

T1972TECH15

QUELQUES PARTICULARITES DE L'INSAPONIFIABLE DE L'HUILE DE TOURNESOL

F. MORDRET (France)

INTRODUCTION

Alors que la composition en acides gras de l'huile de tournesol est relativement simple puisqu'elle ne comprend que cinq constituants principaux (acides palmitique, palmitoléique, stéarique, oléique et linoléique), l'insaponifiable de cette huile présente quelques particularités que nous avons étudiées (1). Dans l'huile brute, il faut d'abord noter l'existence de cires représentant une fraction dont l'importance sera soulignée au cours d'un prochain exposé. Je ne veux pas anticiper sur les résultats qui vont être présentés par nos collègues soviétiques, mais je dois dire que, dans le cadre de nos recherches, GUILLAUMIN et coll. (2) ont étudié les constituants de la cire de tournesol après avoir mis au point une méthode de saponification en présence de tiers solvant. Cette cire peut représenter 0,03 à 0,35 % de l'huile brute et, dans la plupart des cas, étant donné sa faible concentration dans l'huile brute, elle est saponifiée. Dans l'insaponifiable, elle apparaît surtout sous forme d'alcool gras. C'est principalement l'étude des fractions alcools et stérols qui firent l'objet de cette communication.

ETUDE DE LA FRACTION ALCOOLS TOTAUX

Pondéralement, c'est une fraction importante car elle est riche en alcools aliphatiques (100 mg/100 g).

Les principaux alcools aliphatiques végétaux sont des termes saturés de C_{22} à C_{28} , alors que les alcools di et triterpéniques ont respectivement des longueurs de chaînes équivalentes à C_{20} et C_{30} . Dans une chromatographie en phase gazeuse des alcools totaux, l'ordre d'élu-tion sera : alcools diterpéniques, aliphatiques, triterpéniques, avec seulement de faibles interférences entre ces différentes classes (figure 1). Les compositions des alcools gras de l'huile et de la cire sont comparables.

Il est possible aussi de séparer les alcools aliphatiques des différents alcools triterpéniques par C.C.M. des acétates époxydés, selon la méthode développée par PONSINET et OURISSON (3). Les acétates d'alcools totaux traités par l'acide paranitroperbenzoïque donnent des acétates mono et diépoxydés séparables des acétates non époxydés (figure 2). Comme référence, nous avons utilisé de l'alcool stéarylique et des alcools triterpéniques de lin. Dans les alcools totaux de tournesol, nous retrouvons une fraction peu polaire correspondant aux alcools aliphatiques saturés, puis les différents alcools triterpéniques qui sont séparés suivant le nombre et la position des doubles liaisons. Trois taches n'ont pu être identifiées faute de substances étalons.

ETUDE DE LA FRACTION METHYLSTEROLS

En collaboration avec SAWICKI, nous avons montré que les 4 méthylstérols sont présents dans plusieurs insaponifiables d'huile végétale (4). Ils sont isolés de l'insaponifiable de tournesol par la technique du développement multiple, puis cette fraction a été analysée par chromatographie en phase gazeuse. Nous avons identifié le citrostadiénol (figure 3), l'un des deux autres constituants étant vraisemblablement le 24-méthylène lophénol. Il est intéressant de remarquer que les 4 méthylstérols sont des intermédiaires dans la biosynthèse des stérols à partir des alcools triterpéniques par déméthylations successives (figure 4). Ce schéma a été proposé à la suite d'une étude effectuée sur une légumineuse (5). Il permet d'expliquer facilement la formation du campestérol et du β sitostérol. De même, il est clair que la présence de lophénol peut s'accompagner de celle du cholestérol, ce dernier ayant été trouvé en petite quantité dans plusieurs insaponifiables végétaux.

