

Variabilité des teneurs et compositions des composés mineurs dans l'huile de tournesol au cours du développement du capitule

Partie I - Tocophérols

Alicia AYERDI GOTOR¹
Monique BERGER¹
Françoise LABALETTE²
Sylvie CENTIS³
Jean DAYDE¹
Anne CALMON¹

¹ Ecole supérieure d'agriculture de Purpan,
Laboratoire d'agro-physiologie
UMR INRA 1054/ESAPurpan,
75 voie du TOEC,
BP 57611,
31076 Toulouse cedex 3, France.
Fax : + 33 (0)5 61 15 30 60
<anne.calmon@esa-purpan.fr>

² Onidol, Organisation nationale
interprofessionnelle des oléagineux,
12 avenue George V,
75008 Paris, France

³ Asedis-so,
39 chemin Virebent,
31200 Toulouse, France

Abstract: The sunflower oil is rich in polyunsaturated fatty acids and in minor components (1 % of the oil fraction) including phytosterols, tocopherols, wax and others components. This study evaluates the content and composition of the tocopherols in four sunflower hybrids during two growing seasons (2002 & 2003) and in seven supplemented hybrids during a multilocal study in 2003. The accumulation of tocopherol in the maturing seeds was studied followed from flowering stage till full maturity. The kinetics of tocopherols was similar to fatty acids: rapid increase prior to 25 Days After Flowering (DAF) and then stabilization after 50 DAF. However, the temperature during the seed development induced changes in the tocopherol content, since the total amount of tocopherols was significantly reduced by high temperatures. On the other hand, the comparison of tocopherol content in the 11 hybrids tested clearly shows the impact of genetic factor concerning the level of tocopherols expressed in the seed. However in this study the genotype-environment interaction was slight. Data provided by this study show that content of tocopherol in the sunflower oil can be promoted though combined action on selection and growth conditions.

Key words: sunflower oil, tocopherols, vitamin E, accumulation, temperature

Introduction

La vitamine E naturelle est un complexe vitaminiq ue liposoluble qui regroupe les tocophérols (4 formes : α , β , γ , δ) et les tocotriénols, composés amphiphiles formés d'une chaîne prényl et d'une tête chromanol [1] (figure 1). Les tocophérols sont prédominants dans ce complexe et toutes les formes naturelles ont la configuration R,R,R [2-4] ; parmi celles-ci, l' α -tocophérol présente l'activité vitaminiq ue la plus élevée. Récemment, de nombreux travaux ont mis en évidence l'effet positif de la vitamine E sur la santé humaine : ainsi, une alimentation supplémentée en vitamine E, seule [5-8] ou en synergie avec les caroténoïdes et la vitamine C [9], diminue le risque de maladies cardiovasculaires et de cancer du côlon. Les tocophérols limitent le développement des lésions artériosclérotiques en empêchant ou en réduisant l'oxydation des lipoprotéines de faible densité (système de transport du cholestérol et des acides gras) causée par les radicaux libres [6]. Cependant, la vitamine E de synthèse n'est pas équivalente aux formes naturelles car elle présente, pour chacune de ces formes, de 2 à 8 isomères géométriques dont elle est un mélange racémique. Elle ne contient donc qu'une partie de vitamine E équivalente aux molécules naturelles [10], ce qui pose le problème de la restauration en vitamines autorisée dans certains aliments [11]. Aussi, la vitamine E naturelle à dose égale a un potentiel vitaminiq ue plus important que la vitamine E synthétique : le rapport d'équivalence (naturel/synthétique) étant de 1,36 :1 [12-14]. La vitamine E est présente dans l'huile de germe de blé, la plupart des graines oléagineuses, les légumes verts, la viande, le jaune d'œuf et les produits laitiers.

