

**UNIVERSITE MARIEN NGOUABI**  
FACULTE DES SCIENCES

**UNIVERSITE PARIS SUD XI**  
FACULTE DES SCIENCES

Année 2006

N° d'ordre

**THESE**  
Pour obtenir  
**le Diplôme de doctorat d'Etat es Sciences**  
et  
**le Diplôme de Doctorat en Sciences de l'Université Paris Sud XI**

**Domaine**  
Sciences Exactes, Naturelles et de l'Ingénieur

**Spécialité :**  
Nutrition et Qualité des Aliments  
Chimie Analytique

Présentée et soutenue publiquement

Par  
**Marie Geneviève MALOUMBI**

Le 30 juin 2006

Titre

**ETUDE DE LA BIODIVERSITE DES GRAINES DE QUELQUES CUCURBITACEES  
D'AFRIQUE SUB-SAHARIENNE  
MISE AU POINT D'UNE METHODE DE CARACTERISATION CHIMIQUE DE LA  
FRACTION SAPONIFIABLE**

**Directeurs de thèse**

Thomas SILOU  
Professeur : Université Marien Nguouabi, Congo

Alain TCHAPLA  
Professeur : Université Paris Sud XI, France

**JURY :**

Président : DIATEWA Martin, Professeur, Université Marien Nguouabi, Congo  
Membres : HOUNHOUIGAN Joseph, Maître de Conférences, Université d'Abomey  
Calavy, Cotonou, Bénin (Rapporteur)  
MOULOINGUI Zéphyrin, Directeur de Recherche, INRA Toulouse, France  
(Rapporteur)  
HERON Sylvie, Maître de Conférences, Université Paris Sud XI, France  
SILOU Thomas, Professeur : Université Marien Nguouabi, Congo  
TCHAPLA Alain, Professeur, Université Paris Sud XI, France

## SUMMARY

The purpose of this thesis was to determine the beneficial effects of cucurbitacee seed oils consumption in Congo.

The first section is a bibliographical part which includes biological description of African cucurbitacee, overview of their nutritional and diet situation in Africa, as well as the chemical and biochemical characteristics of their seeds.

The results of a diet inquiry are reported. Two production areas of Congo pumpkin seeds were localized: Pool area and grouped together Niari-Bouenza-Lékoumou area. Five types and species usually eaten in Brazzaville were identified: *Citrullus lanatus*, *Lagenaria siceraria*, *Cucurbita pepo*, *Cucurbita moschata* and Ntsouéké. *Citrullus lanatus* and *Lagenaria siceraria* are the most sold and delighted.

The second part consists in chemical characterization. Fatty acids quantitative analysis was led using gas chromatography. Unsaturated fatty acids are major components of these seeds. (linoleic > oleic > palmitic ~ stearic >> linolenic acid).

Triacylglycerols analysis was performed using reversed phase liquid chromatography coupled with evaporative light scattering detector. Eighteen triacylglycerols were assessed using an original quantitative method. It needs no standard, and was developed to this end.

Statistics (discriminant factorial analysis, component principal analysis and hierarchical ascendant classification) led to differentiate two groups of oils. Considering their nutritional properties, one of them is very interesting, because of its high content in linoleic acid (*Lagenaria siceraria*, *Citrullus lanatus* and *Cucurbita pepo*).

Cucubitaceae, Triacylglycerols Fatty acids, Gas chromatography, High performance liquid chromatography, Chemometrics

A la mémoire de mes parents

•  
A mes enfants

A mes frères et sœurs, mes neveux et nièces

A tous ceux qui me sont chers

## REMERCIEMENTS

Ce travail a été réalisé dans le cadre de la convention de cotutelle entre l'université Paris sud XI (France) et l'université Marien Ngouabi de Brazzaville (Congo). Il a été effectué au sein de deux structures, le Laboratoire d'Etudes des Techniques et Instruments d'analyse Moléculaire (LETIAM) à l'Institut Universitaire de Technologie (IUT) d'Orsay et l'Equipe Pluridisciplinaire de Recherches sur l'Alimentation et la Nutrition (EPRAN). Aussi, mes remerciements s'adressent aux autorités des deux universités et de l'IUT d'Orsay, pour avoir permis la réalisation de ce travail.

J'adresse mes remerciements à monsieur le Professeur M. DIATEWA pour avoir accepté de présider la séance de soutenance.

Je remercie également monsieur Z. MOULOUGUI, Directeur de Recherche, qui a bien voulu juger ce travail.

Mes remerciements vont également à monsieur J. HOUNOUGAN, Maître de Conférences, pour avoir accepté d'apprécier le travail.

Je ne saurais exprimer ma gratitude à monsieur le Professeur A. TCHAPLA, co-directeur de la thèse, directeur du Laboratoire d'Etudes des Techniques et Instruments d'analyse Moléculaire, pour son accueil si chaleureux au sein de l'équipe. Sa clairvoyance scientifique, son dynamisme, sa disponibilité constante, ses qualités humaines, m'ont été très utiles et ont contribué à mener à bien ce travail en me faisant bénéficier de ses compétences et de sa grande expérience. Qu'il trouve ici toute ma sympathie et ma reconnaissance.

Mes remerciements vont aussi à monsieur Th. SILOU, également co-directeur de la thèse qui malgré ses nombreuses activités, n'a pas hésité à diriger ce travail. Qu'il veuille accepter le témoignage de ma profonde gratitude.

Je ne cesserais d'adresser ma profonde reconnaissance à madame S. HERON, Maître de Conférence, qui n'a ménagé aucun effort et a mis tout en œuvre pour assurer ma formation tout au long du travail. Ses connaissances, son savoir faire, sa rigueur dans le travail, son humanisme, ont largement contribué à assurer sereinement ma formation. Qu'elle trouve ici ma chaleureuse gratitude et qu'elle soit assurée de ma sincère amitié.

J'adresse mes sincères remerciements à monsieur M. DREUX pour sa collaboration et pour le DEDL qu'il a bien voulu nous céder.

Mes remerciements vont particulièrement à monsieur C. PARDO qui a contribué à ma formation en chromatographie en phase gazeuse.

Je remercie monsieur J. BLETON pour son aide dans l'analyse des acides gras.

Je ne peux oublier mesdames N. LEVEQUE, E. DESTANDAU, monsieur E. LESELLIER, monsieur P. MEJANELLE pour leur convivialité qui a rendu agréable mon séjour au laboratoire.

Ma chaleureuse reconnaissance s'adresse également à mesdames G. ATTARD et de Y. PAOLI pour leur aide, leur sympathie et pour la bonne ambiance qu'elles ont fait régner au laboratoire.

J'adresse mes sincères remerciements à Sung Vo Duo, qu'il trouve le témoignage de mon amitié.

Mes remerciements s'adressent également à tout le personnel du service génie chimique, ainsi qu'à E. JASKOLSKI et à monsieur P. VILLEUVE pour leur collaboration.

A l'ensemble des membres du département Chimie Analytique, pour leur convivialité, qu'il trouve ici ma reconnaissance.

J'adresse ma sincère reconnaissance à tous les membres de L'EPRAN pour leur collaboration

## SOMMAIRE

	Pages
<b>INTRODUCTION GENERALE</b>	11
 <b><i>PREMIERE PARTIE</i></b>	
 <b>PLACE DES GRAINES CUCURBITACEES DANS L'ALIMENTATION AU CONGO BRAZZAVILLE</b>	 15
 <b>CHAPITRE I. :</b>	 16
<b>DONNEES BIBLIOGRAPHIQUES</b>	
 <b>I. Situation alimentaire et nutritionnelle en Afrique</b>	 17
 <b>II. Les Cucurbitacées</b>	 21
1. Généralités	21
2. Quelques Cucurbitacées d'Afrique	22
3. Description botanique des espèces de Cucurbitacées analysées	25
3.1 <i>Citrullus lanatus</i>	25
3.2 <i>Cucurbita moschata</i>	26
3.3 <i>Cucurbita pepo</i>	28
3.4 <i>Lagenaria siceraria</i>	29
3.5 <i>Cucumis sativus</i>	30
3.6 <i>Luffa cylindrica</i>	31
4. Utilisations des Cucurbitacées	32
5. Composition chimique globale des graines de Cucurbitacées	33
Conclusion	33
 <b>CHAPITRE II.</b>	

<b>ENQUETE DE CONSOMMATION ALIMENTAIRE SUR LES GRAINES DE CUCURBITACEES CONSOMMEES A BRAZZAVILLE</b>	<b>35</b>
<b>I. Méthodologie de l'enquête</b>	<b>36</b>
1. Contexte et problématique de l'étude	36
2. Objectifs de l'enquête	37
3. Méthode de collecte des données	37
3. 1. Zone d'étude	37
3. 2. Type d'enquête	39
3. 3. Mode de constitution de l'échantillon	40
<b>II. Traitement et présentation des résultats de l'enquête</b>	<b>41</b>
1. Identification des personnes interrogées.	41
1. 1. Effectif de l'échantillon	41
1. 2. Répartition des vendeurs et des acheteurs	43
1. 3. Répartition des vendeurs et des acheteurs selon l'âge et le sexe	44
2. Origine des graines commercialisées à Brazzaville	45
2. 1 Bassins de production des Cucurbitacées arrivant à Brazzaville	45
2. 2. Origine des espèces de graines de Cucurbitacées commercialisées à Brazzaville	46
3. Commercialisation des graines	48
3. 1. Activités des grossistes	48
3. 1. 1 Achats du produit brut	48
3. 1. 2. Ventes	51
3. 2. Activités des détaillants	52
3. 2. 1. Achats	52
3. 2. 2. Vente	55
4. Consommation	56
4. 1. Appréciation des espèces de cucurbitacées par les consommateurs	57
4. 2. Formes de consommation des graines de cucurbitacées	57

4. 3. Fréquence de consommation des graines	58
<b>III. Discussion des données de l'enquête</b>	60
Conclusion	62
<b><i>DEUXIEME PARTIE</i></b>	
<b>CARACTERISATION CHIMIQUE DE LA FRACTION SAPONIFIABLE</b>	63
<b>CHAPITRE I :</b>	64
<b>DONNEES BIBLIOGRAPHIQUES</b>	64
<b>I. Les Acides Gras (AG)</b>	65
1. Structure	65
1. 1. Nomenclature	65
1. 2. Longueur de la chaîne carbonée	66
1. 3. Degré d'insaturation	68
1. 4. Degré d'isomérisation	68
1. 5 Positionnement des acides gras sur le glycérol	69
2. Propriétés chimiques	69
3. Absorption et distribution des acides gras alimentaires	70
4. Biodisponibilité des acides gras	71
5. Biosynthèse des AGPI	72
6. Rôles physiologiques des acides gras	75
6.1 Rôle énergétique	75
6.2 Rôle structural	76
6.3 Rôles fonctionnels	77
7. Besoins et apports	78
<b>II. Les acylglycérols</b>	81
1. Structure	81
2. Absorption et distribution des TAG	83

3. Biosynthèse des TAG	85
Conclusion	86
<b>III. Les méthodes d'analyse</b>	<b>87</b>
1. Choix des méthodes	87
2. Chromatographie en Phase Gazeuse (CPG)	89
3. Chromatographie Liquide Haute Performance (HPLC)	89
3.1. Séparation des TAG	89
3. 2. Détection des TAG par le Détecteur Evaporatif à Diffusion de Lumière (DEDL)	91
3.2.1 Principe du DEDL	91
3.2.2 La nébulisation	95
3.2.3 L'évaporation	95
3.2.4 La détection	96
3.2.5 La réponse du DEDL	96
4. Méthodes de traitement des résultats	97
<b>CHAPITRE II :</b>	
<b>METHODOLOGIE ANALYTIQUE</b>	<b>98</b>
1. Origine géographique des graines étudiées	99
2. Classement des échantillons	104
3. Extraction des lipides totaux	106
4. Chromatographie en Phase Gazeuse (CPG)	106
4. 1. Transestérification et méthanolyse basique	106
4. 2. Caractéristiques de l'appareil de CPG utilisé	107
4. 3 Conditions d'analyse	107
5. Chromatographie Liquide Haute Performance (HPLC)	109
5. 1 Conditions d'analyse	109
5. 2. Analyse qualitative des TAG	109
5. 3. Analyse semi-quantitative des TAG	110

5. 4. Analyse quantitative des TAG	110
5. 4. 1. Etablissement de courbes d'étalonnage	110
5. 4. 2. Dosage des TAG présents dans les huiles	111
<b>CHAPITRE III :</b>	113
<b>RESULTATS ET DISCUSSION</b>	
<b>I. Présentation des résultats d'analyse</b>	114
1. Composition en acides gras	114
2. Composition en triacylglycérols	123
2. 1. Résultats d'analyse qualitative des TAG	123
2. 2. Résultats d'analyse semi-quantitative des TAG	126
<b>II. Démarche analytique pour l'analyse quantitative des TAG</b>	126
1. Mise au point du gradient d'élution	131
1. 1. Tests de reproductibilité	133
1. 2. Représentation graphique des données	136
1. 2. 1. Graphes de l'ensemble des composés obtenus à toutes les températures	136
1. 2. 2. Graphes des composés obtenus à 40°C	138
2. Etape de validation de la méthode	139
2. 1. Mélange des TAG homogènes servant à la validation	141
2. 2. Mélange des TAG homogènes et mixtes	143
2. 3. Mélange des TAG saturés	143
2. 4. Mélange des alcools éthoxylés	144
3. Application au dosage au dosage des huiles	145
3. 1. Nouveau gradient d'élution	146
3. 2. Equations de validation	147

4. 3. Protocole expérimental	148
<b>III. Présentation résultats d'analyse</b>	155
1. Description des méthodes d'analyse des résultats	155
1. 1. Analyse Factorielle Discriminante (AFD)	155
1. 2. Analyse en Composantes Principales (ACP)	156
1. 2. 1. Principe	156
1. 2. 2. Procédure	157
1. 3. Classification Ascendante Hiérarchique (CAH)	160
1.3. 1. Principe de la CAH	160
1.3. 2. Procédure	161
2. Présentation des résultats	161
<b>IV. Traitement des résultats</b>	163
1. Les esters méthyliques	164
1. 1. Analyse Factorielle Discriminante : AFD	164
1. 1. 1. L'AFD sur les cinq esters méthyliques	164
	167
1. 1. 2. L'AFD sur les rapports EM / EP	167
1. 2. Analyse en Composantes Principales : ACP	168
1. 2. 1. L'ACP sur les cinq esters méthyliques	168
1. 2. 1. 1. Graphe F1-F2	168
1. 2. 1. 2. Graphe F1-F3	168
1. 2. 2. L'ACP sur les esters méthyliques rapportés à EP	171
1. 3. Classification Ascendante Hiérarchique : CAH	172
1. 3. 1 CAH sur les cinq esters méthyliques	172
	174
1. 3. 2. CAH sur les esters méthyliques rapportés à EP	
2. Les triacylglycérols (TAG)	177

3. 1. Analyse Factorielle Discriminante (AFD) des triacylglycérols des huiles de cucurbitacées	177
4. 2. Analyse en Composantes Principales (ACP) des TAG des huiles de cucurbitacées	182
5. 2. 1. Résultats de l'analyse en ACP conduite avec les TAG majeurs comme variables	182
6. 2. 2. Résultats de l'analyse en ACP conduite avec l'ensemble des TAG pris comme variables	185
7. 3. Classification Ascendante Hiérarchique	189
8. Les esters méthyliques (EMs) et les triacylglycérols (TAG)	193
2. 1. Mise en évidence du potentiel nutritionnel des cucurbitacées analysées	193
9. 1. 1. AFD	193
3. 1 .2. ACP	195
3. 1 .3. CAH	198
Conclusion de l'étude analytique	200
	202
<b>DISCUSSION GENERALE</b>	
<b>CONCLUSION GENERALE</b>	212
<b>BIBLIOGRAPHIE</b>	216
<b>ANNEXES</b>	228
Questionnaire de l'enquête	229
Figures et tableaux sur le traitement statistique	245

## **INTRODUCTION GENERALE**

## INTRODUCTION GENERALE

En Afrique, comme partout ailleurs dans les régions en développement, l'alimentation des populations constitue un problème majeur de santé publique, car les apports alimentaires sont souvent en inadéquation avec les besoins nutritionnels. Les prix des produits protéiniques et lipidiques étant généralement élevés, la consommation des féculents devient alors excessive. Ainsi, les apports glucidiques atteignant 80 à 90%, couvrent la quasi totalité des besoins énergétiques. Les lipides par contre arrivent au maximum à 20% au lieu des 30% des apports recommandés [1].

Au Congo dans les années 80, les besoins lipidiques n'étaient satisfaits qu'à 11% dans le sud du pays et à 16% dans les régions du nord [2]. La conséquence d'un tel déséquilibre alimentaire ne peut se traduire que par un mauvais état nutritionnel au sein des couches vulnérables (enfants, femmes enceintes et personnes âgées), état confirmé par les enquêtes nutritionnelles montrant des prévalences de carence en lipides [3].

Les causes du déficit alimentaire sont nombreuses, entre autre la faible production locale des produits carnés, laitiers et oléagineux. En effet, le Congo aux fortes potentialités oléo protéagineuses, importe la quasi totalité des denrées, notamment les huiles alimentaires.

Conscients du problème, nous nous sommes regroupés au sein de l'équipe pluridisciplinaire de recherche en alimentation et en nutrition (EPRAN), afin de procéder à la valorisation des ressources oléagineuses locales comme sources d'huiles alimentaires, ce qui contribuerait à réduire dans une certaine mesure le déficit lipidique constaté et de plus à améliorer la balance commerciale.

Le programme de l'EPRAN qui se focalise sur la caractérisation de la fraction lipidique des espèces végétales du Congo, se consacre à l'étude des fruits de *Dacryodes edulis* (safous), des amandes d'*Irvingia gabonensis*, de la pulpe des noix de *Raphia vinifera* et des graines de Cucurbitacées (courge).

Les objectifs visés dans ce programme consistent à décrire, à analyser et à appréhender les paramètres majeurs pertinents qui caractérisent les situations alimentaires et nutritionnelles du Congo. Le transfert de ces connaissances pourrait assurer la mise au point des technologies susceptibles de promouvoir la production d'aliments de bonne qualité nutritionnelle, en l'occurrence celle des huiles alimentaires dont le pays est fortement tributaire de l'étranger.

Les graines de cucurbitacées contenant des taux non négligeables de lipides [4], pourraient constituer une bonne source d'huile alimentaire. C'est ainsi que nous nous sommes basés sur une étude préliminaire faite au laboratoire [5] sur la variabilité biochimique entre les graines de certaines cucurbitacées du Congo. Nous nous sommes donc engagés d'une part, à faire le bilan de la consommation des graines de courge au Congo Brazzaville, et d'autre part à caractériser les lipides de ces graines, produites localement ou venant des autres pays de la sous région Afrique.

Ce travail devant contribuer à la production d'huile alimentaire à partir de graines de cucurbitacées, se doit d'identifier les différentes espèces de courges produites et consommées dans le pays tout en déterminant leurs origines géographiques. Il doit parallèlement se focaliser sur l'étude de la fraction saponifiable des dites graines en analysant au mieux la composition primaire en acides gras et la composition secondaire en triacylglycérols. Bien que les autres composants lipidiques tels que les phospholipides soient présents dans les graines, il ne nous sera pas possible de procéder à leur étude. De même les autres nutriments comme les protéines, vitamines, minéraux, stérols et tocophérols qui sont généralement aussi présents dans ce type de graines, ne seront pas abordés dans cette étude. Nous reprecisons en effet que, seule la fraction glycéridique est concernée par cette étude en analysant les triacylglycérols et les acides gras constitutifs.

Par cette approche, nous pourrions évaluer l'intérêt nutritionnel des lipides des graines de Cucurbitacées, ce qui nous paraît un préalable à toute production d'une quelconque denrée alimentaire. En effet, les lipides des graines de cucurbitacées du Congo n'ont pas encore fait l'objet d'analyses qualitatives et quantitatives approfondies. Les premiers résultats de Silou et al. sur la composition globale des huiles de graines de courge révèlent des variations de taux de lipides entre espèces de 37.4 à 57.4% pour les espèces du Congo Brazzaville et de 33.4 à 46.5% pour les espèces du Niger [4]. Ces variations interspécifiques observées auraient-elles des répercussions sur la nature des triacylglycérols, de leurs acides gras et sur leur positionnement sur le glycérol ? De la même manière, on peut s'interroger sur la variabilité inter et intra-spécifique de la fraction saponifiable des espèces étudiées, ainsi que l'influence du biotope; telle est en effet, la motivation de cette recherche.

L'intérêt nutritionnel des huiles ne peut être évalué sans recourir aux techniques analytiques de la chimie. Parmi elles, les méthodes chromatographiques et spectrométriques s'avèrent des outils indispensables. C'est ce qui justifie notre présence au sein du Groupe de Chimie Analytique de Paris-Sud et plus précisément au Laboratoire d'Etudes des Techniques et

Instruments d'Analyse Moléculaire (LETIAM) situé à Orsay en France, dont les travaux font principalement appel à deux techniques de la chimie analytique à savoir, la chromatographie comme technique séparative et la spectrométrie de masse comme technique d'identification. Par conséquent, le LETIAM par son savoir-faire et sa maîtrise de la chromatographie en phase gazeuse (CPG), de la chromatographie en phase liquide haute performance (HPLC) et de la spectrométrie de masse (SM), nous conduira à mener à bien l'étude de la caractérisation des huiles.

Par conséquent, le travail présenté ici est scindé en deux parties :

- la place des graines de cucurbitacées dans l'alimentation au Congo Brazzaville,
- la caractérisation chimique de la fraction saponifiable des graines de cucurbitacées.

La première partie comprend deux chapitres, le premier concerne l'étude bibliographique et le second l'enquête de consommation alimentaire sur les graines de cucurbitacées consommées à Brazzaville.

Dans l'étude bibliographique, nous commençons par faire un aperçu de la situation nutritionnelle et alimentaire en Afrique.

Cela constitue le premier paragraphe de ce chapitre, tandis que le deuxième paragraphe fera la description botanique des espèces de cucurbitacées étudiées.

La démarche adoptée pour réaliser ce travail nécessite avant toute analyse, un bilan de l'existant en faisant un état des lieux sur la consommation des graines de courge au Congo.

Ceci est exposé dans le second chapitre de la première partie du document.

La deuxième partie concernant la détermination de la composition chimique de la fraction saponifiable se subdivise en trois chapitres.

Le premier chapitre qui est l'étude bibliographique fait d'abord dans les deux premiers paragraphes, la synthèse sur la nature des constituants lipidiques majeurs (fraction saponifiable).

Les méthodes analytiques utilisées quant à elles, feront l'objet du paragraphe III qui clôturera la revue bibliographique

Le deuxième chapitre consiste à décrire la préparation des échantillons, les méthodes de détermination des paramètres physico-chimiques et les méthodes d'extraction de la fraction lipidique.

L'utilisation de la chromatographie en phase gazeuse permettra de mettre en évidence la composition primaire en acides gras des huiles, son couplage avec la spectrométrie de masse ayant permis au préalable leur identification. La chromatographie en phase liquide haute performance à polarité inversée de phases donnera quant à elle une information sur la composition des huiles en triacylglycérols.

Les résultats obtenus feront l'objet du troisième chapitre de ce document. Ils seront traités au moyen d'outils statistiques permettant une meilleure interprétation.

Le document s'achèvera par une conclusion générale qui fera une synthèse de l'ensemble du travail après discussion des résultats obtenus.

Nous tenons à préciser que ce travail fait suite à celui réalisé en amont par Mvoula Tsiéri M. [5] sur la variabilité entre les graines, des huiles obtenues graine par graine, alors que notre étude concerne la variabilité des huiles d'un lot de graines de différentes espèces de cucurbitacées.

**PREMIERE PARTIE**

**PLACE DES GRAINES CUCURBITACEES DANS L'ALIMENTATION AU CONGO  
BRAZZAVILLE**

**CHAPITRE I**

**DONNEES BIBLIOGRAPHIQUES**

## I. Situation alimentaire et nutritionnelle en Afrique

Depuis l'origine des temps, l'alimentation a été et reste encore une préoccupation de l'humain, car se nourrir n'est pas qu'une question de survie, mais un besoin vital de l'organisme. Plusieurs facteurs comme la religion, la culture et la tradition façonnent le comportement alimentaire des populations, tels que les habitudes alimentaires, les goûts et dégoûts.

Une alimentation équilibrée est fondamentale pour le maintien d'une bonne santé et des performances optimales de l'individu. C'est pourquoi, on est toujours en quête d'une nourriture plus saine et mieux adaptée aux états physiologiques de l'individu.

Fournir une alimentation adéquate quantitativement et qualitativement à une nation, selon les besoins nutritionnels de ses habitants, constitue un problème social très complexe. Il ne suffit pas en effet, de produire plus pour vivre mieux, mais il faut que les revenus augmentent et que les richesses soient mieux réparties. Ce n'est que de cette manière que les plus démunis pourront accroître leur pouvoir d'achat et mieux satisfaire leurs besoins alimentaires.

Malheureusement, de nos jours beaucoup de personnes ne s'alimentent pas correctement, soit qu'elles ne mangent pas à leur faim, soit qu'elles font des excès. Un tel déséquilibre alimentaire ne peut à l'évidence, qu'engendrer des troubles nutritionnels divers. C'est ainsi que la scène mondiale est dominée par des formes extrêmement variées de malnutrition allant des maigreurs à l'obésité, qu'il s'agisse des sociétés industrialisées ou du monde en développement.

Généralement, les populations des pays du Nord se préoccupent avant tout de qualité des aliments et d'hygiène, celles des pays du Sud souffrent d'un problème de quantité, de disponibilité et d'accès aux aliments. C'est ce qui explique la prédominance des carences nutritionnelles rencontrées dans les pays en développement. En fait, certaines malnutritions résultent d'une déficience absolue, ou relative, en un ou plusieurs nutriments; d'autres, par contre, d'une surconsommation. Mais par leur ampleur et leurs conséquences immenses pour les sociétés concernées, ces malnutritions (qu'elles soient persistantes malgré les efforts, ou encore émergentes) constituent toutes, des problèmes majeurs de santé publique.

Les estimations de l'organisation « the States of Food insecurity in the World 2000 » font état de 826 millions de personnes qui ont chroniquement faim [6]. Ceci montre que la sous-alimentation est loin d'être éradiquée, elle persiste toujours dans le monde contemporain,

étant particulièrement exacerbée dans les pays en développement, notamment en Afrique et surtout au sud du Sahara [7].

Il s'avère que près de 800 millions de la population mondiale [8] restent mal nourris en permanence, dont 200 millions d'enfants ayant un poids en dessous du poids standard et 70 millions de malnutris sévères.

Cette situation a des causes multiples et complexes, mêlant bien souvent des facteurs sociaux sur fond de pauvreté, occasionnant d'emblée l'insuffisance des disponibilités alimentaires nationales.

A travers une étude menée sur 63 pays en développement, Smith L. C. et Haddah L. [9] ont mis en évidence l'impact positif hautement significatif des disponibilités alimentaires nationales sur l'état nutritionnel des enfants. Ils montrent en effet, que l'augmentation des réserves nationales influence positivement de façon considérable la réduction des malnutritions.

Il est vrai que des Disponibilités Energétiques Alimentaires (DEA) ou Dietary Energy Supply (DES) (mesure standard de disponibilité alimentaire nationale) élevées, tendent à réduire les taux de malnutrition infantile. Il a été montré [10] qu'entre 1970 et 1995 le DEA des pays en développement augmentait de 22% pour des apports énergétiques de 2092 à 2559 kcal.

Naturellement, parmi les déterminants de la réduction de la malnutrition infantile, les disponibilités alimentaires se classent en deuxième position (26,10%) après l'éducation des femmes (43,01%), la santé (19,27%) et le statut des femmes (11,6 %) [9]. Dans cette même étude, la classification de 109 pays en développement selon la force de l'impact des disponibilités alimentaires nationales sur la malnutrition de l'enfant, montre que l'Afrique sub-saharienne occupe la deuxième place après l'Asie du Sud, de toutes les régions souffrant de malnutrition. Par ailleurs ce fléau décroît en partant de l'Asie de l'Est, puis de l'Afrique du Nord et de l'Est et enfin de l'Amérique latine et des Caraïbes.

Ainsi, la situation alimentaire en Afrique sub-saharienne n'est à l'évidence pas réconfortante [10-15], la malnutrition y constitue encore un véritable fléau en dépit de nombreuses conférences des Nations Unies sur l'alimentation et la nutrition pour éliminer la pauvreté et la malnutrition [8].

L'une des causes de la malnutrition en Afrique sub-saharienne est l'éducation des enfants. Au Kenya par exemple, la prévalence de la malnutrition est plus élevée chez les filles ayant un faible statut socio-économique [10]. Une étude réalisée au Nigéria [12, 13] a montré l'impact

du statut nutritionnel sur les performances scolaires des élèves, celles-ci étant affectées par un mauvais état nutritionnel (74% des élèves présentaient un rapport poids / taille en dessous des standards, donc malnutris).

Au Congo, les récentes études effectuées à Brazzaville [14, 15] mentionnent des prévalences en carences nutritionnelles, mais aussi l'émergence de surpoids et de l'obésité au sein des populations défavorisées. En 1963, le déficit nutritionnel était estimé à 26.3%, pour diminuer en 1983 (11.7%) et remonter à 14.3% en 2003. Cependant la fréquence de l'obésité est croissante depuis 1963 avec 1.9%, 5.3% en 1983 et 7.1% en 2003 [15]. La prévalence de l'obésité observée chez les enfants de milieux privilégiés est proche des valeurs des pays industrialisés. En effet, dans ces pays l'obésité sévit plutôt chez les enfants des classes défavorisées dont le régime alimentaire est excédentaire en produits bon marché trop riches en lipides et glucides, et déficitaire en protéines de bonne valeur nutritionnelle. Les populations nanties des pays pauvres donnent des mauvaises habitudes alimentaires à leurs enfants en les gavant des produits importés souvent très énergétiques, croyant bien les nourrir.

Il semble que l'obésité observée chez les populations moins nanties serait imputable à la suralimentation dans la jeune enfance.

Les malnutritions sévissant au Congo comme partout ailleurs, sont aussi bien des malnutritions protéino-énergétiques (MPE) que des malnutritions en micronutriments.

Cela prouve encore que la qualité nutritionnelle est la première des qualités que l'on attend d'un aliment, car il doit apporter à l'organisme des nutriments nécessaire et en quantité suffisante, pour être correctement assimilés sans danger.

L'alimentation traditionnelle des africains en général et celle des congolais en particulier, est souvent riche en féculents et en légumes feuilles [16], au détriment des produits carnés et oléagineux. Les couches défavorisées constituant la grande majorité de la population, sont plus exposées à la précarité les rendant ainsi plus vulnérables aux malnutritions de toutes sortes (protéino-énergétique et en micronutriments).

Aussi, promouvoir la production des huiles à partir des oléagineux locaux pourrait contribuer à améliorer les disponibilités énergétiques alimentaires et par conséquent réduire les déséquilibres nutritionnels observés.

On sait que l'Afrique possède un potentiel important en oléagineux non conventionnels, il serait donc intéressant de cibler des spéculations (cultures ou produits vivriers) à fortes teneurs en lipides. C'est le cas des graines de cucurbitacées qui peuvent être considérées non

seulement comme de bonnes sources d'huile, mais aussi des oléo-protéagineux, en raison de leur richesse en lipides et en protéines.

,

## II. Les Cucurbitacées

### 1. Généralités

Les cucurbitacées sont présentes sur tous les continents, mais elles sont largement répandues dans les régions subtropicales et tropicales.

La famille des *Cucurbitaceae* (cucurbitacées) appartient à l'ordre des violacées par leurs fleurs. Elle est subdivisée en deux sous-familles que sont les Zanonidoïdées et les Cucurbitoïdées, les courges étant issues de cette dernière.

Les cucurbitacées présentent une grande variabilité, elles renferment 118 genres qui éclatent en 800 espèces différentes avec un grand nombre de variétés. Celles-ci ont été depuis longtemps cultivées, si bien que leur forme sauvage n'existe plus et leur origine est incertaine.

En botanique, le genre représente la branche de la famille ou de la sous famille, il regroupe des espèces proches. Chaque espèce est désignée par deux noms scientifiques latins, le premier est celui du genre dont elle est issue, la première lettre de ce nom est toujours écrite en majuscule. Le second nom désigne l'espèce elle-même.

Parmi les genres couramment rencontrés, on peut citer par exemple, *Cucurbita*, *Citrullus*, *Cucumis*, *Cucumeropsis*, *Lagenaria*, *Sechium*, *Luffa*, *Telfaira*, etc.

Le nom de courge dérive de *Cucurbita*, terme générique qui désigne l'ensemble des espèces des genres *Cucurbita*, *Citrullus*, *Lagenaria*, *Luffa* et les courgettes n'étant que des courges consommées très jeunes. Habituellement le terme de courge englobe toutes les cucurbitacées.

Signalons que la littérature fait état de *Citrullus* et aussi de *Citrillus*, pour notre part, nous utiliserons le terme *Citrullus*.

Dans le langage courant, il règne une grande confusion de noms, un même nom peut désigner des plantes très différentes scientifiquement.

La plante de cucurbitacée est une plante annuelle et vivace, qui aime la chaleur, elle a besoin d'un emplacement chaud et d'un sol humide contenant suffisamment d'éléments nutritifs. Son appareil végétatif lianescent, présente de longues tiges robustes rampantes au ras du sol ou grimpantes. Les vrilles hélicoïdales leur permettent de s'élever en s'enroulant autour des supports variés. Ces vrilles sont situées latéralement sur les nœuds, au niveau des inflorescences et des feuilles. Celles-ci souvent grandes et alternées, sont un peu poilues et

rudes au toucher. Elles possèdent des nervures disposées en éventail, d'où la dénomination de feuilles palmées.

Généralement, les fleurs des cucurbitacées sont unisexuées et comprennent des organes mâle ou femelle qui peuvent être portés, soit par deux individus distincts, on a alors des plantes dioïques, soit par le même individu sur des axes florifères différents, la plante est dite alors monoïque. Les groupes des espèces cultivées telles que les courges, les pastèques et une grande partie des concombres sont monoïques.

Les fruits des cucurbitacées sont des baies à peau épaisse, coriace et imperméable. Ils se caractérisent étonnamment par leur grande variabilité. Aussi sur un même pied, on peut trouver des fruits très différents par leur couleur ou leur forme. Les potirons par exemple, sont les plus gros fruits du règne végétal, pouvant peser jusqu'à 450 kg et mesurer un mètre de diamètre.

La pulpe de fruit est charnue, elle renferme des graines plates, souvent nombreuses, groupées au cœur du fruit, à l'exception du genre *Sechium* qui n'en contient qu'une seule[17].

Les espèces diffèrent entre elles par l'aspect de la tige, la largeur du pédoncule, la forme du fruit et la couleur des graines.

## 2 Quelques Cucurbitacées d'Afrique

Nous ne mentionnons ici que six espèces d'Afrique, pour lesquelles l'identification des caractéristiques ethnobotaniques est presque validée.

Le tableau I : présente les genres et espèces des cucurbitacées concernées dans ce travail.

Tableau I : Genres et espèces de cucurbitacées étudiées.

Genre	espèce
<i>Citrullus</i>	<i>lanatus (Thumb) Man f.</i>
<i>Cucurbita</i>	<i>moschata (Duch. ex Lam.) Poiret</i>
	<i>Pepo L.</i>
<i>Lagenaria</i>	<i>şiceraria ( Mol.) Stand</i>
<i>Cucumis</i>	<i>sativus</i>
<i>Luffa</i>	<i>cilindrica</i>

A partir de la taxonomie des *Cucurbitacéa* [17, 18], nous avons fait la synthèse des noms scientifiques, français et locaux couramment employés dans les pays africains d'où proviennent les graines analysées

Tableau II : Appellation des cucurbitacées étudiées selon les pays

Noms scientifiques	Noms français	Noms du Congo Brazzaville			Autres noms africains	
		Lari	Beembe	Téké	Noms de la RDC*	Noms de la RCA*
<i>Citrillus lanatus</i> (Thumb) Mun f.	Melon à pistache	YaKala	Ntété za Batéké ou Ntété za bamiroir	Bibéré	Kala	Séré
<i>Cucurbita moschata</i> (Duch.ex Lam.) Poiret	Citrouille musquée	Lengué	Malengué	Bipara	-	-
	Citrouille courge	Nsouéki	Nsouéké		-	-
<i>Cucurbita pepo</i> L.	Concombre amer	Nténté ou Nsoundia ou Nstouria	Ntsouri	Ntah ou Ntiéré	Tchoura	Nzongo
<i>Lagenaria siceraria</i> (Mol.) Stand.	Calebasse	Nsiya	Nsiya ou Nténté za babinda ou za mbinda	Ntsiya ou Souhou- souhou	-	Nkosso
<i>Cucumis sativus</i>	-	-	-	-	-	-
<i>Luffa cylindrica</i>	Courge d'éponge	Nsana	Minsana	-	-	-
		Mbika			Mbika	-

RDC\* : République Démocratique du Congo

RCA\* : République Centrafricaine

*Nsouéki* et *Mbika* n'ont pas été identifiés.

### 3. Description botanique des espèces de Cucurbitacées analysées

#### 3. 1. *Citrullus lanatus*

C'est une plante herbacée annuelle, rampante, monoïque, dont la tige anguleuse à sillons longitudinaux, est couverte de poils laineux blanchâtres. Elle comprend deux à sept branches à vrilles courtes.

Les feuilles sont pétiolées (le pétiole mesure 6 à 12 cm). Le limbe est ovale, clair, ayant deux faces recouvertes de poils.

Les fleurs mâles et femelles de couleur jaune sont solitaires. Les pétales sont foliacées, ovales au sommet et trinerves. Les nervures portent à la face extérieure des poils longs et souples.

Les étamines sont insérées au fond de la coupe florale. Les fruits sont globuleux, durs et lisses à l'extérieur, de couleur vert jaunâtre à maturité. La pulpe est douce et blanchâtre.

Les graines sont brunes, aplaties, petites et dispersées dans la pulpe (mésocarpe). Un fruit peut contenir 100 à 200 graines dont l'amande transformée en pâte et mélangée au poisson ou à la viande, donne des plats savoureux, forts appréciés par les consommateurs.

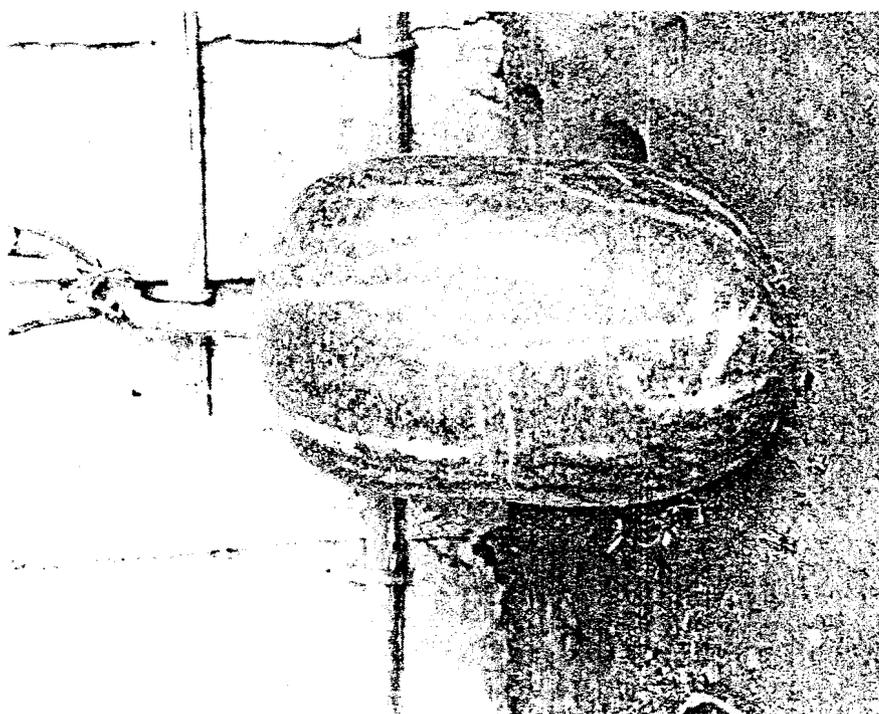


Figure 1 : Fruit de *Citrullus lanatus* (C1)



Graines entières

Graines décortiquées

Citrullus lanatus (Cl)

Figure 2: Graines de *Citrullus lanatus* (Cl)

### 3. 2 *Cucurbita moschata*

C'est une liane herbacée monoïque, rampante, à tige molle de section circulaire. La tige et les feuilles sont couvertes de poils. Le pédoncule fructifère et épais, est élargi au point d'attache.

Les feuilles sont alternées, et lobées à certains endroits. Le limbe est entier et de taille variable.

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

Les fleurs jaunes sont solitaires, synanthérées. La corolle est jaune avec des lobes soudés à leur base sur 1/3 de leur longueur. Les étamines sont groupées au centre de leur périanthe.

Les fruits sont ovoïdes ou de forme variée. La coloration varie d'un fruit à un autre pour une même espèce.

La pulpe fibreuse renferme de nombreuses graines blanchâtres et ovales qui sont nettement marginées sur les bords. On peut les confondre à celles de *Cucurbita pepo* par leur forme, cependant, elles sont plus grandes et verdâtres à l'intérieur.

Les feuilles de *Cucurbita moschata* sont consommées en guise de légumes, tandis que les graines décortiquées et moulues sont consommées comme celles de *Citrullus lanatus*.

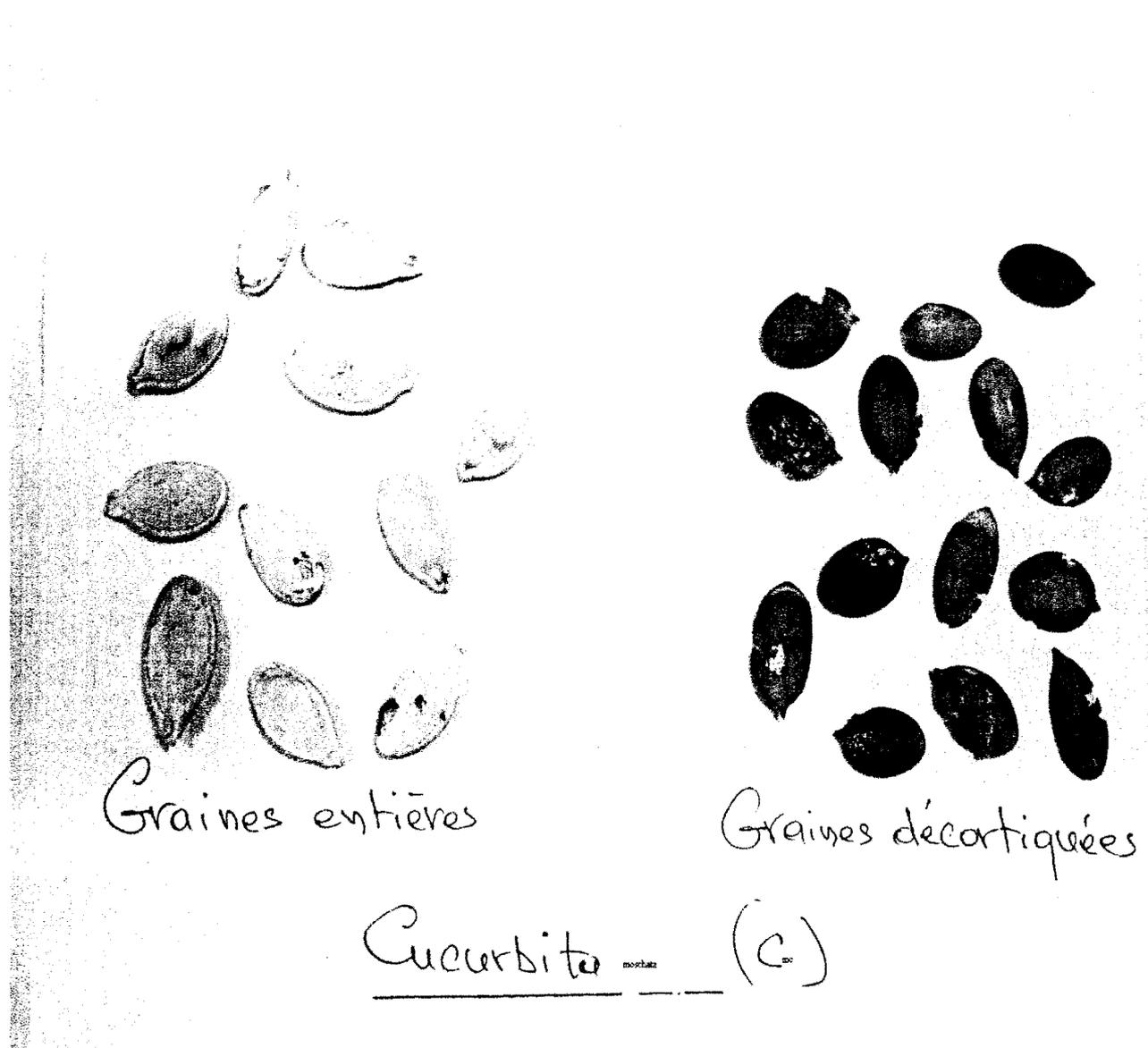


Figure 3 : Graines de *Cucurbita moschata* (Cmo)

### 3.3 *Cucurbita pepo*

*Cucurbita pepo* est une plante rampante, monoïque. Elle possède une tige robuste et poilue. Ses feuilles simples sont de couleur vert vif à la face supérieure et vert clair à la face inférieure, avec des limbes palmés et des nervures secondaires saillantes à la face inférieure. Les vrilles sont courtes et pubérulentes.

Les fleurs mâles et femelles sont campanulées, les inflorescences mâles sont en panicules et les inflorescences femelles sont solitaires.

Les baies sont de couleur variable : vert clair à jaune crème, marbré de vert ou rayé de jaune clair. De forme ovoïde ou en forme de massues, elles présentent une surface lisse plus ou moins luisante.

Quant aux graines, elles sont aussi ovoïdes et de couleur blanche à beige, elles ont des bords minces et sont atténuées au sommet. Leur contenu finement moulu, entre dans la composition des menus divers, les feuilles étant consommées comme légumes.



Figure 4: Graines de *Cucurbita pepo* (Cp)

### 3. 4 *Lagenaria siceraria*

C'est une plante lianescente herbacée, annuelle et monoïque, elle est grimpante ou rampante. La tige anguleuse assez épaisse, est recouverte de poils souples et fins. Les vrilles d'abord rectilignes, puis bifides à branches subégales, sont enroulées et pubescentes dans leur partie inférieure.

Les feuilles alternes, simples et arrondies sont longuement pétiolées. Les pétioles sont cylindriques et souvent creusés en dessous.

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

Les fleurs mâles et femelles à pétales blancs sont solitaires. L'ovaire est ovoïde ou cylindrique.

Les fruits de taille variable, surtout sphériques, glabres à maturité, sont d'abord verts puis deviennent blanchâtres ou jaunâtres. Ils donnent des Calebasses pouvant servir de récipients et d'objets de décoration.

Les graines de couleur marron, sont nombreuses, cylindriques et aplaties. Tout comme les feuilles et les graines de *cucurbita*, celles de *lagenaria siceraria* sont à l'origine de plats savoureux.



Figure 5 : Fruit de *Lagenaria siceraria* (Ls)

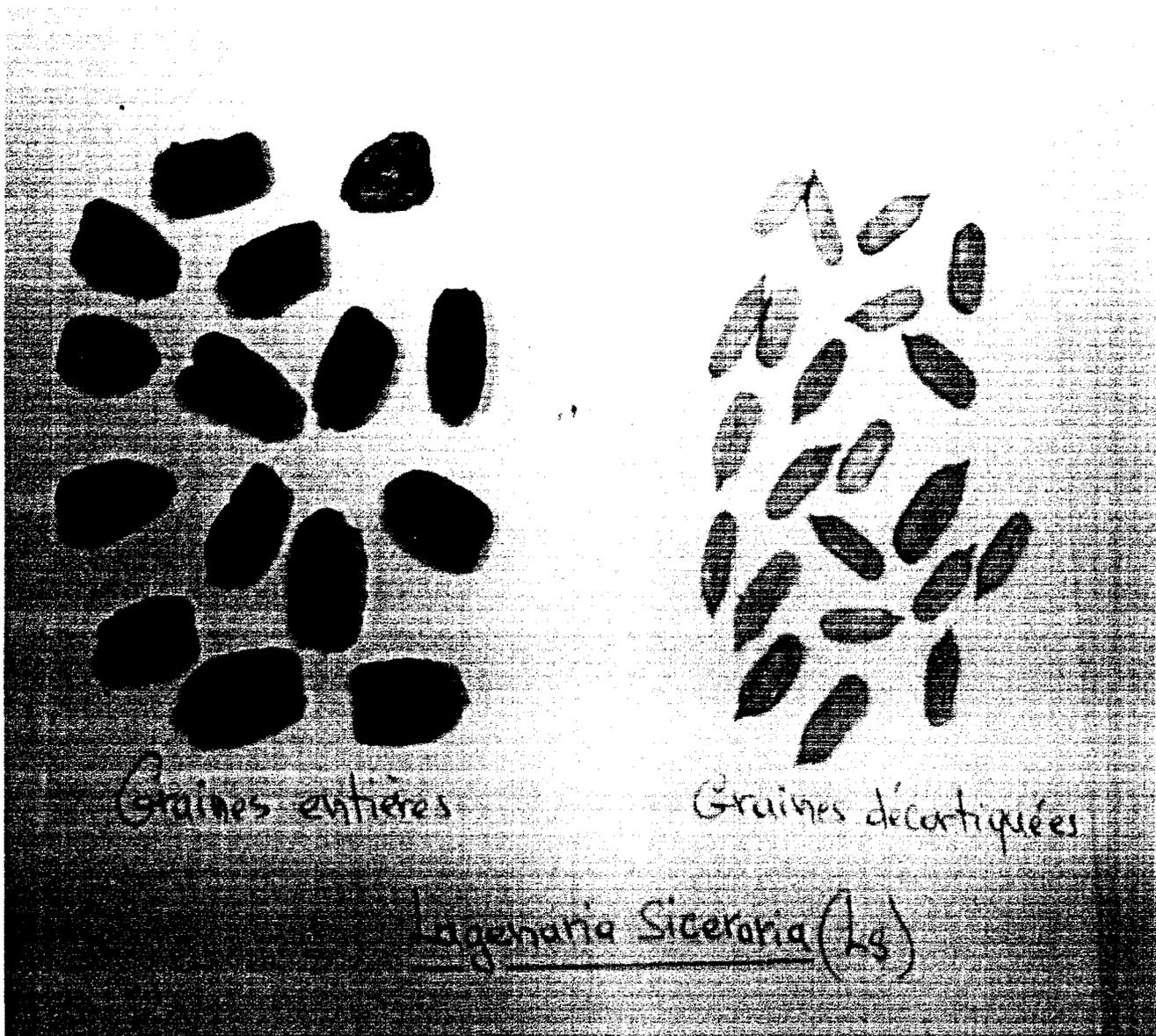


Figura 6 : Graines de *Lagenaria siceraria* (Ls)

### 3. 5 *Cucumis sativus*

*Cucumis sativus* est appelé concombre en français. C'est une plante potagère herbacée annuelle, à tiges rampantes ou grimpantes, munies de vrilles.

Les feuilles possédant une nervation palmée, comptent trois à cinq lobes, le bord du limbe étant denté.

La plante de *Cucumis sativus* est une plante monoïque dont les fleurs mâles et femelles de couleur jaune pâle, sont distinctes mais portées par le même pied.

Les fruits rugueux au toucher, sont allongés et charnus, ils sont consommés comme légume en entrant principalement dans la composition des salades. Les jeunes concombres qui sont alors des cornichons, sont consommés confits dans le vinaigre.

Ces baies renferment de nombreuses graines dont la couleur à maturité varie selon les variétés, du vert au blanc en passant par le jaune.

Ne disposant pas de graines de *Cucumis sativus*, nous ne pouvons pas les montrer en photo.

### 3. 6 *Luffa cylindrica*

Luffa n'est pas cultivé au Congo, il y pousse abondamment à l'état sauvage. Ses feuilles et graines ne sont pas consommées par les populations congolaises, mais le fruit est utilisé comme éponge de vaisselle ou de bain.

Nous voulons tout de même comparer la composition lipidique de ses graines à celle des espèces domestiquées et comestibles.

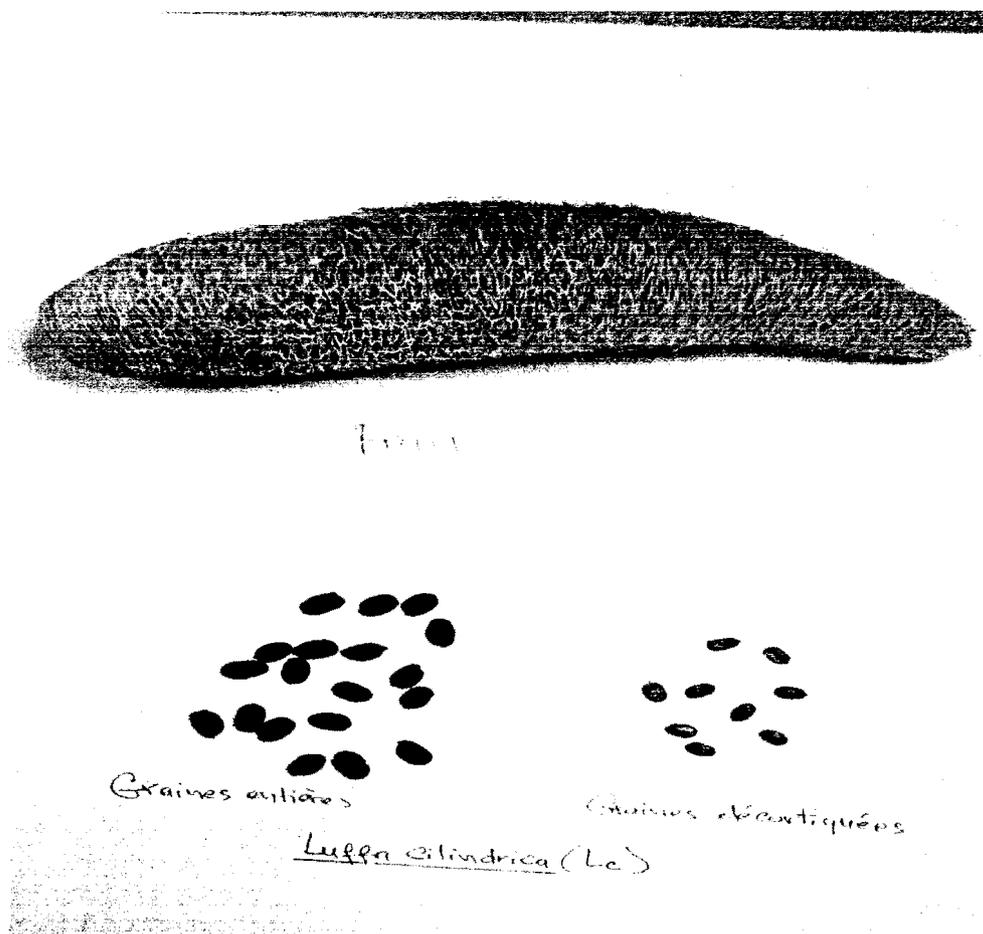


Figure 7 : Fruit sans enveloppe et graines de *Luffa cylindrica* (Lc)

#### 4. Utilisations des Cucurbitacées

Dans beaucoup de pays, les Cucurbitacées constituent des aliments courants pour certaines populations.

En effet, les feuilles sont consommées comme légumes et les amandes de graines consommées sous des formes variées, entrent dans la composition de plusieurs menus. De façon générale, les amandes une fois séchées et parfois grillées, sont écrasées et incorporées soit à la viande, soit au poisson pour en faire des boulettes, des papillotes ou alors servent d'épaississants de sauce.

Dans certains pays où sévit la sous alimentation, les graines sont également utilisées dans les formules de supplémentation nutritionnelle chez les enfants carencés [19, 20].

Des graines est extraite l'huile de couleur verdâtre ou rougeâtre pour les graines de citrouille. A la réflexion, elle dégage une odeur assez forte et une saveur intense, à l'image de l'huile de noix. Pour les populations qui la produisent, elle est utilisée particulièrement pour accommoder les plats ou mélangée à d'autres huiles végétales beaucoup plus douces. Cependant pour les habitués, l'huile de graines de citrouille est considérée comme une délicatesse vendue à des prix élevés. Notons que l'huile de courge est très peu produite au Congo et n'est pas utilisée dans l'alimentation. L'huile lorsqu'elle est extraite, sert plutôt à la fabrication des cosmétiques.

Outre l'alimentation, les Cucurbitacées possèderaient des vertus thérapeutiques. Aussi, l'huile des graines est-elle utilisée dans le traitement préventif des caries. Elle posséderait par ailleurs des propriétés calmantes et cicatrisantes pour les affections du tube digestif. On lui attribue également une activité vivifiante et tonifiante sur les systèmes nerveux, ostéo-musculaire et cardiovasculaire. Au Congo, l'espèce *Cucurbita pepo* est parfois utilisée en potion chez la femme enceinte en travail afin d'accélérer la parturition.

Les graines de citrouille pourraient traiter les irritations de la vessie et les troubles de la miction associées à l'hyperplasie (hypertrophie) bénigne de la prostate [21-23].

Les graines de courge sont employées comme vermifuge non irritant et non toxique. Il semblerait que l'effet vermifuge des graines soit du à la cucurbitine qui paralyserait les vers (le ténia en l'occurrence), permettant ainsi leur expulsion [21].

La pulpe de certaines variétés de Cucurbitacées guérit les brûlures, les plaies et les éruptions cutanées, tandis que les graines bouillies servent de stimulant à la lactation chez la femme.

## 5. Composition chimique globale des Cucurbitacées

Les feuilles des Cucurbitacées comme toutes les feuilles vertes sont riches en protéines, en minéraux et en certaines vitamines telles que les provitamines A [24].

Les minéraux sont présents dans la fourchette de 4 à 6% dans les graines de Cucurbitacées. La teneur en sodium est généralement faible, il se place ainsi dans la fourchette de variation des oligoéléments, comme le fer, le cuivre, le zinc, le manganèse, alors qu'il est généralement classé dans les macroéléments, au même titre que le phosphore, le potassium, le calcium et le magnésium, dans ce type de spéculations [4].

Les graines, en plus de leurs fortes teneurs en protéines (25 à 35%), vitamines et minéraux, font également partie des produits oléagineux, du fait de leur richesse en huiles. [25-29].

Ceci a été confirmé par les résultats préliminaires sur la composition lipidique des deux espèces de Cucurbitacées du Congo Brazzaville qui ont montré des teneurs de lipides totaux allant de 37.4 à 57.4% [4, 30]. Les lipides de ces deux espèces contiennent peu d'acide linoléique (C18 :3 n-3), tandis que les proportions de l'acide linoléique (C18 :2 n-6), varient entre 57.6 et 72.5%, occupant préférentiellement la position sn-2 des TAG.

Quant à l'acide oléique (C18 :1, n-9), il s'y trouve à des taux de 9.1 à 24.8 %.

Par ailleurs, les deux acides gras saturés : l'acide palmitique (C16 :0) et l'acide stéarique (C18 :0) sont tous les deux présents à 25 % des AG totaux et se retrouvent sur le glycérol en positions externes : sn-1 et sn-3.

## Conclusion

Les graines de Cucurbitacées étudiées dans ce travail, sont celles dont l'identification botanique est actuellement presque maîtrisée.

Cinq genres de cucurbitacées : *Citrullus*, *Cucurbita*, *Lagenaria*, *Cucumis* et *Luffa* ont servi d'échantillons. Seul le genre *Cucurbita* a été étudié avec ses deux espèces : *moschata* et *pepo*, les quatre autres ne l'ont été qu'avec une espèce uniquement. Morphologiquement, toutes ces espèces présentent de nombreuses ressemblances.

Le travail déjà amorcé sur la valeur nutritionnelle des Cucurbitacées du Congo n'est qu'une esquisse qui mérite d'être approfondie sur l'ensemble des espèces identifiées et cultivées dans la région équatoriale et ouest africaine (Golfe de Guinée).

On serait tenté d'étendre la caractérisation sur un plus grand nombre d'espèces pour mieux se rendre compte de la pertinence d'une éventuelle variabilité interspécifique, mais tous les aspects ne peuvent pas être abordés dans ce travail, qui ne se limite qu'à la fraction lipidique.

,

## **CHAPITRE II**

### **ENQUETE DE CONSOMMATION ALIMENTAIRE SUR LES GRAINES DE CUCURBITACEES CONSOMMEES A BRAZZAVILLE**

Avant d'aborder l'étude analytique des graines de cucurbitacées, une analyse succincte de leur utilisation nous a paru nécessaire, pour acquérir une meilleure compréhension de l'impact nutritionnel de ces graines dans le régime alimentaire des Congolais.

On estime que si les Congolais consomment déjà les graines, on peut penser que la commercialisation de leur huile sera accueillie favorablement et sera donc bénéfique tant au niveau nutritionnel qu'économique pour le pays.

C'est dans ce contexte que nous avons jugé utile de mener l'enquête dont les résultats sont présentés dans le paragraphe qui suit.

Nous tenons à préciser que l'étude menée ne concerne que la fraction lipidique des graines de cucurbitacées. Par conséquent, l'enquête n'intéresse pas les autres parties de la plante (feuilles et pulpe), elle se consacre uniquement aux graines commercialisées.

## **I. Méthodologie de l'enquête**

### 1. Contexte et problématique de l'étude

Le Congo dispose d'un potentiel vivrier élevé, si l'on tient compte du contexte climatique de zone humide, et des caractéristiques d'un environnement naturel favorable à l'agriculture. En effet, il existe un espace foncier très favorable au développement de l'agriculture, permettant non seulement l'association de cultures, mais en plus de réaliser deux à trois cycles de production par an. Ces potentialités vivrières se traduisent par l'étendue des gammes de cultures vivrières qui malheureusement, sont peu exploitées pour diverses raisons, dont le manque de matériel agricole performant.

Le milieu rural qui en est le principal producteur, déverse la quasi-totalité de sa production vers les grandes villes, pour assurer les échanges économiques nécessaires.

Selon Hugon [31], la ville est un lieu de concentration humaine où la densification entraîne l'accélération des modes de vie, de production, d'échanges et de consommation. Elle conduit, de ce fait, à des modifications des rapports entre les personnes et leur alimentation.

En milieu rural, l'alimentation se caractérise par des relations de proximité à plusieurs niveaux : proximité des approvisionnements, de la transformation et de la consommation.

En ville, cette proximité est moins accentuée, les rapports avec l'alimentation deviennent plus complexes: on accède aux produits par le marché, on utilise les aliments déjà transformés [32].

Le seul moyen d'acquérir l'information sur une denrée locale est donc le marché, c'est ainsi que nous avons été amenés à effectuer cette enquête sur différents marchés de la ville de Brazzaville.

L'évaluation du comportement alimentaire de la population en matière de cucurbitacées est un volet important dans ce travail. Cela nous permettra de mieux appréhender l'intérêt nutritionnel de ce produit.

## 2. objectifs de l'enquête

L'enquête que nous avons réalisée doit permettre de faire le bilan de la consommation alimentaire des graines à Brazzaville et pour cela, les objectifs que nous nous sommes fixés sont les suivants :

- déterminer l'origine géographique des graines consommées,
- évaluer la quantité de graines de courge consommée,
- déterminer leur fréquence de consommation,
- identifier les espèces les plus consommées,
- identifier leurs modes de consommation et d'autres utilisations.

## 3. Méthode de collecte des données

### 3. 1. Zone d'étude

La zone d'étude concerne la ville de Brazzaville représentée sur la carte ci-jointe

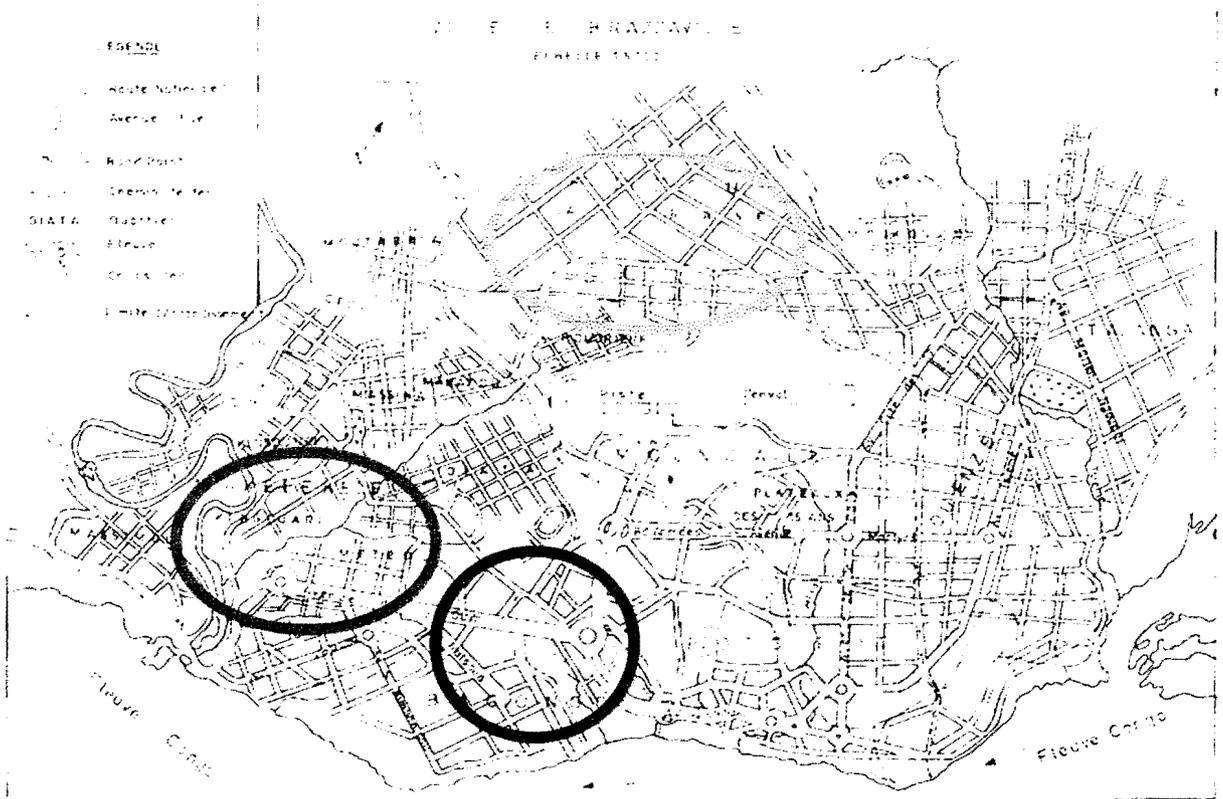


Figure 8 : Carte de la ville de Brazzaville

Brazzaville a été choisie à cause de sa forte densité humaine et de la diversité de sa population aux diverses origines géographiques, ce qui traduit une bonne représentativité des habitudes alimentaires de l'ensemble des Congolais. Il faut noter que l'enquête ne s'est pas étendue sur l'ensemble des marchés de la ville. Elle a porté uniquement sur trois quartiers au sud et à l'ouest de Brazzaville, plus précisément au niveau des zones entourées sur la carte (quartiers de Baongo, Makélékélé et Mfilou). Ceci s'explique par le fait que la courge semble être plus consommée dans ces quartiers qu'ailleurs, car l'aliment obtenu à partir des graines de courge est un produit de terroir au Congo et non un met de consommation courante.

L'enquête s'est déroulée particulièrement sur les lieux de vente, notamment sur les marchés et dans les restaurants de la ville. Les marchés dont les noms sont reportés dans le tableau ci-dessous ont été sélectionnés en raison de leur importance et de la diversité des produits d'origines variées qui y sont commercialisés, mais aussi pour la raison que nous venons d'évoquer dans le chapitre précédent.

Tableau III : Lieux de l'enquête

Localisation des marchés par zone		Nom des marchés
<b>Brazzaville Sud</b>	Arrondissement I (Makélékélé)	Bourreau
	Arrondissement II (Baongo)	Commission
		Marché Total
<b>Brazzaville Ouest</b>	Arrondissement VII (Mfilou)	PK

La population cible est constituée particulièrement des vendeurs et des consommateurs de graines de cucurbitacées. Ce choix qui s'est limité uniquement dans les marchés se justifie comme nous venons de le souligner, par le fait que le met des graines de courge n'est pas un plat de consommation courante. Interroger les ménages sur sa consommation est un travail fastidieux, il nous a donc paru judicieux de procéder à une catégorisation de la population, en ne ciblant que des personnes susceptibles de consommer le produit.

### 3. 2. Type d'enquête

L'enquête mise en route est de type transversal, l'outil de collecte des données étant le questionnaire joint en annexe. Il comporte plusieurs volets cités ci-dessous :

- approvisionnements en graines de courge,
- origines géographiques des graines,
- vente des graines,
- espèces de graines commercialisées,
- modes de consommation des graines,
- préférences des consommateurs,
- différentes utilisations des graines.

### 3. 3. Mode de constitution de l'échantillon

Comme nous venons de l'expliquer au 3.1, la collecte des données a été réalisée par choix raisonné auprès des grossistes, des détaillants, des producteurs d'aliments à base de graines de courge, ainsi qu'au niveau des consommateurs. Les entretiens ont été réalisés en langues véhiculaires (kikongo et lingala) qui sont largement parlées dans le pays.

Les enquêtes se sont déroulées dans les marchés, dans la rue, dans les débits de boisson auprès des vendeurs ambulants et dans les restaurants afin d'obtenir une information précise.

Les entretiens ont été réalisés en grande partie par une personne expérimentée qui s'est familiarisée au questionnaire, en le testant au préalable.

Rappelons que ni les vendeurs, ni les consommateurs n'ont été sélectionnés auparavant, l'échantillonnage étant constitué par les personnes rencontrées sur les lieux au moment de l'enquête.

A l'issue de l'enquête, les informations recueillies ont été traitées de la manière présentée dans le paragraphe suivant.

## II. Traitement et présentation des résultats de l'enquête

Les informations recueillies lors d'une enquête doivent être traitées pour obtenir des résultats. Pour cela, on procède au dépouillement du questionnaire utilisé, celui-ci est "auto-codé" au préalable (on transcrit directement la réponse pré-chiffrée). On réalise ensuite un codage en transformant en variables numériques, les réponses souvent matérialisées par une croix dans une case au moment de l'entretien, de cette manière, les données peuvent être facilement saisies.

Par souci de clarté du texte, nous nous proposons de regrouper les informations en quatre volets qui sont :

- l'identification des personnes interrogées,
- l'origine des graines commercialisées dans les trois quartiers de Brazzaville,
- la commercialisation du produit brut (graines non transformées),
- la consommation du produit fini (graines transformées).

En raison du grand nombre de données, certaines informations recueillies dans chaque marché ou points de vente, seront traitées globalement.

Par ailleurs, certaines questions posées dans le questionnaire n'ont pas été traitées, le taux de réponses obtenues étant très bas.

D'autre part, pour éviter des redondances, certains critères comme l'âge, la nationalité, le niveau scolaire, le coût des graines à l'achat et à la vente, la durée dans l'activité et les moyens financiers ne seront abordés que pour une catégorie de l'échantillon (soit les grossistes, soit les détaillants, ou les acheteurs), les grossistes étant plus nombreux, cette catégorie a donc été choisie.

### 1. Identification des personnes interrogées.

#### 1. 1. Effectif de l'échantillon

Un ensemble de 257 personnes constituant l'échantillon a pu être interrogé dans les quatre marchés et les points de vente. Cet échantillon se divise en deux catégories, les vendeurs (147) et les acheteurs (110).

Parmi les vendeurs, nous avons :

- les vendeurs en gros que nous appelons les grossistes.
- les vendeurs au détail, dénommés détaillants.

Quant aux acheteurs, nous distinguons :

- les acheteurs du produit brut, c'est-à-dire ceux qui s'approvisionnent en graines séchées déjà décortiquées mais non transformées, pour diverses utilisations dans les ménages. Ces personnes sont classées dans le groupe des consommateurs,

- les acheteurs du produit fini qui achètent les graines déjà préparées prêtes à être consommées dans les restaurants et dans la rue. Ils font également partie des consommateurs.

Le tableau IV met en évidence l'identification de l'échantillon. On constate que les grossistes sont les plus nombreux, 88 pour 257 personnes interrogées. Ils sont principalement concentrés dans trois marchés : Total, PK et Commission. Le marché Total se distingue par un pourcentage relativement important de grossistes (42,0%). Il est suivi de PK qui est fréquenté par 30,7% de grossistes, alors que Commission ne totalise que 21,7%. Bourreau avec ses 5,7% occupe la dernière place.

Tableau IV : Identification de l'échantillon

	Vendeurs				Acheteurs (Consommateurs)					
	Grossistes (n=88)		Détaillants (n=59)		Acheteurs du produit brut (n=59)		Acheteurs du produit fini (petite restauration, alimentation de rue) (n=51)			
Nom des marchés visités	n	%	n	%	n	%	Points de vente du produit fini	n	%	
Total	37	42,0	21	35,6	19	32,2	Bacongo	10	19,6	
Commission	19	21,6	11	18,6	12	20,3	Bifouiti	14	27,4	
Bourreau	5	5,7	16	27,1	16	27,1	Mfilou	14	27,4	
PK	27	30,7	11	18,6	12	20,3	Makélékélé	13	25,5	
Sous total	88	100	59	100	59	100	Sous total	51	100	
Total	147				110					
Total	257									

Les détaillants sont certes plus nombreux au marché Total (35.6%), mais ils se retrouvent dans les mêmes proportions aussi bien à Commission qu'à PK (18.6%), Bourreau par contre prend la deuxième place ici (27.1%).

