

LES LIPIDES DE LA POMME

par **P. MAZLIAK** et **Josette POMMIER-MIARD**

Laboratoire de Biologie Végétale, Station du Froid du C. N. R. S., Bellevue.

Depuis plusieurs années, l'étude des lipides des fruits est poursuivie au Laboratoire de Biologie végétale de la Station du Froid du C. N. R. S. — L'article ci-dessous rassemble l'essentiel des résultats originaux obtenus dans ce domaine à Bellevue.

Fruit typique des régions tempérées du globe, la pomme est très pauvre en lipides.

ULRICH signale, par exemple, que 100 g de pulpe fraîche ne contiennent que 300 mg de graisses.

SMOCK et NEUBERT donnent un chiffre identique (0,3 à 0,4 p. cent) pour plusieurs variétés américaines.

Le développement récent des microméthodes d'analyse, et tout particulièrement l'essor de la chromatographie en phase gazeuse, nous ont cependant permis d'étudier les corps gras synthétisés par ce fruit. Nous avons ainsi constaté que les constituants lipidiques des pommes présentent une grande variété de types moléculaires.

I. COMPOSITION LIPIDIQUE DES DIFFÉRENTES RÉGIONS DE LA POMME

Pour cette étude nous pouvons distinguer trois régions dans le fruit :

1° *l'épiderme* (surmonté de la membrane cuticulaire) ;

2° *la pulpe* (comprenant tout le parenchyme du péricarpe, depuis les bords des loges carpellaires jusqu'aux assises cellulaires sous-épidermiques) ;

3° *les pépins* (c'est-à-dire les graines contenues dans les loges carpellaires du fruit mûr).

Les lipides sont différents dans chacune de ces régions.

a) Les lipides épidermiques.

La membrane cuticulaire des pommes est très riche en lipides. Deux catégories de corps gras s'accumulent dans cette membrane : ce sont les *cires* et la *cutine*.

On peut trouver sur une pomme Calville mûre, de surface totale 100 cm² en moyenne, 1,5 mg de cires et 4 à 5 mg de cutine par cm² d'épiderme.

Les cires comprennent deux grands groupes de constituants :

1° *les composés aliphatiques* (facilement extraits par l'éther de pétrole) qui forment les cires proprement dites ;

2° *les composés triterpénoïdes*, polycycliques, extraits par les solvants plus polaires (éther sulfurique, alcool ...), dont le type moléculaire le plus abondant est représenté par *l'acide ursolique* (fig. 1).

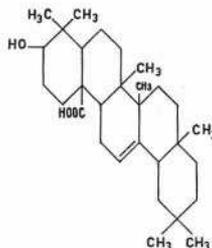


FIG. 1. — Formule développée de l'acide ursolique.

Les cires aliphatiques peuvent être divisées en deux fractions par recristallisation à 0° C, dans l'acétone : ce sont la *cire solide*, blanche fondant vers + 64° C, et la *cire molle* ou *cire liquide* fondant vers + 40° C, très riche en corps insaturés (l'indice d'iode de cette fraction oscille entre 90 et 140). Chacune de ces fractions brutes peut être scindée par saponification puis chromatographie d'adsorption (sur alumine, acide silicique,

TABLEAU I.
Principaux constituants des cires de pomme.

| | CIRES SOLIDES | CIRES LIQUIDES |
|-----------------------------|---|--|
| Paraffines. | C ²⁷ C ²⁹ C ³¹ C ³³ | C ¹⁵ C ¹⁶ C ¹⁷ C ¹⁸ C ¹⁹ C ²⁰ C ²¹ C ²² C ²³ C ²⁴ C ²⁵ C ²⁶ C ²⁷ C ²⁸ C ²⁹ |
| Acides saturés. | C ¹⁶ C ¹⁸ C ²⁰ C ²² C ²⁴ C ²⁶ C ²⁸ C ³⁰ | C ¹⁰ C ¹² C ¹⁴ C ¹⁶ C ¹⁸ C ²⁰ C ²² C ²⁴ |
| Acides insaturés | acide oléique acide linoléique | acide palmitoléique acide oléique acide linoléique acide linoléique |
| Alcools primaires. | C ²⁰ C ²² C ²⁴ C ²⁶ C ²⁸ C ³⁰ C ³² | C ¹⁶ C ¹⁸ C ²⁰ C ²² C ²⁴ C ²⁶ C ²⁸ C ³⁰ |
| Alcool secondaire | d-n-nonacosane-10-ol | |
| Diols. | C ²² C ²³ C ²⁴ C ²⁵ C ²⁶ C ²⁷ C ²⁸ C ²⁹ C ³⁰ | |
| Hydroxyacides | C ¹⁴ C ¹⁵ C ¹⁶ C ¹⁷ C ¹⁸ C ¹⁹ C ²⁰ C ²¹ C ²² C ²³ | |

