

## Propriétés physico chimiques de lipide et quantification des protéines de graines des fruits *Citrullus Colocynthis*

### [ Physicochemical properties of lipid and quantification of proteins of *Citrullus Colocynthis* seed oil ]

**Meriem BIRECHE<sup>1</sup>, Boulanouar BAKCHICHE<sup>1</sup>, Mohamed MAATALLAH<sup>2</sup>, and Abdelaziz GHERIB<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Département des sciences, Université Ammar TELIDJI de Laghouat, B.P 37G, Laghouat 03000, Algérie

<sup>2</sup>Faculté des Sciences Semlalia, University Cadi Ayyad, Av. My Abdellah, BP 2390, Marrakech, Maroc

---

Copyright © 2014 ISSR Journals. This is an open access article distributed under the **Creative Commons Attribution License**, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

**ABSTRACT:** To contribute to the development of local medicinal plants for their therapeutic properties, we are interested in the study of *Citrullus Colocynthis* plant known in traditional medicine. The *Citrullus Colocynthis* is a desert plant encountered on sandy soils in the region of Ghardaia and also very well known for its medicinal virtues. In the present work we have characterized the seed oil of the plant with a yield of 17,854%, for the determination of different chemical indicators such as the acid value (AV), iodine (I), of saponification (IS), peroxide (IP) and physical indicia as the refractive index (RI) and the density. The result shows that this oil is rich in fatty acids such as palmitic acid (C16) and stearic (C18). The defatted seed contain a very large amount of proteins studied by three methods: Biuret, Lowry and Kjeldahl method.

**KEYWORDS:** *Citrullus Colocynthis*, fatty acids, Physicochemical properties, Protein.

**RÉSUMÉ:** Afin de contribuer à la valorisation des plantes médicinales locales pour leurs vertus thérapeutiques, nous nous sommes intéressés à l'étude de la plante *Citrullus Colocynthis* connue en médecine traditionnelle. La *Citrullus Colocynthis* est une plante saharienne rencontrée sur les terrains sablonneux de la région de Ghardaïa qui est aussi très réputée pour ses vertus médicinales. Dans le présent travail nous avons caractérisé l'huile des graines de cette plante qui présente un rendement de 17,854%, par la détermination des différents indices chimiques tels que l'indice d'acide ( $I_A$ ), d'iode ( $I_I$ ), de saponification ( $I_S$ ), de peroxyde ( $I_P$ ) et par des indices physiques comme l'indice de réfraction ( $I_R$ ) et la densité. Le résultat obtenu montre que cette huile est riche en acides gras tels que les acides palmitiques (C16) et stéarique (C18). Les tourteaux renferment une quantité très importante des protéines étudiées par trois méthodes : méthode de Biuret, de Lowry et de Kjeldhal.

**MOTS-CLEFS:** *Citrullus Colocynthis*, Acides gras, Propriétés physique-chimiques, Protéine.

## 1 INTRODUCTION

Sur une superficie de 7 à 8 millions de kilomètres carrés, le Sahara ne compte guère que 3 à 4 millions d'habitants, cette population est presque condensée dans la partie septentrionale [1]. L'homme du Sahara a utilisé les plantes spontanées depuis les temps anciens bien que leur importance dans l'alimentation humaine est négligeable, mais il n'en va pas de même pour celle des animaux domestiques. Par ailleurs, certaines de ces plantes sont utilisées dans la médecine indigène ou dans le petit artisanat ; enfin elles représentent la source du bois de construction et chauffage [1].

Les corps gras sont des matières organiques fluides d'origine végétale ou animale, onctueuses insolubles dans l'eau et dans l'alcool. Les végétaux qui les produisent sont très variés. Chez les végétaux fournisseurs d'huiles « les oléagineux », les réserves lipidiques se rencontrent le plus souvent dans les graines ou dans la pulpe qui entoure le noyau des fruits. Les pistaches, les noix, les amandes etc... sont considérées comme des graines à fruits oléagineux, du fait de leur faible teneur en eau environ 5 % et de leur teneur élevée en lipides et en protéines, puisqu'elles contiennent 50 à 60 % de lipides et 14 à 21 % de protéines. Le taux élevé de glucide est en moyenne de 17 % dont 3 % de cellulose [2].