Les acheteurs de produit brut présentent la même tendance que les détaillants, plus présents au marché Total et à Bourreau, même pourcentage à commission et à PK.

Quant aux acheteurs de produit fini, ils sont quasiment repartis de la même façon dans tous les points de vente.

Généralement, les vendeurs et consommateurs des graines viennent des régions de forte production de cucurbitacées, ceci est d'autant plus vraisemblable que le plat des graines de courge est un produit de terroir.

## 1. 2. Répartition des vendeurs et des acheteurs

Les valeurs consignées dans le tableau V représentent la totalité des personnes interrogées dans les quatre marchés et dans tous les points de vente visités.

Tableau V : Répartition de l'échantillon

	Femmes		Hommes		Total %
	Effectif	%	Effectif	%	
Grossistes (n=88)	65	73.9	23	26.1	100
Détaillants (n=59)	47	79.7	12	20.3	100
Acheteurs du produit brut dans les marchés (n=59)	51	86.4	8	13.6	100
Acheteurs du produit fini (petite restauration, alimentation de rue) (n=51)	8	15.7	43	84.3	100
Sous total (effectif)	171		86		
Total (effectif)	257				

Il se dégage de ce tableau que les femmes sont largement impliquées dans la commercialisation des graines de courge, à l'exception de la petite restauration et de l'alimentation de rue. Il faut cependant signaler que ce sont tout de même les femmes qui assurent la préparation des graines destinées à la vente dans les restaurants et dans la rue.

### 1.3. Répartition des vendeurs et des acheteurs selon l'âge et le sexe

S'agissant de l'âge, les personnes interrogées ont été très peu coopératives, seules 71 femmes et 26 hommes ont donné des réponses qui sont exposées dans le tableau ci-après.

Tableau VI : Répartition de personnes interrogées en fonction de l'âge et du sexe

Tranche d'âge	Femme		Homme	
	Effectif	%	Effectif	%
25-35 ans	22	31,0	10	38,5
36-45 ans	34	47,9	15	57,7
46-55 ans	10	14,1	1	3,8
56-65 ans	5	7,0	0	0,0
Total	71	100,0	26	100,0

Les tranches d'âge les plus représentées sont celles de 36 à 45 ans (57,7% des hommes et 47,9% de femmes) et de 25 à 35 ans (38,5% des hommes et 31,0% de femmes). Dans la tranche de 46 à 55 ans, on note à peine 14.1% de femmes et 3.8% des hommes. Au-delà de 56 ans, le nombre diminue, il n'y a plus que 7% de femmes et aucun homme.

En ce qui concerne la nationalité des vendeurs, la vente des graines de cucurbitacées est assurée par 85,7% de congolais de Brazzaville, femmes et hommes confondus et le reste par les congolais du Congo démocratique.

Quel que soit le sexe des personnes interrogées, la grande majorité de grossistes a le niveau de l'école primaire, soit 55,7% des femmes et 42,3% des hommes. On remarque en outre 35,7% de femmes et 38.5% des hommes ayant le niveau du secondaire. On rencontre 19,2% des hommes et 5,7% de femmes de niveau universitaire qui se sont investis dans la vente de la courge. Cela fait ressortir le problème crucial du manque de débouchés dans le pays, car

certain diplômés sans emploi finissent comme grossistes dans les meilleurs des cas ou comme détaillants.

Quant au temps mis à exercer cette activité, on a obtenu 42,4% de réponses (femmes et hommes confondus) qui exercent cette activité depuis 6 à 10 ans, 24,2% depuis 11 à 15ans. On note 23,2% de personnes dans ce domaine depuis moins de 6 ans, très peu de nouveaux venus (7,1% depuis moins de 3 ans). Les plus anciens dans ce secteur ne dépassent guère 3,0%.

La grande majorité (94%) fait de la vente de courge leur activité principale, donc leur principale source de revenus. Le reste associe la vente de la courge à d'autres produits alimentaires.

L'origine des fonds d'investissement dans ce domaine est variée, 78,7% de grossistes déclarent avoir épargné, 13,8% ont fait des emprunts, 4,3% ont reçu l'aide des parents et 3,2% ont été aidés par une tierce personne.

## 2. Origine des graines commercialisées à Brazzaville

Les approvisionnements s'effectuent dans divers endroits, cependant 82,0% de personnes interrogées déclarent s'approvisionner sur les marchés de Brazzaville. Un faible pourcentage (18,0%) se ravitaille directement dans les régions de la Bouenza, de la Lékoumou, du Niari et du Pool situées au sud du pays (cf. zones entourées sur la carte du Congo).

### 2.1 Bassins de production des Cucurbitacées arrivant à Brazzaville

Tous les vendeurs n'ont pas su déterminer l'origine de leur produit. Ceux qui ont répondu, ont désigné les trois régions réunies : Bouenza, Lékoumou, Niari par un même nom, c'est pourquoi nous les regroupons.

Aussi sur les 147 vendeurs, 126 ont répondu, les pourcentages de réponses sont répartis dans le tableau VII.

Tableau VII : Origine des graines de Cucurbitacées (toutes espèces confondues) commercialisées à Brazzaville

Région	Effectif (n=126)	%
Bas Congo (RDC)	57	45,2
Bouenza, Lékoumou, Niari (sans distinction)	36	28,6
Pool	27	21,4
Pool et Niari	6	4,8
Total	126	100

Il ressort de ce tableau que 45,2% de personnes déclarent que les graines vendues proviennent du Bas-Congo (RDC), 28,6% de trois régions réunies (Bouenza, Lékoumou, Niari) et 21,4% du Pool.

Le Congo démocratique (RDC) apparaît comme le bassin le plus important d'approvisionnement de Brazzaville en cette denrée.

## 2. 2. Origine des espèces de graines de Cucurbitacées commercialisées à Brazzaville

Nous avons voulu nous rendre compte de la nature des espèces de graines commercialisées à Brazzaville (tableau VIII).

Tableau VIII : Nombre de réponses des commerçants sur la provenance des espèces de graines de cucurbitacées commercialisées à Brazzaville

Régions	Espèces de graines de courge					Total de réponses (n=120, %=100)
	Cl	Cp	NTS	Cmo	Ls	
BasCongo (RDC)	n= 44 77.2%	n= 13 22.8%				n= 57 100%
Bouenza, Lékoumou, Niari (sans distinction)	n=12 33.3%	n=5 13.9%	n=2 5.6%	n=5 13.9%	n=12 33.3%	n=36 100%
Pool	n=4 14.9%	n=8 29,6%	n=1 3.7%	n=3 11.1%	n=11 40.7%	n=27 100%
Total	n=60 50.0%	n=26 21.6%	n=3 2.5%	n=8 7.0%	n=23 19.1%	n=120 100%

Tous les vendeurs n'ayant pas déterminé l'origine des graines, seules les réponses de 120 personnes ont permis d'identifier cinq espèces de courge commercialisées à Brazzaville à savoir : *Citrullus lanatus* (Cl), *Cucurbita pepo* (Cp), *Nsouéki* ou *Ntsouéké* (NTS), *Cucurbita moschata* (Cmo), *Lagenaria siceraria* (Ls).

La RDC qui est de loin le plus gros fournisseur en graines de courge, apporte essentiellement deux espèces de graines, *Citrullus lanatus* (Cl) en grande quantité (77.2% de réponses) et *Cucurbita pepo* (Cp) en des proportions moindres (22.8% de réponses).

*Citrullus lanatus* provient également des trois régions du Congo Brazzaville (Bouenza, Lékoumou Niari) (33.3% de réponses) et dans une certaine mesure du Pool (14.9% de réponses).

*Cucurbita pepo* est fourni par le Pool (8 réponses) après la RDC, suivi des trois régions, Bouenza, Lékoumou, Niari (13.9% de réponses).

*Cucurbita moschata* comme *Lagenaria siceraria* (Ls) et *Nsouéki* (NTS), proviennent aussi bien des trois régions (Bouenza, Lékoumou, Niari) que du Pool.

Notons que les graines de *Nsouéki* (NTS) sont commercialisées en très faible quantité.

### 3. Commercialisation des graines

Nous présentons dans un premier temps les données concernant l'achat et la vente des graines par les grossistes. Ensuite, la même démarche sera appliquée sur les informations collectées auprès des détaillants.

#### 3. 1. Activités des grossistes

##### 3. 1. 1 Achats du produit brut

Les quantités de graines achetées peuvent varier d'un achat à l'autre, c'est ainsi que les réponses obtenues ne sont pas précises, ce sont plutôt des estimations.

Il y a lieu de signaler qu'au Congo, la commercialisation des graines et de certains produits ne se fait pas généralement selon les standards mondialement reconnus, tel que le poids avec ses unités de mesure. Les commerçants utilisent des instruments de mesure non homologués qui sont des sacs et des boîtes de différents calibres. Aussi, les quantités présentées sont des équivalences des contenus de sacs et de boîtes utilisés.

Notons au passage qu'un sac pèse environ 50 kg, la plus grosse boîte contient approximativement 1 kg de graines, la moyenne 500 g et la plus petite 250 g.

Le tableau IX répartit par tranche, les quantités de graines achetées à chaque fois.

Tableau IX: Estimation des quantités de graines achetées par les grossistes par achat

Quantité achetée (kg)	Effectif (n=88)	%
50 à 200	29	33,0
200 à 400	39	44.3
400 à 750	8	9.1
750 à 950	9	10.2
950 à 1250	2	2.3
1250 à 1500	1	1.0
Total (3600 à 5050)	88	100

On constate que près de la moitié des grossistes (44,3%) achètent 200 à 400 kg de graines. Les quantités de 400 à 750 kg et celles de 750 à 950 kg sont achetées respectivement par 9.1 et 10.2% de commerçants.

Très peu de grossistes (3.3%) s'engagent à prendre des quantités allant au delà de 950 kg de graines par achat.

Quant à la fréquence des achats (tableau ci-dessous), la grande majorité de grossistes (67,0%) ne s'approvisionne qu'une seule fois dans le mois, deux fois pour 28.4% et trois fois pour le reste.

Tableau X : Fréquence des approvisionnements

Nombre d'achats par mois	Effectif (n=88)	%
1	59	67,0
2	25	28,4
3	4	4,5
Total	88	100

Les quantités des espèces de graines achetées sont intéressantes à évaluer afin de se rendre compte de la nature des graines commercialisées à Brazzaville.

Aussi, nous regroupons dans le tableau IX les quantités estimées à partir des déclarations des grossistes.

Tableau XI : Réponses des grossistes sur les espèces de graines de cucurbitacées achetées

Quantité achetée (kg)	Espèces de graines cucurbitacées achetées					Total (n=88)
	Cl	Cp	NTS	Cmo	Ls	
50 à 200	13	6	1	2	7	29
200 à 400	16	6	1	3	13	39
400 à 750	4	1		1	2	8
750 à 950	5	1		1	2	9
950 à 1250	1				1	2
1250 à 1500	1					1
Sous total	40	14	2	7	25	88
Total	88					88

Parmi les cinq espèces de courge qui arrivent à Brazzaville, *Citrullus lanatus* est de loin la plus achetée. En prenant, la tranche de 50 à 200 kg, près de la moitié des personnes interrogées : 13 sur 29 affirment les acheter et 16 achètent 200 et 400 kg à chaque fois. Au total, 40 grossistes sur les 88 visités s'approvisionnent en *Citrullus lanatus* à chaque achat.

Pour *Cucurbita pepo*, sur les 14 commerçants qui en achètent, 6 font des stocks de 200 à 400 kg de graines, il n'y a qu'une personne qui achète entre 400 et 750 kg, il en est de même pour l'achat de 750 à 950 kg. Enfin personne n'achète au-delà de 950 kg de graines de *Cucurbita pepo*.

*Cucurbita moschata* par contre est peu prisee, on n'a noté que 7 grossistes au total, dont 5 font des provisions ne dépassant pas 400 kg de graines.

Quant à *Ntsouéké*, elle n'enregistre que 2 acheteurs qui ne prennent d'ailleurs pas plus de 400 kg.

*Lagenaria siceraria* est mieux appréciée que les deux dernières espèces, elle suit *Citrullus lanatus* avec un total de 25 réponses sur 88. On note 20 personnes qui achètent plus de 50 à 400 kg de graines et 5 faisant des stocks de 400 à 950 kg.

Pour évaluer les dépenses engagées pour ces achats, il faut considérer le prix du kg de graines, à savoir qu'un kg de graines de courge coûte en moyenne 300 frs cfa, soit 0.46 euro, étant entendu que le prix varie légèrement d'une espèce à l'autre.

### 3. 1. 2. Ventes

Le tableau suivant fait l'estimation des quantités de graines qui peuvent être vendues par jour par les grossistes.

Tableau XII : Quantités vendues par jour par les grossistes

Quantité vendue par jour (kg)	Effectif (n=88)	%
50 à 250	76	86,3
250 à 500	7	8.0
500 à 750	4	4.5
750 à 1000	1	1.1
Total 1550 à 2500 kg	88	100

On constate que la vente quotidienne des graines par l'ensemble des grossistes oscille entre 1550 et 2500 kg, à raison de 50 à 250 kg pour 86.3% de grossistes. Les quantités comprises entre 250 et 500 kg ne sont vendues que par 8.0% et 4.5% liquident celles allant de 500 à 750 kg. Les tranches de 750 à 1000 kg parviennent à être écoulées par 1.1% seulement de vendeurs.

En ce qui concerne la vente des graines par espèce, le tableau XIII ci-après récapitule les quantités écoulées quotidiennement.

En considérant la tranche de 50 à 250 kg, *Citullus lanatus* vient encore en tête avec 32 grossistes sur 38, vient ensuite *Lagenaria siceraria* qui à l'adhésion de 21 personnes sur 24. *Cucurbita pepo* et *Cucurbita moschata* se retrouvent au même niveau après les deux espèces *citrullus lanatus* et *Lagenaria siceraria*, alors que *Ntsouéké* n'obtient que 2 réponses.

Quant aux ventes comprises entre 250 et 500 kg, elles sont négligeables, *Citrullus lanatus* et *Lagenaria sciceraria* arrivent à être écoulées respectivement par 3 et 2 commerçants.

Pour les quantités allant de 500 à 1000 kg, peu de grossistes arrivent à les écouler, il n'y en a que 3 pour *Citrullus lanatus*, 1 seul grossiste pour *Lagenaria sciceraria* et *Cucurbita pepo*.

Tableau XIII : Estimation des quantités (kg) de graines de Cucurbitacées vendues par jour par les grossistes

Quantité vendue (kg)	Espèces de graines Cucurbitacées vendues					Total (n=88)
	Cl	Cp	NTS	Cmo	Ls	
50 à 250	32	11	2	10	21	76
250 à 500	3	1		1	2	7
500 à 750	2	1			1	4
750 à 1000	1					1
Sous total	38	13	2	11	24	88
Total (n=88)	88					88

### 3. 2. Activités des détaillants

Une fois les stocks constitués, les graines sont achetées par d'autres commerçants qui les revendent au détail.

Comme précédemment, nous exposons en premier lieu les quantités achetées pour ensuite montrer celles revendues.

#### 3. 2. 1. Achats

Les détaillants achètent le kilogramme de graine à 400 frs cfa en moyenne, soit 0.61 euro. Rappelant que ce montant varie selon les espèces.

Nous rappelons qu'il ne s'agit que des estimations qui sont rapportées dans le tableau XIV ci-dessous.

La lecture du tableau montre que les quantités les plus achetées se situent dans la fourchette de 101 à 120 kg de graines, avec 38.3% de réponses favorables, contre 25.5 % pour la tranche de 20 à 100 kg.

Les quantités de 121 à 160 kg intéressent 25.5% de détaillants, tandis que les grosses quantités (au-delà de 161 kg) sont peu achetées (10.5% dans l'ensemble).

Tableau XIV : Estimation des quantités de graines achetées par les détaillants, par achat

Quantité achetée (kg)	Effectif (n=47)	%
20-100	12	25.5
101-120	18	38.3
121-140	7	14.9
141-160	5	10.6
161-180	2	4,2
181-200	1	2.1
201-300	1	2.1
301-500	1	2.1
Plus de 500 kg		
Total	47	100

Afin de connaître la nature des espèces de courge achetées, 47 détaillants ont pu répondre sur les 59 répertoriés.

La répartition des achats par espèce est mentionnée dans le tableau XV.

Parmi les 18 réponses (100%) enregistrées pour les quantités de 101 à 120 kg de graines achetées, 38.9% de personnes interrogées achètent les graines de *Citrullus lanatus*, 33.3% celles de *Lagenaria siceraria*, 16.7% celles de *Cucurbita pepo* et 11.1% de graines de *Cucurbita moschata*. Quant aux graines de *Ntsouéké*, aucun achat n'a été enregistré.

La même tendance se dégage pour les quantités comprises entre 20 et 100 kg, *Citrullus lanatus* occupant la première place, suivie toujours de *Lagenaria siceraria*.

Dans la tranche de 121 à 140 kg, les graines de *Citrullus lanatus* sont achetées par 42.8% de personnes, tandis que 28.6% de détaillants s'approvisionnent en graines de *Lagenaria siceraria* et 14.3% en graines de *Cucurbita pepo* et de *Cucurbita moschata*

Les graines achetées par les détaillants sont mises à la disposition des acheteurs dans les différents marchés, ce qui constitue l'activité principale pour la plupart d'entre eux.

Tableau XV: Réponses par espèce de graine de Cucurbitacées achetées par les détaillants.

Quantité achetée (kg)	Espèces de graines Cucurbitacées achetées					Quantité achetée (kg)
	Cl	Cp	NTS	Cmo	Ls	
20-100	n=5 41.7%	n=2 16.7%	n=1 8.3%	n=1 8.3%	n=3 25%	n=12 100%
101-120	n=7 38.9%	n=3 16.7%		n=2 11.1%	n=6 33.3%	n=18 100%
121-140	3 42.8%	n=1 14.3%		n=1 14.3%	n=2 28.6%	n=7 100%
141-160	n=2 40%	n=1 20%			n=2 50%	n=5 100%
161-180	n=1 50%				n=1 50%	n=2 100%
181-200	n=1 100%					n=1 100%
201-300	n=1 100%					n=1 100%
Pus de 300kg	n=1 100%					n=1 100%
Sous total	n=21 44.7%	n=7 14.9%	1 2.1%	n=4 8.5%	n=14 29.8%	n=47 100%
Total	47					47

### 3. 2. 2. Ventes

Les graines sont revendues en moyenne à 500 frs cfa (0.76 euro), bien entendu avec de légères variations (0.15 à 0.3 euro) selon les espèces.

Si sur les achats les détaillants ont été peu coopératifs (79.7%), ici par contre, presque tous ont répondu (96.7%), les réponses obtenues sont enregistrées dans le tableau XVI.

Tableau XVI: Quantité de graines vendue par les détaillants par jour

Quantité vendue (kg)	Effectif (n=57)	%
Moins de 50 kg	27	47.4
50 à 100 kg	22	38.6
Plus de 150 kg	8	14.0
Total	57	100

La grande majorité des vendeurs au détail (47.4%) écoulent quotidiennement moins de 50 kg, 38.6% liquident 50 à 100 kg de graines, alors que 14.0% vendent plus de 150 kg dans la journée.

On a classé par ordre décroissant les espèces de courge les mieux vendues, le tableau XVII présente l'information recueillie. Dans ce tableau, il faut prendre chaque espèce individuellement, de façon à ramener le pourcentage global à l'espèce considéré.

Tableau XVII : Espèce la plus vendue

Espèce	Nb de réponses (n=59)	% de réponses
Cl	59	100
Cp	23	39,0
NTS	2	3,4
Cmo	9	15,2
Ls	49	83,0

Les réponses confirment la tendance observée aussi bien auprès des grossistes qu'auprès des détaillants qui classent *Citrullus lanatus* et *Lagenaria siceraria* en tête des espèces commercialisées.

*Cucurbita pepo* a obtenu 39.0% de réponses, suivie de *Cucurbita moschata* avec 15.2% de réponses, *Ntsouéké* étant en effet l'espèce la moins vendue.

Le tableau suivant fait un classement des espèces en fonction des préférences des consommateurs.

Tableau XVIII: Espèce préférée

Préférence	Effectif (n=58)	%
Cl	24	41,4
Ls	6	10,3
Cl et Ls	28	48,3
Total	58	100

Il s'avère que *Citrullus lanatus* est plus appréciée (41.4%), que les autres espèces, *Lagenaria siceraria* l'est à 10.3%. Par ailleurs, 48.3% des acheteurs préfèrent à la fois les deux espèces *Citrullus lanatus* et *lagenaria siceraria*. *Cucurbita moschata* et *Ntsouéké* n'apparaissent nullement.

Le reste des personnes interrogées n'ont aucune préférence.

#### 4. Consommation

Comme précédemment, les consommateurs achètent naturellement les graines en fonction de leur préférence.

#### 4. 1. Appréciation des espèces de cucurbitacées par les consommateurs

La tendance des consommateurs à préférer *Citrullus lanatus* se confirme par leurs déclarations regroupées dans le tableau suivant :

Tableau XIX : Espèce consommée dans le ménage

Espèce de courge consommée en famille	Effectif (n=58)	%
Cl	52	89,6
Cp	18	31,0
NTS	11	19,0
Cmo	19	32,8
Ls	41	70,7

Ici encore, chaque espèce doit être prise individuellement tout en reportant le pourcentage global à l'espèce considérée (exemple :  $89,6\% = (52/58)*100$ ).

Aussi, 89.6% représentent les consommateurs qui préfèrent *Citrullus lanatus*, tandis que le reste est d'avis contraire. De même, *lagenaria siceraria* est préféré par 70.7% de consommateurs, alors que *Cucurbita moschata* et *Cucurbita pepo* sont appréciées quasiment de la même manière, 31% environ. *Ntsouéké* par contre n'est préféré que de 19% de consommateurs.

Les graines une fois achetées sont transformées en aliments consommés soit dans les ménages, soit dans les petits restaurants ou encore vendus dans la rue. L'aliment ainsi obtenu se présente alors sous plusieurs formes.

#### 4. 2. Formes de consommation des graines de cucurbitacées

Qu'il s'agisse des ménages, de la petite restauration ou de l'alimentation de rue, les graines de courge, sont préparées sous formes de boulettes, de papillotes ou sont intégrées dans les sauces comme épaississants. Nous dressons dans ce tableau les formes de préparation recensées.

Tableau XX : Formes de préparation préférées par les consommateurs

Forme de préparation	Alimentation familiale		Petite restauration et alimentation de rue	
	Effectif (n= 59)	%	Effectif (n=49)	%
Papillotes	13	22.0	31	63.3
Boulettes	42	71.2	11	22.4
Epaississant de sauce	4	6.8	7	14.3
Total	59	100		100

On constate d'une part que la consommation des graines de courge sous forme de boulettes est plus importante dans les ménages (71.2%) que dans les petits restaurants ou dans la rue (22.4%). D'autre part, les graines sont moins consommées comme épaississant de sauce, aussi bien en famille qu'ailleurs.

De toutes les personnes interrogées, deux seulement ont déclaré produire de l'huile à partir des graines de courge. L'huile obtenue n'est alors pas utilisée dans l'alimentation, elle sert plutôt à des fins cosmétiques (soins des cheveux et de la peau).

#### 4.3. Fréquence de consommation des graines

Les seules informations recueillies auprès des acheteurs sur la consommation des graines dans les ménages sont regroupées dans le tableau XXI.

Tableau XXII : Quantité de graines achetées par semaine pour l'alimentation familiale

Quantité achetée par semaine pour l'alimentation familiale	Effectif (n=58)	%
1 kg	41	70,7
2 kg	11	19
3 kg	4	6,9
Plus de 3 kg	2	3,4
Total	, 58	100

La consommation hebdomadaire de graines de courge n'excède pas 1 kg dans les ménages, soit 70.7% de consommateurs. Un faible pourcentage, 3.4% seulement consomme plus de 3 kg par semaine.

### III Discussion des données de l'enquête

Cette enquête a consisté à caractériser la filière de production et de consommation de la courge. En effet, les informations recueillies lors de l'enquête ont permis d'une part, d'identifier les personnes qui s'impliquent dans cette filière. D'autre part, elles ont servi à localiser les bassins de production des espèces consommées, donc à déterminer leurs origines géographiques. En outre, elles ont conduit à déterminer les différentes espèces de cucurbitacées de consommation courante à Brazzaville. Par ailleurs, par le biais de cette enquête, on a pu évaluer les quantités de graines achetées, vendues et consommées et identifier leurs formes de consommation.

En ce qui concerne l'échantillon, l'effectif totalisé semble assez représentatif de l'ensemble de la population, le mode de constitution de l'échantillon adopté étant le choix raisonné de la population cible.

La prédominance des femmes à tous les niveaux du circuit prouve à l'évidence sa forte implication dans la gestion économique et sociale du ménage.

Les tests d'association réalisés entre variables démographiques (âge, sexe, nationalité etc.) des personnes interrogées, n'ont établi aucun lien statistique étroit avec l'exercice de l'activité. Par exemple, l'association entre le niveau d'instruction et le sexe du grossiste ne confère aucun lien entre les deux variables. Il en est de même du niveau d'instruction et de la situation matrimoniale des vendeurs.

Cependant, le fait que les femmes soient majeurs dans la filière, s'explique par le nombre et la nature d'emplois générés (décorticage des graines, leur transformation en aliment et leur distribution).

Quant aux zones de production des cucurbitacées qui arrivent à Brazzaville, le pays semble dépendre de son grand voisin, la république du Congo démocratique, du fait de la fluidité du trafic entre les deux territoires.

Néanmoins, les quatre régions du sud Congo s'efforcent tant bien que mal à approvisionner la ville, en dépit de perturbations récurrentes.

De manière générale, l'approvisionnement des grossistes en graines de courge se fait non sans difficultés. En effet, les produits sont acheminés à Brazzaville par voie fluviale en provenance de la RDC, par route et par voie ferrée pour les produits locaux. Ces différentes voies sont les

lieux de multiples tracasseries et d'arnaques de tous ordres (douane, taxes, péages anarchiques au niveau des barrages routiers, impositions municipales etc.). Dans de telles circonstances, le renouvellement des stocks devient une tâche délicate, demande beaucoup de courage et de persévérance de la part de ceux qui exercent toute activité commerciale.

Pour ce qui est de la rentabilité de l'activité, 75.8% des grossistes sont satisfaits de leurs ventes, tous les détaillants affirment que la vente au détail est plus rentable, malgré la lenteur d'écoulement des produits.

Toutes les personnes interrogées sont unanimes sur la préférence de *Citrullus lanatus* et ensuite de *Lagenaria siceraria*. Les raisons évoquées sont d'ordre organoleptique pour la plupart, la facilité de décorticage des graines pour certains (1.8%). De manière générale, le choix des consommateurs est conditionné par de nombreux critères, tels que la couleur, le prix des graines, la facilité pour certaines espèces à accommoder les plats. Il semble qu'on réussit mieux les boulettes avec *Cucurbita pepo* qu'avec les autres espèces.

L'approvisionnement des vendeurs est déterminé beaucoup plus par la préférence des consommateurs pour certaines espèces de courge que par leur prix.

Par ailleurs, les préférences des consommateurs se traduisent par les modes de préparation des graines. Si les papillotes sont plus consommées en restauration collective qu'en famille, c'est sans nul doute, pour des raisons pratiques (pénibilité de la tâche et temps de cuisson suffisamment long, 2 à 3 heures). Les ménages disposant de peu de temps surtout en semaine, préfèrent cuisiner les graines sous forme de boulettes que sous forme de papillotes.

Il faut noter que les papillotes se conservent mieux que les autres formes de préparation, ce qui est un avantage par rapport au climat.

La population enquêtée n'extrait pas l'huile à partir des graines de cucurbitacées qui pourtant, sont des sources appréciables de matière grasse. Les consommateurs Congolais devraient en être conscients et arriver à changer leurs habitudes alimentaires, vu la dépendance du pays vis-à-vis de l'étranger en matière d'huile.

## Conclusion

L'enquête réalisée étant une enquête de consommation alimentaire, son but a été d'évaluer le comportement alimentaire de la population face à la courge. Elle a permis d'identifier non seulement les principaux bassins de production des cucurbitacées, mais aussi les problèmes inhérents à l'approvisionnement, la commercialisation et la transformation du produit.

Les résultats ont montré que la femme reste la principale actrice dans ce secteur d'activité, en s'impliquant dans la commercialisation et la transformation tant au niveau domestique qu'en restauration collective.

Bien que le Congo ne soit pas grand producteur de la courge, il possède des zones potentielles pouvant suffisamment ravitailler les centres urbains.

Les préférences des consommateurs pour certaines espèces de cucurbitacées méritent d'être corrélées aux caractéristiques chimiques des espèces concernées.

Un autre constat de ce sondage concerne les qualités oléagineuses qui ne sont pas exploitées par les Congolais, ceux-ci ne faisant de la courge qu'un légume (feuilles) ou un ingrédient. Ceci pose le problème des habitudes alimentaires et nous interpelle.

Si certaines populations font des graines de courge une matière oléagineuse et en produisent de l'huile alimentaire, pourquoi les Congolais n'en feraient pas autant. Il s'agit dans ces conditions, de montrer les bienfaits de la consommation d'huile de courge, en mettant en évidence ses qualités nutritionnelles.

D'où l'intérêt d'une étude analytique pour caractériser au mieux la composition lipidique des graines de cucurbitacées, c'est l'objet de la suite de ce travail.

## **DEUXIEME PARTIE**

### **CARACTERISATION CHIMIQUE DE LA FRACTION SAPONIFIABLE**

## **CHAPITRE I**

### **DONNEES BIBLIOGRAPHIQUES**

## I. Les acides gras

Les lipides sont constitués de deux grandes fractions, la fraction saponifiable comprenant des constituants majeurs comme les acylglycérols et les acides gras et la fraction insaponifiable formée des constituants mineurs que sont les stérols ou encore les tocophérols, les pigments etc.

### 1. Structure des acides gras (AG)

Les acides gras naturels non dégradés ne portent qu'un seul groupement carboxyle (COOH), ils sont dits monocarboxyliques. Peu abondants à l'état libre, on les trouve le plus souvent sous forme de triacylglycérols (TAG), d'esters ou encore d'amides. Ils possèdent une chaîne carbonée plus ou moins longue [33].

Les acides gras sont dits saturés lorsqu'ils ne possèdent aucune double liaison dans leur chaîne, ou insaturés lorsqu'ils en portent une (mono-insaturés) ou plusieurs (polyinsaturés : AGPI).

Les acides gras qui entrent dans la constitution des TAG se caractérisent par :

- la longueur de leur chaîne carbonée,
- leur degré d'insaturation,
- la nature leurs isomères (cis, trans ou position des doubles liaisons etc.).

C'est la composition en acides gras d'une huile ou d'une graisse qui lui confère ses propriétés physico-chimiques ainsi que ses qualités nutritionnelles.

Avant de décrire ces différentes caractéristiques, il est important de faire une mise au point sur les différentes nomenclatures employées pour désigner les acides gras.

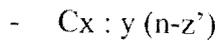
#### 1. 1 Nomenclature des AG

Il y a deux règles de nomenclature :

- la nomenclature normalisée IUPAC,
- la nomenclature dite des biochimistes (la plus couramment utilisée)

Pour cette dernière, le carbone n°1 est le carbone du groupe méthyle, avec deux représentations, soit par « n », soit par « ω », ainsi on a :

Représentation par « n »



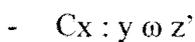
x : nombre de carbone

y : nombre de double liaisons

z' : position de la 1<sup>ère</sup> double liaison à partir du groupe méthyle

Exemple: C<sub>18</sub> : 3 (n-3)

Représentation par « ω »



x : nombre de carbone

y : nombre de double liaisons

z' : position de la 1<sup>ère</sup> double liaison à partir du groupe méthyle

Exemple: C<sub>18</sub> :3 ω 3 (qui correspond à C<sub>18</sub> : 3 (n-3))

Pour notre part, c'est la représentation des biochimistes par « n » qui sera utilisée dans ce document.

## 1. 2 La longueur de la chaîne carbonée des acides gras

Généralement, les chaînes alkyles sont linéaires et non ramifiées. Dans la nature le nombre d'atomes de carbone est presque toujours pair, il varie de 4 à 24, ainsi on peut avoir des :

- AG à courte chaîne (nombre d'atomes de carbone ≤ 6),
- AG à chaîne moyenne (nombre d'atomes de carbone > 6 et <14),
- AG à longue chaîne (nombre d'atomes de carbone ≥14).

Dans quelques cas rares, ces chaînes alkyles peuvent être à nombre impair de carbone, ramifiées, possédant des cycles saturés à la place de doubles liaisons, une triple liaison ou une fonctionnalisation [33].

Les appellations communes et les formules chimiques des principaux acides gras sont consignées dans le tableau XXII.

Tableau XXII: Nomenclature des acides gras

**Appellations communes et formules simplifiées  
des principaux acides gras.**

Formule simplifiée	Appellation commune	Dénomination chimique
4:0	Butyrique	Butanoïque
6:0	Caproïque	Hexanoïque
8:0	Caprylique	Octanoïque
10:0	Caprique	Décanoïque
10:1	Caproléique	Décénoïque
12:0	Laurique	Dodécanoïque
12:1	Lauroléique	Dodécénoïque
13:0	---	Tridécanoïque
13:0 iso	---	11-méthyl dodécanoïque
14:0	Myristique	Tétradécanoïque
14:0 iso	Isomyristique	12-méthyl tridécanoïque
14:1	Myristoléique	Tétradécénoïque
15:0	---	Pentadécanoïque
15:0 iso	---	13-méthyl tétradécanoïque
15:0 anteiso	---	12-méthyl tétradécanoïque
16:0	Palmitique	Hexadécanoïque
16:0 iso	Isopalmitique	14-méthyl pentadécanoïque
16:0 anteiso	---	13-méthyl pentadécanoïque
16:1 n-7 cis	Palmitoléique	Cis-9-hexadécénoïque
16:1 n-7 trans	Palmitélaïdique	Trans-9-hexadécénoïque
17:0	Margarique	Heptadécanoïque
17:0 iso	Isomargarique	15-méthyl hexadécénoïque
17:0 anteiso	---	14-méthyl hexadécénoïque
18:0	Stéarique	Octadécanoïque
18:0 iso	Isostéarique	16-méthyl heptadécénoïque
18:0 anteiso	---	15-méthyl heptadécénoïque
18:0,OH n-9 n-10	Dihydroxystéarique	9,11 dihydroxyoctadécénoïque
18:1 n-9 cis	Oléique	9-octadécénoïque
18:1 n-9 trans	Elaïdique	Trans 9-octadécénoïque
18:1 n-7 cis	Cis-vaccénique	Cis-11 octadécénoïque
18:1 n-7 trans	Trans vaccénique	Trans-11 octadécénoïque
18:1,OH n-7	Ricinoléique	11-hydroxy, 9-octadécénoïque
18:2 n-6	Linoléique	9,12 octadécadiénoïque
18:3 n-6	Gamma-linolénique	6,9,12 octadécatriénoïque
18:3 n-3	Alpha-linolénique	9,12,15 octadécatriénoïque
18:4 n-3	Stéradonique	6,9,12,15 octadécatétraénoïque
19:0	---	Nonadécénoïque
20:0	Arachidique	Eicosanoïque
20:1 n-9	Gadoléique	11-eicosénoïque
20:2 n-6	---	11,14 eicosadiénoïque
20:3 n-9	---	5,8,11 eicosatriénoïque
20:3 n-6	Dihomo-gamma-linolénique	9,11,14 eicosatriénoïque
20:3n-3	Dihomo-alpha-linolénique	11,14,17 eicosatriénoïque
20:4 n-6	Arachidonique	5,8,11,14 eicosatétrénoïque
20:5 n-3	Timmodonique	5,8,11,14,17 eicosapentaénoïque
22:0	Béhénique	Docosanoïque
22:1 n-9 cis	Erucique	Cis-13-docosénoïque
22:1 n-9 trans	Brassidique	Trans-13-docosénoïque
22:1 n-11	Cétoléique	11-docosénoïque
22:4 n-6	---	7,10,13,16 docosatétrénoïque
22:5 n-6	---	4,7,10,13,16 docosapentaénoïque
22:5 n-3	---	7,10,13,16,19 docosapentaénoïque
22:6 n-3	---	7,10,13,16,19 docosahexaénoïque
24:0	Lignocérique	Tétracosanoïque
24:1 n-9	Nervonique	15-tétracosénoïque

Pour le 22 :6 n-3, il manque une double liaison en position 4, aussi, la dénomination chimique doit être : 4, 7, 10, 13, 16, 19, docosahexaénoïque (DHA).

### 1.3 Degré d'insaturation

On définit l'insaturation par le nombre de doubles liaisons éthyléniques situées sur la chaîne carbonée d'un acide gras. A l'état naturel, on peut trouver jusqu'à six doubles liaisons. Les doubles liaisons sont généralement séparées par un groupement  $-CH_2$ , et sont principalement en configuration cis (Z), on a alors des acides gras polyinsaturés alternés (AGPI). Il existe cependant des exceptions : des chaînes à nombre impair de carbone tel que l'acide heptadécanoïque, des doubles liaisons en configuration trans (E) ou des chaînes possédant des insaturations conjuguées, c'est le cas des AG polyinsaturés conjugués (AGPIC) tels que par exemple l'acide éléostéarique (Z9, E11, E13 : C18 :3) et l'acide ruménique (Z9, E11 : C18 :2) [33].

### 1.4 Degré d'isomérisation

L'isomérisation ne concerne que les AG ayant au moins une double liaison. Il en existe de plusieurs types :

- l'isomérisation géométrique qui est définie par la position des chaînes carbonées par rapport aux doubles liaisons (isomérisation de configuration). On a ainsi les isomères « cis » (Z) et « trans » (E).

A l'état naturel, les AG d'origine végétale sont tous de forme cis, les isomères trans apparaissent par exemple lors de la fabrication de margarine ou des pâtes à tartiner obtenues à partir des huiles végétales riches en AG poly insaturés qui s'hydrolysent. Les formes trans se rencontrent dans les produits laitiers, les graisses des ruminants renfermant naturellement 2 à 5 % d'AG trans [34].

- l'isomérisation de position qui est déterminée par la présence et la position des doubles liaisons conjuguées ou non sur la chaîne carbonée, d'où l'existence des acides gras conjugués. La principale source alimentaire d'acides gras conjugués est la matière grasse du lait et la viande de ruminants [34].

## 1. 5 Positionnement des acides gras sur le glycérol

La digestion des TAG génère trois classes de composés: les diglycérides, les monoglycérides et les acides gras libres, dont la proportion et la cinétique de libération est fonction de leur nature et de leur répartition sur le glycérol.

La position des AG sur les trois fonctions alcool de la molécule du glycérol est symbolisée par le sigle « sn ». En effet, la stéréochimie des TAG est décrite par le système de numérotation stéréospécifique ou sn : stereospecific numbering adopté par la commission mixte de nomenclature IUPAC-IUB [35]. Cette numérotation permet de préciser sans ambiguïté la structure des isomères de position et des isomères optiques. Les atomes de carbone (C) du glycérol étant numérotés de 1 à 3 en projection de Fischer, le deuxième groupement hydroxyle du glycérol se retrouve à gauche de C-2. L'atome de carbone placé au-dessus de C-2 devient le C-1 et celui disposé au-dessous de C-2 devient C-3. Ainsi les acides gras selon leur disposition sur le glycérol, peuvent être désignés par sn-1, sn-2 et sn-3. De cette façon, une seule espèce de molécule est identifiée en spécifiant par ordre, les positions sn-1, sn-2 et sn-3 [36, 37].

On parlera alors de la position sn-2 (position interne ou centrale) et des positions sn-1, sn-3 (positions externes) des acides gras sur le glycérol.

## 2. Propriétés des acides gras

Le volume hydrocarboné, l'insaturation, l'isomérisation et la stéréochimie des AG leur confèrent naturellement des propriétés physiques, chimiques, spectroscopiques, physiologiques et nutritionnelles.

Le degré d'insaturation d'un AG conditionne la réactivité chimique de la molécule, sa stabilité (zone de fragilité), en sorte que les AG insaturés surtout les AGPI sont très sensibles aux phénomènes de peroxydase en présence de l'oxygène de l'air et des UV. Certes, à haute température de cuisson, tout AG peut s'isomériser, se cycliser et/ou se polymériser, mais les AG polyinsaturés sont particulièrement sensibles à ce phénomène [33]. Aussi, les huiles riches en AG poly insaturés (nombre de doubles liaisons  $\geq 3$ ) ne sont pas des huiles de friture, mais d'assaisonnement. Cependant, lorsque le nombre d'insaturation n'est pas trop grand ( $n \leq 3$ ), ceci n'est pas une règle absolue. Les huiles riches en acide linoléique (18 :3 (n-3))

peuvent être utilisées pour des fritures à plat (poêle) non répétées, car la température de friture ne dépasse pas 250°C [37].

La connaissance de la distribution régiospécifique des acides gras sur la chaîne du glycérol, de même que leur caractérisation est nécessaire pour aborder les problèmes nutritionnels.

Elle implique des méthodes comme l'hydrolyse enzymatique, la dégradation chimique, la RMN du  $^{15}\text{C}$  [38-44], la chromatographie en phase liquide d'argentation [45] et depuis peu le couplage HPLC/MS [46, 47].

La répartition des AG sur les trois fonctions alcool de la molécule du glycérol entre la position sn-2 et les positions sn-1, sn-3, ne répond pas à une loi statistique. Elle détermine la structure des TAG et influence le devenir des AG à l'étape digestive, entérocytaire et post-entérocytaire. Différents travaux [48, 49] ont montré l'importance particulière de la nature des acides gras en position sn-2 au cours de leur absorption et de leur assimilation, et à terme leur impact sur la santé du consommateur.

### 3. Absorption et distribution des acides gras alimentaires

Les propriétés physiques, chimiques et physiologiques des lipides leur confèrent une importance majeure en nutrition humaine. Le fait que les lipides soient solubles dans les solvants organiques et insolubles dans l'eau, conditionne leur digestion, absorption, leur transport dans le sang et leur métabolisme au niveau cellulaire.

Les triacylglycérols ingérés sont hydrolysés dans l'estomac par la lipase gastrique en diglycérides et en acides gras libres [50]. Dans l'intestin, la lipase pancréatique assure le clivage des liaisons sn-1 et sn-3, en produisant des monoglycérides sn-2 et des acides gras libres.

Dans les entérocytes, alors que les acides gras à chaînes courtes et moyennes relativement hydrosolubles sont déversés dans le sang par simple diffusion, les acides gras et les monoglycérides à longue chaîne reconstituent les triacylglycérols.

En plus de la longueur de la chaîne carbonée, le nombre de doubles liaisons des acides gras influence aussi leur digestion, absorption et leur métabolisation. Les acides gras à courte et moyennes chaînes sont mieux absorbés que ceux à longue chaîne. La plus grande partie des acides gras saturés à longue chaîne est transportée aux cellules par la voie lymphatique [51].

S'agissant de l'acide palmitique (C16 :0), celui-ci n'est pas aussi bien absorbé que les autres acides gras libres. Ceci est le fait de son point de fusion qui est substantiellement voisin de la température corporelle et d'une forte tendance à former des savons de calcium insolubles avec des cations divalents, au pH alcalin du suc intestinal.

Les acides gras comme tous les autres nutriments doivent être disponibles simultanément dans l'organisme tant quantitativement que qualitativement pour une meilleure assimilation, d'où l'importance de la notion de biodisponibilité des nutriments.

#### 4. Biodisponibilité des acides gras

La biodisponibilité d'un nutriment traduit sa présence quantitative et qualitative sur le lieu d'utilisation, donc dans la cellule.

Par conséquent, la biodisponibilité d'un acide gras ne dépend pas uniquement de sa teneur au sein des triacylglycérols ingérés, mais également de sa distribution entre les positions sn-2 et sn-1, sn-3 du squelette glycérol. La position sn-2 est particulière, on estime que les AGPI tels que C18 : 2 (n- 6) et C18 : 3 (n- 3) ont un rôle clé dans le métabolisme des TAG et/ou la synthèse des phospholipides, ce qui à terme influence le turn-over des lipoprotéines [52].

Il a été montré [48] que le caractère athérogène de l'acide palmitique est plus important lorsqu'il est situé en position sn-2 des TAG alimentaires. C'est en effet, cette position qui d'une part, lui assure le coefficient d'absorption maximum et, d'autre part, lui permet de se maintenir dans cette position dans les lipides plasmatiques, ce qui contribuerait à augmenter son athérogénicité.

Concernant l'acide alpha linoléique (18 : 3 (n-3)), il subit une oxydation très rapide in vivo, c'est en se maintenant en position sn-2 qu'il pourrait être protégé contre une dégradation par oxydation précoce, préjudiciable à sa fonction de précurseur d'acides gras essentiels.

Quant à la biodisponibilité de l'acide linoléique comme précurseur d'acides gras essentiels, celle-ci serait corrélée aux proportions de cet acide en position sn-2 dans les TAG.

Généralement, la biodisponibilité des AGPI à longue chaîne est fonction de leur digestibilité qui elle-même dépend de la position des AGPI sur le glycérol. Leur digestibilité est bien meilleure en position sn-2 mais médiocre en positions sn-1 et sn-3, d'où l'intérêt qu'ils restent

en sn-2 dans les aliments. Leur origine est soit endogène, soit exogène, certains AGPI peuvent être synthétisés par l'organisme, mais d'autres non.

## 5. Biosynthèse des AGPI

Physiologiquement, les acides gras polyinsaturés présentent un caractère particulier à cause de leur diversité d'actions dans l'organisme.

Ils sont représentés par quatre familles biologiques d'acides gras insaturés, non interconvertibles chez l'animal.

On a d'une part, deux familles d'acides non essentiels qui sont :

- la famille oléique ou la famille en n-9
- la famille palmitoléique ou la famille en n-7

Les précurseurs de ces deux familles (les acides oléique et palmitoléique) peuvent être de source endogène ou exogène.

Il y a d'autre part, deux familles d'acides gras essentiels représentées par :

- la famille linoléique ou la famille en n-6
- la famille linolénique ou la famille en n-3

Les acides linoléique et linolénique qui en sont les précurseurs, sont d'origine exclusivement exogène, et doivent faire quotidiennement l'objet d'un apport alimentaire adéquat.

La biosynthèse des AGPI est un processus très complexe, comprenant des étapes successives d'élongation de chaîne par deux atomes de carbone et de désaturation d'acide gras, grâce à l'action des  $\Delta$  désaturases. Ce qui explique que les AG possèdent en général un nombre de carbone pair.

Par le schéma ci-dessous, J.P. Blond [53] montre les différentes étapes de ce mécanisme chez l'homme. Ces réactions se déroulent vers l'extrémité carboxyle ( $-\text{COOH}$ ), de sorte qu'un acide gras d'une famille ne peut être transformé qu'en acide gras plus insaturé ou plus long de cette même famille.

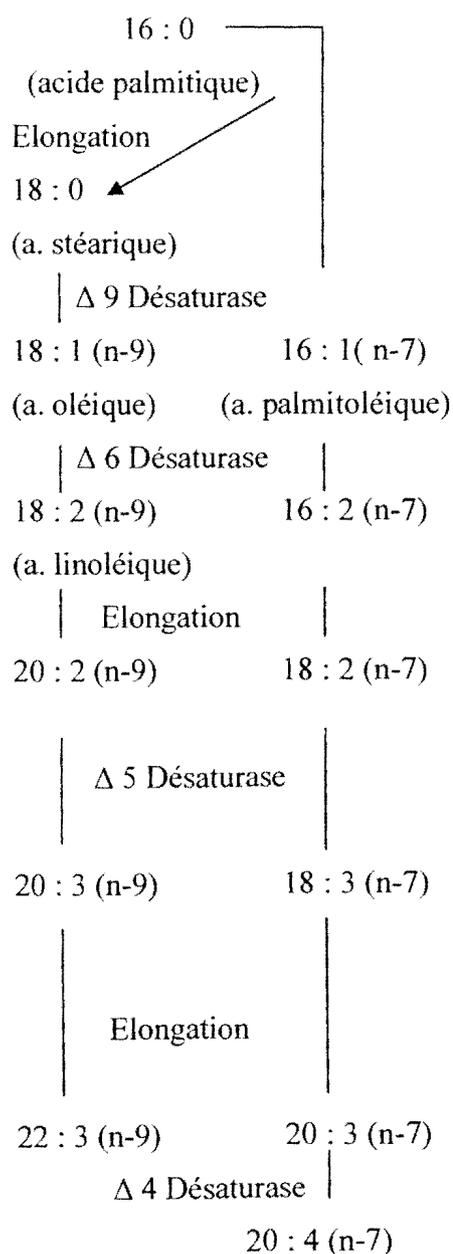
Les quatre précurseurs sont les substrats de la même enzyme, la  $\Delta 6$  Désaturase [48, 49].

Il est à noter qu'on qualifie d'essentiel, tout nutriment qui remplit une fonction biologique obligatoire pour l'existence, tel par exemple la croissance ou la reproduction de l'individu, qu'il soit synthétisé ou non par l'organisme. Par nutriment indispensable ils qualifient tout nutriment dont notre patrimoine génétique ne permet plus la synthèse en quantité suffisante pour couvrir les besoins de l'organisme.

En ce qui nous concerne le terme d'acide gras essentiel (AGE), il sera utilisé pour désigner tout acide gras ou tout autre nutriment non synthétisé par l'organisme et devant en conséquence, être apporté exclusivement par l'alimentation.

La figure 9 montre les voies de biosynthèse des acides gras polyinsaturés chez l'homme.

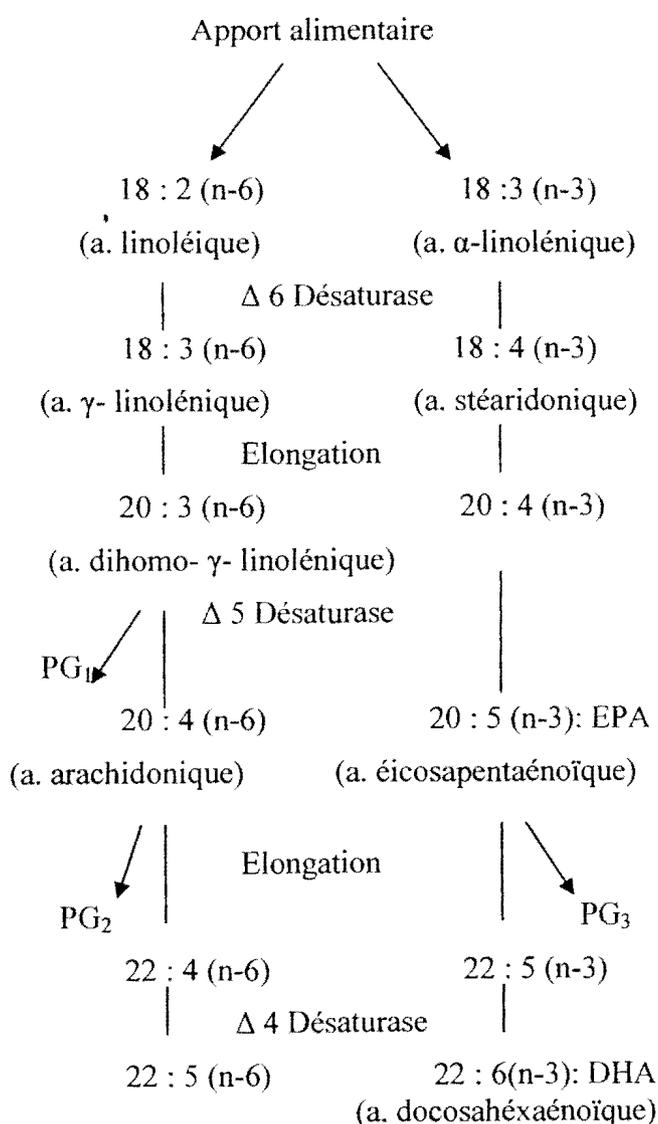
Deux familles des AG non essentiels



Famille en n-9  
"oléique"

Famille en n-7  
"palmitoléique"

Deux familles des AGE



Famille en n-6  
"linoléique"

Famille en n-3  
"linoléique"

PG1 : prostaglandines de série 1

PG2 : prostaglandines de série 2

PG3 : prostaglandines de série 3

Figure 9 : Biosynthèse des AGPI chez l'homme [53]

## 6. Rôles physiologiques des AG

De façon générale, les lipides sont des substrats énergétiques, car leur oxydation fournit de l'énergie nécessaire au fonctionnement des organes. Ils rentrent aussi dans la constitution de la structure des membranes cellulaires et assurent pour la plupart, des fonctions vitales de l'organisme. Ces rôles peuvent être répartis en trois catégories :

- rôle énergétique,
- rôle structural,
- rôle fonctionnel.

### 6. 1 Rôle énergétique

Dans l'organisme, les acides gras absorbés sont mis en réserve dans le tissu adipeux qui est formé essentiellement des TAG, donc des AG non libres mais réestérifiés. Grâce au phénomène oxydatif, les acides gras saturés assurent la grande partie de la dépense énergétique de l'organisme. Ils constituent des substrats énergétiques particulièrement pour les muscles squelettiques, le muscle cardiaque et le foie. Les acides gras saturés à longue chaîne ont mauvaise réputation, on pensait jusque là qu'ils augmentaient la cholestérolémie, alors que les polyinsaturés la baissaient. C. Loison et al. [54] font état de deux approches qui s'opposent actuellement à propos des effets des acides gras alimentaires sur le métabolisme du cholestérol et particulièrement sur celui des lipoprotéines de basse densité (LDL).

Certains estiment qu'en l'absence de cholestérol alimentaire, deux acides gras, principalement le C18 : 2 (n-6) et le C14 : 0, modulent le profil lipidique. L'acide myristique (C14 : 0) augmenterait le cholestérol plasmatique de façon dose-dépendante et l'acide linoléique le diminuerait jusqu'à un seuil qui correspond à un apport de 18 : 2 avoisinant 4 à 6 % de la ration énergétique totale.

D'autres par contre pensent que les acides gras les plus hypercholestérolémiques seraient dans l'ordre: l'acide myristique (C14 : 0), l'acide palmitique (C16 : 0) et enfin l'acide laurique (C 12: 0). L'effet de ces acides gras s'expliquerait principalement par une diminution de l'activité du LDL récepteur, associé ou non à une augmentation de la synthèse de LDL-cholestérol [54]. Ces auteurs font remarquer que la plupart des expériences antérieures ont été faites à des doses bien au-delà des consommations habituelles (20% ou plus de l'apport total)

et les travaux actuels visent à tester l'impact de l'acide myristique sur le métabolisme lipidique dans les conditions plus physiologiques que par le passé.

En effet, cet acide semble « indispensable » à l'organisme puisque de nombreuses protéines doivent lui être associées pour jouer leurs rôles biologiques. De plus, c'est un composant non négligeable (9% des acides gras, soit 3 à 4% de la valeur énergétique totale) du lait maternel qui est tout de même un aliment sain.

Les mêmes auteurs concluent que l'acide myristique, lorsqu'il est évidemment en excès dans l'alimentation, est à l'origine de l'augmentation de la cholestérolémie aussi bien chez l'homme que chez l'animal.

Il s'agit à l'évidence d'une notion de zone physiologique ou de zone de sécurité de l'acide myristique, tout autant de l'acide oléique ou des acides polyinsaturés. Cette notion tient compte de limites de sécurité dans l'apport alimentaire correspondant aux doses minimale et maximale sans effet néfaste. En effet, toute substance nutritive pour être efficace doit être apportée à l'organisme proportionnellement à ses besoins.

Le pouvoir hypercholestérolémiant de l'acide palmitique provient de son aptitude à former des LDL avec le cholestérol qui est à l'origine des plaques d'athérome, ce qui lui vaut l'appellation de « mauvais cholestérol ».

Quant à l'acide stéarique, une fois absorbé il se désature très rapidement pour se transformer en acide oléique, dont le rôle est d'abaisser le taux de cholestérol total et celui des LDL. L'acide oléique contribue également à élever la teneur en cholestérol-HDL (lipoprotéines de haute densité), qualifié de « bon cholestérol » car il débarrasse le courant sanguin de cholestérol-LDL.

Les lipoprotéines HDL, VHDL et autres seront traités plus loin avec les triacylglycérols.

## 6.2 Rôle structural

Les lipides par la présence des phospholipides contribuent à l'architecture des membranes cellulaires. La composition en acides gras des phospholipides régule la fluidité membranaire. Cette composition est influencée par la disponibilité des AG dans le milieu extra-cellulaire, elle-même dépendante des apports alimentaires en lipides.

L'acide linoléique (C18 : 2 (n-6)) est nécessaire à l'étanchéité de la barrière épidermique qui doit normalement s'opposer à l'extrusion de l'eau. En conséquence, une carence d'apport en

C18 : 2 (n-6) se traduit par des troubles cutanés (parkérose) et une perte hydrique très importante.

Signalons que les principaux AGPI des familles n-6 et n-3 respectivement l'acide docosahexaénoïque (DHA) C20 :6 (n-3) et l'acide arachidonique C20 :4 (n-6) entrent dans la constitution des membranes du cerveau et de la rétine. Effectivement, le cerveau juste après le tissu adipeux, est l'organe qui présente la plus forte concentration en lipides, les acides gras polyinsaturés étant ceux des familles n-6 et n-3 [55].

### 6.3 Rôle fonctionnel

Au-delà de leurs effets structuraux, les AGPI notamment les AGE sont impliqués dans le bon déroulement des fonctions vitales de l'organisme.

En effet, les deux précurseurs d'AGE (C18 : 2 (n-6) et C18 : 3 (n-3)) interviennent dans les processus de reproduction et de croissance, dans la formation des cellules (C18 : 3 (n-3)) et dans l'intégrité de la peau. Ils régulent les fonctions rénales, vasculaires et l'agrégation des plaquettes, de même ils interviennent dans les réactions inflammatoires, immunitaires et allergiques.

Les rôles des AGE en n-6 et n-3 sont bien connus dans les phénomènes aussi fondamentaux que la régulation de la pression artérielle et de la transmission nerveuse. Ils assurent la modulation de l'expression des gènes et le bon équilibre du système nerveux central, par le biais de leurs substances de synthèse que sont les eicosanoïdes tels que les prostaglandines (PG ou PGE), les thromboxanes et les leucotriènes [49].

Les PG régulent l'équilibre cardiovasculaire par une action simultanée et antagoniste des prostaglandines de série 2 (PG<sub>2</sub>) issus des AG n-6 et des prostaglandines de série 3 (PG<sub>3</sub>) issus des AG n-3. En effet, la PG<sub>2</sub> a une action vasoconstrictrice et favorise l'agrégation des plaquettes, elle joue ainsi un rôle antihémorragique. A l'inverse, la PG<sub>3</sub> stimule la vasodilatation et fluidifie le sang. On se rend bien compte de la complémentarité indispensable de leurs précurseurs qui, par ailleurs, doivent être apportés dans des proportions tout à fait précises.

Finalement, les acides gras saturés en s'oxydant, fournissent l'énergie nécessaire au métabolisme cellulaire, alors que les acides insaturés, constituants architecturaux

indispensables aux membranes cellulaires, tout en assurant l'intégrité membranaire, réalisent des fonctions biologiques spécifiques.

## 7. Besoins et apports en acides gras

La lecture des tables de recommandations nutritionnelles pose un problème de terminologie. Selon l'approche américaine, les apports nutritionnels recommandés correspondent aux niveaux de consommation des nutriments, qui sur la base des connaissances scientifiques, sont estimés capables de satisfaire les besoins nutritionnels connus de presque tous les individus en bonne santé [56].

En France, on parle d'apports nutritionnels conseillés (ANC) qui sont des valeurs choisies par un groupe d'experts français qui tiennent compte, non seulement des données scientifiques concernant les besoins nutritionnels, mais aussi des motivations et des habitudes alimentaires des personnes concernées, dans la mesure où ces habitudes ne sont pas nuisibles à la santé [56]. Les ANC doivent être définis comme des marges de sécurité entre apports minimaux acceptables et apports maximaux tolérables. Ils doivent permettre une adaptabilité individuelle maximale, le plus longtemps possible dans n'importe quelle situation [56].

Au Royaume Uni par contre, on parle de valeurs nutritionnelles de référence [56].

En somme, il s'agit de recommandations qui ne s'appliquent pas à un individu, mais à des populations de sexe et d'âge définis, en prenant en compte la variation interindividuelle des besoins nutritionnels. Cette prise en compte est réalisée de manière relativement arbitraire, de sorte qu'aux besoins nutritionnels moyens, on ajoute 2 écarts types représentant le plus souvent chacun 15% de la moyenne qui est la marge de sécurité statistique. Ceci permet de prendre en compte la variabilité interindividuelle et de couvrir les besoins de la plus grande partie de la population, soit 97,5% des individus. Cela suppose que la distribution des valeurs des besoins de cette population relativement homogène suit une loi normale. C'est cette valeur qui constitue l'apport quotidien recommandé. A l'évidence, ces apports diffèrent selon les pays et les organismes de nutrition [57-59].

En France, dans un régime alimentaire équilibré, l'apport énergétique journalier devrait être constitué théoriquement de 30 à 35 % de lipides pour des besoins énergétiques quotidiens de 2500 Kcal [60].

Les lipides alimentaires sont apportés sous forme de triacylglycérols à raison de 100 à 150 g par jour. La part d'acides gras saturés ne doit pas excéder celle des insaturés, sachant que l'apport des saturés se limite à 8% des calories totales. Les ingestions quotidiennes conseillées en acide oléique chez un adulte, se situent selon les pays entre 12 et 20 % de l'énergie totale ingérée [56].

Quant aux acides gras essentiels, ceux-ci doivent être apportés dans un rapport de 1/5, c'est à dire que l'apport de l'acide linoléique doit être 5 fois supérieur à celui de l'acide linoléique.

Le tableau ci-après indique à différents stades physiologiques, les apports conseillés en acides gras essentiels en France.

Tableau XXIII : Apports conseillés en acides gras essentiels (en % du contenu énergétique (% du CE) et en g/jour) [56]

Catégories	Acide linoléique C18 :2 n-6	Acide $\alpha$ -linoléique C18 :3 n-3	Rapport n-6 /n-3 C18 :2 n-6/C18: 3n-3
Enfants et adultes (% du CE)	3 à 6	0.5 à 1	4 à 10
Adultes (g/jour)	8.5 à 17	1.4 à 2.8	
Femmes enceintes ou allaitantes (% du CE)	4.5 à 6	0.7 à 1.2	
Personnes âgées (g/jour)	5 à 8	0.7 à 1.2	

On estime en général que le rapport d'acide gras en n-6 / n-3 dans l'alimentation occidentale se situe entre 10 et 30, alors qu'il devrait idéalement être entre 1 et 4. Cette situation est préjudiciable à la santé, car l'excès d'acide en n-6 empêche l'assimilation optimale des acides n-3. Il existe en effet, une compétition entre ces deux précurseurs d'acides gras essentiels,

étant entendu qu'ils utilisent les mêmes enzymes, vitamines et minéraux, pour leur biosynthèse. La surconsommation de l'un ou de l'autre, freine le métabolisme du plus faiblement représenté. Ce déséquilibre induit, entre autre, un état physiologique propice aux maladies cardio-vasculaires, troubles allergiques, inflammatoires ; tout en prédisposant l'organisme à bien d'autres pathologies. C'est pourquoi, il est recommandé de respecter un juste équilibre dans la ration alimentaire.

Le renouvellement des acides gras dans le tissu adipeux étant lent, tout déséquilibre des apports entraîne leur mise en réserve sous forme de TAG dans ce tissu avec un coût énergétique de stockage très faible (3% de la valeur énergétique des lipides).

Dans les conditions habituelles d'alimentation, la néolipogénèse (nouvelle synthèse des AG dans l'organisme) ne contribue pas à la mise en réserve d'énergie, aussi le profil des acides gras du tissu adipeux n'est que le reflet des AG ingérés.

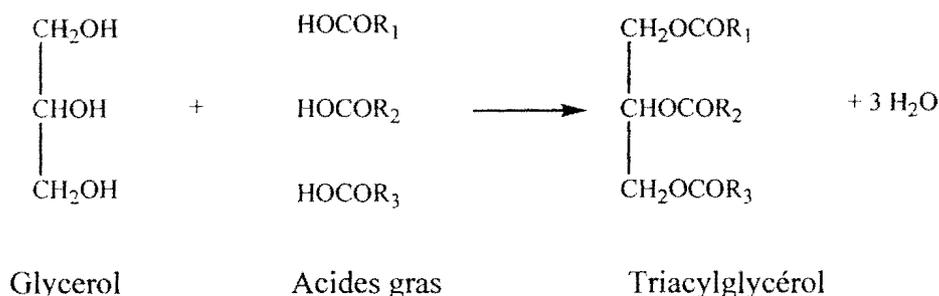
## II. Les acylglycérols

Les lipides alimentaires sont ingérés à 95-98% sous forme de triacylglycérols (TAG) appelés aussi couramment triglycérides TGs, d'où l'intérêt d'en faire une revue succincte avant leur étude analytique.

### 1. Structure des TAG

Les triacylglycérols faisant partie de la famille des acylglycérols ou lipides neutres, sont les produits d'estérification des fonctions alcool du glycérol par différents acides gras.

Les triacylglycérols sont composés d'une molécule de glycérol dont les trois fonctions alcool sont estérifiées par trois acides gras qui peuvent être semblables ou différents.



Si les trois acides gras sont identiques, c'est à dire:  $R_1=R_2=R_3$ , on a des «triacylglycérols homogènes», qui par convention, sont représentés par :  $R_1R_1R_1$ .

Exemple  $R_1$ = acide linoléique,  $R_1R_1R_1$  sera noté LLL.

Si par contre les trois acides gras sont différents de telle sorte que  $R_1 \neq R_2$ ,  $R_1 \neq R_3$ , et  $R_2 \neq R_3$ , ou bien, deux sont identiques et un différent :  $R_1 = R_2 \neq R_3$ , on a alors des « triacylglycérols mixtes », représentés respectivement par  $R_1R_2R_3$  et  $R_1R_1R_3$  [33].

Par ailleurs, si un des groupements alkyles ( $R_1$ ,  $R_2$  ou  $R_3$ ) possède une ou plusieurs doubles liaisons, les triacylglycérols sont dits insaturés, sinon ce sont des triacylglycérols saturés.

Les TAG se caractérisent par le nombre total de carbone (CN) de chacune des trois chaînes, leur degré d'insaturation, la position et la configuration de leurs doubles liaisons. C'est ainsi qu'on assiste à une grande diversité de triacylglycérols isomères, tels que les isomères de position, les isomères géométriques et les isomères optiques.

Toutes les propriétés chimiques et physiques des isomères optiques sont identiques, ou très proches, de telle sorte que leur identification et leur séparation sont extrêmement délicates et requièrent des techniques très performantes. Aussi, l'analyse de la composition d'une huile en TAG est un véritable défi.

Le tableau XXIV met évidence le nombre d'isomères possibles de TAG d'une huile renfermant n acides gras. Il donne le nombre maximum d'isomères obtenus par calcul à partir de leur abondance en acides gras, elle-même obtenue par analyse quantitative après transestérification d'une huile.

Tableau XXIV : Nombre de triacylglycérols d'une matière grasse contenant n acides gras différents

Nombre d'acides gras n	Nombre de triacylglycérols (TAG)		
	Sans distinction des isomères de position $(n^3+3n^2+2n)/6$	Sans distinction des isomères optiques $(n^3+n^2)/2$	En comptant tous les isomères $n^3$
1	1	1	1
2	4	6	8
3	10	18	27
4	20	40	64
5	35	75	125
10	220	550	1000

Pour accéder à la composition en triacylglycérols, il faut alors utiliser des méthodes statistiques basées sur une distribution aléatoire des acides gras sur les trois chaînes d'un triacylglycérol, de telle manière, la composition serait donnée par les équations suivantes [61].

$$\% \text{ stat } [R_1R_1R_1] = (\% R_1)^3 \cdot 10^{-4}$$

$$\% \text{ stat } [R_1R_1R_2] = [(\% R_1)^2 \cdot (\% R_2)] \cdot 3 \cdot 10^{-4}$$

$$\% \text{ stat } [R_1R_2R_3] = [(\% R_1) (\% R_2) (\% R_3)] \cdot 6 \cdot 10^{-4}$$

Ces résultats permettent d'établir des corrélations avec les résultats expérimentaux et d'affiner ainsi l'identification en sachant toutefois qu'il peut y avoir des cas où la répartition naturelle

ne suit pas cette distribution au hasard, principalement à cause des processus de biosynthèse spécifiques propres à chaque espèce [62, 63].

## 2. Absorption et distribution des TAG

La digestion des triacylglycérols nécessite l'action de la lipase pancréatique qui hydrolyse les liaisons esters en libérant des acides gras (AG), des diacylglycérols (DG) et des monoacylglycérols (MG). C'est souvent sous la forme monoglycéridique que les TAG sont absorbés par les entérocytes, avant leur reconstitution. Ainsi, les TAG néosynthétisés sont incorporés par les lipoprotéines appelées « chylomicrons » qui les transportent au foie à travers le courant sanguin. C'est pourquoi, la régiospécificité des TAG influence largement la taille des chylomicrons et aussi le métabolisme du cholestérol-ester et des AG polyinsaturés [64].

La consommation des TAG à C16:0 principalement en position sn-2 a mis en évidence l'importance du positionnement des AG sur le glycérol et de la substitution en position sn-2 des TAG sur l'absorption des graisses aussi bien chez les animaux d'expérimentation que chez les nouveaux nés [65].

La distribution des acides gras sur le glycérol détermine leur absorption soit en 2-monoglycérides (2-MG) ou comme acides gras libres. Elle influence par conséquent, la composition des chylomicrons, car les TAG sont résynthétisés dans la muqueuse intestinale en utilisant les 2-MG alimentaires. Généralement, c'est l'absorption des acides gras libres (AGL) en position sn-2 qui est favorisée, vu le peu de spécificité des AG en positions sn-1 et sn-3 [64]. De plus, les acides gras polyinsaturés sous la forme TAG ou phospholipides (PL), affectent différemment la composition des lipoprotéines HDL (high density lipoproteins) et des LDL (low density lipoproteins) [64].

En effet, en phase absorptive, les entérocytes sécrètent des chylomicrons, qui sont en fait des lipoprotéines constituées majoritairement de TAG, des phospholipides à faible proportion, du cholestérol et un peu de protéines. Les chylomicrons sont la forme de transport de l'intestin au foie pour les triacylglycérols néosynthétisés, en empruntant successivement la voie lymphatique puis la voie sanguine.

Les cellules hépatiques sécrètent en permanence de nouvelles lipoprotéines à partir des TAG endogènes qui en fonction de leur taille, de leur contenu et de leur densité, se répartissent en

quatre types de lipoprotéines impliquées dans le transport des acides gras à longue chaîne, il s'agit par diamètre décroissant de :

- chylomicrons formés essentiellement de TAG d'origine exogène
- VLDL: very low density lipoproteins, ils transportent les TAG lymphatiques et hépatiques vers les tissus.
- LDL: low density lipoproteins provenant de l'hydrolyse des VLDL, assurent le transport du cholestérol estérifié, du foie aux autres tissus, dont l'accumulation à travers les parois artérielles provoque les plaques d'athérome.
- HDL : high density lipoproteins, captent le cholestérol au niveau de la paroi artérielle et favorisent ainsi le transport de l'excès du cholestérol sanguin en le ramenant au foie pour la synthèse des sels biliaires, où il est excrété dans la bile.

Le tableau suivant montre la composition des lipoprotéines plasmatiques.

Tableau XXV : Composition des différents types de vésicules de lipoprotéines du plasma sanguin (%)

Lipoprotéines	Chylomicrons	VLDL	LDL	HDL
Triacylglycérols	86	53	6	4
cholestérol-esters	3	12	42	15
cholestérol	2	7	8	4
phospholipides	7	18	22	30
protéines	2	8	6	47
diamètre (nm)	80-500	env.50	env.20	env.10

Les acides gras libérés après hydrolyse des chylomicrons et des différentes lipoprotéines, sont utilisés par les tissus comme éléments énergétiques ou mis en réserve dans les adipocytes après recombinaison en TAG.

### 3. Biosynthèse des TAG

Il existe en effet plusieurs voies de biosynthèse de triacylglycérols, la principale étant celle de l'alpha-glycérol phosphate (sn-glycérol-3-phosphate). Elle commence par l'acylation du sn-

glycérol-3-phosphate en positions sn-1 et sn-2 grâce aux transférases spécifiques pour former l'acide phosphatidique, précurseur des phospholipides et des triacylglycérols [66, 67]. Une phosphatase hydrolyse le groupement phosphate et le résidu 1,2-diacyl-sn-glycérol est acylé par une future transférase en triacyl-sn-glycérol [64, 65].

Les triacylglycérols présents dans les huiles végétales ont la particularité d'avoir les acides gras saturés presque exclusivement en positions externes sn-1 et sn-3, alors que la position interne sn-2 est largement occupée par les AG polyinsaturés [66-68].

La distribution des AG dans les matières grasses de tissus animaux varie en fonction des espèces animales et de la localisation du tissu adipeux au sein de l'organisme. Cependant, chez la plupart des espèces les AG saturés tendent à occuper la position sn-1, quoique des taux substantiels d'acide oléique puissent se retrouver en cette position. Les acides gras insaturés et certains acides gras saturés à chaîne moyenne (acide myristique) sont beaucoup plus en position interne sn-2. Il y a cependant quelques préférences pour les acides gras à longue chaîne d'être localisés en position sn-3 [37].

