

# Etude de la teneur en tocophérols de certains tourteaux utilisés à Madagascar et de sa variation au cours du stockage

par M. DUBOIS

Cette étude a été faite dans le but d'étudier la composition des tourteaux qui entrent dans l'alimentation du bétail, du porc en particulier.

Nous avons analysé surtout les tourteaux d'arachides les plus employés. Certains tourteaux conservés assez longtemps par les utilisateurs rancissent. Les tocophérols étant les principaux antioxydants naturels, nous avons pensé qu'il serait intéressant d'examiner leur comportement au cours du stockage de ces tourteaux.

Nous avons dosé d'abord les tocophérols totaux selon la méthode préconisée par H. L. QUAIFE et P. HARRIS et transformée par R. W. SWOCK et C. A. BAUMANG (7). Ces derniers remplacent la distillation moléculaire et l'hydrogénation de QUAIFE par une chromatographie sur colonne de floridine qui enlève la vitamine A et le carotène des extraits. Le dosage des tocophérols reste le même et est basé sur la même réaction colorée d'Emmerie-Engel. Cette réaction consiste en une réduction du chlorure ferrique en chlorure ferreux par les tocophérols et l'évaluation colorimétrique de Fe II par combinaison avec l' $\alpha$ -adipyridyle. Cette méthode a l'inconvénient de doser non seulement les tocophérols mais tous les corps réducteurs qui peuvent se trouver dans la solution. Nous avons, en effet, trouvé des résultats trop élevés par cette méthode. De plus, elle ne permet pas de doser séparément les différents tocophérols. Ces derniers ayant des propriétés antioxydantes différentes suivant le tocophérol examiné, nous avons cherché une méthode susceptible de les différencier.

Nous avons finalement adopté à peu de choses

près la méthode préconisée par le « Vitamine E Panel Society » (8). Cette technique utilise, après passage sur floridine, une chromatographie sur papier à deux dimensions qui sépare les tocophérols des dernières impuretés réductrices et permet de les doser séparément.

L'étude de l'état d'altération du tourteau a été complétée par la détermination des indices classiques des huiles : Indice d'iode et de peroxyde, acidité, pourcentage d'acide linoléique, afin de suivre leurs variations simultanées avec les taux des tocophérols au cours du stockage.

Nous avons aussi déterminé le pourcentage des différents tocophérols dans des graines et tourteaux de coton, kapok et baobab, qui sont utilisés sur la côte ouest.

## DOSAGE

### I. — Extraction de l'huile.

L'huile qui servira au dosage des tocophérols est extraite des graines ou des tourteaux par l'éther éthylique exempt de peroxydes (8), au Kumagawa.

### II. — Saponification.

Une prise d'essai de 1 à 4 g d'huile suivant les échantillons est saponifiée par la potasse en présence de pyrogallol ou de para-acétylamino-phénol, au bain-marie bouillant dans un ballon placé sous réfrigérant à reflux.

### III. — Extraction.

Du mélange refroidi, on extrait l'insaponifiable par l'éther éthylique exempt de peroxydes.

Les extraits éthérés sont lavés à l'eau distillée jusqu'à neutralité à la phtaléine. Ces extraits sont évaporés à sec, sous vide, à l'extracteur rotatif.

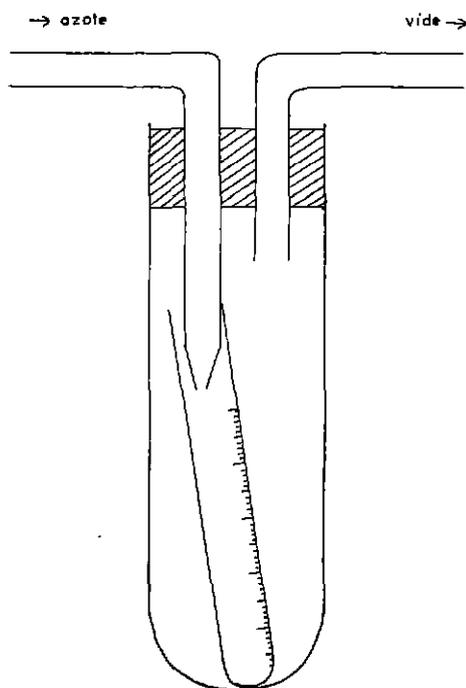
#### IV. — Elimination des stérols.

