huiles du genre *Luffa*. La présence d'un stérol à deux doubles liaisons sur la chaîne latérale est inhabituelle. Ce composé, le stigmasta-7,22,25-trién-3 $\beta$ -ol est caractéristique de la famille des Cucurbitacées.

Les huiles des Cucurbitacées tempérées (*Cucurbita* et *Cucumis*) sont également riches en  $\Delta^7$ -stérols. Les  $\Delta^5$ -stérols existent en faible proportion. Il s'agit du campestérol, du stigmastérol et du sitostérol. Parmi les  $\Delta^7$ -stérols, le stigmasta-7,22,25-trién-3 $\beta$ -ol a été aussi

Tableau III-39

Composition en stérols des extraits lipidiques de graines des genres *Lagenaria*, *Luffa*, *Momordica*, *Cucumis* et *Cucurbita*.  
(Valeurs exprimées en % molaires)

Composés	<i>Lagenaria</i>		<i>Luffa</i>		<i>Momordica</i>	<i>Cucumis</i>	<i>Cucurbita</i>	
	La Réunion variété bouteille	La Réunion variété la gale	La Réunion <i>L. gubdrica</i>	La Réunion <i>L. acutangula</i>	La Réunion	France [47]	France <i>C. pepo</i> [47]	France <i>C. maxima</i> [47]
Campestérol	2,7	-	-	-	4,4	0,2	0,1	2,3
22-dihydrobrassicastérol	-	-	-	-	-	-	-	-
Stigmastérol	11,3	5,1	8,0	1,9	4,0	0,1	0,1	2,8
Sitostérol	1,2	13,8	-	-	5,9	5,1	1,0	3,8
Stigmasta-7,22-dié-3 $\beta$ -ol	40,1	32,4	78,6	86,0	70,3	39,2	33,2	30,1
Stigmasta-7,22,25-trié- 3 $\beta$ -ol	-	-	-	-	-	17,3	22,4	30,5
Stigmasta-7,25-dié-3 $\beta$ -ol	34,8	28,6	11,4	10,5	11,4	23,1	19,5	14,2
Stigmasta-7,24-dié-3 $\beta$ -ol	-	-	-	-	-	6,9	20,1	11,5
Stigmast-7-én-3 $\beta$ -ol	-	-	-	-	-	2,7	1,8	2,2
Non identifiés	9,9	20,1	2,0	1,6	4,0	5,4	1,8	2,6

identifié. Ce stérol rarement rencontré dans les huiles végétales est le stérol majoritaire des huiles de graines des genres *Cucurbita* et *Cucumis*. Le stigmasta-7,25-dién-3 $\beta$ -ol et le stigmasta-7,24-dién-3 $\beta$ -ol sont présents chez plusieurs huiles végétales mais en moindre proportion. Le stigmasta-7,25-dién-3 $\beta$ -ol constitue près de 20 % des huiles de citrouille et de melon et de 14,2 % de celle de courge. Ce stérol est contenu en proportion similaire dans les huiles des Cucurbitacées tropicales. En revanche, le stigmasta-7,24-dién-3 $\beta$ -ol est plus important dans les huiles du genre *Cucurbita* avec 20,1 % pour *Cucurbita pepo* et 11,5 % pour *Cucurbita maxima*. L'huile de melon n'en contient que 6,9 %.

La présence simultanée de  $\Delta 5$  et de  $\Delta 7$ -stérols est rare. La majorité des plantes évoluées contiennent presque exclusivement des  $\Delta 5$ -stérols [72]. Cette prédominance de ce type de stérols a suggéré que ceux-ci jouaient un rôle spécifique dans la plante. Ainsi, l'hypothèse que ces  $\Delta 5$ -stérols interviennent dans la germination de la graine a été proposée. Des travaux [77,149] ont montré que les  $\Delta 5$ -stérols disparaissent progressivement durant la germination et sont ainsi absents de la plante mature.

Nous avons vu précédemment que les Cucurbitacées se caractérisent par leur forte proportion en  $\Delta 7$ -stérols. Néanmoins, la présence de  $\Delta 5$ -stérols, bien qu'en faible quantité, implique donc que les mécanismes biochimiques qui sont à l'origine de l'introduction de la double liaison en 5 existent dans cette famille botanique, et que la voie de biosynthèse classique des  $\Delta 5$ -stérols, à savoir  $\Delta 7 \longrightarrow \Delta 7,5 \longrightarrow \Delta 5$ -stérols est présente [72].

# CONCLUSION GENERALE

## CONCLUSION GENERALE

Le panorama réalisé sur les caractéristiques des Cucurbitacées de pays tempérés a montré que les différentes espèces appartenant à cette famille se différencient par leurs particularités botaniques, par leurs activités biologiques, par leurs propriétés médicinales et par la composition chimique des huiles extraites des graines. En particulier, la composition en acides gras permet de les classer en deux catégories : les huiles alimentaires et les huiles siccatives.

Dans la première catégorie, les acides gras couramment présents, par exemple, dans les huiles des graines des genres *Cucurbita*, *Cucumis* et *Citrullus* sont les acides palmitique, stéarique, oléique et linoléique avec bien souvent une nette prédominance de ce dernier conférant à ces huiles de bonnes propriétés nutritionnelles et diététiques.

Dans la seconde catégorie, dans laquelle on trouve, par exemple, le genre *Ecballium*, la présence en quantité importante d'isomères d'acides octadécatriénoïques à doubles liaisons conjuguées rend les huiles impropres à la consommation, les propriétés siccatives de ce type d'huile permettant plutôt de les valoriser dans l'industrie des peintures et des vernis.

A partir du travail entrepris sur cinq Cucurbitacées tropicales, les résultats obtenus par analyse de la fraction lipidique extraite des graines ont montré que les huiles du genre *Lagenaria* pour les deux variétés étudiées sont du type palmitique-linoléique, ces deux acides représentant plus de 80 % des acides gras totaux. Les huiles extraites des graines du même genre mais d'espèces différentes, d'origine géographique diverse : *Lagenaria sp.* (Argentine), *Lagenaria siceraria* (Inde, Nigéria et Congo) sont du même type sauf pour les espèces *breviflora* (Nigéria) et *siceraria* (Soudan) qui sont plutôt du type oléique-linoléique. La forte teneur en acide linoléique dans les deux variétés bouteille (71,5 % des acides gras totaux) et la gale (81,5 % des acides gras totaux) de La Réunion définit aussi ces huiles comme étant siccatives.

Les huiles des deux espèces du genre *Luffa* sont du type oléique-linoléique avec une teneur en acide linoléique variant entre 51,2 et 55,3 % des acides gras totaux leur conférant des propriétés nutritionnelles et diététiques meilleures que celles des huiles extraites des deux variétés de *Lagenaria*. La comparaison avec des huiles de graines d'origine géographique diverse montre que pour l'espèce *acutangula*, les huiles provenant de l'Inde et du Canada sont du même type que celle de l'espèce de La Réunion tandis que l'huile provenant de Thaïlande se distingue par une composition du type stéarique-oléique-linoléique. Pour l'espèce *cylindrica*, seule l'huile provenant du Soudan de type stéarique-oléique-linoléique se différencie ; les huiles de Zambie, du Zaïre et du Nigéria ont une composition comparable à celle de l'espèce réunionnaise.

Le beurre de *Momordica charantia* de La Réunion est du type palmitique- $\alpha$ -éléostéarique, ce couple représentant plus de 90,3 % de la composition en acides gras. Si la forte proportion d'acides octadécatriénoïques conjugués rend ce beurre impropre à la consommation, elle constitue toutefois une nouvelle source de corps gras siccatif lui permettant une valorisation dans le domaine des vernis, des encres et des peintures...

Dans toutes les espèces de *Momordica* recensées dans ce travail, une composition similaire est observée pour les extraits de *Momordica charantia* provenant du Japon, du Mississippi et de l'Inde. Le beurre de *M. charantia* provenant du Mexique est plutôt du type palmitique-stéarique et celui de *M. balsamina* du Sénégal du type palmitique-punicique ; la présence de cet isomère en C18 : 3 conjugué dans cette espèce la rapproche de l'espèce réunionnaise. En revanche, le beurre de *M. cochinchinensis* du Viêt Nam présente deux compositions totalement différentes, l'une étant plutôt du type palmitique-oléique donc assez éloignée de l'espèce réunionnaise tandis que l'autre, du type stéarique-punicique s'en rapproche davantage. Parmi toutes ces espèces de *Momordica*, uniquement deux d'entre elles ne font pas apparaître, au sein de leur composition, d'acides gras polyéthyléniques conjugués, *M. charantia* du Mexique et *M. cochinchinensis* du Viêt Nam.

La composition en acides gras des triacylglycérols est similaire à celle des huiles et du beurre obtenus pour les cinq espèces étudiées. Dans les cinq cas, le couple acides palmitique/stéarique estérifie préférentiellement les positions externes (*sn*-1,3) du glycérol. L'acide oléique estérifie majoritairement les positions *sn*-1,3 pour les deux variétés du

genre *Lagenaria*, pour *Luffa cylindrica* et se partage entre les positions interne *sn-2* (54,0 %) et externes (46,0 %) pour *Luffa acutangula*. Ce même acide estérifie, en revanche, principalement la position interne *sn-2* (81,0 %) dans le cas de *Momordica charantia*. L'acide linoléique se répartit entre les positions externes (58,0 %) et interne (42,0 %) dans le cas de la variété bouteille du genre *Lagenaria*, occupe les positions *sn-1,3* pour la variété la gale du même genre et pour les deux espèces de *Luffa* tandis qu'il estérifie préférentiellement la position interne dans le cas de *Momordica charantia*. Dans cette dernière espèce, les acides octadécatriénoïques conjugués occupent à 56,0 % les positions externes.

D'une manière générale, les teneurs en insaponifiable sont légèrement supérieures à celles observées dans le règne végétal et varient de 1,3 % pour la variété la gale à 2,3 % pour la variété bouteille du genre *Lagenaria*. Des teneurs intermédiaires de 1,7 % pour *Luffa cylindrica* ; 2,0 % pour *Momordica charantia* et 2,1 % pour *Luffa acutangula* sont observées.

La composition en alcools triterpéniques met en évidence la présence d'alcools couramment rencontrés comme l' $\alpha$  et la  $\beta$ -amyrine, le 24-méthylèncycloartanol ou le lupéol mais aussi des alcools plus rares et spécifiques des Cucurbitacées comme le cucurbita-5,24-diène-3 $\beta$ -ol. Cet alcool triterpénique présent à hauteur de 98,0 % dans la variété bouteille du genre *Lagenaria* et de 13,2 % dans *Momordica charantia*, est cependant absent dans les trois autres espèces étudiées. Cet alcool se rencontre uniquement chez les Cucurbitacées qu'elles soient de régions tempérées ou tropicales. De surcroît, trois espèces se singularisent par leur composition en alcools triterpéniques ; il s'agit des deux espèces de *Luffa* et de *Momordica charantia* qui révèlent la présence parfois conséquente du lanostérol (17,9 % dans *Luffa cylindrica* ; 8,1 % dans *Luffa acutangula* ; 5,8 % dans *Momordica*) et du taraxérol avec une teneur respective de 11,7 % ; 5,0 % et 1,0 %. Ce résultat constitue donc une originalité de certaines espèces de Cucurbitacées tropicales.

L'analyse de la fraction stérolique met en évidence d'une part, la présence de  $\Delta^5$ -stérols classiques du type sitostérol, campestérol et stigmastérol et d'autre part, une richesse particulière en  $\Delta^7$ -stérols ( 69,9 % dans la variété la gale et 83,0 % dans la variété bouteille du genre *Lagenaria* ; 98,1 % dans *Luffa acutangula* ; 92,0 % dans *Luffa cylindrica* et

83,3 % dans *Momordica* ). Le couple de  $\Delta 7$ -stérols : stigmasta-7,22-dién-3 $\beta$ -ol / stigmasta-7,22,25-trièn-3 $\beta$ -ol représente pour le genre *Lagenaria* 40,1 % de la fraction stérolique dans la variété bouteille et 32,4 % dans la variété la gale ; pour le genre *Luffa* 78,6 % dans l'espèce *cylindrica* et 86,0 % dans l'espèce *acutangula* et enfin, 70,3 % dans *Momordica charantia*. Soulignons que le stigmasta-7,22-dién-3 $\beta$ -ol est un  $\Delta 7$ -stérol rarement rencontré.

Ainsi, les résultats obtenus au cours de cette étude permettent d'atteindre les objectifs fixés :

- En premier lieu, la nécessité de relance de la culture de ces légumes en raison des possibilités de valorisation des huiles de graines soit dans le domaine alimentaire, soit dans le domaine industriel.

- En second lieu, la contribution chimiotaxonomique d'une part, par la confirmation de présence de composés marqueurs des Cucurbitacées comme le cucurbita-5,24-dién-3 $\beta$ -ol et par la richesse en  $\Delta 7$ -stérols caractéristique de cette famille. D'autre part, par la présence d'un  $\Delta 7$ -stérol rare : le stigmasta-7,22-dién-3 $\beta$ -ol, par la forte teneur en acides gras polyéthyléniques conjugués dans le genre *Momordica* et enfin, par la mise en évidence dans trois espèces tropicales de deux alcools triterpéniques, le lanostérol et le taraxérol en quantités plus importantes que celles décelées dans des Cucurbitacées de pays tempérés.