ETUDE DES STEROLS

La chromatographie en phase gazeuse des stérols totaux de tournesol montre que cette fraction renferme quatre constituants (figure 5). Si on les considère dans leur ordre d'éluion, les trois premiers sont connus. Il s'agit de $\Delta 5$ stérols : campestérol, stigmastérol et β sitostérol. En revanche, l'identité du quatrième, le $\Delta 7$ stigmastérol, méritait d'être confirmée car des avis contradictoires furent émis au sujet de la nature exacte de ce constituant, certains auteurs l'assimilant à un alcool triterpénique (6). Par C.C.M. analytique de l'insaponifiable de tournesol, après deux développements successifs, nous avons dédoublé la tache représentative des stérols. Après C.C.M. préparative, les deux bandes sont récupérées séparément pour diverses analyses. La bande de Rf supérieur contient exclusivement les $\Delta 5$ stérols cités, alors que la bande de Rf inférieur renferme principalement le quatrième constituant (figure 6). Cette fraction a été analysée par spectrométrie de masse (figure 7) et il apparaît qu'elle est surtout constituée d'un composé de masse 456 qui est celle d'un stigmastérol ; elle renferme aussi un peu de stigmastérol (diène 5-22) et de campestérol.

Nous avons confirmé la position 7-8 de la double liaison de plusieurs façons :

a) Sur couche mince imprégnée de nitrate d'argent, les acétates de $\Delta 7$ stérols sont moins retenus que ceux des $\Delta 5$ correspondants.

b) La microhydrogénation en présence de platine est sans action, or il est connu que la double liaison 7-8 d'un stéroïde est non hydrogénable dans ces conditions.

c) Enfin, la réaction de MOORE et BAUMAN est positive. On obtient une coloration bleue avec le réactif en moins de deux minutes. Dans plusieurs cas, il a été établi que les $\Delta 7$ stérols sont les précurseurs immédiats dans la biosynthèse des $\Delta 5$ stérols ou stérols (7). Ici, par déplacement de la double liaison, le $\Delta 7$ stigmastérol se transforme en β -sitostérol. A partir des deux autres constituants identifiés par spectrométrie de masse, une réaction analogue doit conduire à la formation du stigmastérol et du campestérol.

CONCLUSION

Il semble que l'insaponifiable de l'huile de tournesol soit remarquable surtout par :

. une forte teneur en alcools aliphatiques provenant de la décomposition des cires ;

. une fraction stérolique complexe renfermant des proportions importantes de $\Delta 7$ stérols, ces derniers cependant pouvant exister dans d'autres huiles. Par exemple, nous avons trouvé 2 % de $\Delta 7$ stigmastérol dans les stérols totaux de l'huile de soja.

Notons enfin que l' α -tocophérol peut représenter jusqu'à 85 % des tocophérols totaux.

BIBLIOGRAPHIE

- (1) MORDRET F. - Thèse d'Université, Paris 1971.
- (2) GUILLAUMIN R., DROUHIN N. - Rev. Fse Corps Gras (1966) 13, 21-28.
- (3) PONSINET G., OURISSON G. - Phytochemistry (1965), 4, 799-804.
- (4) SAWICKI J., MORDRET F. - Rev. Fse Corps Gras (1970) 17, 685-88.
- (5) Von ARDENNE M., OSSKE G., SCHREIBER K., STEINFELDER K., RIMMLER R. - Die Kulturpflanze (1965) 3, 101-115.
- (6) GRACIAN J., MARTEL J. - Grasas y Aceites (1969) 20, 231.
- (7) DEVYS M., ALCAIDE A., BARBIER M. - Bull. Soc. Chim. Bull. (1968) 50, 1751.