Les tocophérols sont synthétisés exclusivement par les plantes ou cyanobactéries, au niveau des membranes chloroplastiques ou proplastiques. La tête chromanol (acide homogentisique - HGA) et la queue hydrophobe (phytyl-diphosphate (phytyl-DP) pour les tocophérols) proviennent de voies métaboliques localisées dans les plastes. L'association des deux parties constitue un précurseur commun aux quatre formes α , β , γ , δ : le 2-méthyl-6-phytylplastoquinol (MPBQ). Celui-ci peut subir une méthylation supplémentaire en R2 (2,3- diméthyl-6-phytylplastoquinol – DMPBQ) et la synthèse des tocophérols est alors divisée en deux voies : ces composés seront à l'origine soit des formes δ (précurseurs MPBQ), soit des formes γ (précurseurs DMPBQ). Ces formes δ ou γ peuvent alors être à nouveau méthylés en position R1 (par la γ -méthyltransférase) pour donner respectivement les formes β ou α . Cette dernière est finalement la forme la plus hautement méthylée [15].

Article reçu le 18 janvier 2006
Accepté le 4 mai 2006

FONDAMENTAL

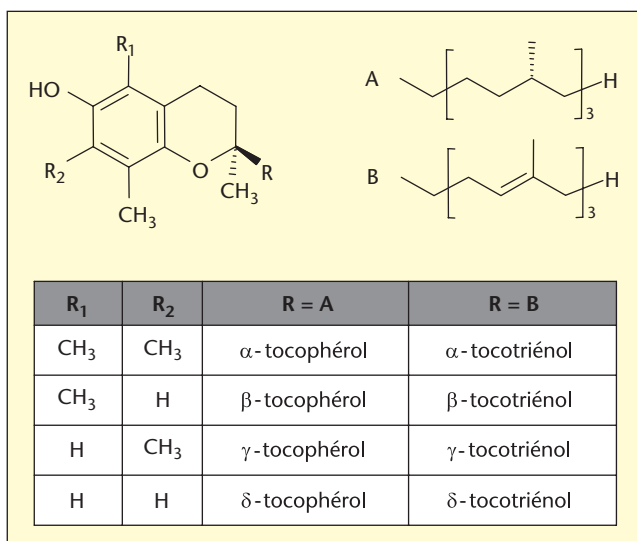


Figure 1. Structure des tocophérols et des tocotriénols (queues hydrophobes : A = Radical phytyle ; B = radical géranyle).

Dans les feuilles, l'α-tocophérol est majoritaire et il a été trouvé en abondance dans l'enveloppe des plastes où il est synthétisé [16], dans les particules lipoprotéiques du stroma des chloroplastes où il est stocké [17] et dans les membranes thylakoïdales [18]. Dans les graines au contraire, on trouve principalement les formes γ et δ. L'activité MPBQ-méthyl transférase, à l'origine de la voie du γ-tocophérol, ainsi que l'activité γ-méthyl transférase, produisant les formes β ou α, jouent un rôle prépondérant sur la composition en tocophérols, mais pas sur la teneur totale [19, 20], celle-ci semble plutôt dépendre de la synthèse des deux sous-parties de la molécule : HGA et phytol-DP [15].

Le rôle des tocophérols est capital dans les tissus photosynthétiques, où, par leur activité anti-oxydante, ils peuvent bloquer la propagation de la peroxydation des lipides à l'intérieur de la membrane, en particulier lors de stress hydriques, où les tocophérols contribuent à la photoprotection des chloroplastes [19, 21, 22]. Une des principales fonctions des tocophérols de la graine serait d'assurer sa viabilité en préservant de l'oxydation les lipides de réserve [23] ; ainsi, pendant le stockage des graines, la teneur des différents tocophérols diminue progressivement [24, 25]. De même, des lignées mutantes à faible teneur en tocophérols dans la graine présentent une forte altération de leur faculté germinative [23]. Cependant, actuellement, on dispose de peu d'informations sur la biosynthèse et le lieu de stockage des tocophérols dans la graine.

Le tournesol contient entre 400 et 1 200 mg de tocophérols par kg d'huile, et c'est la seule espèce oléagineuse de grande culture à accumuler essentiellement de l'α-tocophérol dont la teneur varie entre 91 et 97 % des tocophérols totaux [26]. Le tournesol est également l'espèce la plus tolérante à la sécheresse et *a fortiori* privilégiée dans le centre-est et le sud de l'Europe (France, Espagne, Hongrie). Sur d'autres espèces (colza, soja) les facteurs génétiques [27-32] et environnementaux (lieux de culture [27, 33], température, stress hydrique) ont une part significative dans la variation des teneurs et compositions des tocophérols. Ainsi les températures élevées [34, 35] ou le déficit hydrique [35] ont une influence négative sur la teneur de l'akène en tocophérols.