Il a donc été démontré que la régiospécificité des triacylglycérols influencerait de façon importante la composition et la taille des lipoprotéines, de même que le métabolisme du cholestérol-ester et des acides gras polyinsaturés [38].

Les triacylglycérols plasmatiques, principale réserve énergétique de l'organisme, sont de deux origines, exogène (alimentaire) et endogène. Ceux provenant de l'alimentation sont le résultat de l'assemblage des acides gras avec le glycérol au sein des entérocytes dans la muqueuse intestinale, et ensemble avec le cholestérol, ils forment les chylomicrons (lipoprotéines riches en triacylglycérols alimentaires) [39]. Par contre les triacylglycérols endogènes synthétisés dans le foie par les hépatocytes sont à l'origine des VLDL (lipoprotéines de très basse densité riches en triacylglycérols endogènes). Sous l'action de la lipoprotéine lipase, les chylomicrons et les VLDL libèrent les acides gras et se transforment en lipoparticules résiduelles appauvries en triacylglycérols appelés les rémanents des chylomicrons et les IDL (lipoprotéines de densité intermédiaire). Les acides gras libérés sont alors utilisés par les tissus comme élément énergétique ou stockés par les adipocytes après recombinaison en triacylglycérols.

En conséquence, l'hypertriglycéridémie est une entité hétérogène pouvant refléter l'accumulation de chylomicrons, normalement absents du plasma chez le sujet à jeun, et /ou de VLDL, et/ou de lipoprotéines résiduelles issues de la dégradation périphérique de ces lipoprotéines [42].

Plusieurs travaux ont montré que les triacylglycérols sont un facteur de risque cardiovasculaire [36, 69-76].

Il semble que les hypertriglycéridémies sévères présentent aussi un risque de pancréatite aiguë pouvant conduire au diabète, et même à des infections inflammatoires.

Aussi, la réduction de la mortalité due aux maladies cardiovasculaires chez les populations consommant l'huile de poisson a attiré l'attention des chercheurs sur la structure de ces huiles [73]. Ce fait a été fondamental dans la caractérisation des TAG et de leurs AG pour comprendre le métabolisme des lipides et pour produire des produits alimentaires de bonne qualité nutritionnelle.

### Conclusion

Au regard de ce qui précède, la question est de savoir comment aborder le problème d'analyse de tous ces constituants dans le cas particulier des huiles de différentes espèces de cucurbitacées sélectionnées. En effet, il ne s'agit pas seulement de connaître leur nature et leur quantité en arrivant à les détecter, les identifier et à les doser; mais il faut aussi parvenir à mettre en évidence leurs intérêts nutritionnels. Pour résoudre cette question, l'utilisation de méthodes analytiques est nécessaire, car ce sont les seules qui permettent une analyse qualitative et quantitative des composés d'un mélange. Ces méthodes sont nombreuses, on a par exemple les méthodes séparatives, spectrochimiques, électrochimiques ou encore enzymatiques.

Aussi, il nous incombe de choisir les méthodes les mieux adaptées en fonction des impératifs exigés.

Une fois la méthode sélectionnée, il reste à déterminer la technique, car si par exemple, on a opté pour une méthode séparative, à quelle technique fera-t-on appel, à la chromatographie en phase gazeuse, en phase liquide, ou en phase supercritique ?

C'est ainsi que le chapitre qui suit, expose, tout en justifiant le choix, les différentes méthodes et techniques utilisées.

### III. Les méthodes d'analyse

#### 1. Choix des méthodes

Rappelons que les analyses envisagées sur la fraction lipidique des graines de courge consistent à caractériser ses compositions primaire (composition en acides gras), secondaire (composition en triacylglycérols) et tertiaire (position sn des triacylglycérols). Ceci implique un choix judicieux des méthodes appropriées permettant une bonne identification et une meilleure séparation pour un dosage correct des acides gras et des triacylglycérols. Vu le nombre important de triacylglycérols dans une huile, deux techniques ont été retenues, à savoir :

- la chromatographie,
- la spectrométrie de masse (SM).

La chromatographie qui est un procédé physico-chimique de séparation des constituants des mélanges, permet d'identifier, de séparer et de quantifier les composés en phase liquide ou gazeuse d'un mélange plus ou moins complexe.

La spectrométrie de masse (SM) permet de recueillir des informations sur la structure des composés.

Les composés à analyser diffèrent les uns des autres par leur poids moléculaire, leur volatilité et leur degré de polarité.

Les acides gras sont des constituants thermostables, de faible masse moléculaire et volatils.

Quant aux triacylglycérols, ce sont des composés hydrophobes, très peu volatils, de haut poids moléculaire.

Les techniques chromatographiques peuvent être séparées en trois grandes classes complémentaires, il s'agit de:

- la Chromatographie en Phase Gazeuse (CPG), appelée par son acronyme anglais GC,
- la Chromatographie Liquide Haute Performance (CLHP ou HPLC en anglais),
- la Chromatographie en Phase Super Critique (SFC en anglais)

La CPG s'applique à l'analyse de produits thermostables, de bas poids moléculaire et suffisamment volatils.

La HPLC, grâce aux interactions tripartites soluté/phase mobile, soluté/phase stationnaire et phase mobile/phase stationnaire permet d'analyser les composés thermolabiles et de haut poids moléculaire.

La SFC comme la HPLC permet l'analyse de composés de très haut poids moléculaire et très peu solubles dans l'eau.

On sait que les acides gras sont peu volatils, pour les rendre plus volatils, on les transforme en esters méthyliques par transestérification et leur analyse se fait classiquement par CPG [77-92].

Les triacylglycérols par contre, du fait de leur très faible volatilité, sont habituellement analysés en HPLC.

Par ailleurs, à cause de leur insolubilité dans l'eau, leur analyse exige l'utilisation de la HPLC non aqueuse. Une alternative est leur analyse en SFC, mais cette technique s'avère le champ des laboratoires de recherche et ne s'est pratiquement pas étendue au domaine industriel.

En outre, les TAG à séparer diffèrent par la longueur de chaîne des AG qui les constituent et par le nombre de doubles liaisons dans leur chaîne. Pour cette raison, il est nécessaire d'utiliser la chromatographie liquide haute performance à polarité de phases inversée (CLHP/PI), dont le principe de séparation repose principalement sur la différence de volume hydrocarboné de chaque composé et sur leur polarité relative.

La spectrométrie de masse (SM) technique essentiellement d'identification, s'appliquant généralement dans la détermination des structures des molécules, sera utilisée principalement en couplage avec la CPG pour l'identification non ambiguë des AG.

Ces choix se sont basés également sur les travaux antérieurs d'optimisation des systèmes chromatographiques et spectrométriques réalisés au laboratoire notamment par S. Héron; systèmes dont l'efficacité et la fiabilité ne sont plus à prouver [89-98].

Pour une meilleure compréhension des mécanismes physico-chimiques qui les régissent, nous décrirons succinctement dans ce qui suit les différentes techniques utilisées.

## 2. chromatographie en phase gazeuse (CPG)

La CPG connaît des succès remarquables dans la séparation des mélanges cependant, on estime que 20% seulement des substances organiques connues sont justiciables de cette technique, sans modification chimique préalable de l'échantillon [99].

Toutefois, grâce aux nombreuses phases stationnaires commercialisées et à la rapidité de mise au point de nouvelles analyses, la CPG demeure la technique de choix pour séparer les composés moléculaires thermostables et de volatilité suffisante.

Un appareil de CPG comprend un ensemble de modules spécialisés et thermostatés séparément qui sont l'injecteur, le four dans lequel se trouve la colonne et le détecteur.

L'injecteur n'est pas une simple porte d'entrée pour l'échantillon, il a la double fonction de le porter à l'état de vapeur et de l'amener dans le flux gazeux en tête de colonne [40, 78, 100-105].

La colonne enfermée dans une enceinte à température réglable (four), contient une phase stationnaire qui développe des interactions plus ou moins importantes avec les différents composés de l'échantillon permettant ainsi leur séparation [40, 77, 79, 85, 100-108].

En sortie de colonne, les composés rentrent dans le détecteur, le plus couramment utilisé est le F.I.D (détecteur à ionisation de flamme) [109-112]. Les composés arrivant dans une flamme chaude, produisent alors des ions, responsables d'un très faible courant ionique. Ce signal est alors amplifié en un courant électrique mesurable. L'aire du pic obtenu reflète ainsi la masse instantanée du composé élué [78, 113-116].

La température et la nature de la phase stationnaire sont les principaux facteurs gouvernant la séparation.

## 3. Chromatographie en phase liquide Haute Performance (HPLC)

### 3. 1. Séparation des triacylglycérols

Le principe de séparation des composés en CLHP/PI est basé sur l'effet hydrophobe. Par conséquent, la séparation est une combinaison de l'influence du volume hydrocarboné du TAG et du nombre d'insaturations amenant de la polarité.

Une chaîne HPLC est constituée d'une pompe, d'une vanne d'injection, d'une colonne, d'un détecteur et d'un système d'acquisition des données.

La pompe utilisée au laboratoire comprend trois voies de solvants et une chambre de mélange qui doit homogénéiser le mélange de solvants formant la phase mobile. L'utilité de la pompe est de forcer le passage de la phase mobile avec un débit constant (1ml/min par exemple), à travers la colonne.

Lors de l'injection de l'échantillon, il faut introduire un volume précis, en tête de colonne où la pression est très forte (pouvant aller jusqu'à 300 bars), sans stopper pour autant la circulation de la phase mobile. Pour cela on utilise une vanne d'injection à plusieurs voies, placée en amont de la colonne, qui permet de répondre à ces critères.

La colonne, tube droit en acier, d'une longueur variant de 3 à 25 cm et d'un diamètre interne entre 0.5 et 5 mm, renferme une phase stationnaire qui est constituée généralement de silice pouvant être greffée (c'est le cas de la CLHP / PI) ou non (CL à polarité normale de phases) [117].

Une compétition d'interactions entre soluté-phase stationnaire d'une part et soluté-phase mobile d'autre part, se développent, permettant ainsi la migration plus ou moins rapide du soluté à travers la colonne [89, 97, 98, 109, 110, 118-126] et la séparation des différents composés.

Un des problèmes que pose l'analyse des TAG en HPLC est l'utilisation d'un détecteur adapté aux solutés. En effet, les TAG ne possèdent pas de chromophores qui absorbent en UV classique, l'emploi d'un spectrophotomètre UV pour leur analyse est donc réduit.

Certains auteurs [104, 127] ont tout de même effectué des analyses de TAG en UV entre 205 et 220 nm, zone spectrale où les doubles liaisons isolées (C=C, C=O) absorbent. Cependant, plus la longueur d'onde est faible, plus l'ensemble des composés chimiques absorbe la lumière, notamment les solvants employés. Dans ces conditions, le nombre de solvants utilisables est limité, l'acétone, le chloroforme et le chlorure de méthylène qui sont de très bons solubilisants des TAG sont alors interdits.

Aussi, le détecteur le plus communément utilisé est le détecteur à indice de réfraction, qui pose malheureusement quelques problèmes: impossibilité de gradients d'élution, trop grande sensibilité aux fluctuations externes (changement de température et de pression), ce qui entraîne une détectabilité délicate des solutés.

Les triacylglycérols s'étendant sur une large gamme de masse moléculaire, leur analyse en gradient d'élution rend encore ce type de détecteur difficilement utilisable.

C'est ainsi que le Détecteur Évaporatif à Diffusion de Lumière (DEDL) s'est avéré une alternative très concluante, il est de plus en plus utilisé, qu'il s'agisse de la séparation des lipides en général ou des triacylglycérols en particulier.

Bien que ce type de détecteur soit compatible avec des gradients d'élution, il a l'inconvénient de ne pas détecter les composés très volatils et de ne pas donner des réponses linéaires.

Ayant été amenée à mettre au point au cours de ce travail une méthodologie novatrice de dosage utilisant le DEDL, nous allons y consacrer le paragraphe suivant.

### 3. 2. Détection des triacylglycérols par le Détecteur Évaporatif à Diffusion de Lumière (DEDL)

#### 3. 2. 1. Principe du DEDL

La détection évaporative à diffusion de lumière est bien adaptée lorsqu'il y a une grande différence de volatilité entre l'éluant et l'échantillon à analyser [91, 93, 95, 121, 123, 128-136]. Ce principe exclut donc l'analyse de solutés volatils, pour lesquels la CG est mieux adaptée. Le travail de Charlesworth [129] a ouvert la voie au DEDL, en mesurant la diffusion de la lumière générée par les micro particules sortant de la colonne. Celles-ci, drainées par un flux de gaz (air, hydrogène, hélium, etc.) à débit constant, sont dirigées à travers une chambre de nébulisation dans laquelle se forme un mélange homogène de gouttelettes. L'aérosol alors formé, entre dans un tube chauffé, de façon à ce que les micro particules soient entraînées vers une source lumineuse et que, la phase mobile en s'évaporant, laisse les analytes non volatils en suspension en phase gazeuse. Ces micro particules résiduelles du soluté non volatil diffusent alors la lumière qui est mesurée par un photomultiplicateur placé à 90 ou 120° de la source lumineuse.

La réponse intégrée "A" du photomultiplicateur est une fonction de la masse "m" de l'analyte, et ceci obéit généralement à une relation exponentielle :

$$A = a m^b.$$

L'exposant  $b$  et la constante  $a$ , dépendent de nombreux paramètres, tels que la nature de la phase mobile, la taille des particules ou encore la température d'évaporation.

La capacité du DEDL à détecter presque tous les composés élués aussi bien en composition isocratique qu'en gradient d'éluion, lui donne un large éventail d'applications. Comme certains détecteurs de chromatographie liquide, le DEDL a ses limites propres, notamment sur la sensibilité aux composés indésirables, aux contaminants de la phase mobile [130].

La détection évaporative à diffusion de lumière implique trois principales opérations successives, qui sont:

- la nébulisation ou l'atomisation de la phase mobile, transformée en nuage de gouttelettes,
- l'évaporation du solvant du nuage de gouttelettes,
- la détection des faisceaux lumineux émis par le nuage des micros particules résiduelles.

Les schémas présentés ci-dessous montrent le nébuliseur devant recevoir la phase mobile en sortie de colonne pour subir l'évaporation dans la chambre de nébulisation jusqu'au serpentin chauffant qui achemine les micro-particules pour être détectées.

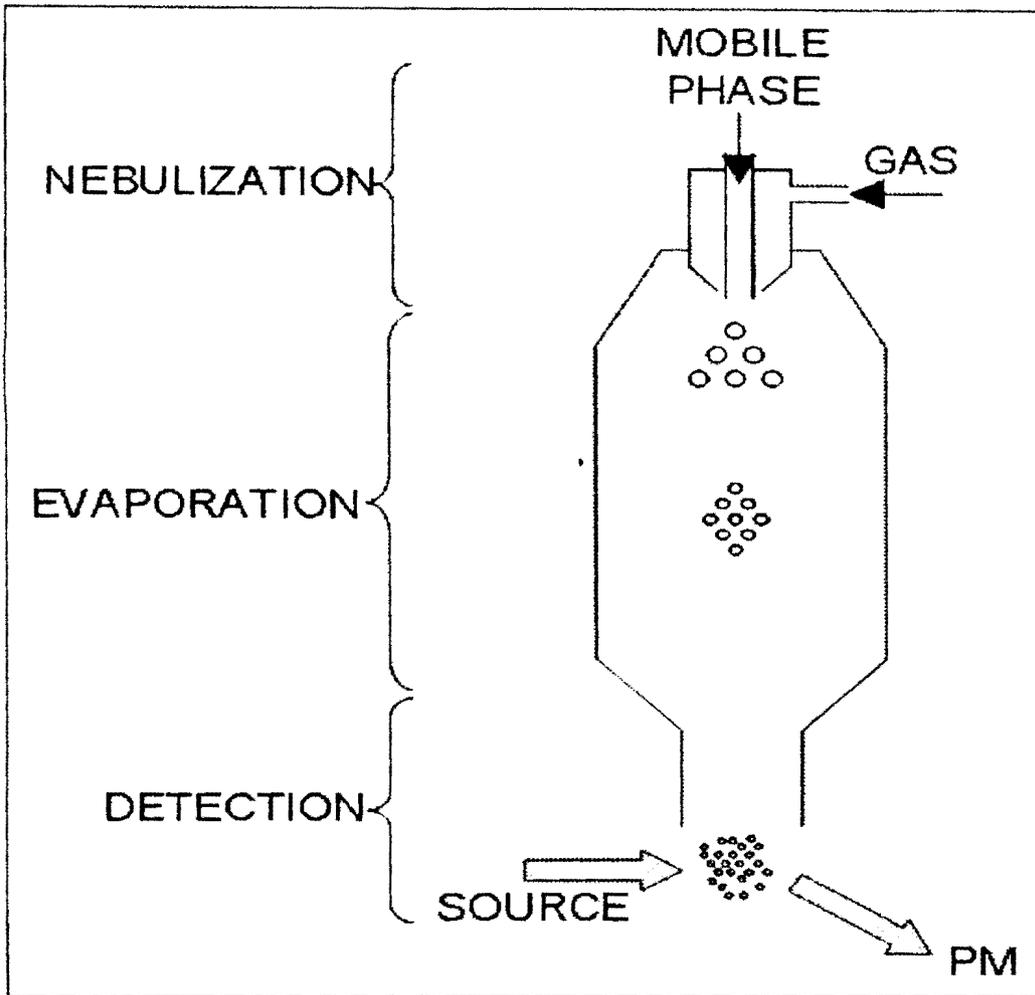


Figure 10 : Principe du Nébuliseur

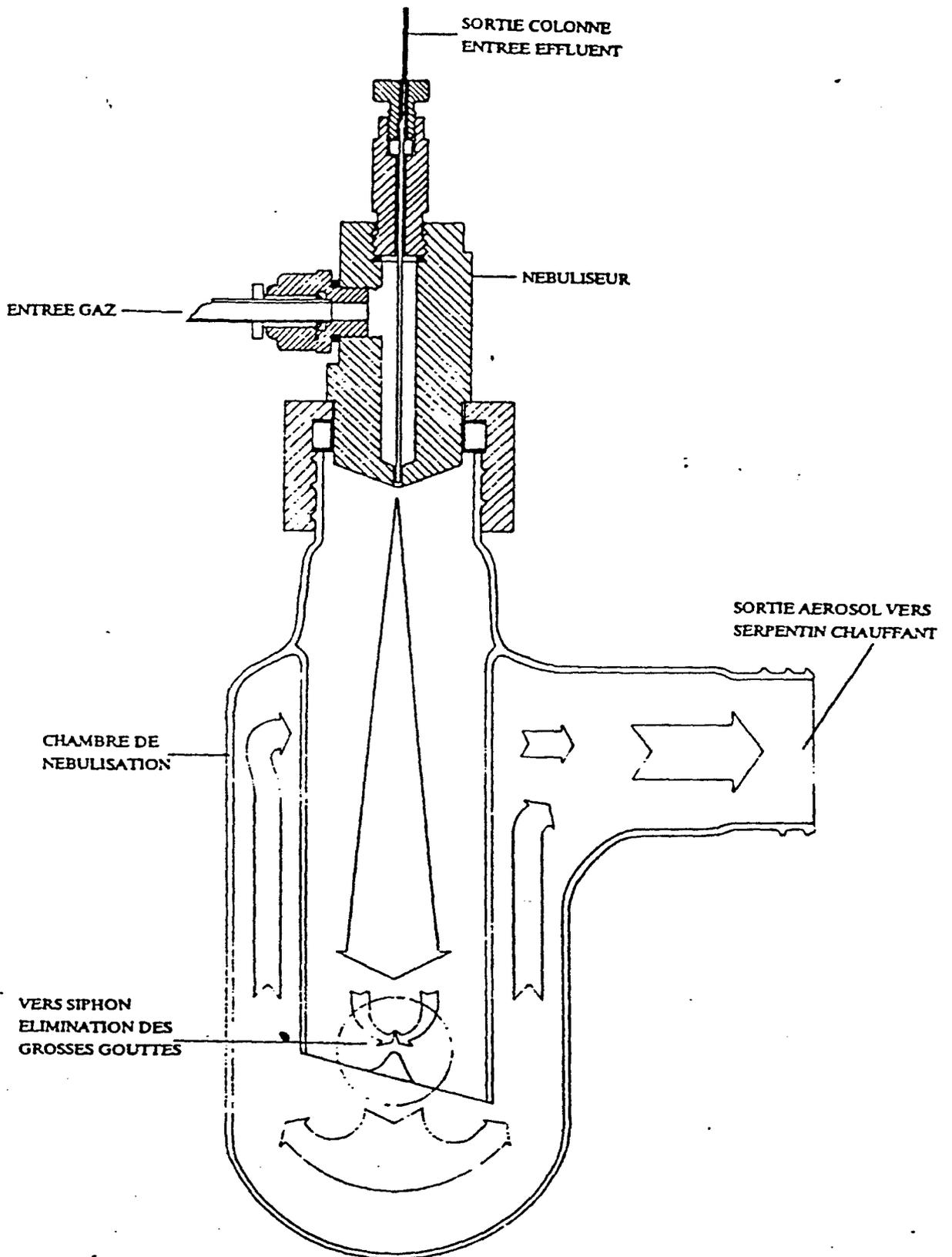


Figure 11: Chambre de nébulisation

### 3. 2. 2. La nébulisation

Cette opération transforme la phase mobile en fines gouttelettes à partir desquelles le solvant peut être facilement vaporisé. La taille et l'uniformité des gouttelettes sont extrêmement importantes dans la détermination de la sensibilité et de la répétabilité [128, 133].

Pour le DEDL utilisé [137], une partie de l'aérosol est sélectionnée par une chambre de nébulisation (figure 10) dans laquelle une condensation variable sur les parois limite le transport aux plus fines gouttelettes.

Il se crée donc une réduction de taille de gouttelettes lors de la distribution de l'aérosol, les plus grosses sont éliminées par condensation sur les parois de la chambre de nébulisation et sont dirigées vers le tube d'évacuation qui siphonne continuellement le liquide condensé vers l'extérieur.

### 3. 2. 3. L'évaporation

Les gouttelettes de l'effluent chromatographique passent à travers un tube cylindrique où a lieu l'évaporation des composants les plus volatils de l'aérosol, contrairement aux résidus et d'autres matériaux non volatils. Dans le cas idéal, seules ces particules arrivent au niveau de la détection, où elles diffusent la lumière provenant de la lampe.

Les gouttelettes de l'effluent chromatographique apportées par le flux de gaz, passent de la chambre de nébulisation au cœur du tube d'évaporation, où le solvant est complètement chassé et ne restent que les résidus et d'autres matériaux non volatils. Il est important d'utiliser des températures aussi basses que possible pour ce système, afin de maintenir l'uniformité de taille des particules. Il a été démontré que les particules solides d'une taille spécifique diffuseraient la lumière plus efficacement que les particules liquides de même taille. A hautes températures, l'évaporation trop forte de solvant peut causer le manque d'uniformité de taille des particules, ou inhiber la formation des cristaux, affectant ainsi le processus de diffusion de lumière.

Maintenir une basse température dans le tube est une première exigence quand on travaille avec des produits de volatilité modérée ; à haute température de tels composés peuvent être complètement volatilisés et indétectables. L'évaporation à haute température est aussi critiquée quand on travaille avec des composés thermosensibles.

L'efficacité de l'évaporation dans le tube varie considérablement avec la forme de ce dernier. A basse température, un long tube, enroulé recevant un gaz inerte, peut permettre l'évaporation efficace de certains solvants peu volatils. Par exemple, une température de 40-50°C est suffisante pour évaporer l'eau pure à un débit de 3 ml/min [137].

#### 3. 2. 4. La détection

La détection consiste à mesurer l'intensité du faisceau lumineux dévié, issu des micro particules en suspension en phase gazeuse, grâce à un photomultiplicateur placé à 120° de la source lumineuse [95, 134, 136, 137].

En DEDL, le faisceau lumineux incident arrive sur le nuage sortant du tube et entre dans la cellule optique à travers une lentille qui concentre l'énergie lumineuse au centre de la cellule, pour maximiser la réponse du détecteur [137].

Généralement, ce faisceau est produit par une source polychromatique visible de 400 à 800 nm (lampe halogène), ou monochromatique (laser) selon le constructeur.

#### 3. 2. 5. La réponse du Détecteur Évaporatif à Diffusion de Lumière

En analyse quantitative, il existe une loi exponentielle reliant la masse du soluté au signal (aire du pic) du détecteur, comme nous venons de le voir plus haut :

$$A = a m^b$$

Selon les détecteurs, il y a un domaine de concentrations plus ou moins important pour lequel  $0.98 < b < 1.02$ , c'est à dire que l'on a une réponse linéaire. Mais de manière générale,  $b$  est différent de 1, le coefficient  $b$  varie avec la nature des solutés, leur concentration, ou encore la nature de la phase mobile. Généralement, ce coefficient varie en fonction de la taille des particules (plus les particules sont grosses, plus la valeur de  $b$  diminue). Ceci a été confirmé par les travaux réalisés au laboratoire, qui consistaient à faire des ajouts post-colonne avec des solvants complexant les TAG "nus", afin de grossir leur taille et pouvoir diminuer la valeur de  $b$  [138].

Signalons que la taille des particules est elle-même fonction de plusieurs paramètres, à savoir la taille des gouttelettes de l'aérosol, la nature du soluté, la concentration du soluté, la nature de la phase mobile, le débit de la phase mobile ou encore le débit du gaz de nébulisation.

Les spécialistes [128] distinguent trois domaines de déviation de la lumière selon le rapport taille des particules  $D$  sur longueur d'onde du faisceau incident  $\lambda$ , ces domaines sont:

- le domaine de Rayleigh pour lequel  $D/\lambda < 0.1$ ,
- le domaine de Mie avec  $0.1 < D/\lambda < 10$ ,
- le domaine de réflexion –réfraction pour  $D/\lambda > 10$ .

L'intensité lumineuse diffusée est fonction de la taille des particules tel que

$I = f((D/\lambda)^n)$  et la taille des particules est elle-même fonction de la concentration du soluté ( $C^{1/3}$ ), ainsi on montre [128]:

- dans le domaine de Rayleigh,  $I = f(C)^2$
- dans le domaine de Mie,  $I = f(C)^{4/3}$
- dans le domaine de réflexion –réfraction,  $I = f(C)^{2/3}$

Par conséquent, la théorie montre que pour le DEDL, on a :

$$\text{Aire du pic} = a \cdot \text{conc}^b,$$

avec  $2/3 < b < 2$  selon le domaine de concentration étudié.

Ceci permet de comprendre pourquoi on n'a pas de relation directement linéaire entre l'Aire du pic et la masse (ou la concentration) du composé.

#### 4. Méthodes de traitement des résultats

Vu le grand nombre de données numériques obtenues au cours de ce travail, nous utiliserons pour leur traitement des méthodes statistiques appropriées. Celles-ci seront exposées dans un chapitre ultérieur.

**CHAPITRE II**

**METHODOLOGIE ANALYTIQUE**

Avant de décrire les méthodes d'analyse utilisées, nous présentons d'abord les échantillons étudiés en faisant un classement préalable en fonction de leur origine, des années de collecte et de la codification utilisée.

### 1. Origine géographique des graines analysées

L'analyse des graines a été réalisée sur huit espèces différentes de Cucurbitacées d'Afrique, provenant de cinq pays, comme le montre la carte d'Afrique, il s'agit :

- du Congo Brazzaville,
- de la République du Congo Démocratique : RDC,
- de la République Centrafricaine : RCA
- du Cameroun,
- du Niger.

A F R I Q U E

ECHELLE 1/200 000 000



Figure 12: Carte d'Afrique

Toutes les graines (sauf celles de Mbanza-Nkolo qui ont été récoltées directement sur place) ont été achetées dans les marchés des grandes villes comme Brazzaville, Pointe-Noire, Bangui, Douala.

Notons cependant que les graines de la RDC ont été achetées à Brazzaville, vu la proximité et la fluidité du trafic entre les deux pays.

La provenance des graines des deux Congo a pu être déterminée auprès des vendeurs, qui généralement sont bien informés de l'origine de leurs produits.

Au Congo Brazzaville quatre zones écologiques ont été sélectionnées, en raison d'assez fortes productions de Cucurbitacées par rapport au reste du pays, ce sont les régions :

- de la Bouenza-Lekoumou,
- du Pool,
- des Plateaux Batékés,
- Brazzaville,
- Pointe-Noire.

Nous n'avons pu obtenir que les graines de deux régions de la RDC, il s'agit des régions du Bas Congo et de Bas-Ndoudou.

La carte du Congo ci-jointe montre les localités d'où proviennent les graines.

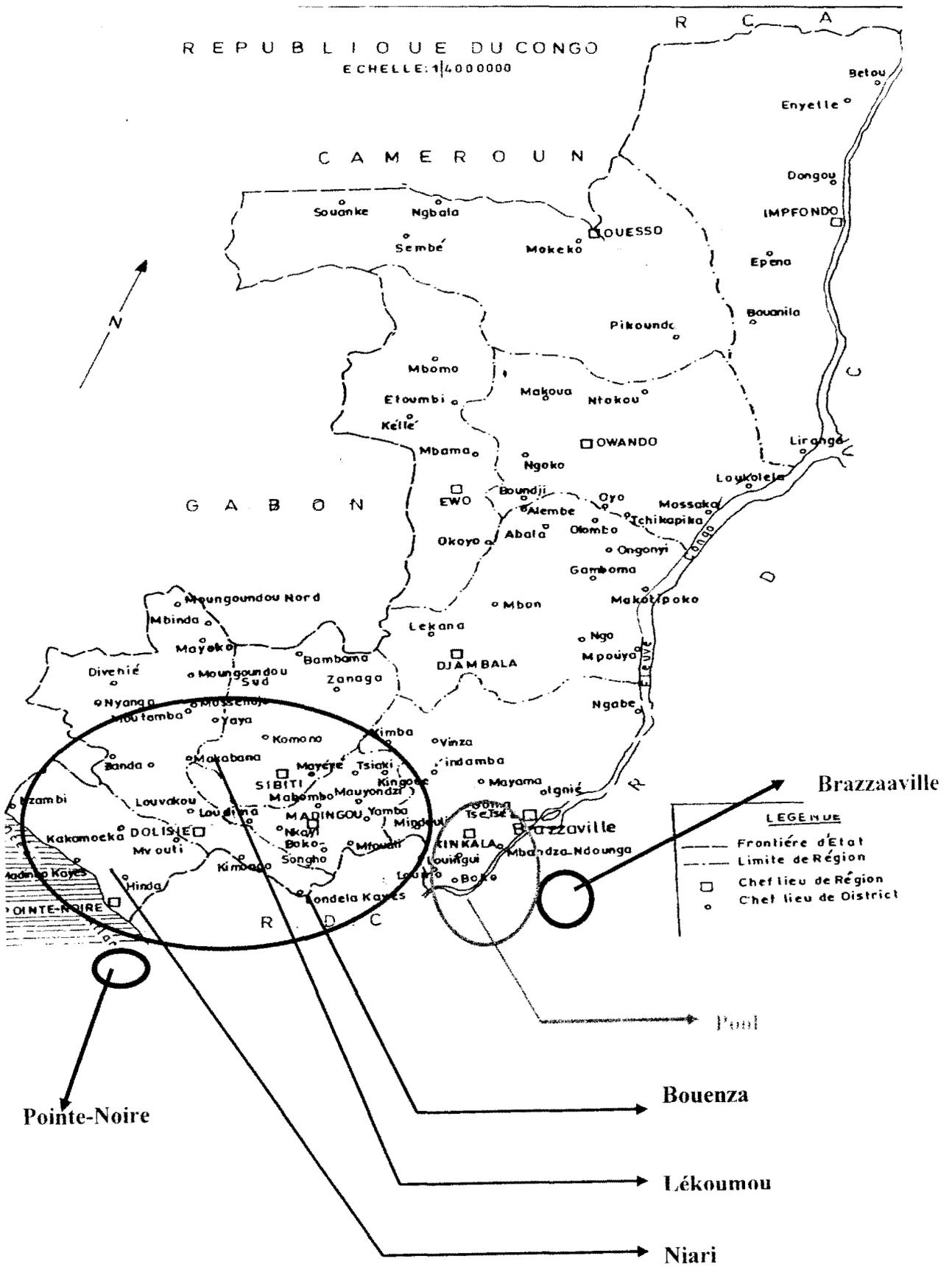


Figure 13 : Carte du Congo Brazzaville

En fait Brazzaville et Pointe-Noire ne sont pas considérées comme régions productrices des graines analysées, mais tout simplement des lieux de collecte. Aussi, certaines espèces de graines achetées aux marchés de ces villes et dont la provenance n'a pu être identifiée, sont en réalité des tout venants. Il en est de même de celles de Bangui, Douala et du Niger qui ont été aussi achetées aux marchés.

Le tableau ci-dessous fait un récapitulatif des pays concernés avec les régions et leurs localités.

Tableau XXVI : Origine des graines de cucurbitacées analysées

Pays	Régions productrices	Localités	Espèces de graines	
Congo BZV	Bouenza	Mouyondzi (Mouy)	Cl, Cmo	
	Lékoumou	Tshiguiri (Tshi)	Cp	
	Plateau Batéké		Cmo, Cp	
	Pool	Kibouendé (Kiboué)		Ls
		Kibongui (Kibo)		Cp
		Louingui (Loui)		Ls
		Mati (Mat)		Ls
		Mbanza-Nkolo (Mbk)		Cmo, Cp
		Mbanza-Ndounga (MbNd)		Ls
	Brazzaville (Bzv)		Cl, Cmo, Cp, Lc	
Pointe Noire (P/N)		Cl, Cmo, Cp		
RDC	Bas-Ndoudou (BNd)	Inconnues	Cl	
	Bas-Zaïre (BaZ)	Inconnues	Cp, Mbi	
RCA	Bangui	Inconnues	Cl, Cp, Ls	
Cameroun	Douala	Inconnues	Cp, Cs, Ls	
Niger	Inconnues	Inconnues	Ls	

## 2. Classement des échantillons

Le tableau qui suit, indique les lieux, l'année de collecte des graines et la codification des échantillons. La codification prend en compte le nom de l'espèce, le lieu et l'année de collecte des graines. En ce qui concerne les échantillons du Congo BZV, afin d'éviter toute confusion en raison du nombre assez important, ceux-ci sont affectés du nom de la localité de collecte.

Tableau XXVII : Codification des échantillons

<b>Genre et espèce</b>	<b>Lieu de collecte</b>	<b>Année de collecte</b>	<b>Codification</b>
<i>Citrullus lanatus</i>	Marchés de Brazzaville	2001	CI Bzv 01
	Marchés de Brazzaville	2003	CI Bzv 03
	Marchés de Brazzaville	2003	CI Mouy 03
	Marchés de Pointe -Noire	2003	CI P/N 03
	Marchés de Brazzaville	2003	CI RDC 03
	Marché de Bangui (RCA)	2004	CI RCA 04
<i>Cucurbita pepo L.</i>	Marchés de Brazzaville	2001	Cp Bzv 01
	Mbanza-Nkolo	2002	Cp MbK 02
	Marchés de Brazzaville	2003	Cp Kibo 03
	Marchés de Brazzaville	2005	Cp Plat05
	Marchés de Brazzaville	2003	Cp Tshi 03
	Marchés de Pointe-Noire	2003	Cp P/N 03
	Marchés de Brazzaville	2003	Cp Bzv 03
	Marché de Bangui (RCA)	2004	Cp RCA 04
	Marchés de Douala (Cameroun)	2004	Cp Cam 04

<i>Cucurbita moschata</i> ( <i>Duch.ex Lam.</i> ) <i>Poiret</i>	Marchés de Douala (Cameroun)	2004	<b>Cmo</b> Cam04
	Marchés de Brazzaville	2001	<b>Cmo</b> Bzv 01
	Marchés de Brazzaville	2003	<b>Cmo</b> Bzv 03
	Marchés de Brazzaville	2003	<b>Cmo</b> Mouy 03
	Marchés de Brazzaville	2003	<b>Cmo</b> Mouy' 03
	Mbanza-Nkolo	2002	<b>Cmo</b> MbK 02
	Marchés de Brazzaville	2005	<b>Cmo</b> Plat05
	Marchés de Pointe Noire	2003	<b>Cmo</b> P/N 03
<i>Ntsouéké</i>	Marchés de Brazzaville	2003	<b>NTS</b> Mouy 03
<i>Cucumis sativus</i>	Marchés de Douala (Cameroun)	2004	<b>CS</b> Cam
<i>Lagenaria siceraria</i>	Marchés de Brazzaville	2003	<b>LS</b> Kiboué 03
	Marchés de Brazzaville	2003	<b>LS</b> Loui 03
	Marchés de Brazzaville	2003	<b>LS</b> MbNd 03
	Marchés de Brazzaville	2003	<b>LS</b> Mat 03
	Marché de Bangui (RCA)	2004	<b>LS</b> RCA 04
	Marchés de Douala (Cameroun)	2004	<b>LS</b> Cam04
	Niger	2004	<b>LS</b> Niger04
<i>Mbika</i>	Marchés de Brazzaville	2003	<b>Mbi</b> 03
<i>Luffa cylindrica</i>	Brazzaville	2003	<b>Lc</b> 03

Nous avons collecté 34 huiles au total, soit 34 échantillons pour les analyses.

Les graines ont été achetées avec leurs enveloppes afin de garantir l'authenticité des espèces sélectionnées.

Elles ont toutes été décortiquées manuellement pour garantir l'homogénéité des résultats.

De la poudre obtenue après mixage des graines, les lipides ont été extraits au soxhlet selon le protocole qui suit.

### 3. Extraction des lipides totaux

Comme nous venons de le souligner, l'extraction des lipides totaux des graines s'est faite au moyen du soxhlet par contact prolongé de la poudre de graines de courge séchées avec un solvant organique.

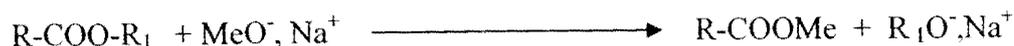
La cartouche d'extraction contenant la poudre est introduite dans le siphon adapté au ballon renfermant de l'hexane comme solvant. Le ballon plongeant dans un bain marie et muni d'un réfrigérant est chauffé à reflux pendant plus de 2 heures. On élimine alors le solvant par l'évaporateur rotatif et les traces d'eau par séchage à l'étuve à 70°C pendant 24 heures. L'huile ainsi obtenue est prête à l'analyse des acides gras et des triacylglycérols.

### 4. Chromatographie en Phase Gazeuse (CPG)

Comme cela est couramment effectué, les AG sont analysés en chromatographie en phase gazeuse, sous forme d'esters obtenus après transestérification des triacylglycérols.

#### 4.1. Transestérification et Méthanolyse basique

L'équation bilan de la transestérification résume le principe de la méthanolyse basique



On pèse environ 4 mg d'huile à analyser auxquels on ajoute 200 µl d'une solution chloroformique contenant du C17:0 servant d'étalon interne. Après agitation du flacon à l'aide de l'agitateur Vortex Heidolph TOP-MIX 9433, on le met sous courant d'azote pour évaporer le chloroforme. Le mélange repris dans 80 µl de tétrahydrofurane (THF), est agité quelques instants au vibreur, avant d'y ajouter 120 µl de méthanoate de sodium (0.2 N dans du méthanol). La méthanolyse se déroule pendant 15 minutes à température ambiante et sous agitation manuelle.

Après vérification du pH qui doit être basique (autour de 10), on neutralise le milieu réactionnel par 20 µl d'acide sulfurique 1N et 400 µl d'eau, le pH de la solution devant être entre 6 et 7. On introduit 400 µl d'hexane et on centrifuge pendant 1 minute à 3000t/min.

L'analyse des esters méthyliques obtenus se fait en prélevant la phase d'hexane surnageant au dessus de la phase aqueuse.

#### 4.2. Caractéristiques de l'appareil de CPG utilisé

Nous nous sommes servis d'un chromatographe Hewlett-Packard HP 5890 séries II, doté d'une colonne capillaire polaire HP- FFAP N°59436116, de 25 m de longueur, 0.20 mm de diamètre intérieur et d'un film de phase stationnaire d'une épaisseur de 0.33  $\mu\text{m}$ .

Le détecteur utilisé est le Détecteur à Ionisation de Flamme (FID), qui est le détecteur le plus couramment utilisé en CPG.

L'injection se fait en mode split.

#### 4.3. Conditions d'analyse

Les analyses sont réalisées à température isotherme, fixée à 235°C, l'injecteur et le détecteur à 250°C.

L'hélium sert de gaz vecteur, sa pression en tête de colonne est de 160 kpa, son débit dans la colonne étant de 1ml /min, celui de fuite de split est maintenu à 48 ml /min et 2 ml/ min environ de purge du septum.

Pour une identification non ambiguë des esters, une huile de chaque espèce a été étudiée en couplage CPG/SM.

Pour l'ensemble des huiles analysées, les principaux esters identifiés sont les suivants :

- EP (Ester méthylique de l'acide palmitique ou palmiate de méthyle) : C16 :0,
- ES (Ester méthylique de l'acide stéarique ou stéarate de méthyle) : C18 :0,
- EO (Ester méthylique de l'acide oléique ou oléate de méthyle) : C18 :1,
- EL (Ester méthylique de l'acide linoléique ou linolate) : C18 :2,
- ELn (Ester méthylique de l'acide linoléique ou linoléate de méthyle) : C18 :3.

L'analyse quantitative a été menée par la méthode de l'étalonnage interne. Elle exige l'établissement de courbes d'étalonnage à partir des standards. Pour cela, nous avons disposé d'un kit de 100 mg contenant les cinq esters méthyliques (EP, ES, EO, EL, ELn) à 20 mg

chacun. aux caractéristiques suivantes : F.A.M.E. Mix GLC-10 100mg, Neat, lot LB09444, 1891-1AMP.

A ce kit, nous avons rajouté l'ester méthylique en C17:0 (ester heptadécanoïque : EH) qui sert d'étalon interne (e).

Trois analyses par solution d'ester, de concentration différente, ont été réalisées. Les rapports ci-dessous ont été utilisés :

$$mi/me=2.54,$$

$$mi/me=1.69,$$

$$mi/me=1.13,$$

$$mi/me=0.424.$$

Les courbes d'étalonnage des esters méthyliques ont été établies suivant la relation :

$$mi/me = k \cdot Ai/Ae$$

avec : mi: masse ou concentration de l'échantillon (chaque ester) en mg

me : masse ou concentration de l'étalon (17:0) en mg

Ai : aire de l'échantillon

Ae : aire de l'étalon interne

L'élution des esters est fonction du nombre de carbone et du degré d'insaturation de leur chaîne carbonée (nombre de doubles liaisons). Ainsi l'ordre de sortie suivant a été obtenu :

EP, EH, ES, EO, EL et ELn.

Une fois les courbes d'étalonnage obtenues, 4 mg d'huile des graines de chaque espèce de Cucurbitacée dopées par l'étalon interne C17 :0, ont fait l'objet de six analyses chacune.

Les résultats obtenus sur l'ensemble des huiles analysées seront exposés dans le chapitre III.

## 5. Chromatographie Liquide Haute Performance (HPLC)

### 5. 1. Conditions d'analyse

L'analyse des triacylglycérols a été réalisée en CLHP/PI, pour les raisons évoquées au chapitre précédent.

La chaîne CLHP utilisée est un système de deux pompes Shimadzu LC-6A, pilotées par un contrôleur SCL-6A.

La vanne d'injection de modèle 7525 est munie d'une boucle de 10 $\mu$ l (Rhéodyne, Rohnert Park, CA, USA).

La colonne est thermostatée par un four à effet peltier. C'est une colonne à polarité inversée de phases Kromasil C18 250x4.6mm. 5 $\mu$ m, Lot n° DTO248, col n° 3-26035.

Le détecteur employé est un Détecteur Évaporatif à Diffusion de Lumière (DEDL) Sedex 75 (Sedere, Alfortville, France).

L'optimisation des conditions d'analyse déjà effectuée au laboratoire par S. Héron [89, 91, 94, 96-98], nous a permis d'étudier les huiles en mode isocratique selon les paramètres suivants :

MeCN/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> 67/33 (v/v)

- Débit de la phase mobile : 1 ml/min
- Température de la colonne 30°C
- Pression du DEDL : 3 bars
- Température du DEDL : 40°C
- Gain (PM) maintenu à x11

### 5.2. Analyse qualitative des TAG

Une petite quantité d'huile (de 20 à 30 mg) a été reprise dans 5 ml de MeCN/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> 50/50 (v/v), le volume injecté étant d'une dizaine de micro-litres.

L'identification des TAG des huiles de graines de Cucurbitacées s'est effectuée par comparaison des chromatogrammes obtenus aux chromatogrammes d'huiles dont la composition en TAG est parfaitement connue courge, soja et callophyllum [95].

Comme nous l'avons évoqué précédemment, le DEDL ne donne pas une réponse directement proportionnelle à la quantité injectée.

Par ailleurs, les différents triacylglycérols ne répondent pas tous de la même façon et n'étant pas tous disponibles en standards, l'analyse quantitative n'est donc pas aisée.

Pour contourner ce problème, nous avons donc été amené à envisager d'une part une méthode en condition isocratique de phase mobile, basée sur des rapports d'aire (méthode que nous appellerons « semi quantitative »), puis dans un second temps nous avons mis au point une méthode originale qui permet le dosage absolu des huiles (méthode que nous appellerons « quantitative ») et nécessitant un gradient d'élution.

La démarche employée dans ce dernier cas fera l'objet d'un paragraphe particulier.

### 5.3. Analyse semi-quantitative des TAG

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

La comparaison des huiles se fera en calculant sensiblement le rapport : Aire d'un TAG / Aire du TAG pris comme référence.

En comparant ce rapport pour les différentes huiles analysées, pour un triacylglycérol donné, plus ce chiffre sera élevé, plus l'huile sera riche en ce triacylglycérol.

### 5.4. Analyse quantitative des TAG

#### 5.4.1. Etablissement de courbes d'étalonnage

Différentes séries de solutés ont été utilisées afin de disposer d'une large gamme de solutés analysables en milieu non aqueux, il s'agit :

- des TAG saturés : tricapryline (CyCyCy), tricaprène (CCC), trilaurine (LaLaLa), trimyristine (MMM), tripalmitine (PPP), tristéarine (SSS).
- des TAG insaturés : trioléine (OOO), trilinoléine (LLL), trilinolénique (LnLnL)
- des TAG mixtes : palmitine-oléine-linoléine (POL), oléine-palmitine-oléine (OPO),

oléine-stéarine-oléine :(OSO).

Tous ces standards viennent de chez Sigma (Saint Quentin Fallavier, France).

- des esters : palmitic acid myristyl ester ( $C_{16}E_{14}$ ), palmitic acid palmityl ester ( $C_{16}E_{16}$ ), palmitic acid stearyl ester ( $C_{16}E_{18}$ ), palmitic acid arachidyl ester ( $C_{16}E_{20}$ ), palmitic acid behernyl ester ( $C_{16}E_{22}$ ).
- des alcools éthoxylés (ethylenes glycols): diethylene glycol monotetradecyl ether ( $C_{14}EO_2$ ), tetraethylene glycol monoctadecyl ether ( $C_{18}EO_4$ ), hexaethylene glycol monoctadecyl ether ( $C_{18}EO_6$ ), octaethylene glycol monoctadecyl ether ( $C_{18}EO_8$ ).

Ces deux dernières séries proviennent de Fluka (Buchs, Suisse).

Le système chromatographique utilisé est le même que celui décrit plus haut.

La mise au point du gradient ci-dessous a permis de faire sortir tous ces composés dans la rampe en 25 minutes à raison de 2.4%/min.

MeCN/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> 70/30 à 10/90 (v/v) en 25 min.

Débit = 1 mL/min

Les composés présentent alors des temps de rétention allant de 4.5 à 20 min permettant de répartir tous les solutés analysés sur l'ensemble de la rampe du gradient d'élution.

Les études ont été réalisées à différentes températures du tube d'évaporation : 40, 50 et 60°C.

La gamme d'étalonnage s'étalant de 5 à 50 ppm à raison de cinq concentrations différentes pour chacun des composés; deux injections ont été effectuées pour chaque concentration.

Pour chacune des conditions, une étude de reproductibilité a été effectuée deux jours de suite.

Comme signalé précédemment la démarche analytique mise au point ainsi que les conditions expérimentales décrites ci-dessus seront développées ultérieurement.

#### 5.4. 2. Dosage des TAG présents dans les huiles

Pour appliquer cette méthodologie sur les huiles à analyser, il a été nécessaire de programmer de nouvelles conditions de gradient, car celui effectué au préalable n'offrait pas de bonnes séparations pour tous les TAG présents dans les huiles. Le nouveau gradient répartit tous les composés dans la rampe en 35 minutes pour une rampe de 1.71 %/min.

MeCN / CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> 70/30 à 40 / 60 (v/v) en 35 min.

Débit = 1 mL/min

Température du tube d'évaporation = 40°C

Avec ce nouveau gradient, pour être sûr de la fiabilité de la méthode, nous avons effectué, une validation des courbes d'étalonnage sur les TAG insaturés.

Après cette description de la méthodologie utilisée, nous présentons dans le chapitre qui suit les résultats obtenus.

## **CHAPITRE III**

### **RESULTATS ET DISCUSSION**

## **I. Présentation des résultats d'analyse de la fraction saponifiable**

### I. Composition en acides gras

Comme cela a été expliqué précédemment, le dosage des acides gras sous forme esters méthyliques des huiles extraites des huit espèces de cucurbitacées reportées dans le tableau XXVIII, a été effectué par la méthode de l'étalonnage interne en CPG.

Pour les huiles extraites de chaque même espèce les chromatogrammes obtenus présentant des profils très proches, nous ne présentons donc ici qu'un exemple de chromatogramme de chaque espèce de graines.

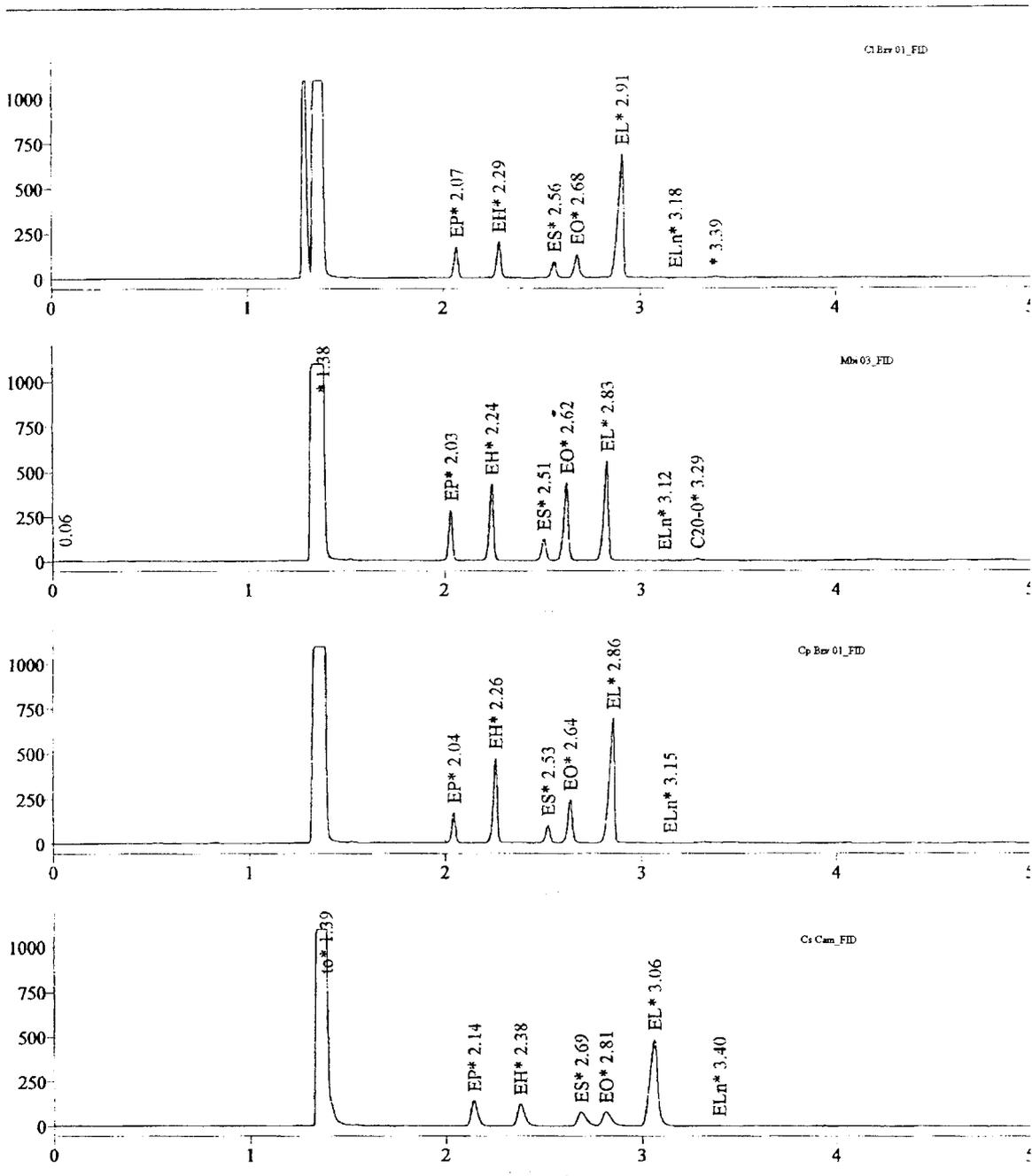


Figure14 : Chromatogrammes de 4 espèces de cucurbitacées (Cl Bzv 01, Mbi 03, Cp Bzv01, Cs Cam)

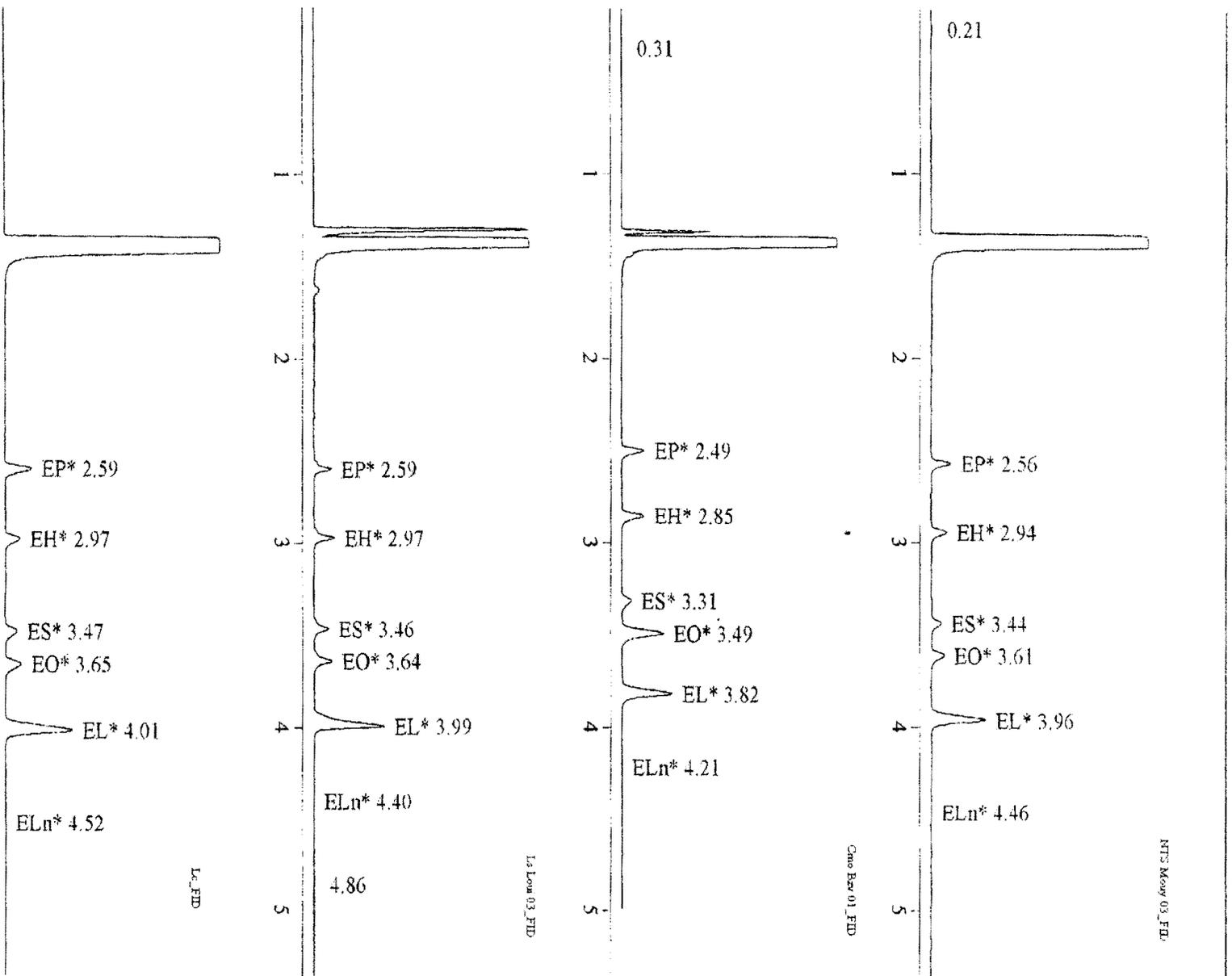


Figure 15 : Chromatogrammes de 4 espèces de cucurbitacées (NTS Mouy 03, Cmo Bzv 01, Ls Loui 03, Lc)

On peut observer une légère dérive des temps de rétention pour un même ester méthylique sur ces chromatogrammes. Elle est due à une valeur de débit de gaz vecteur différente, d'une série de manipulation à l'autre. Dans la mesure où le détecteur utilisé est un détecteur FID, la surface d'un pic est constante quelque soit le débit auquel l'expérience est menée à quantité injectée constante.

Dans notre cas, comme nous avons travaillé par la méthode de l'étalon interne avec une détection FID, le rapport des surfaces des pics à la surface de l'ester de référence, reste donc constante quelque soit le débit auquel l'analyse a été conduite.

Par conséquent, les résultats des analyses quantitatives menées ici sont comparables même si les temps de rétention sont légèrement différents.

Aussi, pour chacune des huiles, une étude de répétabilité a été menée.

Etant donné que l'on veut présenter les résultats sous forme de proportions (pourcentage massique) et non de valeurs absolues (masses), les erreurs ne peuvent pas se calculer « classiquement ».

Le problème posé est de calculer un intervalle de confiance sur une proportion (pourcentage massique dans un mélange) en connaissant les intervalles de confiance sur le numérateur (c'est-à-dire la masse de chaque ester) et le dénominateur (c'est-à-dire la somme des masses de tous les esters présents dans le mélange).

Nous proposons la méthode "intuitive" suivante :

Après obtention des  $n$  ( $n=6$ ) valeurs de  $m_i$  pour chaque EM par étalonnage interne avec coefficient de réponse en CPG, on procède ainsi :

On calcule la moyenne des  $m_i$  :  $\overline{m}_i$  pour chaque ester méthylique (EM), puis ensuite l'intervalle de confiance pour chaque EM selon la formule suivante :

$$\text{Intervalle de confiance pour chaque EM} \quad \text{Im}_i = [m_{i, \text{inf}} ; m_{i, \text{sup}}] = \left[ \overline{m}_i - \frac{t.S_i}{\sqrt{n}} ; \overline{m}_i + \frac{t.S_i}{\sqrt{n}} \right]$$

avec

$s_i$  : l'écart type sur les  $n$  mesures

$n$  : nombre de mesures (dans notre cas,  $n=6$ )

t : paramètre de Student (pour n=6 et une probabilité de 95%,  $t = t_{0,975, 5} = 2,571$ ).

Pour chacun des n essais, on calcule la somme donnant la quantité totale en masse.

L'intervalle de confiance ( $I_{\Sigma m_i}$ ) sur cette somme est alors calculé de la sorte :

$$I_{\Sigma m_i} = [\text{somme } m_{i, \text{inf}}; \text{somme } m_{i, \text{sup}}] = \left[ \bar{m}_{\text{somme}} - \frac{t \cdot s_{\text{somme}}}{\sqrt{N}}; \bar{m}_{\text{somme}} + \frac{t \cdot s_{\text{somme}}}{\sqrt{N}} \right]$$

N: nombre d'éléments différents du mélange

$s_{\text{somme}}$  : écart type de la somme

$$t = t_{0,975, N-1}$$

On calcule alors l'intervalle de confiance final pour chaque EM, ainsi :

$I = [m_{i, \text{inf}}/\text{somme } m_{i, \text{sup}}; m_{i, \text{sup}}/\text{somme } m_{i, \text{inf}}] = [i\%_{\text{inf}}; i\%_{\text{sup}}]$ , le niveau de confiance obtenu étant alors « intuitivement » supérieur à 95%.

Le tableau suivant donne les résultats pour chacune des 34 échantillons d'huiles testées.

Il est à noter que la valeur moyenne vraie se situe dans l'intervalle de confiance défini par  $[i\%_{\text{inf}}; i\%_{\text{sup}}]$ .

En plus des  $i\%_{\text{inf}}$  et  $i\%_{\text{sup}}$  obtenus pour chaque EM, nous avons fait apparaître le % centré pour chacun d'entre eux (tableau XXVIII).

Celui-ci ne représente pas la valeur vraie du pourcentage de chaque EM dans une huile, mais il servira pour les statistiques ultérieures.

Tableau XXVIII : Intervalles de confiance des pourcentages massiques des esters méthyliques des 34 huiles de cucurbitacées analysées

EM	<b>CI Bzv 01</b>			<b>CI Bzv 03</b>		
	i %inf	i %sup	% centré	i %inf	i %sup	% centré
EP	11,0%	12,7%	<b>11,9%</b>	16,3%	16,8%	<b>16,6%</b>
ES	10,8%	12,9%	<b>11,9%</b>	10,6%	10,9%	<b>10,7%</b>
EO	14,2%	16,7%	<b>15,2%</b>	11,6%	11,8%	<b>11,7%</b>
EL	56,8%	65,2%	<b>60,9%</b>	60,4%	61,2%	<b>60,8%</b>
Eln	0,1%	0,2%	<b>0,2%</b>	0,2%	0,2%	<b>0,2%</b>
Total	92,9%	107,6%	<b>100%</b>	99,1%	100,9%	<b>100%</b>
	<b>CI Mouy 03</b>			<b>CI P/N 03</b>		
	i %inf	i %sup	% centré	i %inf	i %sup	% centré
EP	11,6%	11,9%	<b>11,8%</b>	10,6%	12,2%	<b>11,4%</b>
ES	10,4%	10,9%	<b>10,7%</b>	8,1%	9,8%	<b>8,9%</b>
EO	14,2%	14,5%	<b>14,3%</b>	14,2%	16,0%	<b>15,0%</b>
EL	62,1%	64,1%	<b>63,1%</b>	62,5%	66,5%	<b>64,5%</b>
Eln	0,1%	0,2%	<b>0,2%</b>	-0,2%	0,5%	<b>0,2%</b>
Total	98,4%	101,6%	<b>100%</b>	95,2%	105,0%	<b>100%</b>
	<b>CI RCA 04</b>			<b>CI RDC03</b>		
	i %inf	i %sup	% centré	i %inf	i %sup	% centré
EP	8,6%	9,7%	<b>9,1%</b>	11,6%	12,0%	<b>11,8%</b>
ES	10,1%	11,4%	<b>10,8%</b>	10,1%	10,8%	<b>10,5%</b>
EO	14,6%	16,1%	<b>15,3%</b>	15,7%	16,7%	<b>16,2%</b>
EL	62,3%	67,2%	<b>64,7%</b>	59,9%	61,9%	<b>60,9%</b>
Eln	0,0%	0,1%	<b>0,1%</b>	0,6%	0,7%	<b>0,6%</b>
Total	95,6%	104,5%	<b>100%</b>	97,9%	102,2%	<b>100%</b>
	<b>Mbi 03</b>			<b>Cp Bzv 01</b>		
	i %inf	i %sup	% centré	i %inf	i %sup	% centré
EP	10,8%	11,5%	<b>11,1%</b>	15,7%	16,1%	<b>15,9%</b>
ES	7,3%	7,5%	<b>7,4%</b>	10,3%	10,7%	<b>10,5%</b>
EO	19,0%	19,2%	<b>19,1%</b>	10,9%	11,4%	<b>11,2%</b>
EL	61,8%	62,7%	<b>62,3%</b>	61,3%	63,2%	<b>62,3%</b>
Eln	0,0%	0,1%	<b>0,0%</b>	0,2%	0,2%	<b>0,2%</b>
Total	98,9%	101,1%	<b>100%</b>	98,4%	101,6%	<b>100%</b>
	<b>Cp Kibo 03</b>			<b>Cp MbK 02</b>		
	i %inf	i %sup	% centré	i %inf	i %sup	% centré
EP	15,2%	18,4%	<b>17,0%</b>	13,8%	17,3%	<b>15,5%</b>
ES	7,6%	12,4%	<b>10,0%</b>	9,9%	12,1%	<b>10,9%</b>
EO	12,7%	15,7%	<b>14,4%</b>	13,2%	16,2%	<b>14,6%</b>
EL	53,1%	64,8%	<b>58,0%</b>	52,9%	64,9%	<b>58,4%</b>
Eln	0,0%	1,2%	<b>0,6%</b>	0,1%	0,4%	<b>0,3%</b>
Total	88,7%	112,6%	<b>100%</b>	89,9%	110,9%	<b>100%</b>
	<b>Cp P/N 03</b>			<b>Cp Tshi 03</b>		
	i %inf	i %sup	% centré	i %inf	i %sup	% centré
EP	16,1%	16,7%	<b>16,4%</b>	15,7%	16,9%	<b>16,4%</b>
ES	10,7%	11,1%	<b>10,9%</b>	9,4%	13,9%	<b>11,6%</b>
EO	16,5%	16,9%	<b>16,7%</b>	10,9%	12,3%	<b>11,6%</b>
EL	54,8%	55,8%	<b>55,4%</b>	57,7%	62,2%	<b>60,2%</b>

Eln	0,6%	0,9%	<b>0,7%</b>	0,4%	0,9%	<b>0,6%</b>
Total	98,7%	101,3%	<b>100%</b>	94,1%	106,2%	<b>100%</b>
	<b>Cp Plat 05</b>			<b>Cp Cam</b>		
	i %inf	i %sup	<b>% centré</b>	i %inf	i %sup	<b>% centré</b>
EP	16,7%	17,6%	<b>17,2%</b>	11,0%	12,4%	<b>11,7%</b>
ES	9,6%	10,3%	<b>10,0%</b>	4,9%	6,7%	<b>5,8%</b>
EO	13,8%	14,7%	<b>14,3%</b>	10,1%	10,9%	<b>10,5%</b>
EL	55,9%	59,3%	<b>57,6%</b>	70,1%	71,5%	<b>70,8%</b>
Eln	0,8%	1,3%	<b>1,1%</b>	0,5%	1,9%	<b>1,2%</b>
Total	96,8%	103,3%	<b>100%</b>	96,6%	103,4%	<b>100%</b>
	<b>Cp RCA 04</b>			<b>Cp RDC 03</b>		
	i %inf	i %sup	<b>% centré</b>	i %inf	i %sup	<b>% centré</b>
EP	15,3%	17,7%	<b>16,5%</b>	15,4%	19,6%	<b>17,4%</b>
ES	10,0%	11,5%	<b>10,7%</b>	9,8%	11,9%	<b>10,8%</b>
EO	11,1%	12,6%	<b>11,9%</b>	12,3%	14,5%	<b>13,4%</b>
EL	57,5%	64,3%	<b>60,8%</b>	53,8%	62,4%	<b>58,0%</b>
Eln	0,1%	0,2%	<b>0,2%</b>	0,3%	0,7%	<b>0,5%</b>
Total	94,0%	106,3%	<b>100%</b>	91,6%	109,0%	<b>100%</b>
	<b>Cs Cam</b>			<b>NTS Mouy 03</b>		
	i %inf	i %sup	<b>% centré</b>	i %inf	i %sup	<b>% centré</b>
EP	17,1%	19,1%	<b>18,1%</b>	14,2%	14,5%	<b>14,4%</b>
ES	8,6%	9,6%	<b>9,1%</b>	25,4%	25,6%	<b>25,5%</b>
EO	13,5%	15,1%	<b>14,3%</b>	25,7%	26,0%	<b>25,8%</b>
EL	57,7%	58,5%	<b>58,1%</b>	33,7%	34,7%	<b>34,2%</b>
Eln	0,0%	1,0%	<b>0,5%</b>	0,1%	0,1%	<b>0,1%</b>
Total	96,9%	103,3%	<b>100%</b>	99,0%	101,0%	<b>100%</b>
	<b>Cmo Cam</b>			<b>Cmo Bzv 01</b>		
	i %inf	i %sup	<b>% centré</b>	i %inf	i %sup	<b>% centré</b>
EP	12,8%	14,4%	<b>13,6%</b>	14,7%	15,5%	<b>15,1%</b>
ES	4,5%	5,9%	<b>5,2%</b>	7,9%	8,7%	<b>8,3%</b>
EO	40,0%	41,0%	<b>40,5%</b>	34,3%	36,2%	<b>35,2%</b>
EL	38,8%	40,4%	<b>39,6%</b>	39,9%	42,5%	<b>41,2%</b>
Eln	0,2%	1,8%	<b>1,0%</b>	0,2%	0,2%	<b>0,2%</b>
Total	96,3%	103,5%	<b>100%</b>	97,0%	103,1%	<b>100%</b>
	<b>Cmo Bzv' 02</b>			<b>Cmo MbK 02</b>		
	i %inf	i %sup	<b>% centré</b>	i %inf	i %sup	<b>% centré</b>
EP	12,5%	16,1%	<b>14,3%</b>	15,4%	15,9%	<b>15,7%</b>
ES	7,2%	7,9%	<b>7,5%</b>	7,9%	8,2%	<b>8,0%</b>
EO	32,0%	34,7%	<b>33,3%</b>	31,0%	32,0%	<b>31,5%</b>
EL	42,9%	46,5%	<b>44,7%</b>	43,9%	45,6%	<b>44,8%</b>
Eln	0,1%	0,2%	<b>0,2%</b>	0,0%	0,2%	<b>0,1%</b>
Total	94,8%	105,5%	<b>100%</b>	98,2%	101,8%	<b>100%</b>
	<b>Cmo Mouy 03</b>			<b>Cmo Mouy' 03</b>		
	i %inf	i %sup	<b>% centré</b>	i %inf	i %sup	<b>% centré</b>
EP	13,3%	16,6%	<b>14,9%</b>	14,4%	15,9%	<b>15,1%</b>
ES	6,8%	8,9%	<b>7,8%</b>	5,3%	12,3%	<b>8,6%</b>
EO	32,3%	38,8%	<b>35,4%</b>	33,7%	37,3%	<b>35,5%</b>
EL	38,3%	45,4%	<b>41,7%</b>	39,0%	42,4%	<b>40,7%</b>
Eln	0,1%	0,2%	<b>0,2%</b>	0,1%	0,2%	<b>0,1%</b>

Total	90,9%	110,0%	<b>100%</b>	92,4%	108,0%	<b>100%</b>
	<b>Cmo P/N 03</b>			<b>Cmo Plat 05</b>		
	i %inf	i %sup	<b>% centré</b>	i %inf	i %sup	<b>% centré</b>
EP	14,7%	15,3%	<b>15,0%</b>	15,3%	17,4%	<b>16,3%</b>
ES	7,0%	8,3%	<b>7,6%</b>	5,4%	6,9%	<b>6,1%</b>
EO	34,6%	36,3%	<b>35,4%</b>	32,3%	36,3%	<b>34,2%</b>
EL	41,3%	42,3%	<b>41,8%</b>	39,4%	44,5%	<b>41,9%</b>
Eln	0,0%	0,2%	<b>0,1%</b>	1,3%	1,6%	<b>1,4%</b>
Total	97,7%	102,3%	<b>100%</b>	93,7%	106,7%	<b>100%</b>
	<b>Ls Kiboué 03</b>			<b>Ls Loui 03</b>		
	i %inf	i %sup	<b>% centré</b>	i %inf	i %sup	<b>% centré</b>
EP	11,6%	14,1%	<b>12,9%</b>	12,5%	13,0%	<b>12,7%</b>
ES	6,1%	7,5%	<b>6,8%</b>	7,3%	7,6%	<b>7,4%</b>
EO	10,1%	12,6%	<b>11,3%</b>	11,2%	11,7%	<b>11,5%</b>
EL	61,6%	76,3%	<b>68,8%</b>	67,3%	69,2%	<b>68,3%</b>
Eln	0,2%	1,0%	<b>0,6%</b>	0,0%	0,1%	<b>0,0%</b>
Total	89,5%	111,5%	<b>100%</b>	98,4%	101,6%	<b>100%</b>
	<b>Ls Mat 03</b>			<b>Ls MbNd 03</b>		
	i %inf	i %sup	<b>% centré</b>	i %inf	i %sup	<b>% centré</b>
EP	12,3%	13,6%	<b>12,9%</b>	13,0%	13,8%	<b>13,4%</b>
ES	6,6%	7,2%	<b>6,9%</b>	6,0%	7,0%	<b>6,5%</b>
EO	12,1%	13,0%	<b>12,6%</b>	10,5%	12,1%	<b>11,3%</b>
EL	64,8%	70,2%	<b>67,4%</b>	68,0%	68,8%	<b>68,4%</b>
Eln	0,0%	0,2%	<b>0,1%</b>	0,0%	0,8%	<b>0,4%</b>
Total	96,0%	104,2%	<b>100%</b>	97,5%	102,5%	<b>100%</b>
	<b>Ls Cam</b>			<b>Ls Niger</b>		
	i %inf	i %sup	<b>% centré</b>	i %inf	i %sup	<b>% centré</b>
EP	12,7%	14,2%	<b>13,4%</b>	15,2%	17,2%	<b>16,2%</b>
ES	5,0%	5,9%	<b>5,4%</b>	7,5%	9,1%	<b>8,3%</b>
EO	9,8%	11,1%	<b>10,4%</b>	22,0%	23,2%	<b>22,6%</b>
EL	64,5%	75,7%	<b>69,9%</b>	50,5%	51,9%	<b>51,2%</b>
Eln	0,3%	1,4%	<b>0,9%</b>	0,7%	2,9%	<b>1,8%</b>
Total	92,3%	108,3%	<b>100%</b>	95,9%	104,3%	<b>100%</b>
	<b>Ls RCA 04</b>			<b>Lc</b>		
	i %inf	i %sup	<b>% centré</b>	i %inf	i %sup	<b>% centré</b>
EP	13,0%	15,2%	<b>14,2%</b>	14,2%	15,8%	<b>15,0%</b>
ES	5,0%	5,8%	<b>5,4%</b>	10,7%	11,5%	<b>11,1%</b>
EO	11,9%	14,1%	<b>13,0%</b>	39,3%	40,4%	<b>39,8%</b>
EL	65,0%	66,8%	<b>65,9%</b>	33,5%	34,4%	<b>34,0%</b>
Eln	1,0%	2,2%	<b>1,6%</b>	0,1%	0,2%	<b>0,1%</b>
Total	95,9%	104,1%	<b>100%</b>	97,8%	102,2%	<b>100%</b>

Afin de mettre en évidence la part respective d'acides gras saturés (AG : EP+ES) et insaturés (AGI : EO+EL+Eln), nous les avons regroupés et fait le rapport acides gras saturés/acides gras insaturés mentionnés dans le tableau ci-après qui montre aussi la part d'acides gras essentiels (AGE), composés de EL et Eln.