Le résidu est repris trois fois par le méthanol bouillant, et refroidi vers moins 10° C pour éliminer les stérols. Les extraits méthanoliques sont évaporés sous pression réduite. Le résidu est repris par 5 ml. d'éther de pétrole pur et sec, et passé sur colonne de floridine.

#### V. — Purification par passage sur colonne de floridine.

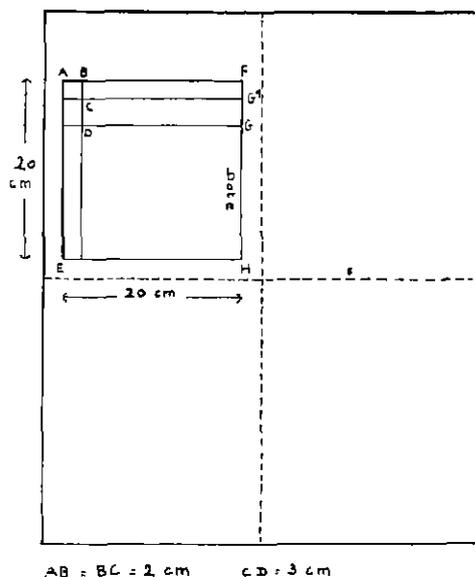
La floridine additionnée de chlorure stanneux et d'acide chlorhydrique est portée à ébullition puis versée dans la colonne, deshydratée par passage d'alcool absolu exempt de peroxydes et préparée pour l'usage en passant benzène pur et sec et éther de pétrole. Le résidu précédent dissous dans l'éther de pétrole est passé lentement sur la colonne. On développe ensuite à l'éther de pétrole qui est rejeté, puis on élue la colonne au benzène, lentement.

Le benzène évaporé sous pression réduite est repris par 5 ml de benzène, transféré dans un petit tube gradué et ramené à 0,5 ml par évaporation à la trompe à vide avec courant d'azote pur. On chauffe légèrement le tube dans un bain d'eau chaude pour faciliter l'opération.



#### VI. — Chromatographie sur papier à deux dimensions.

Le papier employé est le Whatman n° 1 ou n° 4. Les feuilles de papier doivent toujours être découpées et préparées de façon à ce qu'elles soient toujours employées dans le même sens lors des deux chromatographies.



Le papier est d'abord purifié par extraction continue à l'alcool méthylique puis imprégné de la solution de zinc-ammonium.

Chaque dosage nécessite trois papiers. Deux papiers reçoivent 10 à 50  $\mu$ l, avec une pipette spéciale, régulièrement répartis le long de la ligne CD, et un autre ne reçoit rien et servira à calculer les blancs.

Ces trois papiers sont traités simultanément de la même manière. Ce travail est effectué en prenant toutes les précautions nécessaires dans une pièce à l'abri de la lumière vive.

Les trois papiers sont suspendus dans la première cuve contenant du cyclohexane pur (3), le bord AE plongeant dans le liquide. La *Vitamine E Panel Society* préconise un mélange de 30 p. 100 de benzène dans le cyclohexane mais cela nous a donné une séparation moins bonne. Lorsque le solvant a parcouru 15 à 18 cm les feuilles sont retirées et mises à sécher dans une petite armoire fermée dans laquelle passe un courant d'azote. Le front du solvant doit être

à la même hauteur sur les trois feuilles utilisées pour le même dosage.

Les feuilles sont ensuite immergées dans une solution à 3 p. 100 d'huile de paraffine dans de l'éther de pétrole (ébullition de 60 à 80° C). On trempe le bord EH et le liquide doit monter jusqu'à 1/2 cm de la ligne DC. Les feuilles sont séchées sous courant d'azote puis mises dans la deuxième cuve contenant de l'éthanol dilué (75 parties d'éthanol + 25 parties d'eau). Le bord AF trempe dans le liquide. Lorsque l'éthanol est à 4 cm du sommet du papier, les feuilles sont retirées et séchées dans l'armoire sous courant d'azote.

