

Ann. Inst. Nat. Agron. El-Harrach, 1989,
Vol. 13, N°2, 659 - 665.

**ETUDE DE LA FRACTION LIPIDIQUE DE *Cystoseira sedoides*:
ALGUE BRUNE ENDEMIQUE DES COTES D' ALGERIE**

Par **BENCHAABANE Otmane**

DEPARTEMENT DE TECHNOLOGIE

**INSTITUT NATIONAL AGRONOMIQUE
EL-HARRACH ALGER**

R E S U M E

Ce travail effectué dans le cadre de la chimio-taxonomie a été axé sur l'étude des stérols, produits naturels importants fréquemment rencontrés chez les végétaux (marins et terrestres) où ils jouent un rôle essentiel mais encore mal connu.

L'analyse chromatographique de la fraction acide gras a été effectuée. Elle présente un chromatogramme avec de 26 pics dont 14 ont été identifiés, le majoritaire étant l'acide palmatique avec 25% de la fraction acide.

I N T R O D U C T I O N

Sur les côtes d'Algérie, on compte 16 espèces de *Cystoseira* dont une est endémique (*Cystoseira sedoides*) connue de Cherchell à la Calle; assez commune sur les rochers battus, au dessous de la ceinture de la *Cystoseira stricta* à partir de 50cm de profondeur. Cette espèce qui n'est connue que des côtes d'Algérie, est bien caractéristique par son port: elle présente une tige épaissie, simple ou peu ramifiée, entourée de rameaux feuillés perpendiculaires donnant à la plante l'aspect d'un écouvillon ou d'une brosse à bouteille.

EXTRACTION DE LA MATIERE GRASSE

La méthode d'extraction de la matière grasse est celle décrite par A.T. JAMES (1960).

MODE OPERATOIRE

L'extraction se fait à l'aide de l'hexane avec agitation pendant 3 heures puis on filtre. On procède à plusieurs extractions jusqu'à épuisement. Les fractions hexaniques obtenus sont réunies et on évapore l'hexane après avoir pratiqué une purification de l'extrait par le charbon actif.

SAPONIFICATION

Cette opération consiste à séparer la partie saponifiable de la partie insaponifiable.

MODE OPERATOIRE (TRANCHANT, 1964)

A 2g d'extrait hexanique on ajoute 20ml de potasse ethanolique (KOH, Et OH) 2N; puis on chauffe à reflux jusqu'à ébullition pendant 30 minutes. On ajoute ensuite 20 ml d'eau distillée par le réfrigérant. Après un léger refroidissement, on transvase la solution encore tiède dans une ampoule à décanter puis on extrait avec 20ml d'hexane (2 fois). On pratique ensuite un double lavage pour éliminer toute trace de potasse.

La phase organique (partie saponifiable) contenant les acides gras, est acidifiée par l'acide chlorhydrique 12 N puis on extrait à l'hexane et on évapore ce dernier.

DOSAGE DES STEROLS

La fraction insaponifiable est chromatographiée sur plaque préparative de silice SiO₂ GF 254, en utilisant comme éluant le mélange Hexane-Ether diéthylique - Acide acétique 70 : 30 : 1. La zone correspondant au R_f du cholestérol utilisé comme

référence est récupérée par grattage. Le gel récupéré est lavé avec 15ml de dichlorométhane. On filtre et on évapore celui-ci, on récupère ainsi les stérols.

- SILYLATION DES STEROLS

On prépare le réactif de silylation comme suit:

On mélange :

- 0,5 ml de pyridine
- 0,45 ml d'hexamethyldisilane (HMDS)
- 0,30 ml de trimethylchlorosilane (TMCS)

On ajoute à la fraction stérolique 10 µl de ce réactif. On laisse reposer pendant 15 minutes et on évapore ce réactif. On ajoute 1 ml d'hexane puis on injecte en chromatographie phase gaz (C.P.G) la fraction stérolique.

CONDITIONS OPERATOIRES

- Chromatographe type : PERKIN-ELMER Sigma 300
- Detecteur F.I.D. Température 280°C
- Injecteur Température 300°C
- Four Température 260°C
- Colonne capillaire méthylsilicone SE 30: longueur 10m.
- Gaz vecteur Azote à 2 ml : mn
- Volume injecté : 5 ml
- Intégrateur-Enregistreur : PERKIN-ELMER LCI 100
- Dosage des acides gras
- Méthylation des acides gras: WOLF, 1970.

MODE OPERATOIRE

On pèse 100mg de corps gras dans un ballon rodé, on ajoute 1 ml de Méthanol sulfurique (MeOH/H₂SO₄) à 1% et on raccorde le ballon au réfrigérant. On chauffe jusqu'à ébullition pendant 25 mn puis on interrompt le chauffage. On verse par le réfrigérant 1 ml d'eau distillée, on laisse refroidir,

puis on transvase le contenu du ballon dans une petite ampoule à décanter. Après agitation, les esters méthyliques se rassemblent dans la phase organique. On extrait une seconde fois avec 5 ml de solvant. On recueille la phase organique qu'on lave avec de l'eau distillée, qu'on sèche sur du sulfate de sodium anhydre (Na_2SO_4) et qu'on filtre sur du coton de verre. On évapore ensuite la presque totalité du solvant. On injecte en fin en chromatographie phase gaz (C.P.G.).