Tableau XXIX : Teneurs en AG, AGI et en AGE des Cucurbitacées  
(en %)

				AG	AGI	AGI/AG	AGE
	EO	EL	Eln	EP+ES	EO+EL+Eln	EO+EL+Eln /ES+EP	EL+Eln
CI BZV 01	15,2	60,9	0,2	23,8	76,3	3,2	61,1
CI Bzv 03	11,7	60,8	0,2	27,3	72,7	2,7	61
CI Mouy 03	14,3	63,1	0,2	22,5	77,6	3,4	63,3
CI P/N 03	15,0	64,5	0,2	20,3	79,7	3,9	64,7
CI RCA 04	15,3	64,7	0,1	19,9	80,1	4,0	64,8
CI RDC03	16,2	60,9	0,6	22,3	77,7	3,5	61,5
Mbi 03	19,1	62,3	0,0	18,5	81,44	4,4	62,34
Cp BZV 01	11,2	62,3	0,2	26,4	73,7	2,8	62,5
Cp Kibo 03	14,4	58,0	0,6	27	73	2,7	58,6
Cp MbK 02	14,6	58,4	0,3	26,7	73,3	2,7	58,7
Cp P/N 03	16,7	55,4	0,7	27,3	72,8	2,7	56,1
Cp Tshi 03	11,5	60,2	0,6	27,7	72,3	2,6	60,8
Cp Plat 05	14,3	57,6	1,1	27	73	2,7	58,7
Cp Cam	10,5	70,8	1,2	17,5	82,5	4,7	72
Cp RCA 04	11,9	60,8	0,2	27,2	72,9	2,7	61
Cp RDC 03	13,4	58,0	0,5	28,2	71,9	2,5	58,5
Cs Cam	14,3	58,1	0,5	27,2	72,9	2,7	58,6
NTS Mouy 03	25,8	34,2	0,1	39,9	60,1	1,5	34,3
Cmo Cam	40,5	39,6	1,0	18,8	81,1	4,3	40,6
Cmo Bzv 01	35,2	41,2	0,2	23,4	76,6	3,3	41,4
Cmo Bzv' 02	33,3	44,7	0,2	21,8	78,2	3,6	44,9
Cmo MbK 02	31,5	44,8	0,1	23,7	76,4	3,2	44,9
Cmo Mouy 03	35,4	41,7	0,2	22,7	77,3	3,4	41,9
Cmo Mouy' 03	35,5	40,7	0,1	23,7	76,3	3,2	40,8
Cmo P/N 03	35,4	41,8	0,1	22,6	77,3	3,4	41,9
Cmo Plat 05	34,2	41,9	1,4	22,4	77,5	3,5	43,3
Ls Kiboué 03	11,3	68,8	0,6	19,4	80,7	4,2	69,4
Ls Loui 03	11,5	68,3	0,0	20,1	79,8	4,0	68,3
Ls Mat 03	12,6	67,4	0,1	19,8	80,1	4,0	67,5
Ls MbNd 03	11,3	68,4	0,4	19,9	80,1	4,0	68,8
Ls Cam	10,4	69,9	0,9	18,8	81,2	4,3	70,8
Ls Niger	22,6	51,2	1,8	24,4	75,6	3,1	53
Ls RCA 04	13,0	65,9	1,6	19,6	80,5	4,1	67,5
Lc	39,8	34,0	0,1	26,1	73,9	2,8	34,1

## 2. Composition en triacylglycérols

### 2. 1. Résultats d'analyse qualitative des TAG

Pour l'ensemble des huiles analysées, on a identifié six TAG majeurs dont les hauteurs ont plus de 100 mV et douze TAG mineurs dont les hauteurs mesurent moins de 100 mV. Tous ceux dont la hauteur est inférieure à trois fois le bruit de fond (c'est à dire inférieure à la limite de détection) n'ont pas été considérés.

Tableau XXX : TAG identifiés

TAG majeurs (6)	LLL, OLL, PLL, OOL, SLL, POL
TAG mineurs et traces (12)	LnLnLn, LLnLn, LLLn, PPL, OOO, SOL, POO, PSL, PPO, SOO, SSL, PSO

Comme pour les esters méthyliques, un seul chromatogramme de chacune des huit espèces est reporté (figures 15 et 16) du fait de la ressemblance des profils obtenus pour une huile issue d'une même espèce.

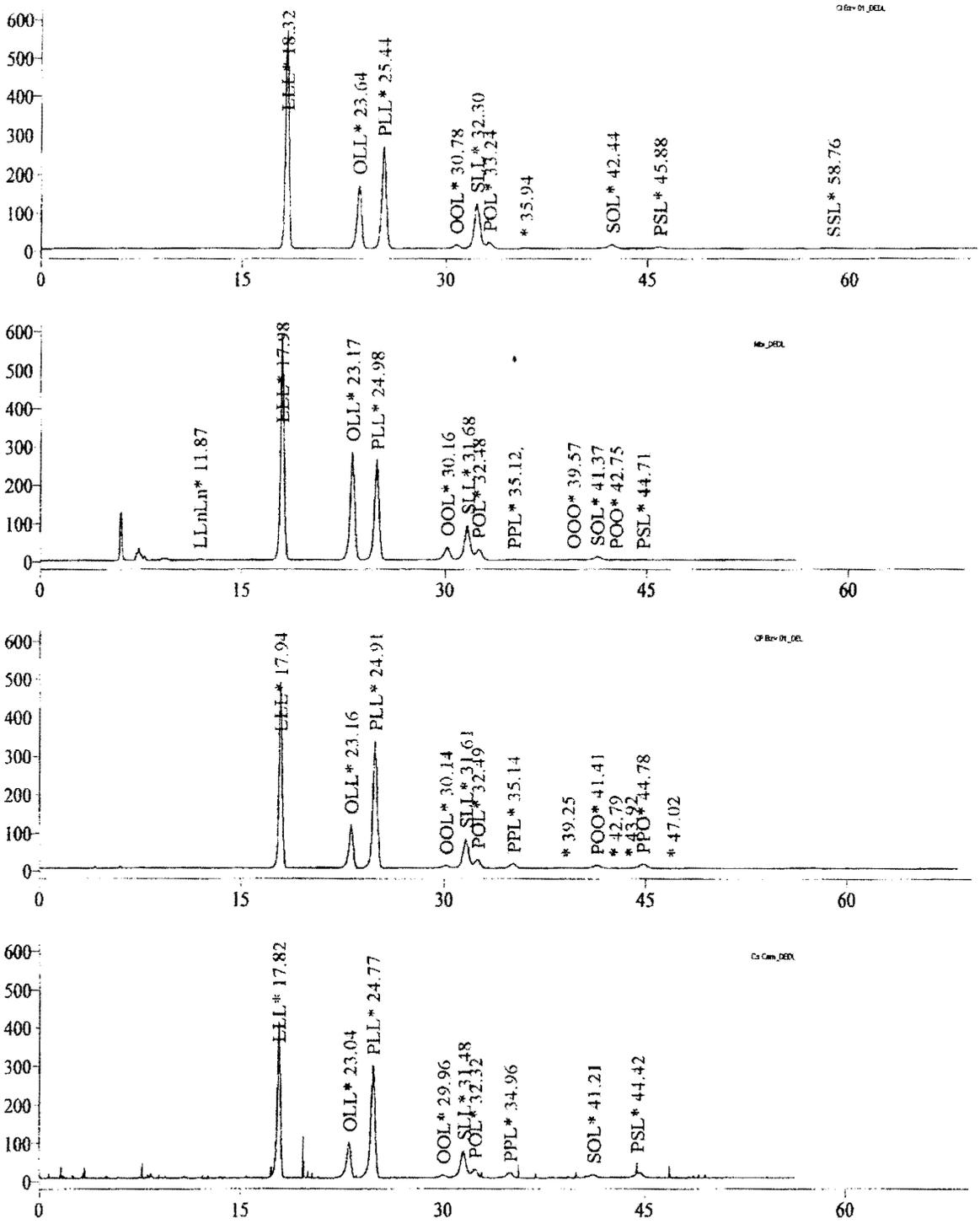


Figure 16 : Chromatogrammes de 4 espèces de cucurbitacées

(Cl Bzv 01, Mbi, Cp Bzv01, Cs Cam)

Analyse en isocratique

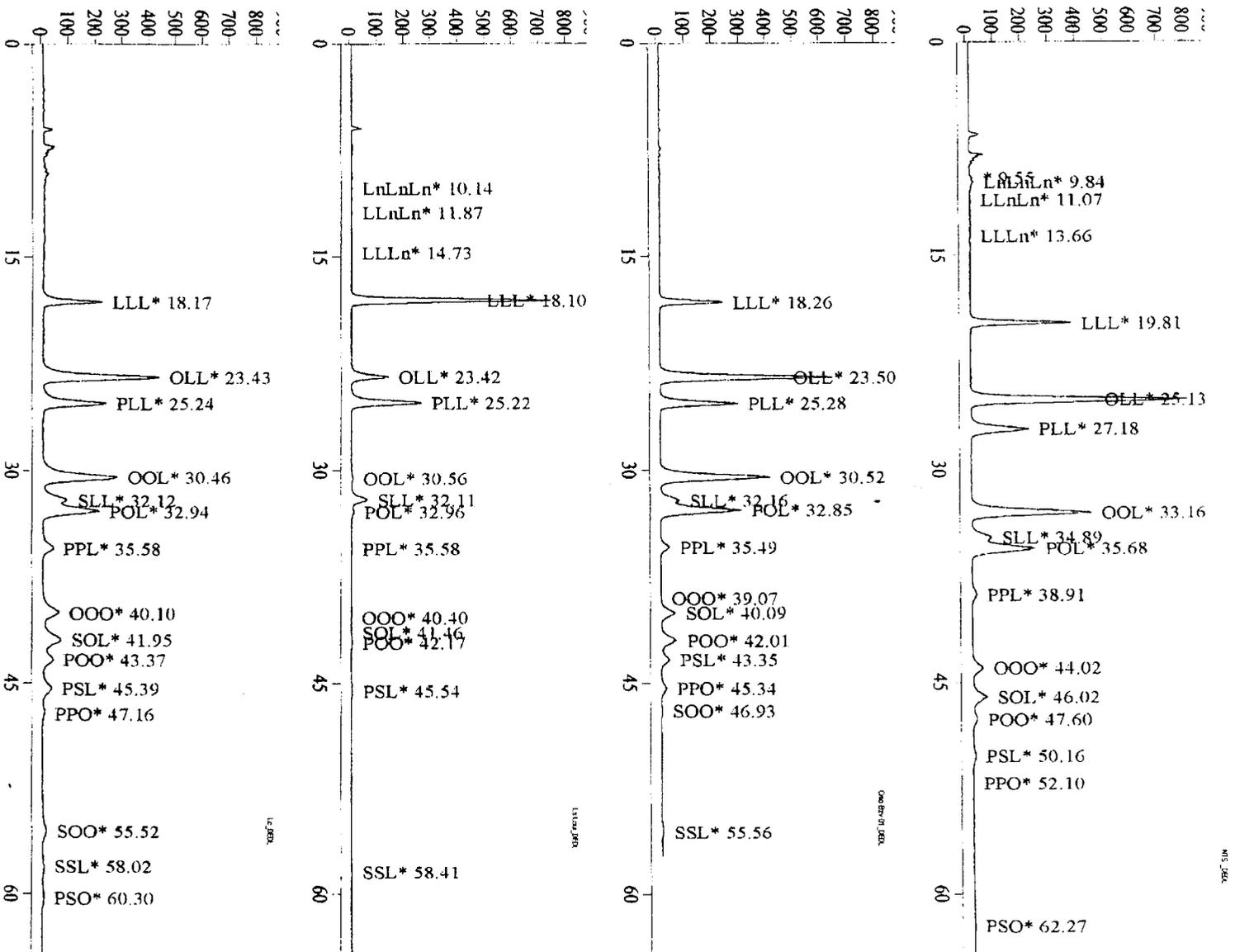


Figure 17 : Chromatogrammes de 4 espèces de cucurbitacées  
(NTS Mouy 03, Cmo Bzv 01, Es Loui 03, Lc)

Analyse en isocratique

## 2. 2. Résultats d'analyse quantitative des TAG

Rappelons que le problème de l'analyse quantitative des TAG en DEDL, a pour cause le manque de linéarité des courbes de réponse d'une part et d'autre part l'inexistence des standards de tous les TAG dans le commerce.

Nous avons envisagé deux démarches analytiques pour doser malgré tout, les TAG des huiles de cucurbitacées, ceci fait l'objet du paragraphe suivant.

### **II : Démarche analytique pour l'analyse quantitative des TAG**

Une première série d'essais réalisés auparavant au laboratoire [138, 139] a tenté de rendre directement linéaires les courbes de calibration  $A = a.m^b$ , c'est à dire trouver des conditions pour lesquelles  $b = 1$ . En effet, ces travaux ont consisté à intervenir sur le diamètre des particules diffusantes, sachant que ce diamètre dépend lui-même du diamètre des gouttelettes de l'aérosol formé dans la chambre de nébulisation. Il s'agissait de modifier la nature et la température du gaz de nébulisation, la température de la chambre de nébulisation, ou encore la composition de la phase mobile en sortie de colonne [139]. Par ailleurs, par la méthode d'ajouts post-colonne [138], il a été montré que l'on pouvait moduler la réponse du coefficient de réponse du DEDL, en infusant en sortie de colonne, des composés capables de complexer les TAG de façon à augmenter la taille des particules diffusantes, et faire tendre par conséquent, la valeur de  $b$  vers 1 (plus les particules sont grosses, plus la valeur de  $b$  diminue).

Cependant, cette méthode est délicate à mettre en œuvre à cause de l'ajout post-colonne qui nécessite des débits très faibles (50 $\mu$ l/min). En plus ces études ont montré que  $b$  tendait certes vers 1, mais dans cette même étude il a été montré qu'il n'était pas possible d'obtenir avec le même ajout post colonne des valeurs où  $b$  était exactement égal à 1 pour tous les TAG.

Utiliser les ajouts post colonne pour rendre linéaire la réponse d'un DEDL n'est donc efficace que dans la mesure où un seul TAG est à doser.

Pour contourner ce problème et mener à bien une analyse quantitative sur un mélange de plusieurs TAG dont on ne dispose pas de tous les échantillons témoins, nous avons travaillé en relatif en prenant le triacylglycérol PLL en référence. Ce composé a été choisi comme

étalon interne car il est présent dans l'ensemble des huiles à analyser avec une aire significative.

Rappelons que tous les triacylglycérols ne répondent pas tous de la même façon.

En conséquence, pour toutes les analyses, nous avons injecté une quantité massique constante de PLL (par modulation de la concentration et du volume injecté). De cette manière, quel que soient les chromatogrammes, l'aire du pic correspondant au PLL est toujours constante.

En comparant le rapport Aire d'un TAG donné / Aire du PLL, pour les différentes huiles analysées, pour un triacylglycérol donné, plus ce chiffre sera élevé, plus l'huile sera riche en ce triacylglycérol.

Les valeurs d'aires des TAG rapportées à celles de PLL, sont indiquées dans le tableau ci-dessous.

Tableau XXXI : Valeurs des aires des TAG rapportées à celle de PLL pris comme étalon interne (en gras, les TAG majeurs)

AiresTG/PLL	LnLnLn	LLnLn	LLLn	<b>LLL</b>	<b>OLL</b>	<b>PLL</b>	<b>OOL</b>	<b>SLL</b>	<b>POL</b>
Cl BZV 01	0,000	0,000	0,000	1,622	0,608	1,000	0,050	0,568	0,085
Cl Bzv 03	0,000	0,000	0,000	1,180	0,288	1,000	0,019	0,333	0,072
Cl Mouy 03	0,000	0,000	0,000	1,941	0,590	1,000	0,041	0,532	0,053
Cl P/N 03	0,000	0,002	0,001	2,058	0,641	1,000	0,061	0,448	0,058
Cl RCA 04	0,000	0,007	0,001	1,958	1,016	1,000	0,077	0,634	0,096
Cl RDC03	0,000	0,002	0,000	1,684	0,617	1,000	0,061	0,531	0,072
Mbi 03	0,000	0,000	0,001	1,692	1,075	1,000	0,171	0,434	0,143
Cp BZV 01	0,000	0,001	0,000	1,341	0,326	1,000	0,018	0,315	0,067
Cp Kibo 03	0,003	0,001	0,000	0,963	0,222	1,000	0,030	0,305	0,017
Cp MbK 02	0,000	0,000	0,000	1,047	0,316	1,000	0,033	0,348	0,134
Cp P/N 03	0,006	0,002	0,003	0,908	0,351	1,000	0,060	0,306	0,137
Cp Tshi 03	0,001	0,000	0,000	1,221	0,299	1,000	0,017	0,362	0,075
Cp Plat 05	0,000	0,000	0,000	1,094	0,464	1,000	0,075	0,461	0,158
Cp Cam	0,000	0,000	0,000	2,290	0,657	1,000	0,038	0,603	0,062
Cp RCA 04	0,000	0,000	0,001	1,011	0,292	1,000	0,018	0,346	0,085
Cp RDC 03	0,000	0,000	0,000	1,030	0,318	1,000	0,030	0,228	0,102
Cs Cam	0,000	0,000	0,000	0,983	0,323	1,000	0,031	0,319	0,099
NTS Mouy 03	0,001	0,019	0,000	0,468	1,221	1,000	0,863	0,321	1,068
Cmo Cam	0,000	0,000	0,000	0,837	4,397	1,000	5,342	2,904	0,000
Cmo Bzv 01	0,001	0,003	0,000	0,706	2,343	1,000	1,947	0,402	1,317
Cmo Bzv' 02	0,000	0,002	0,018	1,022	2,862	1,000	2,118	0,279	1,411
Cmo MbK 02	0,002	0,001	0,005	0,746	1,680	1,000	1,016	0,253	0,971
Cmo Mouy 03	0,000	0,000	0,000	0,608	2,117	1,000	1,735	0,216	1,379
Cmo Mouy' 03	0,000	0,000	0,002	0,633	2,255	1,000	1,903	0,276	1,420
Cmo P/N 03	0,001	0,002	0,003	0,706	2,228	1,000	1,833	0,382	1,251
Cmo Plat 05	0,000	0,000	0,000	0,671	1,744	1,000	1,474	0,414	1,169
Ls Kiboué 03	0,001	0,001	0,000	2,142	0,445	1,000	0,026	0,224	0,041
Ls Loui 03	0,001	0,002	0,002	2,038	0,485	1,000	0,024	0,279	0,047
Ls Mat 03	0,002	0,001	0,001	1,726	0,501	1,000	0,029	0,242	0,047
Ls MbNd 03	0,001	0,001	0,005	2,115	0,462	1,000	0,020	0,230	0,035
Ls Cam	0,000	0,000	0,000	1,978	0,367	1,000	0,025	0,183	0,025
Ls Niger	0,000	0,000	0,000	1,172	0,646	1,000	0,233	0,278	0,416
Ls RCA 04	0,001	0,002	0,002	1,486	0,433	1,000	0,017	0,260	0,050
Lc	0,000	0,000	0,002	0,402	1,880	1,000	3,014	0,513	2,437

AiresTG/PLL	PPL	OOO	SOL	POO	PSL	PPO	SOO	SSL	PSO
CI BZV 01	0,009	0,000	0,069	0,000	0,013	0,000	0,000	0,017	0,000
CI Bzv 03	0,056	0,000	0,032	0,000	0,072	0,000	0,000	0,010	0,000
CI Mouy 03	0,004	0,000	0,044	0,000	0,010	0,000	0,000	0,011	0,000
CI P/N 03	0,005	0,000	0,001	0,037	0,001	0,006	0,000	0,000	0,000
CI RCA 04	0,010	0,000	0,006	0,093	0,004	0,030	0,002	0,015	0,000
CI RDC03	0,008	0,002	0,002	0,002	0,015	0,000	0,000	0,005	0,000
Mbi 03	0,007	0,010	0,055	0,000	0,005	0,000	0,000	0,000	0,000
Cp BZV 01	0,044	0,000	0,030	0,000	0,061	0,000	0,000	0,012	0,000
Cp Kibo 03	0,217	0,000	0,028	0,000	0,043	0,000	0,000	0,011	0,000
Cp MbK 02	0,052	0,000	0,040	0,000	0,063	0,000	0,000	0,017	0,000
Cp P/N 03	0,059	0,009	0,064	0,009	0,074	0,003	0,007	0,016	0,005
Cp Tshi 03	0,055	0,000	0,032	0,000	0,065	0,000	0,000	0,000	0,000
Cp Plat 05	0,133	0,019	0,129	0,020	0,182	0,011	0,014	0,079	0,019
Cp Cam	0,005	0,000	0,047	0,000	0,168	0,000	0,000	0,000	0,000
Cp RCA 04	0,064	0,000	0,000	0,033	0,000	0,076	0,000	0,010	0,000
Cp RDC 03	0,053	0,001	0,034	0,001	0,052	0,000	0,001	0,005	0,000
Cs Cam	0,060	0,000	0,044	0,000	0,081	0,000	0,000	0,000	0,000
NTS Mouy 03	0,204	0,198	0,280	0,112	0,131	0,019	0,017	0,002	0,000
Cmo Cam	0,140	1,000	0,982	0,432	0,000	0,147	0,022	0,000	0,000
Cmo Bzv 01	0,151	0,364	0,428	0,201	0,148	0,010	0,058	0,011	0,015
Cmo Bzv' 02	0,115	0,115	0,371	0,174	0,095	0,010	0,000	0,000	0,018
Cmo MbK 02	0,121	0,125	0,125	0,093	0,098	0,000	0,026	0,011	0,010
Cmo Mouy 03	0,146	0,146	0,356	0,176	0,132	0,013	0,062	0,000	0,000
Cmo Mouy' 03	0,142	0,357	0,388	0,169	0,110	0,009	0,040	0,015	0,010
Cmo P/N 03	0,142	0,345	0,414	0,167	0,129	0,017	0,056	0,016	0,014
Cmo Plat 05	0,228	0,424	0,482	0,357	0,252	0,060	0,122	0,055	0,058
Ls Kiboué 03	0,024	0,000	0,010	0,000	0,009	0,000	0,000	0,000	0,000
Ls Loui 03	0,011	0,002	0,004	0,017	0,016	0,000	0,000	0,007	0,000
Ls Mat 03	0,014	0,000	0,000	0,010	0,008	0,000	0,000	0,000	0,000
Ls MbNd 03	0,013	0,000	0,000	0,011	0,012	0,000	0,000	0,000	0,000
Ls Cam	0,007	0,000	0,029	0,000	0,013	0,000	0,000	0,000	0,000
Ls Niger	0,063	0,036	0,169	0,033	0,092	0,006	0,013	0,014	0,000
Ls RCA 04	0,012	0,000	0,000	0,014	0,000	0,012	0,000	0,001	0,000
Lc	0,318	0,318	1,153	0,615	0,407	0,055	0,299	0,070	0,062

Nous reprecisons que par cette procedure, on ne realise pas une analyse quantitative exacte mais plutot une analyse semi-quantitative. On ne fait que comparer les aires de tous les TAG a celle PLL, ce qui engendre une perte d'information, car la quantite de PLL (un des TAG majeurs) peut etre variable d'une huile sur une autre et la methode relative ne tient pas compte de cette grandeur.

Nous avons alors tire a profit un phenomene classiquement observe lors de l'utilisation de DEDL, pour mettre au point une nouvelle facon d'aborder l'analyse quantitative de melanges

complexes avec ce type de détection, lorsqu'on ne dispose pas de tous les échantillons témoins.

D'une manière générale, il se pose un problème de reproductibilité et de fidélité intermédiaire des réponses d'un DEDL. Les paramètres a et b des courbes d'étalonnage peuvent varier de manière assez significative d'un jour à l'autre. Néanmoins, comme cela a aussi été signalé dans la littérature[139-144], on s'est aperçu que si b augmentait, log a changeait aussi.

A l'occasion des études effectuées au laboratoire avec les ajouts post colonne sur des standards de TAG, une relation linéaire entre b et log a. a été mise en évidence. Cela peut s'observer sur la figure ci-dessous montrant le tracé de b en fonction de log a pour deux TAG étudiés (CCC et LLL) avec une phase mobile donnée (MeCN/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> 65/35 ) et des ajouts post colonne de différents solvants[138].

De cette constatation, si elle s'avère générale, il était facilement déductible en réarrangeant l'équation  $A = amb$  d'obtenir les valeurs de a et b pour n'importe quel soluté et par suite connaissant A, de remonter à m quel que soit le nombre et la nature des solutés constitutifs d'un mélange complexe.

Le graphique ci-dessous met en évidence le fuseau des deux triacylglycérols, CCC et LLL.

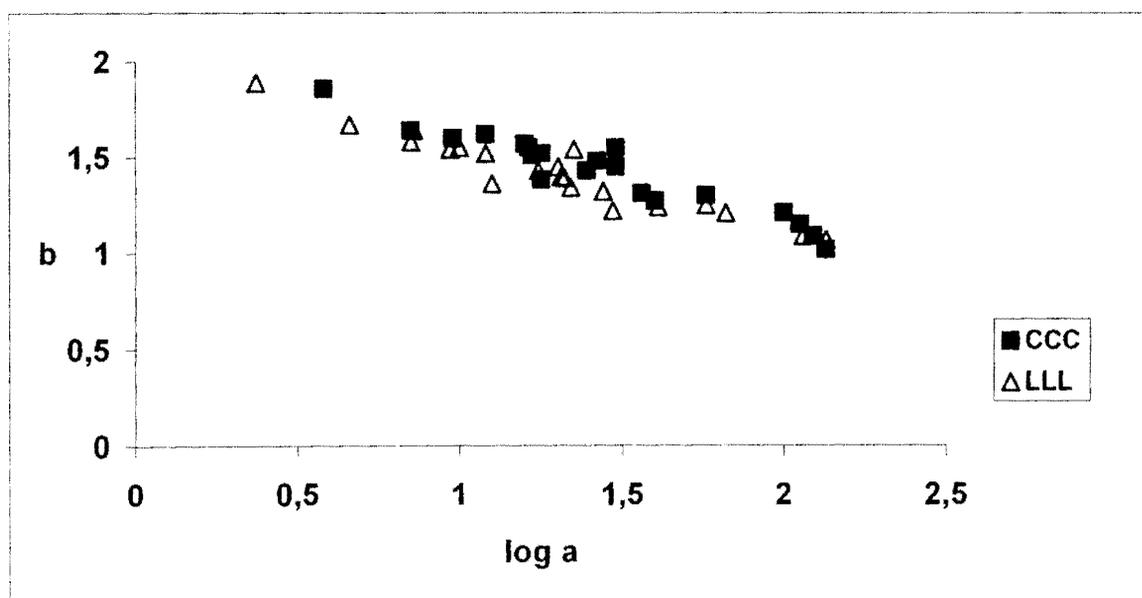


Figure 18 : b vs log a pour deux TAG (CCC et LLL)

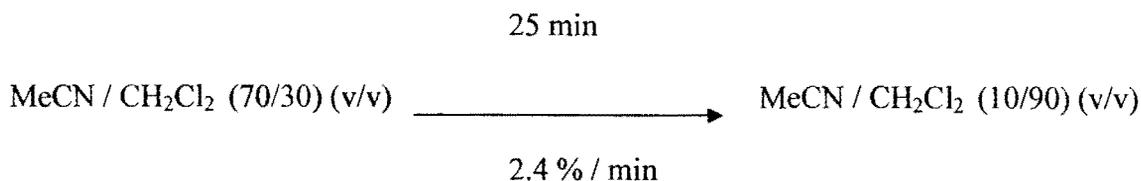
Dans un premier temps, nous avons donc cherché à démontrer que la corrélation linéaire entre  $\log a$  et  $b$  était un phénomène général en chromatographie liquide non aqueuse (NARP). Pour cela, nous avons mis au point un gradient d'élution permettant l'analyse simultanée de différents composés analysables en NARP et de structures chimiques différentes.

### 1. Mise au point du gradient d'élution

Les différents composés qui ont servi pour l'étalonnage, ont été des TAG saturés, insaturés homogènes, TAG mixtes, alcools éthoxylés et cérides (cf. pages 110 et 111).

Sachant que la réponse en DEDL dépend de la température du tube évaporateur [128], des études ont été menées à trois températures différentes (40, 50 et 60°C) afin de voir la dispersion des valeurs obtenues pour  $\log a$  et  $b$ .

Un gradient d'élution dont les conditions sont reprises ci-dessous a été mis au point pour une séparation parfaite des différents composés témoins.



Débit de 1ml / min.

Les chromatogrammes obtenus sont représentés par les figures suivantes.

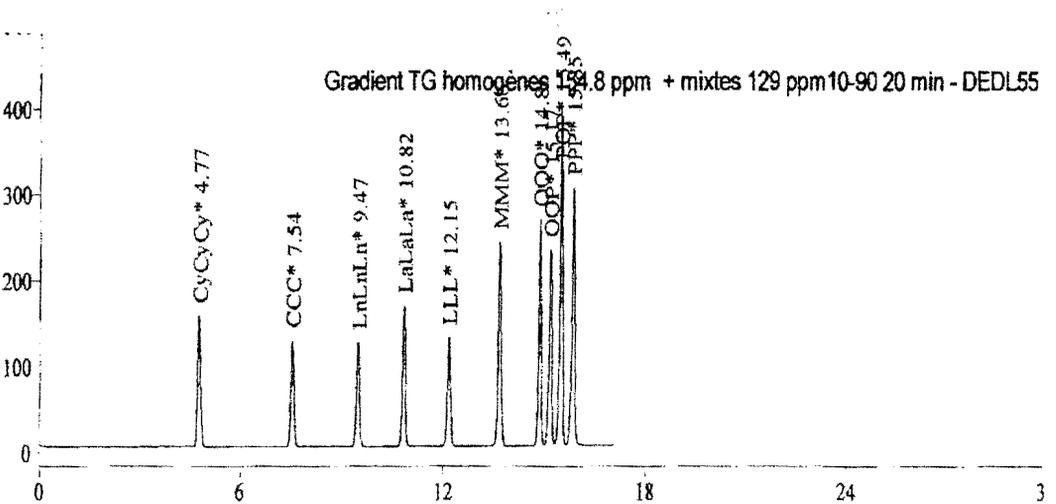
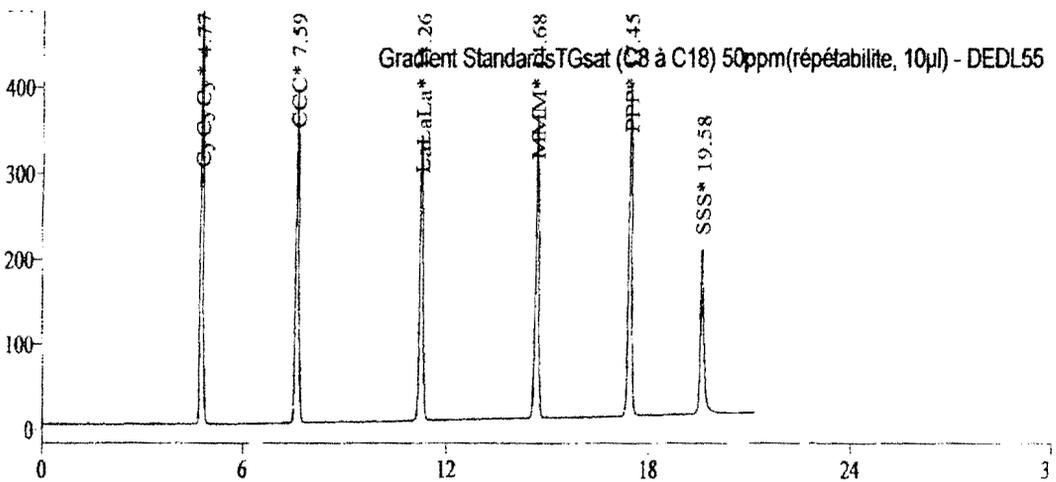
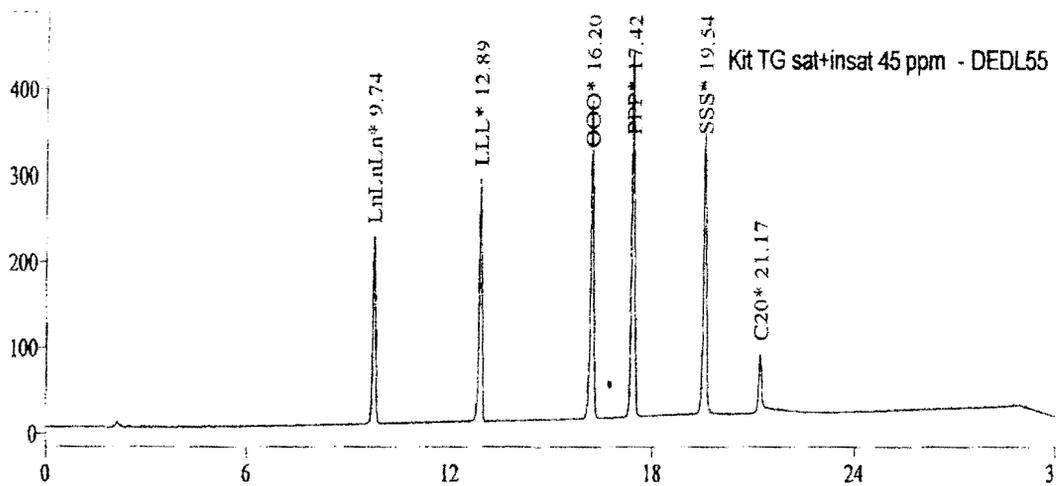


Figure 19 : Chromatogrammes des TAG insaturés, saturés, homogènes et mixtes.  
Analyse en gradient

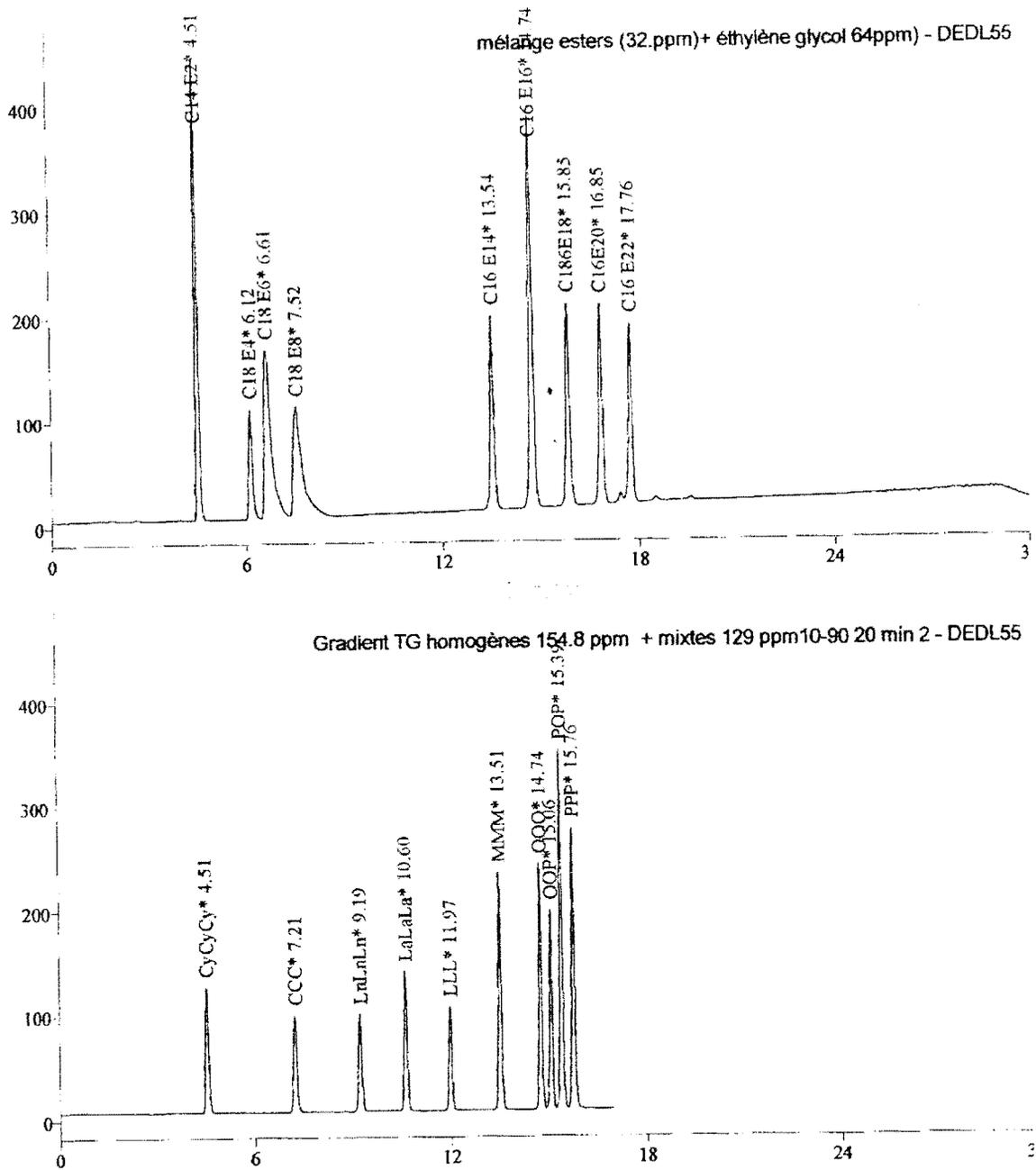


Figure 20: Chromatogrammes des alcools éthoxylés, des cérides et de tous les TAG  
Analyse en gradient

### 1. 1. Tests de reproductibilité

Une étude de fidélité intermédiaire en temps a été réalisée en établissant la même courbe d'étalonnage deux jours de suite, excepté à 60°C où un seul essai a été réalisé, les valeurs de

loga et de b étant proches de celles obtenues à 50°C. Les résultats obtenus sont présentés dans le tableau ci-après.

Tableau XXXII : Tests de reproductibilité

TAG homogènes										
	Essai 1		Essai 2		Essai 1		Essai 2		Essai 1	
T°C du tube évaporateur	40°C		40°C		50°C		50°C		60°C	
	loga	b								
LnLnLn	1,23	1,29	1,02	1,32	0,57	1,63	0,51	1,69	0,44	1,66
LLL	1,38	1,27	1,42	1,25	0,73	1,58	0,68	1,66	0,64	1,61
OOO	1,54	1,23	1,57	1,21	0,94	1,53	1	1,5	0,92	1,51
PPP	nd*	nd*	1,82	1,06	0,99	1,5	1,2	1,42	1,02	1,49
SSS	1,78	1,01	1,82	0,99						
TAG saturés										
	Essai 1		Essai 2		Essai 1		Essai 2		Essai 1	
T°C du tube évaporateur	40°C		40°C		50°C		50°C		60°C	
	Loga	b								
CyCyCy	1,51	1,40	1,21	1,56	1,11	1,56	1,12	1,59	0,8	1,76
CCC	1,48	1,40	1,16	1,56	1,06	1,58	1,04	1,59	0,84	1,71
LaLaLa	1,49	1,41	1,18	1,54	1,06	1,58	1,05	1,57	0,86	1,72
MMM	1,62	1,33	1,33	1,42	1,13	1,55	1,2	1,49	0,95	1,7
PPP	1,62	1,37	1,55	1,33	1,26	1,42	0,94	1,67	1,06	1,64
SSS	1,73	1,23	1,64	1,16						

Alcools éthoxylés et Cérides										
	Essai 1		Essai 1		Essai 1		Essai 2		Essai 1	
T°C du tube évaporateur	40°C		40°C		50°C		50°C		60°C	
	loga	b								
C14OE2	0,94	1,63	0,83	1,7						
C18OE6	1,38	1,33	1,44	1,28	0,78	1,78	0,69	1,85	0,22	2,01
C18OE8	1,43	1,24	1,33	1,29	0,84	1,71	0,71	1,8	0,2	1,97
C16E14	1,26	1,3	1,09	1,27	0,6	1,76			0,56	1,86
C16E16	1,61	1,24	1,5	1,31	0,6	1,75	0,7	1,7	0,46	1,83
C16E18	1,36	1,22	1,3	1,26	0,69	1,68	0,83	1,57	0,27	1,8
C16E20	1,5	1,13	1,35	1,22	0,45	1,66	0,75	1,43	0,16	1,8
C16E22	1,4	1,13	1,25	1,23	0,73	1,80	1,03	1,4	0,15	1,8
TAG homogènes et mixtes										
	Essai 1		Essai 2		Essai 1		Essai 2		Essai 1	
T°C du tube évaporateur	40°C		40°C		50°C		50°C		60°C	
	loga	b								
LLL	0,36	1,61	0,47	1,53	0,30	1,74				
PLL'	0,62	1,62	0,68	1,58	0,51	1,76				
OOO	0,86	1,60	0,95	1,53						
OPO	0,78	1,59	0,90	1,50	0,75	1,69				
OSO	1,10	1,54	1,23	1,44	1,20	1,52				

nd\* : non déterminé

L'examen des valeurs numériques du tableau XXXII montre de manière indubitable que quel que soit le soluté, les valeurs de loga et b ne sont pas identiques d'un jour sur l'autre. Cependant, comme les tracés ci-dessous vont le montrer, les points font partie d'un même nuage montrant une nette tendance à la proportionnalité entre les valeurs de deux grandeurs mesurées, c'est-à-dire log a et b. En d'autres termes, les points des coordonnées b et log a sont corrélées et s'alignent sur un même fuseau quelles que soient la température du tube évaporateur, la nature des solutés et le jour où l'expérience a été menée.

## 1. 2. Représentation graphique des données

A partir de ces valeurs de loga et de b, nous avons donc pu tracer des graphes établissant l'équation mathématique  $b = f(\log a)$  reliant ces deux variables expérimentales

### 1. 2. 1. Graphes de l'ensemble des composés obtenus à toutes les températures

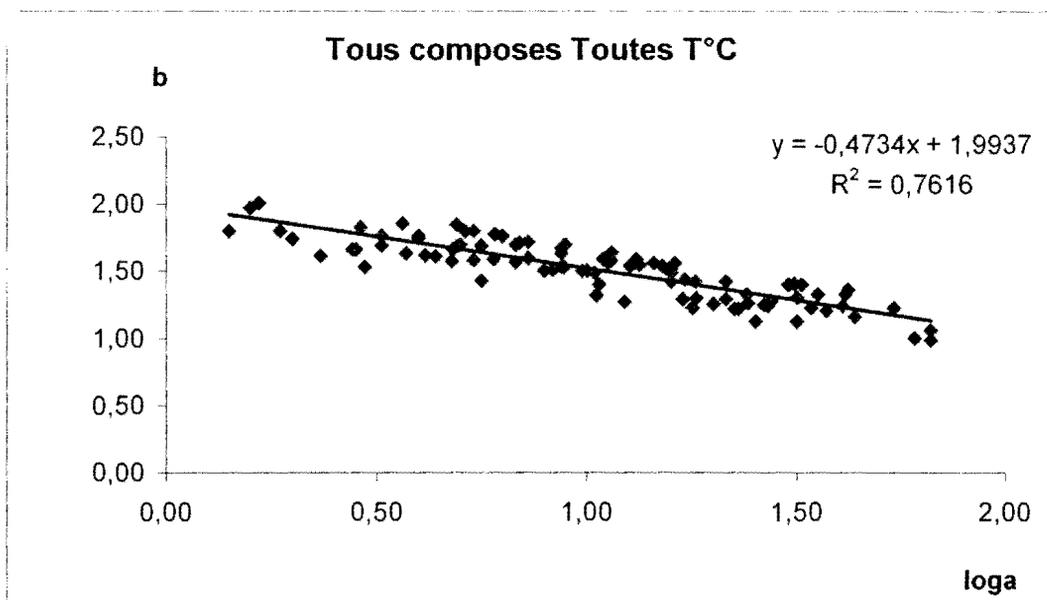


Figure 21 : Tracé de  $b=f(\log a)$  de tous les composés (TAG, alcools ethoxylés et cérides) à 40, 50 et 60°C

Du fait que le coefficient de corrélation linéaire n'est que de 0,76, nous avons cherché à déterminer les conditions expérimentales dans lesquelles la proportionnalité entre  $\log a$  et  $b$  était plus étroite, c'est-à-dire déterminer les conditions pour lesquelles le coefficient de corrélation linéaire se rapproche de 1.

Nous avons donc tracé le même type de graphe en scindant les composés en trois familles : les TAG, alcools éthoxylés et cériques.

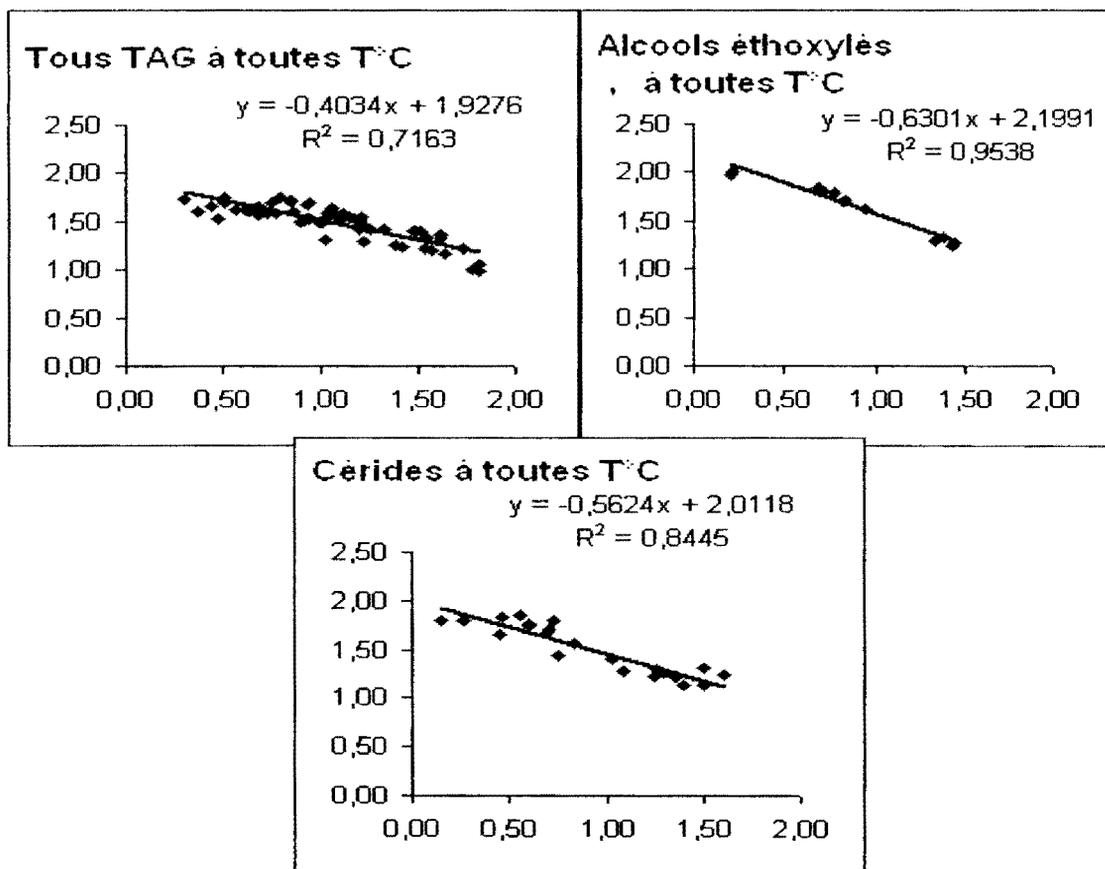


Figure 22 : Tracés de  $b=f(\log a)$  de trois familles de composés à 40, 50 et 60°C

En scindant les résultats par famille chimique on s'aperçoit que les coefficients de corrélation sont meilleurs que celui obtenu en tenant compte de l'ensemble des composés.

### 1. 2. 2. Graphes des composés obtenus à 40°C

40°C étant la température du tube évaporateur fournissant les meilleures réponses pour les TAG, nous avons alors repris le même type de représentation à cette seule température.

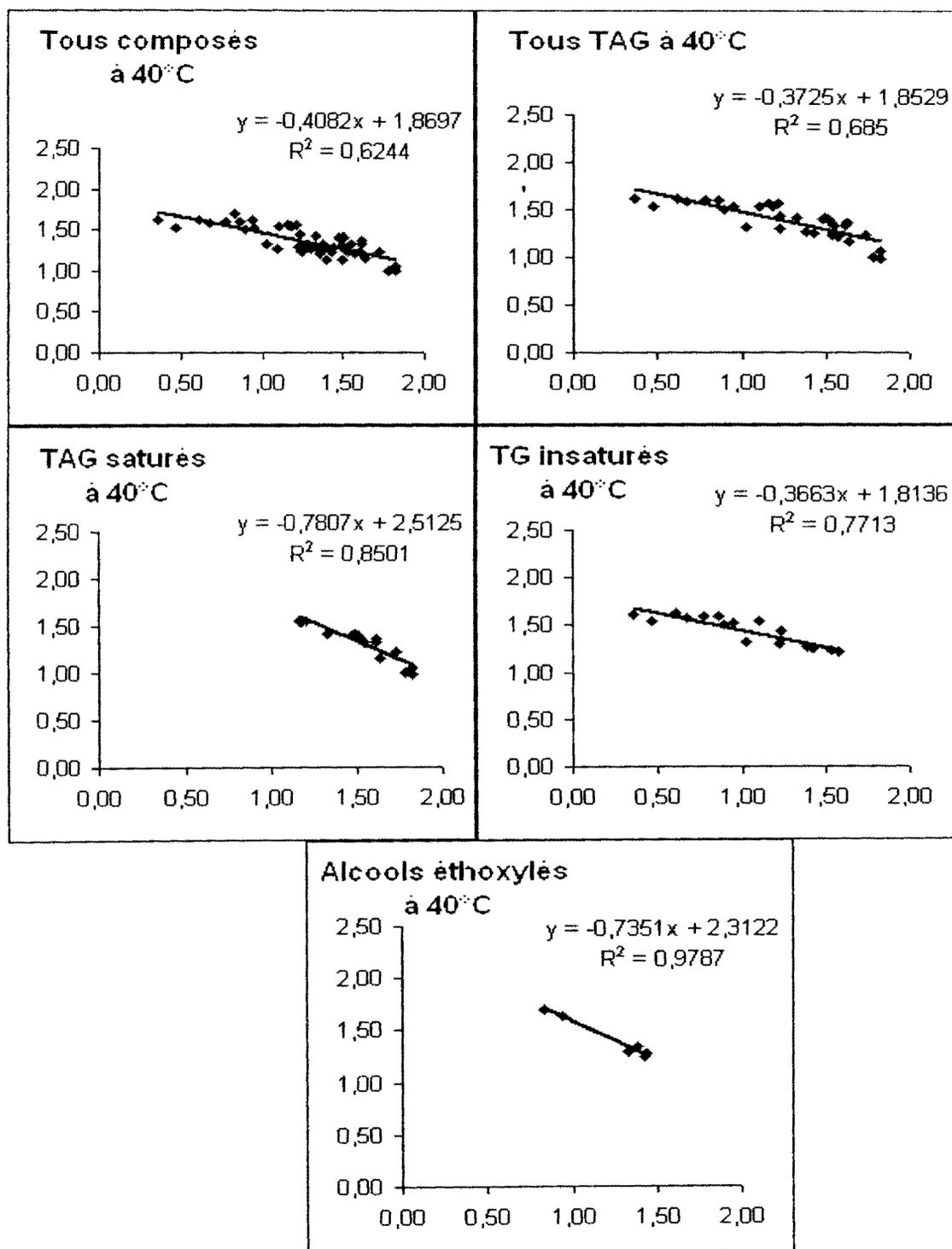


Figure 23 : Tracés de  $b=f(\log_a)$  des composés à 40°C

Dans tous les cas, nous avons pu mettre en évidence une corrélation linéaire entre  $b$  et  $\log a$ . Par contre, les pentes et les ordonnées à l'origine semblent différentes les unes des autres.

Un traitement statistique de comparaison de pentes et d'ordonnées à l'origine a permis de montrer qu'avec une probabilité de 95%, presque toutes ces droites peuvent être considérées comme identiques.

En conclusion, nous avons bien mis en évidence l'existence d'une corrélation linéaire entre  $b$  et  $\log a$  pour différentes séries de nature chimique différente, à différentes températures du tube évaporateur en chromatographie liquide haute performance à polarité inversée de phases en mode non aqueux.

Une question s'est alors posée : cela est-il vrai pour tous les DEDL dans n'importe quelles conditions d'utilisation, en particulier en utilisant comme phase mobile une phase partiellement aqueuse ?

La compilation de résultats obtenus dans la littérature et présentés dans une publication actuellement soumise [143] le confirment. Les travaux répertoriés ont été menés d'une part, par Sedere sur les sucres et les antibiotiques, d'autre part par Megoulas et Koupparis sur la kanamycine, la gentamine et la néomycine [128, 141, 142, 144].

On peut donc avancer que le phénomène semble être général indépendamment de la nature aqueuse et non aqueuse de la phase mobile.

L'établissement d'une corrélation linéaire entre les paramètres  $b$  et  $\log a$  est une condition préliminaire au développement d'une nouvelle méthode d'analyse quantitative de mélanges complexes quand on n'a pas à disposition les standards. Ceci étant établi, nous avons procédé dans un premier temps à l'étape de validation de la méthode proposée pour une analyse quantitative ultérieure.

## 2. Etape de validation de la méthode

Même si nous avons montré que les différentes relations linéaires  $b = f(\log a)$  étaient statistiquement identiques, il est important de savoir quelle équation choisir et évaluer l'erreur que cela va entraîner sur le dosage. La démarche utilisée a donc été la suivante.

Pour chaque série de composés témoins étudiée précédemment, on prépare des solutions de concentrations connues. On effectue ensuite deux dilutions de ces solutions. Les trois solutions ainsi obtenues considérées comme de composition inconnue, sont chromatographiées à 40°C dans les mêmes conditions que celles utilisées pour l'établissement du fuseau  $b = f(\log a)$ .

Pour chacun des mélanges, à partir de ces trois niveaux de concentration, il est alors possible de tracer les courbes  $\log \text{Aire} = f(\log \text{conc. totale})$  et obtenir  $b$  pour chaque composé.

En effet, lorsque l'on trace la droite  $\log A = f(\log m)$ , par définition la pente de la droite est donnée par la relation :

$$b = (\log A_1 - \log A_2) / (\log m_1 - \log m_2)$$

Si  $m_2$  est obtenue par dilution de  $m_1$ , on peut écrire  $m_2 = m_1 / x$

$x$  étant le facteur de dilution.

Par conséquent, la pente s'écrit :

$$b = (\log A_1 - \log A_2) / (\log m_1 - \log(m_1/x)) = (\log A_1 - \log A_2) / \log x$$

$b$  peut donc s'obtenir facilement à partir de dilutions successives et sans connaître la concentration initiale  $m_1$ .

Pour avoir une précision correcte, on a effectué les tracés à partir de trois points (une concentration initiale et deux points de dilution) et calculé une pente moyenne à partir de ces trois points.

Une fois la valeur de  $b$  obtenue pour chacun des composés, on peut obtenir  $\log a$  à partir de l'équation  $b = f(\log a)$  déterminée au préalable et remonter alors à la valeur absolue de  $m$ .

La question qui se pose alors est celle de savoir quelle équation  $b = f(\log(a))$  choisir parmi les différents cas présentés précédemment (voir figures 21, 22 et 23 des pages 136 à 138).

Pour répondre à cette question, nous avons fait une comparaison de la précision des résultats obtenus.

La première étape a consisté à calculer l'erreur qui est faite si les résultats sont traités en normalisation interne sans coefficient de réponse, c'est-à-dire si les pourcentages massiques sont assimilés aux pourcentages d'aire de chaque pic.

Ensuite, dans une deuxième étape nous avons calculé l'erreur faite en utilisant chacune des équations expérimentales reliant  $\log a$  à  $b$  (pages 142 à 145) et nous avons sélectionné les conditions d'étalonnage du détecteur pour lesquelles nous avons obtenu les erreurs les plus faibles.

Notons que dans cette étude nous n'avons pas pris en compte les températures 50 et 60°C du tube évaporateur, car les meilleures réponses pour les TAG ont été obtenues à 40°C.

Quatre mélanges de composition différente ont été utilisés pour cette étape de validation.

## 2. 1. Mélange des TAG homogènes servant à la validation (LnLnLn, LLL, OOO, PPP, SSS)

Les calculs ont été faits à partir des équations présentées ci-dessous.

Equations testées :

Tous composés à toutes à toutes températures,  **$b=1,99-0,47 \log a$**  (page 136)

Tous TAG à toutes températures,  **$b=1,93-0,40 \log a$**  (page 137)

Tous TAG à 40°C,  **$b=1,85-0,37 \log a$**  (page 138)

TAG insaturés à 40°C,  **$b=1,81-0,37 \log a$**  (page 138)

TAG saturés à 40°C,  **$b=2,51-0,78 \log a$**  (page 138)

Tous composés à 40°C,  **$b=1,87-0,4 \log a$**  (page 138)

Tableau XXXIII: Erreurs en normalisation interne sans coefficient de réponse et erreurs calculées pour le mélange de TAG homogènes

Erreur estimée (normalisation interne)	LnLnLn 43,8%	LLL 22,1%	OOO 22,5%	PPP 45,7%	SSS 2,1%
Erreur calculée					
Tous composés à toutes températures <b>b=1,99-0,47loga</b>	20,9%	3,0%	17,4%	25,0%	18,5%
Tous TAG à toutes températures <b>b=1,93-0,4loga</b>	17,9%	1,2%	18,4%	23,6%	25,3%
Tous TAG à 40°C <b>b=1,85-0,37loga</b>	17,0%	2,4%	18,7%	23,1%	27,3%
Tous TAG insaturés à 40°C <b>b=1,81-0,37loga</b>	17,5%	1,7%	18,5%	23,4%	26,1%
Tous TAG saturés à 40°C <b>b=2,51-0,78loga</b>	26,3%	10,23%	15,2%	27,1%	5,7%
Tous composés à 40°C <b>b=1,87-0,4loga</b>	18,6%	0,1%	18,2%	23,9%	23,6%

Même si les erreurs semblent élevées (environ 15 à 25%), les résultats montrent qu'il y a une amélioration par rapport à la normalisation interne sans coefficient de réponse (environ 22 à 46%), dans la mesure où l'erreur est plus faible en prenant la méthode que nous proposons plutôt que celle de la normalisation interne.

Dans tous les cas, les erreurs sont du même ordre de grandeur quelles que soient les équations utilisées (et donc les séries utilisées pour étalonner le détecteur), à l'exception de celle relative aux TAG saturés à 40°C.

A l'examen de ces précisions, il est bien évident que les erreurs faites sur le dosage des TAG particuliers dont on dispose de témoins et effectuées le même jour que celui d'établissement de la courbe d'étalonnage, sont plus faibles que celles reportées ici (de l'ordre de 5% au lieu de 15 à 25%). Mais il faut replacer leur examen dans le cadre de l'analyse de mélanges de TAG dont on ne dispose pas de témoins purs. Ainsi, améliorer la précision des analyses quantitatives de tels TAG en passant de valeurs comprises entre 22 et 46% d'erreur par rapport à la valeur à 15 à 25% représente un net progrès. De plus, il ne faut pas perdre de vue que sans cette méthode, à cause de la variation des paramètres a et b d'un jour à l'autre on peut faire une erreur toujours importante.

## 2. 2. Mélange des TAG homogènes et mixtes (LLL, PLL, OOO, OPO, OSO)

Les mêmes équations ont été testées que précédemment, les erreurs calculées sont recensées dans le tableau que voici.

Tableau XXXIV : Erreurs en normalisation interne sans coefficient de réponse et erreurs calculées pour le mélange de TAG homogènes et mixtes

Erreur estimée (normalisation interne)	LLL	PLL	OOO	OPO	OSO
	50,2%	41,3%	31%	5,4%	78,3%
Erreur calculée					
Tous composés à toutes températures <b>b=1,99-0,47loga</b>	34,3%	14,4%	25,5%	6,1%	39,5%
Tous TAG à toutes températures <b>b=1,93-0,4loga</b>	33,1%	10,8%	24,7%	6,2%	35,7%
Tous TAG à 40°C <b>b=1,85-0,37loga</b>	32,8%	9,7%	24,4%	6,3%	34,5%
Tous TAG insaturés à 40°C <b>b=1,81-0,37loga</b>	33,0%	10,4%	24,5%	6,3%	35,2%
Tous TAG saturés à 40°C <b>b=2,51-0,78loga</b>	36,4%	20,3%	26,9%	5,9%	46,2%
Tous composés à 40°C <b>b=1,87-0,4loga</b>	33,4%	11,7%	24,9%	6,2%	36,6%

Les erreurs calculées en utilisant notre méthode d'étalonnage du détecteur sont toujours plus faibles (ou du même ordre de grandeur pour OPO) que celles obtenues par la méthode de normalisation interne aussi, les mêmes conclusions s'imposent que pour le mélange précédent.

## 2. 3. Mélange des TAG saturés (CyCyCy, CCC, LaLala, MMM, PPP, SSS)

Nous testons toujours les mêmes équations que pour les autres TAG.

Tableau XXXV : Erreurs en normalisation interne sans coefficient de réponse et erreurs calculées pour le mélange de TAG saturés

Erreur estimée (normalisation interne)	CyCyCy	CCC	LaLaLa	MMM	PPP	SSS
Erreur calculée	5,9%	9,6%	3,7%	3,5%	15,0%	4,0%
Tous composés à toutes températures <b>b=1,99-0,47loga</b>	17,4%	6,7%	3,9%	11,2%	6,3%	32,9%
Tous TAG à toutes températures <b>b=1,93-0,4loga</b>	20,6%	9,5%	4,7%	15,0%	10,7%	39,1%
Tous TAG à 40°C <b>b=1,85-0,37loga</b>	23,1%	11,9%	5,7%	17,2%	14,1%	44%
Tous TAG insaturés à 40°C <b>b=1,81-0,37loga</b>	24,8%	13,4%	6,3%	18,2%	16,1%	46,6%
Tous TAG saturés à 40°C <b>b=2,51-0,78loga</b>	6,2%	3,5%	0,9%	0,6%	7,2%	9,6%
Tous composés à 40°C <b>b=1,87-0,4loga</b>	21,9%	10,8%	5,5%	15,5%	12,2%	41,4%

Il ressort que c'est la courbe d'étalonnage établie à partir des TAG saturés à 40°C qui valide le mieux la méthode, puis celle obtenue avec tous les composés à toutes les températures. Ceci n'est pas étonnant, l'équation corrélant log a à b étant très différente de toutes les autres équations d'étalonnage du DEDL.

#### 2. 4. Mélange des alcools éthoxylés

Le test s'est fait à partir des équations désignées ci-après :

- Tous composés à toutes à températures, **b=1,99-0,47 loga**
- Tous composés à 40°C, **b=1.87-0.4 loga**
- Alcools éthoxylés à toutes températures, **b=2.2-0.63 loga**
- Alcools éthoxylés à 40°C, **b=2.31-0.74 loga**

Tableau XXXVI : Erreurs en normalisation interne sans coefficient de réponse et erreurs calculées pour le mélange des alcools éthoxylés

Erreur estimée (normalisation interne)	C14OE2	C18OE4	C18OE6	C18OE8
Erreur calculée	30,9%	85,8%	23,2%	31,7%
Tous composés à toutes températures <b>b=1,99-0,47loga</b>	17,4%	6,7%	3,9%	11,2%
Tous composés à 40°C, <b>b=1,87-0,4loga</b>	20,6%	9,5%	4,7%	15,0%
Alcools éthoxylés à toutes températures <b>b=2,2-0,63loga</b>	23,1%	11,9%	5,7%	17,2%
Alcools éthoxylés à 40°C <b>b=2,31-0,74loga</b>	24,8%	13,4%	6,3%	18,2%

C'est la courbe d'étalonnage établie à partir des alcools éthoxylés à toutes températures qui valide le mieux et vient après celle obtenue avec tous les composés à toutes les températures.

En conclusion finale, nous pouvons dire que l'utilisation de la courbe d'étalonnage du DEDL conduit à des erreurs assez importantes en analyse quantitative mais nettement plus faibles que celles obtenues en ne considérant que les pourcentages en aires.

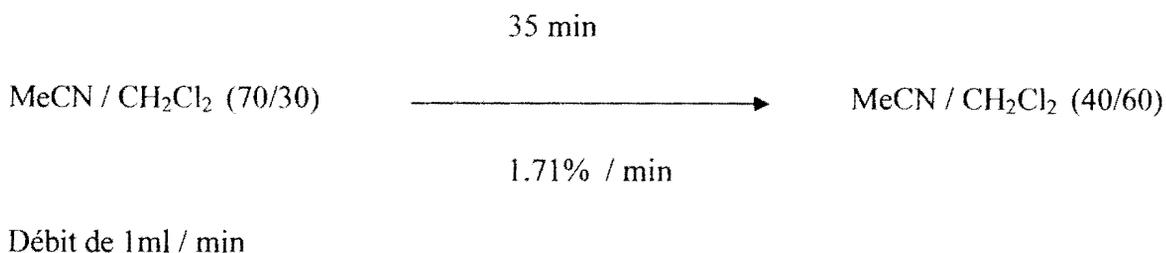
Comme on pouvait s'y attendre, c'est en prenant l'équation établie avec le même type de solutés que l'on fait moins d'erreur.

Donc pour les huiles qui nous intéressent, on prendra pour la suite de ce mémoire, l'équation de l'ensemble des TAG à 40°C, c'est-à-dire :

$$b = 1.85 - 0.37 \log a$$

### 3. Application au dosage au dosage des huiles

Le gradient mis au point précédemment permettait une séparation parfaite des standards étudiés, par contre il n'était pas adapté à la séparation des TAG constituants les huiles. C'est ainsi que nous avons mis au point un nouveau gradient que voici :



Bien que nous ayions montré précédemment que les valeurs de b et de log a étaient corrélées pour un soluté donné quelle que soit la composition de la phase mobile dans laquelle il est détecté, nous avons vérifié que les équations d'étalonnage du DEDL obtenues avec le premier gradient peuvent s'appliquer avec le second gradient.

### 3. 1. Nouveau gradient d'élution

Pour cela, nous avons fait un test de validation sur le mélange constitué de LnLnLn, LLL, OOO et PPP. La figure ci-dessous représente le graphe obtenu.

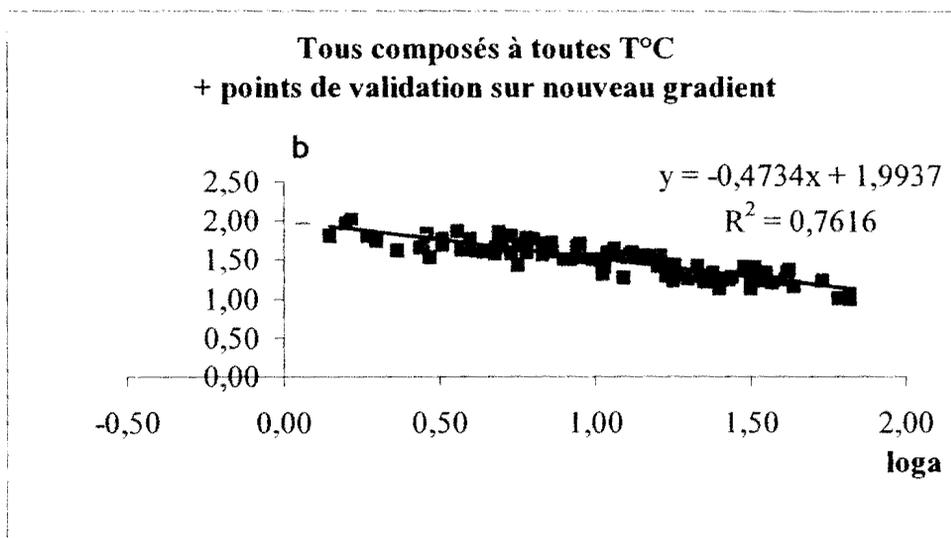


Figure 24 : Tracé de  $b = f(\log a)$  de tous les composés à toutes températures plus les points de validation.

■ : Points de test de reproductibilité (gradient d'élution défini page 105)

— : Points de validation (gradient d'élution défini page 119)

Les points de validation (valeurs de log a et b pour chacun de ces quatre TAG établies avec le nouveau gradient d'élution) se positionnent dans le fuseau établi précédemment avec le premier gradient d'élution et n'en modifient pas l'équation.

### 3. 2. Equations de validation

Les équations testées sont les suivantes :

Tous composés à toutes températures,	<b>b=1.99-0.47 loga</b>
Tous TAG à toutes températures,	<b>b=1.93-0.4 loga</b>
Tous TAG à 40°C,	<b>b=1.85-0.37 loga</b>
TAG insaturés à 40°C,	<b>b=1.81-0.37 loga</b>
TAG saturés à 40°C,	<b>b=2.51-0.78loga</b>
Tous composés à 40°C,	<b>b=1.87-0.4 loga</b>

Tableau XXXVII : Erreurs en normalisation interne sans coefficient de réponse et erreurs calculées pour le mélange des TAG homogènes étudié avec le nouveau gradient

Erreur estimée (normalisation interne)	LnLnLn	LLL	OOO	PPP
	28,0%	15,6%	13,3%	30,4%
Erreur calculée				
Tous composés à toutes températures <b>b=1,99-0,47loga</b>	3,9%	4,8%	6,4%	2,3%
Tous TAG à toutes températures <b>b=1,93-0,4loga</b>	0,2%	3,8%	6,0%	2,4%
Tous TAG à 40°C <b>b=1,85-0,37loga</b>	1,4%	3,5%	5,9%	3,8%
Tous TAG insaturés à 40°C <b>b=1,81-0,37loga</b>	0,7%	3,7%	5,9%	2,9%
Tous TAG saturés à 40°C <b>b=2,51-0,78loga</b>	10,6%	6,8%	6,8%	10,6%
Tous composés à 40°C <b>b=1,87-0,4loga</b>	0,8%	4,0%	6,1%	1,2%

Bien que les valeurs numériques rapportées dans le tableau XXXVII soient plus faibles que celles reportées dans le tableau XXXIII (page 142), les variations relatives des erreurs sont

similaires à celles obtenues précédemment. Nous pouvons tirer la même conclusion que précédemment.

L'utilisation d'une courbe d'étalonnage du DEDL pour déterminer a et b conduit à des valeurs de composition quantitative (%) d'un mélange complexe proches de la composition réelle du dit mélange, qui sont très nettement meilleures que celles que l'on tire d'une méthode par normalisation interne sans coefficient de réponse.

Le fait d'avoir changé le gradient d'élution ne change pas la courbe d'étalonnage du DEDL.

Ayant validé sur un mélange témoin la véracité de nos hypothèses, il nous est maintenant possible de dire avec une très grande probabilité que la détermination expérimentale de la valeur de b pour chaque composé dont on ne dispose pas de témoins purs, puis de log a à partir de la courbe d'étalonnage du DEDL, permettra la mesure ultérieure de l'aire du pic de ce même composé à sa quantité dans le mélange au sein duquel il se trouve.

On va pouvoir appliquer cette démarche aux dosages des huiles qui nous intéressent.

### 3. 3. Protocole expérimental

Le protocole à mettre en place pour conduire à une analyse quantitative avec un DEDL sans disposer de témoins purs se résume de la sorte.

Nous avons pesé environ 20 mg de chaque huile de graines de cucurbitacées, qui ont été dilués dans 5 ml de mélange MeCN / CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (50/50). A partir de cette solution, nous avons obtenu cinq niveaux de concentration totale (700, 600, 500, 400 et 300 ppm) par dilutions successives.

