

COMPOSITION CHIMIQUE DE L'HUILE DES GRAINES D'*Onopordon nervosum* subsp. *platylepis* Murb (ASTÉRACÉES)

S. F. Hachicha^a, S. Barrek^{a*}, T. Skanji^a, Z. G. Ghrabi^a, H. Zarrouk^a

^a *Unité de recherche : Étude physico-chimique des milieux et substances naturels, Institut National de Recherche et d'Analyse Physico-chimique, Pôle Technologique, 2020 Sidi Thabet, Tunisie*
^b *Institut National Agronomique de Tunisie, 43 av. Ch. Nicolle, 1082 Cité Mahrajène, Tunis, Tunisie*

(Reçu le 30 Juin 2006, accepté le 19 Avril 2007)

RESUME : *Onopordon nervosum* subsp. *platylepis* Murb. est une plante endémique de la Tunisie. Dans le présent travail nous nous sommes intéressés à l'étude de la composition chimique de l'huile des graines de cette plante. Les résultats obtenus ont montré que cette huile est composée de huit acides gras dont essentiellement l'acide linoléique, l'acide oléique et l'acide palmitique. Les triglycérides majoritaires constituant l'huile sont LLL, LLO et LLP avec un pourcentage respectif de 30.1%, 20.3% et 14.6%. Les stérols totaux constituent 0.13 % de la matière grasse, le sitostérol et le Δ -7 stigmastérol étant les stérols majoritaires. L'alpha tocophérol est présent avec une teneur égale à 599 mg/kg de matière grasse.

Mots clés : *Onopordon nervosum*, acides gras, triglycérides, stérols, alpha-tocophérol.

ABSTRACT: The chemical composition of the seed oil obtained from *Onopordon nervosum* subsp. *platylepis* Murb, endemic of Tunisia was determined. The seed oil was composed of eight acids; the predominant components were linoleic, oleic and palmitic. Nine triacylglycerols were identified; the major compounds are LLL, LLO and LLP with respectively 30.1%, 20.3% and 14.6%. The sterols constitute 0.13% of the oil, sitosterol and Δ -7 stigmastanol being the main constituents. The alpha tocopherol was identified with a concentration of 599 mg/kg of seed oil.

Key words: *Onopordon nervosum*, fatty acids, triacylglycerols, sterols, alpha-tocopherol.

INTRODUCTION

Le cholestérol est un composé indispensable à l'organisme humain mais son excès peut être la cause de plusieurs maladies dont surtout les maladies cardiovasculaires. Il existe sur le marché plusieurs médicaments dont surtout les statines, fibrates....qui peuvent diminuer le taux de triglycérides et cholestérol à lipoprotéines de faible densité (LDL) et augmenter le taux de lipoprotéines de forte densité (HDL), mais ces médicaments présentent l'inconvénient d'être chers et d'avoir certains effets secondaires [1-2].

Les phytostérols et les acides gras essentiels sont des composés produits par les plantes. Ils ont une forte activité biologique et pas d'effets secondaires. Ils intéressent à ce titre les domaines de la pharmacie, de la cosmétique et de l'alimentation humaine.

Les stérols constituent la fraction majoritaire des insaponifiables végétaux, ils sont notamment connus pour leur action hypocholestérolémiant. Un grand nombre d'études cliniques ont apporté la preuve que les stérols des végétaux agissaient sur les taux de cholestérol total et du cholestérol

* correspondant



(LDL) en inhibant partiellement son absorption dans l'intestin. En outre, les stérols entraînent une diminution du cholestérol sanguin (LDL) et diminuent par la suite le risque de maladies cardiovasculaires. [3-4]

De façon analogue, les acides gras polyinsaturés (AGPI) jouent un rôle essentiel sur le plan nutritionnel. En particulier, l'acide linoléique et l'acide linoléique comptent parmi les acides gras indispensables à l'organisme puisque ce dernier ne peut les synthétiser. Les acides gras monoinsaturés (présents notamment dans les huiles d'olive et de colza), quant à eux, exercent une action préventive sur les maladies cardiovasculaires en diminuant le taux de cholestérol [5-7].