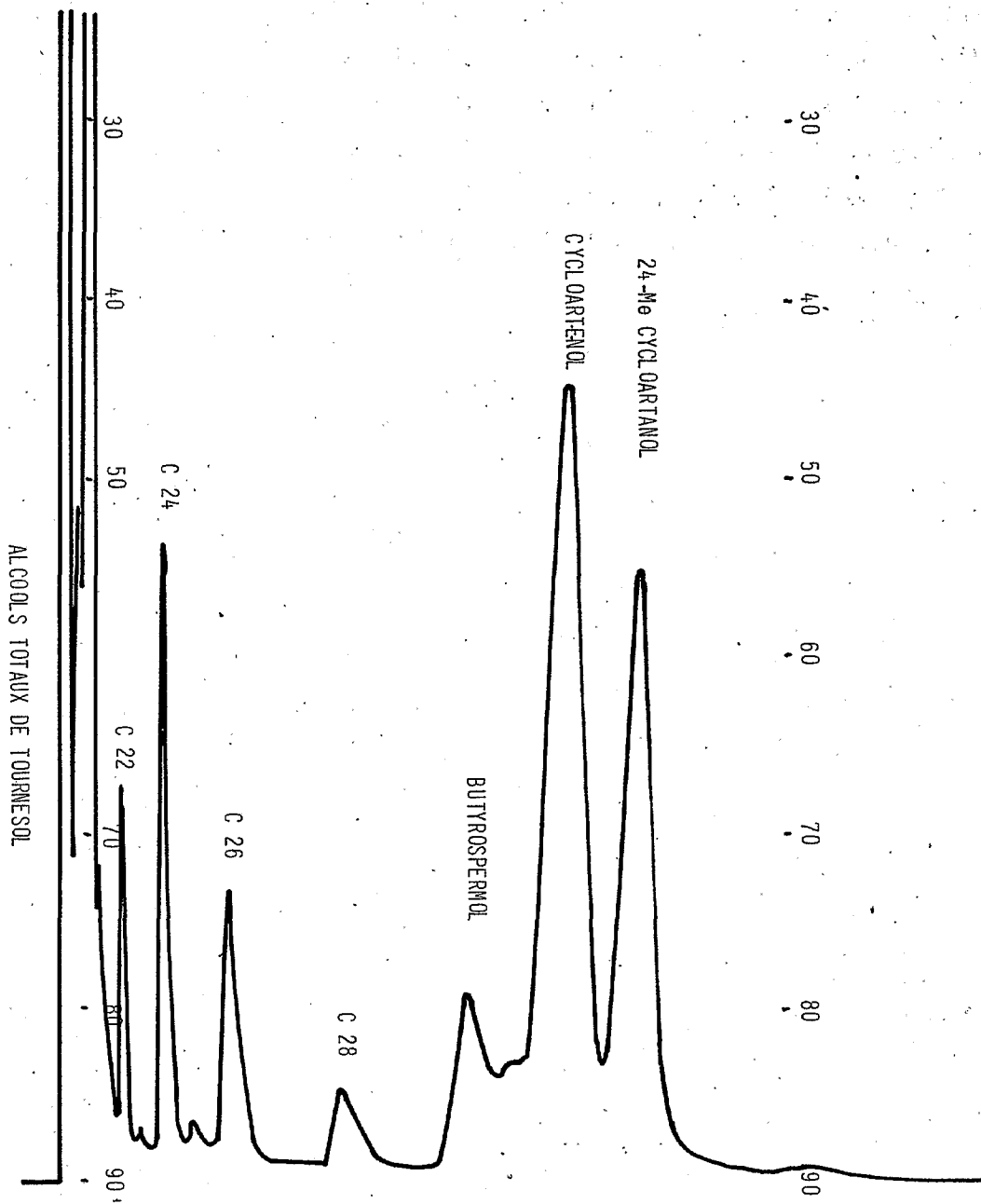
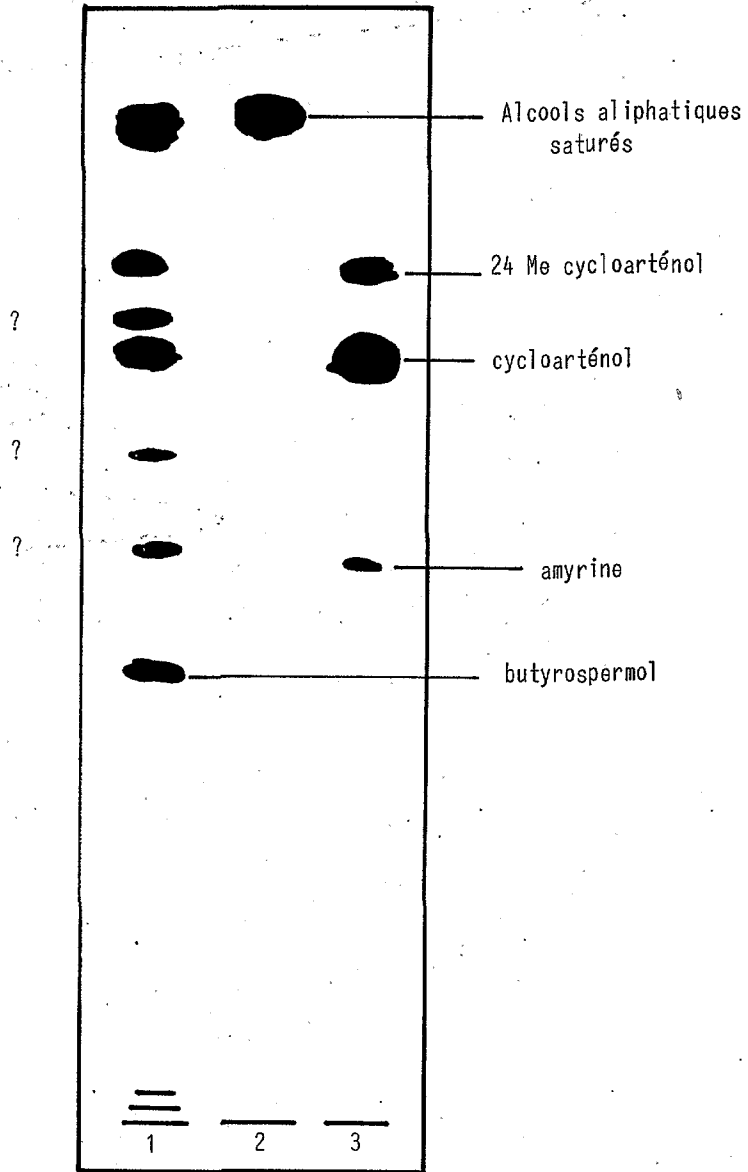