Comme indiqué précédemment, le tracé de  $\log A = f \log (\text{conc. totale})$  pour chaque TAG a permis d'obtenir b (voir pages 141 et 142 : étape de validation).

L'équation utilisée pour obtenir log a a été celle obtenue à partir de tous les TAG à 40°C, soit  $b=1,85-0,37 \log a$ , ce qui a permis de remonter à partir de A à a et m puis pour chaque huile de calculer le pourcentage massique en chaque TAG.

Les TAG pris en compte sont ceux supérieurs à la limite de quantification.

Celle-ci a été définie comme étant égale à 10 fois la hauteur (l'intensité) du bruit de fond. Les TAG dont la hauteur est supérieure à trois fois le bruit de fond mais inférieure à la limite de quantification sont considérés comme détectables mais non quantifiables.

Les chromatogrammes qui ont été obtenus sont les suivants :

,

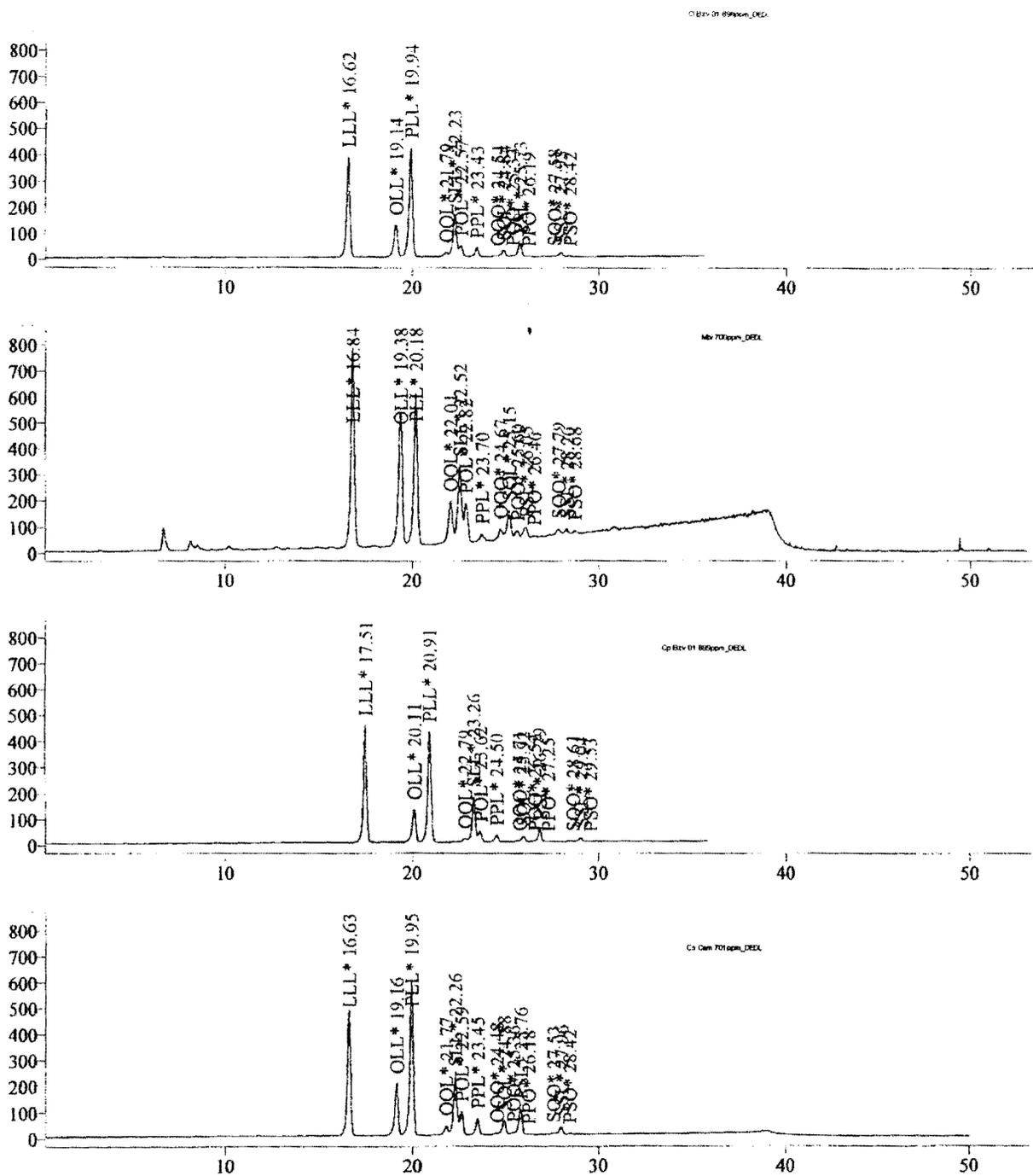


Figure 25 : Chromatogrammes de Cl Bzv 01 (698 ppm), Mbi (700 ppm), Cp Bzv 01 (699 ppm), Cs Cam (701ppm).

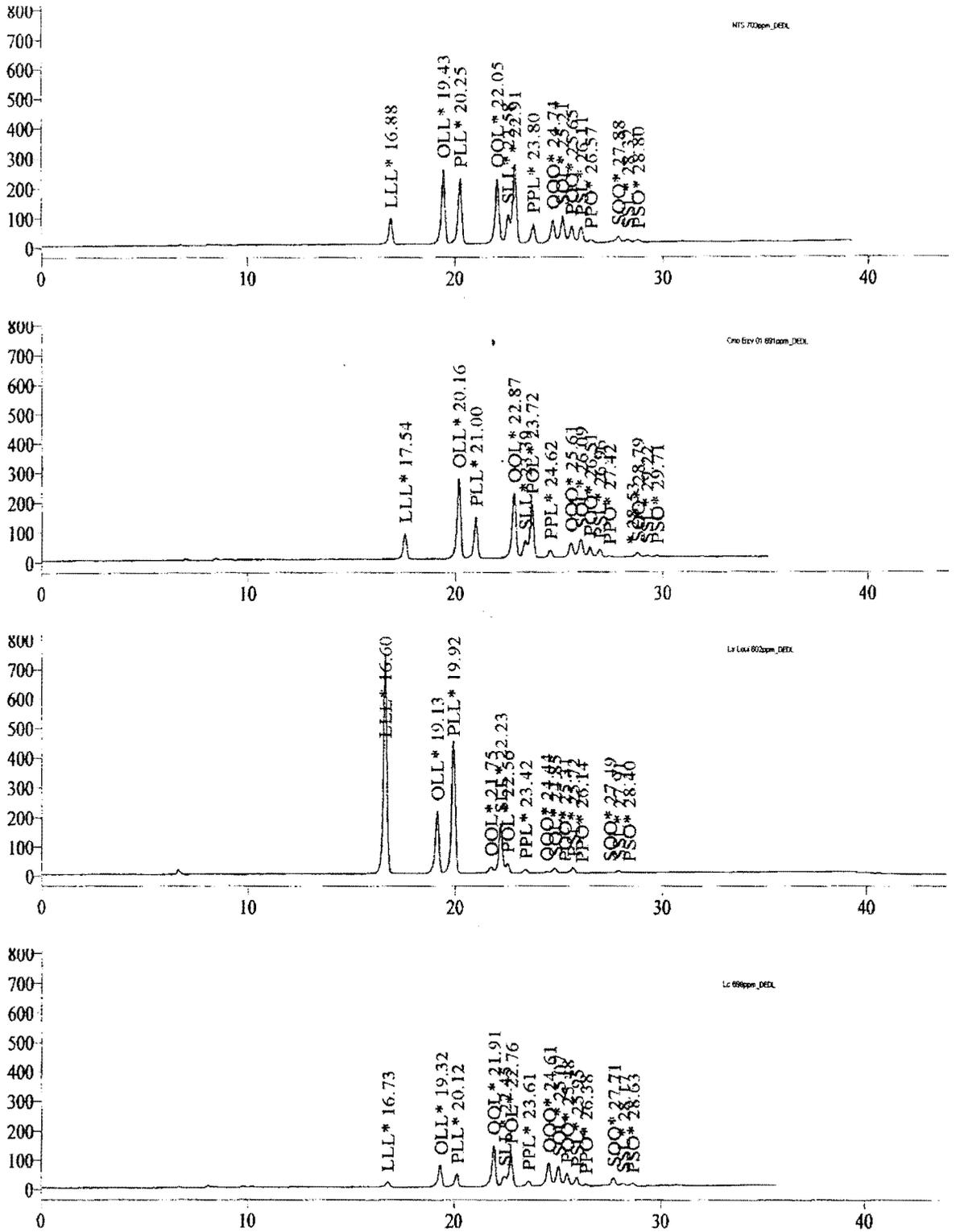


Figure 26: Chromatogrammes de NTS (703 ppm), Cmo Bzv 01 (691ppm), Ls Loui (602 ppm) et de Lc (699 ppm)

Certains TAG ne sont pas détectés, ils sont alors notés : « nd ».

D'autres par contre sont détectés mais ne peuvent être quantifiés, ils ont comme sigle « nq », c'est à dire non quantifiés (l'intensité de leur signal est comprise entre 3 et 10 fois la valeur du bruit de fond).

Les résultats des analyses sont regroupés dans le tableau XXXVIII

Tableau XXXVIII : Moyenne des masses des TAG en pourcentage

	LnLnLn	LLnLn	LLLn	LLL	OLL	PLL	OOL	SLL	POL
Cl BZV 01	nd	nd	nd	24,7%	13,9%	28,7%	nq	17,0%	4,1%
Cl Bzv 03	nd	nd	nd	24,7%	17,0%	21,5%	5,1%	19,7%	2,1%
Cl Mouy 03	nd	nd	nd	25,0%	16,4%	21,1%	5,7%	17,4%	6,2%
Cl P/N 03	nd	nd	nd	25,3%	16,1%	20,2%	8,2%	14,6%	3,7%
Cl RCA 04	nd	nd	nd	24,0%	19,2%	20,6%	7,3%	16,4%	3,8%
Cl RDC03	nd	nd	nd	24,8%	13,8%	29,2%	2,2%	19,0%	5,4%
Mbi 03	nd	nd	nd	24,4%	20,4%	19,8%	8,7%	12,1%	8,0%
Cp BZV 01	nd	nd	nd	17,5%	17,6%	15,6%	1,2%	23,9%	8,0%
Cp Kibo 03	nd	nd	nd	24,2%	10,6%	34,9%	1,8%	12,9%	7,3%
Cp MbK 02	nd	nd	nd	19,6%	13,2%	20,8%	4,8%	12,7%	9,8%
Cp P/N 03	nd	nd	nd	16,6%	12,7%	21,4%	6,3%	13,8%	9,2%
Cp Tshi 03	nd	nd	nd	22,4%	13,0%	24,7%	nq	16,2%	6,6%
Cp Plat 05	nd	nd	nd	21,8%	13,0%	22,8%	3,3%	13,8%	8,6%
Cp Cam	nd	nd	nd	27,1%	16,1%	30,0%	7,8%	15,4%	3,7%
Cp RCA 04	nd	nd	nd	21,4%	12,1%	23,9%	3,6%	14,4%	7,4%
Cp RDC 03	nd	nd	nd	19,8%	11,1%	24,1%	nq	16,6%	10,6%
Cs Cam	nd	nd	nd	16,3%	11,0%	21,1%	5,5%	11,7%	9,7%
NTS Mouy 03	nd	nd	nd	5,9%	15,9%	13,3%	15,2%	9,4%	17,1%
Cmo Cam	nd	nd	nd	9,2%	22,9%	6,7%	29,5%	nq	11,3%
Cmo Bzv 01	nd	nd	nd	8,6%	22,1%	12,6%	18,6%	6,9%	16,0%
Cmo Bzv' 02	nd	nd	nd	9,7%	16,0%	9,5%	15,8%	8,9%	10,4%
Cmo MbK 02	nd	nd	nd	9,2%	15,4%	12,3%	14,3%	8,1%	12,7%
Cmo Mouy 03	nd	nd	nd	7,7%	15,2%	10,6%	15,9%	5,3%	14,3%

Cmo Mouy' 03	nd	nd	nd	8,6%	15,4%	10,2%	17,3%	7,3%	21,7%
Cmo P/N 03	nd	nd	nd	6,7%	13,1%	17,5%	13,5%	5,9%	8,2%
Cmo Plat 05	nd	nd	nd	6,7%	15,5%	10,9%	15,9%	7,7%	12,9%
Ls Kiboué 03	nd	nd	nd	32,4%	16,2%	28,1%	3,0%	14,0%	6,2%
Ls Loui 03	nd	nd	nd	31,7%	15,3%	25,0%	2,8%	12,7%	3,4%
Ls Mat 03	nd	nd	nd	29,4%	17,6%	25,6%	3,6%	12,8%	5,8%
Ls MbNd 03	nd	nd	nd	26,0%	26,8%	31,9%	nq	15,3%	0,0%
Ls Cam	nd	nd	nd	35,8%	16,7%	26,4%	3,9%	13,1%	1,9%
Ls Niger	nd	nd	nd	14,5%	12,9%	16,6%	10,2%	11,7%	12,8%
Ls RCA 04	nd	nd	nd	30,1%	15,2%	33,1%	3,2%	10,8%	2,9%
Lc	nd	nd	nd	nd	11,9%	8,3%	18,7%	6,2%	15,0%

	PPL	OOO	SOL	POO	PSL	PPO	SOO	SSL	PSO	Total
CI BZV 01	nq	0,1%	3,9%	nq	5,6%	nq	nq	1,9%	nq	100%
CI Bzv 03	0,2%	0,6%	6,0%	nq	3,0%	nq	0,2%	nq	nq	100%
CI Mouy 03	nq	nq	6,1%	nq	2,0%	nq	nq	nq	nq	100%
CI P/N 03	1,1%	1,8%	5,2%	1,2%	2,1%	nq	0,4%	0,3%	nq	100%
CI RCA 04	nq	nq	5,4%	nq	2,0%	nq	nq	1,3%	nq	100%
CI RDC03	nq	nq	4,2%	nq	0,9%	nq	nq	0,6%	nq	100%
Mbi 03	1,0%	nq	4,7%	nq	1,0%	nq	nq	nq	nq	100%
Cp BZV 01	2,5%	nq	4,2%	nq	4,1%	nq	nq	5,2%	nq	100%
Cp Kibo 03	2,5%	nq	2,0%	nq	3,5%	nq	nq	0,1%	nq	100%
Cp MbK 02	4,6%	nq	5,6%	nq	6,5%	nq	nq	2,4%	nq	100%
Cp P/N 03	5,0%	2,2%	6,3%	nq	6,3%	nq	nq	nq	nq	100%
Cp Tshi 03	6,2%	nq	3,8%	nq	4,2%	nq	nq	2,9%	nq	100%
Cp Plat 05	4,5%	nq	4,3%	nq	5,0%	nq	nq	2,9%	nq	100%
Cp Cam	nq	nq	nq	nq	nq	nq	nq	nq	nq	100%
Cp RCA 04	5,1%	nq	2,9%	nq	6,8%	nq	nq	2,2%	nq	100%
Cp RDC 03	3,7%	nq	3,0%	0,5%	10,5%	nq	nq	nq	nq	100%
Cs Cam	7,0%	nq	5,9%	nq	8,6%	nq	nq	3,2%	nq	100%
NTS Mouy 03	4,0%	6,1%	6,7%	3,2%	3,3%	nq	nq	nq	nq	100%
Cmo Cam	nq	9,8%	9,3%	nq	0,8%	nq	0,5%	nq	nq	100%
Cmo Bzv 01	nq	3,8%	6,4%	3,1%	1,9%	nq	nq	nq	nq	100%

Cmo Bzv' 02	3,7%	6,4%	7,7%	9,0%	nq	nq	2,9%	nq	nq	100%
Cmo MbK 02	4,6%	5,6%	7,6%	5,7%	4,5%	nq	nq	nq	nq	100%
Cmo Mouy 03	4,3%	7,9%	8,0%	6,3%	4,4%	nq	nq	nq	nq	100%
Cmo Mouy' 03	3,2%	4,9%	4,6%	2,2%	4,6%	nq	nq	nq	nq	100%
Cmo P/N 03	3,8%	6,8%	7,4%	3,4%	4,5%	0,8%	3,2%	3,4%	1,8%	100%
Cmo Plat 05	3,7%	7,2%	8,0%	4,3%	5,1%	0,7%	0,1%	0,7%	0,6%	100%
Ls Kiboué 03	nq	nq	nq	nq	nq	nq	nq	nq	nq	100%
Ls Loui 03	2,2%	nq	3,8%	nq	2,3%	nq	nq	0,7%	nq	100%
Ls Mat 03	nq	nq	3,1%	nq	2,3%	nq	nq	nq	nq	100%
Ls MbNd 03	nq	nq	nq	nq	nq	nq	nq	nq	nq	100%
Ls Cam	nq	nq	nq	nq	2,4%	nq	nq	nq	nq	100%
Ls Niger	nq	nq	9,9%	4,9%	nq	nq	nq	6,1%	nq	100%
Ls RCA 04	nq	0,1%	4,5%	0,1%	nq	nq	nq	nq	nq	100%
Lc	2,7%	12,6%	9,5%	6,0%	4,3%	nq	0,2%	nq	nq	100%

### III-Présentation des résultats d'analyse

Les résultats numériques obtenus étant trop nombreux, il est difficile de les appréhender directement ; une analyse multidimensionnelle s'avère alors nécessaire. La littérature offre toute une gamme de méthodes statistiques couramment employées dans ce genre de travail. C'est le cas de l'analyse factorielle discriminante (AFD), l'analyse discriminante (AD), l'analyse factorielle multiple (AFM), l'analyse factorielle des correspondantes multiples (AFCM), l'analyse en composantes principales (ACP), la classification ascendante hiérarchique (CAH), etc.

Ces techniques ont été largement utilisées par exemple dans l'étude des huiles végétales [109, 145-147] en l'occurrence les huiles d'olive [148-153], dans la classification des vins et rhums [154-156], ou encore des noix [153, 157]. Ce sont également des outils d'une grande efficacité pour caractériser les colonnes chromatographiques et des produits divers[158-162]

Nous avons choisi dans cette étude d'appliquer à nos résultats trois techniques de traitement statistique complémentaires, qui sont:

- l'Analyse Factorielle Discriminante : **AFD**
- l'Analyse en Composantes Principales : **ACP**.
- la Classification Ascendante Hiérarchique : **CAH**

Le logiciel employé est XL-stat. Version 7.1 de chez Addinsoft

#### 1. Description des méthodes

Les méthodes statistiques sont des analyses multidimensionnelles qui permettent d'obtenir des représentations simplifiées d'un grand nombre de données. Ces méthodes consistent à mettre en évidence les tendances les plus marquantes, en les hiérarchisant et en éliminant les effets marginaux ou ponctuels susceptibles de perturber la perception globale des faits [163].

##### 1. 1. Analyse Factorielle Discriminante : **AFD**

Pour cette analyse on dispose d'un ensemble de données relatives à des individus appartenant à plusieurs groupes (catégories ou classes) définis « à priori » de façon précise.

Dans notre cas les individus sont les différentes huiles étudiées, répertoriées en catégories par leur genre et leur espèce ; les variables étant les pourcentages en masse ou en aires des esters ou des triacylglycérols.

La discrimination, prenant en compte l'existence des groupes de départ, recherche si certaines variables permettent de retrouver l'appartenance à ces groupes [155].

Elle permet de plus de mettre en évidence que des individus classés à priori dans un groupe s'en éloignent notamment, c'est-à-dire de suspecter leur appartenance exacte au groupe dans lequel ils ont été classés.

Le carré des distances de Mahalanobis fourni par le logiciel permet de repérer la proximité des individus les uns avec les autres. Plus le chiffre à l'intersection de 2 individus est grand, plus ceux-ci sont différents l'un de l'autre et vice versa.

## 1. 2. Analyse en Composantes Principales : **ACP**

### 1. 2. 1. Principe

L'ACP est une méthode statistique descriptive qui permet de visualiser dans un espace de dimension réduite des individus auxquels ont été attribués des variables quantitatives. Dans notre cas, les individus sont donnés par les différentes huiles étudiées, tandis les pourcentages massiques ou aires de chaque triacylglycérol ou ester correspondent à des variables.

On peut ainsi obtenir une cartographie des individus en distinguant facilement les groupes ou les individus particuliers, qui seraient indiscernables ou seulement apparents avec beaucoup de difficultés, à partir de l'ensemble de données [156].

Il s'agit donc de condenser un système complexe de données originelles en de nouveaux groupements, de façon à ce qu'ils ne présentent pas de corrélations entre eux et qu'ils soient ordonnés en terme de pourcentage de variance apportée par chaque composante.

L'objectif d'une ACP est donc de réduire à quelques dimensions un ensemble d'objets qui se trouvent dans un « hyper-espace » contenant autant de dimensions que de variables. Cette réduction doit préserver le maximum d'informations contenues dans un tableau de données qui doivent être présentées sous forme de graphique. En effet, un espace à 3 dimensions

permet de visualiser un objet, mais pour faire un rapport et interpréter plusieurs données, on est obligé d'utiliser des graphiques.

Géométriquement, le processus de la mise en facteur revient à placer des axes dans un plan. Lorsqu'on a plusieurs dimensions, il est peu probable d'amasser suffisamment d'informations sur une seule droite, on aura besoin d'axes supplémentaires. Cette première droite qui ne peut expliquer à elle seule la totalité de l'information est appelée première composante principale ou premier axe principal.

Par convention, on représente la deuxième dimension par une droite perpendiculaire à la première composante principale. Ce deuxième axe est alors appelé, deuxième composante principale, qui se définit comme la droite qui explique la plus grande partie de l'information restante.

Ainsi, la première composante principale contient les informations relatives à la variance maximale, la deuxième quant à elle, détient les informations relatives à la variance suivante. Le processus est répété jusqu'à obtenir la n-ième et dernière composante principale.

Une ACP apparaît de manière générale très similaire à une AFD. La principale différence consiste dans les règles qui sont utilisées pour déterminer les directions des nouveaux axes du plan qui différencie les individus. Une AFD conduit à séparer les individus aussi bien que possible. Une ACP conduit à expliquer aussi bien que possible la variance des résultats originaux. Ces deux analyses sont donc à hiérarchiser et sont complémentaires.

### 1. 2. 2. Procédure

A partir de l'ensemble des données, cinq étapes sont nécessaires pour faire l'analyse en composantes principales, qui consiste à la transformation des données par centrage et réduction des valeurs, à savoir :

- diagonalisation de matrice,
- qualité de la représentation des individus,
- corrélations entre variables,
- individus et variables supplémentaires,
- centrage et réduction des valeurs.

Ceci est fait automatiquement par le logiciel.

Le plus souvent, les tableaux à analyser sont des tableaux qui renferment des variables de nature diverse. Si on les garde ainsi, les plus grandes vont écraser les autres et masquer ainsi leur importance. Pour parer à ce problème, il est recommandé de procéder à un centrage des données, c'est à dire donner le même poids aux différentes variables. De manière pratique, cela implique que l'on soustrait à chaque valeur la moyenne de la variable correspondante ; on obtient ainsi la matrice de variance-covariance. La nouvelle moyenne est alors égale à zéro.

Ensuite, on fait une réduction des valeurs, en divisant chaque valeur par l'écart type de la variable. Ainsi le nouvel écart type est 1, on a ainsi effectué la matrice des corrélations.

De cette façon, toutes les données sont centrées et réduites et présentent la même variabilité (variance =1, moyenne=0) et la même influence sur les calculs.

Dans notre cas, cela donnera un poids identique aux différents triacylglycérols ou esters et ce, quelles que soit leurs proportions dans les huiles.

⇒ Diagonalisation de matrice

On aboutit à deux matrices :

- les vecteurs propres de la matrice de dispersion,
- les valeurs propres de la matrice de dispersion.

Les vecteurs propres contiennent les coefficients qui doivent être affectés aux variables initiales afin d'obtenir les coordonnées des individus dans l'espace, qui leur permettront de se placer dans le nouvel espace.

Les valeurs propres représentent les variances des individus sur les axes principaux correspondants. Habituellement, on exprime chaque variance en valeur relative (en %) de la variance totale, ce qui fournit un renseignement intéressant : *la part de toute l'information visible sur chaque axe.*

La part d'information expliquée par deux axes donnés est égale à la simple addition des parts expliquées par chacun des axes.

⇒ Qualité de la représentation des individus

Les représentations graphiques permettent de voir comment se répartissent les individus et de distinguer les différences et les ressemblances.

Il est également possible d'observer rapidement les individus qui contribuent le plus à la formation des axes, en fait, ce sont ceux dont les coordonnées sont les plus éloignées de leurs moyennes. En clair, ce sont les individus qui ont les plus fortes coordonnées, en valeur absolue, qui contribuent le plus à la formation des axes.

⇒ Corrélations entre variables

Cette opération permet de voir comment les variables sont structurées entre elles. Pour une meilleure interprétation des corrélations, certains logiciels construisent automatiquement des représentations graphiques dénommées « cercles des corrélations ».

A cet effet, on représente les variables par des projections des vecteurs de longueur de 1.0 et en reliant le centre du cercle aux différents « points variables » on obtient les projections. La projection correspond à l'implication de chaque variable dans le nouveau système d'axes. Ainsi, une courte projection d'un vecteur indique que la variable est mal représentée, tandis qu'une projection de longueur 1.0 montre que la variable est bien représentée.

Il faut signaler qu'en ACP, l'interprétation des variables se fait à partir de leurs directions, d'où l'importance de la direction du vecteur pour interpréter la dépendance entre variables. Si les vecteurs sont orientés dans la même direction (petit angle), cela montre qu'ils mesurent des propriétés qui sont corrélées. Si par contre les vecteurs ont des directions de sens opposés ( $180^\circ$ ), les variables sont inversement proportionnelles. Enfin, si les vecteurs sont séparés d'un angle de  $90^\circ$ , les variables apportent une information complémentaire.

Lorsqu'on élève le coefficient de corrélation au carré, on obtient la part de variation d'une variable expliquée par l'axe. Et pour obtenir la part de variation d'une variable expliquée par  $k$  axes, par exemple, il faut faire la somme des carrés de ces coefficients pour ces  $k$  axes.

En terme général, une variable est d'autant mieux représentée sur le plan qu'elle est proche du cercle.

⇒ Individus et variables supplémentaires

Souvent, on ne désire pas que certains individus interviennent dans la détermination des axes, mais on souhaiterait connaître la position de leur projection sur les axes déterminés par le reste de la population. Il existe pour cela des programmes qui permettent de mettre un poids nul à certains individus au niveau du critère d'ajustement. C'est ce qu'on appelle des « individus supplémentaires » ; on les introduit quand on souhaite qu'ils participent à l'interprétation des plans factoriels, mais non à leur construction. C'est le cas lorsqu'on a des individus à caractères exceptionnels, ou suspectés d'avoir été source d'erreurs de mesure, ou s'ils n'appartiennent pas au champ strict de l'étude mais à un domaine voisin.

### 1. 3. Classification Ascendante Hiérarchique : CAH.

La classification est définie comme étant une description des données en procédant à une réduction du nombre des individus ; elle est ascendante, du fait qu'elle regroupe les individus deux à deux, les uns après les autres jusqu'au regroupement de l'ensemble des individus en classes homogènes.

La classification ascendante est dite hiérarchique car elle aboutit à des suites de classes emboîtées qui définissent une hiérarchie et chaque niveau de hiérarchie représente une classe.

#### 1. 3. 1. Principe de la CAH

Comme nous venons de le définir, la CAH est une technique qui consiste à effectuer un regroupement progressif des individus par degré de leur ressemblance jusqu'à obtenir une classe unique, qui les regroupe tous.

La CAH part des individus isolés assimilés à des classes et procède à chaque étape, par agrégations des deux classes les plus proches au sens de la norme choisie. L'arbre planaire hiérarchique engendré (dendrogramme), permet de décrire de façon explicite la structure finale de la classification obtenue, plus les individus se regroupent bas dans l'arbre, plus ils se ressemblent.

### 1 3. 2. Procédure

La procédure de classification hiérarchique regroupe donc les objets en petites classes et ensuite, par étape, fusionne ces classes en classes de plus en plus grandes.

A chaque étape, on regroupe les individus deux à deux selon le degré d'affinité de leurs variables ; les deux classes les plus proches sont recherchées et fusionnées, jusqu'à ce qu'il n'y ait plus qu'une seule classe. On peut représenter la hiérarchie finalement obtenue par un arbre. Cette méthode consiste à fournir des partitions plus ou moins fines, obtenues par les regroupements successifs des parties.

La lecture du dendrogramme s'effectue du haut vers le bas, du général vers le spécifique. L'interprétation de la classification ascendante se fait donc en descendant, en partant de la partition générale qui regroupe l'ensemble des individus pour aboutir à n partitions, c'est à dire le nombre d'individus étudiés.

Une CAH prend en compte l'ensemble des variances. Elle permet donc d'expliquer le rapprochement des individus deux à deux grâce à la variance totale et de les classer en différentes classes matérialisées sur chaque plan d'une ACP, qui est dans son établissement, plus réductrice d'informations en permettant une lecture plus facile.

Les variables exploitées ne seront pas les données initiales, à savoir les pourcentages massiques des EM ou des TAG, mais les composantes principales F1F2F3 sur l'ACP. En effet, les axes supplémentaires F4, F5 expriment principalement du « bruit » dans l'ensemble de données initiales.

## 2. Présentation des résultats

Comme exposé précédemment, vu le nombre de données obtenues pour chaque huile, les outils que nous venons de décrire sont indispensables aux traitements de nos résultats [109, 145-154, 164].

La discrimination des genres et espèces par traitement analytique des esters méthyliques et des triacylglycérols se fera d'abord par l'AFD. En effet, pour connaître les variables analytiques qui permettent, par exemple, de déterminer la variété dont les huiles sont issues, on fait intervenir l'AFD. Cette analyse fait la sélection des composants qui mettent en évidence les différences existant entre les huiles provenant de plusieurs graines et permet de

faire la classification des échantillons dans le groupe variétal auquel ils appartiennent, avec la probabilité la plus grande.

C'est ainsi que l'AFD va nous permettre de voir si les variables caractérisent les huiles et de retrouver leur genre et espèce, puis de savoir si les genres et espèces sont bien distingués les uns des autres.

Par contre, certaines huiles sont seules de leurs genres et espèces, on ne peut pas les étudier par cette méthode.

Pour palier à cela, nous recourrons à l'ACP afin d'avoir une information sur l'ensemble des huiles et voir à travers l'analyse des variances si elles sont voisines ou différentes de celles étudiées en AFD et en conséquence, voir où se placent celles qui sont uniques dans leur genre et espèce.

La CAH permettra de faire des classements qui tiendront compte de l'ensemble de la variabilité.

Dans tous les cas, les variables ont été réduites et centrées comme expliqué auparavant.

Rappelons que la caractérisation des huiles a été obtenue par deux séries d'analyses différentes qui nous ont donné :

- la composition en esters méthyliques (EM) en pourcentage massique,
- la composition en triacylglycérols.

Cela nous amène à nous poser les questions suivantes :

- Les conclusions déduites sont-elles les mêmes ?
- A-t-on besoin d'un seul ensemble de données (composition en EM ou composition en TAG) et lequel, ou de la somme des deux ?

Par ailleurs, à cause des caractéristiques du DEDL dont nous avons parlées précédemment, l'analyse quantitative des TAG a été conduite de deux manières différentes. Elles ont conduit respectivement à :

- la composition en TAG en valeurs relatives,
- la composition en TAG en pourcentages massiques, donc en valeurs absolues.

Il convient alors de répondre à la question suivante : cela conduit-il aux mêmes conclusions ?

Enfin, pour l'intérêt nutritionnel, il est intéressant de caractériser les huiles par :

- la somme des EM saturés,
- la somme des EM monoinsaturés,
- la somme des EM polyinsaturés.

Les trois variables sont-elles directement corrélées à la composition d'un ou plusieurs EM ou TAG particulier ?

Voilà les questions auxquelles nous nous devons de répondre dans le paragraphe qui vient.

#### **IV. Traitement des résultats**

Pour éviter toutes ambiguïtés dans la compréhension des discussions à venir, nous allons préciser dans le tableau ci-dessous la signification des termes et expressions utilisées par la suite.

Tableau XXXIX : Signification des termes et expressions utilisées.

Variable analysée	Nature des variables	Nature du résultat traité comme variable
EM EM rapportés à EP	% massique % massique de chaque EM / % massique de EP	Valeur absolue Valeur relative
TAG étudiés en isocratique * majeurs * totaux	Aire de chaque TAG / Aire de PLL	Valeur relative
TAG étudiés en gradient * majeurs * totaux	% massique	Valeur absolue
TAG étudiés en gradient rapportés à PLL * majeurs * totaux	% massique de chaque TAG / % massique de PLL	Valeur relative

Pour la clarté de l'exposé, nous allons d'abord présenter les résultats obtenus à partir des esters méthyliques avant de détailler ceux obtenus à partir des triacylglycérols.

## 1. Les esters méthyliques

Pour voir si on tire les mêmes conclusions, nous allons comparer les résultats obtenus à partir des pourcentages massiques des cinq esters méthyliques identifiés (EP, ES, EO, EL, ELn) et ceux obtenus de manière relative en prenant en référence EP, ceci par analogie avec les données obtenues lors de l'analyse semi-quantitative des TAG (TAG analysés en isocratique). Pour cela, les rapports suivants seront effectués :

- % massique ES / % massique EP
- % massique EO / % massique EP
- % massique EL / % massique EP
- % massique ELn / % massique EP

Comme nous avons choisi trois méthodes statistiques d'analyse des données, le traitement des données commencera par l'AFD, suivie de l'ACP et enfin de la CAH.

### 1. 1. Analyse Factorielle Discriminante : AFD

#### 1. 1. 1. L'AFD sur les cinq esters méthyliques (valeurs en absolues)

La donnée qualitative que l'on cherche à expliquer est le genre et l'espèce de chaque huile, à savoir : *Citrullus lanatus* (Cl), *Cucurbita moschata* (Cmo), *Cucurbita pepo* (Cp) et *Lagenaria siceraria* (Ls).

Quatre huiles ont été systématiquement enlevées lors de ce traitement en AFD, car elles sont seules de leur genre et espèce, ce sont : *Mbika* (Mbi 03), *Cucumis sativus* (Cs Cam), NTS Mouy 03 et *Luffa cylindrica* (Lc).

Les résultats obtenus sont représentés par les figures ci-après.



Tableau XL: Carrés des distances de Mahalanobis entre groupes

	Cl	Cmo	Cp	Ls
Cl	0	206,640	9,009	20,918
Cmo	206,640	0	197,643	147,628
Cp	9,009	197,643	0	10,996
Ls	20,918	147,628	10,996	0

Ainsi, les groupes Cl et Cp sont très proches (9,009) et présentent des profils similaires, il en est de même de Ls et Cp (10,996). Par contre, pour ces trois espèces, il apparaît tout en étant proches que Ls est le plus éloigné de Cl (20,918).

Par contre, Cmo et Cl sont très éloignés l'un de l'autre (206,64), leurs profils étant très différents. Cmo présente la même tendance avec respectivement Cp (Cmo/Cp : 197,643) et Ls (Cmo/Ls : 147,628).

La connaissance des pourcentages massiques en chaque ester méthylique permet de retrouver le genre et l'espèce de la plupart des huiles, puisque sur le graphique (figure 27b) on les retrouve positionnées et groupées par genre et espèce.

Le taux d'erreur apparent est de 6,67%, ce qui correspond au pourcentage d'huiles mal classées. Ici, 2 huiles sur 30 (soit 6,67%) sont mal classées : Cl Bzv 03 et Cp. Elles sont respectivement reclassées par le logiciel dans les groupes Cp et Ls. Cependant, le fait qu'elles soient sur l'axe F2 (représentant seulement 4,5 % de variabilité) fait qu'une très faible différence de composition peut expliquer leur déplacement d'un groupe à un autre.

Nous pouvons aussi avancer d'autres hypothèses pour tenter d'expliquer leur mauvais classement. Par exemple, cela peut provenir :

- de l'échantillonnage, avec une grande variabilité de la composition des graines de Cp et de Cl,
- d'un mauvais classement au moment de la collecte de chacun des échantillons (confusion du genre),
- du point de vue du traitement statistique, d'un critère qui n'est pas correct (ici les pourcentages massiques en EM),
- d'un manque d'information pour discriminer parfaitement les genres et les espèces entre eux,



- CI Bzv 03 reclassée avec les Cp,
- Cp Cam reclassée avec les Ls,
- Ls Niger reclassée avec les Cp.

Avec l'AFD, que l'on travaille sur les valeurs absolues des esters méthyliques ou en valeurs relatives (EM/EP), les conclusions sont sensiblement identiques.

Nous allons maintenant utiliser les résultats de l'ACP pour avoir une vue de l'ensemble des huiles (y compris les quatre non étudiées en AFD).

## 1. 2. Analyse en Composantes Principales : ACP

### 1.2.1 L'ACP sur les cinq esters méthyliques (valeurs en absolues)

#### 1.2.1.1 Graphe F1-F2

L'analyse en Composantes Principales a été effectuée sur l'ensemble des huiles avec NTS Mouy 03 pris en individu supplémentaire. Les représentations graphiques réalisées sont montrées sur les figures ci-après. Pour une meilleure clarté, la figure 30 est le résultat d'un agrandissement.

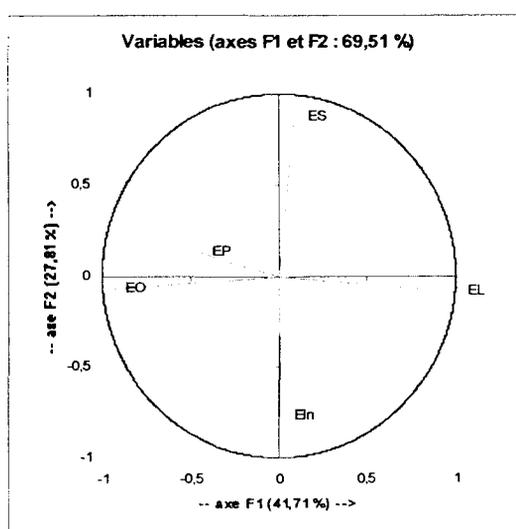


Figure 30 : Variables

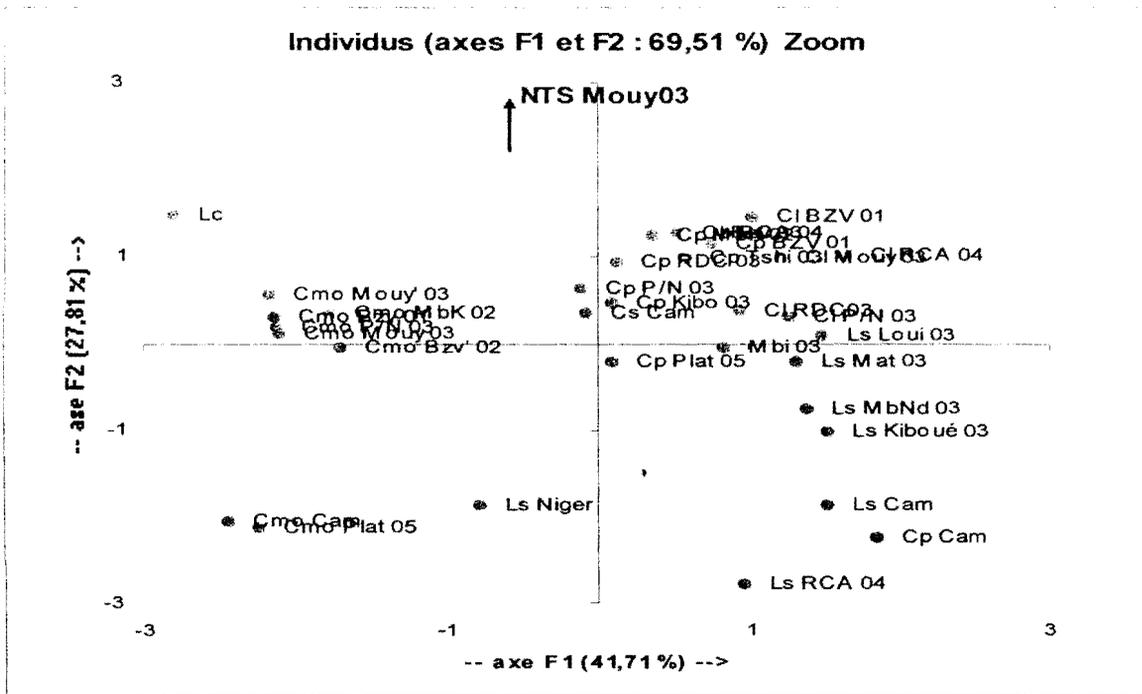


Figure 31 : Graphe agrandi des individus

A première vue sur le graphe agrandi, il est difficile de distinguer des regroupements. On constate cependant que NTS Mouy 03 se détache nettement des autres sur l'axe F2.

En effet, une première étude a montré que NTS Mouy 03 était très distinct des autres huiles et participait trop à la construction des axes, ce qui justifie son classement en individu supplémentaire.

Les deux premières valeurs propres (F1 et F2) représentent 69,5% de la variabilité, soit F1 (42%) + F2 (28%).

L'axe F1 est caractérisé par EL qui contribue à 47% à sa formation et par -EO dont la contribution est de 43%, -EP n'intervenant qu'à 10%.

S'agissant de l'axe F2, il est gouverné par ES à 55% et par -ELn à 43%.

Ces pourcentages sont donnés par le logiciel dans des tableaux non fournis dans ce manuscrit.

Les vecteurs EL, EO, ES, et ELn sont très proches des axes. Ils décrivent donc très bien le graphe.

La répartition des huiles sur ce graphe n'est pas aléatoire, elle est liée à leur genre et espèce. On constate en effet que :

- les Cmo sont caractérisés par l'axe -F1, soit par un fort EO ;
- les Cl, Cp et Ls sont sur l'axe + F1 (caractérisés par un même taux de EL), les Ls se marginalisant des autres par un taux élevé en ELn, sur l'axe -F2.

Pour les deux huiles (Cl Bzv 03 et Cp Cam) mal classées en AFD, Cl Bzv 03 se retrouve avec les Cp, ce qui est cohérent avec l'AFD, tandis que Cp Cam rejoint les Ls comme on l'a vu en AFD.

Quant aux quatre huiles non étudiées en AFD :

- Cs Cam est dans le groupe des Cp ;
- Lc est proche des Cmo, mais tout de même un peu isolé ;
- Mbi 03 est au milieu des Cl et Ls ;
- NTS Mouy 03 est isolé, ce qui explique encore sa mise en individu supplémentaire.

La valeur propre de F3 étant proche de F2, nous allons donc aussi exploiter le graphe F1-F3 dont la somme sur les deux axes représente 65% de la variabilité, à savoir F1 (42%) + F3 (23%)



### 1. 2. 2. L'ACP sur les esters méthyliques rapportés à EP

Pour les mêmes raisons que celles évoquées plus haut, NTS Mouy 03 a été mis en individu supplémentaire.

Les résultats obtenus sont reportés sur les figures ci-dessous.

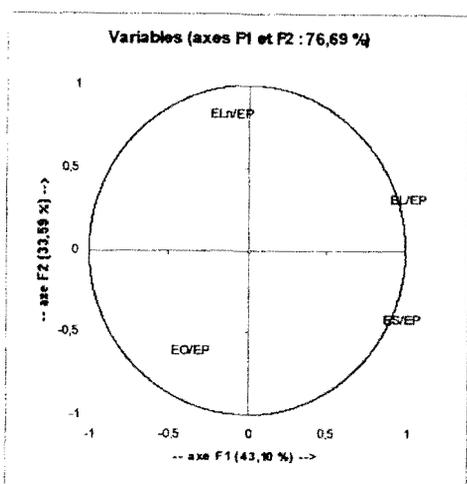


Figure 34 : Variables

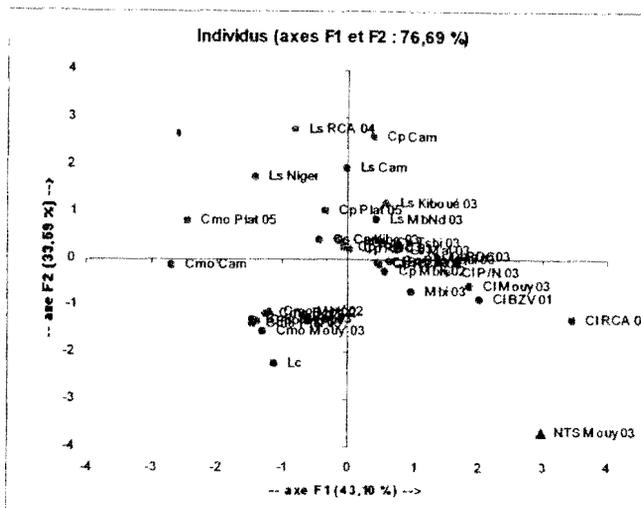


Figure 35 : Individus

Les valeurs des deux axes F1 + F2 représentent  $43+34 = 77\%$  de la variabilité totale.

L'axe F1 est caractérisé par EL/EP à 40%, par ES/EP à 36% et par -EO/EP à 18%.

L'axe F2 est caractérisé par ELn/EP à 51% et par -EO/EP à 29%.

Dans la mesure où EP intervient pour un certain pourcentage sur l'axe F1, quand on traite les variables de manière absolue, il est bien évident que le traitement des variables relatives rapportées à EP modifie la répartition spatiale des individus en ACP.

Les vecteurs ne sont pas proches des axes. Ils définissent donc moins bien le graphe que précédemment.

L'utilisation de la classification ascendante hiérarchique va nous permettre de regrouper ces huiles par classes.

### 1. 3. Classification Ascendante Hiérarchique : CAH

#### 1.3.1 CAH sur les 5 esters méthyliques (valeurs en absolue)

Les trois variables que l'on considèrera sont F1 F2 F3 qui représentent alors 92.5% de la variance.

Tableau XLI: Composition des classes

Classe	1	2	3	4
Intra	27,386	8,015	24,529	0,000
Effectif	13	8	12	1
	CI BZV 01	Cmo Cam	CI Bzv 03	NTS Mouy 03
	CI Mouy 03	Cmo Bzv 01	Cp BZV 01	
	CI P/N 03	Cmo Bzv' 02	Cp Kibo 03	
	CI RCA 04	Cmo MbK 02	Cp MbK 02	
	CI RDC03	Cmo Mouy 03	Cp P/N 03	
	Mbi 03	Cmo Mouy' 03	Cp Tshi 03	
	Cp Cam	Cmo P/N 03	Cp Plat 05	
	Ls Kiboué 03	Lc	Cp RCA 04	
	Ls Loui 03		Cp RDC 03	
	Ls Mat 03		Cs Cam	
	Ls MbNd 03		Cmo Plat 05	
	Ls Cam		Ls Niger	
	Ls RCA 04			

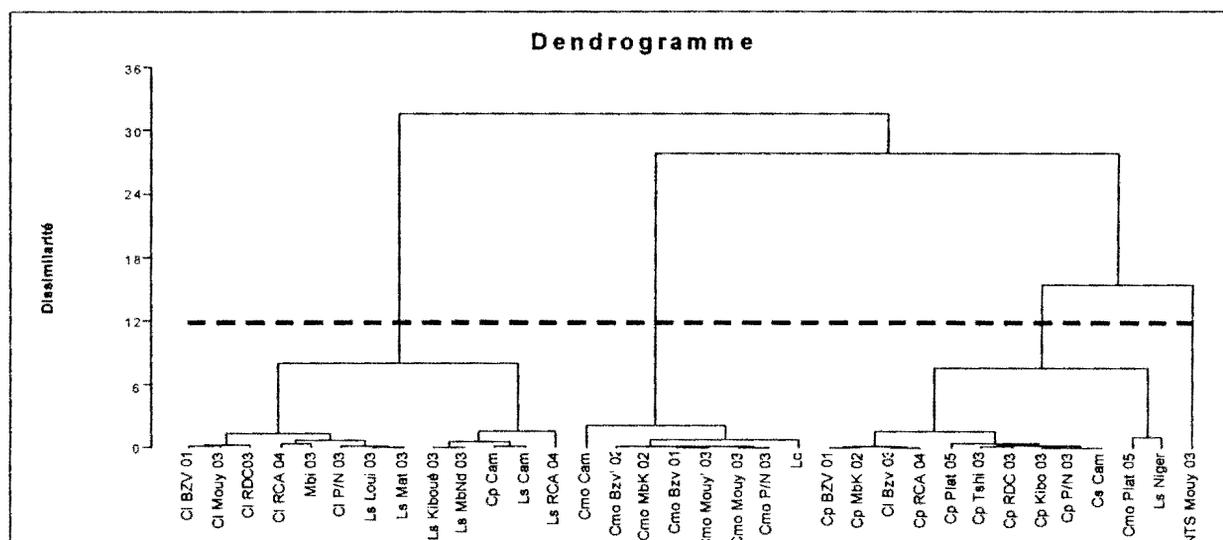


Figure 36 : Hiérarchisation des huiles

Après traitement, la classification ascendante hiérarchique répartit les huiles en quatre classes qui sont reprises dans le tableau et le dendrogramme suivants :

- La grande majorité des Cl et des Ls forment une classe, avec en plus Mbi03 et CpCam.
- La classe 2 est constituée de la majorité des Cmo et du Lc.
- La classe 3 contenant la quasi-totalité des Cp, avec un Cl, un Cmo, Cs Cam et Ls Niger.
- La classe 4 est constituée du seul NTS Mouy03.

Pour les huiles mal classées ou non étudiées en AFD, les conclusions restent les mêmes. Notons que le graphe F1-F3 représente mieux les quatre classes que le graphe F1-F2.

### 1.3.2 CAH sur les esters méthyliques rapportés à EP

Les trois variables que l'on considèrera sont F1 F2 F3 qui représentent alors 91,4% de la variance.

Après traitement, la classification ascendante hiérarchique répartit les huiles en 5 classes qui sont repris dans le tableau et le dendrogramme suivants :

Tableau XLII : Composition des classes :

Classe	1	2	3	4	5
Intra	9,486	12,798	1,355	1,542	3,130
Effectif	15	5	7	5	2
	Cl Bzv 03	Cp Cam	Cmo Bzv 01	Cl BZV 01	Cl RCA 04
	Cp BZV 01	Cmo Cam	Cmo Bzv' 02	Cl Mouy 03	NTS Mouy 03
	Cp Kibo 03	Cmo Plat 05	Cmo MbK 02	Cl P/N 03	
	Cp MbK 02	Ls Niger	Cmo Mouy 03	Cl RDC03	
	Cp P/N 03	Ls RCA 04	Cmo Mouy' 03	Mbi 03	
	Cp Tshi 03		Cmo P/N 03		
	Cp Plat 05		Lc		
	Cp RCA 04				
	Cp RDC 03				
	Ls Kiboué 03				
	Ls Loui 03				
	Ls Mat 03				
	Ls MbNd 03				
	Ls Cam				
	Cs Cam				

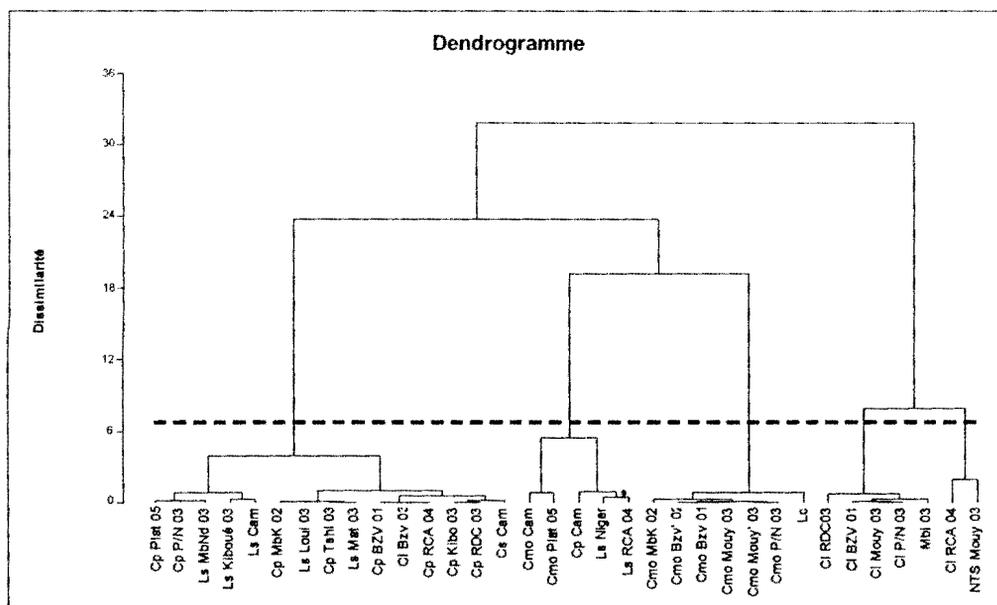


Figure 37 : Hiérarchisation des huiles

Les CAH ne donnent pas le même nombre de classes si on analyse les résultats obtenus par une méthode d'analyse quantitative relative ou par une méthode d'analyse quantitative absolue.

Ainsi, les huiles analysées dans ce travail se regroupent en quatre classes si on traite les résultats obtenus de manière absolue et en 5 classes pour ceux obtenus de manière relative.

Dans ce dernier cas, les huiles des genre et espèces Cmo sont divisées en deux classes.

Ceci peut s'expliquer à l'examen du traitement en ACP en absolu.

\* Il existe un certain nombre d'huiles de Cmo qui se place dans une même zone du plan F1F2 (figure 31 :Cmo Bzv 01, Cmo Bzv' 02, Cmo MbK 02, Cmo Mouy 03, Cmo Mouy' 03 et Cmo P/N 03). Elles ont donc des compositions très proches en EM (EP, ES, EO, EL et ELn) (fig 30). Dans ce cas, traiter les résultats en absolu ou en relatif (par rapport à EP) ne change pas leur proximité relative dans l'espace F1- F2 quel que soit les données traitées. Leur répartition spatiale n'est pas changée et le nombre de classes obtenues par CAH ne change pas dans ce cas là.

\* Par contre, les cinq huiles des graines suivantes, Cmo Cam, Cmo Plat 05, Ls Niger, Ls RCA 04 et Cp Cam (figure 31) ont une composition en ELn sensiblement identique, mais une composition en EP (mais aussi EO et EL) différente (figure 30). Il en découle que lorsque l'on fait les rapports ELn/EP, EL/EP, EO/EP et ES/EP, le rapport ELn/EP devrait être différent

pour ces cinq huiles. Ainsi, faire une CAH sur les rapports EM/EP, change les données descriptives par rapport au même traitement statistique (CAH) développé sur les valeurs absolues des pourcentages de chaque ester méthylique, et par suite conduit à modifier les regroupements (classes) donnés par ces CAH.

Par contre, il est plus difficile (moins net) d'expliquer pourquoi Ls MbNd 03, Ls Kiboué 03, Ls Loui 03, Ls Cam et Ls Mat 03 passent d'un regroupement où ils sont avec les huiles des genres et espèces Cl à celui des genres et espèces Cp, selon que l'on traite des données absolues ou relatives.

Ces cinq huiles ont une composition en EL et E $\dot{O}$  sensiblement identique par contre, leur composition en ES et ELn est différente. Il en est de même pour EP dont la quantité varie pour chacune de ces cinq huiles. Ceci permet de rendre compte que traiter des résultats en relatif change leur efficacité par rapport au traitement des données en absolu.

En conclusion, l'analyse conduite sur les données en absolu fait apparaître une grande distance statistique entre les genres et espèces Cp / Cmo / et Ls+Cl qui sont indiscernables (figure 36), l'huile NTS Mouy 03 constituant une classe à elle seule.

L'analyse conduite sur les données en valeurs relatives regroupe NTS Mouy 03 et Cl RCA 04 d'une part, divise les huiles du genre et espèce Cmo en deux et fait glisser les huiles du genre Ls dans celles du genre et espèce Cp. Traiter les données de manière relative, change donc les conclusions. Certains individus sont aussi regroupés de manière très différente comme par exemple Cl RCA 04, et le couple Ls Niger-Cmo Plat 05. Ceci n'est que le reflet de la petite différence existant entre les genres-espèces Ls, Cp et Cl déjà mises en évidence par l'analyse AFD et les très faibles valeurs des distances de Mahalanobis les séparant.

Il semble donc que les études en AFD, ACP, CAH sur les données en absolu permettent d'obtenir des meilleures images descriptives de la polydiversité des huiles, une meilleure manière de les regrouper et de déterminer la cause de ces regroupements.

Dans la mesure où tous les genres et espèces ne sont pas discernables par la simple analyse de la composition en esters méthyliques, nous avons entrepris dans un deuxième temps la même étude sur les triacylglycérols de ces huiles. Il s'agit d'augmenter le nombre de variables caractéristiques pouvant éventuellement améliorer la précision de regroupements.

Ceci fait l'objet de l'étude suivante.

## 2. Les triacylglycérols (TAG)

Les résultats ont été obtenus de deux manières :

\* soit par analyse isocratique à aire de PLL à peu près constante et en rapportant de manière relative l'aire de chaque TAG à PLL (voir la partie analyse) ;

\* soit par analyse en gradient d'éluion ou les quantités massiques de chaque triacylglycérol ont été obtenues en absolu grâce à la nouvelle méthode d'analyse quantitative conduite avec le DEDL, mise au point dans ce mémoire.

Dans le but de comparer les conclusions tirées des deux types de résultats, nous avons aussi calculé à partir de la méthode absolue (analyse en gradient), les quantités relatives de chaque TAG rapportées à celle de PLL afin de voir si l'information obtenue en AFD, ACP et CAH est la même lorsque les données (variables) traitées sont obtenues de manière absolue ou de manière relative.

Les TAG identifiés peuvent être classés en deux groupes :

1er groupe formé de 6 TAG principaux (majeurs) : LLL, OLL, OOL, SLL, POL et PLL.

2ème groupe composé de TAG mineurs : LnLnLn, LLnLn, LLLn, PPL, OOO, SOL, POO, PSL, SOO, SSL, PSO.

Nous avons donc comparé en AFD, ACP et en CAH les trois manières d'obtenir les résultats décrits ci-dessus avec soit les TAG majeurs, soit l'ensemble des TAG, donc en fait six traitements statistiques ont été effectués.

### 2. 1. Analyse Factorielle Discriminante (AFD) des triacylglycérols des huiles de cucurbitacées

Le but est de savoir si la connaissance des différentes variables énoncées ci-dessus permet de remonter au genre et à l'espèce des huiles.

Comme pour les EM, la variable dépendante qualitative à expliquer est donc les deux ou trois premières lettres des huiles : Cl, Cp, Cmo et Ls.

De même, nous avons été obligés de retirer quatre huiles (Cs Cam, Lc, Mbi 03, NTS Mouy 03) car elles sont les seules de leur genre et espèce.

Pour une meilleure lisibilité de ce mémoire, les figures montrant les résultats obtenus de manière relative et absolue ont été regroupées en annexe (figures A38 à A43).

Par ailleurs, nous avons reporté dans le tableau suivant les principales données qui ont été tirées des cercles de corrélation et qui feront l'objet de la prochaine discussion.

,

Tableau XLIII: Récapitulatif de tous les résultats des TAG en AFD

Analyse	Nb de vecteurs propres	Carrés des distances de Mahalanobis entre groupes			Composantes axe F1			Composantes axe F2			Huiles mal classées	Probabilité d'appartenance des huiles mal classées
		Ls /Cp	Ls/Cl	Cp/Cl	%	> 0	< 0	%	> 0	< 0		
TAG totaux en isocratique (relatif)	17	20,7	<b>24,5</b>	19,6	98	LLL	OLL OOL SLL POL OOO SOL POO PSL SOO SSL PSO	1,1	LLL	SSL	CIBzv03	Cp
TAG majeurs en isocratique (relatif)	5	6,8	<b>8,9</b>	4,0	93,8	OOL SOL POL	LLL	4,3	LLL	SLL	CIBzv03 Cp Cam Ls Niger	Cp Cl Cp
TAG totaux en gradient (absolu)	15	<b>95</b>	43,5	33,0	76,5	OOL OOO POL POO SOL SOO PPO PSO	LLL PLL SLL	20	PSL PPL SSL	OLL POO	Aucune	

Analyse	Nb de vecteurs propres	Carrés des distances de Mahalanobis entre groupes			Composantes axe F1			Composantes axe F2			Huiles mal classées	Probabilité d'appartenance des huiles mal classées
		Ls /Cp	Ls/Cl	Cp/Cl	%	> 0	< 0	%	> 0	< 0		
TAG majeurs en gradient (absolu)	6	7,9	<b>10,4</b>	4,0	81	LLL SLL PLL	OOL POL	15	SLL	OLL LLL	CIBzv01 CpBzv01 Cp Cam Ls Niger	Cp Cl Cl Cp
TAG totaux / PLL en gradient (relatif)	14	<b>31,5</b>	17,3	19	91,2	OOL/PLL OOL/PLL OOO/PLL POO/PLL SOL/PLL POL/PLL	LLL/PLL	6,7	PPL/PLL PSL/PLL SLL/PLL	LLL/PLL	Aucune	
TAG majeurs / PLL en gradient (relatif)	5	<b>4,3</b>	3,7	1,8	92	OOL/PLL POL/PLL OLL/PLL	LLL/PLL	6,6	SLL/PLL		CIBzv01 CIRDC03 CpBzv01 Ls Niger	Cp Cp Cl Cp

Même avec un grand nombre de variables, 96 à 98 % de la variabilité s'expriment dans le plan F1F2, la variabilité sur les autres composantes est donc négligeable.

D'après les figures correspondant aux individus, les huiles du genre et espèce Cmo sont toujours séparées des huiles issues des trois autres genres ou espèces Cl, Cp et Ls.

Quelles que soient les variables traitées, (c'est-à-dire les résultats obtenus de manière relative en isocratique, en absolu en gradient d'élution, ou rapportés à PLL en gradient d'élution) les genres Cl, Cp et Ls sont très proches.

L'examen des distances de Mahalanobis montre dans les six AFD que :

- ▶ Les huiles des genres et espèces Cp et Cl sont les plus proches l'une de l'autre,
- ▶ Ces distances sont bien plus grandes lorsqu'on traite l'ensemble des TAG. Ainsi la séparation des huiles des genres Cp, Cl et Ls sera moins difficile en traitant ces données.

Cependant, d'une manière générale, on peut dire que les variables permettent de classer et de différencier les genres et espèces quel que soit le traitement des résultats, relatifs ou absolus.

L'axe F1 est principalement gouverné par un taux en OOL (ou OOL/PLL) très fort qui est anti corrélé à celui de LLL (ou LLL/PLL). Ainsi, les huiles des genres Cmo sont plus riches en OOL et moins riches en LLL que celles des genres Cp, Ls et Cl.

La deuxième composante principale représentant une très faible contribution totale est reliée à la quantité de SLL ou SSL. Ceci permet de rendre compte d'une différenciation plus fine selon F2, axe pour lequel on peut dire que les Ls sont moins riches en SLL et SSL que Cl et Cp. Il apparaît ainsi une différenciation plus ou moins nette du genre Ls par rapport à Cp et Cl dans les AFD suivant F2.

Si nous comparons les représentations AFD des résultats obtenus en traitant les données de manière relative par rapport aux résultats obtenus en traitant les données de manière absolue, il apparaît très nettement que normaliser les résultats par rapport à PLL fait perdre de l'information ; nous pouvons remarquer en effet que la variabilité qui s'exprime dans le plan F1F2 est toujours très grande. En rapportant les résultats à PLL, on perd beaucoup de discrimination selon l'axe F2. En effet, la variabilité sur F2 passe de 15 à 20% pour les analyses en absolu à moins de 6,7% pour le traitement des résultats en relatifs.

On perd alors aussi en information selon l'axe F1, puisque la quantité de PLL varie d'une huile à l'autre, et que PLL s'exprime principalement suivant l'axe F1 (cf. AFD TAG totaux gradient).

Le genre Cmo est toujours différencié sans aucune ambiguïté. Lorsque l'on traite des TAG majeurs, le genre Cp apparaît comme intermédiaire entre Ls et Cl. Lorsqu'on traite de toutes les données obtenues de manière absolue ou relative, il apparaît très nettement que c'est Cl qui se place entre Cp et Ls.

La réduction des données lors de l'analyse des TAG majeurs conduit à de mauvaises attributions pour des graines dont la composition se situe à la frange entre deux genres. Leur nombre est beaucoup plus important que lorsqu'on traite les résultats de l'ensemble des TAG en absolu.

De ce point de vue, l'analyse des graines en gradient d'éluion classe correctement toutes les graines et les éloigne le plus les unes des autres.

## 2. 2. Analyse en Composantes Principales (ACP) des TAG des huiles de cucurbitacées

Dans ce traitement mathématique, les quatre huiles de cucurbitacées dont nous ne possédons qu'un échantillon d'un genre ou espèce tel que Cs Cam, Lc, Mbi 03 et NTS Mouy 03 ont été intégrées.

L'étude a été scindée en deux :

- ACP sur TAG majeurs dans les 3 traitements (en isocratique, en gradient, en gradient ramené à PLL).

- ACP sur TAG totaux dans les 3 traitements (en isocratique, en gradient, en gradient ramené à PLL).

### 2. 2. 1. Résultats de l'analyse en ACP conduite avec les TAG majeurs comme variables

Comme précédemment, les figures sont reportées en annexes (figures A44 à A49).

Les pourcentages de variabilité qui s'expriment dans les études sont reportés dans le tableau suivant.

Tableau XLIV : TAG majeurs dans les trois études

	% de variance des axes F1, F2 et F3 et % cumulé		
	En isocratique (valeurs relatives)	En gradient (valeurs absolues)	En gradient /PLL (valeurs relatives)
F1 F2	88,6	85,9	86,8
F1	67,3	66,6	61,1
F2	21,3	19,3	25,7
F3	9,3	7,7	9,8
F1F3	76,6	74,3	70,9

Environ 86% de la variabilité est exprimé dans le plan F1 F2. La variabilité selon F3 varie de 7,7% à 9,8%. Etant très faible devant celle de F2, elle ne sera pas considérée dans cette discussion.

La composante F1 exprime selon l'étude de 67 à 61% de la variabilité totale. Dans la représentation issue des résultats obtenus en gradient de manière relative à la quantité de PLL, la variabilité qui s'exprime selon F1 est la plus faible (61% au lieu de 67% pour les deux autres cas) mais elle se reporte sur l'axe F2, vu que la variabilité totale reste constante sur l'ensemble du plan F1 F2, et ce quelle que soit l'étude (87±1%).

Le tableau suivant récapitule les coordonnées des variables pour chacune des études.

On rappelle que plus la valeur est proche de 1 (en valeur absolue), plus la variable contribue à la formation de l'axe.

Tableau XLV : Coordonnées des variables (TAG majeurs)

	TAG majeurs en isocratique (valeurs relatives) cas 1		TAG majeurs en gradient (valeurs absolues) cas 2		TAG majeurs en gradient par rapport à PLL (valeurs relatives) cas 3	
	F1	F2	F1	F2	F1	F2
LLL	<b>-0,772</b>	0,293	<b>-0,920</b>	0,185	<b>-0,552</b>	0,670
OLL	<b>0,918</b>	0,149	0,065	<b>0,971</b>	<b>0,910</b>	0,267
PLL	-	-	-0,917	-0,042	-	-
OOL	<b>0,980</b>	0,088	<b>0,934</b>	0,243	<b>0,969</b>	-0,051
SLL	-0,058	<b>0,972</b>	-0,826	-0,139	0,238	<b>0,873</b>
POL	<b>0,982</b>	0,061	<b>0,868</b>	-0,314	<b>0,962</b>	-0,033

Dans les trois représentations, l'axe F1 est principalement gouverné par OOL et POL qui sont anti corrélés à LLL.

Du point de vue des individus, les Cmo étant systématiquement caractérisés par un fort F1 (figures 44 a et b), cela signifie que les huiles du genre et espèces Cmo sont plus riches en OOL et POL et moins riches en LLL que celles de l'ensemble des groupes Cl, Cp et Ls qui sont de ce point de vue strictement équivalentes.

Dans le cas des résultats obtenus de manière relative à PLL (cas 1 et 3), l'axe F2 est gouverné par SLL et en partie par LLL. Ainsi une différenciation apparaît dans le groupe des huiles des genres et espèces Cl, Cp et Ls. Les huiles du genre et espèce Ls ont tendance à être moins riches en SLL et en LLL que celles des genres et espèces Cp et Cl (figures 44 a et 46 a et b.). Selon que l'on utilise les résultats du cas 1 ou du cas 3, les huiles des genres et espèces Cl ou Cp sont intermédiaires et se mélangent majoritairement avec celles des genres et espèces Ls, mais elles se mélangent aussi entre elles.

On retrouve ici les conclusions tirées de l'étude des distances de Mahalanobis en AFD.

D'un point de vue plus général, il nous faut comparer les conclusions que l'on peut déduire des résultats traités de manière relative ou en absolu.

Lorsqu'on interprète les conclusions déduites de l'examen de la répartition des individus dans le plan F1 F2 par traitement des résultats obtenus de manière absolue (cas 2), nous constatons que l'axe F2 est en partie gouverné par la quantité de OLL présente dans les huiles.

Ainsi, les huiles du genre et espèce Cp (moins riches en OLL) sont différenciées de celles des deux genres et espèces Cl+Ls (plus riches en OLL).

La dispersion dans le plan F1 F2 est du même ordre avec cette manière d'analyser les données qu'en traitant les résultats relatifs.

Par contre, nous pouvons noter que l'huile Cmo Cam est regroupée avec celles des autres huiles issues du genre et espèce Cmo.

En conclusion, même s'il y a des légères différences entre les trois études, les conclusions que l'on peut tirer conduisent aux mêmes conclusions finales.

2. 2. 2. Résultats de l'analyse en ACP conduite avec l'ensemble des TAG pris comme variables.

Les résultats traités ont été rendus homogènes. En effet, les analyses conduites en conditions isocratiques font apparaître les trois TAG suivants LLLn, LLnLn et LnLnLn à l'état de traces. Par contre, et de manière surprenante, les analyses conduites en gradient d'élution l'ont été dans les conditions telles que ces TAG n'ont pas été statistiquement détectés (rapport signal sur bruit < 3).

Nous avons donc de manière préliminaire, effectué des analyses en composantes principales en incluant d'une part les pourcentages de ces trois TAG (LnLnLn, LLnLn, LLLn) dans les variables et d'autre part en excluant leur contribution. La comparaison des deux traitements en ACP est reportée dans le tableau XLVI ci-après

Tableau XLVI : Comparaison de deux traitements

	% de variance des axes F1, F2, F3 et % cumulé			
	F1+F2	F1	F2	F3
TAG en isocratique avec LnLnLn, LLnLn, LLLn	68	51	17,2	9,4
TAG en isocratique sans LnLnLn, LLnLn, LLLn	82	61,3	20,8	7,2

La comparaison des analyses selon que les pourcentages des LnLnLn, LLnLn, LLLn contribuent ou non à la variabilité montre que l'on travaille avec ou sans les 3 TAG, le pourcentage cumulé F1+F2 est de 68 ou 82%, c'est à dire que les conclusions que l'on peut en tirer sont fiables.

De manière générale, les conclusions que l'on peut tirer de cette comparaison (résultats non montrés) sont identiques lorsqu'on examine la répartition des espèces et la direction des vecteurs propres dans le plan F1 F2. La variabilité engendrée par les trois TAG comprenant

au moins un résidu Ln s'exprime selon F3 et concerne les huiles de Cmo MbK 02, Cp P/N 03, NTS Mouy 03 et Cmo Bzv' 02 qui sont plus riches en ces trois TAG que les autres huiles.

Ainsi, afin de rendre homogènes les variables quant à leur matrice, nous avons supprimé leur contribution dans les analyses ACP menées sur les résultats acquis en isocratique.

De la même manière, parmi les TAG mineurs détectés par l'analyse en gradient d'élution, trois TAG n'apparaissent qu'à l'état de traces dans certaines huiles à savoir : PSO, PPO et SOO. Pour ne pas leur donner un poids dans cette analyse statistique, nous avons supprimé leur contribution dans les variables traitées issues des analyses en gradient.

Les résultats des trois études sont reportés dans les tableaux suivants, tirés des figures 45, 47 à 49 regroupées en annexe.

Tableau XLVII : TAG totaux dans les trois études

	% de variance des axes F1, F2 et F3 et % cumulé		
	En isocratique (valeurs relatives)	En gradient (valeurs absolues)	Gradient /PLL (valeurs relatives)
Nombre de vecteurs propres	14	15	14
F1F2	72	61,6	60
F1F3	70,7	58	54,2
F1	62	43,9	42
F2	9,8	17,7	18
F3	8,7	14,1	12,2

Du fait que les pourcentages de variabilité de F2 et F3 sont proches, il faudra aussi regarder la répartition des variables dans le plan F1 F3.

