



# Composition en acides gras et en stérols d'algues rouges de l'Océan Indien

Océan Indien  
Algues rouges  
Acides gras  
Stérols

Indian Ocean  
Red algae  
Fatty acids  
Sterols

A. COMBRES <sup>a</sup>, J.-P. BIANCHINI <sup>b</sup>, E. M. GAYDOU <sup>c,\*</sup>

<sup>a</sup> Établissement d'Enseignement Supérieur Polytechnique, BP 1500, Antananarivo 101, République Démocratique de Madagascar.

<sup>b</sup> Établissement d'Enseignement Supérieur des Sciences agronomiques, BP 175, Antananarivo 101, République Démocratique de Madagascar.

<sup>c</sup> Laboratoire de Phytochimie, École Supérieure de Chimie de Marseille, rue H.-Poincaré, 13397 Marseille Cedex 13.

\* Personne à qui toute correspondance sera adressée.

Reçu le 18/9/84, révisé le 17/10/85, accepté le 21/1/86.

## RÉSUMÉ

Cinq espèces d'algues rouges (*Carpopeltis formosana*, *Phacelocarpus tristichus*, *Plocamium nobile*, *Gracilaria crassa*, *Galaxaura rigida*) ont été récoltées dans l'Océan Indien (côte sud de l'île de Madagascar). L'étude de la composition en acide gras révèle la présence majoritaire de l'acide palmitique dans toutes les espèces (51-69%). L'acide myristique a été détecté à des concentrations de 10 à 20% dans *P. nobile*, *G. crassa* et *G. rigida*. Le cholestérol est prépondérant dans la fraction stérolique des espèces étudiées (40-82%).

Une teneur élevée en cholestène-7 $\alpha$ -ol-3 $\beta$  a été trouvée dans *G. crassa* (21%). Le *trans* 22-déhydrocholestérol a été trouvé dans *P. tristichus* (13%), *G. crassa* (10%) et *G. rigida* (7%). Les autres stérols caractérisés sont le brassicastérol, le desmostérol, le campestérol, le 24-méthylène cholestérol, le stigmastérol, le  $\beta$ -sitostérol, le fucostérol et le  $\Delta$ 5-avenastérol.

*Oceanol. Acta*, 1986, 9, 3, 339-342.

## ABSTRACT

Fatty acid and sterol composition from red algae of the Indian Ocean

Five species of red algae (*Carpopeltis formosana*, *Phacelocarpus tristichus*, *Plocamium nobile*, *Gracilaria crassa* et *Galaxaura rigida*) were collected in the Indian Ocean (south coast of Madagascar Island). Palmitic acid was the predominant fatty acid in all species (51-69%). Myristic acid was detected at 10-20% level in *P. nobile*, *G. crassa* and *G. rigida*. Cholesterol was the predominant sterol of the sterolic fraction of the studied species (40-82%). A high cholesten-7- $\alpha$ -ol-3- $\beta$ -ol content was found in *G. crassa* (21%). *Trans*-22-dehydrocholesterol was found in *P. tristichus* (13%), *G. crassa* (10%) and *G. rigida* (7%). The other sterols characterized were: brassicasterol, desmoterol, campesterol, 24-methylenecholesterol, stigmasterol,  $\beta$ -sitosterol, fucosterol and  $\Delta$ 5-avenasterol.

*Oceanol. Acta*, 1986, 9, 3, 339-342.

## INTRODUCTION

Les algues rouges ou rhodophycées peuvent être une source importante de carraghénanes qui sont des agents épaississants et gélifiants utilisés en grande partie dans les domaines laitiers. Ce sont des galactanes plus ou moins sulfatés contenant ou non de l'anhydrogalactose. Ainsi, plusieurs groupes de carraghénanes ont été définis

selon leur mode de sulfatation : iota, kappa, lambda, mu et nu.

Les deux derniers ayant été définis comme étant les précurseurs respectifs des deux premiers (Bodeau-Bellion, 1983; Cottrel, Kowacs, 1977; Glicksmann, 1969; Mc Neely, Pettitt, 1973; Naylor, 1977; Scheuer, 1978; 1981).