Fig. 1 - Chromatographie en phase gazeuse d'alcools totaux d'huile de tournesol.



- 1 - Alcools totaux de tournesol
- 2 - Alcool stéarylique
- 3 - Alcools triterpéniques de lin

Fig. 2 - Chromatographie des acétates d'alcools époxydés

Silice G - cyclohexane-acétate d'éthyle (85:15)

Fig. 3 - Chromatographie en phase gazeuse de la fraction 4-méthylstéroïls

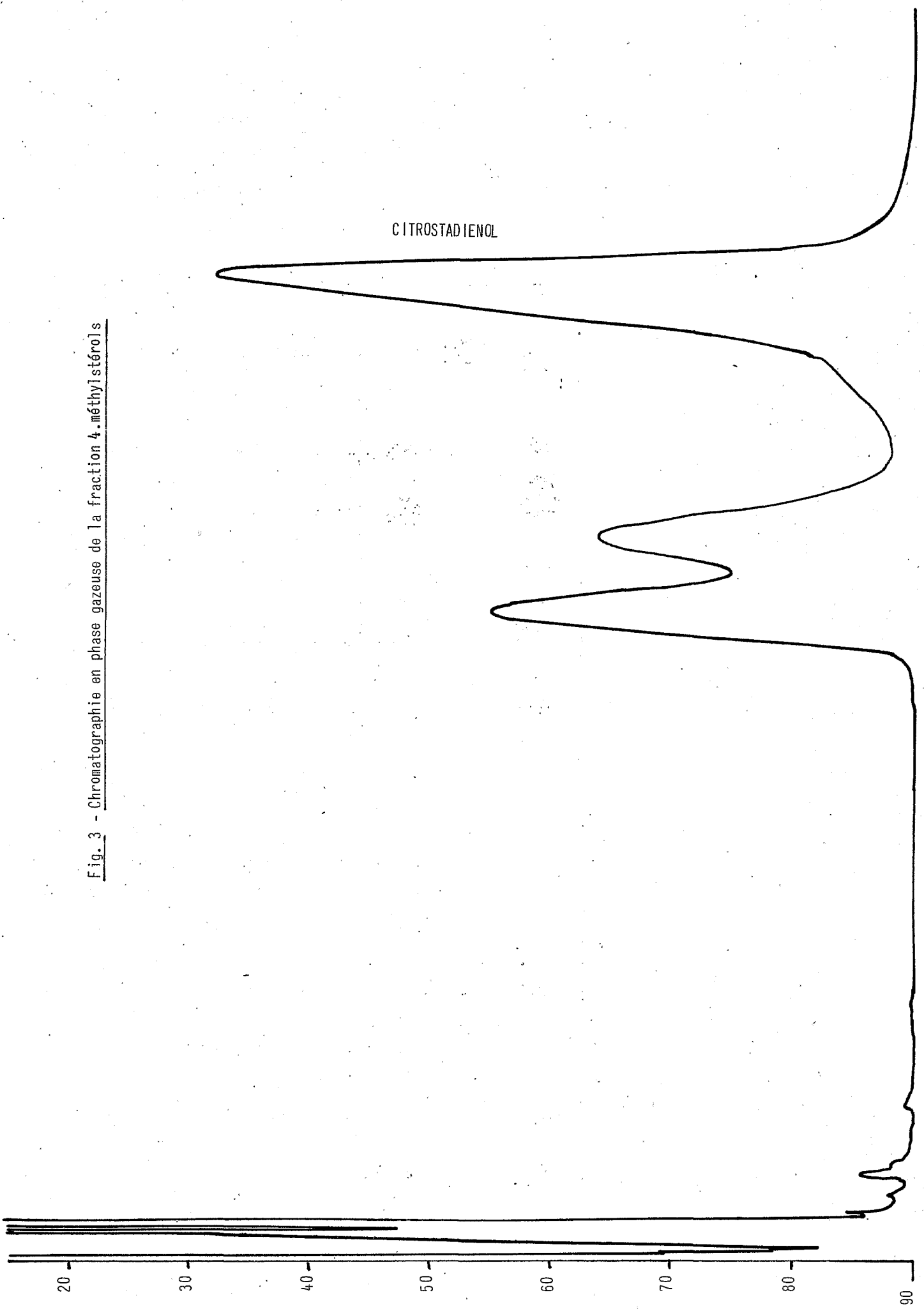


Fig. 4 - Biosynthèse de quelques stérols à partir du cycloarténo]