## BIBLIOGRAPHIE

- 1- SI-LIN YANG, T.W. WALTERS, *Economic Botany*, 1992, 46, 349.
- 2- « Légumes oubliés de l'Ile de La Réunion », SUAD, Chambre d'agriculture, 1990.
- 3- R.R. PARIS, H. MOYSE, « Matière médicale », 3, Collection de précis de pharmacie, Masson, Paris, 1971.
- 4- J.M. PACHECO, *Arq. Jard. Bot. Rio de Janeiro*, 1977, 21, 141.
- 5- T.W. WALTERS, *Economic Botany*, 1989, 43, 297.
- 6- D.BARRON, M. KAOUADI, A.M. MARIOTTE, *Planta Medica*, 1982, 46, 184.
- 7- C. PAQUOT, A. HAUFENNE, « Standard Methods for the Analysis of Oils, Fats and Derivatives », International Union of Pure and Applied Chemistry, 7th revised and enlarged edition, Blackwell Scientific Publications, 1987, 1.122 p14.
- 8- A. KARLESKING, « Manuel des Corps Gras », 1, Ed. Tec. & Doc., Lavoisier, Paris, 1992.
- 9- P. KALAYASIRI, N. JEYASHOKE, K. KRISNANGKURA, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 1996, 73, 471.
- 10- K. LARSSON, « Lipids-Molecular organization, physical functions and technical application », The Oily press, 5, Ed. Bell & Bain, Glasgow, 1994.
- 11- T. SILOU, O. KISSOTOKENE-NTINO, M. NVOULATSIERI, J.M. OUAMBA, S. KIAKOUAMA, *Journal de la Société Chimique de Tunisie*, 1990, 2, 13.
- 12- M.A. GROMPONE, *Fat Sci. Technol.* 90. Jahrgang, 1988, 12, 487.
- 13- B.M. LAL, N. DATTA, T.R. MADAAN, *Qual. Plant Plant Food Hum. Nutr.*, 1983, 32, 83.
- 14- « Recueil des Normes Françaises des Corps Gras, Graines, Oléagineux et Produits Dérivés », AFNOR, 5<sup>ème</sup> édition, Paris, 1993.
- 15- G. CECCHI, S. BIASINI, J. CASTANO, *Rev. Fr. Corps Gras*, 1985, 32, 163.
- 16- R.J. HAMILTON, S. HAMILTON, « Lipid Analysis, A Practical Approach », IRL Press, Oxford, 1992.
- 17- W.W. CHRISTIE, « Gas Chromatography and Lipids, A Practical Guide », The Oily Press, Scotland, 1989.
- 18- J.L. MULTON, « Techniques d'Analyse et de Contrôle dans les Industries Agroalimentaires », 4, Ed. Tec. & Doc., Lavoisier, Paris, 1996.
- 19- T. TAKAGI, Y. ITABASHI, *Lipids*, 1981, 16, 546.
- 20- P. BLAISE, « Etude de lipides par spectroscopie de RMN », Thèse de doctorat, I.N.P. de Toulouse, 1997.
- 21- A.P. TULLOCH, L. BERGTER, *Lipids*, 1979, 14, 996.
- 22- E.M. GAYDOU, J. MIRALLES, V. RASOAZANAKOLONA, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 1987, 64, 997.
- 23- H. BROCKERHOFF, *J. Lipid. Res.*, 1967, 8, 167.
- 24- H. BROCKERHOFF, *Lipids*, 1971, 6, 942.
- 25- P. BLAISE, R. WOLFF, M. FARINES, *O. C. L.*, 1997, 4, 135.
- 26- J.P. WOLFF, F.X. MORDRET, A. KIEFFENBACHER, *Pure & Appl. Chem.*, 1991, 63, 1173.
- 27- J.P. GOIFFRON, C. REMINIAC, M. OLLE, *Rev. Fr. Corps Gras*, 1981, 28, 167.
- 28- J.P. GOIFFRON, C. REMINIAC, O. FURON, *Rev. Fr. Corps Gras*, 1981, 28, 199.
- 29- J.L. PERRIN, M. NAUDET, *Rev. Fr. Corps Gras*, 1983, 30, 279.
- 30- J.P. WOLF, « Manuel d'Analyse des Corps Gras », Ed. Azoulay, Paris, 311, 1968.
- 31- S. POPOV, R.M.K. CARLSON, A. WEGMANN, C. DJERASSI, *Steroids*, 1976, 28, 699.

- 32- J. ARTAUD, M.C. IATRIDES, E.M. GAYDOU, *Phytochemistry*, 1984, 23, 2303.
- 33- J.H. ADLER, T.A. SALT, *Lipids*, 1983, 18, 229.
- 34- E.E. HOMBERG, A. SEHER, *Phytochemistry*, 1977, 16, 288.
- 35- G.P. MOSS, *Pure & Appl. Chem.*, 1989, 61, 1783.
- 36- J.M. DIBUSSOLO, W.K. NES, *J. Chromatogr. Sci.*, 1982, 20, 193.
- 37- B. HOLEN, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 1985, 62, 1344.
- 38- H.E. VROMANN, G.F. COHEN, *J. Lipid. Res.*, 1967, 8, 150.
- 39- A.J. DOMMAS, S.A. WARNER, S.L. JOHNSON, *Lipids*, 1983, 18, 87.
- 40- M. MAGLIOZZI, M. FARINES, *O. C. L.*, 1996, 3, 443.
- 41- H.E. AUDIER, R. BENGELMANS, B.C. DAS, *Tetrahedron Letters*, 1966, 36, 4341.
- 42- M. FARINES, J. SOULIER, *Rev. Fr. Corps Gras*, 1988, 35, 57.
- 43- T. IIDA, T. TAMURA, T. MATSUMOTO, *J. Lipid. Res.*, 1980, 20, 326.
- 44- M. DUMAZER, M. FARINES, J. SOULIER, *Rev. Fr. Corps Gras*, 1986, 4, 151.
- 45- C.J.W. BROOKS, *Phil. Trans. R. Soc. Lond. A293*, 1979, 53.
- 46- J.C. LECERF, « Composition chimique du beurre de cacao et de graisses apparentées », Thèse de doctorat, I.N.P. de Toulouse, 1990.
- 47- M.L. GHALEB-PELISSIER, « Composition chimique de quelques huiles de graines de Cucurbitaceae (citrouille, courge, melon) », Thèse de doctorat, I.N.P. de Toulouse, 1990.
- 48- T.I. AKIHISA, P. GHOSH, S. THAKUR, F.U. ROSENSTEIN, T. TAMURA, T. MATSUMOTO, *J. Japan Oil Chem. Soc.*, 1986, 35, 1036.
- 49- N. SHIMIZU, T. ITOH, M. SAITO, T. MATSUMOTO, *J. Org. Chem.*, 1984, 49, 709.
- 50- T. ITOH, T. TAMURA, TAE MYOUNG JEONG, T. TAMURA, T. MATSUMOTO, *Lipids*, 1979, 15, 122.
- 51- S.G. WYLLIE, B.A. AMOS, L. TÖKÉS, *J. Org. Chem.*, 1977, 42, 725.
- 52- M. KIKUCHI, T. ISHIKAWA, T. IIDA, S. SETO, T. TAMURA, T. MATSUMOTO, *Agric. Biol. Chem.*, 1986, 50, 2921.
- 53- L. HOHN GOAD, Y. AHIHISA, « Analysis of sterols », Blackie Academic & Professional, An imprint of Chapman & Hall, 1997.
- 54- H. BUDZKIEWICZ, J.M. WILSON, C. DJERASSI, *J. Am. Chem. Soc.*, 1963, 85, 3688.
- 55- R.C. HEUPEL, *Phytochemistry*, 1985, 24, 2929.
- 56- T. ITOH, T. TAMURA, T. MATSUMOTO, *Phytochemistry*, 1977, 16, 1723.
- 57- T. AKIHISA, Y. IMADA, P. GHOSH, S. THAKUR, F.U. ROSENSTEIN, T. TAMURA, T. MATSUMOTO, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 1988, 65, 607.
- 58- P. SOULIER, « Etude chimique des beurres de sal et d'illipe, substitués du beurre de cacao », Thèse de doctorat, INP de Toulouse, 1989.
- 59- I. GRONDIN, « Valorisation de graines de quelques fruits tropicaux - Etude chimique des huiles de *Litchi sinensis* Sonn. et *Euphoria longana* Lam., thèse de doctorat, I.N.P. de Toulouse, 1994.
- 60- M. FARINES, J. SOULIER, M. CHARROUF et A. CAVE, *Rev. Fr. Corps Gras*, 1984, 31, 443.
- 61- M.H. CHARROUF, « Contribution à l'étude chimique de l'huile d'*Argania spinosa* (L.) (Sapotaceae), Thèse de doctorat, Université de Perpignan, 1984.

- 62- R.T. ALPIN, G.M. HORNBY, *J. Chem. Soc. B.*, 1966, 1078.
- 63- G. OURISSON, H. PIOTROWSKA, *Bull. Soc. Chim.*, 1964, 2359.
- 64- M.J. THOMPSON, S.R. DUKTY, *Phytochemistry*, 1978, 17, 1053.
- 65- T. ITOH, T. TAMURA, T. MATSUMOTO, *Steroids*, 1976, 27, 275.
- 66- D. TAKAOKA, A. MATSUO, S. HAYASHI, *Phytochemistry*, 1987, 26, 429.
- 67- T. IDA, M. KIRUCHI, T. TAMURA, T. MATSUMOTO, *Chem. Phys. Lipids*, 1977, 20, 157.
- 68- A. KORNFELDT, L.B. CROON, *Lipids*, 1981, 16, 306.
- 69- V.K. GARG, W.R. NES, *Phytochemistry*, 1984, 23, 2925.
- 70- I. RUBINSTEIN, L.J. GOAD, A.D.H. CLAGUE, L.J. MULHEIRN, *Phytochemistry*, 1976, 15, 195.
- 71- D. SICA, V. PICCIALLI, A. MASSULLO, *Phytochemistry*, 23, 2069.
- 72- V.K. GARG, W.R. NES, *Phytochemistry*, 1986, 25, 2591.
- 73- W.R. NES, K. KREWITZ, S. BEHZADAN, *Lipids*, 1976, 11, 118.
- 74- C. DELSETH, Y. KASHMAN, C. DJERASSI, *Helv. Chim. Acta*, 1979, 62, 2073.
- 75- D. SICA, L. BONIFORTI, A. MASSULO, *Phytochemistry*, 1984, 23, 2685.
- 76- R.C. HEUPEL, Y. SAUVAIRE, P.H. LE, E.J. PARISH, W.R. NES, *Lipids*, 1986, 21, 69.
- 77- V.K. GARG, W.R. NES, *Phytochemistry*, 1984, 23, 2919
- 78- W. SUCROW, M. SLOPIANKA, H.W. KIRCHER, *Phytochemistry*, 1976, 15, 1533.
- 79- T. ITOH, Y. KIRUCHI, T. TAMURA, T. MATSUMOTO, *Phytochemistry*, 1981, 20, 761.
- 80- T.I. AKIHISA, S. THAKUR, F.U. ROSENSTEIN, T. MATSUMOTO, *Lipids*, 1986, 21, 39.
- 81- J.B. RICHARDSON III, *Economic botany*, 1971, 14, 265.
- 82- C.B. HEISER, *Biotropica*, 1988, 20, 185.
- 83- B.E. OKOLI, *Economic Botany*, 1984, 38, 350.
- 84- G.I.O. BADIFU, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 1991, 68, 428
- 85- D.N. GRINDLEY, *J.S.F.A.*, 1950, 1, 152.
- 86- H.C. DASS, G.S. RANDHAWA, MANJIT KAUR, *The nucleus*, 1974, 17, 103.
- 87- R. LAVERGNE, « *Fleurs de Bourbon* », 7, Ed. Cazal, Saint-Denis, 1984.
- 88- F.D. GUNSTONE, S.R. STEWARD, J.A. CORNELIUS, T.W. HAMMONDS, *J. Sci. Food Agric.*, 1972, 23, 53.
- 89- C.O. MOUSSATA, C.C. AKOH, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 1997, 74, 177.
- 90- E.M. CARRERAS, E. FUENTES, C.A. GUZMAN, *Biochemical Systematics and Ecology*, 1989, 17, 287.
- 91- R.A. ODERINE, *Scifen Ole Fette Wachse*, Jg-Nr.20, 116, 809.
- 92- S.S. JOSHI, R.K. SHRIVASTAVA, *J. Inst. Chemists*, 1978, 71.
- 93- J.M. MUDERHWA, M. PINA, J. GRAILLE, *Rev. Fr. des Corps Gras*, 1987, 34, 533.
- 94- T. TAKAGI, V. ANDO, *Lipids*, 1991, 26, 542.
- 95- A. FOGLIA, E.J. CONKERTON, P.E. SONNET, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 1995, 72, 1275.
- 96- M. YURKOWSKI, H. BROCKERHOFF, *Boichim. Biophys. Acta*, 1996, 125, 55.
- 97- R.J. HAMILTON, J.B. ROSSEL, « *Analysis of Oils and Fats* », Ed. Elsevier Applied Science, Publisher, Londre, 1986.
- 98- F.D. GUNSTONE, *Chemistry and Industry*, 1962, 1214.