Plusieurs milliers de tonnes d'algues ont été récoltées le long des côtes malgaches dans les années 1960-1970 et exportées, mais peu d'études fondamentales sur une production potentielle des algues susceptibles d'être récoltées ont été effectuées. On peut citer toutefois les études de quelques rhodophycées à phycocolloïdes (Andriamampandry, 1976) et des algues benthiques de la Mer Rouge et du bassin occidental de l'Océan Indien (Farghaly, 1980).

Au point de vue chimique, les algues rouges présentent un intérêt par la nature de leurs métabolites : la caractérisation des stérols particuliers (Schmitz, 1978; Djerrassi, 1981) a permis de faire des progrès sur l'origine biosynthétique et les fonctions de ces substances. Nous présentons ici les résultats des analyses effectuées sur la fraction lipidique (acides gras et stérols) de cinq espèces d'algues rouges récoltées le long des côtes de Fort-Dauphin (tab. 1).

Tableau 1

Poids en mg des fractions lipidiques des algues récoltées : calcul pour 10 g sec d'algue.

Weight in mg of lipidic fractions of algae collected. Calculated for 10 g dry algae.

Ordre et espèce	Lieu et date de récolte (a)	Lipides totaux	Insaponifiable	Acides totaux	Stérols	Acides gras
<b>CRYPTONEMIALES</b>	Plage Monseigneur					
<i>Carpopeltis formosana</i>	11/83	91	38	34	13	18
<b>GIGARTINALES</b>	Plage Libanona					
<i>Phacelocarpus tristichus</i>	01/84	89	34	10	15	7
<b>GIGARTINALES</b>	Plage Libanona					
<i>Plocamium nobile</i>	01/84	94	38	19	15	11
<b>GIRGARTINALES</b>	Plage Libanona					
<i>Gracilaria crassa</i>	01/84	94	26	24	8	13
<b>NEMALIONALES</b>	Plage Libanona					
<i>Galaxaura rigida</i>	01/84	86	38	18	17	11

(a) Les espèces ont été récoltées à Fort-Dauphin au large des plages citées, à des profondeurs variant entre 2 et 4 mètres.

## MATÉRIEL ET MÉTHODES

### Échantillons

Les cinq espèces d'algues rouges benthiques étudiées ont été récoltées sur les côtes sud de Madagascar dans la région de Fort-Dauphin (Tolagnaro). Les zones de ramassage se situent sur des formations d'origine quaternaires. Les collectes ont été effectuées à des profondeurs variant entre 2 et 4 mètres. Les différentes espèces étudiées ont été reportées dans le tableau 1.

### Teneur en lipides et fractionnement

Après la récolte, les algues sont triées et lavées à l'eau permutée, puis stockées au congélateur jusqu'au moment des analyses. Après séchage jusqu'au poids constant, les algues sont broyées et les lipides totaux

ont été extraits au Soxhlet, et successivement par de l'acétone, du méthanol, du méthanol-chloroforme (1:1), du chloroforme pur.

Les extraits sont évaporés à sec, repris par du chloroforme anhydre, évaporés sous vide puis pesés. Dans le tableau 1, nous reportons les poids des différentes fractions lipidiques extraites des algues récoltées : poids ramenés à 10 g sec d'algues rouges étudiées.

### Saponification

La saponification des extraits a été réalisée par de la potasse éthanolique de normalité 4 N en portant le milieu réactionnel à l'étuve à 80°C pendant 4 h. Après addition d'un volume égal d'eau distillée, on extrait trois fois à l'éther de pétrole afin d'obtenir l'insaponifiable.

### Acides gras

Après acidification de la phase saponifiée par HCl fumant à pH = 1 les acides totaux sont extraits trois fois à l'éther de pétrole puis lavés à l'eau, séchés sur Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> et évaporés à sec. Les acides totaux bruts sont méthylés par du méthanol contenant du trifluorure de bore (Wolff, 1968). On extrait trois fois avec de l'hexane, on lave à l'eau, on sèche sur Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> puis on évapore à sec. Les esters méthyliques bruts sont ensuite purifiés par chromatographie en couche mince (CCM) sur gel de silice Merck (60 F 254) en utilisant un mélange hexane-éther diéthylique (95/5) comme solvant de développement. Les esters méthyliques des acides gras (R<sub>f</sub> = 0,60) sont visualisés par pulvérisation de rhodamine B, par exposition à la lumière ultra-violette (254 ou 366 nm) et repérés à l'aide d'un dépôt latéral d'ester méthylique authentique. Les esters méthyliques sont ensuite extraits de la silice par du chlorure de méthylène.