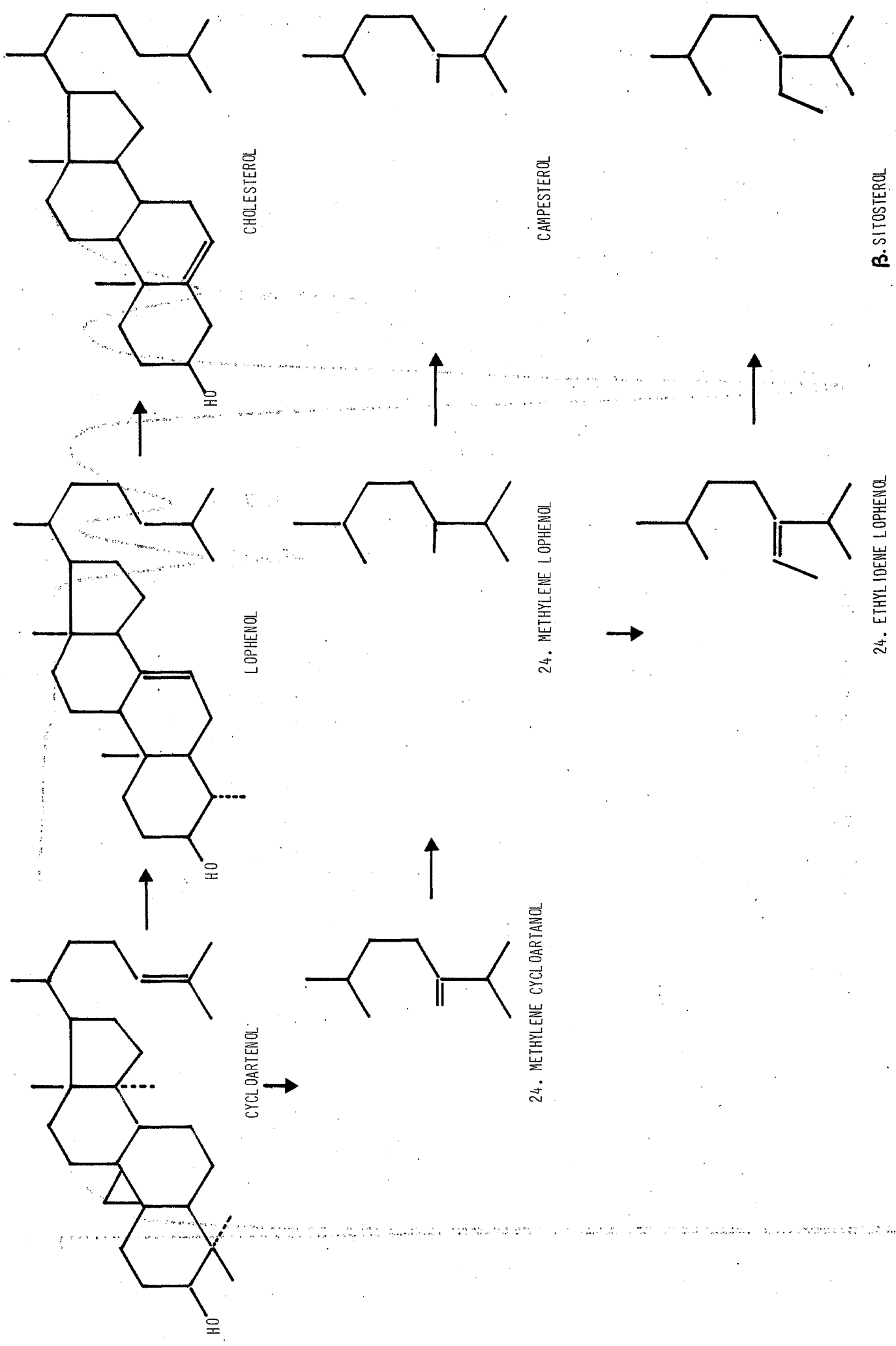