#### VI. — Localisation des spots et dosage.

La *Vitamine E Panel Society* préconise d'ajouter à la solution de zinc ammonium de la fluorescéine sodique. Lorsqu'on examine le chromatogramme avec une lampe U. V., les tocophérols apparaissent comme une tache sombre sur un fond fluo-

rescent ; nous avons abandonné ce procédé car il ne nous a pas donné de résultats satisfaisants.

On pulvérise sur l'une des trois feuilles du dosage un mélange extemporané, en parties égales, des solutions de chlorure ferrique et dipyridyle, puis on la sèche sous courant d'azote. Les tocophérols apparaissent comme des taches rouges. Ces spots sont encerclés au crayon et découpés. Cette feuille découpée sert de calque, pour localiser, sur la feuille non imprégnée et sur la feuille destinée aux blancs, la position des tocophérols. Les spots marqués sont découpés et placés dans des tubes à essai. Ces manipulations sont faites en lumière atténuée.

Les tubes à essai sont additionnés de solution à 0,07 p. 100 d' $\alpha$ -dipyridyle dans l'éthanol absolu exempt de peroxyde et agités quelques secondes. On ajoute ensuite 0,5 ml de solution de chlorure ferrique, on agite et verse le liquide dans les cuves du spectrophotomètre. La lecture se fait à 520  $m\mu$ , deux minutes après addition du chlorure ferrique contre une cuve contenant de l'éthanol.

Tableau n° I  
Teneur en Tocopherol des graines et des tourteaux de  
COTON, KAPOK et BAOBAB

	T O C O P H E R O L S				Matière grasse % g de produit	Indice d'iode	Indice de peroxyde	Acidité en acide oleique	Acide linoléique % g d'huile.
	/g huile	/g huile	/g huile	/g huile					
Huile extraite de graines de COTON	236,46	294			26,14				
Huile extraite de tourteau de COTON	124,13	243			9,23				
Huile extraite de graines de KAPOK		85,5		27,18	22,61				
Huile extraite de tourteau de KAPOK		45		3,4	7,66				
Huile extraite de graines de BAOBAB fraîches		141		5	35,33				
Huile extraite de tourteau de BAOBAB		95,24		3,1	7,32				
Huile extraite de tourteau de BAOBAB séchées 1 an		55,5		12,5					
Huile extraite de grains de MAIS	215,6	729			3,98	111	384	9,87	43,41
Huile extraite de SON DE RIZ	490		518		16,51	102,61	96	53,01	26,55

Tableau n° II

Variations du taux des Tocophérols et des indices classiques au cours du stockage des tourteaux d'arachide

	T O C O P H E R O L S				Matière grasse % gr. de produit	Indice d'iode	Indice de peroxyde	Acidité en acide oléique	Acide linoléi- que % gr d'huile
	$\alpha$ Y/gr. huile	$\gamma$ Y/gr. huile	$\epsilon$ Y/gr. huile	$\delta$ Y/gr. huile					
Huile extraite d'arachides fraîches 3 mois	192,32	65,24			45,5	99,4	145,6		32,7
Huile extraite d'arachides conservées à TANANARIVE depuis plus de 6 mois	79,62	48,36							
Huile extraite de tourteau d'arachide frais fait à TANANARIVE.	92,22	45			8,68	84,66	320	4%	20,69
Huile extraite de tourteau d'arachide fait à TULEAR 1 an	22,86	9			7,70	88	352	41,5	21,88
Huile extraite de tourteau d'arachide Desforges ANTSIRABE 2 ans	14,94	2,47			11,8	63,5	192	66,27	9,45
Huile extraite de tourteau d'arachide vieux ANTSIRABE 2 ans	28,58				12,8	50,80	70	87,4	14,12
Huile extraite de tourteau d'arachide TANANARIVE passé une fois à la presse 1 an (a)	13,06				17,35	67,73	768	33,84	16,33
Huile extraite de tourteau d'arachide TANANARIVE passé deux fois à la presse 2 ans (b)	10,88				7,09	84,66	544	54,7	20,81

Tableau n° III

Baisse de la teneur des tourteaux d'arachide en Tocopherol au cours de leur stockage.