### Analyse des acides gras

L'analyse des esters méthyliques a été réalisée en utilisant un appareil de chromatographie en phase gazeuse Girdel modèle 300 équipé d'un détecteur à ionisation de flamme et d'une colonne capillaire en verre de 40 m (d.i. 0,35 mm) imprégnée de Carbowax 20 M (épaisseur de phase 0,1 µm). Les températures étaient pour le four de 190°C, pour le détecteur et l'injecteur de 230°C. La pression de l'hydrogène utilisé comme gaz vecteur à l'entrée de la colonne utilisée était de 1,5 bar avec un split de 5/100. Pour l'identification des esters méthyliques, des huiles végétales connues (olive, arachide, pépin de raisin) ont été utilisées comme étalon. La nature des acides gras a été déterminé par le calcul de la longueur de chaînes équivalentes (LCE) qui sont en accord avec celles trouvées précédemment (Flanzy *et al.*, 1976; Gaydou *et al.*, 1980).

### Analyse des stérols

La purification de la fraction stérolique a été réalisée par chromatographie en couche mince (CCM) sur gel de silice Merck (60F254) en utilisant un mélange chloroforme-éther diéthylique (90/10) comme solvant de développement. Les stérols (Rf = 0,39-0,41) sont visualisés, après pulvérisation de rhodamine B, par exposition à la lumière ultra-violet (254 ou 366 nm)

et repérés à l'aide d'un dépôt latéral de cholestérol authentique.

Les stérols sont extraits de la silice par du chloroforme puis acétylés suivant la norme NFT 60-232 (AFNOR, 1981). Le chromatographe utilisé est un modèle Girdel 300 à ionisation de flamme équipé d'un injecteur évaporateur en verre. Les analyses ont été effectuées sur une colonne capillaire en verre de 35 m (d.i. = 0,28 mm) imprégnée de 0.V. 17 (méthyl, phényl silicone) dont l'épaisseur de phase était de 0,15 µm. Le gaz vecteur était l'hydrogène, pression 1,5 bar, fuite 0,9 ml/s. Les températures étaient : four 260°C, détecteur et injecteur 270°C.

Les temps de rétention relatifs (TRR) des acétates des stérols ont été exprimés par rapport à celui de l'acétate de cholestérol. Les stérols ont été identifiés par comparaison de leur TRR à ceux de mélanges de références, et par comparaison avec leurs valeurs trouvées dans la littérature (Itoh *et al.*, 1982).

### RÉSULTATS ET DISCUSSION

Nous avons pu séparer 16 acides gras : l'identification de 12 d'entre eux a été faite par utilisation des courbes établies avec des mélanges d'esters méthyliques par comparaison avec les travaux de Flanzy *et al.* (1976) sur les longueurs de chaînes équivalentes (LCE). Ces résultats sont rassemblés dans le tableau 2. L'acide

Tableau 2

Poids de chacun des acides gras présents en mg pour 10 g sec d'algue récoltée.

*Weight in mg of fatty acids for 10 g of dry algae studied.*

Acide gras	<i>C. formosana</i>	<i>P. tristichus</i>	<i>P. nobile</i>	<i>G. crassa</i>	<i>G. rigida</i>
14:0	1,30	0,34	2,05	2,49	1,22
14:1	0,22	absent	0,09	absent	absent
Non déterminé	0,58	0,14	0,16	absent	absent
16:0	10,0	4,78	6,22	6,92	6,55
16:1, n-7	2,40	0,40	0,75	1,12	1,17
Iso 17	0,3	0,08	0,13	absent	0,15
Non déterminé	0,3	absent	absent	absent	absent
17:0	0,15	absent	0,002	absent	0,007
17:1, n-8	0,08	absent	0,09	absent	0,01
18:0	1,05	0,32	0,36	0,76	0,43
18:1, n-9	0,90	0,43	0,65	0,86	0,64
18:1, n-7	0,33	0,29	0,29	0,6	0,45
Non déterminé	0,04	0,007	0,003	0,003	0,001
18:2, n-6	0,2	0,21	0,21	absent	0,30
Non déterminé	0,09	absent	absent	0,003	absent
20:0	0,08	absent	absent	0,29	0,001

Tableau 3

Poids en mg de chacun des stérols présents pour 10 g sec d'algue récoltée.