Tableau XLVIII: Coordonnées des variables (TAG totaux)

	TAG totaux en isocratique (valeurs relatives)			TAG totaux en gradient (valeurs absolues)			TAG totaux en gradient par rapport à PLL (valeurs relatives)		
	F1	F2	F3	F1	F2	F3	F1	F2	F3
LLL	<b>-0,736</b>	0,072	<b>0,587</b>	<b>0,940</b>	0,097	0,142	<b>-0,405</b>	<b>-0,633</b>	-0,095
OLL	0,912	0,038	0,342	0,064	<b>0,785</b>	0,202	0,785	-0,480	-0,136
PLL	-	-	-	0,888	0,137	0,204	-	-	-
OOL	<b>0,971</b>	-0,044	0,181	<b>-0,872</b>	0,412	-0,044	<b>0,881</b>	-0,405	-0,155
SLL	-0,175	<b>0,789</b>	0,386	0,794	-0,265	-0,024	-0,065	0,264	<b>0,624</b>
POL	<b>0,979</b>	-0,070	0,084	<b>-0,786</b>	-0,064	-0,444	<b>0,903</b>	-0,139	0,224
PPL	0,777	-0,143	-0,446	-0,387	<b>-0,722</b>	-0,300	0,645	0,440	0,426
OOO	<b>0,936</b>	0,072	0,056	<b>-0,904</b>	0,214	-0,002	<b>0,929</b>	-0,239	-0,060
SOL	<b>0,973</b>	-0,014	0,095	<b>-0,811</b>	-0,012	-0,114	<b>0,925</b>	-0,225	-0,013
POO	<b>0,946</b>	0,086	0,148	<b>-0,797</b>	0,087	-0,009	<b>0,777</b>	0,098	0,189
PSL	0,745	-0,101	-0,035	-0,153	<b>-0,776</b>	-0,356	0,545	0,429	0,458
PPO	0,190	0,471	-0,342	-0,448	-0,333	<b>0,712</b>	0,360	<b>0,659</b>	<b>-0,511</b>
SOO	0,877	0,023	-0,008	-0,484	-0,113	0,658	0,472	0,089	-0,374
SSL	0,223	<b>0,679</b>	-0,415	-0,001	<b>-0,588</b>	0,094	-0,079	<b>0,467</b>	0,112
PSO	0,814	0,070	0,226	-0,415	-0,362	<b>0,793</b>	0,311	<b>0,691</b>	<b>-0,613</b>

De manière générale, l'axe F1 est régi principalement par les trois TAG suivants comportant au moins un résidu O : POL, SOL, POO qui sont très proches de l'axe F1, auxquels s'ajoutent OOL et OOO plus éloignés de l'axe F1, selon que les résultats soient traités de manière absolue ou de manière relative (TAG totaux en isocratique ou TAG en gradient par rapport à PLL).

Dans les trois représentations, les Cmo sont systématiquement anticorrélés à Cl, Cp et Ls (figures 44-46). Par ailleurs, les TAG évoqués ci-dessus et contenant au moins un résidu O sont anticorrélés à LLL ; ceci veut dire que dans les trois représentations les Cmo sont plus riches en TAG avec O et moins riches en LLL que l'ensemble Cl, Cp et Ls.

L'axe F2 est régi principalement par des TAG comportant soit un 1S soit 1P (SSL, SLL et PSL, PPL, PSO, PPO) mais dont la nature change d'une représentation relative à l'autre. Les trois ont en commun une contribution importante de SSL.

De manière très générale, avec les méthodes relatives, la plus grande variabilité selon F2 est due à SLL (méthode isocratique) PSO (gradient d'éluion normé à PLL) et l'ensemble des 4 TAG : [(SSL, PSL, PPL) anti corrélés à OLL] dans la méthode en gradient d'éluion.

Il est difficile de séparer Cp, Cl et Ls selon l'axe F1 dans les deux représentations issues d'un traitement relatif des données, c'est-à-dire les TAG totaux en isocratique et les TAG totaux en gradient d'éluion par rapport à PLL. Une tendance apparaît : les Cl sont plus riches en SLL que les Ls. Le genre Cp étant intermédiaire et se répartit dans les deux classes.

### Analyse dans le plan F1F3

ACP conduite sur les TAG totaux comme variables.

Comme on vient de le voir, de manière générale l'axe F1 est régi principalement par les 5 TAG suivants : OOL, OOO, SOL, POL et POO qui sont « proches » de l'axe F1.

Si on traite des variables relatives, OOO et SOL sont très proches de l'axe F1 avec une contribution négligeable sur F3. Les trois autres TAG s'expriment par un % non négligeable selon F3.

Si on traite des variables en absolu, LLL, -OOL, -OOO, -SOL et -POO sont très proches de l'axe F1 avec une composante négligeable sur F3. Les variables qui s'expriment principalement suivant F3 sont PPO et PSO.

En comparant avec la représentation selon F1F2, on peut constater que la localisation dans l'espace F1F2 est gouvernée selon F2 par SLL alors qu'elle est gouvernée selon F3 par PPO et PSO.

La localisation des espèces dans une famille (genre et espèce) est donc modifiée, mais la localisation de chaque famille les unes par rapport aux autres est identique dans ces deux

représentations. Dans ce cas précis, l'analyse selon F1F3 n'amène donc pas d'information pertinente supplémentaire pour caractériser les huiles de courge.

Seule la représentation qui tient compte de l'ensemble des TAG (TAG totaux) en gradient, permet de différencier le genre Cp des genres Ls et Cl qui restent confondus. Les Cp étant plus riches en SSL et moins riches en OLL que les deux autres genres.

En conclusion, le fait de normaliser les résultats de manière relative à PLL (qui dans l'étude de manière absolue a une forte contribution suivant F1, mais aussi une contribution non négligeable suivant F2), conduit à une différenciation des différentes huiles dans le plan F1F2 beaucoup moins nette. Le regroupement des huiles par genre et espèce est alors beaucoup plus délicat.

### 2. 3. Classification Ascendante Hiérarchique : CAH

Les dendrogrammes et les différentes classes obtenues sont regroupés en annexes (figures A50-A55).

Les principaux résultats extraits sont reportés dans le tableau XLIX qui suit.

Tableau XLIX : Récapitulatif des principaux résultats obtenus en CAH

Analyse	Nbre de classes	Genres qui se mélangent et les plus proches de la troncature	Individus isolés	Individus mal classés par rapport à la nomenclature	Mbi 03 avec :	Lc avec :	NTS Mouy03 avec :	Cs Cam	Séparation Cl de Ls et de Cp	Cmo en incluant Cmo Cam
TAG totaux en isocratique	5	Cl+Ls très proches de Cp	Cmo Cam et Cp plat 05 +Lc	Aucun	Cp, Cl, Ls	CmoPlat05 (forme un groupe)	Cmo	Cp, Cl, Ls	non	Séparés en 3
TAG majeurs en isocratique	4	Cl+Ls très proches de Cp	Cmo Cam	Cp Cam (avec Cl+Ls) ClBzv03 et Ls Niger (avec Cp)	Cl, Ls	Cmo	Cmo	Cp	Cl+Ls séparés de Cp	Séparés en 2
TAG majeurs en gradient	4	Cp et Ls proches mais séparés	Aucun	Ls Niger avec Cp Certains Cl répartis avec soit Cl soit Cp et certains Cp avec Ls ou Cl)	Cl	Cmo	Cmo	Cp	oui	1 groupe
TAG totaux en gradient	5	3 classes Cmo et Cl+Ls non	Cmo P/N03	Cl Bzv01 avec CpLs Niger	Cl+Ls	Cmo	Cmo	Cp	Cl +Ls séparés	Séparés en 3

		séparés		avec Cmo CpCam avec Cl+Ls					de Cp	
Analyse	Nbre de classes	Genres qui se mélangent et les plus proches de la troncature	Individus isolés	Individus mal classés par rapport à la nomenclature	Mbi 03 avec :	Lc avec :	NTS Mouy03 avec :	Cs Cam	Séparation Cl de Ls et de Cp	Cmo en incluant Cmo Cam
TAG majeurs par rapport à PLL en gradient	4	Cl+Ls non séparés	Cmo Cam	Ls Niger, Ls RCA, Ls MbNd, Cmo P/N03, Cl Bzv01 et Cl RDC03 avec Cp. CpBzv01 et CmoBzv'02 avec Cl	Cl+Ls	Cmo	Cmo	Cp	non	Séparés en 2
TAG totaux par rapport à PLL en gradient	4	2 classes Cmo	Cp Bzv 01	Cl+Ls+Cp ensemble	Cl+Ls+ Cp	Cmo	Cmo	Cl+Ls+Cp	non	Séparés en 2

Cette analyse nous permet de tirer des conclusions générales quelle que soit la manière d'obtenir et de traiter les résultats.

D'après leur composition en TAG, les quatre genres et espèces dont nous n'avons qu'un seul échantillon peuvent être regroupées avec les huiles des genres et espèces Cmo, Cp, Cl et Ls comme suit :

- Mbi 03 est toujours classé avec le groupe Cl+Ls qui ne sont, à une exception près, jamais différenciés tout comme en ACP.
- Lc et NTS Mouy 03 sont toujours classés avec les Cmo (idem en ACP).
- Cs Cam est toujours classé au sein du genre Cp (idem en ACP).

D'autres huiles ne se retrouvent pas classées dans leur genre et espèce, tout comme en AFD où les mêmes résultats ont été obtenus:

- Ls Niger se retrouve (à une exception près) toujours avec le genre Cp.
- Cp Cam est classé avec le groupe indiscerné Cl+Ls.
- Cmo Cam est souvent isolé bien que plus proche des autres Cmo que du groupe Cp+Ls+Cl.

Si on matérialise cela sur la répartition des huiles en ACP selon les composantes F1 F2 F3, le fait de prendre comme variables les TAG majeurs en gradient conduit à la séparation des Cmo et grossièrement Ls de Cl et de Cp bien que les Cl se répartissent en trois classes.

Tout comme en AFD et en ACP, l'analyse relative en isocratique ou en gradient normalisé par rapport à PLL fait perdre de la finesse de classement.

Si on analyse sur l'ensemble des variables, la répartition la plus homogène par genre dans l'espace F1 F2 est donnée par l'analyse en TAG totaux par gradient.

Toutes les autres études en CAH ne séparent pas Cl de Ls et incluent certains Cl dans Cp (dans ce cas l'analyse par rapport à PLL peut suffire).

### 3 Les esters méthyliques (EMs) et les triacylglycérols (TAG)

Dans un deuxième temps, nous avons cherché en utilisant les mêmes instruments mathématiques à sélectionner le type de méthodes analytiques à mettre en œuvre, permettant de discerner les genres de cucurbitacées ayant le plus grand potentiel d'intérêt nutritionnel. Pour cela, nous avons regroupé les données des EMs et des TAG. Nous les avons traité de différentes manières :

\* EM regroupés sous la forme :  $\Sigma$  EM sat (EP+ES),  $\Sigma$  EM monoinsaturés (EO) et  $\Sigma$  EM polyinsaturés (EL+ELn) :

\* TAG majeurs en isocratique + 5 EM isolés (EP, ES, EO, EL, ELn)

\* TAG majeurs en isocratique + EM regroupés sous la forme :  $\Sigma$  EM sat (EP+ES),  $\Sigma$  EM monoinsaturés (EO) et  $\Sigma$  EM polyinsaturés (EL+ELn)

\* TAG majeurs en gradient + 5 EM isolés (EP, ES, EO, EL, ELn)

\* TAG majeurs en gradient + EM regroupés sous la forme :  $\Sigma$  EM sat (EP+ES),  $\Sigma$  EM monoinsaturés (EO) et  $\Sigma$  EM polyinsaturés (EL+ELn)

#### 3.1. Mise en évidence du potentiel nutritionnel des cucurbitacées analysées

Comme précédemment nous traiterons successivement les AFD puis les ACP et enfin les CAH, et présentons les résultats sous forme de tableaux récapitulatifs.

##### 3.1.1. AFD

Les figures A56 à A60 en annexe montrent les résultats obtenus

Tableau L: Regroupement des résultats des esters méthyliques et des triacylglycérols majeurs en AFD

Analyse	Nbre de vecteurs propres	Carrés des distances de Mahalanobis entre les groupes Ls Cp Cl			%F1	%F2	F1+F2	Individus mal classés	Probabilité d'appartenance des individus mal classés
		Ls/Cp	Ls/Cl	Cp/Cl					
$\Sigma$ EM sat (EP+ES), $\Sigma$ EM monoinsaturés (EO) et $\Sigma$ EM polyinsaturés (EL+ELn)	3	5,7	1,2	2,6	94,6	5,3	99,9	Cl Bzv 03 Cl P/N 03 Cl RCA 04 Cp Cam Ls Niger	Cp Ls Ls Ls Cl
TAG majeurs en isocratique + 5 EM isolés (EP, ES, EO, EL, ELn)	10	24,4	31,7	11,0	93,7	4,7	98,4	Cl Bzv03	Cp
TAG majeurs en isocratique + $\Sigma$ EM sat (EP+ES), $\Sigma$ EM monoinsaturés (EO) et $\Sigma$ EM polyinsaturés (EL+ELn)	8	22,7	20,7	6,9	89,3	8,3	97,6	Cl Bzv03 Cp Cam	Cp Cl
TAG majeurs en gradient + 5 EM isolés (EP, ES, EO, EL, ELn)	11	43,6	76,1	34,3	87,9	9,0	96,9	Aucun	
TAG majeurs en gradient + $\Sigma$ EM sat (EP+ES), $\Sigma$ EM monoinsaturés (EO) et $\Sigma$ EM polyinsaturés (EL+ELn)	9	20,6	15,2	24,5	86,4	7,2	93,6	Aucun	

La lecture du tableau ci-dessus montre que quelle que soit les variables traitées, les représentations en AFD dans le plan F1 F2 représentent de 93,6% à 99,9% de la variabilité.

Il apparaît à l'examen de ces AFD que la meilleure représentation est donnée par l'analyse des TAG majeurs obtenus en gradient auxquels s'ajoutent les esters méthyliques pris séparément.

Le simple examen de la répartition des projections des espèces dans le plan F1F2 permet de dire que la réduction du nombre de variables conduit à ne plus discerner Cp de Cl et de mal classer certaines huiles.

La même conclusion a été tirée de l'analyse en AFD des TAG traités seuls. Par ailleurs, EO est toujours corrélé à OOL et anticorrélé aux variables EL, LLL et PLL, qui sont inter corrélées suivant F1. Quant à EP, ES et ELn, ils interviennent principalement suivant F2.

Toujours pour ce meilleur cas, le genre Cmo est très bien séparé des trois autres genres. Les Cp sont bien séparés des Ls. Par ailleurs, Cp et Cl sont les genres les plus proches.

### 3.1.1. ACP

Nous avons regroupé dans le tableau LI ci-après toutes les données susceptibles de mieux rendre compte de l'intérêt nutritionnel des huiles étudiées.

De même les figures A61 à A64 en annexe représentent les résultats obtenus

Tableau LI : Aspects nutritionnels et vecteurs significatifs

	$\Sigma$ EM sat (EP+ES), $\Sigma$ EM monoinsaturés (EO) et $\Sigma$ EM polyinsaturés (EL+ELn)		TAG majeurs en isocratique + 5 EM isolés (EP, ES, EO, EL, ELn)		TAG majeurs en isocratique + $\Sigma$ EM sat (EP+ES), $\Sigma$ EM monoinsaturés (EO) et $\Sigma$ EM polyinsaturés (EL+ELn)		TAG majeurs en gradient + 5 EM isolés (EP, ES, EO, EL, ELn)		TAG majeurs en gradient + $\Sigma$ EM (EP+ES), $\Sigma$ EM monoinsaturés ( et $\Sigma$ EM polyinsaturés (EL+ELn)	
Nbre de vecteurs propres	3		10		8		11		9	
F1+F2	100		72		85,4		71		85	
F1	65,7		53,9		66,2		53,9		65,3	
F2	34,1		18,1		19,2		17,1		19,6	
F1+F3	-		67,5		78,1		67		-	
F1+F2+F3	-		85,6		97,3		84,1		-	
Coordonnées des variables	F1	F2	F1	F2	F1	F2	F1	F2	F1	F2
EP+ES	-0.223	<b>0.975</b>			- 0.205	<b>0.920</b>			-0.256	
EO	<b>-0.963</b>	-0.268			<b>-0.978</b>	-0.152			<b>-0.958</b>	-0.188
EL+ELn	<b>0.999</b>	-0.041			<b>0.981</b>	-0.144			<b>0.970</b>	-0.161
LLL			0.833	-0.451	0.811	-0.551	<b>0.946</b>	0.170	0.942	-0.184
OLL			-0.880	-0.330	<b>-0.897</b>	-0.368	-0.005	<b>0.816</b>	-0.018	<b>-0.803</b>
PLL							<b>0.900</b>	-0.092	<b>0.901</b>	
OOL			<b>-0.951</b>	-0.184	<b>-0.965</b>	-0.186	<b>-0.906</b>	0.347	<b>-0.913</b>	-0.327
SLL			0.072	-0.665	0.038	-0.390	0.808	-0.287	0.811	
POL			<b>-0.966</b>	-0.131	<b>-0.970</b>	-0.136	-0.878	-0.265	-0.874	
EP			-0.330	<b>0.887</b>			-0.306	<b>-0.696</b>		
ES			-0.183	0.086			-0.142	-0.604		
EO			<b>-0.967</b>	-0.138			<b>-0.955</b>	0.202		
EL			<b>0.969</b>	-0.100			<b>0.972</b>	0.138		
ELn			0.242	0.422			0.107	-0.009		

De manière générale, l'axe F1 est corrélé à EL ou EL+ELn qui sont anti corrélés à EO. L'axe F2 est corrélé à EP+ES ou à EP.

Vu la position des Cmo par rapport à l'axe F1, on peut aussi dire que ceux-ci sont plus riches en EO et moins riches en EL que les groupes Cp, Cl et Ls.

Pour ces derniers, le genre Cp est plus riche en EP+ES que Cl et Ls.

Nous rappelons qu'une huile est intéressante du point de vue nutritionnel si elle est riche en AG polyinsaturés et si dans les TAG l'acide gras polyinsaturé est en position sn-2 plutôt que sn-1 et 3.

Ainsi, Cl et Ls semblent les genres les plus recommandables pour la consommation alimentaire, puis les Cmo à condition que ces résidus d'acides gras soient en bonne position sur les TAG.

Une analyse de la répartition des acides gras en position sn-1, sn-2 ou sn-3 des TAG de ces huiles est reportée à la fin de cette discussion.

Si on regarde la corrélation entre les esters et les TAG sur l'axe F1, il apparaît nettement que POL et OOL sont corrélés à EO et anti corrélés à LLL (et PLL) eux-mêmes corrélés à EL, ELn ou EL+ELn.

La représentation dans le plan F1 F2 des analyses des TAG en absolu (TAG majeurs en gradient + 5 EM isolés (EP, ES, EO, EL, ELn) ou TAG majeurs en gradient + EM regroupés sous la forme :  $\Sigma$  EM sat (EP+ES),  $\Sigma$  EM monoinsaturés (EO) et  $\Sigma$  EM polyinsaturés (EL+ELn)) permet de faire ressortir une très forte corrélation suivant l'axe F2 avec OLL qui est plus ou moins bien anti corrélé à ES, EP ou ES+EP.

Il apparaît donc que la meilleure représentation permettant de déduire les meilleures propriétés nutritionnelles est celle utilisant la composition absolue des TAG (en gradient) combinée à celle des esters méthyliques.

Dans ce cadre, les meilleures huiles sont :

Ls MbNd 03, Mbi 03, Cl RCA 04, Cp Cam, Cl P/N 03, Ls Plat 03, Ls Kiboué 03, Ls Loui 03, Ls RCA 04, Cl Mouy 03, les plus riches en L auxquelles s'ajoutent Cp Cam et Mbi 03.

Et à degré moindre on a :

Cmo Bzv 01, Cmo Bzv02, Cmo mouy 03, Cmo Plat 05, Cmo P/N 03, Cmo Mouy' 03, CmoMbk et Cmo Cam très riche en O.

### 3.1.2 CAH

L'analyse en CAH des esters + TAG (figures A65 à A68 en annexe) conduit aux mêmes résultats que l'analyse en CAH des seuls TAG.

Ainsi, pour la meilleure représentation, Cs Cam est toujours classé dans les Cp, Cp Cam et Mbi 03 avec Cl+Ls, Lc avec le genre Cmo, NTS Mouy 03 est à part mais très proche du genre Cmo. Ls Niger étant entre Cp et Cmo passe d'un groupe à l'autre selon les données traitées.

La combinaison des informations déduites des CAH / ACP permettant de mieux mettre en évidence ces conclusions, est obtenue à partir du traitement de la composition des TAG majeurs obtenue en absolu (analyse en gradient) additionnés des esters méthyliques regroupés sous la forme :  $\Sigma$  EM sat (EP+ES),  $\Sigma$  EM monoinsaturés (EO) et  $\Sigma$  EM polyinsaturés (EL+ELn).

Pour nous rendre compte du caractère régiospécifique des acides gras des huiles analysées, nous nous sommes adressé à Pierre Villeneuve du laboratoire de lipotechnie à Montpellier pour analyser deux huiles témoins : Cl Bzv01 et Cmo Bzv01. Les résultats sur la distribution des acides gras sur le squelette du glycérol des TAG sont regroupés dans les tableaux LIII et LIV

Tableau LII: Répartition interne et externe des AG des huiles de Cl Bzv01

	AG % molaire	Ai % molaire	Ae/2 % molaire
12 :0	0,1	0,1	0,1
14 :0	0,2	0,3	0,1
16 :0	12,3	1,5	17,8
16 :1	0,1	0,1	0,1
18 :0	11,6	1,0	16,9
18 :1, n=9	14,1	10,2	16,1
18 :1, n=7	0,6	0,1	0,9
18 :2, n=6	60,3	86,5	47,2
18 :3, n=3	0,1	0,3	0,1
20 :0	0,3	0,0	0,5
20 :1	0,1	0,0	0,1
22 :0	0,1	0,0	0,1

Tableau LIII : Répartition interne et externe des AG des huiles de Cmo Bzv01

	AG % molaire	Ai % molaire	Ae/2 % molaire
12 :0	0,4	0,3	0,4
14 :0	0,6	0,9	0,4
16 :0	16,2	3,2	22,8
16 :1	0,2	0,2	0,2
18 :0	8,0	1,3	11,3
18 :1, n=9	32,2	46,0	25,3
18 :1, n=7	0,6	0,4	0,7
18 :2, n=6	41,1	46,9	38,1
18 :3, n=3	0,2	0,1	0,2
20 :0	0,4	0,4	0,5
20 :1	0,1	0,0	0,1
22 :0	0,1	0,2	0,0

## Conclusion de l'étude analytique

Le but final de ce travail était de mettre au point une méthodologie générale d'analyse d'huiles alimentaires afin d'en déterminer l'intérêt nutritionnel et le cas échéant un contrôle de routine de production industrielle.

La difficulté se situait à deux niveaux : obtenir d'une part des résultats quantitatifs fiables et d'autre part, mettre au point une méthode statistique de traitements des résultats pour mettre en évidence leur biovariabilité.

De manière synthétique, il apparaît que la meilleure caractérisation des huiles de graines de courges est fournie par l'analyse de tous les triacylglycérols constitutifs par chromatographie liquide à polarité inversée de phases, couplée à un détecteur évaporatif à diffusion de lumière.

Après une identification des triacylglycérols (qui peut être faite par spectrométrie de masse, de manière théorique à partir de la composition primaire en acides gras ou encore par comparaison avec des triacylglycérols standards ou des huiles témoins), cela a nécessité de mettre au point une méthode originale d'analyse quantitative avec ce type de détecteur permettant d'obtenir la composition d'une huile même en absence de triacylglycérols standards, ce qui n'était pas possible avant ce travail et permet d'envisager sans problème un suivi de production en routine.

Une étude complémentaire peut être fournie par l'analyse de la fraction saponifiée des huiles sous forme d'esters méthyliques des acides gras constitutifs menée par chromatographie en phase gazeuse capillaire. Elle est plus réductrice d'information, mais à défaut de posséder un appareillage de HPLC, elle permet de mettre en évidence le potentiel d'intérêt biologique à la consommation de ces huiles.

Parmi toutes les approches statistiques de traitement des résultats (teneurs en AG ou en TAG), il apparaît nettement la nécessité de prendre comme variables caractéristiques la teneur de chacun des TAG constitutifs de l'huile.

Cela permet de corrélérer de manière la plus fiable :

- 1) la composition en AG à celle des TAG constitutifs des huiles,
- 2) la composition en TAG à un genre et à une espèce de graine,

- 3) la variabilité inter espèce,
- 4) la variabilité intra espèce,
- 5) l'attribution juste ou fautive d'une nouvelle espèce à un genre déjà connu,
- 6) le regroupement de genres et espèces voisines en sous-groupes.

Enfin, prendre comme variables l'ensemble de la teneur des EMs saturés, EMs monoinsaturés, EMs polyinsaturés et tous les TAG pour une analyse statistique, permet de prévoir un intérêt nutritionnel à un genre et espèce d'huiles.

Au cours de ce travail, nous avons donc mis au point l'ensemble de la méthode analytique (chromatographie et traitement statistique) qui nous semble la plus appropriée pour éventuellement contrôler une production de routine mais surtout conduire une étude d'intérêt nutritionnel des huiles de courges.

Ceci va être abordé dans la discussion générale qui suit.

## DISCUSSION GENERALE

Envisager de produire un nouveau produit comme par exemple une huile alimentaire à partir des graines de courge, revient à dresser au préalable un bilan plus ou moins exhaustif de ces graines par une étude englobant aussi bien les aspects socio-économiques que chimiques. Une telle éventualité conduit à faire un état des lieux sur le niveau de consommation de ces graines dans le pays, à déterminer leur origine tant botanique que géographique, leur composition chimique et enfin, identifier les espèces de graines de bonne valeur lipidique donc les plus intéressantes nutritionnellement.

Globalement, cela consiste à caractériser toute la chaîne de la courge depuis sa culture, sa transformation, jusqu'à sa consommation en passant par les circuits de commercialisation de contrôle de la qualité et la caractérisation complète de sa valeur nutritionnelle.

Un tel projet semble ambitieux et irréalisable dans les délais impartis à ce travail de thèse et n'ayant nullement la prétention de traiter tous ces aspects, un bref aperçu de l'état de consommation des graines de cucurbitacées et une caractérisation de la fraction saponifiable nous ont aidé à mieux aborder le problème.

S'il faut introduire un produit nouveau dans les habitudes alimentaires des consommateurs qui doivent de surcroît l'accepter, il est judicieux que ce produit dérive d'une denrée bien connue et bien intégrée dans la typologie alimentaire de la population cible, pour pallier aux facteurs marginaux comme les tabous alimentaires susceptibles d'engendrer des réticences et des phénomènes de rejet.

Pour cela, l'enquête de consommation alimentaire menée sur les graines de cucurbitacées s'est s'avérée indispensable. Celle-ci a permis non seulement, d'évaluer le niveau réel de consommation desdites graines par les Congolais, en mettant en évidence les différents modes de consommation ainsi que les espèces les mieux appréciées par les consommateurs, mais également d'identifier les bassins de forte production de la courge.

Cette connaissance est nécessaire pour stimuler l'accroissement de la production des meilleures espèces dans les zones productrices qui ont été identifiées. Ceci pourrait avoir des retombées économiques non négligeables et contribuer ainsi à améliorer le niveau de vie de la population.

L'enquête a fait apparaître que la courge constitue une filière qui mobilise une bonne part de la population. C'est une source de revenus pour 147 vendeurs (88 grossistes et 59 détaillants) identifiés dans trois marchés sur les neuf que compte Brazzaville, en dehors de différents points de vente disséminés à travers la ville. Une enquête complémentaire sur les six autres marchés permettrait de confirmer les résultats de l'enquête effectuée.

La demande alimentaire urbaine en matière de graines de courge s'avère donc assez importante, et par conséquent la filière de la courge mérite une attention particulière surtout pour un pays comme le Congo.

D'autre part, la faible production locale révélée par l'enquête peut être comblée en mettant en place certaines stratégies, comme par exemple la mise en exergue de l'impact économique que présente la production locale de l'huile et l'implication de la population dans l'activité. La création d'unités de production de l'huile dérivée des graines de cucurbitacées stimulerait les agriculteurs à augmenter leur production en graines, ce qui est bénéfique tant sur le plan national qu'individuel. Le laboratoire EPRAN pourrait se charger du contrôle statistique de la production grâce à l'analyse des TAG totaux mise au point au cours de cette thèse.

D'autres propriétés des graines peuvent être encore exploitées telle que l'utilisation en médecine, en cosmétique, la production d'aliment de bétail (ces graines étant riches en protéines et en minéraux) la fabrication des savons, la production d'énergie (carburant), etc.

L'autre perspective consisterait aussi à mettre l'accent sur la richesse en lipides des graines de courge, ce qui ferait d'elles un produit oléagineux à l'exemple de l'arachide, de l'olive, du soja, du colza et autres graines oléagineuses conventionnelles.

A cet égard, nous avons noté des taux appréciables de lipides totaux dans les graines analysées, de l'ordre de 30% pour les Cmo et NTS, 26,5% pour les Cp et 44,5% pour les Cl, Ls et Mbi (résultats non montrés dans les tableaux). Ces valeurs sont globalement similaires à celles de la littérature [4, 29, 30, 165].

L'aspect nutritionnel est également important à intégrer dans les stratégies à envisager car la consommation d'une huile de bonne qualité surtout produite localement, ne peut que présenter des avantages pour tous (réduction de la balance économique, développement d'une activité agricole et industrielle locale).

L'autre aspect révélé par l'enquête concerne la préférence des consommateurs pour certains modes de préparation des graines et pour certaines espèces de courge par rapport à d'autres.

Cette tendance peut s'expliquer par plusieurs facteurs. On peut penser à la typologie alimentaire, aux qualités organoleptiques intrinsèques inhérentes à la recette mise en œuvre, à l'environnement, à la disponibilité des personnes impliquées dans la restauration au niveau des ménages et pourquoi pas aux caractéristiques physico-chimiques des graines ?

Ne pouvant intégrer tous ces facteurs pour expliquer cette préférence (elle nécessiterait une étude statistique de très grande envergure), nous nous limiterons à dresser des hypothèses pour voir si une telle préférence est liée à la composition chimique. Ceci nous conduit à l'éventualité d'une corrélation entre aspects organoleptiques et composition chimique des huiles de ces graines, en d'autres termes voir si les caractéristiques chimiques conditionnent leurs propriétés organoleptiques.

On sait que certains acides aminés comme la proline, la glycine, l'alanine, la serine et la thréonine ont une influence positive sur les propriétés organoleptiques du produit (fromages) en participant au développement de la saveur et de l'arôme, ce qui n'est pas le cas des acides gras, car ceux-ci n'interviennent pas directement dans la flaveur du produit.

A ce sujet, les travaux de Torres M. M. et al.[166] ont montré que les composés volatils tels que les composés hydrocarbonés à courte et moyenne chaîne, les alcools, les dérivés du furane et les cétones trouvés dans les huiles d'olive et de noix, responsables de leur flaveur, proviennent de l'oxydation des acides oléique et linoléique abondants respectivement dans ces 2 huiles. Ils soulignent également que le degré d'insaturation n'est pas le seul facteur influençant la flaveur, d'autres facteurs comme la structure triglycérique et la présence des composés anti et/ou pro-oxydants peuvent influencer le développement de la flaveur. Dans ce travail nous n'avons pas eu le temps d'aborder cette étude. Elle sera à développer par la suite.

Il convient de rappeler que les graines de courge préférées par les consommateurs sont celles de *Citrullus lanatus* (Cl) et de *Lagenaria siceraria* (Ls). Etant donné que l'étude analytique s'est basée uniquement sur la composition primaire et secondaire de la fraction saponifiable des graines, nous allons donc analyser en terme nutritionnel les teneurs de ces deux types de constituants : les acides gras et les triacylglycérols.

Il s'agit donc de déterminer si ces deux espèces contiennent des acides gras ou des triacylglycérols spécifiques, à des taux plus élevés que les autres, susceptibles d'influencer leurs qualités gustatives et aromatiques.

Il s'avère que les huiles analysées contiennent de fortes teneurs en acides oléique et linoléique, ainsi qu'en triacylglycérols riches en résidus oléique et linoléique, notamment les huiles de genre et espèce Cl et Ls.

Rappelons en effet que cinq esters méthyliques ont été identifiés et quantifiés à savoir EP, ES, EO, EL, ELn représentant respectivement les acides palmitique (C16 :0), stéarique (C18 :0), oléique (C18 :1, n-9), linoléique (C18 :2, n-6) et linoléique (C18 :3, n-3).

Leurs teneurs varient d'un ester méthylique à l'autre, les valeurs extrêmes étant 0% et 70,8%.

EL est largement représenté avec des teneurs variant entre 34,2 et 70%. Il est suivi de EO dont les taux oscillent entre 10,4 et 40,5%, vient ensuite EP avec des pourcentages de 9,1 et 18,1, suivi de très près par ES dont les valeurs vont de 5,2 et 25,5%, ELn reste loin derrière avec de faibles teneurs allant de 0 à 1,8%.

Nos résultats confrontés à ceux d'autres auteurs et sur d'autres espèces de courges, se retrouvent dans la même fourchette, c'est le cas des résultats de Cp rapportés par Younis Y. M. H. et al dont les teneurs en acides gras sont de 47,0% (C18 :2), 29,0% (C18 :1), 13,3% (C16 :0), 8,0%(C18 :0) et 0,2% (C18 :3) [29]. Il en est de même des travaux de El-Adawy et al. [167] et de Zdunczyk Z. et al [27]. Pour ces derniers auteurs, les taux d'acides oléique sont cependant légèrement plus élevés (50,4% au lieu de 10,4 à 40,5%).

Enfin les valeurs citées dans le nouveau dictionnaire des huiles végétales [165] sont de même ordre de grandeur que les nôtres.

D'une manière générale, les résultats obtenus semblent se caractériser par un profil assez variable aussi bien entre les genres et espèces (variabilité interspécifique) qu'à l'intérieur des genres et espèces (variabilité intraspécifique).

Pour ce qui est de la variabilité interspécifique, cette dernière est plus marquée entre les deux grands groupes, le genre Cmo se distinguant nettement des trois autres réunis (Ls, Cl, et Cp). En considérant les valeurs des esters méthyliques (tableau XXIX, page 122), on se rend bien compte que le taux de EL est de 60,8 à 64,8% dans le genre Cl, de 51,2 à 69,9% dans le genre Ls, de 55,4 à 70,8%. dans les Cp et de 39,6 à 44,8% dans les Cmo.

En effet, l'analyse statistique faite sur les esters méthyliques et les triacylglycérols met bien en évidence cette variabilité interspécifique.

L'utilisation de l'AFD montre de très faibles valeurs des carrés de distances de Mahalanobis séparant ces trois genres et espèces (Ls, Cl, et Cp) et de fortes valeurs entre les huiles de ce

groupe et celles de Cmo. Ceci traduit la ressemblance des huiles de ce groupe et la différence qui existe entre elles et les huiles de Cmo.

En ACP, l'observation des cercles de corrélation et des graphes des esters méthyliques (figures 30 et 31 pages 168 et 169) révèle une bonne représentation de EL dans l'espace F1 F2 au niveau des trois genres et espèces *Lagenaria siceraria*, *Citrullus lanatus* et *Cucurbita pepo*, EL étant anticorrélé à EO. Autrement dit, le groupe Ls, Cl, Cp contient de fortes teneurs en acide linoléique (18:2, n-6) et de plus faibles valeurs en acide oléique (C18:1, n-9), contrairement au genre Cmo.

Quant à la variabilité intraspécifique c'est-à-dire à l'intérieur de chaque genre, donc entre espèce, celle-ci est bien sûr beaucoup moins accentuée. Pour mieux l'appréhender, il est plus judicieux de considérer chaque ester individuellement.

En ce qui concerne EL, la lecture de ce même tableau (tableau XXIX page 122) traduit de légères variations qui ne sont d'ailleurs pas bien accentuées au niveau des espèces des genres Cl, Ls (sauf Ls Niger avec 51,2%) et Cmo, contrairement au genre Cp.

La richesse de ces huiles en acide linoléique constitue un gros atout, leur consommation ne peut que être conseillée, les travaux de Renaud S. [168] ayant confirmé les bienfaits de la consommation de cet acide sur l'organisme. En plus de son caractère essentiel, l'acide linoléique diminue le taux de cholestérol et augmente celui du cholestérol HDL, ce qui se traduit négativement sur l'agrégation plaquettaire, favorisant ainsi la fluidité du sang.

Bien que anticorrélé à EL, EO (acide gras hypocholestérolémiant), est tout de même présent dans ces trois genres et espèces.

Il faut également noter la présence (quoique faible) d'un deuxième acide gras essentiel : ELn ou acide linoléique (18:3, n-3) qui est d'ailleurs bien représenté dans l'espace F1 F2 en ACP.

S'agissant de cet acide, l'analyse du tableau XXIX (page 122) montre une meilleure variabilité intraspécifique par rapport à sa distribution. Dans le genre Cl la répartition de ELn est assez uniforme (0,1 à 0,2%) entre les espèces, à l'exception de Cl RDC dont le taux arrive à 0,6%.

La variabilité intraspécifique est plus prononcée dans le genre Ls où les teneurs passent de 0 à 1,8%, les valeurs extrêmes étant attribuées respectivement à Ls Loui et Ls Niger. Le genre Cp connaît également une plus ou moins grande variabilité, les taux de ELn allant de 0,1 à 1,8%.

Quant au genre Cmo, la distribution de ELn est assez régulière à l'intérieur du genre : de 0,1 à 0,2%, sauf dans Cmo Cam pour lequel ELn atteint 1%.

Dès 1964, Owren et al [169] soulignaient le rôle de l'acide  $\alpha$ -linoléique dans la prévention des maladies cardio-vasculaires. Plus récemment, d'autres chercheurs [55, 74, 168, 170-172] ont montré que cet acide semble être le plus efficace pour abaisser les fonctions plaquettaires, tout au moins l'agrégation à la thrombine et l'activité coagulante des plaquettes chez l'homme.

Par ailleurs, des études [55] ont montré que les acides gras polyinsaturés tels que EL et ELn interviennent activement dans le développement du cerveau avec une complémentarité harmonieuse entre les acides n-6 et n-3.

Il ne faut cependant pas oublier la présence des acides gras saturés : EP, ES qui, à faibles doses, sont aussi nécessaires au bon fonctionnement de l'organisme.

Quant à la composition de la fraction triglycéridique, la classification en composantes principales (ACP) montre que quelle que soit la manière de traiter les résultats (en absolu ou en relatif), l'ensemble de trois genres et espèces (Ls, Cl et Cp) sont sur l'axe F1 gouverné par la trilinoléine (LLL) qui est anticorrélée principalement à trois TAG : POO, SOL et POL auxquels s'ajoutent de manière plus faible la trioléine (OOO) ainsi que OOL.

Cette représentation traduit que les huiles du groupe Ls, Cl et Cp sont plus riches en LLL qu'en TAG contenant un résidu oléique (O).

Toujours en ACP, nous avons constaté que dans la représentation de tous les TAG en gradient, les genres Ls, Cl, et Cp se retrouvent de part et d'autre de l'axe F1 (figures 48 a et b) qui est régi aussi par PLL et SLL. En d'autres termes, ces trois genres et espèces sont riches en PLL et en SLL, TAG à fortes teneurs en acide linoléique.

Lorsque l'on observe les figures 48 a et b, on constate que l'axe F2 est gouverné positivement par la variable OLL qui est tout de même présent dans le groupe Ls, Cl et Cp. Notons que OLL, bien que constitué de longues chaînes hydrocarbonées, est un triacylglycérol de bonne qualité nutritionnelle car étant formé de deux acides gras essentiels (LL) et d'un acide (O) favorisant la diminution du cholestérol sanguin.

La valeur nutritionnelle de ces huiles est d'autant plus accrue que l'un des deux acides linoléiques se situe en position interne (sn 2) du TAG. Des travaux antérieurs [30, 37, 39,

173-175] ont montré que dans les TAG, les acides gras insaturés occupent souvent la position sn 2 à l'inverse des acides gras saturés.

A cet égard, nous avons fait analyser deux huiles de cucurbitacées de genre différent (un échantillon du genre Cl : Cl Bzv 01 et l'autre du genre Cmo : Cmo Bzv 01) pour déterminer la position des acides gras sur le glycérol (laboratoire de lipotechnie de Montpellier). La lecture des tableaux LII et LIII (page 199) qui regroupe les résultats obtenus montre que dans Cl Bzv 01 (pris comme témoin du genre et espèce Cl), l'acide linoléique représente 86,5% des résidus acides substituant la position interne du glycérol (sn 2) et 47,2% des résidus acides substituant la position externe (sn1, sn 3). La même tendance s'observe avec Cmo Bzv 01 (pris comme référence du genre et espèce Cmo) où le même acide est représenté à 46,9% en position sn 2 alors qu'il est à 38,1% en sn 1, sn 3.

Dans cette même analyse, pour Cl Bzv 01, l'acide oléique vient après l'acide linoléique en occupant 10,2% de la position interne et 16,9% des positions sn1 et sn3. Par contre, dans Cmo Bzv 01, l'acide oléique (18 :1, n-9) se répartit de façon égale (46% environ) à l'acide linoléique (18 :2, n-6) en position sn 2 du glycérol.

L'acide  $\alpha$ -linoléique par contre ne se retrouve qu'à 0,1-0,2% aussi bien en position sn 2 qu'en positions sn1 et sn3.

La distribution de l'acide palmitique (16 :0) dans Cl Bzv 01 est de 1,5% en position sn 2, de 17,8% en positions sn1 et sn3 et dans Cmo Bzv 01 il occupe 3,2% de la position interne et 22,8% des positions externes.

En conclusion, les résultats obtenus sur nos deux huiles prises comme caractéristiques des genres et espèces Cl et Cmo sont conformes à ceux décrits par d'autres auteurs. Les acides gras insaturés sont généralement positionnés en sn 2 tandis que les acides gras saturés le sont en sn 1 et sn 3.

Ce résultat est d'importance majeure car le positionnement d'un acide gras sur le squelette glycérol détermine son devenir métabolique et son efficacité biologique. En effet, tout nutriment pour être efficace doit être biodisponible. La biodisponibilité d'un acide gras ne dépend pas uniquement de sa teneur au sein des triacylglycérols ingérés, mais aussi de sa distribution entre les positions externes et interne du squelette glycérol. Les travaux rapportés par Combe N. [48] montrent l'impact biologique de la structure triglycéridique sur la biodisponibilité des acides gras. Il s'avère par exemple que le coefficient d'absorption d'un corps gras dépend de la répartition interne sn 2 / externe sn1 + sn3 de l'acide palmitique dans

les triacylglycérols. C'est par exemple le cas des lipides du lait maternel dont la grande efficacité d'absorption serait liée en partie à la position particulière de l'acide palmitique (plus de 80% en sn 2) dans ses TAG. Il ressort qu'un tel positionnement de 16:0 est favorable pour l'alimentation de l'enfant qui a un plus grand besoin d'énergie pour sa croissance et son développement, d'où sa présence dans cette position dans le lait maternel. Par contre, cette position de l'acide palmitique en sn 2 est défavorable chez l'adulte qui est exposé au risque d'athérosclérose (l'acide palmitique en sn 2 possède un fort potentiel athérogène).

Les travaux de Renaud SC. [176] témoignent de l'intérêt du positionnement en sn 2 dans le métabolisme de l'acide linoléique et probablement des autres acides gras polyinsaturés. En effet, les acides gras situés sur la position sn 2 des TAG ingérés semblent être métabolisés plus efficacement en dérivés supérieurs par désaturation et allongement que ceux des positions sn 1 et sn 3.

S'agissant de l'acide  $\alpha$ -linoléique, sa disponibilité cellulaire est fortement limitée par sa grande capacité à être rapidement  $\beta$ -oxydé, aussi la position sn 2 pourrait la protéger d'une  $\beta$ -oxydation précoce, préjudiciable à sa fonction de précurseur d'acides gras essentiels (EPA et DHA) [177]. Par conséquent, en terme de biodisponibilité de l'acide linoléique, les capacités de l'huile de colza (58% du 18:3, n-3 en sn 2) sont supérieures à celles de l'huile de soja (31% du 18:3, n-3 en sn 2). Ceci a été confirmé par une étude comparative [178] menée chez le rat qui a montré que l'huile de colza favorise le positionnement en sn 2 du 18:3, n-3 dans les TAG de la lymphe, soit 44% contre 29,9% avec l'huile de soja.

La composition en acides gras des huiles de courge diffère de celle de soja, de colza et d'olive, à l'exception des teneurs de l'acide palmitique qui sont presque les mêmes partout. Les huiles de courge sont en général plus riches en 18:0 et en 18:2, n-6 que les autres huiles [165] avec une position sn 2 majoritaire sur les TAG leur conférant un grand intérêt nutritionnel.

Bien que les huiles analysées ne soient pas suffisamment riches en 18:3, n-3, elles sont tout de même de bonne valeur nutritionnelle au regard de leur abondance en acides gras insaturés. Le tableau XXIX (page 122) met en évidence les fortes proportions d'acides gras insaturés (AGI) allant de 60,1 à 82,5% tandis que les taux d'acides gras saturés (AG) en assez faibles proportions, sont présents à hauteur de 17,5 à 39,9%, le rapport AGI / AG donnant des valeurs de 1,5 à 4,7%.

Quant aux deux acides gras essentiels détectés et quantifiés dans les huiles analysées, leurs teneurs sont de l'ordre de 34,1 à 72%, l'acide linoléique étant le plus représenté (34 à 70,8%), d'où de très fortes valeurs des rapports  $El$  sur  $Eln$  (tableau XXIX page 122).

Comme nous l'avons constaté lors de l'analyse statistique, les meilleures huiles d'un point de vue nutritionnel se retrouvent dans les genres  $Cl$  ( $Cl$  RCA 04,  $Cl$  P/N 03 et  $Cl$  Mouy 03) et  $Ls$  ( $Ls$  MbNd,  $Ls$  Plat 03,  $Ls$  Kiboué 03,  $Ls$  Loui 03,  $Ls$  RCA 04).  $Cp$  Cam et  $Mbi$  03 classées dans le groupe  $Cl$  et  $Ls$  font aussi partie des meilleures huiles.

Les  $Cmo$  quant à eux ne le sont que moyennement, les meilleures huiles de ce genre étant  $Cmo$  Bzv 01,  $Cmo$  Bzv 02,  $Cmo$  Mouy 03,  $Cmo$  Plat 05,  $Cmo$  P/N 03,  $Cmo$  Mouy' 03,  $Cmo$  MbK et  $Cmo$  Cam très riche en  $O$ .

L'interprétation de la variabilité interspécifique et intraspécifique de la composition chimique des graines peut prendre en compte les variations du biotope et les modifications génétiques.

La composition primaire et secondaire de  $Ls$  Niger par exemple présente un profil assez particulier. Les esters méthyliques ont des teneurs très élevées, passant parfois du simple au double (au niveau de  $EO$ ) sauf au niveau de  $ES$  où les quantités sont presque identiques. La distribution des triacylglycérols (tableau XXXVIII, page 152) par contre est irrégulière, les taux des TAG majeurs à deux résidus  $L$  sont plus faibles dans  $Ls$  Niger que dans les autres espèces du même genre, alors que les TAG à un seul résidu  $L$  se retrouvent à des proportions nettement plus élevées.

La différence de climat entre le Niger (pays du Sahel au climat chaud et sec) et les pays de l'Afrique centrale (en zone tropicale et équatoriale au climat chaud et humide) peut être à l'origine des variations observées. Il faudrait vérifier une telle hypothèse par une étude statistique ultérieure en intégrant l'analyse d'un grand nombre d'huiles de cette sous région.

La comparaison entre espèces, des esters méthyliques et des triacylglycérols des huiles de la zone équato-tropicale ne révèle pas de variations bien nettes, à l'exception de  $Cp$  Cam où les pourcentages d'acides gras insaturés sont supérieurs à ceux des autres espèces, contrairement aux teneurs d'acides gras saturés qui sont légèrement plus basses par rapport à celles des autres espèces du même genre.

Il est difficile d'avancer une quelconque hypothèse liant l'influence du biotope à la variabilité de leur composition chimique des huiles, vu le nombre insuffisant d'huiles de même genre et espèce et venant d'origine géographique différente.

On constate simplement que parmi les huiles à haut potentiel nutritionnel du genre Cl, Cl RCA 04 (originaire du Centrafrique, zone forestière) se retrouve avec les deux autres huiles du Congo (Cl P/N 03 et Cl Mouy 03), de même Ls RCA 04 se place avec les meilleures huiles de son genre (Ls MbNd, Ls Plat 03, Ls Kiboué 03 et Ls Loui 03).

Les mêmes conclusions s'imposent également pour Cmo Cam qui est l'une des meilleures huiles du genre Cmo.

Quant à l'huile de Luffa cylindrique (Lc) qui n'est pas consommée au Congo, celle-ci est classée pourtant avec les Cmo dont la qualité nutritionnelle vient d'être démontrée. Alors pourquoi ses graines ne sont pas consommées dans le pays ? Contiendrait-elle des anti-nutriments et lesquels ? On sait que dans certains pays, le jeune fruit de Luffa est utilisé en salade à l'image des concombres. De toutes les manières même si l'huile de Luffa cylindrica n'est pas comestible, elle peut avoir d'autres utilisations, tel que signalé plus haut.

Au regard de ce qui précède, peut-on lier la préférence de Ls et de Cl par les consommateurs à leurs caractéristiques ? La préférence de *Citrullus lanatus* et *Lagenaria siceraria* stigmatisée par les consommateurs trouve peut être une explication dans le traitement statistique qui regroupe systématiquement les deux espèces étant entendu que l'analyse statistique fait apparaître une grande distance statistique entre ces deux espèces qui sont indiscernables et les autres genres et espèces étudiées dans le présent travail.

Lorsqu'on observe les espèces de graines les plus vendues, donc les plus consommées, *Citrullus lanatus* et *Lagenaria siceraria* viennent largement en tête, *Cucurbita pepo* (Cp) arrive après. Le peu d'engouement des consommateurs face aux graines des genres Cmo et NTS, peut s'expliquer par la légère amertume qu'elles présentent.

Pragmatiquement les préférences des consommateurs pour Cl et Ls correspondent aux espèces les plus intéressantes à consommer du point de vue nutritionnel. On pourrait être tenté de déduire que cela s'explique par leur richesse en acides gras insaturés, particulièrement en acides gras essentiels et en triacylglycérols à forte teneur en résidus O et L. Ceci aboutirait à une corrélation entre qualités organoleptiques de Cl et de Ls et leur structure chimique, ce qui reste à démontrer.

## CONCLUSION GENERALE

Le travail que nous avons réalisé visait deux objectifs principaux. Le premier consistait à évaluer le niveau de consommation des graines de cucurbitacées au Congo. Le second était de caractériser la composition primaire et secondaire de la fraction saponifiable.

Pour atteindre ces objectifs, nous avons mis en oeuvre différentes stratégies et opérations qui se sont déroulées en plusieurs étapes.

Dans un premier temps, une enquête de consommation alimentaire sur les graines de courge menée auprès des vendeurs et des consommateurs a été nécessaire.

Elle a permis de mettre en évidence le nombre relativement important des personnes de différentes générations impliquées dans le circuit de commercialisation de la courge, les femmes étant les plus nombreuses.

Cette enquête a également servi non seulement à déterminer les origines géographiques des graines de cucurbitacées consommées à Brazzaville, mais également à déceler la faible production locale, le grand fournisseur des graines étant la République Démocratique du Congo.

Par ailleurs, il a été possible d'identifier cinq espèces de courge de consommation courante à Brazzaville, à savoir *Citrullus lanatus*, *Lagenaria siceraria*, *Cucurbita pepo*, *Cucurbita moshata*, Ntsouéké. Parmi elles, *Citrullus lanatus* et *Lagenaria siceraria* sont les plus appréciées par les consommateurs, qui les consomment sous des formes culinaires variées, les boulettes et les papillotes étant les modes de préparation préférées.

En outre, nous avons pu constater par le biais de cette enquête, qu'en dépit de leur richesse en lipides, l'aspect oléagineux des graines n'est pas exploité en terme de source directe de matière grasse visible, les graines n'étant consommées que sous forme de légumes ou servant à accommoder les plats.

Pour réaliser le deuxième objectif, nous avons utilisé deux techniques séparatives que sont la chromatographie en phase gazeuse (CPG) et la chromatographie liquide haute performance (HPLC).

Dans un premier temps, la caractérisation de la composition primaire de la fraction saponifiable des graines a été obtenue de manière très conventionnelle, grâce à l'usage de la chromatographie en phase gazeuse. Cette technique a permis l'analyse quantitative des acides gras constitutifs, et a montré que acides gras insaturés sont en plus fortes proportions que les acides gras saturés. De même il a été constaté la prédominance de l'acide linoléique (18 :2, n-

6), acide gras essentiel précurseur des acides gras de la famille n-6, participant aux fonctions vitales de l'organisme. La CPG a permis de mettre en relief la présence non négligeable de l'acide linoléique, acide gras essentiel que l'organisme ne peut synthétiser, précurseur des acides gras de la famille n-3, aux fonctions biologiques multiples.

L'analyse de la fraction triglycéridique (composition secondaire) en chromatographie à polarité inversée de phases non aqueuses (mode NARP) s'est effectuée en deux étapes.

La première qui a concerné l'analyse semi-qualitative des triacylglycérols a permis leur identification et leur quantification relative par normalisation à PLL.

Le manque de linéarité du système de détection (DEDL) nécessaire à l'analyse des triacylglycérols nous a poussé à mettre au point et à valider une technique nouvelle d'analyse quantitative des TAG, en utilisant la corrélation existant entre les coefficients a et b découlant de l'équation  $A = am^b$  qui permet l'analyse quantitative en DEDL. Ceci a été la seconde étape dans l'usage de la chromatographie liquide haute performance à polarité inversée de phases (NARP).

La quantification des TAG par détection évaporative de diffusion de la lumière (DEDL) a d'abord confirmé les résultats obtenus en analyse semi-quantitative, à savoir la présence de six TAG majeurs LLL, OLL, PLL, OOL, SLL, POL et celle de neuf TAG mineurs PPL, OOO, SOL, POO, PSL, PPO, SOO, SSL, PSO.

L'originalité de cette nouvelle technique de dosage des TAG consiste dans le fait que même si on ne dispose pas de TAG standards nécessaires à l'établissement des courbes d'étalonnage dans une méthode d'analyse quantitative classique, il est possible de mener une analyse quantitative des composés non volatils en milieux non aqueux avec le DEDL comme détecteur, ceci malgré le manque de reproductibilité des valeurs des coefficients b et log a au cours du temps.

Ceci peut constituer un atout non négligeable dans le transfert des connaissances, surtout pour nos pays qui ne disposent pas toujours des moyens nécessaires pour l'achat des produits témoins (généralement très onéreux) et d'équipements performants.

Cette démarche nous a permis d'une part de mieux appréhender le fonctionnement du DEDL et d'autre part de mettre en évidence la biodiversité des huiles analysées.

A cet effet, l'usage des méthodes statistiques (AFD, ACP et CAH) a été d'une grande utilité pour mieux cerner la variabilité inter et intra spécifique des graines de cucurbitacées analysées.

Les différents traitements statistiques des résultats obtenus ont donc permis de regrouper les graines par genre et espèce en fonction de leur composition en AG et en TAG, et par

conséquent de déterminer leurs origines géographiques en détachant les huiles qui ne correspondent pas au groupe d'appartenance supposé (les huiles mal classées).

En d'autres termes le traitement statistique a servi à valider les origines botaniques des graines en les classant dans leur groupe variétal selon leur genre et espèce tout en soulignant les différences plus ou moins grandes qui les discriminent.

De ce fait, l'analyse statistique s'avère un outil indispensable dans l'évaluation de la diversité des produits.

Ce travail a également mis en exergue la bonne valeur nutritionnelle potentielle des huiles de cucurbitacées de la région sub-saharienne, du fait des valeurs élevées des rapports acides gras insaturés sur acides gras saturés.

Certes, la prédominance d'acides gras insaturés peut engendrer une certaine instabilité face aux phénomènes oxydatifs, mais généralement, les huiles de courge contiennent de forts taux de phytostérols qui les protègent naturellement de la  $\beta$ -oxydation. Pour pallier aux effets négatifs de hautes températures de cuisson, ces huiles à haut degré d'insaturation, peuvent être utilisées non comme huiles de friture, mais comme huiles de table pour assaisonnement et pour accommoder les salades et

De même, ces huiles à forte densité en acides gras insaturés peuvent être coupées avec celles à faibles teneurs, de façon à obtenir une huile appropriée pour friture.

Par ailleurs, comme les huiles analysées sont pauvres en acide linoléique, elles peuvent être mélangées à celles aux forts taux de ELn, telles que les huiles de colza, de noix et de noisette pour obtenir des huiles diététiques ou à appellation contrôlée à l'image de l'huile d'olive.

Pour cela, il serait intéressant d'analyser des graines oléagineuses locales dont les huiles auraient des teneurs en ELn anticorrélées à celles en EL et à faible valeur d'acides gras saturés, afin d'en faire des mélanges avec les huiles de courge.

Au terme de l'étude, nous pouvons nous interroger s'il est vraiment nécessaire de faire parallèlement l'analyse quantitative des AG et des TAG dans la caractérisation des huiles.

Nous pensons que les deux types d'analyses menées parallèlement ne peuvent que se compléter. Il faudra leur ajouter une étude régiospécifique qui mettrait en évidence le positionnement des AG sur le squelette glycérol des TAG pour une meilleure appréhension de la valeur nutritionnelle du produit.

Enfin, ce travail laisse entrevoir plusieurs perspectives tant au niveau de la recherche fondamentale qu'à celui de la recherche appliquée.

Cette étude montre en effet l'ampleur du travail qui reste à faire dans la transformation des produits vivriers qui aboutirait aux nouveaux produits. Cela nécessite la réalisation des projets

de recherches bien définis et soutenus, dans la mesure où la recherche en agro-alimentaire est quasi inexistante au Congo. Ce secteur peu valorisé pour des raisons diverses (manque de moyens disponibles et des programmes de recherche adaptés), nécessite la mise en place des orientations ciblées sur des spéculations conventionnelles et non conventionnelles qui sont tout autant des sources non négligeables des nutriments indispensables à une alimentation bien équilibrée, nécessaire au bon fonctionnement de l'organisme.

La création de petites unités de transformation des graines de cucurbitacées à travers le pays peut être envisagée, ce qui serait une dynamique pour les autres cultures non encore exploitées suffisamment. Tout ceci peut contribuer non seulement à renforcer les capacités oléagineuses du pays, mais aussi le sortir de la dépendance de l'étranger en matière d'huile alimentaire.

Une telle éventualité présentant un impact socio-économique certain, intègre bien les stratégies de lutte contre la pauvreté, mises en place par les institutions internationales et aussi approuvées par le Congo.

La satisfaction que pourrait nous apporter ce travail serait de freiner non seulement l'exode rural, mais également l'immigration massive qui a pour corollaire la fuite des cerveaux, véritable fléau dont souffre cruellement le pays, afin que chaque enfant du Congo et d'Afrique, puisse vivre harmonieusement et dignement dans son environnement originel.

## **BIBLIOGRAPHIE**

- [1] DOS SANTOS AGBESSI H. et DAMOS M., *Les grands problèmes nutritionnels en Afrique sub-saharienne*, in *Manuel de nutrition africaine*, Karthala: Paris. **1987**, p. 307.
- [2] CRESTA M., MASSAMBA J., NGATSE J.M. et MPISSUKIDI B.L.-I., *L'économie paysanne et l'alimentation dans les villages d'Oka-Bambo et d'Inkala-Matiba*. Rev. Anthr. XXIII, **1985** (23) p. 33-60.
- [3] CORNU A.E.A., *Enquête nationale sur l'état nutritionnel des enfants d'âge préscolaire au Congo*, Orstom: Paris. **1990**, p. 112-211.
- [4] SILOU T., MAMPOUYA D., LOKA LONYANGE W.D. et SAADOU M., *Composition globale et caractérisation des huiles extraites de 5 espèces de Cucurbitacées du Niger*. La Rivista italiana delle sostanze grasse, **1999** (LXXVI) p. 141-144.
- [5] MVOULA TSIERI M., *Etude des lipides de cinq cucurbitacées d'intérêt alimentaire au Congo Brazzaville*, Faculté des sciences. 2006, Université Marien Ngouabi Brazzaville, Congo
- [6] VAN HEERDEN S.M. and SCHONFELDT H.C., *The need for food composition tables for southern Africa*. Journal of Food Composition and Analysis, **2004** (17) p. 531-537.
- [7] DEVEREUX S., *Food Security and Nutrition: The Global Challenge: Uwe Kracht and Manfred Schulz (editors)*, New York, St. Martin's Press, 1999. Food Policy, **2001** (26) p. 97-99.
- [8] IYENGAR G.V. and NAIR P.P., *Global outlook on nutrition and the environment: meeting the challenges of the next millennium*. The Science of The Total Environment, **2000** (249) p. 331-346.
- [9] SMITH L.C. and HADDAD L., *How important is improving food availability for reducing child malnutrition in developing countries?* Agricultural Economics, **2001** (26) p. 191-204.
- [10] MUKUDI E., *Nutrition status, education participation, and school achievement among Kenyan middle-school children*. Nutrition, **2003** (19) p. 612-616.
- [11] BACHOU H. and LABADARIOS D., *The nutrition situation in Uganda*. Nutrition, **2002** (18) p. 356-358.
- [12] ABIDOYE R.O. and EZE D.I., *Comparative school performance through better health and nutrition in Nsukka, Enugu, Nigeria*. Nutrition Research, **2000** (20) p. 609-620.
- [13] ADELEKAN D.A., *Childhood nutrition and malnutrition in Nigeria*. Nutrition, **2003** (19) p. 179-181.
- [14] MABALIA-BABELA J.R., MASSAMBA A., NTSILA R. et SENGA P., *Statut nutritionnel de l'écolier à Brazzaville : rôle des facteurs environnementaux: Nutritional status of school-age children in Brazzaville: effects of environmental factors*. Archives de Pédiatrie, **2003** (10) p. 732-733.
- [15] MABIALA-BABELA J.R., MASSAMBA A., MBEMBA F. et SENGA P., *Etat nutritionnel de l'enfant et de l'adolescent à Brazzaville : 40 ans après (1963-2003)*. Archives de Pédiatrie, **2004** (11) p. 1250-1252.
- [16] GOCKOWSKI J., MBAZO, RSQUO, O J., MBAH G. and FOU DA MOULENDE T., *African traditional leafy vegetables and the urban and peri-urban poor*. Food Policy, **2003** (28) p. 221-235.
- [17] MIESSIAEN C.M., *Le potager tropical. 2- Cultures spéciales*, P.U.F.: Paris. **1979**, p. 261-297.

- [18] KERAUDREN M., *Cucurbitacées. Flore du Cameroun* Muséum national d'histoire naturelle ed. Vol. 6. Paris **1967**. 192.
- [19] MADRUGA M.S. and CAMARA F.S., *The chemical composition of "Multimistura" as a food supplement*. Food Chemistry, **2000** (68) p. 41-44.
- [20] EZEJI C. and OJIMELUKWE P.C., *Effect of fermentation on the nutritional quality and functional properties of infant food formulations prepared from bambarra-groundnut, fluted-pumpkin and millet seeds*. Plant foods for human nutrition, **1993** (44) p. 267-276.
- [21] SUPHAKARN V.S., YARNNON C. and NGUNBOONSRI P., *The effect of pumpkin seeds on oxalocrystalluria and urinary compositions of children in hyperendemic area*. Am J Clin Nutr., **1987** (45) p. 115-121.
- [22] SUPHIPHAT V., MORJAROEN N., PUKBOONME I., NGUNBOONSRI P., LOWHNOO T. and DHANAMITTA S., *The effects of pumpkin seeds snack on inhibitors and promoters of urolithiasis in Thai adolescents*. J Med Assoc Thai., **1993** (76) p. 487-493.
- [23] CARBIN B.E., LARSSON B. and LINDAHL O., *Treatment of benign prostatic hyperplasia with phytosterols*. Br j Urol., **1990** (66) p. 639-641.
- [24] AKWAOWO E.U., NDON B.A. and ETUK E.U., *Minerals and antinutrients in fluted pumpkin (*Telfairia occidentalis* Hook f.)*. Food Chemistry, **2000** (70) p. 235-240.
- [25] BARMINAS J.T., MILAM C. and EMMANUEL D., *Mineral composition of non-conventional leafy vegetables*. Plant Foods fo Human Nutrition (Formerly Qualitas Plantarum), **1998** (53) p. 29-36.
- [26] BADIFU G.I.O., *Food potentials of some unconventional oilseeds grown in Nigeria - A brief review*. Plant foods for human nutrition, **1993** (43) p. 211-224.
- [27] ZDUNCZYK Z., MINAKOWSKI D., FREJNAGEL S. and FLIS M., *Comparative study of the chemical composition and nutritional value of pumpkin seed cake, soybean meal and casein*. Nahrung, **1999** (43) p. 392-5.
- [28] GERARD H.C., PFEFFER P.E. and OSMAN S.F., *8,16-Dihydroxyhexadecanoic acid, a major component from cucumber cutin*. Phytochemistry, **1994** (35) p. 818-819.
- [29] YOUNIS Y.M.H., GHIRMAY S. and AL-SHIHRY S.S., *African Cucurbita pepo L.: properties of seed and variability in fatty acid composition of seed oil*. Phytochemistry, **2000** (54) p. 71-75.
- [30] KINKELA T. et BEZARD J., *Les lipides de quelques produits alimentaires* Sciences des aliments, **1993** (13) p. 567-575.
- [31] HUGON P., *Multi-channel food supply systems to francophone African cities*: FAO Canada. p. 1-35
- [32] ARAGRANDE M., *Les approches disciplinaires de l'analyse des SADA*. Revue et collection "Aliments dans les villes " FAO ed. Rome **1997**.
- [33] KARLSKIND A., *Manuel des corps gras, principaux constituants chimiques des corps gras* Lavoisier Tec. Doc ed. Paris **1992**. 1579.
- [34] SÉBEDIO J.L. and CHRISTIE W.W., *Trans fatty acids in human nutrition* The Oily Press ed. Glasgow **1998**. 318.
- [35] IUPAC-IBC, *The nomenclature of lipids*. Journal of Lipid Research, **1967** (8) p. 523-528.
- [36] MU H. and HOY C.-E., *The digestion of dietary triacylglycerols*. Progress in Lipid Research, **2004** (43) p. 105-133.
- [37] GRONDIN I., SMADJA J., FARINES M. et SOULIER J., *Répartition des acides gras en position interne et externes des triacylglycérols de deux huiles cyclopropaniques: letchi et longani*. OCL, **1997** (4) p. 459-463.

- [38] ARANDA F., GOMEZ-ALONSO S., RIVERA DEL ALAMO R.M., SALVADOR M.D. and FREGAPANE G., *Triglyceride, total and 2-position fatty acid composition of Cornicabra virgin olive oil: Comparison with other Spanish cultivars*. Food Chemistry, **2004** (86) p. 485-492.
- [39] BLAISE P., WOLFF R.L. et FARINES M., *Etude régiospécifique de triacylglycérols d'huiles végétales par clivage chimique et RMN 13C haute résolution*. OCL, **1997** (4) p. 135-141.
- [40] RUIZ-GUTIERREZ V., CERT A. and RIOS J.J., *Determination of phospholipid fatty acid and triacylglycerol composition of rat caecal mucosa*. Journal of Chromatography: Biomedical Applications, **1992** (575) p. 1-6.
- [41] BUCHGRABER M., ULBERTH F., EMONS H. and ANKLAM E., *Triacylglycerol profiling by using chromatographic techniques*. Eur. J. Lipid Sci. Technol., **2004** (106) p. 621-648.
- [42] RUIZ-GUTIERREZ V. and BARRON L.J.R., *Methods for the analysis of triacylglycerols*. Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications, **1995** (671) p. 133-168.
- [43] ITABASHI Y., MYHER J.J. and KUKSIS A., *High-performance liquid chromatographic resolution of reverse isomers of 1,2-diacyl-rac-glycerols as 3,5-dinitrophenylurethanes*. Journal of Chromatography A, **2000** (893) p. 261-279.
- [44] IWASAKI Y., YASUI M., ISHIKAWA T., IRIMESCU R., HATA K. and YAMANE T., *Optical resolution of asymmetric triacylglycerols by chiral-phase high-performance liquid chromatography*. Journal of Chromatography A, **2001** (905) p. 111-118.
- [45] ADLOF R.O., MENZEL A. and DOROVSKA-TARAN V., *Analysis of conjugated linoleic acid-enriched triacylglycerol mixtures by isocratic silver-ion high-performance liquid chromatography*. Journal of Chromatography A, **2002** (953) p. 293-297.
- [46] LAAKSO P., *Mass spectrometry of triacylglycerols*. Eur. J. Lipid Sci. Technol., **2002** (104) p. 43-49.
- [47] BYRDWELL W.C., *APCI-MS in lipid analysis*, in *Advances in lipid methodology-Five*, The oily press: Bridgwater. **2003**, p. 171-253.
- [48] COMBE N., *Biodisponibilité des acides gras et apports nutritionnels conseillés*. OCL, **2002** (9) p. 135-138.
- [49] SCHEEDER M.R.L., GUMY D., LAMBELET P. and WENK C., *Effect of PUFA at sn-2 position in dietary triacylglycerols on fatty acid composition of adipose tissue in growing-finishing pigs*. OCL, **2001** (8) p. 66-67.
- [50] THOMSON A.B., KEELAN M., GARG M.L. and CLANDININ M.T., *Intestinal aspects of lipid absorption: in review*. Can J Physiol Pharmacol, **1989** (67) p. 179-91.
- [51] DECKER E.A., *The role of stereospecific saturated fatty acid positions on lipid nutrition*. Nutr Rev, **1996** (54) p. 108-10.
- [52] YLI-JOKIPII K., KALLIO H., SCHWAB U., MYKKANEN H., KURVINEN J.P., SAVOLAINEN M.J. and TAHVONEN R., *Effects of palm oil and transesterified palm oil on chylomicron and VLDL triacylglycerol structures and postprandial lipid response*. J Lipid Res, **2001** (42) p. 1618-25.
- [53] BLOND J.P., *Acides gras essentiels et propriétés de la peau*. Revue française des corps gras, **1993** (40) p. 113-120.
- [54] LOISON C., MENDY F., SÉROUGNE C. and LUTTON C., *Dietary myristic acid modifies the HDL-cholesterol concentration and liver Sacvenger receptor B1 in the Hamster*. Brit. J. Nutr., **2002** (87) p. 199-210.