Le nombre en exposant de la lettre C indique le nombre d'atomes de carbone présents dans la molécule du constituant.

TABLEAU 2.
Acides gras identifiés dans la pulpe et les pépins des pommes Golden Delicious.

| ACIDES | NOMBRE D'ATOMES DE CARBONE | NOMBRE DE DOUBLES LIAISONS | p. cent DANS LA PULPE (fruit mûr) | p. cent DANS LES PÉPINS (fruit mûr) |
|-------------------------|----------------------------------|----------------------------------|--------------------------------------|--|
| butyrique. | 4 | 0 | traces | traces |
| caprylique. | 8 | 0 | traces | traces |
| pélarгонique. | 9 | 0 | traces | |
| caprique. | 10 | 0 | traces | traces |
| laurique. | 12 | 0 | 0,6 | traces |
| myristique | 14 | 0 | 0,9 | traces |
| palmitique | 16 | 0 | 30 | 8,5 |
| palmitoléique | 16 | 1 | 0,5 | 0,5 |
| stéarique. | 18 | 0 | 6,4 | traces |
| oléique. | 18 | 1 | 18,5 | 31 |
| linoléique | 18 | 2 | 42,5 | 59 |
| linoléique | 18 | 3 | 1,0 | 0,5 |
| arachidique. | 20 | 0 | — | 0,5 |
| béhenique. | 22 | 0 | — | traces |
| lignocérique. | 24 | 0 | — | traces |

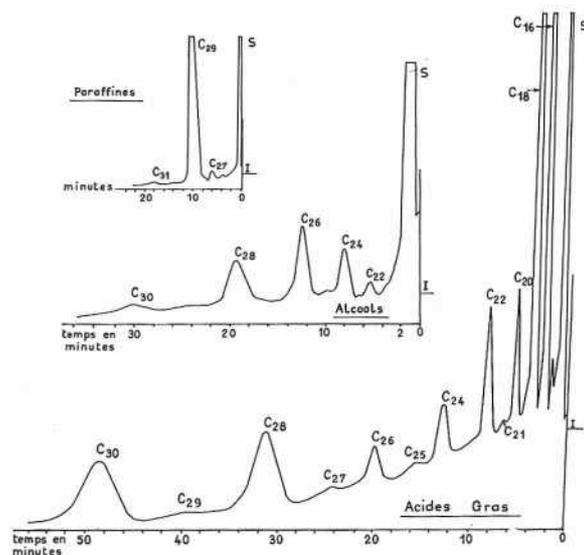


FIG. 2. — Chromatogrammes de quelques fractions de constituants des cires solides des pommes.

etc.) en différents groupes de constituants : *acides gras, alcools, paraffines, diols, hydroxyacides...* Ces séries de constituants homologues peuvent à leur tour être étudiées par chromatographie en phase gazeuse (fig. 2) : une cinquantaine de corps ont ainsi été décelés dans les cires de pomme (tableau 1). Tous les constituants énumérés dans le tableau 1 ont été retrouvés dans les cires des deux variétés analysées complètement à cet égard : *Calville blanc, Styaman Winesap* ; tous les acides gras ont été retrouvés dans les cires d'autres variétés examinées plus sommairement : *Granny Smith, Golden Delicious, Ontario*, etc. La présence des acides gras insaturés identifiés par chromatographie (acides *oléique, linoléique* et *linolénique* notamment) est confirmée par l'examen des spectres d'absorption des cires en lumière ultraviolette, après isomérisation alcaline des acides gras (fig. 3), selon la méthode de MITCHELL, KRAYBILL et col.