Concernant le tournesol, la teneur totale et la composition en tocophérols est influencée par le génotype [27, 36-38] et par les effets environnementaux (lieu de culture) [30]. Toutefois, à notre connaissance aucune étude n'a été entreprise afin d'établir et de compléter les cinétiques de remplissage des akènes en tocophérols à l'aide de plusieurs génotypes et années de culture.

Ainsi l'objectif de cette étude était de mieux comprendre le remplissage des akènes en tocophérols individuels et totaux en suivant des cinétiques d'accumulation des tocophérols au cours de la maturation chez des hybrides commerciaux cultivés dans le sud-ouest de la France pour deux années de culture (2002 et 2003) mais également d'appréhender la variabilité génétique et environnementale en comparant onze hybrides sur trois lieux de culture. Cette étude permettrait d'apporter de nouvelles informations afin de sélectionner des hybrides pour ce critère de qualité de l'huile.

Matériel et méthodes

Matériel végétal

Un essai pluriannuel a été réalisé sur quatre hybrides : en 2002, ces hybrides ont été cultivés à Baziège (31) et en 2003 en répétition sur trois lieux : Mondonville (31), St Sauveur (31) et Caussade (81). De plus, en 2003, l'étude multilocale comprenait sept hybrides supplémentaires (tableau 1).

Les variétés de tournesol ont été cultivées selon les techniques habituellement utilisées par les entreprises semencières et le Cétiom. Sur ces essais, l'autofécondation a été assurée par empochage des capitules pendant la période de la floraison. Après la floraison, les sacs ont été ouverts, sauf sur le site de St Sauveur (31) où les capitules sont restés empochés jusqu'à la récolte. Les prélèvements effectués sur le site de Baziège en 2002 et sur le site de Mondonville en 2003 ont été utilisés pour l'étude de la cinétique du remplissage des akènes en tocophérols et la détermination de leurs teneurs et composition (tableau 2).

Tableau 1. Caractéristiques du matériel végétal (graines F₂) mis en place en 2002 et 2003.

Année	Nom variété	Type génétique (Hybrides)	Précocité	Obtenteur
2002 & 2003	Allstar RM	Classique	Précoce	Euralis Semences
	LG5420	Classique	Précoce	Limagrain
	LG5660	Classique	Mi-précoce	Limagrain
2003	Prodisol	Classique	Précoce	Monsanto Dekalb
	Alisson RM	Classique	Précoce	Euralis Semences
	Alisson RMO	Oléique	Précoce	Euralis Semences
	Aurasol	Oléique	Mi-précoce	Monsanto Dekalb
	Melody	Classique	Mi-tardive	Syngenta Seeds
	Parma	Classique	Précoce	Maisadour Semences
	Tekny	Classique	Précoce / Mi-précoce	Syngenta Seeds
	Tellia	Classique	Mi-précoce	RAGT Semences/R2n

Tableau 2. Caractéristiques des prélèvements mis en place en 2002 sur 4 hybrides et en 2003 sur 11 hybrides au cours de la maturation.

Année	Lieu des essais	Prélèvements intermédiaires	Prélèvement final
		Jours après floraison (JAF)	(JAF)
2002	Baziège (31)	20 à 60, tous les 5 jours	60
	Caussade (82)	35	77
2003	Mondonville (31)	20, 30, 40, 53	63
	St Sauveur (31)	/	65

Tableau 3. Descriptif des solutions préparées pour l'étalonnage externe des quatre formes de tocophérols.

Composés	Longueur d'onde	Solution mère (mg /mL de méthanol)	Solutions étalons (µg / mL de méthanol)
α -tocophérol	292	0,1	5, 10, 20, 30 et 50
β -tocophérol	296	0,1	5, 10, 20, 30 et 40
γ -tocophérol	298	0,1	5, 10, 20, 30 et 40
δ -tocophérol	298	0,1	5, 10, 15, 20 et 35

Échantillonnage

Pour chaque date de prélèvement, 3 à 5 capitules par parcelle ont été collectés. Pour des raisons d'homogénéité de stade de développement, seuls les trois cercles extérieurs de chaque capitule ont été égrenés manuellement. Les akènes ont été ensuite regroupés par prélèvement (un par date et par parcelle), lyophilisés (HETO CT 110, Saint Herblain, France) pendant 48 heures puis stockés à -18°C jusqu'à analyse.