Enfin en clinique humaine, la vitamine E trouverait de nombreuses applications comme l'effet anti-inflammatoire et la prévention de quelques maladies chroniques telles que les maladies cardiaques, l'athérosclérose et même le cancer [8]. Ceci est dû au fait qu'à une grande concentration, la vitamine E inhibe l'oxydation des acides gras polyinsaturés dans le plasma des lipoprotéines.

Le nombre de maladies cardiovasculaires ne cesse d'augmenter dans le monde, d'où l'intérêt de nos jours de rechercher de nouvelles plantes riches en acide gras polyinsaturés, monoinsaturés, et en phytostérols qui diminuent le taux de mortalité par ces maladies.

Onopordon nervosum subsp. *platylepis* Murb (Astéracées), est une plante robuste (50-150 cm), très tomenteuse, à tige dressée et peu rameuse et à larges ailes épineuses. Cette plante présente un capitule ayant un aspect hérissé qui contient des akènes bruns (graine+péricarpe). La floraison de cette plante a lieu de mai à juillet, les fleurs étant roses violacées. La plante est une endémique tunisienne fréquente dans le nord et le centre de la Tunisie, plus rare au sud. Elle se développe aux bords des chemins et sur les décombres [9-10].

En Tunisie, la plante n'a pas d'effet thérapeutique connu mais certains l'utilisent comme aliment, les capitules sont également consommés par les équidés [11]. D'autres espèces de ce genre sont connues dans d'autres pays pour le traitement du cancer de la peau [12]. Des études menées sur ce genre ont montré qu'il constitue une source très riche en flavonoïdes, sesquiterpènes lactones, elmanolides, eudesmanolides et germacranolides [13-16]. L'huile des graines de cette plante n'a pas fait l'objet d'études antérieures.

MATERIEL ET METHODES

Onopordon nervosum subsp. *platylepis* Murb a été récoltée dans la région de Manzel Bourguiba (Bizerte) en juillet 2005 et identifiée par le professeur Z.Ghrabi de l'Institut National Agronomique de Tunis, Université de Tunis. Les graines (akènes) sont finement séparées du reste de la plante puis broyées. La poudre obtenue est soumise à une extraction par l'hexane dans un système soxhlet pendant 24h. Après filtration et évaporation du solvant, une huile visqueuse de couleur brune ayant une odeur fétide a été obtenue. Le rendement d'extraction (12.3%) a été déterminé par pesée.

1-Préparation des esters méthyliques des acides gras de l'huile des graines

L'huile obtenue précédemment est soumise à l'action de l'hydroxyde de potassium méthanolique (KOH 1N dans le méthanol anhydre). Après évaporation du méthanol et neutralisation du milieu réactionnel par l'acide sulfurique à 50°C pendant 8h, les esters méthyliques des acides gras (E.M.A.G) sont ainsi obtenus puis extraits du mélange par l'hexane et enfin séchés avec Na₂SO₄ avant d'être analysés par CPG et CPG/SM.

2- Identification et quantification des E.M.A.G par CPG et CPG/SM

L'analyse quantitative des E.M.A.G a été réalisée sur un chromatographe Agilent Technologies 6890, équipé d'un détecteur à ionisation de flamme (FID), d'une colonne HP5 (30 m x 0.32 mm d.i: 0.25 μ m), Le gaz vecteur est l'hélium avec un débit de 1 ml /min. La température de l'injecteur est de 270°C et celle du détecteur de 300°C. La programmation de la température consiste en une élévation de 150 à 260°C, à 8°C/min, puis un palier de 40 min à 260°C. L'injection se fait en mode division avec un rapport de 1/20. L'identification des E.M.A.G a été réalisée par couplage du même chromatographe à un spectromètre de masse Autospec M 610 (Waters). Les spectres de masse ont été réalisés par impact électronique à 70 eV, la température de la source d'ionisation est maintenue à 250 °C et l'analyseur de masse est de type EBE. L'acquisition des spectres a été réalisée entre 50 et 800 Da. Les spectres de masse obtenus sont comparés à deux bibliothèques commerciales NIST et WILEY.