On ne sait encore rien des *cérides* (mono-esters d'acides gras et d'alcools primaires) constitutifs des cires aliphatiques : il s'agit de corps très lourds, pouvant renfermer 60 atomes de carbone et l'on ne dispose pas actuellement de méthodes permettant la manipulation facile de tels composés.

On sait également fort peu de chose de la *cutine* des pommes. La saponification de cette substance libère des *hydroxyacides* saturés et insaturés comme le montre le spectre infrarouge des produits obtenus (fig. 4). Les hydroxyacides sont naturellement inter-estérifiés dans la membrane formant une matière polymérisée présentant une très grande résistance à

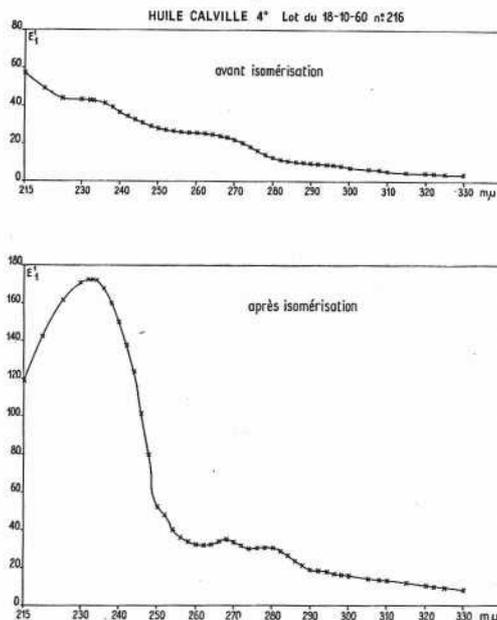


FIG. 3. — Examen spectrophotométrique de la cire liquide des pommes *Calville blanc*. En haut : avant isomérisation. En bas : après isomérisation alcaline. On note l'apparition d'un pic d'absorption très important à 233 mμ (pic de l'acide *linoléique*) et d'un second pic, plus faible à 268 mμ, encadré de minimum à 264 et 272 mμ (pic de l'acide *linolénique*).

l'attaque des agents chimiques ou microbiens ; la structure moléculaire de la cutine est comparable à celle de certains vernis.

b) Les lipides de la pulpe.

Cette région est particulièrement pauvre en lipides (et riche en eau) : dans les pommes *Golden mûres*, on ne trouve que 50 mg de graisses pour 100 g de pulpe.

Après dessiccation de la pulpe par broyage avec du sulfate de sodium, l'extraction à l'éther de pétrole fournit une faible quantité de lipides que l'on peut saponifier. On obtient ainsi une série d'acides gras facilement analysés par chromatographie en phase gazeuse (fig. 5). Les acides trouvés sont énumérés dans le tableau 2. La même composition lipidique a été trouvée pour la pulpe des deux variétés *Calville Blanc* et *Golden Delicious*. Les acides identifiés sont ceux entrant habituellement dans la composition des glycérides ou des phosphatides végétaux. On note l'abondance relative de l'acide *palmitique* dans la pulpe.

c) Les lipides des pépins.

Les graines de pomme sont très riches en lipides : dans le fruit mûr, les matières grasses représentent

TABLEAU 3.

Gradients de composition lipidique dans le fruit mûr.
(Les pourcentages sont donnés par rapport aux acides gras totaux.)

| | p. cent DANS LES CIRES TOTALES | p. cent DANS LA PULPE | p. cent DANS LES PÉPINS |
|----------------------------------|-----------------------------------|-----------------------|-------------------------|
| Acides saturés totaux. | 51,7 | 37,5 | 9 |
| Acides insaturés totaux. | 48,3 | 62,5 | 91 |
| Acide palmitique. | 15,3 | 30 | 8,5 |
| Acide stéarique | 7,2 | 6,4 | traces |
| Acide lignocérique | 2,7 | — | traces |
| Acide mélistique | 7,2 | — | — |
| Acide oléique | 24,2 | 18,5 | 31 |
| Acide linoléique. | 24,1 | 42,5 | 59 |

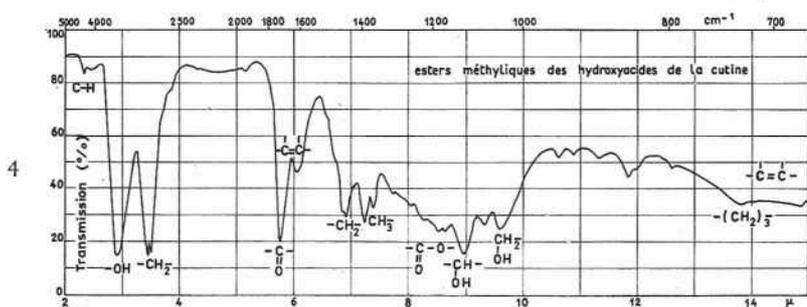


FIG. 4. (ci-contre) — Spectre infrarouge des esters méthyliques des acides gras de la cutine.