Méthodes analytiques

Extraction de l'huile

L'huile a été extraite des akènes fraîchement broyés conformément à la norme NF EN ISO 659 [39]. La totalité du prélèvement a été broyée (1095 Knifetec Mill, Foss Tecator, Höganäs Suède), puis deux aliquotes (18 g chacun) ont été placés chacun dans une cartouche de cellulose (Whatman Prolabo/Subra, Toulouse, France). L'huile a été extraite à l'hexane (mélange d'isomères Prolabo/Subra, Toulouse, France) dans un appareil de Soxhlet. Après 4 h d'extraction, l'huile de chaque échantillon a été récupérée sous vide (Rotavapor, Bioblock Scientific HS 40 HUBER, Heildolph) et stockée dans des piluliers à -18°C .

Analyses des tocophérols

La détermination de la teneur en tocophérols des huiles brutes a été réalisée selon la norme ISO 9936 [40]. La séparation complète des quatre formes de tocophérol a été obtenue par chromatographie liquide haute performance (HPLC) (SpectraPhysics, Thermo Separation Products, USA) équipé d'un passeur d'échantillon AS100. Un aliquote de $20\ \mu\text{L}$ d'un mélange huile/hexane (environ $1\ \text{g}/25\ \text{mL}$) a été injecté sur une colonne Lichrosorb SI60 ($250\ \text{cm} \times 4\ \text{mm} \times 5\ \mu\text{m}$, Cluzeau, France). La phase mobile était un mélange hexane : isopropanol ($99,7 : 0,3\ \text{v/v}$) de qualité HPLC (Prolabo, France) de débit $1\ \text{mL}/\text{min}$. Les quatre tocophérols ont été élués en 15 min et détectés à l'aide d'un spectromètre à fluorescence (Waters 2475 multi λ), à une longueur d'onde d'excitation de $298\ \text{nm}$ et une longueur d'onde d'émission de $344\ \text{nm}$. Le signal a été intégré à l'aide du logiciel PC 1000 de TSP pour OS/2.

Calibration externe

Les quatre formes des tocophérols ont été identifiées et quantifiées par une calibration externe à l'aide de 4 standards de tocophérols (Chromadex, USA). Pour l' α -tocophérol, une solution mère de $0,1\ \text{mg}/\text{mL}$ a été préparée puis quantifiée précisément par spectrophotométrie UV-Visible (Hitachi U-1100, Les Ulis, France) à $292\ \text{nm}$. À partir de cette solution mère d' α -tocophérol, cinq solutions ont été préparées : 5, 10, 20, 30 et $50\ \mu\text{g}/\text{mL}$ et injectées individuellement sur l'HPLC. Les solutions préparées pour la calibration des autres formes de tocophérol sont présentées dans le tableau 3. La préparation des solutions mères et des calibrations ont été répétées à chaque nouvelle série.

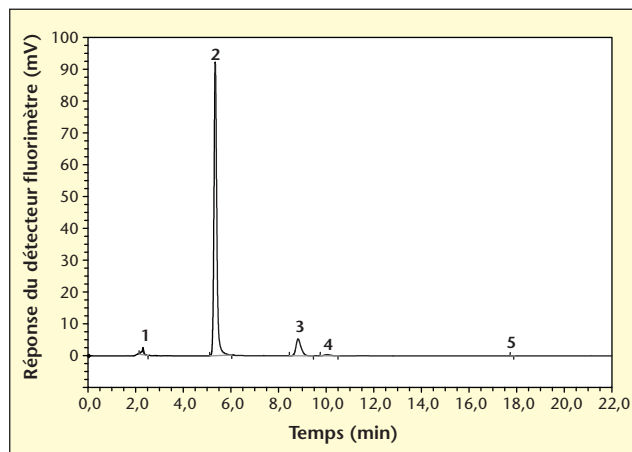


Figure 2. Fractionnement des isomères α , β , γ et δ -tocophérols par chromatographie en phase liquide. Pics : 1 : solvant, 2 : α -tocophérol ; 3 : β -tocophérol ; 4 : γ -tocophérol ; 5 : δ -tocophérol. Détection par fluorimétrie : $298\ \text{nm}$ (excitation) et $344\ \text{nm}$ [émission].