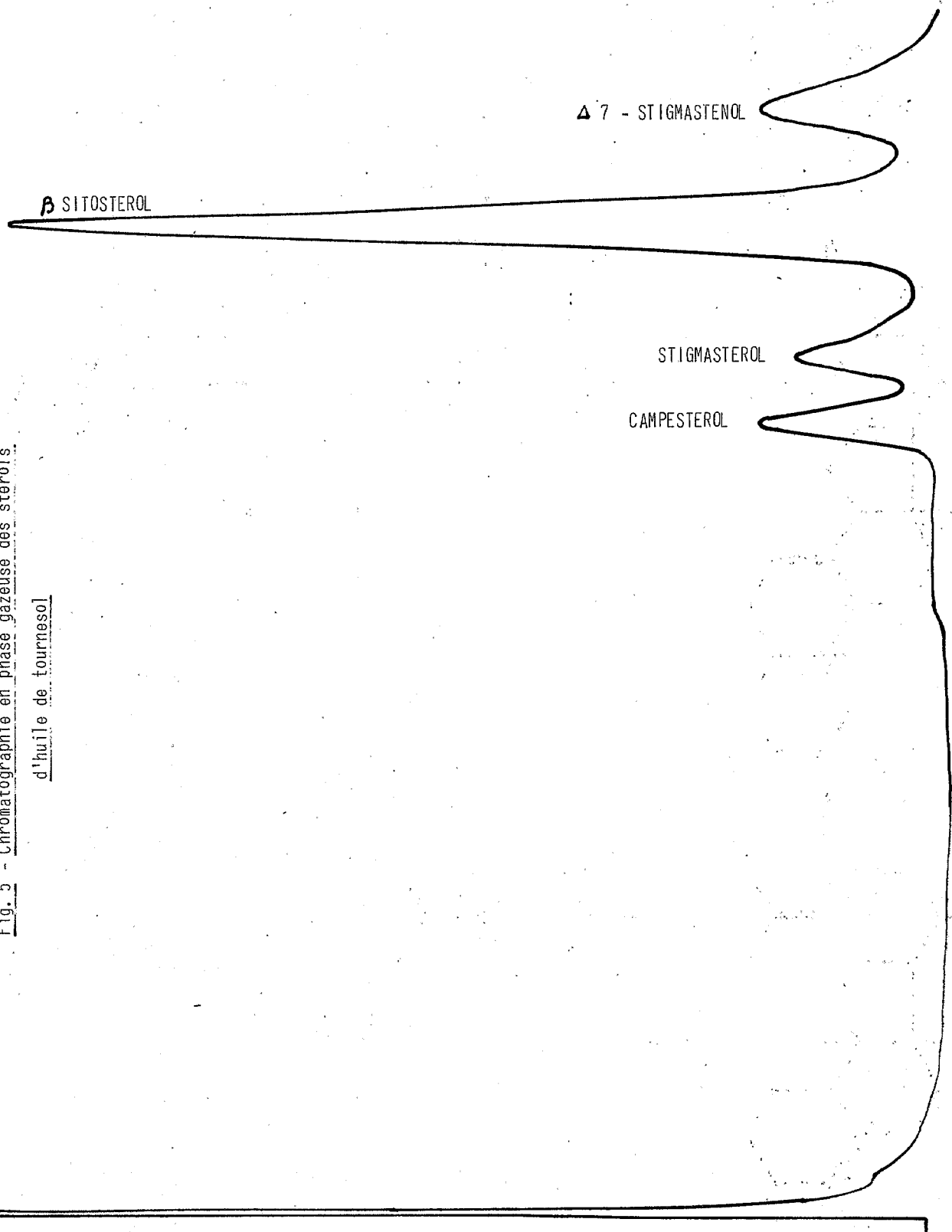