- 99- C.B. HEISER, *Systematic Botany*, 1988, 13, 138.
- 100- E.E. SCHILLING, C.B. HEISER, *Biochemical systematics and Ecology*, 1981, 9, 263.
- 110- B.S. KAMEL, B. BLACKMAN, *Food chemistry*, 1982, 9, 277
- 102- R. CHAMPNEY, N.M. FERGUSON, G.G. FERGUSON, *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 1974, 63, 942.
- 103- G.O. FARINU, *Food Chemistry*, 1986, 22, 315.
- 104- H. De Wit, « *Les plantes du monde* », vol.1, Ed. Hachette, Paris, 1963.
- 105- J.M BOURRE, *Rev. Fr. Corps Gras*, 1989, 29, 413.
- 106- J.P. HELME, *Rev. Fr. Corps Gras*, 1986, 7, 107.
- 107- J.P. Blond. *Rev. Fr. Corps Gras*, 1993, 7, 113.
- 108- R. ODERINE, O. TAIRU, F. AWOFALA, D. AYE DIRAN, *La Rivista italiana delle sostanze grasse*, 1990, LXVII, 259.
- 109- T. HALDER, V.N. GADVIL, *Phytochemistry*, 1983, 22, 1965.
- 110- C. KABELE NGIEFU, C. PAQUOT, A. VIEUX, *Oléagineux*, 1976, 31, 545.
- 111- G.W. PATTERSON, W.D. NES, « *Physiologie and Biochemistry of sterols* », American Oil Chemists' Society, Champaign, Illinois, 1991.
- 112- J. SANTOS OLIVIERA, M. FIDALGO DE CARVALHO, *Economic Botany*, 1975, 29, 255.
- 113- N. De TOMMASI, F. De SIMONE, *Planta medica*, 1991, 57, 201.
- 114- M.S.A. KAKIR, A.K.M.A. PRODHAN, M.A. HOSSAIN, *Intern. J. Trop. Agric.*, 1992, 10, 233.
- 115- P. MISRA, N.L. PAL, P.Y. GURU, J.C. KATIYAR, J.S. TANDON, *Int. J. Pharmacognosy*, 1991, 29, 19.
- 116- B. WENIGER, L. ROBINEAU, « *Recherches scientifiques et usage populaire des plantes médicinales dans la Caraïbe* », Séminaire Tramil 2, 1988, Ed. Endo-Caraïbe.
- 117- M. YASSUDA, M. IWAMOTO, H. OKABE, T. YAMAUCHI, *Chem. Pharm. Bull.*, 1984, 32, 2044.
- 118- H. OKABE, Y. MIYAHARA, T. YAMAUCHI, *Chem. Pharm. Bull.*, 1982, 30, 4334.
- 119- J. BRUNETON, « *Eléments de phytochimie et de pharmacognosie* », Tec& Doc., Lavoisier, Paris, 1978.
- 120- M.V. CHANDRAVADANA, *Journal of Chemical Ecology*, 1987, 13.
- 121- « *Phytochemical dictionary, a handbook of bioactive compounds from plants* », Ed. J.B. HARBONE, H. BAXTER, 1993.
- 122- K. SUNDAR RAO, G. LAKSHMINARAYANA, *J. Agric. Food Chem.*, 1988, 36, 475.
- 123- L. ALI, A. KALAM AZAD KHAN, *Planta medica*, 1993, 59, 408.
- 124- A.P. GUEVARA, C.Y. LIM-SYLIANCO, F.M. DAYRIT, P. Finch, *Phytochemistry*, 1989, 28, 1721.
- 125- B.E.P. OLIVER-BEVER, « *Medicinal Plants in tropical west Africa* », Cambridge university press, 1986, 236.
- 126- A. HULIN, M. WAVELET, J.M. DESBORDES, *Sem. Hôp. Paris*, 1988, 64, 2847.
- 127- C. JILKA, B. STRIFLER, G.W. FORTNER, *Cancer research*, 1983, 43, 5151.
- 128- K. SUNDAR RAO, C. KALUWIN, G.P. JONES, D.E. RIVETT, D.J. TUCKER, *J. Sci. Food Agric.*, 1991, 57, 427.
- 129- J.P. VERMA, J.S. AGGARWAL, *Jour. Indian Chem. Soc.*, 1956, 33, 1956.
- 130- M.J. CHISHOLM, C.Y. HOPKINS, *Canadian Journal of Biochemistry*, 1967, 45, 1081.

- 131- F. COMES, M. FARINES, A. AUMELAS, J. SOULIER, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 1992, *69*, 1224.
- 132- L. BERGTER, P.R. SEIDL, *Lipids*, 1984, *19*, 44.
- 133- A.P. TULLOCH, *Lipids*, 1982, *8*, 544.
- 134- R.C. BADAMI, K.B. PATIL, *Prog. Lipid Res.*, 1981, *19*, 119.
- 135- C.Y. HOPKINS, M.J. CHISHOLM, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 1968, *45*, 176.
- 136- C. SMITH, « Progress in the chemistry of fats and other lipids », vol. 11, Part 1, edited by R.T. HOLMAN. Pergamon Press, Oxford, 1970.
- 137- G. LOTTI, R. IZZO, F. NICOLINI, *La Rivista italiana delle sostanze grasse*, 1973, *12*.
- 138- J. T.P. DERKSEN, F. PETRUS CUPERUS, P. KOLSTER, *Progress in Organic Coatings*, 1996, *27*, 45.
- 139- P. SABIN, B. BENJELLOUN-MLAYAH, M. DELMAS, *O.C.L.*, 1995, *2*, 401.
- 140- P. SABIN, B. BENJELLOUN-MLAYAH, M. DELMAS, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 1997, *74*, 1227.
- 141- M.K. CHANG, E.J. CONKERTON, D.C. CHAPITAL, P.J. WAN, O.P. VADHWA, J.M. SPIERS, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 1996, *73*, 263.
- 142- E. UCCIANI, « Nouveau dictionnaire des huiles végétales », Tec.&Doc., Lavoisier, Paris 1995.
- 143- J. BEAUREGARG, E. BRATOEFF, *Rev. Soc. Chim. Mexique*, 1979, *23*, 117.
- 144- NGUYEN VAN DAN, PHAM KIM MAN, NGUYEN QUYNH, *Revue Médicale*, 1975, *145*.
- 145- M.K. CHANG, E.J. CONKERTON, D. CHAPITAL, P.J. WAN, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 1994, *71*, 1173.
- 146- G. PONSINET, G. OURISSON, *Phytochemistry*, 1968, *7*, 757.
- 147- G. PONSINET, G. OURISSON, *Phytochemistry*, 1967, *6*, 1235.
- 148- A. RAHIER, L. CATTEL, P. BENVENISTE, *Phytochemistry*, 1977, *16*, 1187.
- 149- V.K. GARG, W.R. NES, *Lipids*, 1985, *20*, 876.

# PARTIE EXPERIMENTALE

## 1 - OBTENTION DES HUILES

Les graines de chaque plante ont été séchées et broyées finement. La poudre obtenue est à nouveau séchée à l'étuve pendant 12 heures à 50°C. Cette dernière est ensuite extraite par de l'hexane au Soxhlet pendant 14 heures [1a]. Après évaporation du solvant sous pression réduite, les huiles sont obtenues avec les rendements suivant par rapport au poids sec :

- huile de calabasse bouteille : 22,23 %
- huile de calabasse la gale : 16,4 %
- huile de pipangaille à côtes : 24,7 %
- huile de pipangaille lisse : 27,4 %
- beurre de margoze : 32,6 %

## 2 - SAPONIFICATION DES HUILES [2a]

5 g de corps gras sont saponifiés par 50 mL d'une solution alcoolique de KOH 1M. Le mélange porté à reflux pendant 1 heure est additionné de 150 mL d'H<sub>2</sub>O distillée versées directement par le réfrigérant. La solution froide est extraite par 60 mL d'éther. Cette opération effectuée successivement en 5 fois permet de récupérer la phase organique contenant l'insaponifiable. La phase aqueuse, en revanche, contient les sels de potassium des acides gras.

## 3 - ANALYSE DES ACIDES GRAS

### 3. 1. Préparation des E.M.A.G.

#### 3. 1. 1. Estérification par le complexe BF<sub>3</sub>/MeOH [2b]

A 250 mg d'huile sont ajoutés 6 mL d'une solution méthanolique de NaOH 0,5M. Ce mélange est portée à reflux jusqu'à disparition complète des gouttelettes grasses une durée de 10 minutes est jugée suffisante. Par le réfrigérant sont rajoutés 7 mL d'une solution méthanolique de BF<sub>3</sub> à 20 % et l'ébullition est poursuivie pendant 2 minutes.

De la même manière, 5 mL d'heptane sont ajoutés et on continue l'ébullition pendant 1 minute. Après l'arrêt du chauffage, on rajoute quelques mL d'une solution saturée de NaCl. La phase organique contenant les E.M.A.G. est recueillie, séchée sur  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anhydre, filtrée et évaporée.

### 3. 1. 2. Transestérification en milieu basique [3]

Dans un pilulier on dissout 50 mg de corps gras par 1 mL de méthyl*tert*iobutyléther. 0,5 mL d'une solution méthanolique de méthylate de sodium 0,2M est ajouté et le mélange est agité vigoureusement pendant 1 minute puis on le laisse reposer pendant 2 minutes.

0,1 mL d'une solution aqueuse d' $\text{H}_2\text{SO}_4$  0,5M est ensuite rajouté et le mélange est agité à nouveau pendant 10 secondes puis est additionné de 1,5 mL d' $\text{H}_2\text{O}$  distillée. On agite doucement puis on laisse décanter. La phase organique, contenant les E.M.A.G., est récupérée et séchée sur du  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anhydre.

## 3. 2. Analyse des E.M.A.G.

### 3. 2. 1. Par C.P.G. [2c]

Les E.M.A.G. obtenus sont analysés par C.P.G. Les conditions expérimentales sont décrites en annexe 4, C.P.G. 1.

### 3. 2. 2. Par C.L.H.P. [4]

L'analyse qualitative des différents isomères de l'ester méthylique de l'acide octadécatriénoïque conjugué est réalisée par C.L.H.P. couplée à un détecteur U.V. fixé à la longueur d'onde de 284 nm. Les conditions expérimentales figurent en annexe 4, C.L.H.P.1.

-colonne	: RP-18, Merck de type Lichrospher
- éluant	: acétonitrile/eau (4 : 1, v/v)
- débit	: 1,4 mL/min
- atténuation	: 64
- quantité injectée	: 20 $\mu\text{L}$ d'une solution à 7 mg/mL
- durée	: 35 min

L'ordre d'éluion des différents isomères géométriques de l'acide gras triéthylénique conjugué est le suivant : *cis,trans,cis* / *cis,trans,cis*, et *trans,trans,cis* / *trans,trans,trans*.

### 3. 2. 3. Par spectrophotométrie U.V. [2d]

La présence des A.G. polyinsaturés dans les corps gras étudiés est détectée par U.V.. On pèse précisément 12 mg de corps gras que l'on dilue dans 20 mL de cyclohexane. Le spectre U.V. est réalisé entre 200 et 400 nm avec une vitesse de 0,1 nm/s. A 272 nm on mesure la densité optique et l'absorbance spécifique est calculée de la façon suivante :

$$E' = D.O. / (l. c.)$$

avec D.O. : densité optique,

l : épaisseur de la cuve,

c : concentration exacte de la solution exprimée en g/100 mL.

L'absorbance spécifique des huiles de Cucurbitacées étudiées sont les suivantes :

• huile de calebasse bouteille	: 4,38
• huile de calebasse la gale	: 2,27
• huile de pipangaille à côtes	: 13,55
• huile de pipangaille lisse	: 2,54
• beurre de margoze	: 1227

### 3. 2. 4. Détermination de la répartition des acides gras au sein des différentes classes de glycérides [1b]

Dans une colonne en verre de 10 mm de diamètre intérieur et de 30 cm de long sont transvasés 5 g de silice (gel de silice 60, granulométrie 0,063 - 0,200 mm, Merck) dissous dans le minimum d'éther de pétrole.

100 mg de corps gras solubilisés dans le minimum de  $\text{CHCl}_3$  et déposés en tête de colonne sont fractionnés en différentes classes par des solvants de polarité croissante.

L'éluion par 60 mL de benzène permet le recueillement de la fraction contenant les triacylglycérols.

La fraction contenant les diacylglycérols et les acides gras libres sont élués par 60 mL du mélange éther/benzène (1 : 9, v/v).

Les monoacylglycérols sont élués par 60 mL d'éther.

Par C.C.M. de silice on vérifie la pureté des différents produits recueillis. Le solvant de développement est le mélange hexane-éther (80 : 20, v/v). Les fractions contenant les T.A.G., le mélange D.A.G. et A.G.L. et M.A.G. sont méthylées puis analysées par C.P.G.

La détermination de la teneur en A.G.L. est effectuée par dosage. Une quantité précise de la fraction contenant les D.A.G. et A.G.L. est dissoute dans 25 mL d'éthanol neutralisé. Cette solution est titrée en présence de phénolphthaléine par une solution à 0,05 N de NaOH.

Le pourcentage d'A.G.L. est déterminée par la formule suivante :

$$\% \text{ A.G.L.} = (V \cdot T \cdot 282) / (10 \cdot m)$$

où :

V : volume de NaOH versé (mL)  
T : normalité exacte de la solution de NaOH  
m : masse de l'échantillon prélevée (g)

Le pourcentage de D.A.G. est alors calculé de la façon suivante :

$$\% \text{ D.A.G.} = (m_1 / m) / (100 - A)$$

où :

m<sub>1</sub> : masse de la fraction contenant les D.A.G et A.G.L. (g)  
m : masse d'huile éluee (g)  
A : le pourcentage d'A.G.L. déterminée par le calcul précédent

## 4 - Analyse des T.A.G.

### 4. 1. Isolement des T.A.G. [1b]

5 g de silice (gel de silice 60, granulométrie 0,063 - 0,200 mm, Merck) dissous dans le minimum d'éther de pétrole sont transvasés dans une colonne en verre de 10 mm de diamètre intérieur et de 30 cm de long.

100 mg d'huile solubilisées dans le minimum de CHCl<sub>3</sub> sont déposés en tête de colonne. L'éluion de la fraction contenant les triacylglycérols est réalisée par 60 mL de benzène.

## 4. 2. Détermination de la répartition des acides gras sur les positions *sn*-2 et *sn*-1,3 du glycérol.

### 4. 2. 1. Par dégradation chimique ménagée [5]

Dans un pilulier, 50 mg de T.A.G. dissous dans 2 mL d'éther sont additionnés de 0,2 mL d'une solution étherée de  $C_2H_5MgBr$ , 3M. Le mélange est agité vigoureusement pendant 30 secondes. L'addition de 5 mL d'eau distillée est suivie d'une agitation de 2 minutes.

Par centrifugation, on récupère la phase supérieure organique qui est lavée successivement par 5 mL d'eau distillée, 5 mL de  $NaHCO_3$  à 20 % et 5 mL d'eau distillée. Après séchage sur  $Na_2SO_4$  anhydre, filtration et évaporation, on récupère les différents produits de la réaction, à savoir les T.A.G. résiduels, les A.G.L., les 1,3-D.A.G., le mélange contenant les 1,2- et 2,3-D.A.G. et les M.A.G, qui sont ensuite séparés par C.C.M. sur plaque de silice (feuilles de plastique recouvertes de gel de silice 60 254 - 0,2 mm d'épaisseur, Merck). Le solvant de développement est le mélange hexane-éther (50 : 50, v/v). Une seule migration est nécessaire.

La bande correspondant au mélange 1,2- et 2,3-D.A.G. est grattée et désorbée par 30 mL du mélange  $CHCl_3/MeOH$  (90 : 10, v/v) sous agitation magnétique pendant 2 heures. Après filtration et évaporation, les 1,2- et 2,3-D.A.G. ainsi que les T.A.G totaux sont estérifiés par méthanolyse basique. Leurs compositions en acides gras sont déterminées par C.P.G..

### 4. 2. 2. Par hydrolyse enzymatique [1c,6]

Dans un pilulier, 50 mg de T.A.G additionnés de 0,25 mL d'une solution aqueuse de cholate de sodium à 0,1 % et de 0,1 mL de solution aqueuse de chlorure de calcium à 22% sont maintenus sous agitation constante à 40 °C.