Traitement des données

Les analyses statistiques (corrélations et analyses de la variance (Anova) à deux facteurs) et la comparaison des moyennes ont été réalisées sous Microsoft Excel[®] pour Windows 97[®] et sous SPSS 11.5[®] (SPSS France, Paris).

Résultats

Les teneurs en huile ($40\text{-}55\%$) et le taux d'insaponifiable ($0,8\text{-}2\%$) observés sur l'ensemble des prélèvements sont ceux généralement rencontrés dans l'huile de tournesol [26]. Les chromatogrammes obtenus (figure 2) montrent une séparation efficace des 4 formes de tocophérols, les teneurs en tocotriénols sont inférieures au seuil de détection. L' α -tocophérol est l'isomère majoritaire, il représente entre $90,4$ et $98,5\%$ de la teneur totale, les formes (β et γ) sont minoritaires et la forme (δ) n'est pas détectable. Toutefois, l'huile de tournesol ne contient en général pas de δ -tocophérol ni de tocotriénols détectables [22].

Les droites d'étalonnage pour chaque tocophérol ont toutes été établies avec des coefficients de détermination (R^2) supérieurs à $0,98$ (figure 3).

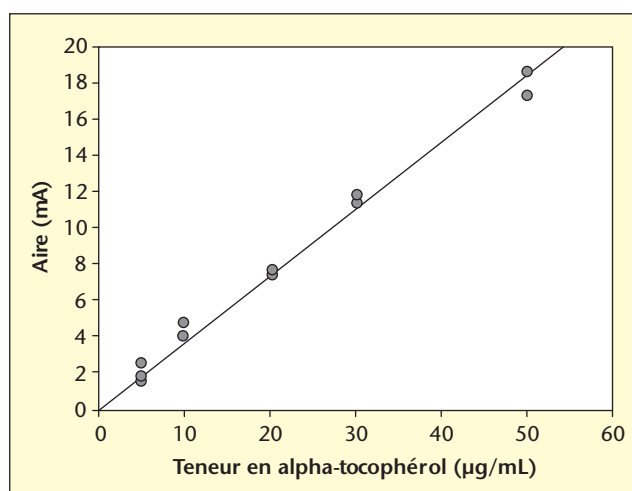


Figure 3. Droite d'étalonnage de l' α -tocophérol (détection : spectromètre à fluorescence).

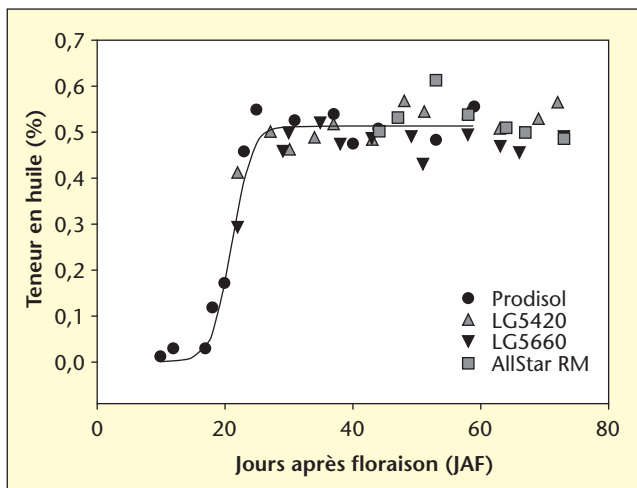


Figure 4. Évolution de la teneur en huile (en % de matière sèche - akènes non décortiqués) pour quatre variétés cultivées en 2002 en un lieu (Baziège, France).

Les teneurs en tocophérols sont exprimées en mg par kg d'huile (mg.kg^{-1} huile) ou en mg par kg de matière sèche d'akènes (mg.kg^{-1} MS).

Évolution de la teneur en huile au cours de la maturation de la graine

La teneur en huile semble fixée assez tôt chez l'ensemble des variétés étudiées : le plateau est atteint vers le 25^e jour après floraison. Après 35 jours, cette teneur reste relativement stable (figure 4). Les accumulations observées correspondent aux profils établis pour d'autres hybrides de tournesol [41, 42].