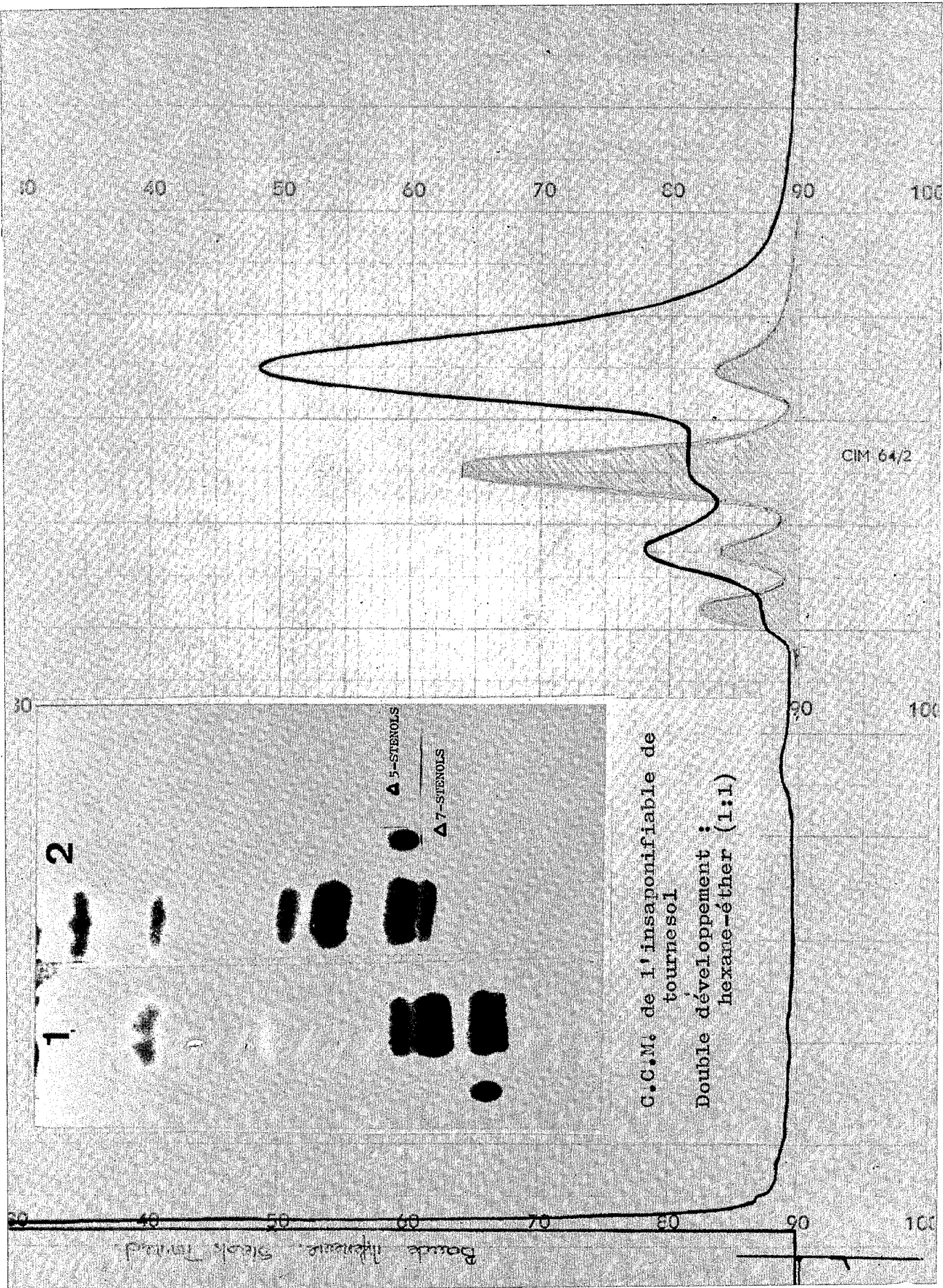