3- Analyse des triglycérides de l'huile des graines par CLHP

L'analyse des triglycérides (TG) dans l'huile a été effectuée selon la méthode officielle AOAC n° 993.24 [17] sur un chromatographe HP1100 équipé d'un détecteur à indice de réfraction (RID), d'une pompe isocratique, d'un injecteur automatique et d'un four thermostaté. La séparation des triglycérides a été réalisée sur une colonne de type C₁₈ Hypersil ODS de dimensions 250 x 4 mm, remplie par des particules de diamètre 5 μ m. La phase mobile est composée d'un mélange acétonitrile / acétone (65/35, v/v) et maintenu à un débit de 0.8mL /min. Trois huiles ont été utilisées comme standards externes pour l'identification des triglycérides : huile de colza, huile de soja et huile d'olive. Les échantillons sont solubilisés dans un mélange d'acétone et de chloroforme (50/50, v/v)

4- Détermination de la teneur en stérols individuels et totaux

Les stérols ont été analysés selon la Norme ISO 12228 [18]. Après saponification d'une prise d'essai de 250 mg par une solution éthanolique de KOH sous reflux. La fraction insaponifiable a été purifiée par extraction en phase solide sur une colonne d'oxyde d'aluminium (Scharlau). Les stérols sont par la suite isolés par chromatographie sur couche mince CCM sur une plaque de silice. Ces derniers ont été silylés par 100 μ l de réactif silylant (50 μ l de 1-méthyle imidazole dans 1mL de N-méthyle-N-(triméthylsilyl-heptafluorobutyramide) (Fluka) pendant 15 min à 105°C. L'analyse des stérols a été réalisée sur un chromatographe Agilent Technologies 6890, équipé d'un détecteur à ionisation de flamme (FID), d'une colonne HP5 (30 m x 0.32 mm d.i : 0.25 μ m). Le gaz vecteur est l'hélium avec un débit de 1.2 mL /min. La température de l'injecteur est de 270°C et celle du détecteur de 300°C. La programmation de la température consiste en une élévation de 240 à 255°C, à 4°C/min, puis en un palier de 60 min à 255°C. L'injection se fait en mode avec division avec un rapport de 1/20. Les stérols sont identifiés par leurs temps de rétention relatifs par rapport à des étalons de : bétuline, cholestérol, sitostérol (Fluka). Nous avons par la suite confirmé les résultats obtenus par couplage à la spectrométrie de masse.

- Analyse des tocophérols et tocotriénols par H.P.L.C

La détermination des teneurs en tocophérols et tocotriénols a été effectuée selon la norme internationale ISO 9936 [19] par chromatographie liquide à haute performance munie d'un système de fluorométrie. Le Système chromatographique utilisé est une chaîne HP1100 composé d'une pompe, d'un injecteur automatique et d'un détecteur à fluorescence dont la longueur d'onde d'excitation est réglée sur 290 nm et la longueur d'onde d'émission sur 330 nm.



La colonne utilisée est Pinnacle II Silica de longueur 150mm et de diamètre intérieur 3.2mm remplie de microparticules de silice de diamètre moyen 3 μ m. Le débit est de 1 ml et l'éluant utilisé est un mélange de 0.5%(V/V) propan-2-ol dans le n-hexane. Une solution avec les standards (α , β , δ , et γ tocophérol) (Roche) est injectée dans les mêmes conditions que ceux de l'échantillon.

RESULTATS ET DISCUSSION

1- Composition des E.M.A.G et des triglycérides

Les résultats de l'analyse des E.M.A.G par chromatographie en phase gazeuse sont donnés dans le tableau I. Nous pouvons remarquer que l'huile est très riche en acides gras polyinsaturés (AGPI) et en acides gras monoinsaturés (C16 :1 et C18 :1) avec un pourcentage respectif de (61.9% et 23.7%). Le rapport d'acides gras insaturés (AGI) sur acides gras saturés est de 0.86. Ce qui confère à l'huile de grandes propriétés nutritives et curatives.

Les acides gras majoritaires dans l'huile des graines d'*Onopordon nervosum* sont l'acide linoléique (61.95%), l'acide oléique (23.46%) et l'acide palmitique (9.5%).

L'analyse des triacylglycérols montre la présence de neuf triglycérides de compositions différentes (tableau II) : LLL, LLO et LLP sont les majoritaires et ont comme pourcentages respectivement 30.1%, 20.3% et 14.6%.