- [55] BOURRE J.-M., *Développement du cerveau et acides gras*. OCL, **1996** (3) p. 173-178.
- [56] PASCAL G., *Les apports recommandés en lipides et en acides gras*. OCL, **1996** (3) p. 205-211.
- [57] MARTIN A. *Apports nutritionnels conseillés pour la population française, 3<sup>e</sup> édition, Tec. doc. Lavoisier, Paris. 2001.*
- [58] BASDEVANT A., LAVILLE M. and ZIEGLER O., *Practice guideline for the diagnosis, prevention, treatment of obesity in France. Groupe de Travail chargé de la mise au point des "Recommandations pour le diagnostic, la prévention et le traitement des Obésités en France"*. Diabetes Metab, **1998** (24 Suppl 2) p. 10-42.
- [59] PUBLIQUE R.D.H.C.D.L.S., *Pour une politique nutritionnelle de la santé publique en France. Enjeux et propositions*. Rennes **2000**: ENSP.
- [60] BASDEVANT A., LAVILLE M. et LEREBOURS E., *Traité de nutrition clinique de l'adulte*. France **2001**: Médecine sciences, Flammarion.
- [61] MERRITT C., VAJDI M., KAYSER S.G., HALLIDAY J.W. and BAZINET M.L., *Validation of computational methods of triglyceride composition of fats and oils by liquid chromatography and mass spectrometry*. JAOCS, **1982** (59) p. 422-432.
- [62] ZEITOUN M.A.M., NEFF W.E., SELKE E. and MOUNTS T.L., *Analyses of vegetable oil triglyceride molecular species by reversed phase high performance liquid chromatography*. Journal of liquid chromatography, **1991** (14) p. 2685-2698.
- [63] CHRISTIE W.W., *Triacylglycerols. Structure, composition and analysis*, The oily press LTD: Dundee. **2005**.
- [64] RAMIREZ M., AMATE L. and GIL A., *Absorption and distribution of dietary fatty acids from different sources*. Early Human Development, **2001** (65) p. S95-S101.
- [65] VERNON R.G., BARBER M.C. et TRAVERS M.T., *Développements récents dans les études de la lipogénèse chez l'homme et chez les animaux*. INRA Prod. Anim., **1999** (12) p. 319-327.
- [66] COLEMAN R.A. and LEE D.P., *Enzymes of triacylglycerol synthesis and their regulation*. Progress in Lipid Research, **2004** (43) p. 134-176.
- [67] LEWIN T.M. and COLEMAN R.A., *Regulation of myocardial triacylglycerol synthesis and metabolism*. Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular and Cell Biology of Lipids, **2003** (1634) p. 63-75.
- [68] KENT C., *Eukaryotic phospholipid biosynthesis*. Annu Rev Biochem, **1995** (64) p. 315-43.
- [69] BRUCKERT E., *Les hypertriglycémies*, ed. Fabre P. Montrouge **1994**: Editions John Libbey Eurotext. 172.
- [70] WANG Y., JONES P.J.H., AUSMAN L.M. and LICHTENSTEIN A.H., *Soy protein reduces triglyceride levels and triglyceride fatty acid fractional synthesis rate in hypercholesterolemic subjects*. Atherosclerosis, **2004** (173) p. 269-275.
- [71] WELDON S., MITCHELL S., KELLEHER D., GIBNEY M.J. and ROCHE H.M., *Conjugated linoleic acid and atherosclerosis: no effect on molecular markers of cholesterol homeostasis in THP-1 macrophages*. Atherosclerosis, **2004** (174) p. 261-273.
- [72] CORREIA L.C.L., MAGALHAES L.P., BRAGA J.C., ROCHA M.S., LIMA J.C., PASSOS L.C.S., RSQUO, OLIVEIRA A., PERICLES ESTEVES J. and SPOSITO A.C., *Decrease of plasma triglycerides during the acute phase of unstable angina or non-ST elevation myocardial infarction is a marker of recurrent ischemia*. Atherosclerosis, **2004** (177) p. 71-76.
- [73] NORTH K.E., MILLER M.B., COON H., MARTIN L.J., PEACOCK J.M., ARNETT D., ZHANG B., PROVINCE M., OBERMAN A. and BLANGERO J., *Evidence for a*

- gene influencing fasting LDL cholesterol and triglyceride levels on chromosome 21q. *Atherosclerosis*, **2005** (179) p. 119-125.
- [74] MILLER G.J., *Dietary fatty acids and the haemostatic system*. *Atherosclerosis*, **2005** (179) p. 213-227.
- [75] TAKASE H., SHOJI K., HASE T. and TOKIMITSU I., *Effect of diacylglycerol on postprandial lipid metabolism in non-diabetic subjects with and without insulin resistance*. *Atherosclerosis*, **2005** (180) p. 197-204.
- [76] KESTIN M., CLIFTON P., BELLING G.B. and NESTEL P.J., *n-3 fatty acids of marine origin lower systolic blood pressure and triglycerides but raise LDL cholesterol compared with n-3 and n-6 fatty acids from plants*. *Am J Clin Nutr*, **1990** (51) p. 1028-34.
- [77] CHRISTIE W.W., *Lipid analysis. Isolation, separation, identification and structural analysis of lipids*. Bridgwater **2003**: The oily press. 416.
- [78] AITZETMULLER K., XIN Y., WERNER G. and GRONHEIM M., *High-performance liquid chromatographic investigations of stillingia oil*. *Journal of Chromatography A*, **1992** (603) p. 165-173.
- [79] WRETENSJO I., SVENSSON L. and CHRISTIE W.W., *Gas chromatographic--mass spectrometric identification of the fatty acids in borage oil using the picolinyl ester derivatives*. *Journal of Chromatography A*, **1990** (521) p. 89-97.
- [80] CHRISTIE W.W., *Recent developments in high-performance liquid and gas chromatography of lipids*. *Revue Française des Corps Gras*, **1991** (38) p. 155-160.
- [81] LIE KEN JIE M.S.F., CHOI C.Y.C., BERGER A. and BERGER R.G., *Re-examination of the fatty acid composition Biota orientalis seed oil by gas chromatography--mass spectrometry of the picolinyl ester derivatives*. *Journal of Chromatography A*, **1991** (543) p. 257-261.
- [82] FAY L. and RICHLI U., *Location of double bonds in polyunsaturated fatty acids by gas chromatography-mass spectrometry after 4,4-dimethyloxazoline derivatization*. *Journal of Chromatography A*, **1991** (541) p. 89-98.
- [83] LIEBICH H.M., WIRTH C. and JAKOBER B., *Analysis of polyunsaturated fatty acids in blood serum after fish oil administration*. *Journal of Chromatography: Biomedical Applications*, **1991** (572) p. 1-9.
- [84] EDER K., REICHLMAYR-LAIS A.M. and KIRCHGESSNER M., *Gas chromatographic analysis of fatty acid methyl esters: Avoiding discrimination by programmed temperature vaporizing injection*. *Journal of Chromatography A*, **1991** (588) p. 265-272.
- [85] FIAD S., *Component triacylglycerols of six seed oils of malvaceae*. *JAOCS*, **1991** (68) p. 23-25.
- [86] BLAND J.M., CONKERTON E.J. and ABRAHAM G., *Triacylglyceride composition of cottonseed oil by HPLC and GC*. *JAOCS*, **1991** (68) p. 840-843.
- [87] CASSIDY D.M., PRATT D.A., TAYLOR R., ALBERTI K.G.M.M. and LAKER M.F., *Capillary column gas chromatography-mass spectrometry for the determination of the fatty acid composition of human adipose tissue*. *Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications*, **1989** (491) p. 1-13.
- [88] YAN X., BARLOW P.J. and CRAVEN C., *Discrimination in recovery during capillary GLC analysis of fish oil: The use of a recovery correction factor (RCF)*. *Food Chemistry*, **1991** (40) p. 93-99.
- [89] HERON S. et TCHAPLA A., *Propriétés et caractérisation des phases stationnaires et phases mobiles de chromatographie liquide à polarité de phases inversée*. *Analisis*, **1993** (21) p. 327-347.

- [90] HERON S., LESELLIER E. TCHAPLA A., *Analysis of triacylglycerols of borage oil by RPLC. Identification by coinjection.* Journal of liquid chromatography, **1995** (18) p. 599-611.
- [91] HERON S. and TCHAPLA A., *Comparison of the responses of triacylglycerols with an evaporative visible light scattering detector used in conventional, micro and capillary liquid chromatography.* Journal of Chromatography A, **1999** (848) p. 95-104.
- [92] ROSSET R., CAUDE M. et JARDY A., *Manuel pratique de chromatographie en phase liquide.* Paris **1982**: Masson.
- [93] HERON S., TCHAPLA A. and CHERVET J.P., *Influence of injection parameters on column performance in nano HPLC.* Chromatographia, **2000** (51) p. 499-500.
- [94] HERON S. et TCHAPLA A., *Utilisation d'un modèle d'interaction moléculaire pour l'optimisation de la séparation des triglycérides de corps gras en CLPI. (Etablissement d'empreintes caractéristiques des différents corps gras).* OCL, **1994** (13) p. 219-228.
- [95] HERON S. and TCHAPLA A., *Finger prints of triacylglycerols from oils and fats by HPLC isocratic elution and evaporative light scattering detection* Alfortville **1994**: Sedere.
- [96] HERON S. et TCHAPLA A., *Choix des phases stationnaires et mobiles pour la séparation en chromatographie en phase liquide de triglycérides de corps gras.* Analisis, **1994** (22) p. 114-126.
- [97] HERON S. and TCHAPLA A., *Reversible solvent and temperature induced "monomeric-like"- "polymeric-like" transitions in alkyl bonded silica.* Chromatographia, **1993** (36) p. 11-18.
- [98] HERON S. and TCHAPLA A., *Description of retention mechanism by solvophobic theory : Influence of organic modifiers on the retention behaviour of homologous series in reversed-phase liquid chromatography.* Journal of Chromatography A, **1991** (556) p. 219-234.
- [99] MAYER B.X. and LORBEER E., *Triacylglycerol mixture for testing capillary columns for high-temperature gas chromatography.* Journal of Chromatography A, **1997** (758) p. 235-242.
- [100] SCHOMBURG G., DIELMANN R., HUSMANN H. and WEEKE F., *Gas chromatographic analysis with glass capillary columns.* Journal of Chromatography, **1976** (122) p. 55-72.
- [101] BRUCHET A., LEGRAND M.F., ARPINO P. and DILETTATO D., *Recent methods for the determination of volatile and non-volatile organic compounds in natural and purified drinking water.* Journal of Chromatography: Biomedical Applications, **1991** (562) p. 469-480.
- [102] SASSANO G.J. and JEFFREY B.S.J., *Gas chromatography of triacylglycerols in palm oil fractions with medium-polarity wide-bore columns.* JAOCS, **1993** (70) p. 1111-1114.
- [103] KUKSIS A., MYHER J.J. and SANDRA P., *Gas-liquid chromatographic profiling of plasma lipids using high-temperature-polarizable capillary columns.* Journal of Chromatography A, **1990** (500) p. 427-441.
- [104] REZANKA T. and MARES P., *Determination of plant triacylglycerols using capillary gas chromatography, high-performance liquid chromatography and mass spectrometry.* Journal of Chromatography A, **1991** (542) p. 145-159.
- [105] ANTONIOSI FILHO N.R., CARRILHO E. and LANÇAS F.M., *Fast quantitative analysis of soybean oil in olive oil by high temperature capillary gas chromatography.* JAOCS, **1993** (70) p. 1051-1053.

- [106] ALONSO L., *Capillary gas chromatography of some triglycerides in cheese using programmed temperature injection*. Chromatographia, **1993** (35) p. 649-652.
- [107] SIMONEAU C., HANNAERT P. and ANKLAM E., *Detection and quantification of cocoa butter equivalents in chocolate model systems: analysis of triglyceride profiles by high resolution GC*. Food Chemistry, **1999** (65) p. 111-116.
- [108] MAYER B.X., ZOLINER P., LORBEER E. and RAUTER W., *A new 75% diphenyl, 25% dimethyl-polysiloxane coated on fused silica capillary columns for high temperature gas chromatography*. J. Sep. Sci., **2002** (25) p. 60-66.
- [109] LEE D.-S., LEE E.-S., KIM H.-J., KIM S.-O. and KIM K., *Reversed phase liquid chromatographic determination of triacylglycerol composition in sesame oils and the chemometric detection of adulteration*. Analytica Chimica Acta, **2001** (429) p. 321-330.
- [110] NURMELA K.V.V. and SATAMA L.T., *Quantitative analysis of triglycerides by high-performance liquid chromatography using non-linear gradient elution and flame ionization detection*. Journal of Chromatography A, **1988** (435) p. 139-148.
- [111] PHILLIPS F.C., ERDAHL W.L., SCHMIT J.A. and PRIVETT O.S., *Quantitative analysis of triglyceride species of vegetable oils by high performance liquid chromatography via a flame ionization detector*. Lipids, **1984** (19) p. 880-7.
- [112] CHRISTIE W.W., *Structural analysis of fatty acids*, in *Advances in lipid methodology-Four*, The oily Press LTD: Dundee. **1997**, p. 119-169.
- [113] ROUESSAC F. and ROUESSAC A., *Analyse chimique. Méthodes et techniques instrumentales modernes*. Paris **1997**: Masson.
- [114] KIM H.Y. and SALEM J.N., *Liquid chromatography-mass spectrometry of lipids*. Progress in Lipid Research, **1993** (32) p. 221-245.
- [115] ANDRIKOPOULOS N.K., *Chromatographic and Spectroscopic Methods in the Analysis of Triacylglycerol Species and Regiospecific Isomers of Oils and Fats*. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, **2002** (42) p. 473-505.
- [116] NIKOLOVA-DAMYANOVA B., *Reversed phase high performance liquid chromatography: general principles and application to the analysis of fatty acids and triacylglycerols*, in *Advances in lipid methodology-four*, The oily press LTD: Dundee. **1997**, p. 193-251.
- [117] RHODES S.H. and NETTING A.G., *Normal-phase high-performance liquid chromatography of triacylglycerols*. Journal of Chromatography A, **1988** (448) p. 135-143.
- [118] TSIMIDOU M. and MACRAE R., *Reversed-phase chromatography of triglycerides--theoretical and practical aspects of the influence of injection solvents*. J Chromatogr Sci, **1985** (23) p. 155-60.
- [119] ROHRSCHEIDER L., *Solvent characterization by gas-liquid partition coefficients of selected solutes*. Analytical Chemistry, **1973** (45) p. 1241-1247.
- [120] MANIONGUI C., GRESTI J., BUGAUT M., GAUTHIER S. and BEZARD J., *Determination of bovine butterfat triacylglycerols by reversed-phase liquid chromatography and gas chromatography*. Journal of Chromatography A, **1991** (543) p. 81-103.
- [121] DOTSON K.D., JERRELL J.P., PICCIANO M.F. and PERKINS E.G., *High-performance liquid chromatography of human milk triacylglycerols and gas chromatography of component fatty acids*. Lipids, **1992** (27) p. 933-9.
- [122] UNGER K.K., *Packings and stationary phases in chromatographic techniques*, ed. Chromatographic science series v. New York **1990**: Unger, K.K. 836.
- [123] LEE K.T., JONES K.C. and FOGLIA T.A., *Separation of structured lipids by high performance liquid chromatography*. Chromatographia, **2002** (55) p. 197-201.

- [124] PERONA J.S., BARRON L.J.R. and RUIZ-GUTIERREZ V., *Determination of rat liver triglycerides by gas-liquid chromatography and reversed-phase high-performance liquid chromatography*. Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications, **1998** (706) p. 173-179.
- [125] SWE P.Z., MAN Y.B.C. and GHAZALI H.M., *Improved NARP-HPLC method for separating triglycerides of palm olein and its solid fractions obtained at low temperature storage*. Food Chemistry, **1996** (56) p. 181-186.
- [126] LIN J.-T., WOODRUFF C.L. and MCKEON T.A., *Non-aqueous reversed-phase high-performance liquid chromatography of synthetic triacylglycerols and diacylglycerols*. Journal of Chromatography A, **1997** (782) p. 41-48.
- [127] REDDEN P.R., HUANG Y.-S., LIN X. and HORROBIN D.F., *Separation and quantification of the triacylglycerols in evening primrose and borage oils by reversed-phase high-performance liquid chromatography*. Journal of Chromatography A, **1995** (694) p. 381-389.
- [128] DREUX M. and LAFOSSE M., *Evaporative light scattering detection of carbohydrates in HPLC*, in *Carbohydrate analysis. High performance liquid chromatography and capillary electrophoresis*. Journal of chromatography library-vol 58, Elsevier: Amsterdam. **1995**, p. 515-540.
- [129] CHARLESWORTH J.M., *Evaporative analyser as a mass detector for liquid chromatography*. Analytical Chemistry, **1978** (50) p. 1414-1420.
- [130] YOUNG C.S. and DOLAN J.W., *Success with evaporative light-scattering detection*. LC-GC Europe, **2003** (16) p. 2-5.
- [131] CARELLI A.A. and CERT A., *Comparative study of the determination of triacylglycerol in vegetable oils using chromatographic techniques*. Journal of Chromatography A, **1993** (630) p. 213-222.
- [132] CHRISTIE W.W. and MORRISON W.R., *Separation of complex lipids of cereals by high-performance liquid chromatography with mass detection*. Journal of Chromatography A, **1988** (436) p. 510-513.
- [133] LUTZKE B.S. and BRAUGHLER J.M., *An improved method for the identification and quantitation of biological lipids by HPLC using laser light-scattering detection*. J Lipid Res, **1990** (31) p. 2127-30.
- [134] PALMER A.J. and PALMER F.J., *Rapid analysis of triacylglycerols using high-performance liquid chromatography with light scattering detection*. Journal of Chromatography A, **1989** (465) p. 369-377.
- [135] BURKOW I.C. and HENDERSON R.J., *Isolation and quantification of polymers from autoxidized fish oils by high-performance size-exclusion chromatography with an evaporative mass detector*. Journal of Chromatography A, **1991** (552) p. 501-506.
- [136] HIERRO M.T.G., TOMAS M.C., FERNANDEZ-MARTIN F. and SANTA-MARIA G., *Determination of the triglyceride composition of avocado oil by high-performance liquid chromatography using a light-scattering detector*. Journal of Chromatography A, **1992** (607) p. 329-338.
- [137] DREUX M., LAFOSSE M. and MORIN-ALLORY L., *The evaporative light scattering detector. A universal instrument for non volatile solutes in LC and SFC*. LC-GC international, **1996** (9) p. 148-156.
- [138] HERON S., DREUX M. and TCHAPLA A., *Post-column addition as a method of controlling triacylglycerol response coefficient of an evaporative light scattering detector in liquid chromatography-evaporative light-scattering detection*. J. of chromatography A, **2004** (1035) p. 221-225.

- [139] HERON S., DREUX M. and TCHAPLA A., *Evaporative light scattering detection. A sensitivity greatly dependent of solute properties, chromatographic conditions and instrument capabilities.* LC-GC Europe accepté pour parution en 2006, **2006**.
- [140] GAUDIN K., BAILLET A. and CHAMINADE P., *Adaptation of an evaporative light-scattering detector to micro and capillary liquid chromatography and response assessment.* Journal of Chromatography A, **2004** (1051) p. 43-51.
- [141] MEGOULAS N.C. and KOUPPARIS M.A., *Development and validation of a novel LC/ELSD method for the quantitation of gentamicin sulfate components in pharmaceuticals.* Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, **2004** (36) p. 73-79.
- [142] MEGOULAS N.C. and KOUPPARIS M.A., *Enhancement of evaporative light scattering detection in high-performance liquid chromatographic determination of neomycin based on highly volatile mobile phase, high-molecular-mass ion-pairing reagents and controlled peak shape.* Journal of Chromatography A, **2004** (1057) p. 125-131.
- [143] HERON S., MALOUMBI M.G., DREUX M. and TCHAPLA A., *Experimental proofs of a correlation between coefficients describing the slope of the response line and the response factor of an Evaporative Light Scattering Detector.* LC- GC à paraître en 2006, **2006**.
- [144] LAFOSSE M. and HERBRETEAU B., *Carbohydrate analysis by modern chromatography and electrophoresis.* J. of chromatography A, **2002** (66) p. 1101.
- [145] CUNHA S.C. and OLIVEIRA M.B.P.P., *Discrimination of vegetable oils by triacylglycerols evaluation of profil using HPLC/ELSD.* Food Chemistry, **2006** (95) p. 518-524.
- [146] HYTEN D.L., PANTALONE V.R., SAXTON A.M., SCHMIDT M.E. and SAMS C.E., *Molecular Mapping and Identification of Soybean Fatty Acid Modifier Quantitative Trait Loci.* JAOCS, **2004** (81) p. 1115-1118.
- [147] AFAF K.-E. and ANDERSON R., *A multivariate study of the correlation between tocopherol content and fatty acid composition in vegetable oils.* JAOCS, **1997** (74) p. 375-380.
- [148] OLLIVIER D., ARTAUD J., PINATEL C., DURBEC J.P. and GUÉRÈRE M., *Triacylglycerol and fatty Acid Compositions of French Virgin Olive Oils. Characterization by Chemometrics.* J. of Agricultural and Food Chemistry, **2003** (51) p. 5723-5731.
- [149] OLIVIER D., ARTAUD J., PINATEL C., DURBEC J.P. and GUÉRÈRE M., *Differentiation of French virgin olive oil RDOCs by sensory characteristics, fatty acid and triacylglycerol composition and chemometrics.* Food chemistry **2005** (XXX) p. XXX-XXX.
- [150] RANALLI A., POLLASTRI L., CONTENTO S., LORETO G.D., IANNUCCI E., LUCERA L. and RUSSI F., *Acylglycerol and Fatty Acid Components of Pulp, Seed, and Whole Olive Fruit Oils. Their Use to Characterize Fruit Variety by Chemometrics.* J. Agric.Food Chem., **2002** (50) p. 3775-3779.
- [151] NAGY K., BONGIORNO D., AVELLONE G., AGOZZINO P., CERAULO L. and VEKEY K., *High performance liquid chromatography-mass spectrometry based chemometric characterization of olive oils.* Journal of Chromatography A, **2005** (1078) p. 90-97.
- [152] CICHELLI A. and PERTESANA G.P., *High-performance liquid chromatographic analysis of chlorophylls, pheophytins and carotenoids in virgin olive oils: chemometric approach to variety classification.* Journal of Chromatography A, **2004** (1046) p. 141-146.

- [153] TORRES M.M., MARTINEZ M.L. and MAESTRI D.M., *A Multivariate Study of the Relationship Between Fatty Acids Volatile Flavor Components in Olive and Walnut Oils*. JAOCS, **2005** (82) p. 105-110.
- [154] SPERKOVA J. and SUCHANEK M., Multivariate classification of wines from different Bohemian regions (Czech Republic), **2005** (93) p. 659-663.
- [155] DONECHE B., *les acquisitions récentes en chromatographie du vin. Applications à l'analyse sensorielle des vins* : Tec. Doc.
- [156] SHUM CHEONG SING A., SMADJA J., GAYDOU E.M. et CONAN J.Y., *Différenciation des rhums de la Réunion à partir des méthodes officielles d'analyse*. Analisis, **1994** (22) p. 332-339.
- [157] AMARAL J.S., CUNHA S.C., ALVES M.R., PERIRA J.A., SEABRA R.M. and OLIVEIRA B.P.P., *Triacylglycerol Composition of Walnut (*Juglans regia* L.) cultivars: Characterization by HPLC-ELSD, and chemometrics*. J. Agric.Food Chem., **2004** (52) p. 7964-7969.
- [158] STELLA C., SEURET P., RUDAZ S., CARRUPT P.-A., GAUVRIT J.Y. and VAN HEERDEN S.M., *Characterization of chromatographic supports for the analysis of basic compounds*. J. Sep. Sci., **2002** (25) p. 1351-1363.
- [159] MAJEK P., HEVESI T., KRUPCIK J., CHRÉTIEN J.R. and ARMSTRONG D.W., *Chemometric studies of retention in capillary gas chromatographic separation of hydrocarbons in coupled columns*. J. of chromatography A, **2005** (1068) p. 307-314.
- [160] VAN GYSEGHEM E., JIMIDAR M., SNEYERS R., REDLICH D., VERHOEVEN E., MASSART D.L. and VANDER HEYDEN Y., *Orthogonality and similarity within silica-based reversed-phased chromatographic systems*. Journal of Chromatography A, **2005** (1074) p. 117-131.
- [161] SINGH K.P., MALIK A., MOHAN D., SINHA S. and SINGH V.K., *Chemometric data analysis of pollutants in wastewater--a case study*. Analytica Chimica Acta, **2005** (532) p. 15-25.
- [162] BRONDZ I., HOILAND K. and EKEBERG D., *Multivariate analysis of fatty acids in spores of higher basidiomycetes: a new method for chemotaxonomical classification of fungi*. Journal of Chromatography B, **2004** (800) p. 303-307.
- [163] DONECHER B., *Les acquisitions récentes en chromatographie du vin. Application à l'analyse sensorielle des vins*. Paris: Tec.Doc.
- [164] SMADJA J., GAYDOU E.M., LAMATY G. et CONAN J.Y., *Influence régionale et annuelle de l'huile essentielle de vétiver Bourbon sur les constantes physico-chimiques*. Analisis, **1989** (17) p. 319-325.
- [165] UCCIANI E., *Nouveau Dictionnaire des huiles Végétales. Composition en acides gras* Lavoisier Tec Doc ed. Paris **1995**. 644.
- [166] TORRES M.M., MARTINEZ M.L. and MAESTRI D.M., *A Multivariate Study of the Relationship Between Fatty Acids Volatile Flavor Components in Olive and Walnut Oils*. JAOCS, **2005** (82) p. 105-110.
- [167] EL-ADAWY T.A. and TAHA K.M., *Characteristics and Composition of Watermelon, Pumpkin, and ParpiKa Seeds Oils and Flours*. J. Agric.Food Chem., **2001** (49) p. 1253-1259.
- [168] RENAUD S., *Prévention secondaire de l'infarctus par le régime. Rôle de l'acide alpha- linoléique* OCL, **1996** (3) p. 169-172.
- [169] OWREN P., HELLEM A. and ODEGUARD A., *Linolenic acid for the prevention of thrombosis and myocardial infarction*. Lancet, **1964** (2) p. 757-761.
- [170] BONNEFOY M., ABIDI H., JAUFFRET M., GARCIA I., SURRACE J.P. and DRAI J., *Hypocholestérolémie du sujet âgé: influence de l'inflammation et de la dénutrition* La revue de médecine interne, **2002** (23) p. 991-998.

- [171] LAIRON D., *Dietary fatty acids and arteriosclerosis*. Biomed & pharmacother **1997** (51) p. 333-336.
- [172] GLEW R.H., CASADOS J., HUANG Y.-S., CHUANG L.-T. and VANDERJAGT D.J., *Correlation of the fatty acid composition and fluid property of the cholesteryl esters in the serum of Nigerian children with sickle cell disease and healthy controls*. Prostaglandin, Leukotrienes and Essential Fatty Acids, **2005** (68) p. 61-68.
- [173] KUSAKA T., ISHIHARA S., SAKAIDA M., MIFUNE A., NAKANO Y., TSUDA K., IKEDA M. and NAKANO H., *Composition analysis of normal plant triacylglycerols and hydroperoxidized rac-1-stearoyl-2-oleoyl-3-linoleoyl-sn-glycerols by liquid chromatography-atmospheric pressure chemical ionization mass spectrometry*. J. of chromatography A, **1996** (730) p. 1-7.
- [174] GRONDIN I., SMADJA J., FARINE M. et SOULIER J., *Les triacylglycérols de deux huiles de Sapindacées; étude des lipides de Litchi sinensis Sonn. et Euphoria longana lam*. OCL, **1997** (4) p. 295-300.
- [175] ARCOS J.A., GARCIA H.S. and HILL C.G.J., *Regioselective Analysis of the Fatty Acid Composition of Triacylglycerols with Conventional High-Performance Liquid Chromatography*. JAOCS, **2000** (77) p. 507-512.
- [176] RENAUD S., JC. R. and PETITHORY D., *The positional distribution of fatty acids in palm oil and lard influences their biologic effects in rats*. J. Nutr, **1995** (125) p. 229-237.
- [177] BEZARD J. et CLOUET P., *Biodisponibilité de l'acide alpha-linolénique*. OCL, **1997** (4) p. 194-196.
- [178] BOULOS P. et COMBE N., *Biodisponibilité de l'acide alpha-linolénique: intérêt d'une huile combinée*. OCL, **2000** (7) p. 101-104.

**ANNEXE**

**QUESTIONNAIRE DE L'ENQUETE SUR LA CONSOMMATION DE GRAINES DE  
CUCURBITACEES PAR LES POPULATIONS DE BRAZZAVILLE**

**ET**

**FIGURES SUR LE TRAITEMENT TATISTIQUE DES TAG ET DES EMs**



Si oui quelle localité .....quelle région.....

Q7 Quelle mesure utilisez-vous pour l'achat des graines ?

- a..... b.....  
c..... d.....

Q8 Quelles espèces de courge achetez-vous ?

- |                     |       |       |
|---------------------|-------|-------|
| 1 Yakala            | 1 oui | 2 non |
| 2 Nsundia           | 1 oui | 2 non |
| 3 Lengué            | 1 oui | 2 non |
| 4 Nsiya             | 1 oui | 2 non |
| 5 Nsouéki           | 1 oui | 2 non |
| 6 autres à préciser |       |       |

Q9 Quelle quantité de graines achetez-vous à chaque fois par espèce ?

- a..... b.....  
c..... d.....

Q10 Quelle est la fréquence d'achat des graines par espèce ?

Q11 Achetez-vous les graines toujours au même endroit ?

- 1 oui      2 non      9 sans réponse  
Si oui pourquoi ?  
Si non pourquoi ?

Q12 Achetez-vous les graines toujours à la même personne ?

- 1 oui      2 non      9 sans réponse  
Si oui pourquoi ?  
Si non pourquoi ?

Q13 Quel mode de paiement utilisez-vous ?

- 1 au comptant      1 oui      2 non  
2 à crédit      1 oui      2 non  
3 autres (préciser)

Q14 Comment les graines vous parviennent-elles à Brazzaville ?

- 1 par train      2 par route      2 autres (préciser)

Q15 Quelle mesure utilisez-vous pour la vente des graines

- a..... b.....  
c..... d.....

Q16 Quelle quantité de graines de chaque espèce vendez-vous par jour ?

- a..... b.....



c..... d.....

Q6 Quelle espèce de courge achetez-vous ?

a b  
c d

Q7 Quelle quantité de graines achetez-vous à chaque fois par espèce ?

a..... b.....  
c..... d.....

Q8 Quelle est la fréquence d'achat des graines de chaque espèce ?

a..... b.....  
c..... d.....

Q9 Achetez-vous les graines toujours au même endroit ?

1 oui 2 non 9 sans réponse

Si oui pourquoi ?

Si non pourquoi ?

Q10 Achetez-vous les graines toujours à la même personne ?

1 oui 2 non 9 sans réponse

Si oui pourquoi ?

Si non pourquoi ?

Q11 Combien dépensez-vous pour l'achat des graines à chaque fois.....

Q12 Quel mode de paiement utilisez-vous ?

1 au comptant 1 oui 2 non

2 à crédit 1 oui 2 non 3 autres (préciser)

Q13 Connaissez-vous la provenance des graines achetées.....

1 oui 2 non 3 sans réponse

Si oui préciser le nom du

pays.....

de la région.....

du village.....

Q14 Comment choisissez-vous les graines ?

1 par la couleur 1 oui 2 non

2 par espèces 1 oui 2 non

3 par le prix 1 oui 2 non

4 autres à préciser

Q15 Quelles sont les espèces de graines que vous achetez ?

- |                     |       |       |
|---------------------|-------|-------|
| 1 Yakala            | 1 oui | 2 non |
| 2 Nsundia           | 1 oui | 2 non |
| 3 Lengué            | 1 oui | 2 non |
| 4 Nsiya             | 1 oui | 2 non |
| 5 Nsouéki           | 1 oui | 2 non |
| 6 autres à préciser |       |       |

Q15 Quelles espèces préférez-vous ?

Q16 Pourquoi ? .....

Q17 Quelle espèce est la plus achetée ? .....

Q18 Quelle mesure utilisez-vous pour la vente des graines ?

- |        |        |
|--------|--------|
| a..... | b..... |
| c..... | d..... |

Q19 Quelle quantité vendez-vous par jour ?

- |        |        |
|--------|--------|
| a..... | b..... |
| c..... | d..... |

Q20 quel est le prix de chaque mesure ?

- |        |        |
|--------|--------|
| a..... | b..... |
| c..... | d..... |

Q21 Etes-vous satisfaits de vos ventes ?    1 oui                    2 non                    3 sans réponse

Q22 Avez-vous beaucoup de pertes ?    1 oui                    2 non                    3 sans réponse

Q23 Quel mode de paiement utilisez-vous ?

- |                     |       |       |
|---------------------|-------|-------|
| 1 au comptant       | 1 oui | 2 non |
| 2 à crédit          | 1 oui | 2 non |
| 3 autres (préciser) |       |       |

Q24 Quelle est l'étape la plus pénible du travail ?

- |                           |       |       |
|---------------------------|-------|-------|
| 1 se procurer les graines | 1 oui | 2 non |
| 2 la vente                | 1 oui | 2 non |
| 3 le transport            | 1 oui | 2 non |
| 4 autres à préciser       |       |       |

Q25 Quels sont les problèmes rencontrés dans ce métier ?

**C / ACHETEURS DU PRODUIT BRUT (graines de courge crues)**

C 1- Identification



- |                           |                                      |       |                |
|---------------------------|--------------------------------------|-------|----------------|
| a) Boulettes              | 1 oui                                | 2 non | 3 sans réponse |
|                           | Si oui combien de fois par semaine ? |       |                |
| b) Papillotes             | 1 oui                                | 2 non | 3 sans réponse |
|                           | Si oui combien de fois par semaine ? |       |                |
| c) en sauce               | 1 oui                                | 2 non | 3 sans réponse |
|                           | Si oui combien de fois par semaine ? |       |                |
| d) épaississants de sauce | 1 oui                                | 2 non | 3 sans réponse |
|                           | Si oui combien de fois par semaine ? |       |                |
| e) autres (préciser)      |                                      |       |                |

Q4- Quelle espèce de graines de courge consommez-vous?

- |           |       |       |                     |
|-----------|-------|-------|---------------------|
| a Yakala  | 1 oui | 2 non |                     |
| b Nsundia | 1 oui | 2 non |                     |
| c Lengué  | 1 oui | 2 non |                     |
| d Nsiya   | 1 oui | 2 non |                     |
| e Nsouéki | 1 oui | 2 non | f autres à préciser |

Q5- Quelle espèce de graines de courge préférez-vous manger ?

- |           |       |       |                     |
|-----------|-------|-------|---------------------|
| a Yakala  | 1 oui | 2 non |                     |
| b Nsundia | 1 oui | 2 non |                     |
| c Lengué  | 1 oui | 2 non |                     |
| d Nsiya   | 1 oui | 2 non |                     |
| e Nsouéki | 1 oui | 2 non | f autres à préciser |

Q6- Pour quelle raison ?

- |                     |                     |                                  |
|---------------------|---------------------|----------------------------------|
| a Yakala            | prix (moindre coût) | meilleure qualité organoleptique |
| b Nsundia           | prix (moindre coût) | meilleure qualité organoleptique |
| c Lengué            | prix (moindre coût) | meilleure qualité organoleptique |
| d Nsiya             | prix (moindre coût) | meilleure qualité organoleptique |
| e Nsouéki           | prix (moindre coût) | meilleure qualité organoleptique |
| f autres (préciser) | prix (moindre coût) | meilleure qualité organoleptique |
- .....
- .....

Q7- Production d'huile



- |                           |       |       |                |
|---------------------------|-------|-------|----------------|
| b. Papillotes             | 1 oui | 2 non | 3 sans réponse |
| c. en sauce               | 1 oui | 2 non | 3 sans réponse |
| d. épaississants de sauce | 1 oui | 2 non | 3 sans réponse |
| e. autres (préciser)      |       |       |                |

Q2- Quel est le prix de chaque mesure

- |              |                           |
|--------------|---------------------------|
| a. Boulettes | b. Papillotes             |
| c. en sauce  | d. épaississants de sauce |

Q3- Quelle quantité vendez-vous par jour ?

- |              |                        |
|--------------|------------------------|
| a. Boulettes | Papillotes             |
| b. en sauce  | épaississants de sauce |

Q4- Etes-vous satisfaits de vos ventes ? 1 oui 2 non 3 sans réponse

Q5- Avez-vous beaucoup de pertes ? 1 oui 2 non 3 sans réponse

Q6- Quel mode de paiement utilisez-vous ?

- |                     |       |       |
|---------------------|-------|-------|
| 1 au comptant       | 1 oui | 2 non |
| 2 à crédit          | 1 oui | 2 non |
| 3 autres (préciser) |       |       |

Q7- Quels sont les problèmes rencontrés dans ce métier ?

C- Identification de l'acheteur de petite restauration

Enquêteur.....

Date de l'enquête .....

Lieu de vente.....

Nom et prénom de l'acheteur.....

Sexe de l'acheteur F M

Age de l'acheteur .....

Ethnie de l'acheteur .....

Situation matrimonial de l'acheteur : 1 Célibataire 2 M 3 Divorcé

4 Veuf (ve) 5 Union libre 9 Sans

réponse

Avez-vous des enfants ?

1 oui 2 non 3 sans réponse

Si oui combien ? .....

Niveau scolaire de l'acheteur .....

Profession de l'acheteur.....

### B.3- Consommation par l'acheteur de petite restauration

Q1 Aimez-vous manger les graines de courge ?

Q2 Sous quelle forme les préférez-vous ?

a. Boulettes

b. Papillotes

b. en sauce

e. épaississants de sauce

Q3 Quelle quantité mangez-vous par jour ?

a. Boulettes

b.Papillotes

c. en sauce

e. épaississants de sauce

Q4 Quelle espèce de graines de courge consommez-vous?

a Yakala                      1 oui                      2 non

b Nsundia                    1 oui                    2 non

c Lengué                    1 oui                    2 non

d Nsiya                      1 oui                      2 non

e Nsouéki                   1 oui                    2 non

f autres à préciser

Q5 Quelle espèce de graines de courge préférez-vous manger ?

a Yakala                    1 oui                    2 non

b Nsundia                   1 oui                    2 non

c Lengué                    1 oui                    2 non

d Nsiya                      1 oui                      2 non

e Nsouéki                   1 oui                    2 non

f autres à préciser

Q6 Pour quelle raison ?

a Yakala                    prix (moindre coût)

meilleure qualité organoleptique

b Nsundia                   prix (moindre coût)

meilleure qualité organoleptique

c Lengué                    prix (moindre coût)

meilleure qualité organoleptique

d Nsiya                      prix (moindre coût)

meilleure qualité organoleptique



d épaississants de sauce      1 oui      2 non      3 sans réponse  
e autres (préciser)

Q2- Quel est le prix de chaque mesure

a Boulettes      b Papillotes  
c en sauce      d épaississants de sauce  
e autres à préciser

Q3- Quelle quantité vendez-vous par jour ?

a Boulettes      b Papillotes  
c en sauce      d épaississants de sauce  
e autres (préciser)

Q4- Etes-vous satisfaits de vos ventes ?    1 oui      2 non      3 sans réponse

Q5- Avez-vous beaucoup de pertes ?    1 oui      2 non      3 sans réponse

Q6- Quel mode de paiement utilisez-vous ?

1 au comptant      1 oui      2 non  
2 à crédit      1 oui      2 non  
3 autres (préciser)

Q7- Quels sont les problèmes rencontrés dans ce métier ?

### C- Consommation du produit fini

#### C1 Identification de l'acheteur

Enquêteur.....

Date de l'enquête .....

Lieu de vente.....

Nom et prénom de l'acheteur.....

Sexe de l'acheteur      F      M

Age de l'acheteur .....

Ethnie de l'acheteur .....

Situation matrimonial de l'acheteur :    1 Célibataire      2 M      3 Divorcé

4 Veuf (ve)      5 Union libre      9 Sans

réponse

Avez-vous des enfants ?

1 oui      2 non      3 sans réponse

Si oui combien ? .....

Niveau scolaire de l'acheteur .....

Profession de l'acheteur.....

## C2- Consommation

Q1 Aimez-vous manger les graines de courge ?

Q2 Sous quelle forme les préférez-vous ?

a Boulettes

b Papillotes

c en sauce

d épaississants,de sauce

e autre à préciser

Q3 Quelle quantité mangez-vous par jour ?

a Boulettes

b Papillotes

c en sauce

d épaississants de sauce

e autres à préciser

Q4- Quelle espèce de graines de courge consommez-vous?

1 Yakala

1 oui

2 non

2 Nsundia

1 oui

2 non

3 Lengué

1 oui

2 non

4 Nsiya

1 oui

2 non

5 Nsouéki

1 oui

2 non

6 autres à préciser

Q5- Quelle espèce de graines de courge préférez-vous manger ?

1 Yakala

1 oui

2 non

2 Nsundia

1 oui

2 non

3 Lengué

1 oui

2 non

4 Nsiya

1 oui

2 non

5 Nsouéki

1 oui

2 non

6 autres à préciser

Q6- Pour quelle raison ?

1 Yakala

prix (moins coûteux)

meilleure qualité organoleptique

2 Nsundia

prix (moins coûteux)

meilleure qualité organoleptique

3 Lengué

prix (moins coûteux)

meilleure qualité organoleptique

4 Nsiya            prix (moindre coût)            meilleure qualité organoleptique

5 Nsouéki        prix (moindre coût)            meilleure qualité organoleptique

6 autres (préciser) prix (moindre coût)            meilleure qualité organoleptique

.....  
.....  
.....  
.....Q7 Pourquoi vous ne les préparez pas chez vous ?

### II.3 Cosmétique

Q1 A quoi servent les graines de courge en cosmétique ?

Q2 Pour les soins de la peau            1 oui            2 non            3 sans réponse

Q3 Pour les soins des cheveux            1 oui            2 non            3 sans réponse

Q4 Autres utilisations

(préciser).....  
.....

Q5- Sous quelle forme utilisez-vous les graines ?

a- huile            1 oui            2 non            3 sans réponse

b- poudre            1 oui            2 non            3 sans réponse

c- pâte            1 oui            2 non            3 sans réponse

d- autres (préciser)

Q 6- Quelle espèce utilisez-vous ?

1 Yakala            1 oui            2 non

2 Nsundia            1 oui            2 non

3 Lengué            1 oui            2 non

4 Nsiya            1 oui            2 non

5 Nsouéki            1 oui

6 autres à préciser

### II. 4Thérapie

Q1 Contre quels maux utilisez-vous les graines de courge ?

Q2 Comment les utilisez-vous ?

.....  
.....  
.....

Q3 Quelle espèce utilisez-vous ?

- |                     |       |       |
|---------------------|-------|-------|
| 1 Yakala            | 1 oui | 2 non |
| 2 Nsundia           | 1 oui | 2 non |
| 3 Lengué            | 1 oui | 2 non |
| 4 Nsiya             | 1 oui | 2 non |
| 5 Nsouéki           | 1 oui | 2 non |
| 6 autres à préciser |       |       |

Autres utilisations des graines de courge

,

**FIGURES SUR LE TRAITEMENT TATISTIQUE DES TAG ET DES EMs**

# Etude des triacylglycérols seuls

## AFD

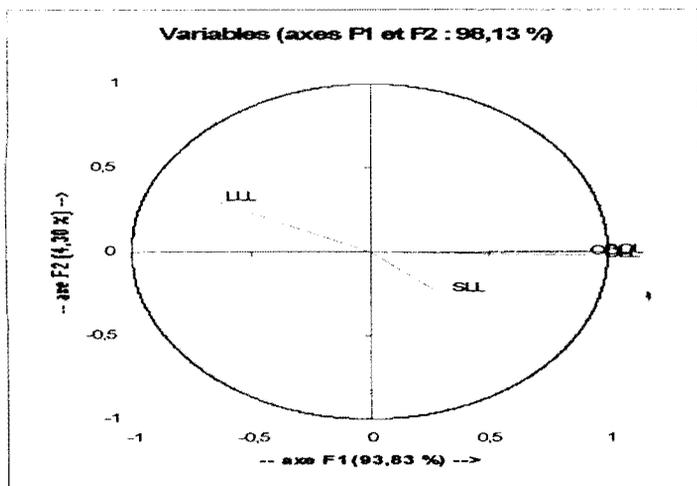


Figure A 38 a : TAG majeurs en isocratique (valeurs relatives)

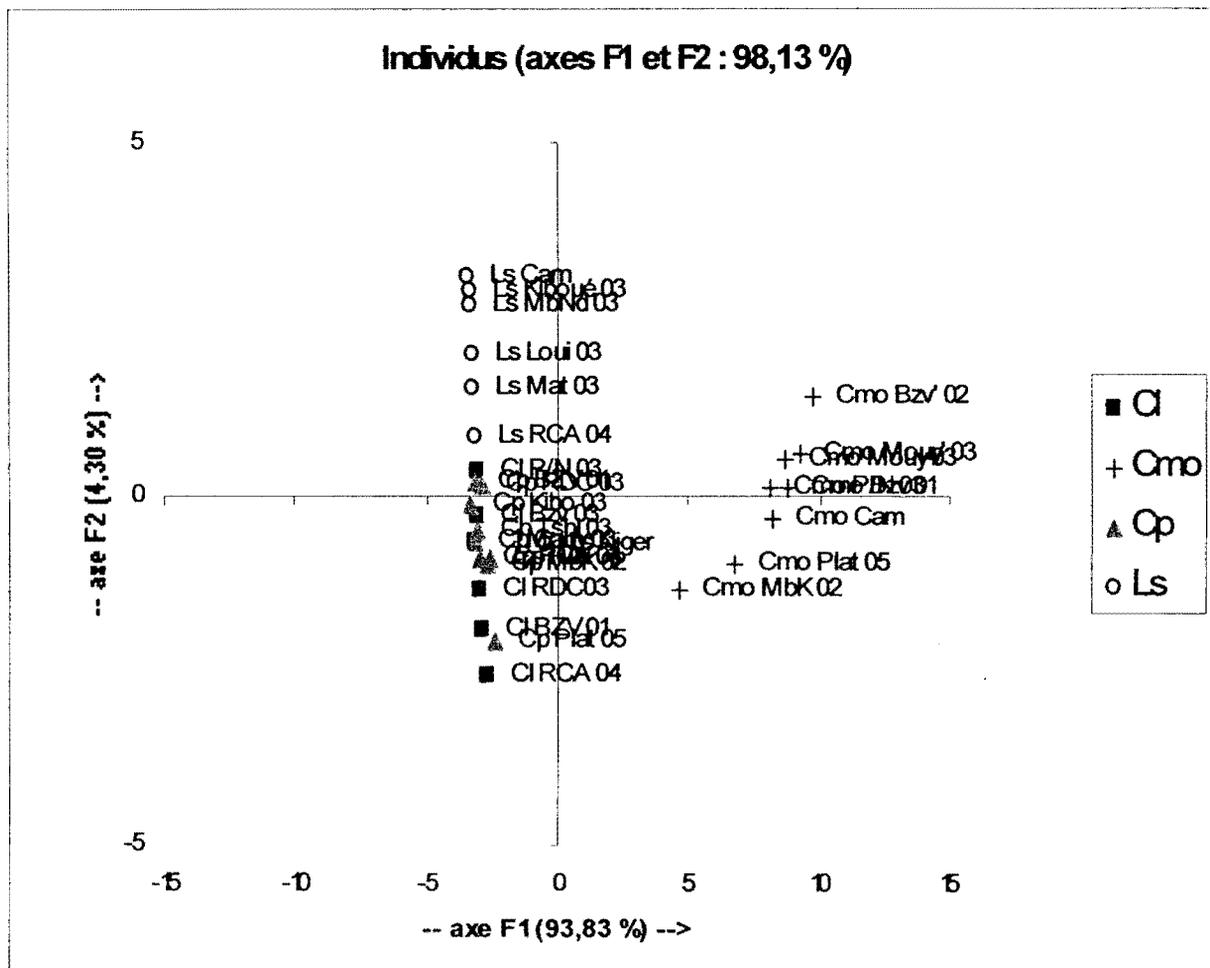


Figure A38 b : TAG majeurs en isocratique (valeurs relatives)

# AFD

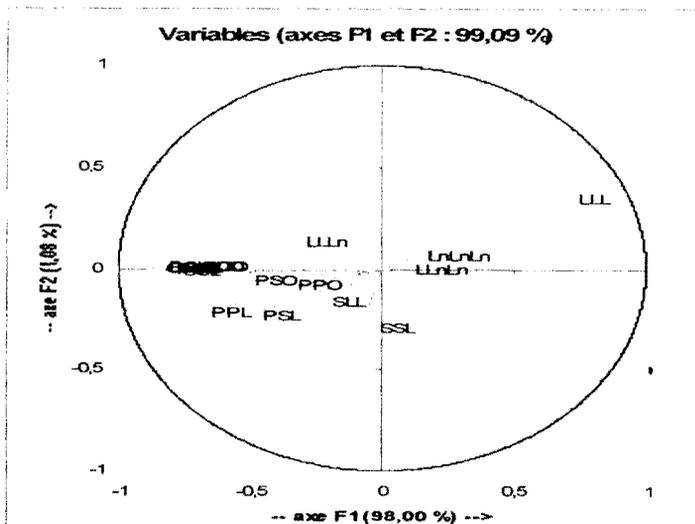


Figure A 39 a : TAG totaux en isocratique (valeurs relatives)

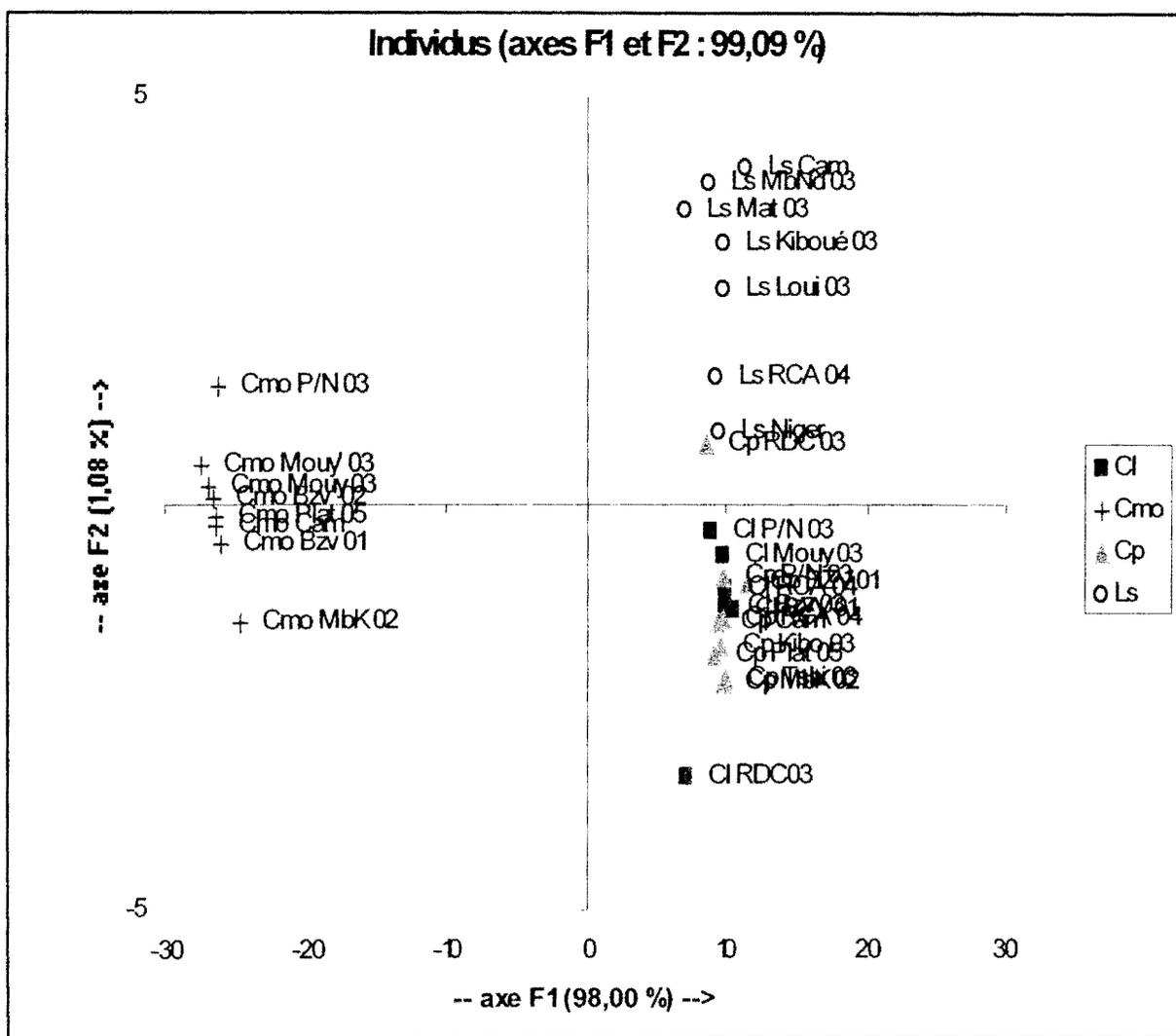


Figure A 39 b : TAG totaux en isocratique (valeurs relatives)

# AFD

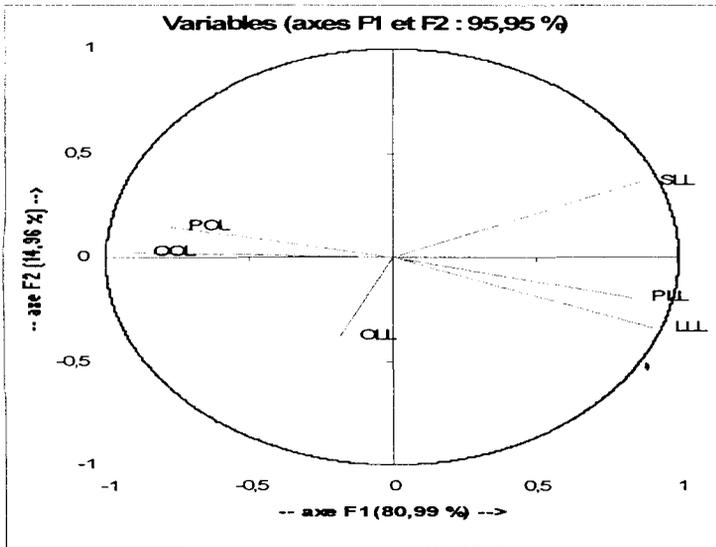


Figure A 40 a : TAG majeurs en gradient (valeurs absolues)

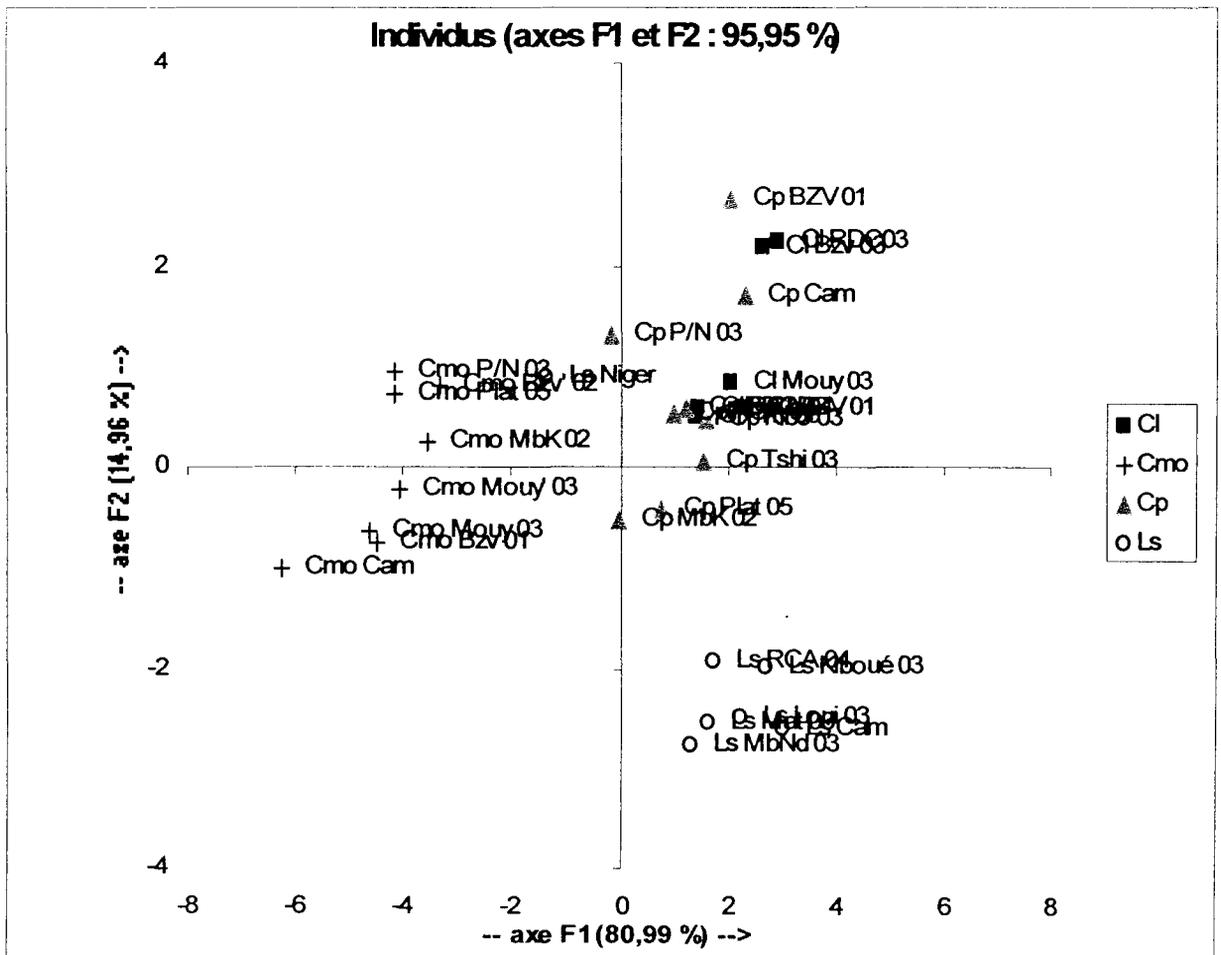


Figure A 40 b : TAG majeurs en gradient (valeurs absolues)



# AFD

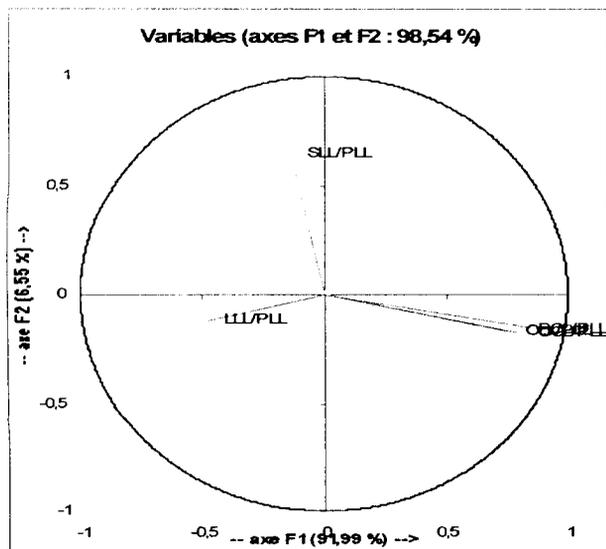


Figure A 42 a : TAG majeurs / PLL en gradient (valeurs relatives)

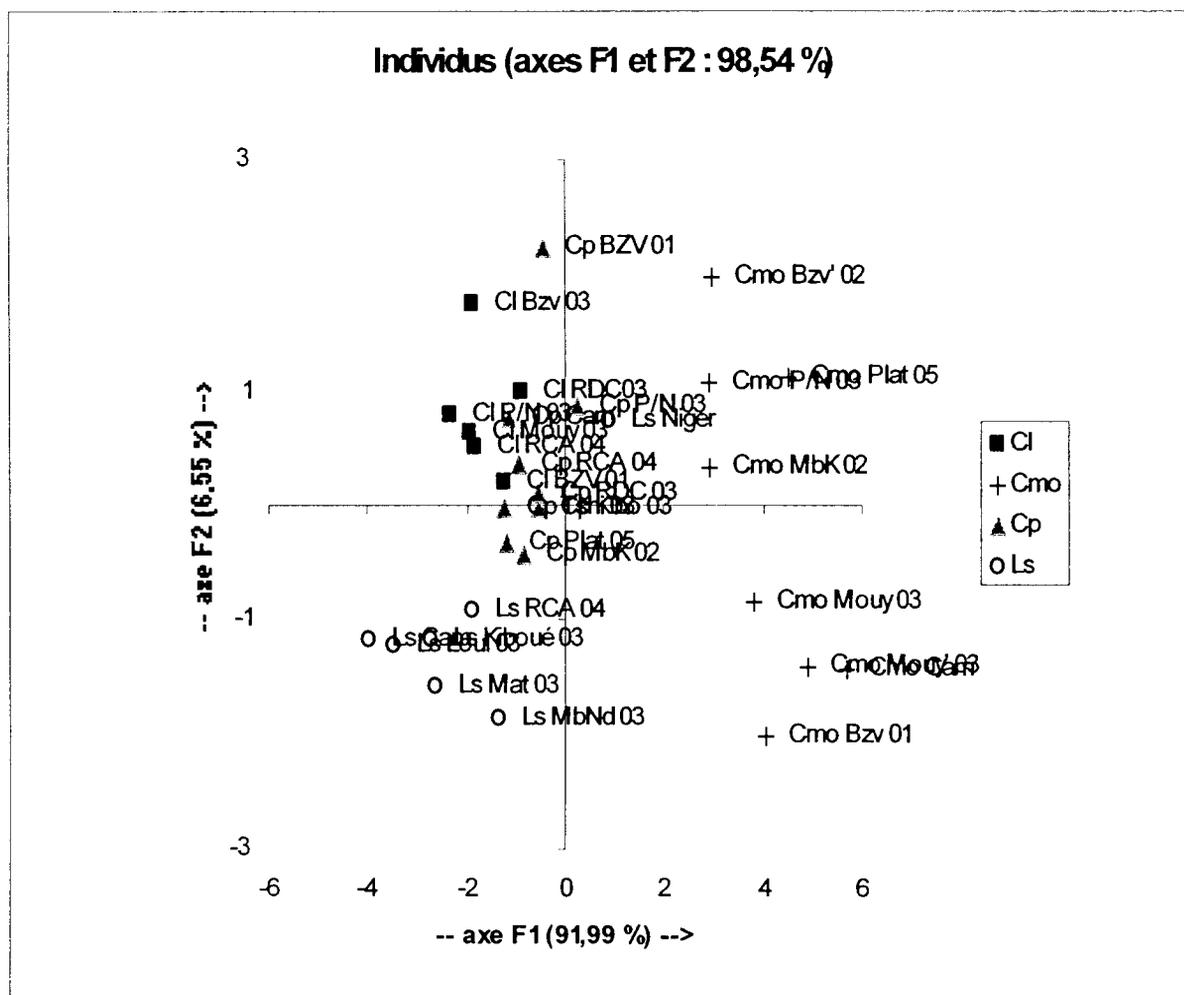


Figure A 42 b : TAG majeurs / PLL en gradient (valeurs relatives)

# AFD

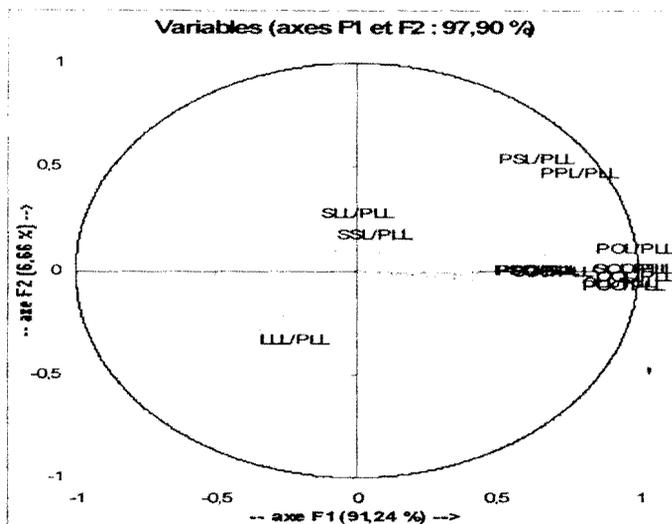


Figure A 43 a : TAG totaux / PLL en gradient (valeurs relatives)

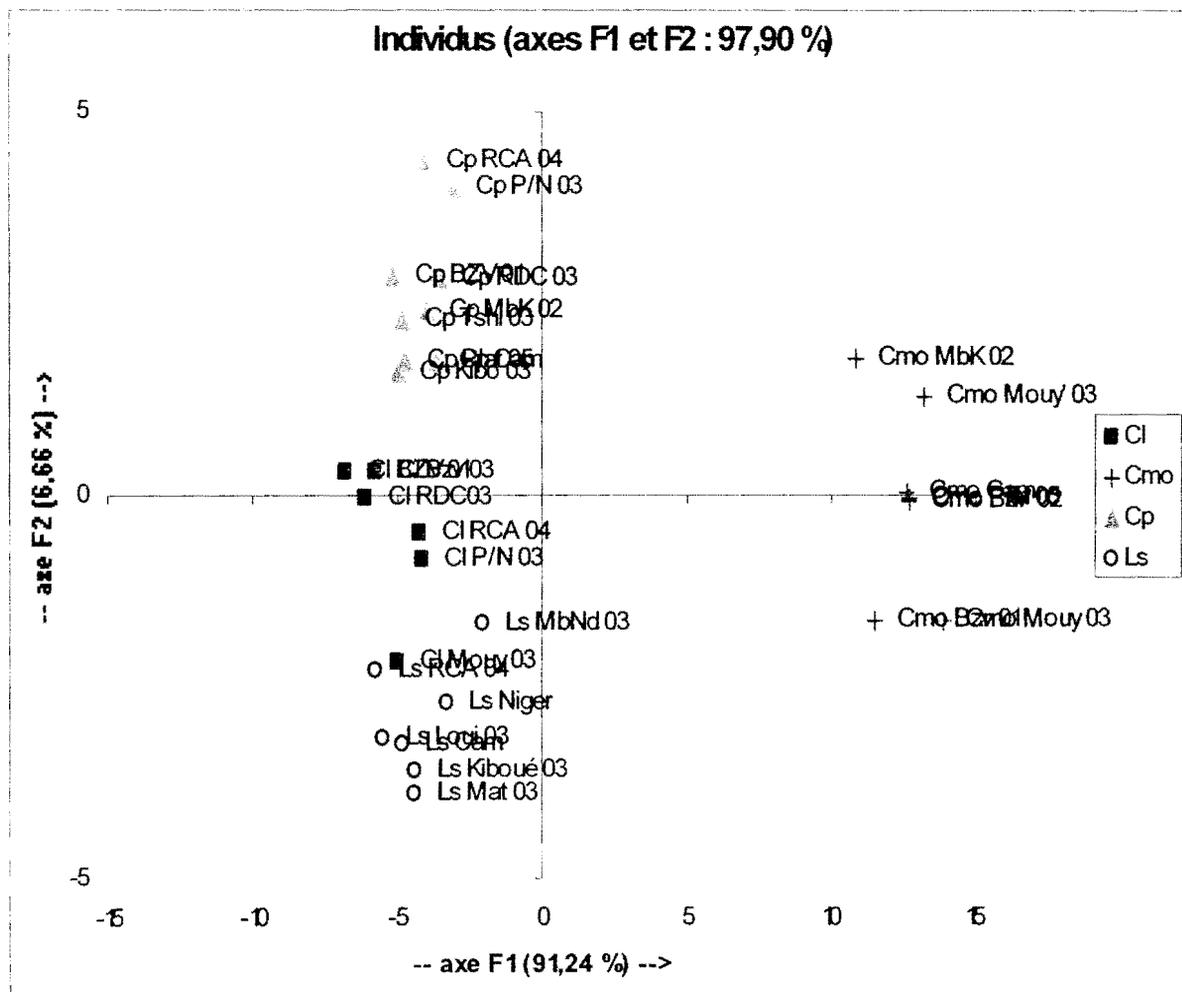


Figure A 43 b : TAG totaux / PLL en gradient (valeurs relatives)

# ACP

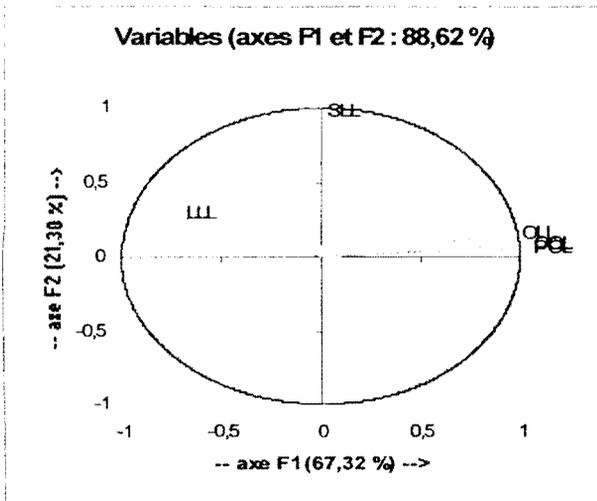


Figure A 44 a : TAG majeurs en isocratique (valeurs relatives)

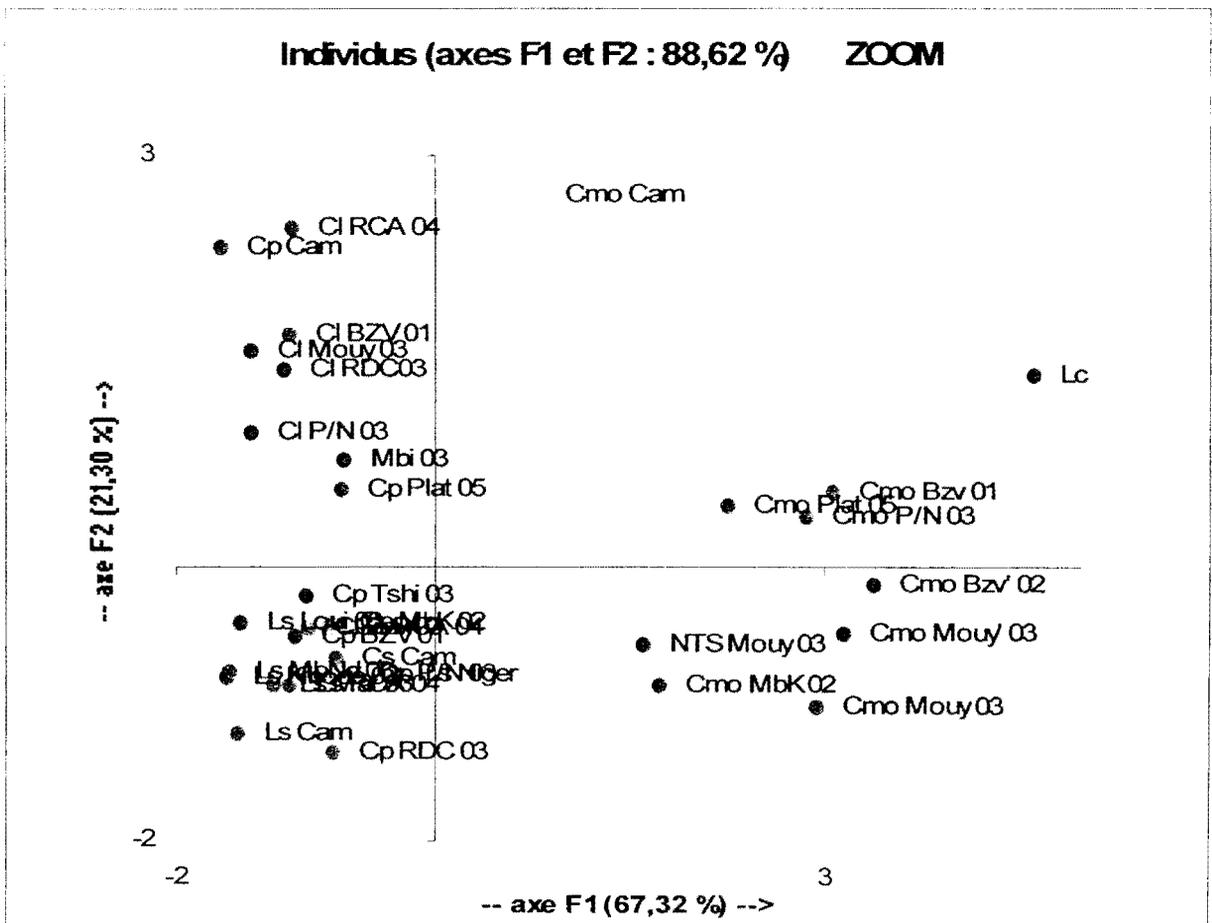


Figure A 44 b : TAG majeurs en isocratique (valeurs relatives)

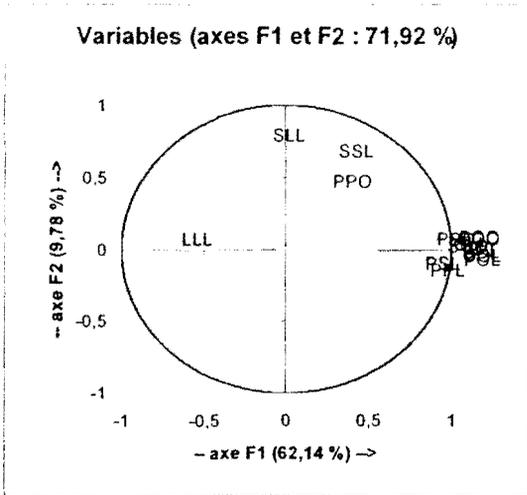


Figure A 44 a : TAG totaux en isocratique (valeurs relatives)

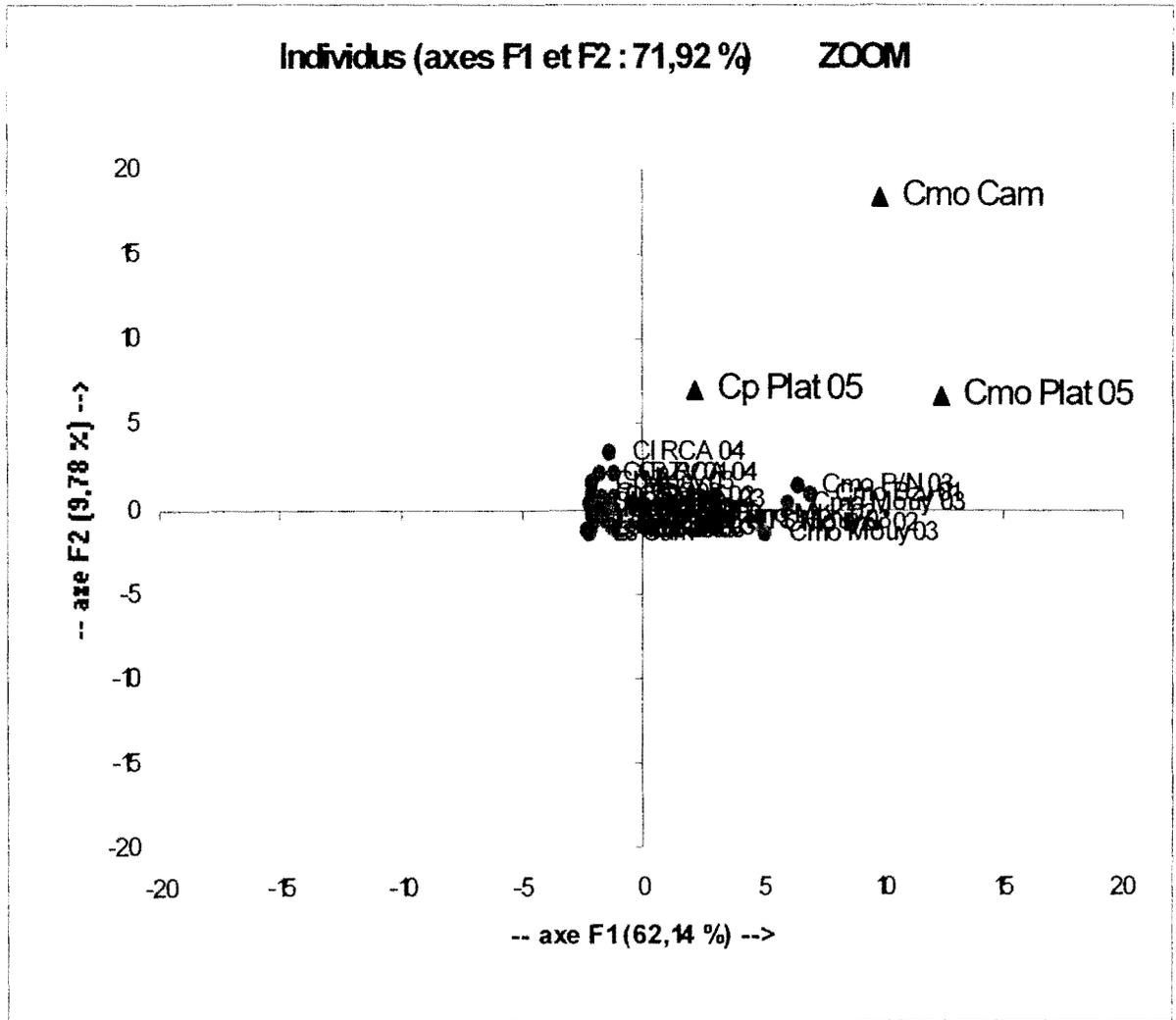


Figure A 45 b : TAG totaux en isocratique (valeurs relatives)