Évolution de la teneur en tocophérols au cours de la maturation de l'akène

Les différentes formes de tocophérols

Pour l'ensemble des variétés, dès 25 JAF, l' α -tocophérol représente plus de 90 % des tocophérols totaux. En 2002, cette proportion se stabilise ou augmente encore légèrement jusqu'à maturité (figure 5), tandis que les autres tocophérols (β et γ) diminuent progressivement. Dès 25 JAF, la teneur en γ -tocophérol est très faible (18 mg.kg^{-1} pour Prodisol, 40 mg.kg^{-1} pour AllStar RM et LG5660) par rapport à l' α -tocophérol, et elle ne cesse de décroître jusqu'à maturité (figure 5B). Le γ -tocophérol étant précurseur de la forme α , ce décalage des cinétiques révèle probablement une différence de cinétique d'expression des enzymes qui interviennent séquentiellement dans la synthèse de l' α -tocophérol au niveau des akènes. Le β -tocophérol suit la même cinétique que le γ -tocophérol (à 25 JAF : 98 mg.kg^{-1} pour Prodisol, 20 mg.kg^{-1} pour AllStar RM et LG5660).

En 2002, certaines variétés telles que Prodisol et Allstar-RM montrent une huile qui s'enrichit en α -tocophérol et en tocophérols totaux jusqu'à 75 JAF. Cependant, en 2003, dès 25 JAF la teneur en α -tocophérol tend à décroître et certaines variétés telles que Prodisol et LG5420 perdent jusqu'à plus de 1/3 de leur teneur entre le 25 JAF et 65 JAF (figure 6). Mozzon *et al.* [43] ont montré également, en étudiant une autre variété, que la teneur en α -tocophérol augmente jusqu'à environ 20 JAF puis décroît. Ainsi, la diminution systématique exposée par Prévot [44] ne semble pas de règle, mais plutôt dépendante des conditions environnementales. Il a été montré que la synthèse d' α -tocophérol pouvait être stimulée lors de la réponse à un stress, mais lorsque celui-ci est important, les capacités de régénération deviennent limitantes, et le stress se traduit

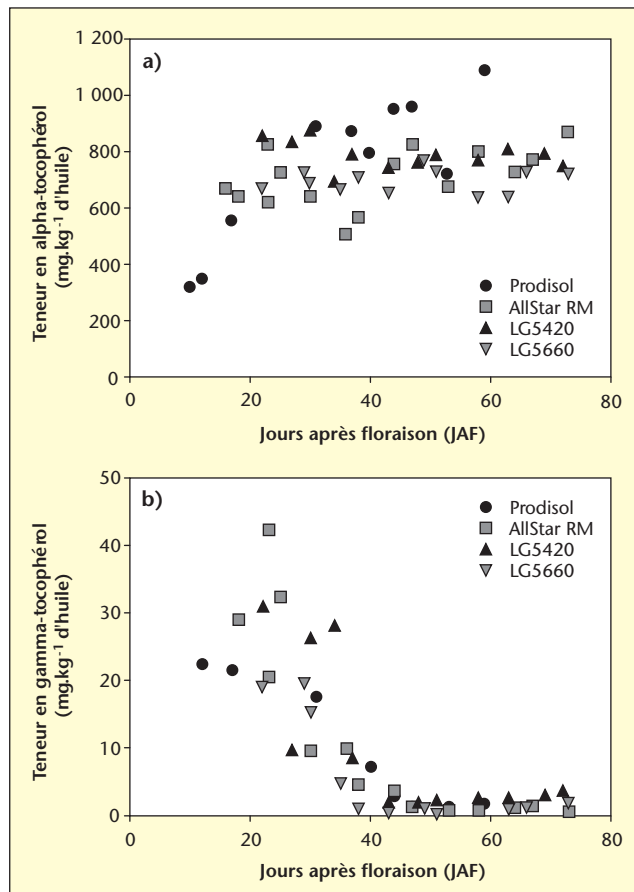


Figure 5. Évolution de la teneur en alpha- (a) et en gamma- (b) tocophérols lors de la maturation des graines de tournesol (récolte 2002 - un lieu (Baziège, France)).

alors par une perte nette en α -tocophérol [45]. Les conditions rencontrées dans le sud-ouest de la France en 2003, combinant déficit hydrique, températures élevées et fort rayonnement solaire, représentent un stress extrême qui pourrait être à l'origine de la diminution de la teneur en α -tocophérol observée dans cette étude.