Tableau-I- Composition en acides gras de l'huile des graines d'*Onopordon nervosum*

Acides gras	Pourcentages
Acide palmitoléique C16 :1	0.25%
Acide palmitique C16 :0	9.5%
Acide linoléique C18 :2	61.95%
Acide oléique C18 :1	23.46%
Acide stéarique C18 :0	4.13%
Acide arachidique C20 :0	0.38%
Acide béhenique C22 :0	0.13%
Acide lignocérique C24 :0	0.17%

Tableau-II- Composition des triglycérides de l'huile des graines d'*Onopordon nervosum*

Triglycérides	Pourcentages
LLL	30.1%
LLO	20.3%
LLP	14.6%
OOL	9.3%
OLP	12.9%
POO	3.5%
POP	6.7%
SOO	2.1%
SOP	0.6%

2- Composition des stérols

La fraction stérolique obtenue a été analysée par chromatographie en phase gazeuse. L'identification des stérols par leurs temps de rétention relatif a été réalisée en prenant la bétuline comme référence et standard interne. Nous avons confirmé ces résultats par la suite par couplage CPG/SM. Ces travaux ont montré la présence de six stérols (tableau III).

La teneur en stérols totaux est de 1277.3 mg/kg de matière grasse, avec la présence de six stérols : (cholestérol, campestérol, stigmastérol, Δ 7stigmastérol, Δ 7avenastérol). Le sitostérol et le Δ 7stigmastérol sont les stérols majoritaires avec des pourcentages respectifs de (54.5% et 26.6%).

Tableau-III- Composition des stérols de l'huile des graines d'*Onopordon nervosum*

Stérols	Pourcentage	m/z
Cholestérol	1.54%	386, 371, 368, 353, 326, 301, 275, 255, 247, 231, 213
Campestérol	5.4%	400, 382, 367, 315, 289, 255, 231, 213, 159, 145, 107, 105, 67
Stigmastérol	9.4%	412, 369, 351, 300, 271, 255, 213, 161, 159, 133, 97, 83, 69, 55
Sitostérol	54.55%	414, 400, 396, 329, 303, 273, 255, 213, 173, 159, 145, 107, 81, 55
Δ 7stigmastérol	26.62%	414, 399, 273, 255, 229, 213, 201, 161, 147, 119, 107, 81, 55
Δ 7avenastérol	2.44%	486, 469, 379, 386, 371, 343, 296, 281, 253, 213

3- Composition des tocophérols.

Le dosage des tocophérols par chromatographie liquide à haute performance en présence des quatre tocophérols (α , β , γ et δ) comme standards nous a permis de confirmer la présence de l'alpha tocophérol à une teneur égale à 599 mg/kg de matière grasse, et la présence du gamma tocophérol à une teneur égale à 8 mg/kg, ce qui revient à un pourcentage total de 0.06%.

CONCLUSION

L'huile d'*Onopordon nervosum* est composée majoritairement de trois acides gras essentiels l'acide linoléique à 61.95%, l'acide oléique à 23.46% et l'acide palmitique à 9.5%. Les triglycérides majoritaires constituant l'huile sont LLL, LLO et LLP avec un pourcentage respectif de 30.1%, 20.3% et 14.6%. Les stérols totaux constituent 0.128 % de la matière grasse, le sitostérol et le Δ 7stigmastérol étant les stérols majoritaires. La présence de l'alpha tocophérol à une teneur égale à 599 mg/kg de matière grasse, confère à l'huile un pouvoir anti-oxydant très important qui permet de maintenir sa stabilité et prolonger sa durée de conservation.

L'huile d'*Onopordon nervosum* est très riche en phytostérols, vitamine E, en acide gras monoinsaturés et polyinsaturés de type oméga 6, ceci confère à cette huile de très bonnes qualités nutritionnelles et surtout curatives puisqu'elle peut participer à la bonne régulation du taux de cholestérol sanguin dans l'organisme et lutte par conséquent contre les maladies cardiovasculaire.

Le rendement d'extraction des graines est important (12.3%) ce qui peut permettre l'exploitation industrielle (alimentaire ou pharmaceutique) de cette huile.