FIG. 5. (en bas, à gauche) — Chromatogramme des acides gras de la pulpe (les formules abrégées suivantes sont utilisées :

- C₁₆ Δ⁹⁻¹⁰ : acide palmitoléique
- C₁₈ Δ⁹⁻¹⁰ : acide oléique
- C₁₈ Δ^{9-10, 12, 13} : acide linoléique
- C₁₈ Δ^{9-10, 12-13, 15-16} : acide linoléique).

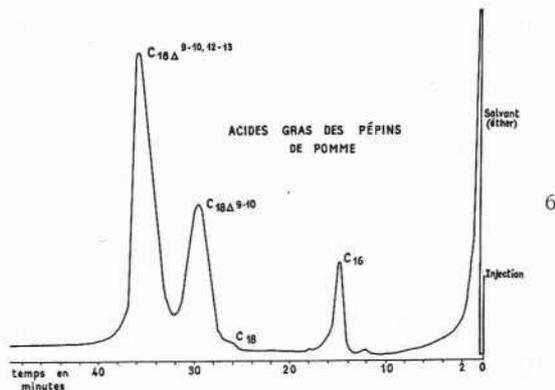
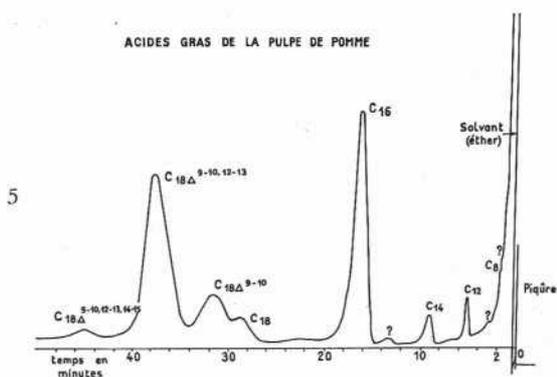
FIG. 6. (en bas, à droite) — Chromatogramme des acides gras des pépins.

jusqu'à 15 p. cent du poids frais et 25 p. cent du poids sec. Les acides gras des glycérides de réserve peuvent être étudiés par chromatographie en phase gazeuse (fig. 6); les résultats obtenus sur les pépins de la variété *Golden Delicious* sont consignés dans le tableau 2.

On remarque la très grande richesse en acides gras

insaturés (mono et di-éthyléniques) des lipides des graines.

Il existe donc deux gradients inverses dans la composition lipidique des différentes régions du fruit (tableau 3). Au cœur de l'organe, dans les graines, s'accroissent les *acides insaturés*. En allant vers l'exté-



rieur de l'organe on trouve que la proportion d'*acides saturés* (*acide palmitique* essentiellement) augmente notablement, dans les lipides du péricarpe. A la surface du fruit, dans les cires cuticulaires totales, la pro-

portion des acides gras saturés dépasse largement celle des acides insaturés. Cette variété de composition traduit l'existence de métabolismes lipidiques différents dans les diverses régions.

II. MÉTABOLISME LIPIDIQUE DES DIFFÉRENTES RÉGIONS DE LA POMME

Nous présenterons brièvement quelques-uns des résultats acquis au cours de ces dernières années dans l'étude de ce métabolisme. Les recherches expérimentales, dans ce domaine, s'efforcent de préciser les voies de biosynthèse et de dégradation des différents lipides, et de suivre les variations quantitatives et qualitatives de ces derniers au cours de la vie des fruits ; on s'efforce aussi de mesurer les changements provoqués dans les fractions lipidiques en modifiant les facteurs du milieu environnant les fruits (température, humidité, agitation de l'air, etc...) aux divers stades du développement ou de la conservation en entrepôts.

a) Métabolisme lipidique des tissus superficiels.