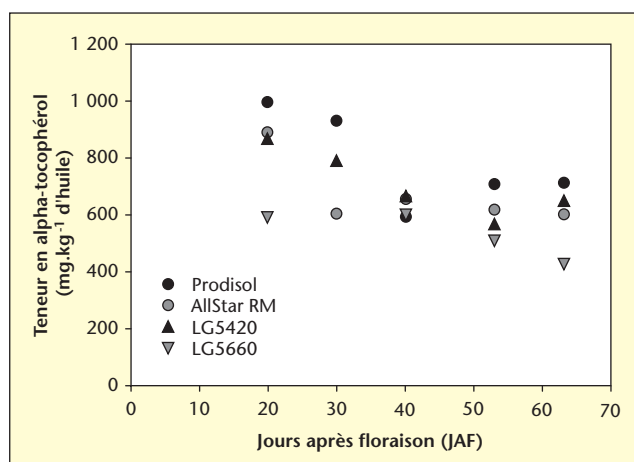


Figure 6. Évolution de la teneur en alpha-tocophérol lors de la maturation des akènes de tournesol (récolte 2003 - un lieu (Mondonville, France)).

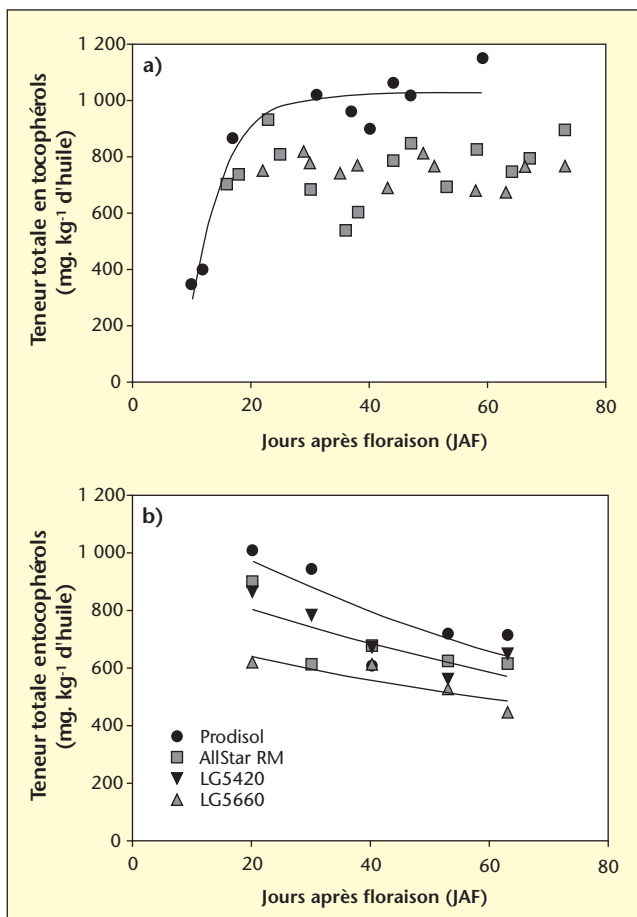


Figure 7. Évolution de la teneur totale en tocophérols (somme des 4 isomères) lors de la maturation des akènes. a. Récolte 2002 – Baziège – France ; b. Récolte 2003 – Mondonville – France.

Les tocophérols totaux

En 2002, on peut observer que la phase d'accumulation active des tocophérols coïncide avec celle des acides gras (figure 7A). Pour la variété Prodisol, des prélèvements ont été réalisés avant 20 JAF et montrent que la teneur en tocophérols augmente rapidement jusqu'au 30^e JAF pour se stabiliser vers une teneur maximale de 1 000 mg.kg⁻¹ d'huile. Pour les variétés Allstar RM et LG5660, l'absence de prélèvement avant le 20^e JAF ne permet pas d'observer cette accumulation. À partir du 25^e JAF la teneur en tocophérols se stabilise à une valeur moindre de 750 mg.kg⁻¹ d'huile.