	T O C O P H E R O L		T O C O P H E R O L	
	Perte par rapport à l'huile extraite du tourteau d'ara- chide frais.(p.100)	Perte par rapport à l'huile extraite des arachides frai- ches (p.100)	Perte par rapport à l'huile extraite du tourteau d'ara- chide frais (p.100)	Perte par rapport à l'huile extraite des arachides frai- ches (p.100)
Huile extraite d'arachides con- servées à TANANARIVE depuis plus de 6 mois		53		26
Huile extraite de tourteau d'a- rachide frais fait à TANANARIVE		52		31
Huile extraite de tourteau d'a- rachide fait à TULEAR 1 an	76	88	80	86
Huile extraite de tourteau d'a- rachide Desforges ANTSIRABE 2 ans	84	92	95	96,2
Huile extraite de tourteau d'a- rachide ANTSIRABE 2 ans	70	85	100	100
Huile extraite de tourteau d'a- rachide TANANARIVE passé une fois à la presse 1 an (a)	86	93	100	100
Huile extraite de tourteau d'a- rachide TANANARIVE passé 2 fois à la presse 2 ans (b)	90	94	100	100

Les valeurs des blancs sont retranchées de celles trouvées pour les différents tocophérols.

Les différents tocophérols ont été identifiés grâce à la position de leurs spots et aux différentes couleurs qu'ils ont données avec l'O. diacidine diazotée (4).

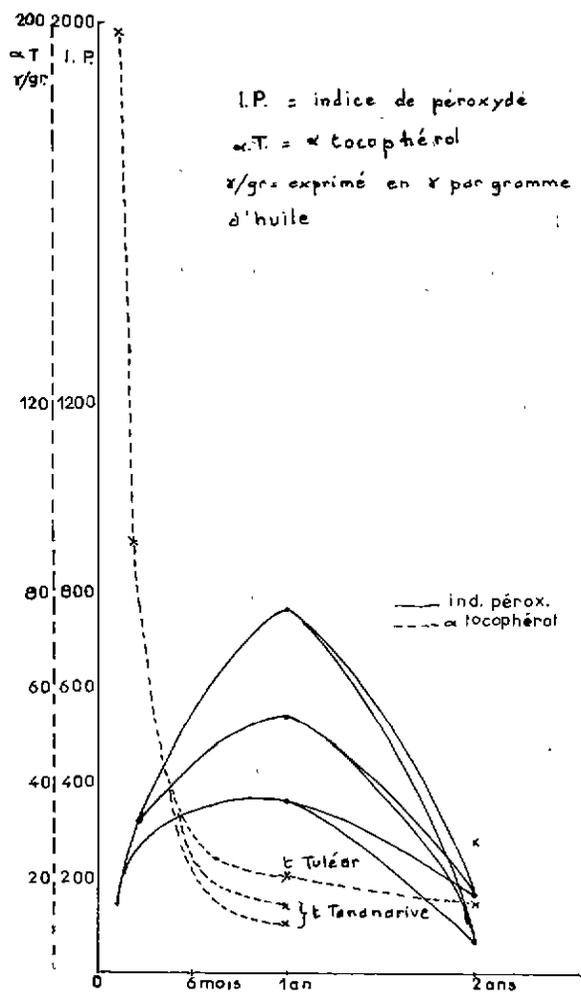
Dans l'huile extraite des tourteaux qui ont été portés, à peu près, à 100° lors de l'extraction de l'huile, on voit que les taux de  $\gamma$  et surtout d' $\alpha$  tocophérols ont diminué sensiblement par rapport à l'huile extraite des graines fraîches. Une baisse de même valeur se produit dans les graines conservées sans précautions depuis plus de six mois.

C'est le début de l'oxydation, les tocophérols tout en se détruisant empêchent la formation des peroxydes, leur taux est, en effet, bas et l'indice d'iode a légèrement baissé. A ce moment, l'acidité est pratiquement nulle.