0,8 mL d'une suspension de lipase à 40 mg/mL dans du tampon tris à pH 8,00 est ajouté au mélange après 15 min. Le mélange est agité pendant une durée de 1 minute à 40 °C, puis de 2 minutes à température ambiante. L'acidification du milieu réactionnel par l'ajout de 1 mL d'HCl 6M arrête la digestion enzymatique.

On extrait les produits d'hydrolyse successivement en quatre fois par 2 mL d'éther.

La phase supérieure, récupérée par centrifugation, est lavée une fois à l'eau distillée. Séchée sur  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anhydre, elle est ensuite filtrée et évaporée.

Les différents produits d'hydrolyse sont séparés par C.C.M. sur plaque de silice (feuilles de plastique recouvertes de gel de silice 60 254 - 0,2 mm d'épaisseur, Merck). Le solvant de développement est le mélange hexane/éther (50 : 50, v/v).

Après une migration, on délimite les bandes correspondant aux M.A.G. et T.A.G. résiduels par pulvérisation d'une solution de dichlorofluorescéine à 0,05 % sur les bandes latérales de 1 cm de largeur et on observe sous U.V à 350 nm. Les différentes fractions sont ensuite, désorbées par 30 mL du mélange  $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$  (90 : 10, v/v) pendant 1 heure sous agitation magnétique.

Après filtration et évaporation de la solution, les M.A.G., et les T.A.G. résiduels sont estérifiés par méthanolyse basique. La détermination de la composition en acides gras est effectuée par C.P.G.

#### 4. 3. Analyse par C.L.H.P.

Les conditions expérimentales mises au point pour la chromatographies des T.A.G. sont décrites à l'annexe 4, C.L.H.P. 2.

- éluant : acétone/acétonitrile (2 : 1, v/v)
- débit : 0,8 mL/min
- atténuation : 32
- quantité injectée : 20  $\mu\text{L}$  d'une solution à 20 mg/mL
- durée : 55 min

## 5 - ETUDE DE LA FRACTION INSAPONIFIABLE

### 5. 1. Obtention de l'insaponifiable [2a]

La phase étherée obtenue par la saponification de l'huile est lavée à l'eau distillée jusqu'à neutralité. Elle est ensuite séchée sur du  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anhydre. Après filtration et évaporation du solvant, la fraction insaponifiable obtenue est placée à l'étuve à la

température de 103°C jusqu'à poids constant. L'insaponifiable est obtenu avec les rendements suivant :

- huile de calebasse bouteille : 2,3 %
- huile de calebasse la gale : 1,3 %
- huile de pipangaille à côtes : 2,1 %
- huile de pipangaille lisse : 1,7 %
- beurre de margoze : 2,0 %

## 5. 2. Fractionnement de l'insaponifiable par colonne ouverte d'alumine [7]

60 g d'alumine neutre (oxyde d'aluminium 90 activé, granulométrie : 0,063 - 0,200 mm, Merck) sont déshydratés à l'étuve à 250°C pendant 2 heures. Placée dans un dessiccateur jusqu'à son refroidissement complet, l'alumine neutre est ensuite réhydratée à 5%.

Dans une colonne de 20 cm de longueur et de 2,5 cm de diamètre interne, on introduit l'alumine réhydratée en suspension dans de l'hexane. L'insaponifiable dissous dans le minimum de  $\text{CHCl}_3$  est déposé en tête de colonne puis est élué par un mélange hexane-éther de polarité croissante. Chaque fraction de 50 mL recueillie en bas de colonne est contrôlée par C.C.M. afin, d'une part de visualiser les différentes classes de l'insaponifiable qui sont éluées et d'autre part, de modifier la polarité du mélange éluant. Le solvant de développement est le mélange hexane-éther-acide formique (70 : 30 : 1, v/v/v). Les plaques sont révélées par vaporisation d'une solution aqueuse d' $\text{H}_2\text{SO}_4$  à 50% puis elles sont minéralisées à l'étuve à 103°C. Les tableaux I, II et III regroupent les résultats obtenus pour les huiles et le beurre étudiés.

Tableau PE-1

Proportions des différentes classes de l'insaponifiable des huiles de graines du genre *Lagenaria*

Eluant hexane/éther (v/v)	Produits recueillis	Rf	<i>Lagenaria leucaritha</i>	
			variété bouteille % <sup>1</sup>	variété la gale % <sup>1</sup>
100 : 0 99 : 1	hydrocarbures + pigments	0,70-60	19,2	13,6
99 : 1	tocophérols	0,55	23,0	26,0
98 : 2	alcools triterpéniques	0,40	12,1	15,7
98 : 2	alcools triterpénique + 4 $\alpha$ - méthylstérois	0,40-0,35	2,0	1,8
98 : 2	4 $\alpha$ -méthylstérois + stérois	0,35-0,30	6,4	5,7
98 : 2 97 : 3	stérois	0,20-0,27	28,8	28,0
96 : 4	composés oxygénés	0,21	8,5	9,2

<sup>1</sup> : % en masse dans l'insaponifiable.

Tableau PE-2

Proportions des différentes classes de l'insaponifiable des huiles de graines du genre *Luffa*

Eluant hexane/éther (v/v)	Produits recueillis	Rf	<i>Luffa acutangula</i>	<i>Luffa cylindrica</i>
			% <sup>1</sup>	% <sup>1</sup>
100 : 0 99 : 1	hydrocarbures + pigments	0,70-0,60	19,4	20,4
99 : 1	tocophérols	0,55	25,3	26,4
99 : 1	alcools triterpéniques	0,40	13,8	12,7
98 : 2	alcools triterpénique + 4 $\alpha$ - méthylstérois	0,40-0,35	3,6	4,4
98 : 2	4 $\alpha$ -méthylstérois + stérois	0,35-0,30	1,7	2,5
98 : 2 97 : 3	stérois	0,30-0,27	23,8	21,9
96 : 4	composés oxygénés	0,21 à 0,03	12,5	11,7

<sup>1</sup> : % en masse dans l'insaponifiable.

Tableau PE-3

Proportions des différentes classes de l'insaponifiable du beurre de graines de *Momordica charantia*

Eluant hexane/éther (v/v)	Produits recueillis	Rf	<i>Momordica charantia</i>
			% <sup>1</sup>
100 : 0 99 : 1	hydrocarbures + pigments	0,70-0,60	16,9
99 : 1	tocophérols	0,55	24,2
99 : 1 98 : 2	tocophérols + alcools triterpéniques	0,55-0,40	17,2
98 : 2	alcools triterpéniques + 4 $\alpha$ -méthylstérois	0,40-0,35	4,0
98 : 2	4 $\alpha$ -méthylstérois	0,35	5,2
98 : 2 97 : 3	stérois	0,30-0,27	24,1
96 : 4	composés oxygénés	0,21 à 0,03	8,4

<sup>1</sup> : % en masse dans l'insaponifiable.

### 5. 3. Acétylation des différentes classes de triterpènes

Dans un erlen rodé de 25 mL, 12 mg de triterpéniques additionnés de 2 mL de pyridine et de 2 mL d'acide acétique sont laissés en contact toute une nuit. Ce mélange constamment agité est placé à l'abri de la lumière et de l'humidité.

10 mL d'H<sub>2</sub>O distillée sont ajoutés ensuite au mélange et les dérivés acétylés sont extraits par quatre volumes de 10 mL d'hexane. La phase organique récupérée est lavée successivement par 10 mL d'une solution aqueuse d'HCl 0,1 M puis par 10 mL d'une solution aqueuse de NaHCO<sub>3</sub> à 1% et par de l'eau distillée jusqu'à pH=7. Après séchage sur Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhydre, la solution hexanique est filtrée puis le solvant est évaporé sous pression réduite.

### 5. 4. Isolement des divers constituants d'une même classe

#### 5. 4. 1. - Par C.C.M. [8]

Les  $\Delta$ 5- et les  $\Delta$ 7-stérois libres ont été séparés par cette méthode.

100 mg d'une solution de stérois sont déposés sur une plaque préparative de silice ainsi qu'une solution de cholestérol utilisée comme témoin. Le solvant de développement est le mélange hexane/éther (1 : 1, v/v), et après deux migrations successives, on révèle la plaque par pulvérisation d'une solution méthanolique de dichlorofluorescéine à 0,05 % sur les bords. L'observation sous U.V. à 350 nm permet de délimiter les différentes bandes qui seront ensuite grattées et désorbées par le mélange CHCl<sub>3</sub>/MeOH (90 : 10, v/v) pendant 1h sous agitation magnétique.

Après filtration et évaporation, les produits récupérés sont acétylés.

#### 5. 4. 2. - Par C.C.M.- argentique [9]

##### *préparation des plaques :*

Le mélange CH<sub>3</sub>CN/solution aqueuse AgNO<sub>3</sub> à 20 % (3 : 1, v/v) sature pendant 1h une cuve chromatographique placée à l'abri de la lumière. Les plaques de silice sont ensuite imprégnées pendant 1h30 par ce mélange puis séchées à l'étuve à 60°C pendant deux heures.

*fractionnement de l'échantillon par C.C.M.-argentique :*

Une solution chloroformique de 100 mg/mL est déposée en ligne à raison de 1mg/cm. Le solvant de développement est un mélange CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/CCl<sub>4</sub> dont leurs proportions respectives ainsi que le nombre de migrations nécessaires pour une séparation optimale varient en fonction de la classe des produits à séparer.

La plaque est révélée par pulvérisation d'une solution méthanolique de dichlorofluorescéine à 0,05 % sur les bords. L'observation sous U.V. à 350 nm permet de délimiter les différentes bandes qui seront ensuite grattées et désorbées par le mélange CHCl<sub>3</sub>/MeOH (90 : 10, v/v) pendant 1h sous agitation magnétique.

Les produits séparés sont récupérés après filtration et évaporation du solvant. Ils sont ensuite analysés par diverses techniques chromatographiques ou spectrométriques afin de les identifier.

#### 5. 4. 2. - Par C.L.H.P.

Le fractionnement des composés appartenant à la même classe triterpénique est effectuée par C.L.H.P. en phase inverse. Les conditions expérimentales sont données en annexe 4, C.L.H.P. 3

- éluant	: MeOH
- débit	: 1,0 mL/min
- atténuation	: 32
- quantité injectée	: 20 µL d'une solution à 20 mg/mL

Les produits sont solubilisés dans le méthanol additionné du minimum de CHCl<sub>3</sub> nécessaire à leur dissolution. Les divers produits séparés ont été récupérés à la sortie de la colonne à la suite d'un nombre d'injections répétées. Ils subiront d'autres analyses ultérieures nécessaire à leur identification.

#### 5. 5. Identification des différents composés isolés

L'analyse des divers constituants de la filière triterpénique est réalisée par C.P.G.-S.M. et par R.M.N. <sup>1</sup>H. Les conditions expérimentales de la C.P.G.-S.M. sont données en annexe 4. Par ailleurs, la vérification de la pureté des différents produits isolés est effectuée par C.P.G.-S.M.. Le T.R.R. de chaque composé ainsi détecté est donné par rapport au

cholestérol acétylé. Les spectres de R.M.N.  $^1\text{H}$  sont pris en solution dans le deutériochloroforme sur un appareil JEOL JNM-EX 400.

### 5. 5.1. - Les alcools triterpéniques

#### • Composé A1 : Cucurbita-5,24-dién-3 $\beta$ -ol

**spectre de masse :** 468 ( $\text{M}^+$ , 7 %), 453 (M-Me, 4 %), 408 (M-AcOH, 20 %), 393 (M-AcOH-Me, 9 %), 301 (M-C<sub>8</sub>H<sub>15</sub>-C<sub>3</sub>H<sub>5</sub>-Me, 2 %), 297 (M-C<sub>8</sub>H<sub>15</sub>-AcOH, 1 %), 274 (M-C<sub>10</sub>H<sub>14</sub>-AcOH, 100 %), 247 (M-C<sub>16</sub>H<sub>28</sub>-H, 9 %).

**spectre R.M.N.  $^1\text{H}$  :**  $\delta$ = 0,800 (s, Me18) - 0,841 (s, Me30) - 0,894 (d, J=6,4 Hz, Me21) - 0,909 (s, Me19) - 1,015 (s, Me29) - 1,129 (s, Me28) - 1,669 (s, Me26) - 1,590 (s, Me27) - 5,085 (t, J=7,2 Hz, H24) - 5,580 (dd, J=6,0/1,8 Hz, H5) - 4,691 (dd, J=11,2/2,5 Hz, H3).

#### • Composé A3 : Taraxérol

**spectre de masse :** 468 ( $\text{M}^+$ , 2 %), 453 (M-Me, 1%), 408 (M-AcOH, 9%), 393 (M-Me-AcOH, 10 %), 344 (23 %), 329 (19 %), 284 (7 %), 269 (17 %), 231 (5 %), 218 (M-C<sub>14</sub>H<sub>22</sub>-AcOH, 18 %), 204 (218-Me+H, 100 %), 189 (M-C<sub>16</sub>H<sub>26</sub>-H-AcOH, 24 %)

**spectre R.M.N.  $^1\text{H}$  :**  $\delta$ =0,794 (s, Me28) - 0,834 (s, Me23) - 0,851 (s, Me24) - 0,876 (s, Me30) - 0,883 (s, Me27) - 0,927 (2s, Me25/29) - 1,065 (s, Me26) - 5,508 (dd, J=8,1 Hz, J=3,2 Hz, H15) - 4,437 (dd, J=9,8 Hz, J=4,2 Hz, H3).

#### • Composé A4 : Lanostérol

**spectre de masse :** 468 ( $\text{M}^+$ , 14 %), 453 (M-Me, 100 %), 408 (M-AcOH, 2 %), 393 (M-Me-AcOH, 62 %), 301 (M-C<sub>11</sub>H<sub>20</sub>-Me, 2 %), 297 (M-C<sub>8</sub>H<sub>15</sub>-AcOH, 2 %), 255 (M-CL-C<sub>3</sub>H<sub>5</sub>-H-AcOH, 7 %), 241 (13%), 229 (12%).

**spectre R.M.N.  $^1\text{H}$  :**  $\delta$ =0,806 (s, Me18) - 0,846 (s, Me30) - 0,939 (s, Me28) - 0,943 (s, Me29) - 1,105 (s, Me19) - 1,505 (s, Me27) - 1,569 (s, Me26) - 5,158 (t, J=3,7 Hz, H24) - 4,480 (m, H3).