REFERENCES

- [1] S. Rozner, N. Garti, *The activity and absorption relationship of cholesterol and phytosterols*; Colloids and Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects, **2006**, 282–283, 435–456.
- [2] J. J. Moreno, M. T. Mitjavila ; *The degree of unsaturation of dietary fatty acids and the development of atherosclerosis* ; Journal of Nutritional Biochemistry , **2003**,14, 182-195.
- [3] M. D. Patel, P. D. Thompson, *Phytosterols and vascular disease*, *Atherosclerosis review*, 2006,186, 12–19.
- [4] F. Y. Ntanios 1, A. J. van de Kooij, E. A.M. de Deckere, G. S.M.J.E. Duchateau, E. A. Trautwein, *Effects of various amounts of dietary plant sterol esters on plasma and hepatic sterol*



concentration and aortic foam cell formation of cholesterol-fed hamsters, *Atherosclerosis* **2003**, *169*, 41-50.

[5] B. A. Watkins, Y. Li, H. E. Lippman, S. Feng, *Modulatory effect of omega-3 polyunsaturated fatty acids on osteoblast function and bone metabolism*; Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids, **2003**, *68*, 387–398.

[6] J. E. Teitelbauma, W. Allan Walkerb, *The role of omega 3 fatty acids in intestinal inflammation*, *Journal of Nutritional Biochemistry Review*, **2001**, *12*, 21–32.

[7] H. Tapiero, G. N. Ba, P. Couvreur, K.D. Tew. *Polyunsaturated fatty acids (PUFA) and eicosanoids in human health and pathologies*, *Biomed Pharmacother*, **2002**, *56*, 215–222.

[8] C.M I. Ortiz, M.S P. Moya, V.B. Navarro; *A rapid chromatographic method for simultaneous determination of β -sitosterol and tocopherol homologues in vegetables oils*. *Journal of food composition and analysis*, **2006**, *19*, 141-149,

[9] G. Pottier- Alapetite, *Flore de la Tunisie Angiospermes- Dicotylédones–Gamopétales. Prog. Flore et végétation Tunisienne*, Imprimerie officielle de la république tunisienne, **1981**, 1048.

[10] M. Neffati, Z.G.Ghrabi, N.Akrimi and B. Henchi, *Les plantes endémiques de la Tunisie*, *Flora Mediterranea*, **1999**, *9*, 163-173.

[11] E. Le Floch, *Contribution à une étude ethnobotanique de la flore Tunisienne*; Imprimerie officielle de la république tunisienne, **1983**.

[12] S. A. El-Moghazy, A. A. Ahmed, H. F. Abdel-Ghani, M. A. El-Shanawany, *new eudesmane derivative from Onopordon ambiguum*, *Fitoterapia* **2002**, *73*, 97-98.

[13] D. Lazari, B. Garcia, H. Skaltsa, J.R. Pedro and C. Harvala; *Sesquiterpene lactone from Onopordon laconicum and O. sibthorpiatum*. *Phytochemistry*, **1998**, *47*, 415-422.

[14] B. Garcia, H. Skaltsa, F. I. Navarro, J. R. Pedro, D. Lazari, *Sesquiterpene lactones and elemene derivatives from Onopordon. myricanthum*. *Phytochemistry*, **1996**, *41*, 1113-1117.

[15] L. Cardona, A. Bardon, B.A Garcia, J. R. Pedro, *Eudesmane and Elemene derivatives from Onopordon. acaulon*. *Phytochemistry*, **1993**, *33*, 1457-1460.

[16] L. Cardona, R. A. Alemar, B. Garcia, J. R. Pedro; *Sesquiterpenes, flavonoids and lignans from Onopordon. acaulon*, *Phytochemistry*, **1992**, *31*, 3630-3632.

[17] Norme AOAC official method 993.24, *Analyse des triglycérides de l'huile des graines par CLHP*.

[18] Norme ISO 12228, *Fractionnement de l'insaponifiable : Détermination de la teneur en stérols individuels et totaux*.

[19] Norme internationale ISO 9936 (1997), *Analyse des tocophérols par CLHP : détermination des teneurs en tocophérols et en tocotriénols dans les corps gras d'origine animale et végétale*.