La présente étude s'intéresse à l'une des espèces spontanées, *Citrullus colocynthis* (L) c'est une plante herbacée vivace de la famille des *cucurbitacées*, à longue tiges rampantes qui s'étalent sur le sol pouvant ainsi atteindre 1 m de long, elle est entièrement hérissée de poils raides. Ces fruits sont sphériques et lisses ressemblant à des petites pastèques, colorées de vert foncé ou de jaune selon la maturité. [3]

## 2 MATERIELS ET METHODES

### 2.1 MATERIEL VEGETAL

La plante utilisée dans cette étude a été collectée le mois de février 2013 dans la région de « Al Mansourah » qui se situe dans la wilaya de Ghardaïa. Cette dernière se trouve dans la partie nord du Sahara Algérien, entre 32°28'60" Nord et 3°40'00" Est en DMS (degrés, minutes, secondes) ou 32.4833 et 3.66667 (en degrés décimaux). Celle-ci se limite au Nord par la wilaya de Laghouat ; au nord-est par la wilaya de Djelfa ; à l'est par la wilaya d'Ouargla ; au sud par la wilaya de Tamanrasset ; au sud-ouest par la wilaya d'Adrar ; et à l'ouest par la wilaya d'El Bayadh. La station d'étude «Al Mansourah », se situe à 70km au sud de Ghardaïa [4]. L'identification de cette plante a été confirmée au niveau de laboratoire de chimie à l'université Ammar TELIDJI de Laghouat.

### 2.2 EXTRACTION DES LIPIDES

Les fruits matures ont été coupés pour récupérer les graines qui ont été broyées finement puis menés à une extraction à chaud en utilisant le montage de SOXHLET et l'hexane comme solvant. Après trois heures, l'hexane récupéré est évaporé sous une pression réduite à 50°C à l'aide d'un rotavapeur [5], une huile visqueuse de couleur jaune ayant une odeur fétide a été obtenue.

### 2.3 TESTS PHYSICO-CHIMIQUES

Les normes internationales (International Organisation for Standardisation (ISO) ) ont été utilisées pour déterminer les propriétés physico-chimiques tel que les indices d'acide, de saponification, d'iode, peroxyde et d'estérification [6]. L'indice de réfraction a été déterminé en utilisant un réfractomètre à une température de 20°C (ABBE 2WAJ), le lipide est mené à un test de pesé pour déterminer la densité.

### 2.4 EXTRACTION DES PROTEINES

A partir d'un gramme de tourteaux délipidés, les protéines sont extraites par une macération à froid pendant 24 heures et en utilisant 25 mL de trois solvants (NaCl 0,5 M, une solution tompan pH= 7,4 et l'eau distillée). Après filtration, le volume de l'extrait est ajusté à 100 mL par chaque solvant.

### 2.5 DOSAGE DES PROTEINES

Le dosage des protéines des trois extraits a été effectué par trois méthodes différentes :

#### 2.5.1 MÉTHODE DE BIURET

Le dosage des protéines par la méthode de biuret a été effectué en utilisant le réactif de Gornall (Gornall et al 1949) qui a été ajouté à l'échantillon, après une incubation de 30 minutes. L'absorbance a été déterminée à une longueur d'onde égale à 540 nm [7].

La courbe d'étalonnage est faite à l'aide d'une solution mère de sérum albumine d'œuf à 10g/l, puis on prépare des dilutions 1, 3, 5, 7 et 9 g / l, et on trace les variations de l'absorbance A en fonction de la concentration C du protéine (Figure 1), on obtient une droite de coefficient de corrélation  $R^2 = 0,981$

### 2.5.2 METHODE DE LOWRY

Le dosage par la méthode de Lowry (Lowry et al 1951) est basé sur une combinaison d'une réaction entre la protéine et le biuret et une réaction du réactif de Folin-Ciocalteu.