• Composé A5 :  $\beta$ -amyrine

spectre de masse : 468 ( $M^+$ , 5 %), 453 (M-Me, 1 %), 408 (M-AcOH, 1 %), 393 (M-Me-AcOH, 2 %), 249 (M-C<sub>16</sub>H<sub>26</sub>-H, 2 %), 218 (M-C<sub>14</sub>H<sub>22</sub>-AcOH, 100 %), 203 (218-Me, 72%), 189 (249-AcOH, 39 %)

spectre R.M.N. <sup>1</sup>H :  $\delta$ =0,830 (s, Me24) - 0,858 (s, Me28) - 0,873 (2s, Me29/30) - 0,951 (s, Me23) - 0,970 (s, Me25) - 0,994 (s, Me26) - 1,158 (s, Me27) - 4,465 (m, H3) - 5,181 (t, J=3,7 Hz, H12).

• Composé A6 : Lupéol

spectre de masse : 468 ( $M^+$ , 22 %), 453 (M-Me, 1 %), 408 (M-AcOH, 9%), 393 (M-Me-AcOH, 7 %), 365 (M-C<sub>3</sub>H<sub>5</sub>-AcOH-2H, 2 %), 231 (M- C<sub>13</sub>H<sub>21</sub>-AcOH, 7 %), 218 (M- C<sub>14</sub>H<sub>22</sub>-AcOH, 30 %), 203 (218-Me, 41 %), 189 (M- C<sub>16</sub>H<sub>26</sub>-H-AcOH 100 %).

spectre R.M.N. <sup>1</sup>H :  $\delta$ = 0,762 (s, Me24) - 0,812 (s, Me28) - 0,820 (s, Me25) - 0,827 (s, Me27) - 0,914 (s, Me23) - 1,005 (s, Me26) - 1,665 (s, Me30) - 2,233 (m, H19) - 4,548 (d, J=1Hz, H29) - 4,662 (d, J=1Hz, H29) - 4,446 (dd, J=9,8/6,3 Hz, H3).

• Composé A7 : Cycloarténol

spectre de masse : 468 ( $M^+$ , 20 %), 453 (M-Me, 13 %), 408 (M-AcOH, 100 %), 393 (M-Me-AcOH, 75 %), 365 (M-C<sub>3</sub>H<sub>6</sub>-H-AcOH, 47 %), 339 (M-C<sub>5</sub>H<sub>9</sub>-AcOH, 2 %), 297 (M-C<sub>8</sub>H<sub>15</sub>-AcOH, 28 %), 286 (M-C<sub>9</sub>H<sub>13</sub>-H-AcOH, 30 %), 255 (M-CL-C<sub>3</sub>H<sub>5</sub>-H-AcOH, 22 %), 241 (M-CL-C<sub>3</sub>H<sub>5</sub>-Me-AcOH, 10 %).

spectre R.M.N. <sup>1</sup>H :  $\delta$ =0,318/0,550 (2d, 2H, J=4,0 Hz, H19) - 0,825 (s, Me29) - 0,860 (d, J=8,0 Hz, Me21) - 0,868 (s, Me18) - 0,935 (2s, Me28/30) - 1,582 (s, Me26) - 1,663 (s, Me 27) - 4,543 (dd, 1H, J=9,9 Hz, J=5,0 Hz, H3) - 5,080 (t, J=6,5 Hz, H24).

• Composé A7' :  $\alpha$ -amyrine

spectre de masse : 468 ( $M^+$ , 4 %), 453 (M-Me, 1 %), 408 (M-AcOH, 1 %), 393 (M-Me-AcOH, 1 %), 249 (M-C<sub>16</sub>H<sub>26</sub>-H, 1 %), 218 (M-C<sub>14</sub>H<sub>22</sub>-AcOH, 100 %), 203 (218-Me, 70%), 189 (249-AcOH, 35%).

**spectre R.M.N.  $^1\text{H}$**  :  $\delta$ = 0,795 (d, J=5,8 Hz, Me29) - 0,797 (s, Me24) - 0,867 (s, Me28) - 0,875 (s, Me25) - 0,904 (d, J=4,3 Hz, Me30) - 0,982 (s, Me23) - 1,009 (s, Me26) - 1,066 (s, Me27) - 5,123 (t, J=3,8 Hz, H12) - 4,512 (dd, J=9,9 Hz, J=5,1 Hz, H3).

• **Composé A8 : 24-méthylèncycloartanol**

**spectre de masse** : 482 ( $\text{M}^+$ , 5 %), 467 (M-Me, 7 %), 422 (M-AcOH, 24 %), 407 (M-Me-AcOH, 11 %), 379 (M-C<sub>3</sub>H<sub>7</sub>-AcOH, 18 %), 353 (M-C<sub>5</sub>H<sub>8</sub>-H-AcOH, 2 %), 339 (M-C<sub>6</sub>H<sub>11</sub>-AcOH, 5 %), 300 (M-C<sub>9</sub>H<sub>13</sub>-H-AcOH, 7 %), 297 (M-C<sub>9</sub>H<sub>17</sub>-AcOH, 9 %), 323 (M-C<sub>7</sub>H<sub>13</sub>-2H-AcOH, 1 %), 269 (M-CL-C<sub>2</sub>H<sub>3</sub>-H-AcOH, 2 %), 255 (M-CL-C<sub>3</sub>H<sub>5</sub>-H-AcOH, 2 %), 241 (M-CL-C<sub>3</sub>H<sub>5</sub>-Me-AcOH, 2 %), 95 (C<sub>7</sub>H<sub>11</sub>, 100 %).

**spectre R.M.N.  $^1\text{H}$**  :  $\delta$ =0,320/0,550 (2d, 2H, J=4,0 Hz, H19) - 0,825 (s, Me29) - 0,873 (d, J=5,0 Hz, Me21) - 0,916 (s, Me18) - 0,940 (2s, Me28/30) - 1,005 (d, J=6,8 Hz, Me27) - 1,010 (d, J=6,8 Hz, Me26) - 4,543 (dd, J=9,8 Hz, J=5,2 Hz, H3) - 4,641/4,693 (2d, J=1,8 Hz, H24<sup>1</sup>).

## 5. 5. 2. - Les stérols

• **Composé S1 : Campestérol et 22-dihydrobrassicatérol**

**spectre de masse** : 442 ( $\text{M}^+$ ), 427 (M-Me, 4 %), 382 (M-AcOH, 100 %), 367 (M-Me-AcOH, 21 %), 343 (M-C<sub>3</sub>H<sub>4</sub>-H-AcOH, 10 %), 261 (M-C<sub>9</sub>H<sub>12</sub>-H-AcOH, 12 %), 255 (M-C<sub>9</sub>H<sub>19</sub>-AcOH, 17 %), 213 (M-CL-C<sub>3</sub>H<sub>5</sub>-H-AcOH, 14 %)

**spectre R.M.N.  $^1\text{H}$**  :

**campestérol** :  $\delta$ =0,653 (s, Me18) - 0,778 (d, J=6,8 Hz, Me24<sup>1</sup>) - 0,789 (d, J=6,8 Hz, Me26) - 0,846 (d, J=8,8 Hz, Me27) - 0,886 (d, J=6,4 Hz, Me21) - 0,995 (s, Me19) - 4,580 (m, H3) - 5,354 (m, H5).

**22-dihydrobrassicatérol** :  $\delta$ =0,653 (s, Me18) - 0,789 (d, J=6,8 Hz, Me24<sup>1</sup>) - 0,811 (d, J=7,3 Hz, Me26) - 0,830 (d, J=7,8 Hz, Me27) - 0,897 (d, J=6,4 Hz, Me21) - 0,995 (s, Me19) - 4,580 (m, H3) - 5,354 (m, H5).

• Composé S2 : **Stigmastérol**

**spectre de masse** : 454 (M<sup>+</sup>, -), 394 (M-AcOH, 100 %), 379 (M-Me-AcOH, 5 %), 351 (M-C<sub>3</sub>H<sub>7</sub>-AcOH, 9 %), 282 (M-C<sub>8</sub>H<sub>15</sub>-H-AcOH, 3 %), 255 (M-C<sub>10</sub>H<sub>19</sub>-AcOH, 47 %), 253 (M-C<sub>10</sub>H<sub>19</sub>-2H-AcOH, 14 %), 228 (M-CL-C<sub>2</sub>H<sub>3</sub>-AcOH, 7 %), 213 (M-CL-C<sub>3</sub>H<sub>5</sub>-H-AcOH, 13%).

**spectre R.M.N. <sup>1</sup>H** : δ=0,690 (s, Me18) - 0,790 (d, J=6,8 Hz, Me27) - 0,800 (t, J=6,8 Hz, Me24<sup>2</sup>) - 0,841 (d, J=6,4 Hz, Me26) - 1,016 (s, Me19) - 1,016 (d, J=6,8 Hz, Me21) - 4,603 (m, H3) - 5,010 (dd, J=15,1 Hz, J=8,2 Hz, H23) - 5,152 (dd, J=15,1 Hz, J=8,2 Hz, H22) - 5,368 (m, H6).

• Composé S3 : **Sitostérol**

**spectre de masse** : 456 (M<sup>+</sup>, -), 441 (M-Me, 7 %), 396 (M-AcOH, 100 %), 381 (M-Me-AcOH, 15 %), 257 (M-C<sub>3</sub>H<sub>4</sub>+H-AcOH, 11 %), 255 (M-C<sub>10</sub>H<sub>21</sub>-AcOH, 7 %), 228 (M-CL-C<sub>3</sub>H<sub>5</sub>-H-AcOH, 1 %), 213 (M-CL-C<sub>3</sub>H<sub>5</sub>-H-AcOH, 10 %)

**spectre R.M.N. <sup>1</sup>H** : δ=0,653 (s, Me18) - 0,800 (d, J=6,8 Hz, Me26) - 0,813 (d, J=7,3 Hz, Me27) - 0,820 (t, J=7,5 Hz, Me24<sup>2</sup>) - 0,898 (d, J=6,3 Hz, Me21) - 0,997 (s, Me19) - 4,581 (m, H3) - 5,353 (d, J=4,1 Hz, J< 1 Hz, H6).

• Composé S4 : **Stigmasta-7,22-dién-3β-ol**

**spectre de masse** : 454 (M<sup>+</sup>, 5 %), 439 (M-Me, 3 %), 411 (M-C<sub>3</sub>H<sub>7</sub>, 4 %), 394 (M-AcOH, 2%), 379 (M-Me-AcOH, 3 %), 342 (M-C<sub>8</sub>H<sub>15</sub>-H, 6 %), 351 (M-C<sub>3</sub>H<sub>7</sub>-AcOH, 2 %), 315 (M-C<sub>10</sub>H<sub>19</sub>, 6 %), 313 (M-C<sub>10</sub>H<sub>19</sub>-2H, 100 %), 288 (M-CL-C<sub>2</sub>H<sub>3</sub>, 6 %), 255 (M-C<sub>10</sub>H<sub>19</sub>-AcOH, 50 %), 253 (255-2H, 2 %), 228 (M-CL-C<sub>2</sub>H<sub>3</sub>-AcOH, 1 %), 213 (M-CL-C<sub>3</sub>H<sub>5</sub>-H-AcOH, 25 %).

**spectre R.M.N. <sup>1</sup>H** : δ=0,548 (s, Me18) - 0,811 (s, Me19) - 0,827 (d, J=6,4 Hz, Me27) - 0,835 (t, J=7,5 Hz, Me24<sup>2</sup>) - 0,877 (d, J=6,4 Hz, Me26) - 1,052 (d, J=6,6 Hz, Me21) - 4,061 (m, H3) - 5,047 (dd, J=15,2 Hz, J=7,0 Hz, H23) - 5,193 (dd, J=15,1 Hz, J=8,4 Hz, H22) - 5,139 (dd, 1H, J=4,7/2,3 Hz, H7).

• Composé S4' : **Stigmasta-7, 22, 25-trién-3 $\beta$ -ol**

**spectre de masse** : 452 (M<sup>+</sup>, 7 %), 437 (M-Me, 3 %), 423 (M-Me-AcOH, 5 %), 368 (M-C<sub>6</sub>H<sub>11</sub>-H, 3 %), 363 (M-C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>-AcOH, 6 %), 342 (M-C<sub>8</sub>H<sub>13</sub>-H, 7 %), 315 (M-C<sub>10</sub>H<sub>17</sub>, 30 %), 313 (M-C<sub>10</sub>H<sub>17</sub>-2H, 100%), 255 (M-CL-AcOH, 48 %), 253 (255-2H, 27 %), 213 (M-CL-C<sub>3</sub>H<sub>5</sub>-H-AcOH, 18%)

**spectre R.M.N. <sup>1</sup>H** :  $\delta$ =0,520 (s, Me18) - 0,787 (s, Me19) - 0,813 (t, J=7,8 Hz, Me24<sup>2</sup>) - 0,993 (d, J=6,1 Hz, Me21) - 1,625 (s, Me26) - 2,400 (dd, J=14,0 Hz, J=7,0 Hz, H24) - 4,680 (m, H3) - 4,673/4,684 (2d, J=1,2 Hz, H27) - 5,175 (dd, J=15,1 Hz, J=7,0 Hz, H23) - 5,230 (dd, J=15,1 Hz, J=7,0 Hz, H22) - 5,120 (m, H7)

• Composé S5 : **Stigmasta-7,25-dién-3 $\beta$ -ol**

**spectre de masse** : 454 (M<sup>+</sup>, 15 %), 439 (M-Me, 22 %), 394 (M-AcOH, 2 %), 379 (M-Me-AcOH, 11 %), 315 (M-C<sub>10</sub>H<sub>19</sub>, 25 %), 313 (M-C<sub>10</sub>H<sub>19</sub>-2H, 100 %), 255 (315-AcOH, 22 %), 253 (313-AcOH, 10 %), 227 (M-CL-C<sub>2</sub>H<sub>3</sub>-H-AcOH, 4 %) 213 (M-CL-C<sub>3</sub>H<sub>5</sub>-H-AcOH, 20 %).

**spectre R.M.N. <sup>1</sup>H** :  $\delta$ =0,500 (s, Me18) - 0,781 (s, Me19) - 0,784 (t, J=7,5 Hz, Me24<sup>2</sup>) - 0,884 (d, J=6,5 Hz, Me21) - 1,550 (s, Me26) - 4,620 (d, 1H, J=2,5 Hz, H27) - 4,770 (d, J=2,5 Hz, H27) - 5,120 (m, H7).