Les précurseurs des lipides cuticulaires (cires et cutine) sont synthétisés par l'épiderme et les assises cellulaires superficielles du parenchyme cortical : ils sont ensuite excrétés dans la membrane où ils se condensent, s'oxydent et se polymérisent.

Lorsqu'on fournit de l'*acétate marqué* par l'isotope radioactif $^{14}\text{C}^*$ à des pelures de pommes mûres, on peut recueillir, après 48 heures par exemple, des cires et de la cutine marquées. Tous les constituants ne sont pas également radioactifs : ce sont les *acides gras* (saturés et surtout insaturés) qui présentent la plus forte activité spécifique (fig. 7) ; puis les *alcools gras* présentent une activité deux fois moindre ; les *diols* et les *hydroxyacides* sont faiblement marqués. D'une manière générale, on constate, notamment après des temps d'expérience plus courts, que les corps gras à courte chaîne moléculaire sont beaucoup plus radio-

actifs que les corps à longue chaîne, ce qui suggère un allongement progressif des molécules aliphatiques par condensation de maillons en C_2 . Les expériences entreprises pour découvrir les voies de biosynthèse des différents constituants des cires ont permis de proposer un premier schéma (fig. 8). Les *acides gras*, saturés et insaturés, se formeraient selon deux mécanismes différents, par soudure bout à bout de fragments acétiques ; les *alcools gras* dériveraient des homologues acides par réduction ; les *hydroxyacides* constitutifs de la cutine, dériveraient des acides correspondants par oxydation. Les corps triterpénoïdes comme l'*acide ursolique* seraient construits à partir de l'acétate par condensation isoprénique. Les *paraffines*, par contre, ne sont pas marquées lorsqu'on fournit aux pelures de pommes mûres de l'acétate radioactif (fig. 7) ; ces constituants importants des cires (ils forment 40 % de la masse des cires solides) semblent donc résulter d'un métabolisme intermédiaire indépendant de celui des acides gras.

Les cires sont synthétisées dès les plus jeunes stades de la formation du fruit. La quantité totale de cires par fruit, augmente au cours de la croissance (fig. 9), selon une courbe en S ; si l'on suit les variations de la quantité par unité de surface (en mg/cm^2) de chacun des deux types de cire (solide et liquide) au cours de la vie du fruit, on constate (fig. 10) que la quantité superficielle de *cire liquide* (formée des chaînes moléculaires les plus courtes et les plus insaturées) reste constante pendant toute la croissance, puis croît au cours de la

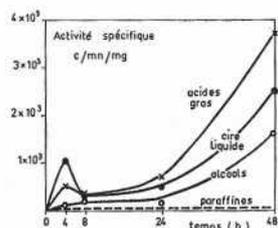
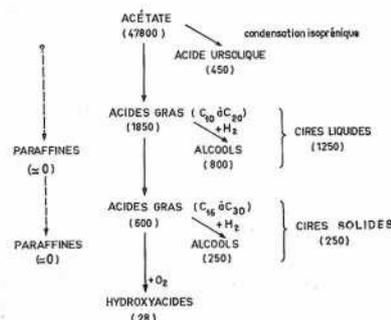


FIG. 7 (à gauche). — Biosynthèse des constituants des cires liquides à partir d'acétate — ^{14}C : évolution des taux de marquage de 0 à 48 h. On notera que les paraffines n'acquièrent jamais une activité spécifique significative.

FIG. 8 (à droite). — Schéma proposé pour la biosynthèse des constituants des cires.

(Les nombres entre parenthèses sont les activités spécifiques acquises par les différents constituants après un séjour des pelures au-dessus d'une solution d'acétate — ^{14}C pendant 48 h.)



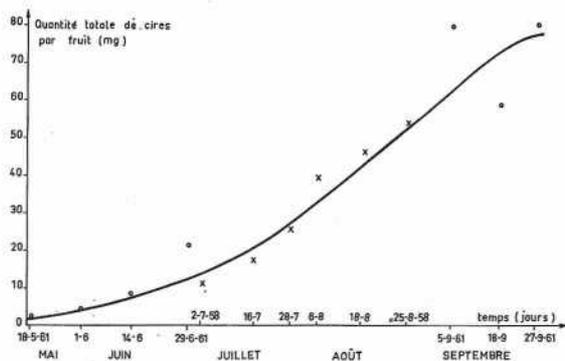


FIG. 9. (à gauche) — Évolution de la quantité totale de cire (par fruit) au cours de la croissance.