Après une incubation de 40 minutes, la lecture de l'absorbance a été effectuée à une longueur d'onde égale à 750 nm [8].

La courbe d'étalonnage est faite à l'aide d'une solution mère de sérum albumine d'oeuf à 2 g/l, puis on prépare des dilutions 0.1, 0.2, 0.3 et 0.4 g / l et on trace A = f (C), on obtient une droite de coefficient de corrélation  $R^2 = 0.988$

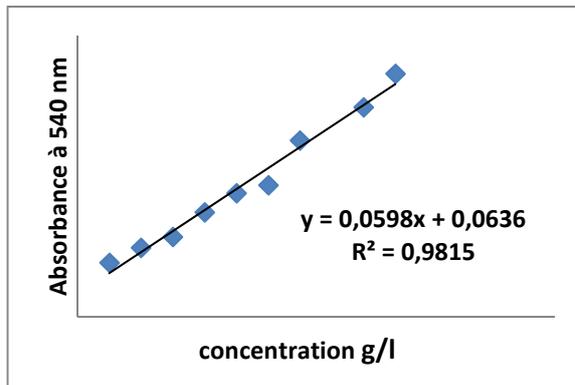


Fig.1 . La courbe d'étalonnage de l'albumine méthode de Biuret

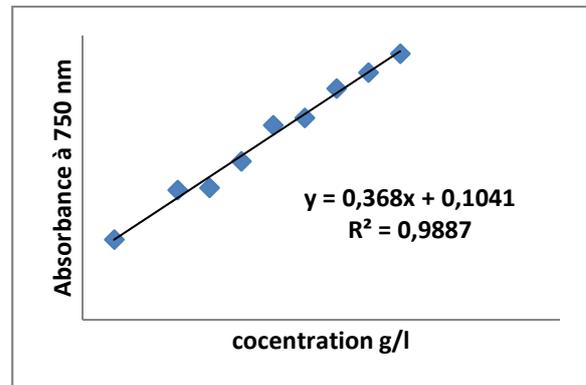


Fig.2 . La courbe d'étalonnage de l'albumine méthode de Lowry

### 2.5.3 METHODE DE KJELDAHL

La méthode de Kjeldahl (Helrich, 1990) est utilisée pour doser la totalité de l'azote, pour cela il faut détruire les composés organiques de manière à obtenir tout l'azote sous une même forme minérale. On effectue pour cela une minéralisation. L'azote est ensuite dosé par dosage acide-base.

Le calcul du pourcentage de protéine et de nitrogène est effectué par les formules suivantes [9] :

$$\text{Protéine \%} = \frac{(A-B) \times N \times 14,007 \times 6,25 \times 100}{m(\text{mg}) \text{ d'échantillon}} \quad (1)$$

$$\text{Nitrogène \%} = \frac{(A-B) \times N \times 14,007 \times 100}{m(\text{mg})} \quad (2)$$

Avec :

A : V (ml) HCl titrant l'échantillon.

B : V (ml) HCl titrant (le blanc).

6,25 : Facteur de Kjeldahl.

100 : Le facteur de pourcentage.

## 3 RESULTATS ET DISCUSSIONS

### 3.1 LES PROPRIETES PHYSICO-CHIMIQUES

Le tableau suivant résume tous les résultats des indices physico-chimiques effectués dans cette étude ainsi Le rendement de la teneur en huile de ces graines.