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1 - C. PAQUOT, A. HAUF TENNE, "Standards Methods for the Analysis of Oils, Fats and Derivatives", International Union of Pure and Applied Chemistry, 7<sup>th</sup> revised and enlarged edition, Blackwell Scientific Publications, 1987. 2.401 p 1571

a - 1.122 p14  
b - 2.321 p143

c - 2.210 p111

2 - « Recueil des Normes Françaises des Corps Gras, Graines, Oléagineux et Produits dérivés », A.F.N.O.R., 5ème édition, Paris, 1993.

a- NFT 60-205.1 p137  
b- NFT 60-233 p84

c - p 95  
d - NFT 60-223 p221

3 - G. CECCHI, S. BIASINI, J. CASTANO, Rev. Fr. Corps Gras, 1985, 32, 163.

4 - T. TAKAGI, Y. ITABASHI, Lipids, 1981, 16, 546.

5 - H. BROCKERHOFF, J. Lipid Res., 1967, 8, 167.

6 - F.D. LUDDY, R.A. BARFORD, S.F. HERB, P. MAGIDAN, R.W. RIEMENSCHNEIDER, J. Amer. Oil Chem. Soc, 1964, 41, 692.

7 - J.P. WOLF, « Manuel d'analyse des corps gras », Azoulay, Paris, 1968.

8 - M.L. GHALEB-PELISSIER, « Composition chimique de quelques huiles de graines de Cucurbitaceae (citrouille, courge, melon) », Thèse de doctorat, I.N.P. de Toulouse, 1990.

9 - H.E. WROMANN, G.F. COHEN, J. Lipid Res., 1967, 8, 150.

# ANNEXES

## Annexe 1

### **Le genre *Cucurbita***

En France, une drogue vermifuge est préparée avec des graines fraîches décortiquées et pilées avec du miel ou de la confiture. On l'utilise à la dose de 30 à 40 g chez l'enfant et de 50 à 100 g chez l'adulte.

Préparations agréables sous forme d'oléosaccharures : la drogue est spécialisée sous forme d'extrait aqueux déprotéiné, administré à jeun par voie buccale. Elle provoque la paralysie du ténia et l'on fait suivre son administration de celle d'un purgatif salin.

### ***Citrullus colocynthis***

Le fruit, pelé et privé des graines, était inscrit à la Pharmacopée Française en 1949 ainsi que dans d'autres pharmacopées. C'est un purgatif drastique dangereux (tableau C) guère employé en médecine humaine et essentiellement réservé à l'usage vétérinaire : la drogue figurant au British Pharmaceutical Codex 1963 se définit comme suit, elle renferme au maximum 5 % de graines et 2 % d'écorce ; cendres insolubles dans l'acide inférieure à 4 % ; extrait éther de pétrole inférieur à 3 % ; extrait alcool à 60 ° supérieur à 23 %.

### ***Bryonia dioica***

#### Principe ténifuge :

La racine a figuré à la Pharmacopée Française jusqu'en 1884. La drogue est aujourd'hui très peu utilisée, sauf en homéopathie : séché et coupé en tranches de 4 à 7 cm de diamètre et de 3 à 8 mm d'épaisseur, le rhizome de saveur âcre et amère est utilisé pour son action vomitive et purgative. La poudre séchée obtenue à partir de la racine est à 0,5 g un purgatif doux et à 3 g un drastique et vomitif. Différentes préparations sont effectuées à partir de cette racine : des sirops, alcoolatures, vins, poudres.

#### Autres propriétés :

Les diverses préparations faites à partir de la Bryone comme l'oxymel, expectorant, emménagogue est obtenu avec 45 g de racine fraîche broyée pour 500 g de miel et 750 g de vinaigre, on laisse bouillir pendant 30 minutes, on passe et la prise de 2 à 3 cuillerées à soupe par jour pour les adultes.

En usage externe, la pulpe fraîche de racine est résolutive et anti-ecchymotique (épanchement articulaire, arthrite, contusions) ; rapidement rubéfiante et irritante, elle doit être associée à des émoullients, son ou farine de lin. La racine fraîche est révulsive et même vésicante sur la peau.

Rapée dans l'eau, tamisée, plusieurs fois lavée, la racine de Bryone fournit une fécule comestible mais de saveur peu agréable. Pendant la Terreur, des fugitifs s'en sont nourris sans mal. Morand au XVIII<sup>e</sup> siècle, en aurait tiré un tapioca analogue à celui du manioc.

### ***Ecballium elaterium***

La drogue extraite à partir de l'*Ecballium elaterium* a été abandonnée puis remise à l'honneur au XIX<sup>e</sup> siècle, notamment en Angleterre où le suc du fruit concrété ou élatérium est un purgatif drastique. Sa récupération exige que la récolte des fruits doit avoir lieu avant complète maturité. Le suc est ensuite, obtenu par incisions puis expression. Le liquide qui s'écoule donne après repos un dépôt qui est recueilli et séché sur des toiles à basse température. Il constitue alors l'élatérium. Le rendement est faible : 0,10 à 0,20 % des fruits. L'élatérium se caractérise par la formation de masses gris verdâtre, opaques, friables, à cassure cristalline. Il n'a aucune odeur tandis que sa saveur est âcre et extrêmement amère. L'élatérium est constitué par 4 % d'eau, 5 à 7 % de matières minérales, de sucres, une résine. L'élatérine, principe actif représentant 20 à 25 % de l'élatérium, est constituée en fait par l'élatérine  $\alpha$  et l'élatérine  $\beta$  comme le montre Power et Moore en 1909. L' $\alpha$ -élatérine a été identifiée par Enslin et coll. en 1956 à la cucurbitacine E. La  $\beta$ -élatérine est fortement purgative. En outre, elle a figuré à la Pharmacopée Anglaise jusqu'en 1914. Ce purgatif déjà très actif pour des doses de 5 à 10 mg, a été préconisé dans les hydrosies et les cirrhoses. Cependant, c'est une drogue dangereuse provoquant des diarrhées avec coliques, des convulsions. Aussi son emploi est-il à peu près abandonné aujourd'hui.

### ***Cucumis sativus***

Des rondelles appliquées à même la peau soulagent aussi bien les brûlures légères que les démangeaisons ou les piqures d'abeille.

Propriétés astringentes sont utilisés pour resserrer les pores dilatés sous forme d'un masque composé des graines de concombre, de melon, de potiron broyées en quantité égale et délayées dans une cuillerée à soupe de lait ou crème. L'arôme de concombre a gagné la parfumerie et c'est ainsi qu'une crème de jour DAYWEAR, parfumé au concombre, a été créée par Estée LAUDER.

## Annexe 2

En raison de la valeur élevée de l'indice d'acide rencontré chez les espèces de calabasse bouteille, pipangaille lisse et pipangaille à côtes, il nous a semblé intéressant de déterminer la teneur de l'huile en monoacylglycérols (M.A.G.), diacylglycérols (D.A.G.) et triacylglycérols (T.A.G.) ainsi que leur composition en acides gras. La méthode utilisée est décrite ci-dessous :

100 mg d'huile sont élués sur colonne ouverte de silice par 60 mL de benzène, 60 mL d'un mélange benzène-éther diéthylique (1 : 9 ; v/v) et par 60 mL d'éther diéthylique. On récupère les fractions contenant respectivement les triacylglycérols, les diacylglycérols et les acides gras libres et les monoacylglycérols. Chaque fraction est ensuite pesée et estérifiée en présence de BF<sub>3</sub>. Les esters méthyliques d'acides gras obtenus sont analysés par chromatographie en phase gazeuse. Le dosage de la fraction contenant les diacylglycérols par une solution d'hydroxyde de sodium en présence de phénolphtaléine permet d'évaluer la teneur des huiles en acides gras libres [norme IUPAC : 2.321 p 43].

Tableau A2-1

Pourcentage massique des fractions contenant les mono-, di- et triacylglycérols des huiles de graines de calabasse bouteille, de pipangaille à côtes et de pipangaille lisse.

Huiles	M.A.G. %	D.A.G. %	T.A.G. %	A.G.L. %
Calabasse bouteille	4,2	11,7	74,0	10,1
Pipangaille à côtes	4,9	13,0	68,4	13,7
Pipangaille lisse	3,8	12,0	74,7	9,5

Quantitativement, les huiles étudiées contiennent majoritairement des T.A.G. puis des D.A.G. et des M.A.G. La teneur élevée en A.G.L. témoigne de l'acidité de ces huiles. De telles valeurs en D.A.G. et en A.G.L. pourraient s'expliquer par une dégradation chimique ou enzymatique des graines ou des huiles lors de leur stockage.

Ces constituants sont ensuite estérifiés et les E.M.A.G. correspondants sont analysés par C.P.G.

Tableau A2-2

Composition en acides gras des fractions contenant les mono-, di- et triacylglycérols.  
(Valeurs exprimées en % molaires)

Huiles	Composition en acides gras	M.A.G.	D.A.G. + A.G.L.	T.A.G.
Calabasse bouteille	16 : 0	12,0	14,8	15,6
	18 : 0	8,5	10,3	5,7
	18 : 1	6,5	9,4	6,3
	18 : 2	73,0	65,5	72,5
Pipangaille à côtes	16 : 0	17,6	27,4	21,4
	18 : 0	9,8	10,8	6,9
	18 : 1	20,1	13,7	14,7
	18 : 2	52,5	48,1	57,0
Pipangaille lisse	16 : 0	17,8	22,4	18,0
	18 : 0	11,6	12,6	8,4
	18 : 1	16,0	12,4	13,1
	18 : 2	54,5	52,7	60,5

La composition en acides gras de chaque fraction est similaire qualitativement. Des différences minimes sont observées au sein de ces différentes fractions qui contiennent majoritairement l'acide linoléique.

Les A.G.L. et les D.A.G. ont été analysés sous la forme de leurs esters méthyliques conjointement. Les variétés du genre *Luffa* ont des compositions en acides gras voisines. Leur teneur en acide palmitique est la plus élevée dans la fraction contenant les A.G.L. et les D.A.G..

## Annexe 3

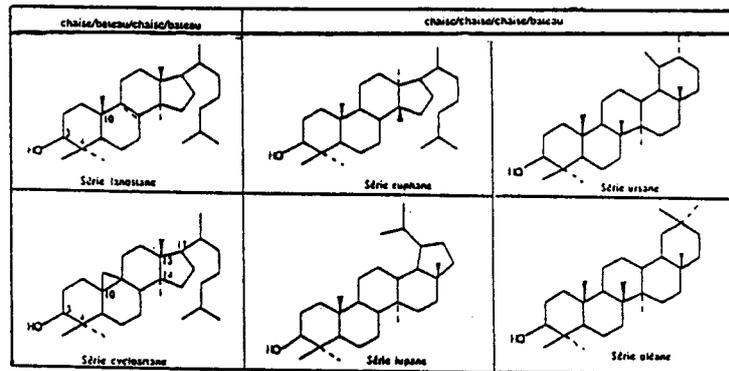
L'étude de l'insaponifiable consiste à identifier principalement les composés de la filière triterpénique. Les A.T. sont à l'origine des autres constituants de la classe des triterpènes. Ils proviennent du squalène. Cet hydrocarbure à 30 atomes de carbone subit une oxydation conduisant au 2,3-époxyqualène. Après protonation de ce dernier, la conformation de la chaîne détermine deux types de cyclisations :

- chaise/chaise/chaise/bateau : il s'agit des composés non évolutifs

\*pentacycliques représentés par les séries de lupane, d'hopane, de l'ursane, d'oléane...

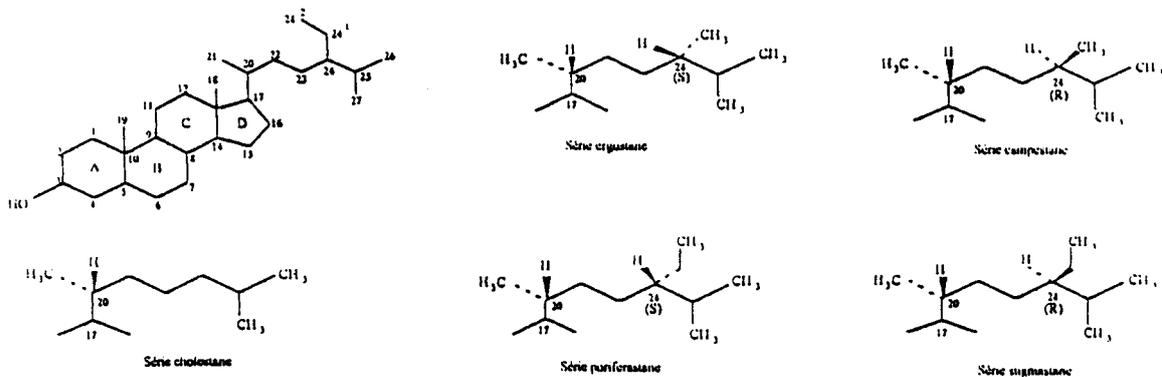
\*tétracycliques tels que les séries de l'euphane, du dammarane...

- chaise/bateau/chaise/bateau : ce type de cyclisation conduit à la formation de composés tétracycliques présents sous la forme de lanostérols chez les animaux et de cycloarténol chez les végétaux. Par ailleurs, le cycloarténol se transforme sous diverses réactions affectant le noyau et la chaîne latérale pour donner les 4- $\alpha$ méthylstérols et les stérols.



**Figure A3-1 : Quelques structures d'alcools triterpéniques**

L'oxydation du groupe méthyle en 4 $\beta$  du cycloarténol et du 24-méthylencycloartanol suivie de sa décarboxylation conduisent à la formation des 4 $\alpha$ -méthylstérols. Ces composés sont des intermédiaires biosynthétiques entre les A.T. et les stérols. Les stérols dérivent directement des 4 $\alpha$ -méthylstérols et se caractérisent par : un noyau tétracyclique, l'absence d'un groupe méthyle en 4 $\beta$ , deux groupes méthyles en 18 et 19, un groupe hydroxyle en 3, une chaîne latérale en 17. On précisera qu'ils sont tous de configuration  $\beta$ . Les stérols se différencient entre eux par la localisation de la double liaison intracyclique, généralement elle est en 5 ou 7, et par celles situées sur la chaîne latérale. En outre, la structure de la chaîne latérale à savoir le nombre de carbone ainsi que la stéréochimie du carbone asymétrique en 24 a permis de classer les stérols en différents types présentés à la figure A3-2.