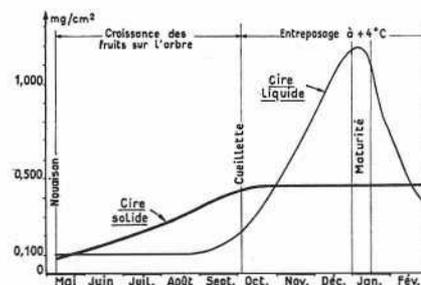


FIG. 10. (ci-dessus) — Évolution comparée des quantités (par unité de surface) de cire solide et de cire liquide au cours de la vie du fruit.

maturation pour atteindre un maximum à l'époque de la crise respiratoire ; la sénescence est marquée par une chute brutale de la quantité superficielle de cire liquide.

Cette chute pose le problème de la dégradation des cires. Ce phénomène se produit plus intensément à température élevée (+ 15° C par exemple) qu'aux basses températures de conservation des pommes (+ 4° C par exemple). On a actuellement quelques raisons de penser qu'une partie des constituants des cires liquides s'oxydent en fin de maturation puis durant la sénescence pour se scinder finalement en fragments volatils. L'analyse des produits volatils des pommes (également par chromatographie en phase

gazeuse)¹, révèle en effet, parmi ces corps, un grand nombre d'acides gras courts, d'aldéhydes ou d'alcools, qui pourraient très bien se former selon le mécanisme proposé.

b) Métabolisme lipidique de la pulpe des pommes.

Le très faible contenu en lipides de cette région rend difficile les études systématiques. Cependant si l'on fournit à des rondelles² de pulpe de pomme mûre, maintenues en survie, dans des conditions stériles, de l'acétate —I—¹⁴C, on constate une incorporation très rapide (et importante) de carbone radioactif dans la fraction des acides gras de la pulpe. La synthèse de

TABLEAU 4.

Activités spécifiques de divers acides gras dans la pelure et les pépins de pomme, après 48 h de séjour des fragments d'organes au contact d'une solution d'acétate —I—¹⁴C.

| ACIDES | PELURE | | PÉPINS | |
|------------------|-------------------------|---|--|-------------------------|
| | activité spécifique (3) | p. cent radio-activité totale des acides gras | p. cent radioactivité totale des acides gras | activité spécifique (3) |
| palmitique | 875 | 13 | 24,7 | 60 |
| oléique | 1 380 | 41 | 6,5 | 5,5 |
| linoléique | 1 380 | 37 | 4,6 | 4,6 |

(1) De nombreuses analyses des produits volatils des pommes sont actuellement réalisées, à Bellevue, par M^{lle} PAILLARD.

(2) Les expériences de ce type ont été réalisées par M^{lle} PONCET, à Bellevue, sous la direction du professeur ULRICH.

(3) Pour la pelure, les activités spécifiques sont mesurées au compteur de Geiger et exprimées en coups/mn/mg. Pour les pépins, les activités sont comptées en scintillation solide (sur anthracène) et exprimées en coups/mn/cm² de surface de chromatogramme.

ces acides, par condensation acétique, peut donc bien se réaliser dans cette région.

Au cours de la maturation de pommes *Golden Delicious* à + 15° C, on constate un léger accroissement de la teneur en acides gras totaux jusqu'à l'époque de la crise climactérique. A 0° C une augmentation beaucoup plus nette mais très ralentie peut être observée ; l'accumulation des lipides se poursuit longtemps à basse température.

Ce sont essentiellement les acides gras insaturés (notamment l'acide linoléique) qui s'accumulent dans la pulpe au cours de la maturation ; ce phénomène est particulièrement net pour les fruits conservés au froid (0° C) (fig. 11).