*Weight in mg of sterols for 10 g of dry algae studied.*

Stérol*	TRR <sup>b</sup>	<i>C. formosana</i>	<i>P. tristichus</i>	<i>P. nobile</i>	<i>G. crassa</i>	<i>G. rigida</i>
Trans 22-dehydrocholestérol	0,93	absent	1,9	0,3	0,8	1,23
Cholestérol	1,00	10,72	9,2	14,2	3,26	10,24
Brassicastérol	1,14	absent	0,78	absent	0,37	1,48
Δ7-cholestérol	1,18	absent	0,27	absent	1,7	0,29
Desmostérol	1,21	absent	traces	absent	absent	absent
Campestérol	1,31	absent	0,36	absent	0,72	0,50
24-Méthylène cholestérol	1,35	0,28	0,82	absent	0,58	1,25
Stigmastérol	1,43	absent	0,31	absent	absent	0,41
β Sitostérol	1,63	0,25	1,2	absent	0,38	1,6
Fucostérol	1,72	absent	0,08	absent	absent	0,01
Δ5-Avenastérol	1,81	0,29	0,08	absent	absent	0,005
Non déterminé	2,4-2,6	1,46	absent	0,5	0,21	absent

\* non trivial

<sup>b</sup> exprimés par rapport à l'acétate de cholestérol.

palmitique (16:0) est prépondérant dans toutes les espèces d'algues rouges étudiées avec des teneurs variant entre 53 et 68%. La présence de cet acide palmitique comme acide gras majeur a déjà été observé par d'autres auteurs (Iatrides *et al.*, 1976; Endoh *et al.*, 1981).

L'acide myristique (14:0) se retrouve dans *P. nobile* (18%), *G. crassa* (19%) et *G. rigida* (12%). On peut noter également la présence dans toutes les espèces des acides stéarique (18:0), oléique (18:1, n-9) et vaccénique (18:1, n-7) à des concentrations inférieures à 8%.

Le nom trivial et le TRR des 11 stérols caractérisés sont indiqués dans le tableau 3 ainsi que la composition en stérols de chaque espèce d'algue étudiée. On voit que le  $\Delta 5$ -cholestérol est le stérol majoritaire dans les cinq espèces d'algues rouges étudiées (40-82%). Ces résultats sont en accord avec ceux observés précédemment (Gibbons *et al.*, 1967; Idler *et al.*, 1968; Goad *et al.* 1976). Le *trans*-22-déhydrocholestérol se trouve dans *P. tristichus* (13%); *G. crassa* (10%) et *G. rigida* (7%). On remarque une teneur élevée en  $\Delta 7$ -cholestérol dans *G. crassa* (21%). La présence de  $\Delta 7$ -cholestérol a été signalée pour la première fois dans l'ordre des gigartinales récemment (Goldberg *et al.*, 1982).

Parmi les autres stérols caractérisés, on peut noter le brassicastérol, le campestérol, le 24-méthylène cholestérol, le stigmastérol, le  $\beta$ -sitostérol et le  $\Delta 5$ -avenastérol. Le fucostérol qui est généralement caractéristique des algues brunes n'a été retrouvé qu'à de faibles concentrations (0,5%) dans *P. tristichus* et *G. rigida* (Laur, 1970; Villanueva *et al.*, 1965).

En conclusion, les cinq algues rouges récoltées le long de la côte de Fort-Dauphin (sud de Madagascar) ont une fraction lipidique qui se caractérise par une forte teneur en acide palmitique et en stérols en C 27 notamment le  $\Delta 5$ -cholestérol, ce qui confirme les observations déjà effectuées sur d'autres rhodophycées (Iatrides *et al.*, 1983) mais aussi le  $\Delta 7$ -cholestérol (21% dans *G. crassa*) plus rare dans les algues marines.

### Remerciements

Nous remercions les services de la pêche maritime d'Antananarivo et de Tolagnaro (Fort-Dauphin) pour leur assistance technique, la Mission française de coopération de Madagascar pour son aide financière et M<sup>me</sup> A. Andriamampandry pour son aide et sa contribution au niveau des identifications.