# ACP

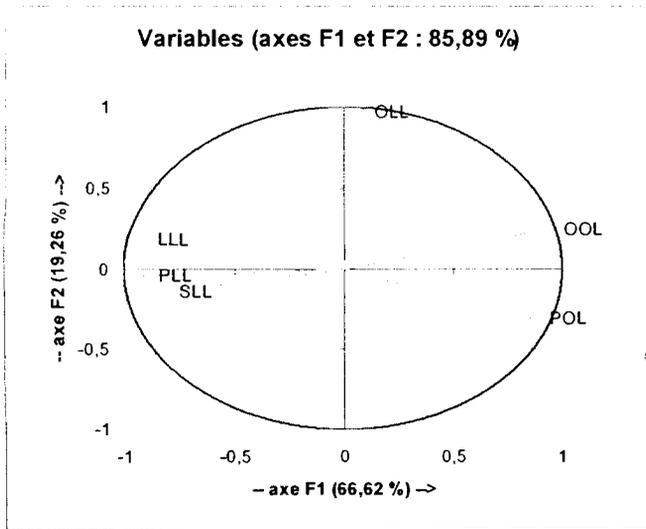


Figure A 45 a : TAG majeurs en gradient (valeurs absolues)

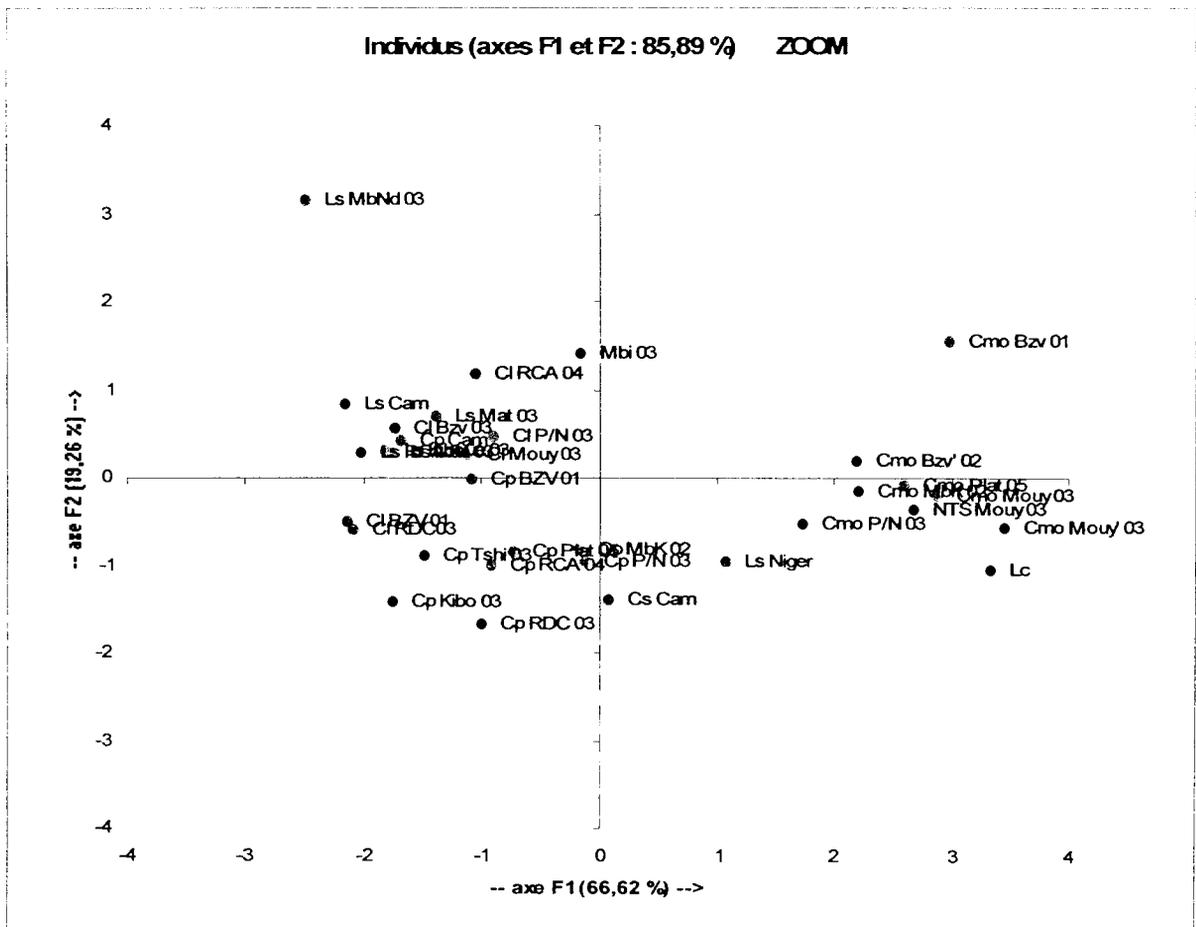


Figure A 46 b : TAG majeurs en gradient (valeurs absolues)

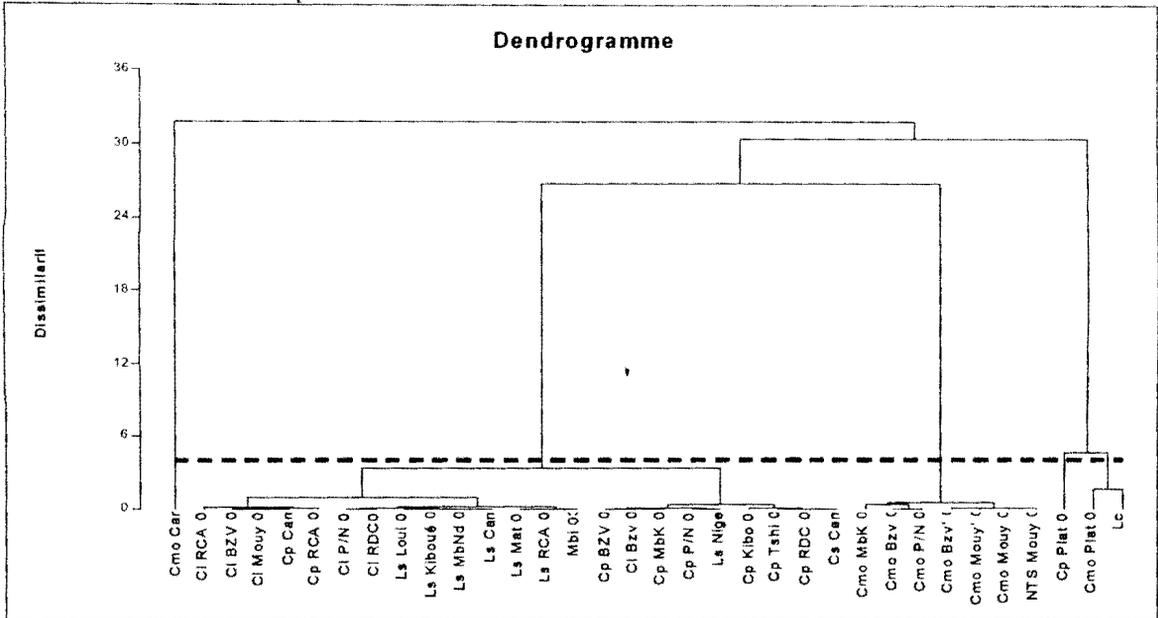






## CAH

TAGs totaux en isocratique

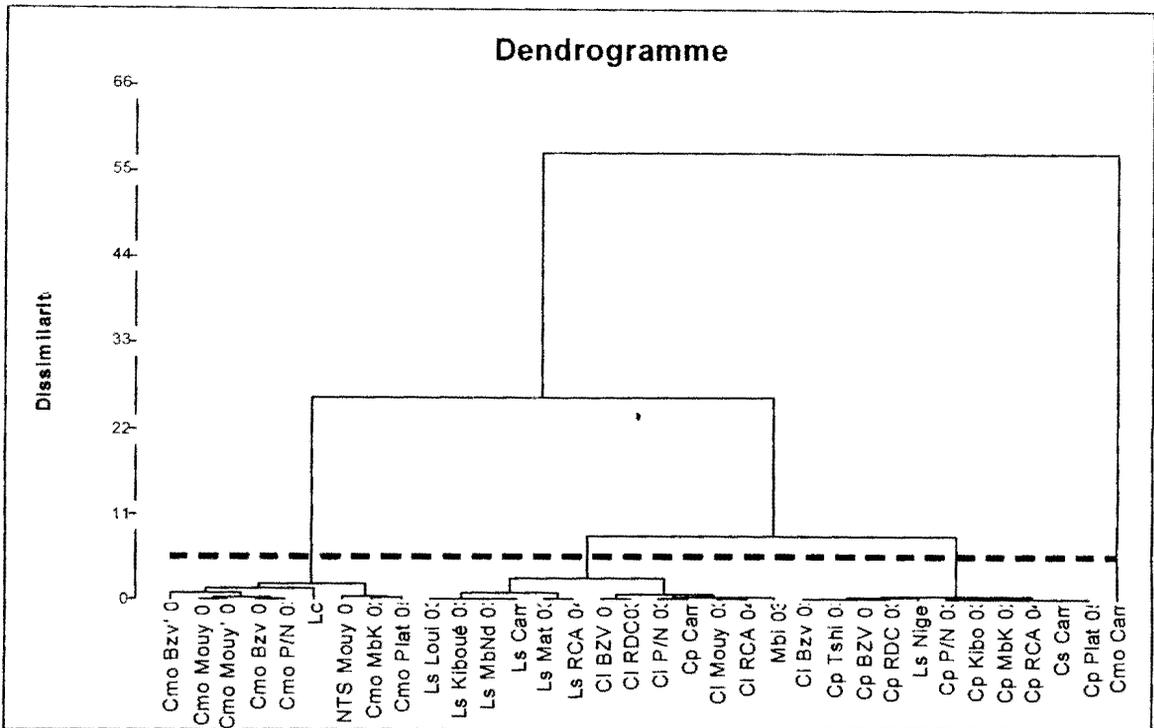


Figures A50 : Hiérarchisation des huiles

Tableau XLIV : Composition des classes

Classe	1	2	3	4	5
Intra	0	13	5	0	11
Effectif	1	23	7	1	2
	Cmo Cam	CI BZV 01 CI Bzv 03 CI Mouy 03 CI P/N 03 CI RCA 04 CI RDC03 Cp BZV 01 Cp Kibo 03 Cp MbK 02 Cp P/N 03 Cp Tshi 03 Cp Cam Cp RCA 04 Cp RDC 03 Ls Kiboué 03 Ls Loui 03 Ls Mat 03 Ls MbNd 03 Ls Cam Ls Niger Ls RCA 04 Mbi 03 Cs Cam	Cmo Bzv 01 Cmo Bzv' 02 Cmo MbK 02 Cmo Mouy 03 Cmo Mouy' 03 Cmo P/N 03 NTS Mouy 03	Cp Plat 05	Cmo Plat 05 Lc

TAGs majoritaires en isocratique

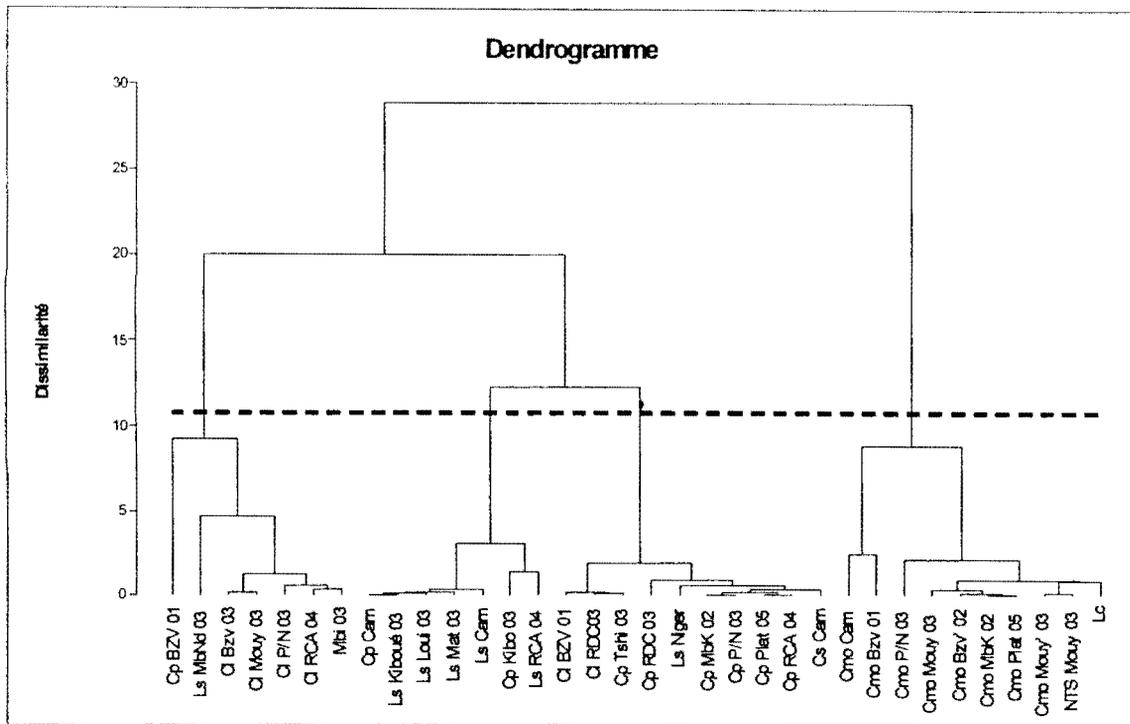


Figures A51 : Hiérarchisation des huiles

Tableau XLV : Composition des classes

Classe	1	2	3	4
Intra	14,902	25,811	3,383	0,000
Effectif	9	13	11	1
	Cmo Bzv 01 Cmo Mouy 01 Cmo Mouy' 01 Cmo Bzv 01 Cmo P/N 01 Lc NTS Mouy 01 Cmo MbK 01 Cmo Plat 01 Ls Loui 01 Ls Kiboué 01 Ls MbNd 01 Ls Carr Ls Mat 01 Ls RCA 01 CI BZV 01 CI RDC01 CI P/N 01 Cp Carr CI Mouy 01 CI RCA 01 Mbi 01 CI Bzv 01 Cp Tshi 01 Cp BZV 01 Cp RDC 01 Ls Nige Cp P/N 01 Cp Kibo 01 Cp MbK 01 Cp RCA 01 Cs Carr Cp Plat 01 Cmo Carr	CI BZV 01 CI Mouy 03 CI P/N 03 CI RCA 04 CI RDC03 Cp Carr Ls Kiboué 03 Ls Loui 03 Ls Mat 03 Ls MbNd 03 Ls Cam Ls RCA 04	CI Bzv 03 Cp BZV 01 Cp Kibo 03 Cp MbK 02 Cp P/N 03 Cp Tshi 03 Cp RCA 04 Cp RDC 03 Ls Niger Cs Cam Cp Plat 05 Mbi 03	Cmo Cam

TAGs majeurs en gradient

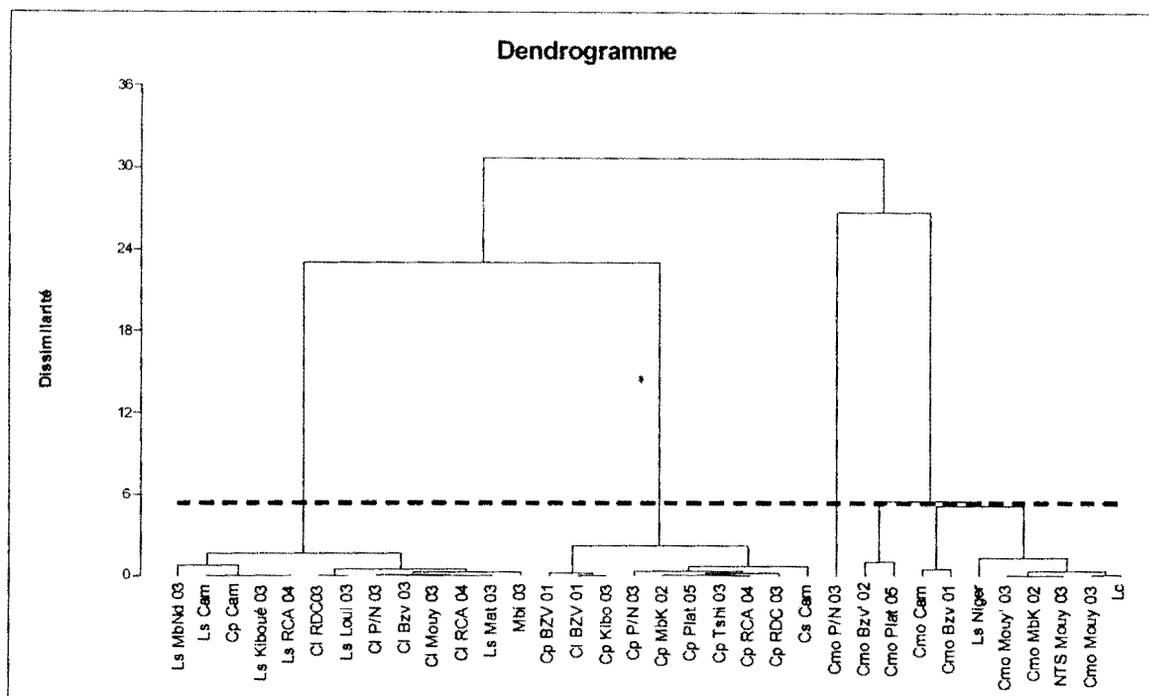


Figures A52 : Hiérarchisation des huiles

Tableau XLVI : Composition des classes

Classe	1	2	3	4
Intra	14,459	4,638	10,612	18,000
Effectif	7	7	10	10
	Cl Bzv 03 Cl Mouy 03 Cl P/N 03 Cl RCA 04 Cp BZV 01 Ls MbNd 03 Mbi 03	Cp Kibo 03 Cp Cam Ls Kiboué 03 Ls Loui 03 Ls Mat 03 Ls Cam Ls RCA 04	Cl BZV 01 Cl RDC03 Cp MbK 02 Cp P/N 03 Cp Tshi 03 Cp Plat 05 Cp RCA 04 Cp RDC 03 Ls Niger Cs Cam	Cmo Cam Cmo Bzv 01 Cmo P/N 03 Cmo Mouy 03 Cmo Bzv' 02 Cmo MbK 02 Cmo Plat 05 Cmo Mouy' 03 Cmo P/N 03 Cmo Plat 05 NTS Mouy 03 Lc

TAGs totaux en gradient

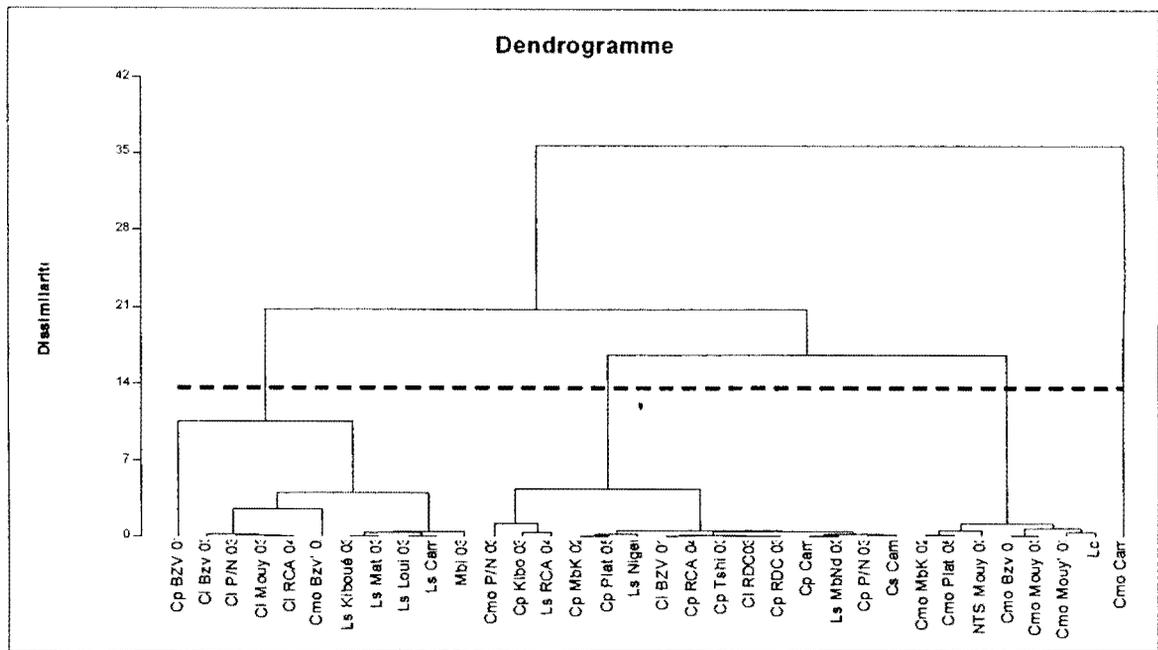


Figures A53 : Hiérarchisation des huiles

Tableau XLVII : Composition des classes

Classe	1	2	3	4	5
Intra	13,061	13,698	0,000	2,819	23,976
Effectif	13	10	1	2	8
	CI Bzv 03	CI BZV 01	Cmo P/N 03	Cmo Bzv' 02	Cmo Cam
	CI Mouy 03	Cp BZV 01		Cmo Plat 05	Cmo Bzv 01
	CI P/N 03	Cp Kibo 03			Cmo MbK 02
	CI RCA 04	Cp MbK 02			Cmo Mouy 03
	CI RDC03	Cp P/N 03			Cmo Mouy' 03
	Cp Cam	Cp Tshi 03			Ls Niger
	Ls Kiboué 03	Cp Plat 05			NTS Mouy 03
	Ls Loui 03	Cp RCA 04			Lc
	Ls Mat 03	Cp RDC 03			
	Ls MbNd 03	Cs Cam			
	Ls Cam				
	Ls RCA 04				
	Mbi 03				

TAGs majeurs en gradient avec PLL en référence



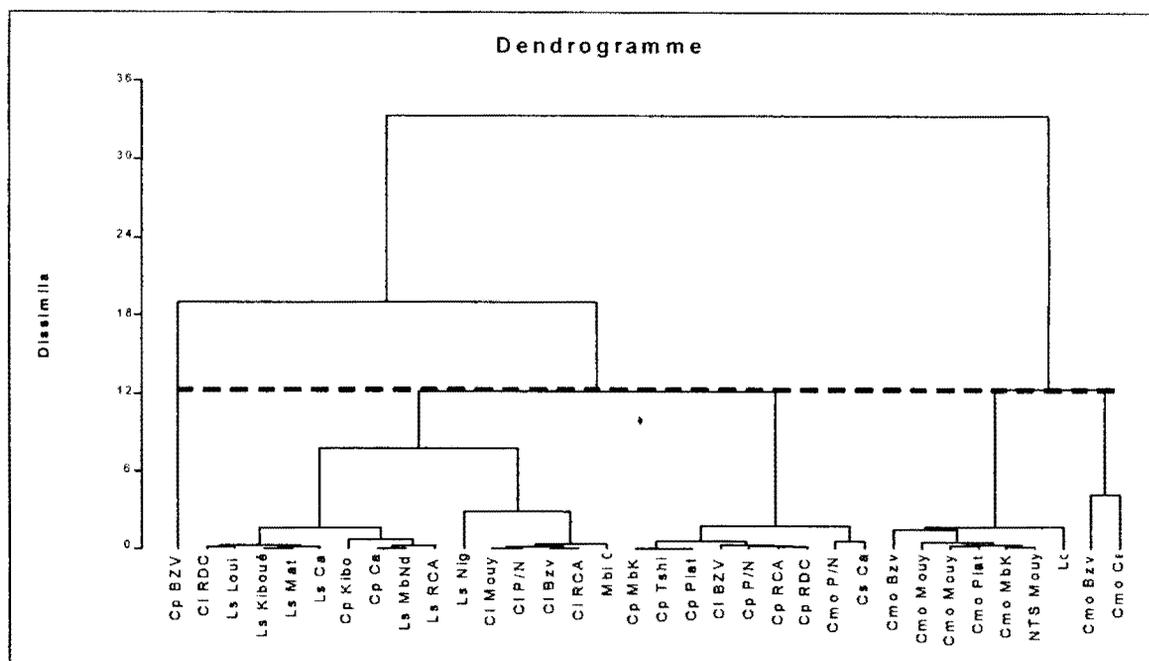
Figures A54 : Hiérarchisation des huiles

Tableau XLVIII : Composition des classes

Classe	1	2	3	4
Intra	36,696	13,463	7,099	0,000
Effectif	11	15	7	1
	Cl Bzv 03 Cl Mouy 03 Cl P/N 03 Cl RCA 04 Cp BZV 01 Cmo Bzv' 02 Ls Kiboué 03 Ls Loui 03 Ls Mat 03 Ls Cam Mbi 03	Cl BZV 01 Cl RDC03 Cp Kibo 03 Cp MbK 02 Cp P/N 03 Cp Tshi 03 Cp Plat 05 Cp Cam Cp RCA 04 Cp RDC 03 Cmo P/N 03 Ls MbNd 03 Ls Niger Ls RCA 04 Cs Cam	Cmo Bzv 01 Cmo MbK 02 Cmo Mouy 03 Cmo Mouy' 03 Cmo Plat 05 NTS Mouy 03 Lc	Cmo Cam

**ETUDE DE LA COMBINAISON DES TRIACYLGLYCEROLS ET DES ESTERS  
METHYLIQUES**

TAGs totaux en gradient avec PLL en référence



Figures A55 : Hiérarchisation des huiles

Tableau XLIX : Composition des classes

Classe	1	2	3	4
Intra	0	67	20	10
Effectif	1	24	7	2
	Cp BZV 01	CI BZV 01 CI Bzv 03 CI Mouy 03 CI P/N 03 CI RCA 04 CI RDC03 Cp Kibo 03 Cp MbK 02 Cp P/N 03 Cp Tshi 03 Cp Plat 05 Cp Cam Cp RCA 04 Cp RDC 03 Cmo P/N 03 Ls Kiboué 03 Ls Loui 03 Ls Mat 03 Ls MbNd 03 Ls Cam Ls Niger Ls RCA 04 Mbi 03 Cs Cam	Cmo Bzv 01 Cmo MbK 02 Cmo Mouy 03 Cmo Mouy' 03 Cmo Plat 05 NTS Mouy 03 Lc	Cmo Bzv' 02 Cmo Cam

AFD

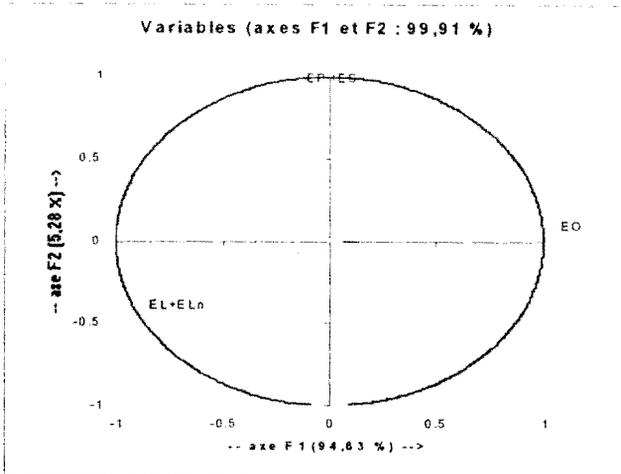


Figure A 56 a :EM regroupés sous la forme :  $\Sigma$  EM sat (EP+ES),  $\Sigma$  EM monoinsaturés (EO) et  $\Sigma$  EM polyinsaturés (EL+ELn)

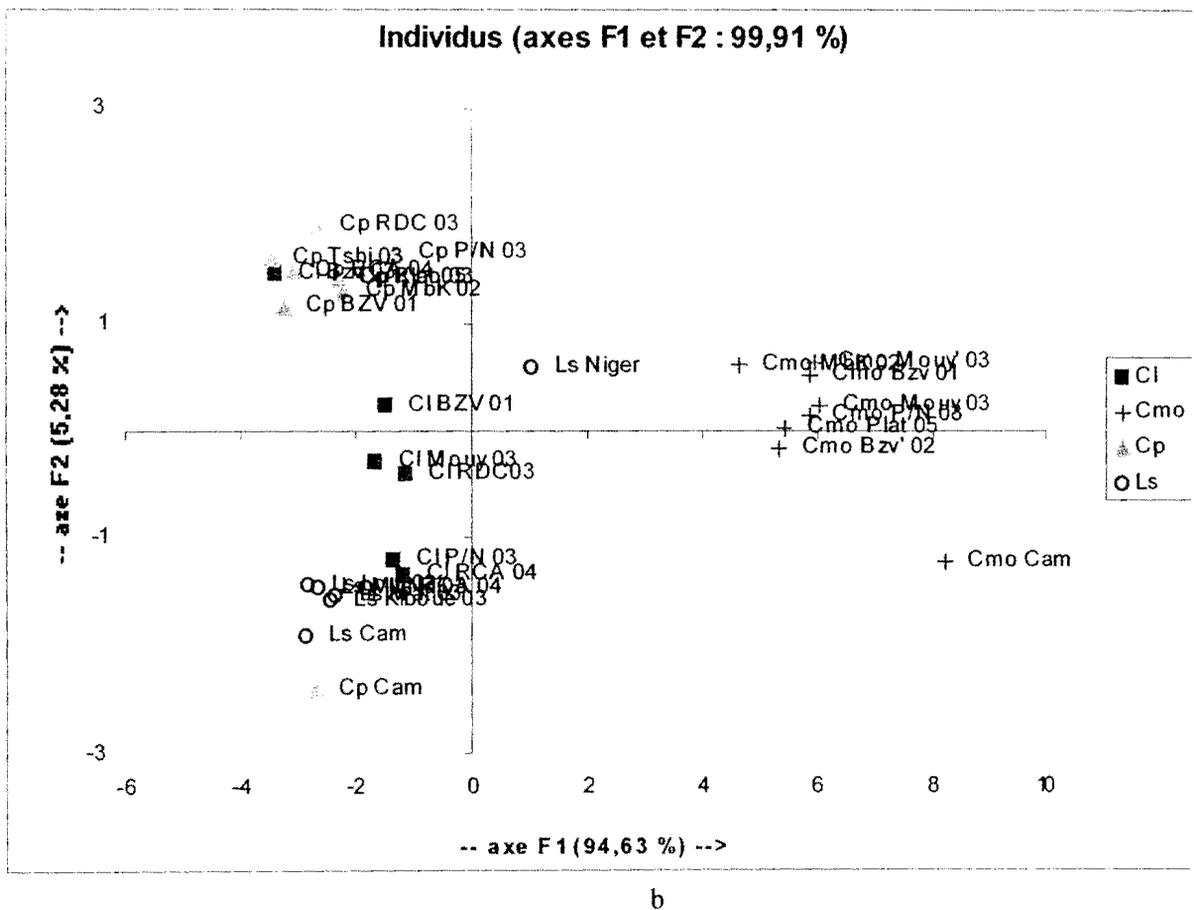


Figure A 56 b :EM regroupés sous la forme :  $\Sigma$  EM sat (EP+ES),  $\Sigma$  EM monoinsaturés (EO) et  $\Sigma$  EM polyinsaturés (EL+ELn)

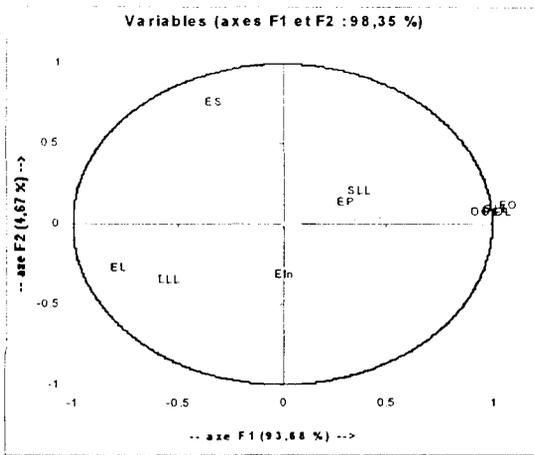


Figure A 57 a : TAGs majeurs en isocratique + 5 EM isolés (EP, ES, EO, EL, ELn)

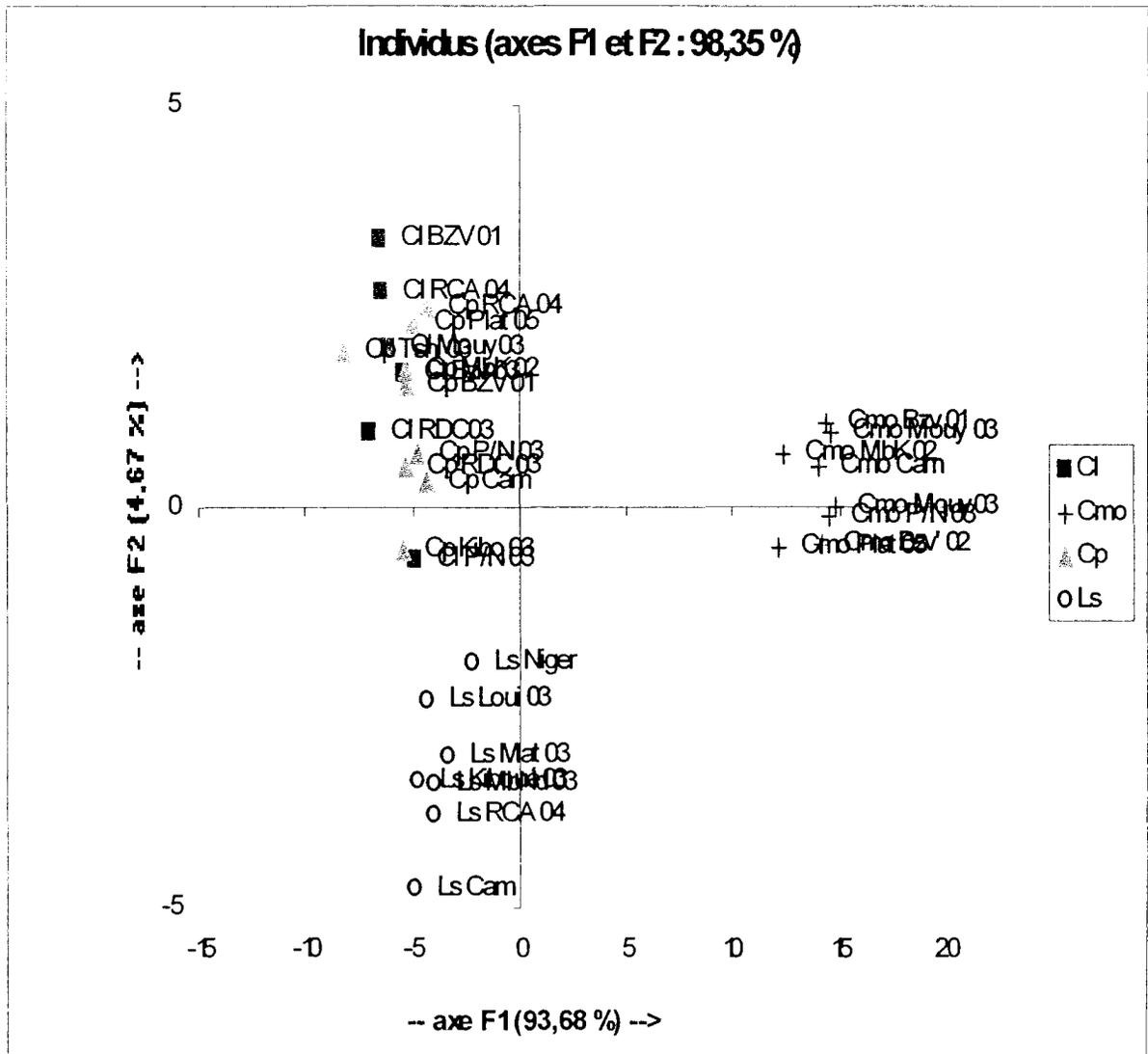


Figure A 57 b : TAGs majeurs en isocratique + 5 EM isolés (EP, ES, EO, EL, ELn)

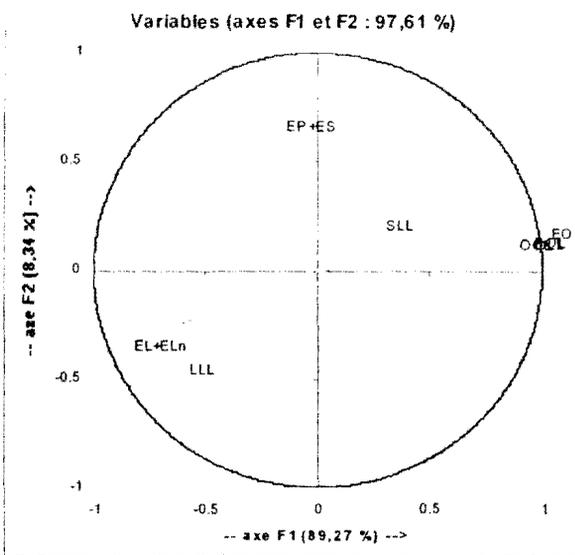


Figure A 58 a : TAGs majeurs en isocratique +  $\Sigma$  EM sat (EP+ES),  $\Sigma$  EM monoinsaturés (EO) et  $\Sigma$  EM polyinsaturés (EL+ELn)

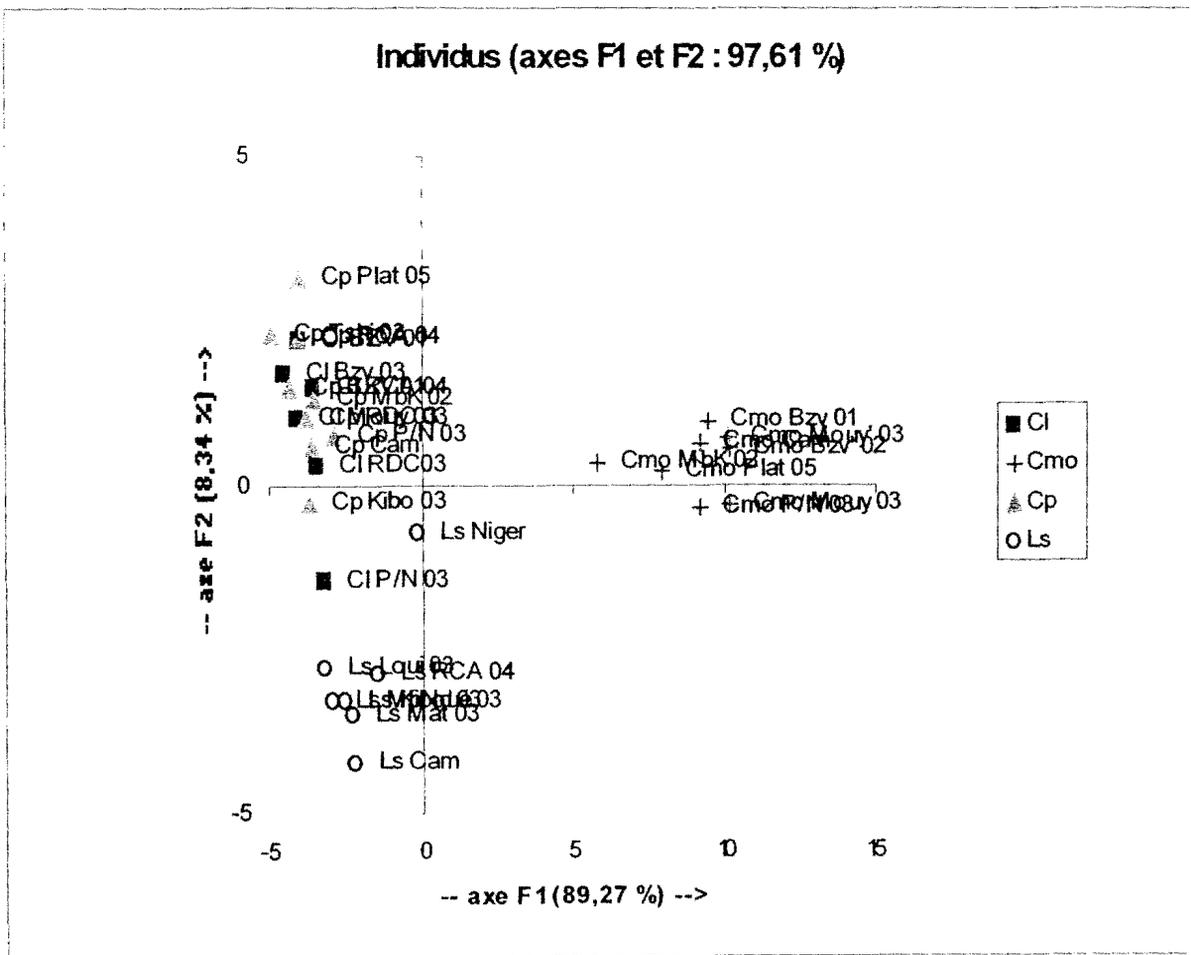


Figure A 58 b : TAGs majeurs en isocratique +  $\Sigma$  EM sat (EP+ES),  $\Sigma$  EM monoinsaturés (EO) et  $\Sigma$  EM polyinsaturés (EL+ELn)

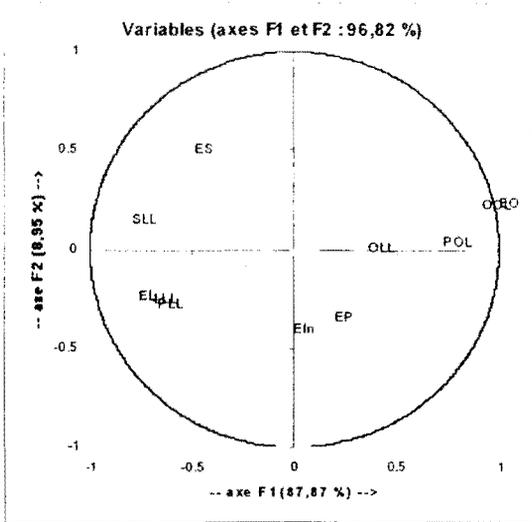


Figure A 59 a : TAGs majeurs en gradient + 5 EM isolés (EP, ES, EO, EL, ELn)

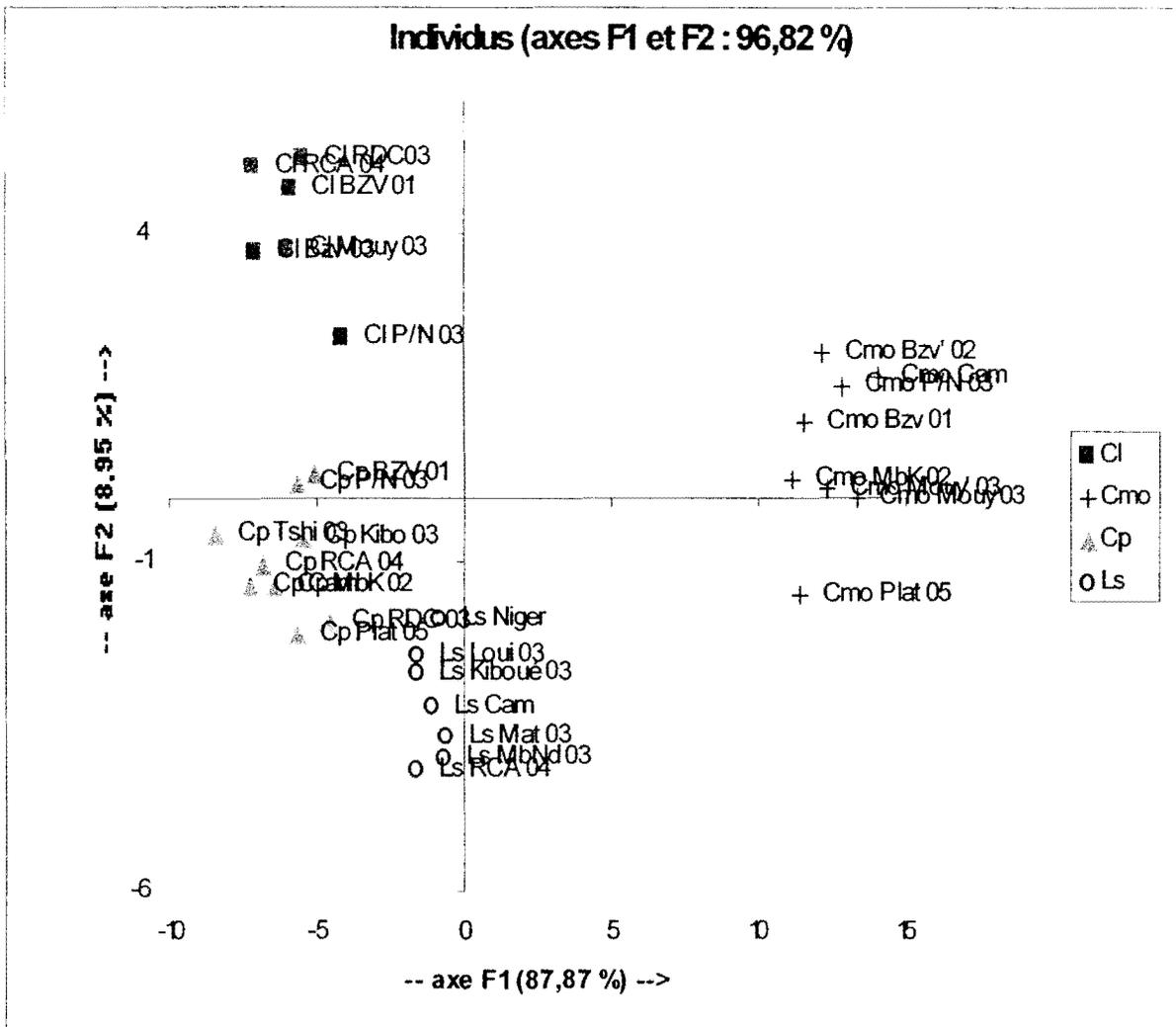


Figure A 59 b : TAGs majeurs en gradient + 5 EM isolés (EP, ES, EO, EL, ELn)







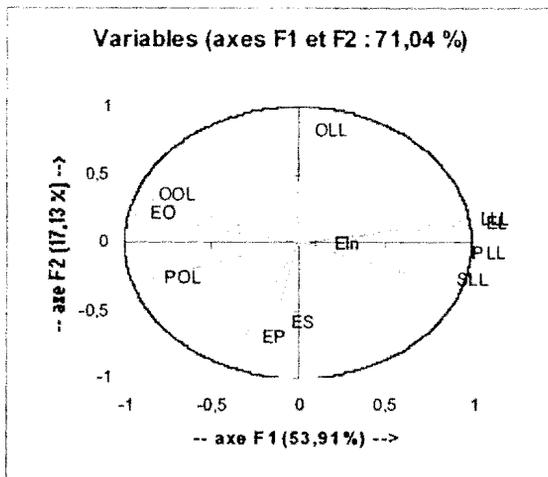
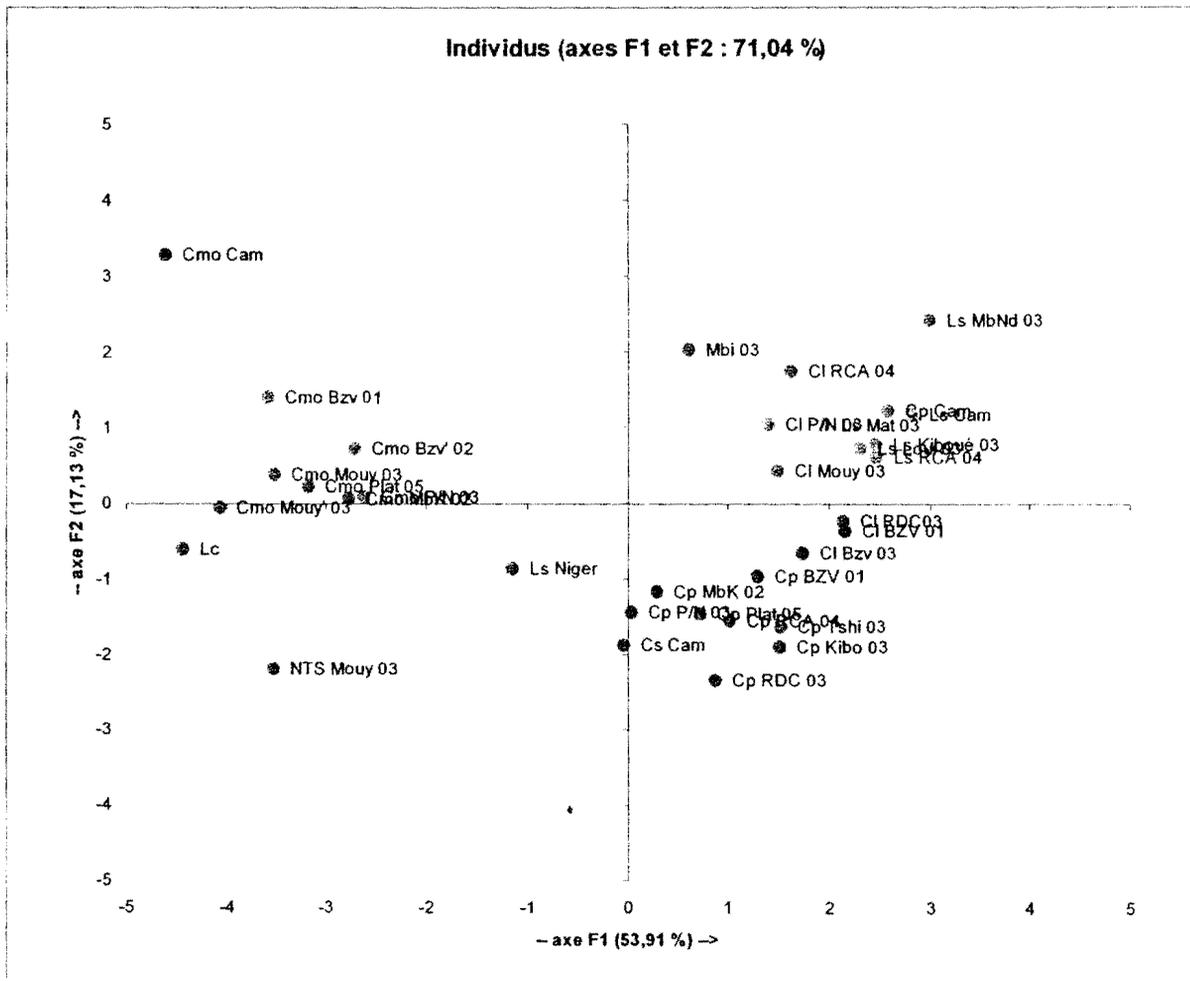


Figure A63 a : TAGs majoritaires + tous les EM en gradient



b

Figure A63 b : TAGs majoritaires + tous les EM en gradient

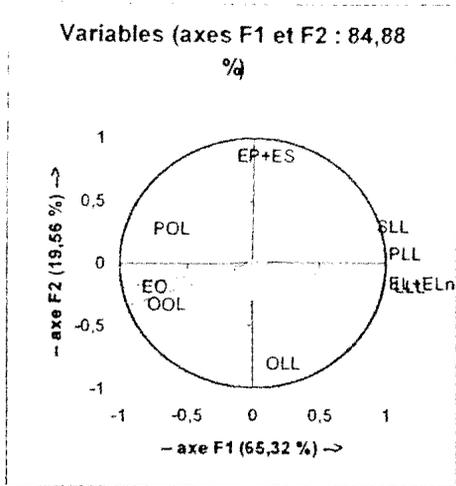


Figure A 64 a : TAGs majoritaires + somme des EM en gradient

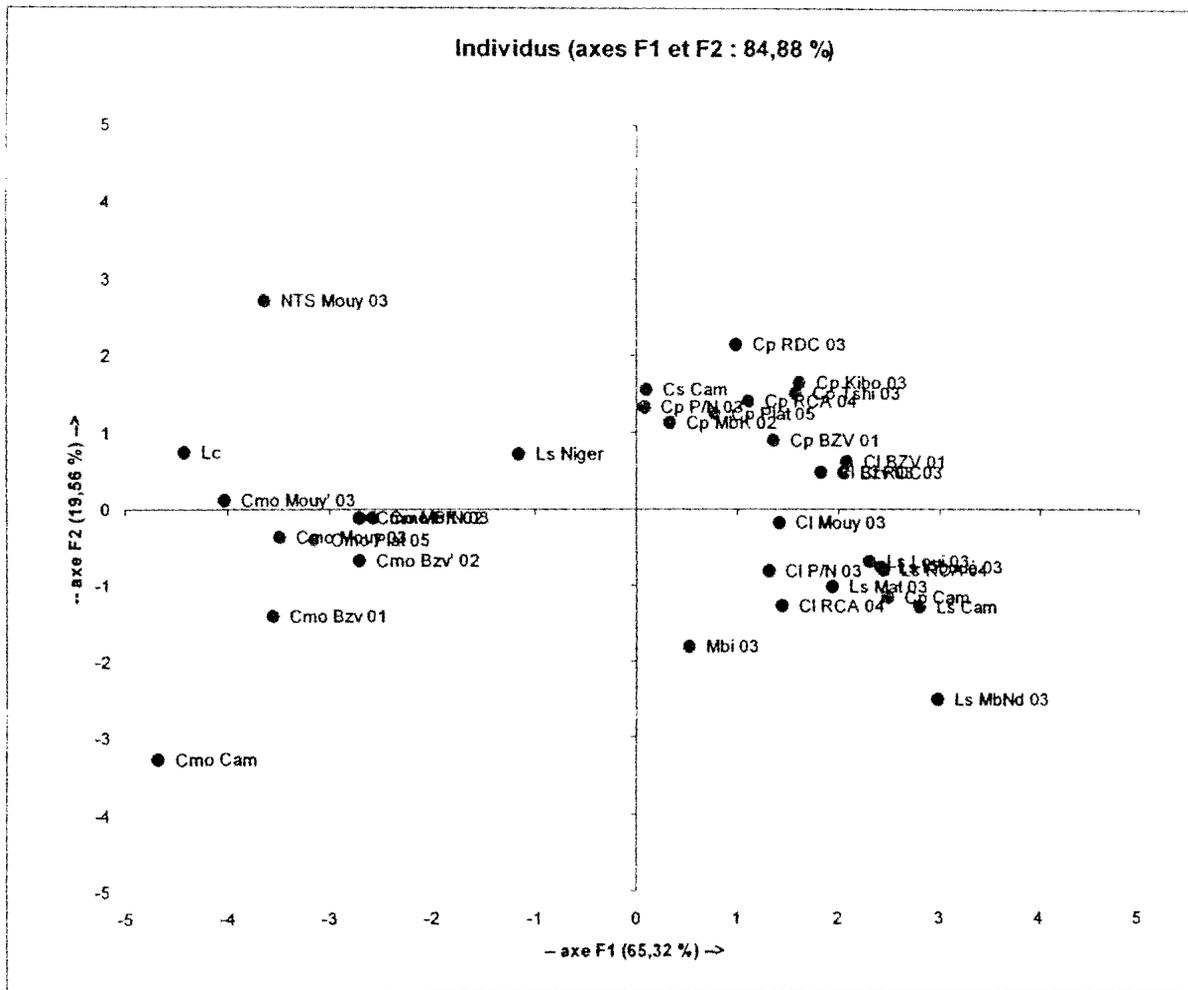


Figure A 64 b : TAGs majoritaires + somme des EM en gradient

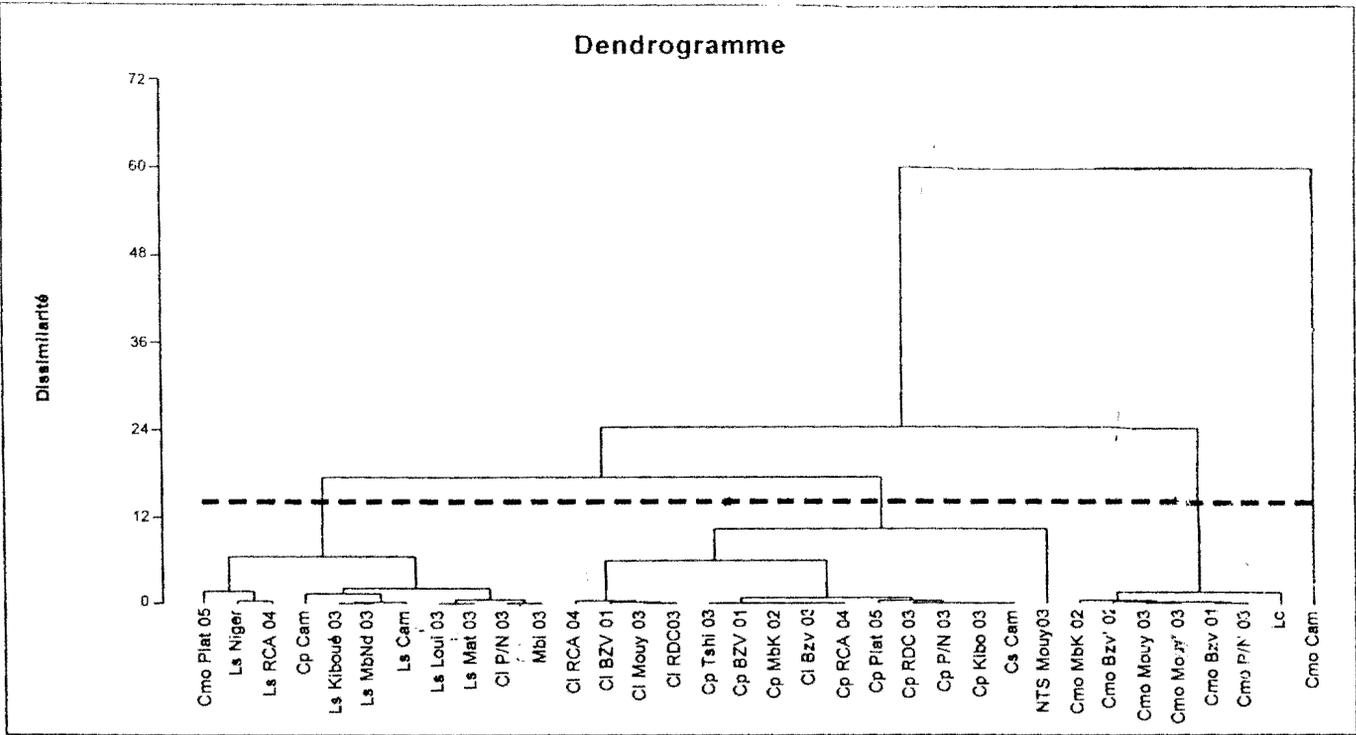


Figure A65 a : TAG majeurs en isocratique + 5 EM isolés (EP, ES, EO, EL, ELn)

Tableau A LIV : Hiérarchisation des huiles

Composition des classes :

Classe	1	2	3	4
Intra	65,383	71,520	11,066	0,000
Effectif	11	15	7	1
	CI P/N 03 Cp Cam Cmo Plat 05 Ls Kiboué 03 Ls Loui 03 Ls Mat 03 Ls MbNd 03 Ls Cam Ls Niger Ls RCA 04 Mbi 03	CI BZV 01 CI Bzv 03 CI Mouy 03 CI RCA 04 CI RDC03 Cp BZV 01 Cp Kibo 03 Cp MbK 02 Cp P/N 03 Cp Tshi 03 Cp Plat 05 Cp RCA 04 Cp RDC 03 Cs Cam NTS Mouy03	Cmo Bzv 01 Cmo Bzv' 02 Cmo MbK 02 Cmo Mouy 03 Cmo Mouy' 03 Cmo P/N 03 Lc	Cmo Cam

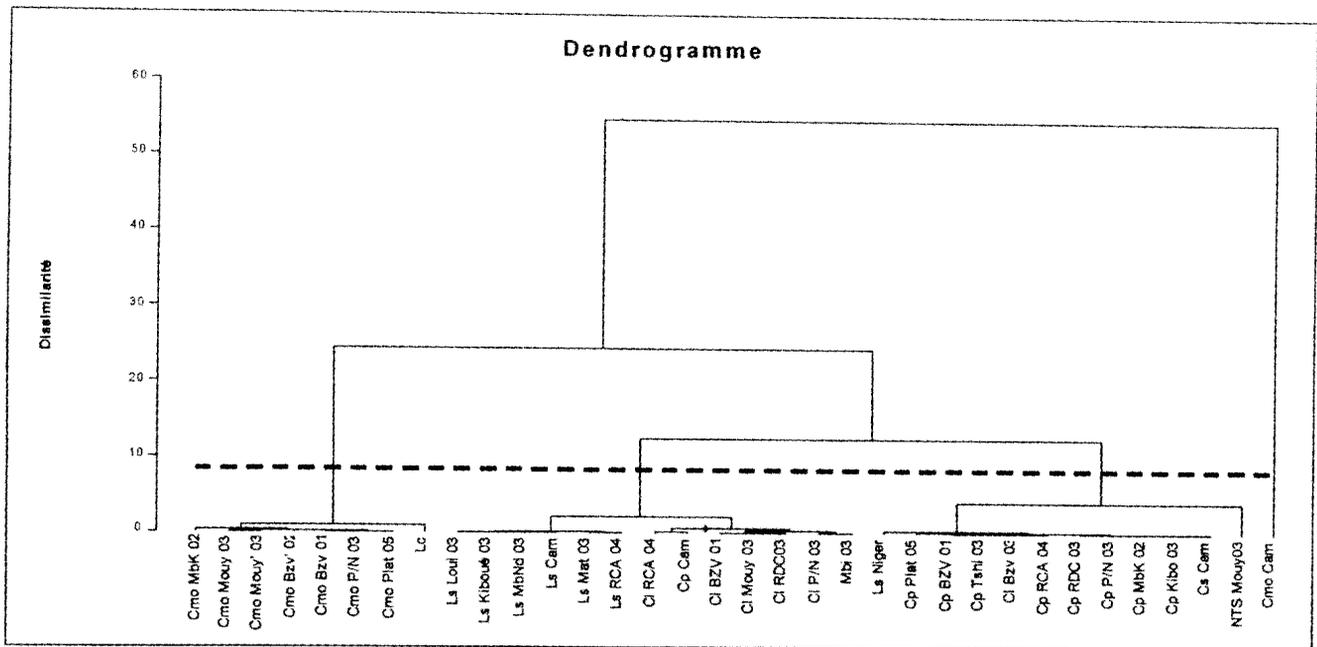


Figure A 66 : TAG majeurs en isocratique + EM regroupés sous la forme :  $\Sigma$  EM sat (EP+ES),  $\Sigma$  EM monoinsaturés (EO) et  $\Sigma$  EM polyinsaturés (EL+ELn)

Tableau A LV : Hiérarchisation des huiles

Composition des classes :

Classe	1	2	3	4
Intra	12,743	29,798	28,151	0,000
Effectif	8	13	12	1
	Cmo Bzv 01 Cmo Bzv' 02 Cmo MbK 02 Cmo Mouy 03 Cmo Mouy' 03 Cmo P/N 03 Cmo Plat 05 Lc	CI BZV 01 CI Mouy 03 CI P/N 03 CI RCA 04 CI RDC03 Cp Cam Ls Kiboué 03 Ls Loui 03 Ls Mat 03 Ls MbNd 03 Ls Cam Ls RCA 04 Mbi 03	CI Bzv 03 Cp BZV 01 Cp Kibo 03 Cp MbK 02 Cp P/N 03 Cp Tshi 03 Cp Plat 05 Cp RCA 04 Cp RDC 03 Ls Niger Cs Cam NTS Mouy03	Cmo Cam

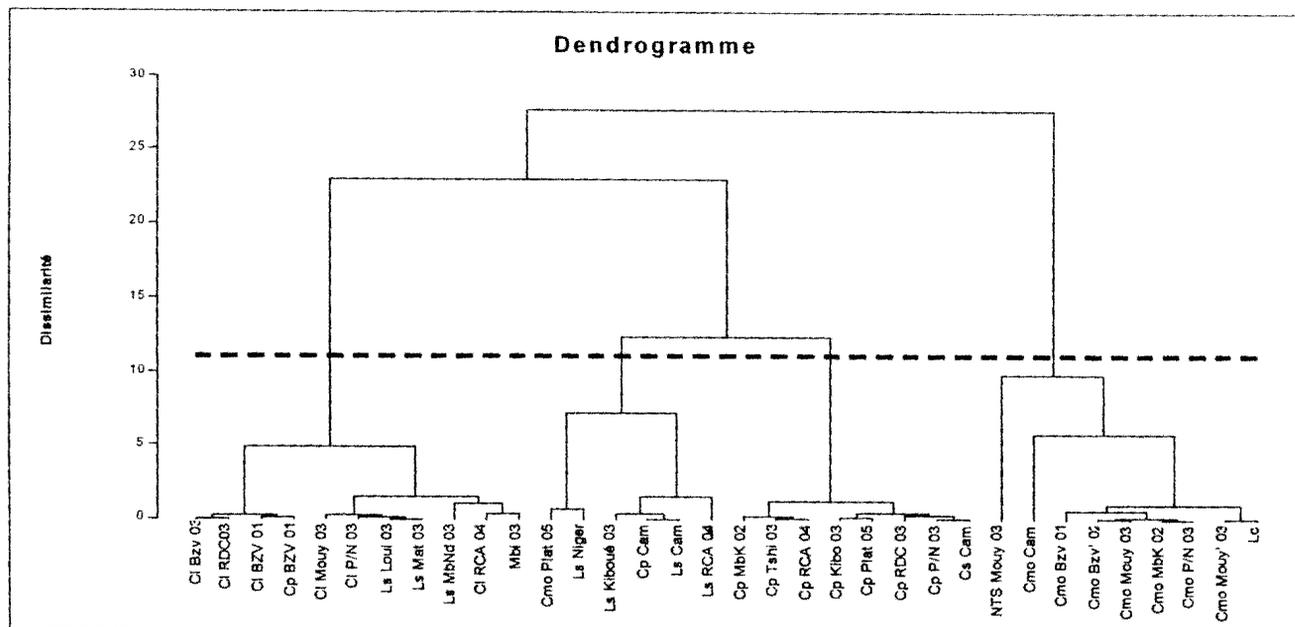


Figure A 67 :TAG majeurs en gradient + 5 EM isolés (EP, ES, EO, EL, ELn)

Tableau A LVI : Hiérarchisation des huiles

Composition des classes :

Classe	1	2	3	4
Intra	18,946	39,228	5,843	32,861
Effectif	11	6	8	9
	CI BZV 01	Cp Cam	Cp Kibo 03	Cmo Cam
	CI Bzv 03	Cmo Plat 05	Cp MbK 02	Cmo Bzv 01
	CI Mouy 03	Ls Kiboué 03	Cp P/N 03	Cmo Bzv' 02
	CI P/N 03	Ls Cam	Cp Tshi 03	Cmo MbK 02
	CI RCA 04	Ls Niger	Cp Plat 05	Cmo Mouy 03
	CI RDC03	Ls RCA 04	Cp RCA 04	Cmo Mouy' 03
	Cp BZV 01		Cp RDC 03	Cmo P/N 03
	Ls Loui 03		Cs Cam	NTS Mouy 03
	Ls Mat 03			Lc
	Ls MbNd 03			
	Mbi 03			

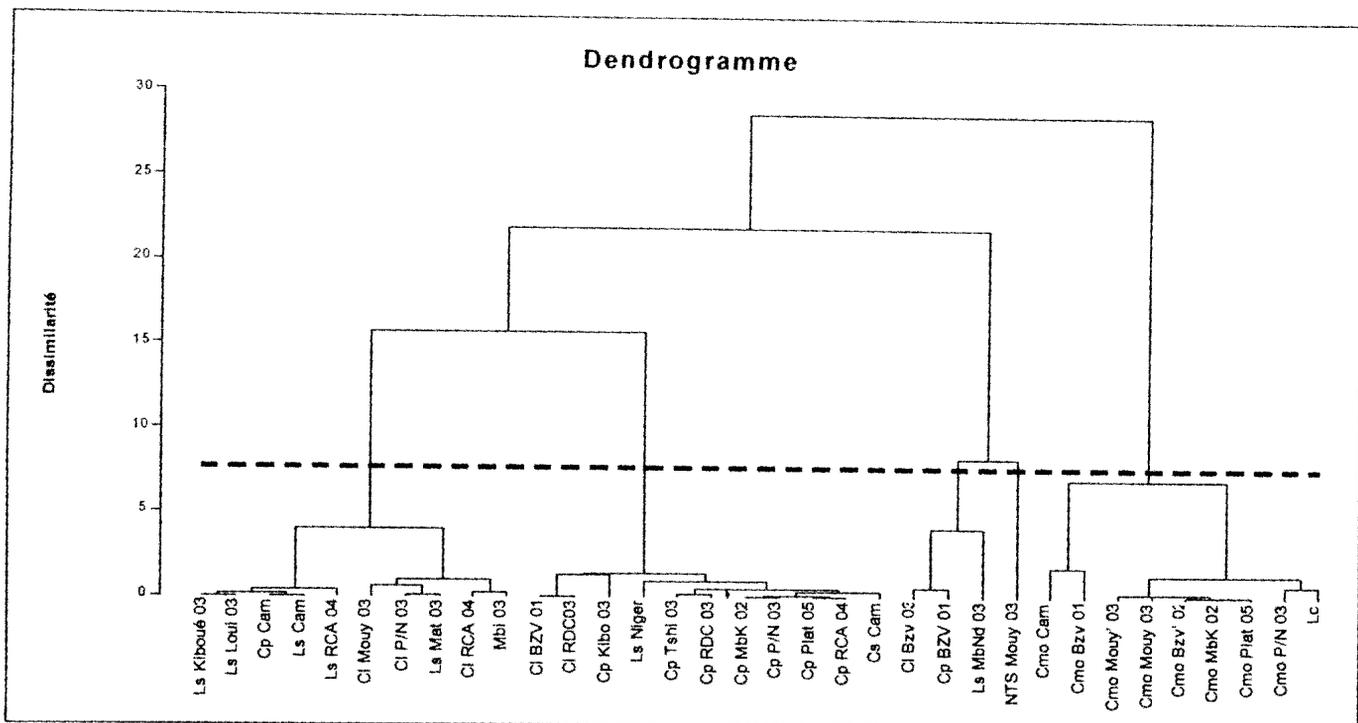


Figure A 68 : TAG majeurs en gradient + EM regroupés sous la forme :  $\Sigma$  EM sat (EP+ES),  $\Sigma$  EM monoinsaturés (EO) et  $\Sigma$  EM polyinsaturés (EL+ELn)

Tableau A LVII : Hiérarchisation des huiles

Composition des classes :

Classe	1	2	3	4	5
Intra	9,226	13,129	8,631	0,000	18,362
Effectif	10	11	3	1	9
	CI Mouy 03 CI P/N 03 CI RCA 04 Cp Cam Ls Kiboué 03 Ls Loui 03 Ls Mat 03 Ls Cam Ls RCA 04 Mbi 03	CI BZV 01 CI RDC03 Cp Kibo 03 Cp MbK 02 Cp P/N 03 Cp Tshi 03 Cp Plat 05 Cp RCA 04 Cp RDC 03 Ls Niger Cs Cam	CI Bzv 03 Cp BZV 01 Ls MbNd 03	NTS Mouy 03	Cmo Cam Cmo Bzv 01 Cmo Bzv' 02 Cmo MbK 02 Cmo Mouy 03 Cmo Mouy' 03 Cmo P/N 03 Cmo Plat 05 Lc



## RESUME

Ce travail a consisté à évaluer l'intérêt de consommer des huiles de graines de cucurbitacées au Congo. Le mémoire commence par une revue bibliographique des cucurbitacées, de la situation alimentaire et nutritionnelle en Afrique et des caractéristiques chimiques et biologiques de leurs graines. Une enquête de consommation alimentaire a permis d'identifier deux bassins de production de courge au Congo : la région du Pool et les trois régions réunies : Niari-Bouenza-Lékoumou. Cinq genres et espèces de cucurbitacées couramment consommées à Brazzaville ont été identifiés : *Citrullus lanatus*, *Lagenaria siceraria*, *Cucurbita pepo*, *Cucurbita moschata* et *Ntsouéké*, les deux premiers étant les plus appréciés.

L'analyse quantitative des acides gras a été réalisée par chromatographie en phase gazeuse. Les graines sont majoritaires en acides gras insaturés, l'acide linoléique étant le plus abondant, suivi de l'acide oléique, les taux d'acides palmitique et stéarique sont voisins, le taux d'acide linoléique est faible.

L'analyse des triacylglycérols a nécessité l'utilisation de la chromatographie en phase liquide couplée au détecteur évaporatif à diffusion de lumière (DEDL).

Dix-huit triacylglycérols ont été mis en évidence. Une nouvelle méthode d'analyse quantitative n'utilisant pas de témoin pur a été mise au point.

Les traitements statistiques (analyses factorielle discriminante, en composantes principales et en classification ascendante hiérarchique) ont permis de classer les huiles en deux groupes dont un à fortes teneurs en acide linoléique (*Lagenaria siceraria*, *Citrullus lanatus* et *Cucurbita pepo*) très intéressant du point de vue nutritionnel.

### Mots clés

Cucurbitacées, Triacylglycérols, Acides gras, Chromatographie en phase gazeuse, Chromatographie liquide haute performance, Statistique