**Figure A3-2 : Les séries des stérols**

## Annexe 4

### Conditions expérimentales des chromatographies

#### C.P.G.1

détecteur : à ionisation de flamme  
intégrateur enregistreur : Carlo Erba HRGC 5300  
vitesse de déroulement du papier : 5 mm/min  
colonne capillaire : BPX 70  
longueur : 25 m  
diamètre : 0,32 mm  
épaisseur de phase : 0,25 µm  
gaz vecteur : azote  
pression 70 kPa  
atténuation appareil : 32  
température de l'injecteur : 250°C  
température du détecteur : 250°C  
programmation de température : 120°C pendant 5 min  
puis 120°C à 200°C, 3°C/min  
durée : 45 min

#### C.L.H.P. 1

vanne Rhéodyne  
détecteur spectrophotomètre U.V. : longueur d'onde fixée à 284 nm  
intégrateur enregistreur : SP 4270 (atten : 64)  
vitesse de déroulement du papier : 0,25 mm/min  
colonne : RP-18, Merck de type Lichrospher 100  
longueur : 25 cm  
diamètre : 4 mm  
granulométrie : 5 µm  
éluant : acétonitrile-eau (4 : 1, v/v)  
débit : 1,4 mL/min  
quantité injecté : 20 µL à 7 mg/mL  
durée : 35 min

#### C.L.H.P. 2

vanne Rhéodyne  
détecteur réfractométrie différentiel : Waters (sens : 16)  
intégrateur enregistreur : SP 4270 (atten : 32)  
vitesse de déroulement du papier : 0,25 mm/min  
colonne : RP-18, Merck de type Lichrospher 100  
longueur : 25 cm  
diamètre : 4 mm  
granulométrie : 5 µm  
éluant : acétone-acétonitrile (2 : 1, v/v)  
débit : 0,8 mL/min  
quantité injecté : 20 µL à 20 mg/mL  
durée : 55 min

#### C.L.H.P. 3

vanne Rhéodyne  
détecteur réfractométrie différentiel : Waters (sens : 16)  
intégrateur enregistreur : SP 4270 (atten : 32)  
vitesse de déroulement du papier : 0,25 mm/min  
colonne : RP-18, Merck de type Lichrospher 100  
longueur : 25 cm  
diamètre : 4 mm  
granulométrie : 5 µm  
éluant : méthanol  
débit : 1,0 mL/min  
quantité injecté : 20 µL à 20 mg/mL

#### C.P.G.2

système HP6890 de Hewlett-Packard.  
détecteur : spectrométrie de masse  
colonne capillaire : HP-5MS (HP 19091S-433), 5% phénylméthylsilicone  
longueur : 30 m  
diamètre : 0,25 mm  
épaisseur de phase : 0,25 µm  
gaz vecteur : hélium  
débit : 1 mL/min  
pression : 19,3 psi  
température de l'injecteur : 260°C  
température du détecteur : 260°C  
programmation de température : 260°C pendant 5 min puis 260°C à 300°C, 5°C/min  
durée : 38 min

# GLOSSAIRE

## Glossaire

**Abortif** : qui provoque l'avortement

**Actinomorphe** : qui admette un axe de symétrie

**Alterne** : disposition des organes placés alternativement et non face à face

**Androcée** : appareil reproducteur mâle constitué par l'ensemble des étamines en nombre variable

**Anthelmintique** : qui provoque l'expulsion des vers intestinaux

**Anti-cirrhotique** : lutte contre la cirrhose qui est une maladie dégénérative d'un organe, spécialement du foie, caractérisée par une formation excessive de tissu connectif entraînant une contraction de l'organe

**Anti-ecchymotique** : lutte contre la tache produite par diffusion de sang dans le tissu sous-cutané

**Anti-néoplasique** : qui concerne le néoplasme qui est une prolifération pathologique de cellules, de tissus se présentant généralement sous la forme d'une tumeur

**Antitumorale** : lutte contre tout gonflement pathologique formant une saillie anormale

**Apéritif** : qui ouvre, stimule l'appétit

**Apoplexie** : arrêt brusque et plus ou moins complet des fonctions cérébrales, avec perte de la connaissance et du mouvement volontaire, sans que la respiration et la circulation soient suspendues

**Anémochore** : dissémination des graines par le vent

**Artherosclérose** : état pathologique caractérisé par un épaississement de la tunique interne ou moyenne, un durcissement progressif des artères

**Arthrite** : nom générique de toutes les infections inflammatoires aiguës ou chroniques qui frappent les articulations.

**Atonie** : diminution de la tonicité, de l'élasticité d'un organe contractile

**Astringent** : qui resserre les tissus

**Autochore** : dissémination naturelle des graines

**Baie** : fruit charnu, indéhiscent, contenant des graines ou pépins dispersés dans la pulpe

**Bifide** : fendu en deux

**Biloculaire** : qui comprend deux loges

**Carcinogénèse** : processus de formation du cancer

**Carpelle** : élément de la partie reproductrice femelle d'une fleur

**Cholériforme** : qui a l'apparence du choléra

**Chronotrope** : se dit, en physiologie, de tout ce qui concerne la régularité et la fréquence d'un rythme, particulièrement le rythme cardiaque (chronotrope positif se dit des influences qui accélèrent le rythme ; chronotrope négatif, de celles qui le ralentissent)

**Cymeux** : inflorescence de type cyme c'est-à-dire formée d'un axe principal, terminée par une fleur et portant latéralement un ou plusieurs axes secondaires qui se ramifient de la même façon

**Complexe axillaire** : qui est situé à l'aisselle d'un organe : bourgeon, inflorescence axillaire

**Congestion cérébrale** : coup de sang, transport au cerveau

**Décoction** : action de faire bouillir dans de l'eau (une substance) pour en extraire les principes solubles

**Déhiscent** : qui s'ouvre spontanément

**Diurétique** : qui accroît la production d'urine

**Dose létale 50 (DL50)** : quantité d'une substance chimique ou toxine nécessaire pour tuer 50 % des animaux soumis à l'expérimentation.

**Drastique** : très rigoureux

**Emétique** : se dit de toutes substances qui provoquent le vomissement

**Emménagogue** : qui favorise ou régularise le flux menstruel

**Emolliente** : qui a pour effet d'amollir, de relâcher des tissus enflammés

**Epicarpe** : enveloppe extérieure du fruit

**Exalbuminé** : sans le tissu de réserve d'une graine destiné à être consommé par l'embryon

**Expectorante** : aidant à rejeter par la bouche (des sécrétions provenant des voies respiratoires)

**Extipulée** : sans stipule. La stipule est une sorte de petite bractée située à la base des feuilles de certaines espèces ; généralement par paires, elles sont foliacées mais peuvent être épineuses

**Fébrifuge** : qui fait tomber la fièvre

**Folliole** : chaque division du limbe d'une feuille composée

**Gamopétale** : dont les pétales sont soudés

**Gamosépale** : dont les sépales sont soudés

**Globuline** : protéine de poids moléculaire très élevé, insoluble dans l'eau mais soluble dans les solutions salines diluées

**Gonorrhée** : blennorragie, maladie sexuellement transmissible, due à une bactérie, le gonocoque

**Goutte** : douleurs articulaires aiguës (surtout au niveau des gros orteils) consécutives à un dépôt d'urates, dus à un excès d'acide urique dans le sang

**Gynécée** : ensemble des organes femelles d'une fleur

**Hémolytique** : qui s'accompagne d'hémolyse c'est-à-dire de substances capables de détruire les hématies.

**Hile** : cicatrice laissée sur le tégument d'une graine par la rupture du funicule

**Hispid** : hérissé de poils rudes et épais

**Hydropisie** : épanchement de sérosité dans une cavité naturelle du corps ou entre les éléments du tissu conjonctif

**Hypercholestérolémie** : élévation de la teneur en cholestérol du sang, facteur prédisposant à l'athérosclérose

**Hypnotique** : qui provoque le sommeil

**Impétigo** : dermatose très fréquente chez l'enfant siègeant surtout au visage et aux mains.

**Indéhiscent** : qui ne s'ouvre pas spontanément, à l'époque de la maturité

**Infère** : désigne la position de l'ovaire d'une fleur lorsqu'il est situé au-dessous des verticilles

**Inotrope (effet)** : modification de la contractilité : augmentation (effet inotrope positif) ou diminution (effet inotrope négatif)

**Intrapéritonéale** : péritoine, membrane séreuse qui tapisse les parois intérieures de la cavité abdominale et pelvienne et qui recouvre les organes contenus dans ces cavités

**Lacinié** : qui est irrégulièrement découpé en lanières étroites et longues

**Laticifère** : qui contient le latex

**Laxatif** : qui facilite l'évacuation des selles

**Leucorrhée** : écoulement vulvaire blanchâtre chez la femme

**Liber** : tissu végétal constitué de vaisseaux, (tubes criblés), généralement accompagnés de parenchyme et par lequel circule la sève élaborée : le phloème

**Micropyle** : orifice de l'ovule des plantes par lequel le tube pollinique pénètre jusqu'au nucelle lors de la fécondation

**Motilité** : ensemble des mouvements propres à un organe , à un système

**Palmiparti** : se dit d'une feuille palmée dont les divisions vont presque à la base du limbe

**Pétale** : chacun des organes foliacés qui composent la corolle d'une fleur

**Pentamère** : a cinq pièces

**Péponide** : désigne une baie à écorce épaisse et parfois ligneuse, à loge unique

**Péritonéale** (relatif au péritoine) : membrane séreuse qui tapisse les parois intérieures de la cavité abdominale et pelvienne (péritoine pariétal) et qui recouvre les organes contenus dans ces cavités (péritoine viscéral), à l'exception de l'ovaire

**Pétiole** : base étroite de certaines feuilles, unissant la limbe à la tige

**Plurifoliolées** : comprenant plusieurs folioles

**Purgative** : qui a la propriété de purger, de stimuler les évacuations intestinales

**Résolutive** : se dit d'un médicament qui détermine la résolution d'un engorgement, qui calme une inflammation

**Révlusive** : révulsion, procédé thérapeutique qui consiste à produire un afflux de sang dans une région déterminée de manière à décongestionner un organe

**Rhizome** : tige souterraine des plantes vivaces qui porte des racines adventives et des tiges feuillées aériennes

**Rougail** : préparation de la cuisine créole, à base de légumes, de fruits, de piment et de gingembre, accompagnant du riz, du poisson ou de la viande ; plat cuisiné à base de cette préparation.

**Rubéfiante** : irritant, qui fait rougir la peau.

**Sépale** : désigne chaque pièce du calice d'une fleur

**Sublétale** : en dessous de la dose mortelle

**Sciatique** : relatif à la hanche ou à l'ischion

**Syphilis** : maladie infectieuse et contagieuse, vénérienne, due au tréponème pâle et se manifestant par un chancre initial et des atteintes viscérales et nerveuses tardives

**Ténifuge**: qui provoque l'expulsion des ténias

**Tourteau** : résidu de graines de fruits oléagineux dont on a extrait l'huile

**Uniloculaire** : qui ne comprend qu'une seule loge ; qui n'est pas divisé en compartiment

**Vermifuge** : qui provoque l'expulsion des vers intestinaux

**Vésicante** : qui détermine des ampoules sur la peau

**Vulnéraire** : se dit d'une substance qui guérit les plaies, les blessures

**Zoochore** : dissémination des graines par les animaux

# LISTE DES TABLEAUX

page

## **Première partie : Généralités sur les méthodes d'extraction et d'analyses des corps gras**

Tableau I - 1 : Procédés d'extraction des corps gras	18
Tableau I - 2 : Quelques esters d'acides gras préparés à partir de divers réactifs ainsi que leurs avantages et inconvénients	21
Tableau I - 3 : Les applications ainsi que les inconvénients et avantages de chaque type de chromatographie	23
Tableau I - 4 : Les applications ainsi que les inconvénients et avantages de chaque type de chromatographie	25
Tableau I - 5 : Les applications ainsi que les inconvénients et avantages de chaque type de chromatographie	26
Tableau I - 6 : Les avantages et les inconvénients de quelques détecteurs utilisés en chromatographie	27
Tableau I - 7 : Complémentarité entre les diverses techniques afin d'analyser chacun des constituants d'un corps gras	30

## **Deuxième partie : Les Cucurbitacées tempérées : rôle et importance**

Tableau II - 1 : Classification de la sous-famille des Cucurbitoideae	36
Tableau II - 2 : Composition en acides gras des huiles de graines de Cucurbitacées	41
Tableau II - 3 : Cucurbitacines rencontrées chez les espèces de Cucurbitacées	55
Tableau II - 4 : Propriétés médicinales de quelques Cucurbitacées	58
Tableau II - 5 : Composition en acides gras des huiles extraites des graines de quelques espèces de Cucurbitacées tempérées	60

## **Troisième partie : Les Cucurbitacées tropicales : Résultats et Discussion**

Tableau III - 1 : Rendement, indices physico-chimiques des huiles et beurre de graines de calebasse, pipangaille et margoze	72
Tableau III - 2 : Proportions des différentes classes de l'insaponifiable des huiles de graines du genre <i>Lagenaria</i>	81