- Chromatographie en phase gaz des esters méthyliques des acides gras.

CONDITIONS OPERATOIRES

- Chromatographe de marque PYE UNICAM G.C.D.
- Colonne: diéthylène glycol succinate (DEGS) à 10%
Température colonne : 190° C
Température détecteur: 300° C
Température injecteur: 280° C
Gaz vecteur: Azote à 40 ml/mm
- Intégrateur: PYE-UNICAM 4801

RESULTATS ET DISCUSSION

Dans cette partie, nous nous sommes intéressés à l'analyse de la fraction lipidique par l'identification des stérols et des acides gras. La teneur en ces constituants n'a pu être déterminée vue leurs faibles concentrations dans les extraits d'algues.

- Fraction stérolique

Le chromatographe obtenue (Tab.1) montre sept pics relatifs aux différents stérols contenus dans notre échantillon. A défaut de la gamme étalon nécessaire, on n'a pu identifier que les stérols les plus importants à savoir le cholestérol (N° 1 dans le chromatographe) et le rapport fucostérol/cholestérol est de

Tableau 1: Stérols de Cystoseira sedoides

N ^o pic	Nom du sterol	Temps de retention en mm et 100ème de mm	Pourcentage de la fraction sterol
1	Cholesterol	3,993	0,8861
2	Non identifié	4,92	2,4063
3	" "	5,63	0,2545
4	Fucosterol	6,35	82,1538
5	Non identifié	7,08	13,7863
6	" "	8,32	0,1989
7	" "	8,91	0,3142

Tableau 2: Acides gras de Cystoséra sedoides

N°	Nombre de carbon	Nom de l'acide gras	Temps de rétention en mn et 100 ^e de mm	Pourcentage de la fraction acide
1	-	non identique	0,51	21,935
2	-	" "	0,77	1,374
3	-	" "	0,85	26,011
4	-	" "	1,43	0,096
5	-	" "	2,17	0,337
6	12:0	Acide Laurique	2,87	0,202
7	-	non identifié	3,06	0,481
8	12:1	Ac. Dodica-9-enoïque	3,28	1,035
9	-	non-identifié	3,46	0,064
10	-	" "	3,78	0,328
11	12:2	" "	3,92	0,949
12	-	" "	4,52	0,095
13	14:0	Ac. myristique	4,72	0,741
14	19:1	non identifié	5,54	0,167
15	-	" "	5,85	2,600
16	19:0	Ac. pentadecanoïque	6,27	0,749
17	-	non identifié	6,61	0,527
18	15:1	" "	7,76	15,243
19	-	" "	8,23	3,489
20	16:1	Ac. palmitoléique	10,71	1,436
21	17:0	non identifié	11,59	9,970
22	17:1	" "	13,13	5,456
23	18:0	Ac. stearique	15,65	1,860
24	18:1	Ac. oleïque	17,54	0,512
25	19:1	non identifié	24,39	3,628
26	20:0	Ac. arachidonique	30,25	0,716

L'ordre de 92%. Les stérols non encore identifiés (N° 2, 3, 5, 5, 6 et 7) sont présents à des proportions respectives de 2,40%, 0,25%; 13,78%; 0,20% et 0,30%. Le fucostérol est donc le stérol majoritaire et sa teneur corrobore avec celle décrite dans la littérature (YACOUBOU et al., 1984).

- Fraction acide gras

L'analyse du chromatogramme (Tab. 2) montre que notre espèce présente une multitude d'acides gras de C12 à C20 parmi lesquels on trouve les saturés et des insaturés. Les taux de ces acides gras varient de 0,1 à 26% (LIEM et LAUR, 1974)

B I B L I O G R A P H I E

- HADJI A., 1988. Contribution à l'étude chimique d'une algue brune des côtes d'Algérie. Thèse d'Ingénieur, I.N.A. (1988)
- JAMES A.T., 1960. Qualitatives and quantitatives determination of the fatty acids by G.L.C. in method of biochemical analysis interescience, New-York (1960) Vol. 8 pp 1.
- LIEM P.Q., LAUR M.H., 1974. Biochimie (1974), 56, pp 925-935.
- TRANCHANT J., 1964. Manuel pratique de chromatographie phase gazeuze. Ed. MASSON et Cie; 1964.
- WOLF J.F., 1970. Manuel d'analyse des corps gras. Ed. AZOULAY, Paris pp 552.
- YACOUBOU A.; PIOVETTI L. et KORNPORBST J.M., The Sterols of the senegalèse brown alga, *Padina vickersiae* in: Phytochemistry, vol 24 n° 3 . pp 619 - 620.