Tableau 1. Propriétés physico-chimiques d'huiles des graines de *C. colocynthis*

Propriétés physico-chimiques	Huiles des graines
Teneur (%)	17,854
Etat physique à température ambiante	Liquide
Couleur	Jaune clair
Indice d'acide	5,46 ± 0,056
Indice de saponification (mgKOH /g)	197,78 ± 0,17
Indice d'iode (g/100gde huile)	145,029 ± 0,25
Indice de peroxyde	16,38±0,18
Indice de réfraction à 20°C	1,4716 ± 0,001
Indice d'ester (mg KOH/1g de huile)	192 ,32±0,11
Densité	0,957±0,001
Masse molaire (g/mol)	875,10±0,92

Les graines de *Citrullus Colocynthis* présentent un bon rendement d'huile (17,854%) , comparant avec des résultats publiés de la même plante [10] on trouve des valeurs proches de celles indiquées dans ce travail. Cette huile est utilisée pour déterminer quelques propriétés physico-chimiques qui donnent des informations sur cette matière végétale. La valeur élevée de l'indice de saponification (197,78 mg KOH /g) est associée à la présence des chaînes d'acides gras tels que les acides palmitiques (C16) et stéarique (C18).

Cependant, l'indice d'iode élevé indique (145 g/100g de huile) que l'huile est riche en doubles liaisons (des insaturations). Les acides gras libres (AGL) contenu dans l'huile montrent une valeur faible (5,46) cela est due aux AGL qui sont le résultat de l'hydrolyse de l'huile. En outre, il est bien connu que les acides gras libres sont plus sensibles à l'oxydation des lipides. Cela peut expliquer la valeur de peroxyde relativement élevée (16,38), cet indice permet d'évaluer le degré d'oxydation des acides gras insaturés de la matière grasse.

L'indice d'ester permet de déterminer la masse molaire (donc la structure) des triglycérides, pour l'huile des graines de *CitrullusColocynthis* la valeur de cet indice (192 ,32 mg KOH/g d'huile) est élevée. D'après cette valeur est calculé la masse molaire de triglycérides laquelle est égale à 875,10 g/mol.

L'indice de réfraction et de la densité de *C. colocynthis* présentent des valeurs proches de celles publiées pour cet huile [11].

### 3.2 DOSAGE DES PROTEINES

A l'aide des courbes d'étalonnages de l'albumine des deux méthodes Biuret et Lowry (Figure 1 et 2), et la formule de calcul du pourcentage massique de protéine et nitrogène d'après la méthode de Kjeldahl (équation 1 et 2) on détermine les concentrations des solutions protéiques, Tableau 2.

Tableau 2 . Teneur des protéines par les trois méthodes

Méthode	protéines dans Solution Tampon g/100g	protéines dans solution de NaCl g/100g	Protéines dans solution aqueuse g/100g
Biuret	0,645±0,083	0,131±0,035	ND
Lowry	2,77±0,33	1,366 ±0,12	0,388±0,05
Kjeldahl	21,8 ±0,021	13,13 ± 0,043	4,3±0,013
Concentration de Nitrogène	3,5 ±0,07	2,1 ±0,053	0,7±0,012

ND : non déterminer

D'après les valeurs du tableau, on remarque que la teneur en protéines atteint une valeur importante dans le cas de la méthode de Kjeldahl par les trois méthodes d'extractions, un peu moins importante dans la méthode de Lowry que la méthode de Biuret. En comparant les méthodes d'extraction, on remarque que l'extraction des protéines par la solution tampon a donné les grandes teneurs suivies par le cas où le chlorure de sodium est utilisé comme solvant. De faibles teneurs sont obtenues lorsque l'extraction est réalisée avec de l'eau distillée.

La réaction du biuret est basée sur la formation d'un complexe pourpre entre le biuret (NH<sub>2</sub>-CO-NH-CO-NH<sub>2</sub>) et deux liens peptidiques consécutifs en présence de cuivre en milieu alcalin, cette méthode est simple et facile à réaliser mais est cependant moins précise; la grande sensibilité de la méthode de Lowry est due à la combinaison de la réaction du biuret et une réaction au réactif de Folin-Ciocalteu. Ce dernier, à base de phosphomolybdate et de phosphotungstate, réagit avec les tyrosines et les tryptophanes, pour donner une coloration bleue qui s'ajoute à celle du biuret et donne une grande absorbance.