Fig. 5 - Chromatographie en phase gazeuse des stérols
d'huile de tournesol





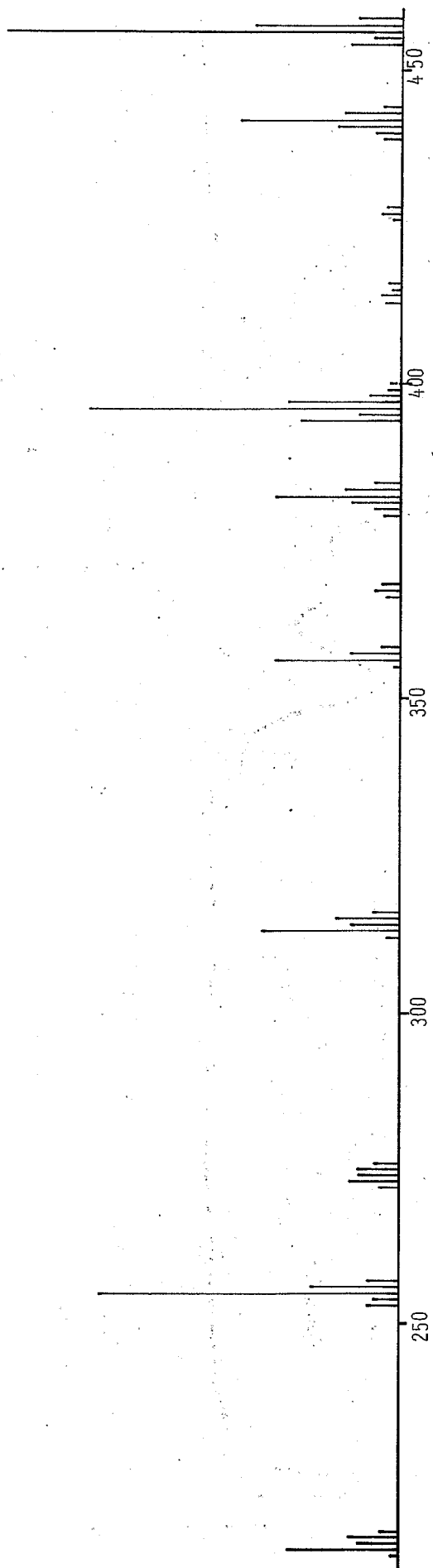
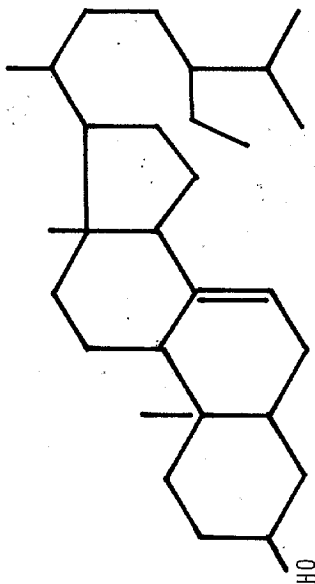


Fig. 7 - Spectre de masse de la fraction $\Delta 7$ stérols (acétates)

$\Delta 7$ - STIGMASTÉROL



Fragmentation

(1) $m/e = 456 = M_1$ (stigmastérol)

- un pic parent important est généralement observé lorsque la double liaison est en position 7-8.

- d'autres pics correspondent aux fragmentations

441 = $M_1 - 15$ (methyl)

396 = $M_1 - 60$ (acide acétique)

381 = $M_1 - 15 - 60$

255 = $M_1 - 60 - 141$ (acide acétique + chaîne latérale)

(2) $m/e = 454 = M_2$ (stigmastérol)

439 = $M_2 - 15$

394 = $M_2 - 60$ etc...

(3) $m/e = 442 = M_3$ (campestérol)

427 = $M_3 - 15$

382 = $M_3 - 60$ etc...