### RÉFÉRENCES

- AFNOR, 1981. *Recueil des normes françaises. Corps gras graines oléagineuses, produits dérivés*, AFNOR Éd., 2<sup>e</sup> éd., Paris.
- Andriamampandry A., 1977. Études de quelques rhodophycées à phyco colloïdes de l'Océan Indien, *Thèse 3<sup>e</sup> cycle, Univ. Paris VI*.
- Bodeau-Bellion C., 1983. *Physiol. Vég.*, 21, 4, 785-793.
- Cottrell I. W., Kowacs P., 1977. *Foods colloids*, Avi Publishing Company Ed., Westport, Connecticut.
- Djerassi C., 1981. Recent studies in the marine sterol fields, *Pure Appl. Chem.*, 53, 873.
- Endoh S., Mori T., Miyagi M., Kobayashi M., Yamamoto S., Mitsuhashi T., 1981. *Lipids from four species algae*, Tokyo Gakugei Daigaku. Kiyō, Dai - 4 bumon, 33, 125.
- Farghaly M., 1980. Algues benthiques de la mer Rouge et du bassin occidental de l'Océan Indien, *Thèse Doct. État, Univ. Montpellier*.
- Flanzy J., Boudon M., Léger C., Pihet J., 1976. Application of carbowax 20 m as open-tubular liquid phase in analysis of nutritionally important fats and oils, *J. Chrom. Sci.*, 14, 17.
- Gaydou E. M., Bianchini J. P., Raonizafinimanana R., 1980. Quantitative analysis of fatty acids and sterols in Malagasy rice bran oils, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 57, 141.
- Gibbons G. F., Goad L. J., Goodwin T. W., 1967. The sterols of some marine red algae, *Phytochemistry*, 6, 677.
- Glicksman M., 1969. *Gum technology in the food industry*, Academic Press Ed., New York et Londres.
- Goad L. J., Mahus D. C., Sargent J. R., 1976. *Biochemical and biophysical perspectives in marine biology*, Academic Press Ed., New York, Vol. 1, 213.
- Goldberg A. S., Hubby C., Cobb O., Millard P., Perrara N., Galdi G., Premuzic E. T., Gaffney J. S., 1982. Sterol distribution in red algae from waters of eastern Long Island, *Bot. Mar.*, 25, 351.
- Iatrides M. C., Artaud J., Derbesy M., Estienne J., 1978. Identification de constituants lipidiques dans les algues rouges source de carraghénanes, *Ann. Fal. Exp. Chim.*, 761, 9.
- Iatrides M. C., Artaud J., Vicente N., 1983. Composition en stérols de végétaux marins méditerranéens, *Oceanol. Acta*, 6, 1, 73-77.
- Idler P. R., Saito A., Wiseman P., 1968. Sterols in red algae (Rhodophyceae), *Steroids*, 11, 465.
- Itoh T., Tani H., Fukushima K., Tamiara T., Matsumoto T., 1982. Structure-retention relationship of sterols and triterpenic alcohols in gas chromatography on a glass capillary column, *J. Chromatogr.*, 234, 65.
- Laur M. H., 1970. *Congrès national sociétés savantes*, 95, 3, 371-385.
- Mc Neely W. H., Pettitt D. J., 1973. *Industrial gums*, Academic Press Ed., New York et Londres.
- Naylor Y., 1977. *Production, commerce et utilisation des algues marines et produits dérivés*, FAO Ed., Documents techniques sur les pêches n° 159, Rome.
- Scheuer P. J., 1978. *Marine natural products, Vol. I et II*, Academic Press Ed., New York.
- Scheuer P. J., 1981. *Marine natural products, Vol. IV*, Academic Press Ed., New York.
- Schmitz F. J., 1978. Uncommon marine sterols, in: *Marine natural products*, édité par P.-J. Scheuer, Academic Press Ed., New York, Vol. 1, 241.
- Villanueva V. R., Barbier M., Lederer E., 1965. Sur la biosynthèse de la chaîne éthylidène du fucostérol de l'algue brune *Laminaria saccharina*, *Breitage zur Biochemie und physiologie von Naturstoffen*, 509.
- Wolff J. P., 1968. *Manuel d'analyse des corps gras*, Azoulay Ed., Paris.