Les résultats de la méthode de Kjeldahl sont les plus distincts parce que cette méthode mesure la quantité d'azote organique total dans un échantillon.

Si on compare nos résultats avec ceux de la littérature [12] (24.37g/100g).on trouve qu'il y a une différence importante. Cette différence attribuée aux : origines géographiques, climat, espèce étudiée, méthodes d'extraction et aux méthodes d'analyses et de quantification.

Les protéines extraites par la solution tampon sont les plus notables car ce dernier fournit un milieu idéal pour extraire toutes les protéines.

#### **4 CONCLUSION**

La préservation et l'utilisation des plantes médicinales ont suscité un large intérêt au cours des dernières années. Celles-ci ont été utilisées dans le monde entier par les communautés locales pour guérir diverses maladies de l'Antiquité.

La plupart des espèces de plantes sont également utilisés comme complément alimentaire avec ses décoctions orales. Cependant, peu a été fait jusqu'à présent pour vérifier l'utilisation appropriée de ces plantes. La présente recherche est un effort à faire dans ce sens.

Le contenu chimique des graines de *Citrullus colocynthis*, était jusqu'à présent moins connu. Les résultats expérimentaux rapportés dans cet article ont montré que ces graines peuvent être des sources potentielles d'éléments nutritifs principalement des protéines et des acides gras essentiels (C16, C18).

Pour enrichir ce travail au futur, une étude GC /MS de cette huile est proposée pour faire une détermination exacte des contenu de ce échenillant.

#### **REFERENCES**

- [1] P. Ozenda : *Flore du Sahara*, Deuxième édition du CNRS. Paris, ISBN 2-222-00292-3, p 87, 1983.
- [2] P. Ozenda : *Flore du Sahara*. Deuxième Edition du CNRS. Paris, ISBN 2-222-00292-3, p 622, 1983.
- [3] A .Chehma : *Catalogue des plantes spontanées du Sahara septentrional algérienne*, DarElhouda Ain M'lila, Algérie . p 75, juin 2006.
- [4] <http://fr.wikipedia.org/wiki/Ghardaia>
- [5] J Folch, M Lees, GHS Stanley, *Journal Biol Chem*,226:497–509, 1957
- [6] M .Olle, "Analyse des corps gras", *Technique de l'Ingénieur*, Paris . P5, P3325 décembre 1996 .
- [7] B. Hainque,B.Baudin et P.Lefebvre: *Apareils et Méthodes en Biochimie et Biologie Moléculaire*, Ed.Médecine-Science Flammarion, ISBN 978-2-2571-6545-9, p.304-306 ,2008.
- [8] D.A.Skoog, D.M. West et F.J.Holler : *Chimie analytique,Traduction et révision scientifique de la 7e édition américaine*, Chapitre 12, De Boeck Université, Paris ,1997.
- [9] K. Neide et al, "Determination of total proteins in cow milk powder samples: a comparative study between the Kjeldahl method and spectrophotometric method" *Journal of Food Composition and Analysis* 16 ,507–516, 2003.
- [10] H. Sadou, " Chemical content of the seeds and physico-chemical characteristic of the seed oils from *Citrullus Colocynthis*, *Coccinia grandis*, *cucumis metuliferus* and *cucumis prophetarum* Of Niger", *bull. Chem. Soc. Ethiop*, 21(3), 323-330 , 2007.
- [11] I.A. Nehdi et al," Evaluation and characterisation of *Citrullus colocynthis* (L.) Schrad seed oil: Comparison with *Helianthus annuus* (sunflower) seed oil", *Journal of Food Chemistry* 136 ,348–353, 2013.
- [12] J.O. Ogundele et al, "Comparative Study of Amino Acid and Proximate Composition of *Citruillus colocynthis* and *Citrullus vulgaris* Seeds", *Pakistan Journal of Nutrition* 11 (3): 247-251, 2012.