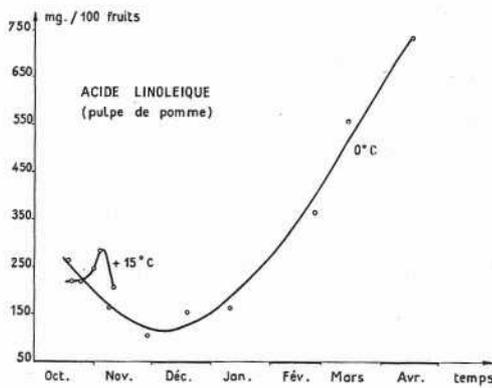


FIG. 11. — Enrichissement de la pulpe en acide linoléique, au cours de la maturation à + 0° C des pommes Golden.

c) Métabolisme lipidique des pépins de pommes.

On ne sait encore que peu de chose du métabolisme intermédiaire des glycérides de réserve des graines de pomme. Dans ces organes également la biosynthèse des acides gras se réalise à partir de fragments acétiques. Si l'on incube des tranches de pépin de pomme (taillées à la lame de rasoir) dans un milieu de HELLER glucosé contenant de l'acétate —I—¹⁴C, on peut ensuite par chromatographie, isoler des acides gras marqués.

Il est intéressant de remarquer qu'à l'époque de la maturité, les biosynthèses ne se déroulent pas de la même façon dans le péricarpe (région épidermique) et dans les graines. Le tableau 4 donne en effet les activités spécifiques de divers acides gras présents dans les deux régions et synthétisés après 48 h de séjour d'un fragment d'organe au contact d'une solution contenant de l'acétate —I—¹⁴C.

On constate que dans la pelure de fruit mûr, ce sont les acides insaturés (oléique et linoléique) qui incorporent le plus intensément l'acétate ; dans les pépins de fruit mûr, c'est au contraire l'acide palmitique (saturé) qui est le plus activement synthétisé.

La maturation des pommes *Golden Delicious* à + 15° C comme à 0° C s'accompagne d'une légère augmentation de la quantité de lipides contenue dans les pépins. Il semble que l'évolution soit quelque peu différente pour les fruits mûrissant à 15° C ou à plus basse température.

CONCLUSIONS

Il y a seulement dix ans, on ignorait pratiquement tout de la composition lipidique des pommes. Aujourd'hui sont bien connus tous les acides gras entrant dans la composition du fruit ; certaines fractions, comme les cires, ont fait l'objet de travaux plus poussés et la composition chimique en est presque entièrement connue.

Les analyses chimiques effectuées ont permis d'aborder l'étude du métabolisme lipidique des différentes régions du fruit. Les premières découvertes dans ce domaine apportent une contribution originale à la physiologie des organes isolés : le métabolisme différent du péricarpe ou des graines n'est peut être pas sans rapport avec les conditions diverses d'aération, de nutrition (en eau, en matières organiques ou minérales) des différentes parties du fruit. Il faut enfin signaler que l'apparition de certaines maladies de l'entreposage des pommes — échaudure par exemple — s'accompagne d'une perturbation du métabolisme lipidique de certaines régions du fruit, ce qui vient encore soutenir l'intérêt de ces recherches.

BIBLIOGRAPHIE

Nous n'indiquerons ci-dessous que quelques ouvrages de référence ou articles généraux. Le lecteur pourra y trouver toutes les informations complémentaires sur les techniques d'analyse, les conditions expérimentales, etc.

MAZLIAK P. — *La cire cuticulaire des pommes (Pirus Malus L.). (Étude morphologique, biochimique et physiologique)*. Thèse Fac. Sci. Paris (1963), Lesot éd. (sous presse).

MITCHELL J. H., KRAYBILL H. R., ZCHEILE F. P. — Quantitative spectral analysis of fats. *Ind. Eng. Chem. Anal. Ed.*, 15, p. 1-3 (1943).

PAQUOT C., MERCIER J., LEFORT D., MATHIEU A., PERRON R. — *Les méthodes analytiques des lipides simples*, Éditions du C. N. R. S., 281 p. (1962).

POMMIER-MIARD J. — *Évolution des lipides de la pomme (cuticule exclue) au cours de la croissance et de la maturation à 15° C et à 0° C*. Mémoire de Diplôme de Sciences Naturelles, Paris, 69 p. (1962).

SMOCK R. M. and NEUBERT A. M. — *Apples and apple products*, Interscience Publishers, New York, 486 p. (1950).

ULRICH R. — *La vie des fruits*, Masson éd., Paris, 369 p. (1952).