Tableau III - 3 : Proportions des différentes classes de l'insaponifiable des huiles de graines du genre <i>Luffa</i>	81
Tableau III - 4 : Proportions des différentes classes de l'insaponifiable du beurre de graines de <i>Momordica charantia</i>	81
Tableau III - 5 : Composition en acides gras des huiles de graines du genre <i>Lagenaria</i>	113
Tableau III - 6 : Comparaison de la composition en acides gras des huiles de graines du genre <i>Lagenaria</i>	114
Tableau III - 7 : Composition en acides gras des T.A.G des huiles de graines du genre <i>Lagenaria</i>	116
Tableau III - 8 : Répartition interne / externe des acides gras de l'huile de graines de <i>Lagenaria leucaritha</i> var. bouteille obtenue par dégradation chimique ménagée	118
Tableau III - 9 : Répartition interne / externe des acides gras de l'huile de graines de <i>Lagenaria leucaritha</i> var. la gale obtenue par dégradation chimique ménagée	119
Tableau III - 10 : Composition centésimale des A.G. présents sur les positions <i>sn- 2</i> et <i>sn-1, 3</i> pour les huiles du genre <i>Lagenaria</i>	119
Tableau III - 11 : Composition en T.A.G. des huiles de graines du genre <i>Lagenaria</i>	120
Tableau III - 12 : Les A.T. des huiles extraites des graines du genre <i>Lagenaria</i>	125
Tableau III - 13 : Les stérols des huiles extraites des graines du genre <i>Lagenaria</i>	126
Tableau III - 14 : Composition en acides gras des huiles de graines du genre <i>Luffa</i>	130
Tableau III - 15 : Comparaison de la composition en acides gras des huiles de graines du genre <i>Luffa</i>	133
Tableau III - 16 : Composition en acides gras des T.A.G. des huiles de graines du genre <i>Luffa</i>	134
Tableau III - 17 : Répartition interne / externe des acides gras de l'huile de graines de <i>Luffa acutangula</i> obtenue par dégradation chimique ménagée	135
Tableau III - 18 : Répartition interne / externe des acides gras de l'huile de graines de <i>Luffa cylindrica</i> obtenue par dégradation chimique ménagée	136
Tableau III - 19 : Composition centésimale des A.G. présents sur les positions <i>sn-2</i> et <i>sn-1,3</i> pour les huiles du genre <i>Luffa</i>	136
Tableau III - 20 : Composition en T.A.G. des huiles de graines du genre <i>Luffa</i>	137
Tableau III - 21 : Les A.T. des huiles extraites des graines du genre <i>Luffa</i>	142
Tableau III - 22 : Les stérols des huiles extraites des graines du genre <i>Luffa</i>	143
Tableau III - 23 : Constituants chimiques de divers organes de <i>Momordica charantia</i>	145

Tableau III - 24 : Composition en acides gras du beurre de graines de <i>Momordica charantia</i>	148
Tableau III - 25 : Déplacements chimiques (en ppm) des atomes de carbone des A.G. du beurre de <i>Momordica charantia</i>	150
Tableau III - 26 : Comparaison de la composition en acides gras des corps gras de graines du genre <i>Momordica</i>	154
Tableau III - 27 : Composition en acides gras des T.A.G. du beurre de graines de <i>Momordica charantia</i>	156
Tableau III - 28 : Répartition interne / externe des acides gras des T.A.G. du beurre de <i>Momordica charantia</i> obtenue par hydrolyse enzymatique	158
Tableau III - 29 : Composition centésimale des A.G. présents sur les positions <i>sn</i> -2 et <i>sn</i> -1,3 pour le beurre de <i>Momordica charantia</i>	159
Tableau III - 30 : Déplacements chimiques (en ppm) des atomes de carbone éthyléniques de l'acide $\alpha$ -éléostéarique du beurre de graines de <i>Momordica charantia</i>	161
Tableau III - 31 : Répartition interne / externe des acides gras des T.A.G. du beurre de <i>Momordica charantia</i> obtenue par R.M.N. $^{13}\text{C}$	162
Tableau III - 32 : Composition en T.A.G. du beurre de graines de <i>Momordica charantia</i>	164
Tableau III - 33 : Les A.T. du beurre extrait des graines de <i>Momordica charantia</i>	166
Tableau III - 34 : Les stérols du beurre extrait des graines de <i>Momordica charantia</i>	167
Tableau III - 35 : Composition en acides gras des extraits lipidiques des graines des genres <i>Lagenaria</i> , <i>Luffa</i> et <i>Momordica</i>	170
Tableau III - 36 : Répartition des acides octadécatriénoïques conjugués au sein de divers genres de Cucurbitacées	171
Tableau III - 37 : Composition en T.A.G. des extraits lipidiques des graines de genres <i>Lagenaria</i> , <i>Luffa</i> , <i>Momordica</i> , <i>Cucumis</i> et <i>Cucurbita</i>	173
Tableau III - 38 : Composition en A.T. des extraits lipidiques de graines des genres <i>Lagenaria</i> , <i>Luffa</i> , <i>Momordica</i> , <i>Cucumis</i> et <i>Cucurbita</i>	174
Tableau III - 39 : Composition en stérols des extraits lipidiques de graines des genres <i>Lagenaria</i> , <i>Luffa</i> , <i>Momordica</i> , <i>Cucumis</i> et <i>Cucurbita</i>	177

## PARTIE EXPERIMENTALE

Tableau PE- 1 : Proportions des différentes classes de l'insaponifiable des huiles de graines du genre <i>Lagenaria</i>	197
Tableau PE - 2 : Proportions des différentes classes de l'insaponifiable des huiles de graines du genre <i>Luffa</i>	197

Tableau PE - 3 : Proportions des différentes classes de l'insaponifiable du beurre de graines de <i>Momordica charantia</i>	197
--	-----

## Annexe 2

Tableau A2-1: Pourcentage massique des fractions contenant les mono-, di- et triacylglycérols des huiles de calabasse bouteille, de pipangaille à côtes et de pipangailles lisse	208
Tableau A2- 2 : Composition en acides gras des fractions contenant les mono-, di- et triacylglycérols	208

# LISTE DES FIGURES

page

## Deuxième partie - Les Cucurbitacées Tempérées : Rôle et Importance

Figure 2 - 1 : Principaux types d'androécée des Cucurbitacées, définis par la structure des loges polléniques et le degré de soudure des étamines	38
Figure 2 - 2 : La citrouille (fleurs et fruit)	43
Figure 2 - 3 : Le potiron	44
Figure 2 - 4 : Le cornichon	45
Figure 2 - 5 : Le concombre	45
Figure 2 - 6 : La production mondiale de cornichons et de concombres en 1994	47
Figure 2 - 7 : Le melon	48
Figure 2 - 8 : Production mondiale de melons en 1994	49
Figure 2 - 9 : La production, l'importation et l'exportation de melons en France	49
Figure 2 - 10 : La pastèque	50
Figure 2 - 11 : La coloquinte	51
Figure 2 - 12 : La bryone	52
Figure 2 - 13 : Le concombre d'âne	53

## Troisième partie - Les Cucurbitacées Tropicales : Résultats et Discussion

Figure 3 - 1 : Profil des insaponifiables des corps gras des genres <i>Lagenaria</i> , <i>Luffa</i> et <i>Momordica</i>	80
Figure 3 - 2 : Cucurbita-5,24-dién-3 $\beta$ -ol	95
Figure 3 - 3 : Taraxérol	96
Figure 3 - 4 : Lanostérol	97
Figure 3 - 5 : $\beta$ -Amyrine	98
Figure 3 - 6 : Lupéol	99
Figure 3 - 7 : Cycloarténol	100

Figure 3 - 8 : $\alpha$ -Amyrine	101
Figure 3 - 9 : 24-Méthylèncycloartanol	102
Figure 3 - 10 : Campesterol	103
Figure 3 - 11 : 22-Dihydrobrassicastérol	104
Figure 3 - 12 : Stigmastérol	105
Figure 3 - 13 : Sitostérol	106
Figure 3 - 14 : Spinastérol	107
Figure 3 - 15 : Stigmasta-7,22,25-trién-3 $\beta$ -ol	108
Figure 3 - 16 : Stigmasta-7, 25-dién-3 $\beta$ -ol	109
Figure 3 - 17 : Les acides gras des huiles de graines du genre <i>Lagenaria</i>	112
Figure 3 - 18 : Les triacylglycérols des huiles de graines du genre <i>Lagenaria</i>	121
Figure 3 - 19 : Profils totaux des alcools triterpéniques dans les huiles de graines du genre <i>Lagenaria</i>	123
Figure 3 - 20 : Profils totaux des stérols dans les huiles de graines du genre <i>Lagenaria</i>	124
Figure 3 - 21 : Les acides gras des huiles du genre <i>Luffa</i>	131
Figure 3 - 22 : Les triacylglycérols des huiles de graines du genre <i>Luffa</i>	138
Figure 3 - 23 : Profils totaux des alcools triterpéniques dans les huiles de graines du genre <i>Luffa</i>	140
Figure 3 - 24 : Profils totaux des stérols dans les huiles de graines du genre <i>Luffa</i>	141
Figure 3 - 25 : Les acides gras du beurre de graines de <i>Momordica charantia</i>	152
Figure 3 - 26 : Zones des carbonyles et des atomes de carbone éthyléniques de l'acide $\alpha$ - éléostéarique	160
Figure 3 - 27 : Les triacylglycérols du beurre de graines de <i>Momordica charantia</i>	163
Figure 3 - 28 : Profils totaux des alcools triterpéniques et des stérols dans le beurre de graines de <i>Momordica charantia</i>	165

### Annexe 3

Figure A3 - 1 : Quelques structures des alcools triterpéniques	209
Figure A3 - 2 : Les séries des stérols	209

Pulchérie Rosane ARMOUGOM  
*Thèse de Doctorat en Sciences*  
Laboratoire de Chimie des Substances Naturelles et des Sciences des Aliments  
Université de La Réunion

**Résumé :**

La première partie de ce travail est consacrée à une mise au point sur les méthodes d'extraction et d'analyses des corps gras.

La seconde partie s'intéresse aux Cucurbitacées des pays tempérés. Une présentation botanique générale de la famille est donnée ainsi que la composition chimique des graines en faisant, en particulier, apparaître au niveau de la composition en acides gras, deux types d'huiles : alimentaires ou siccatives.

Les résultats obtenus sur l'étude de cinq Cucurbitacées tropicales des genres *Lagenaria* (calebasse bouteille et calebasse la gale), *Luffa* (pipangaille lisse et pipangaille à côtes), *Momordica* (margoze) sont discutés dans la troisième partie. Les huiles du genre *Lagenaria* sont du type palmitique-linoléique avec respectivement 71,5 % et 81,5 % d'acide linoléique pour les variétés bouteille et la gale. Les huiles du genre *Luffa* sont du type palmitique-oléique-linoléique avec respectivement 23,7 - 16,9 - 51,2 % et 21,9 - 14,5 - 55,3 % pour les variétés à côtes et lisse. Le beurre du genre *Momordica* se distingue singulièrement des autres huiles par la présence d'acides octadécatriénoïques conjugués (0,9 % d'acide punicique, 57,8 % d'acide  $\alpha$ -éléostéarique et 0,9 % d'acide  $\beta$ -éléostéarique). La composition en acides gras des triacylglycérols est similaire à celle des huiles et du beurre obtenus pour les cinq espèces. Les teneurs en insaponifiable sont légèrement supérieures à celles généralement observées dans le règne végétal. L'analyse de la fraction stérolique révèle la présence de  $\Delta 5$  stérols classiques du type sitostérol, campestérol et stigmastérol et une richesse particulière en  $\Delta 7$  stérols avec la présence du stigmasta-7,22,25-trién-3 $\beta$ -ol caractéristique de la famille des Cucurbitacées et de  $\Delta 7$  stérols plus rares comme le stigmasta-7,22-dién-3 $\beta$ -ol. De même la composition en alcools triterpéniques met en évidence la présence d'alcools couramment rencontrés comme l' $\alpha$  et la  $\beta$ -amyrine, le 24-méthylènenecycloartanol ou le lupéol mais aussi des alcools plus rares et spécifiques des Cucurbitacées comme le cucurbita-5,24-dién-3 $\beta$ -ol.

L'analyse des fractions saponifiable et insaponifiable a fait principalement appel aux techniques classiques de chromatographies liquides (CC, CLHP), gazeuses (CG) et de chromatographies gazeuses couplées à la spectrométrie de masse (CG/SM). L'identification des différents composés a été réalisée par spectrométrie de masse et par résonance magnétique nucléaire (RMN) du  $^1\text{H}$  et du  $^{13}\text{C}$ .

**Mots clés :** Cucurbitacées, *Lagenaria*, *Luffa*, *Momordica*, acides gras, insaponifiable, alcools triterpéniques, stérols, acides octadécatriénoïques conjugués, acide  $\alpha$ -éléostéarique.

**Abstract :**

The first part of this work is relating to the methods of extraction and analysis of lipids.

The second part is about Cucurbitaceae from temperate countries. A general botanical presentation of this family and the chemical composition of seed oils is carried out and show that it is possible to distinguish two type of oils : nutritional or siccative.

The results obtained for the lipid study of five oils extrated from tropical Cucurbitaceae seeds with genus *Lagenaria* (bottle gourd and scrabby gourd), *Luffa* (smooth loofah and angled loofah), *Momordica* (bitter cucumber) are discussed in the third part. The seed oils of genus *Lagenaria* belong to the type palmitic-linoleic with linoleic acid representing respectively 71.5 % et 81.5 % for the varieties bottle and scrabby. The seed oil of genus *Luffa* belongs to the type palmitic-oleic-linoleic with respectively 23.7 - 16.9 - 51.2 % and 21.9 - 14.5 - 55.3 % for the varieties angled and smooth. The butter of *Momordica charantia* is characterized by the singular presence of conjugated octadecatrienoic acid (0.9 % catalpic acid; 57.8 %  $\alpha$ -eleostearic acid and 0.9 %  $\beta$ -eleostearic acid). Fatty acid composition of triacylglycerol is similar to those obtained for oils and butter providing from the five species. Unsaponifiable matter amount is lightly higher than those generally observed in the vegetal kingdom. The analysis of sterolic fraction reveals the presence of conventional  $\Delta 5$  sterol as sitosterol, campesterol and stigmasterol and a greatly abundance of  $\Delta 7$  sterol like stigmasta-7,22,25-trien-3 $\beta$ -ol which is typical of Cucurbitaceae family and a more uncommun  $\Delta 7$  sterol, the stigmasta-7,22-dien-3 $\beta$ -ol. Likewise, the composition of triterpenic alcohol indicates the presence of alcohols currently encounter like  $\alpha$  and  $\beta$ -amyrin, 24-methylenecycloartanol or lupeol. The cucurbita-5,24-dien-3 $\beta$ -ol, specific alcohol of Cucurbitaceae is also detected.

The analysis of saponifiable and unsaponifiable matter is mainly led whitth classical techniques : liquid chromatography (CC, HPLC), gaz (GC) and gaz chromatography coupled with mass spectrometer (GC-MS). Identification of different compounds is realized by mass spectrometry and by nuclear magnetic resonance (NMR)  $^1\text{H}$  or  $^{13}\text{C}$ .

**Key words :** Cucurbitaceae, *Lagenaria*, *Luffa*, *Momordica*, fatty acids, unsaponifiable matter, triterpenic alcohols, sterols, conjugated octadecatrienoic acid,  $\alpha$ -eleostearic acid.