Pour un tourteau conservé un an à Tuléar sous un climat chaud et sec, on constate une baisse à peu près semblable sur l' $\alpha$  et le  $\gamma$  tocophérol. L'oxydation s'est poursuivie. Les tocophérols ne peuvent plus empêcher la formation de peroxydes, et ceux-ci en se formant détruisent les tocophérols. D'autre part, les ferments et les oxydations ont commencé à libérer des acides gras. L'acidité a augmenté, en effet, sensiblement et a provoqué la destruction des peroxydes qui n'ont pas pu atteindre un taux très élevé. De ce fait, les tocophérols ne sont pas tous détruits et l'indice d'iode n'a que très légèrement baissé.

Pour des tourteaux conservés un an à Tananarive où le climat est moins chaud qu'à Tuléar, mais plus humide, l'oxydation a été plus importante. Les peroxydes ont augmenté, et en augmentant ont détruit les tocophérols, surtout le  $\gamma$  qui a disparu. L'hydrolyse enzymatique et l'auto-oxydation des acides gras n'ont pas été aussi rapides qu'à Tuléar, pour former des acides gras libres. Le tourteau (a) notamment a une acidité moindre que celle de Tuléar, aussi les peroxydes ont-ils beaucoup augmenté, l'indice d'iode a, en effet, sensiblement baissé, et ils ont détruit une grosse partie des tocophérols.

Pour le tourteau (b), les ferments et les oxydations ont été plus actifs, l'acidité est plus forte que celle de Tuléar, et elle a, en détruisant les peroxydes, ralenti leur formation. Ceux-ci sont en quantité plus faible que dans le tourteau (a) et l'indice d'iode est plus élevé.



Variation simultanée de l' $\alpha$  tocophérol et de l'indice de peroxyde au cours du stockage des tourteaux d'arachides.

Chez les tourteaux conservés à Antsirabé où le climat est moins chaud qu'à Tananarive et un peu plus humide, l'oxydation a été plus lente. Au bout de deux ans les tocophérols ont été moins touchés que ceux de Tananarive. L'acidité a beaucoup augmenté et les acides ont détruit les peroxydes dont le taux est redescendu très bas. L'indice d'iode a sensiblement diminué.

Il semble que l'acidité du milieu en détruisant les peroxydes à mesure de leur formation ait protégé les tocophérols de la destruction.

L'huile extraite des graines de coton contient davantage d' $\alpha$  tocophérol et beaucoup plus de  $\gamma$  que celle extraite des arachides.

Ici aussi on constate une diminution du taux des tocophérols dans l'huile extraite des tour-

Tableau n° IV

Teneur en Tocopherol de différents tourteaux par rapport à celle de l'huile extraite des graines (p.100)

	Tocopherol	Tocopherol	Tocopherol
COTON	47,5	17,5	
KAPOK		47,5	87,5
BAOBAB		32,5	38

teaux frais par rapport à l'huile extraite des graines. Cette perte est plus importante pour l'α que pour le γ tocophérol.

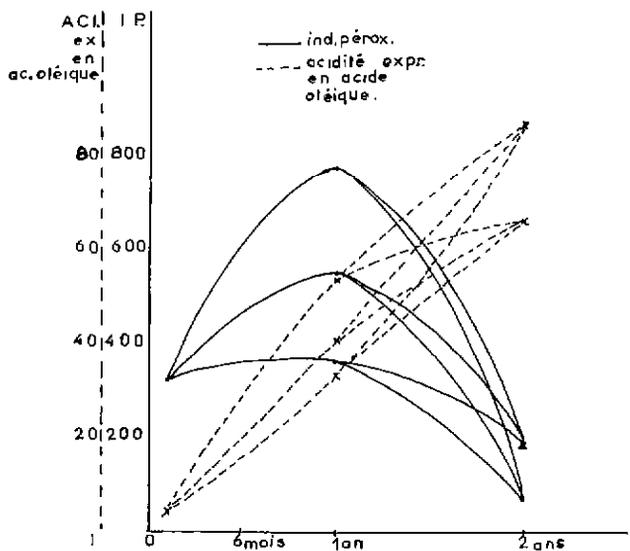
Pour le baobab et le kapok, on constate également un taux de tocophérol plus faible dans les tourteaux que dans les graines. L'huile des graines et tourteaux de baobab et de kapok ne contient pas d'α tocophérol mais une bonne quantité de γ et un peu de δ. L'huile extraite des tourteaux de kapok et baobab subit par rapport à l'huile extraite de la graine, une perte plus importante pour le δ que pour le γ.

### CONCLUSION

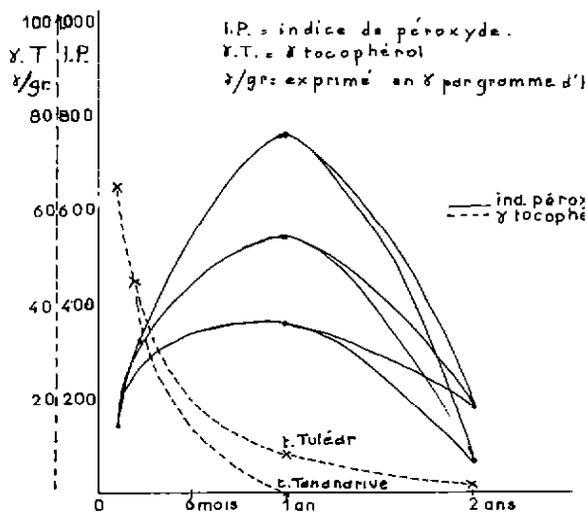
Lors du stockage des tourteaux le taux des tocophérols diminue. Cette baisse est plus ou moins rapide suivant les conditions climatiques.

Au début du stockage, l'α tocophérol diminue de façon plus importante que le γ, puis après une baisse à peu près parallèle, le γ décroît plus rapidement que l'α avant de disparaître.

Laboratoire Central de l'Elevage  
« Joseph Carougeau » Tananarive  
(Service de Biochimie).



Variation simultanée de l'indice de peroxyde et de l'acidité au cours du stockage des tourteaux d'arachides



Variation simultanée du γ tocophérol et de l'indice de peroxyde au cours du stockage des tourteaux d'arachide

### SUMMARY

The study of tocopherols contents in certain foodstuffs used in Madagascar and its variation during storage

During the storage of food-stuffs the percentage of tocopherols decreases. The rapidity of their decrease varies according to climatic conditions.

At the beginning of the storage the α tocopherol content decreases more rapidly than the γ ; then, after a drop which is more or less parallel, the γ content decreases faster than α and finally disappears.

## RESUMEN

### Estudio del porcentaje en tocoferoles de ciertas tortas residuales utilizadas en Madagascar y su variación durante el transcurso de su almacenamiento

Al proceder al almacenamiento de los tortas residuales, el porcentaje de los tocoferoles disminuye. Esta reducción es más o menos rápida, según las condiciones climáticas.

Al principio del almacenamiento, el  $\alpha$  tocoferol disminuye de formas más importante que el  $\gamma$ , acto seguido, y después de una reducción poco más o menos paralela, el  $\gamma$  disminuye más rápidamente que el  $\alpha$  antes de desaparecer.

## BIBLIOGRAPHIE

1. EGGIT (P. W. R.) et WARD (L. D.). — *J. Sci. Food Agric.* 1953, **4** : 569.
2. EGGIT (P. W. R.) et WARD (L. D.). — *J. Sci. Food Agric.* 1953, **4** : 176.
3. GREEN (J.), MARCINKIEWICZ (S.) and WATT (P. R.). — *J. Sci. food Agric.* 1955, **6** : 274.
4. GREEN (J.). — *J. Sci. Food Agric.* 1958, **9** : 801.
5. HOVE (E. L.) and HOVE (Z.). — *J. Biol. Chem.* 1944, **156** : 601.
6. QUAIFFE (M. L.) and HARRIS (P. L.). — *Anal. Chem.* 1948, **20** : 1221.
7. SWOCK (R. W.) and BAUMANG (C. A.). — *Anal. Chem.*, 1951, **10** : 758.
8. VITAMINE E PANEL SOCIETY. — *Analytical Method Committee Analyst* 1959, **6** : 356 (Vol. 84).