Pour la récolte 2003, les profils d'accumulation des tocophérols totaux (figure 7b) montrent une relative superposition des profils quelle que soit la variété, cependant ces profils diffèrent des profils précédemment obtenus. Notons qu'avant 20 JAF, aucun prélèvement n'a été effectué, ce qui ne permet pas de rendre compte de l'accumulation des tocophérols totaux. L'absence d'une stabilisation des teneurs en tocophérols peut être justifiée par l'effet des fortes températures pendant cette période induisant une consommation de ceux-ci. Le classement observé en 2002 reste inchangé, la variété Prodisol présente toujours la teneur la plus élevée en tocophérols, avec 750 mg.kg⁻¹ d'huile à maturité.

L'effet de l'environnement, essentiellement de la température, semble être un facteur clé dans la teneur de l'huile en tocophérols. De fortes températures durant le remplissage de l'akène sont susceptibles de limiter l'accumulation des tocophérols, comme il a déjà été observé lors du remplissage de la graine chez le soja [27]. Les températures élevées

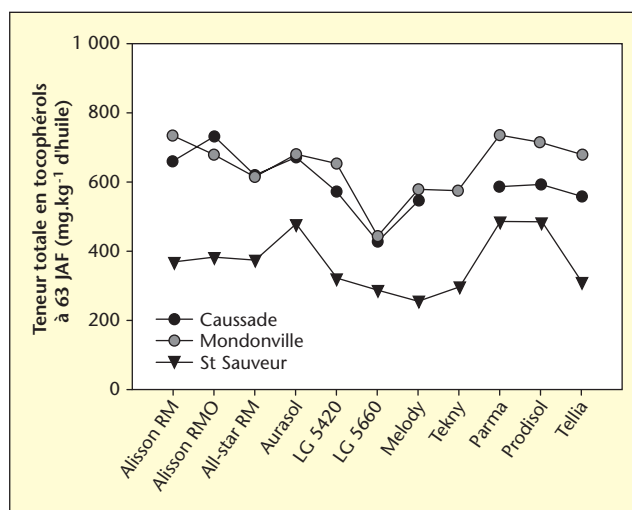


Figure 8. Comparaison de la teneur en tocophérols totaux de 11 hybrides de tournesol sur 3 lieux en 2003 : Caussade (81), Mondonville (31) et St Sauveur (31).

ont une action négative déjà bien connue sur l'appareil végétatif, liée au stress oxydatif dans les chloroplastes : elles entraînent systématiquement une diminution de la teneur totale en tocophérols reflétant leur utilisation pour la préservation des membranes [19]. Les proplastides des cotylédons de l'embryon sembleraient donc avoir le même comportement.

Effets du lieu de culture et du génotype sur la teneur en tocophérols à maturité

La teneur en tocophérols à maturité a été analysée dans l'huile de 11 hybrides cultivés sur trois lieux en 2003 (figure 8). Elle varie entre 261 et 734 mg.kg⁻¹ d'huile, soit entre 89 et 406 mg de tocophérols par kg de matière sèche. La différence très significative entre les essais réalisés à Mondonville (31) et Caussade (82) et ceux réalisés à St Sauveur (31) est probablement liée aux conditions de réalisation de l'essai. En effet, sur le site de St Sauveur les capitules sont restés empochés jusqu'à la récolte. La température moyenne au niveau du capitule a donc été plus élevée, ce qui a amplifié l'effet du stress thermique lors du remplissage des akènes. La teneur en tocophérols apparaît donc ici aussi particulièrement sensible à l'élévation de la température. L'analyse de variance (Anova) montre que les effets génétiques et environnementaux affectent significativement la teneur totale en tocophérols (tableau 4). Bien que significative, l'interaction génotype - lieu ne représente qu'une part minime de la variance totale.

L'effet génotype est également significatif : les variétés Prodisol, Aurasol & Alisson RM montrent un plus fort potentiel de production de tocophé-

Tableau 4. Analyse de variance de 11 hybrides de tournesol cultivés sur trois lieux (Caussade, Mondonville, St Jory) en 2003.

Source de variation	Tocophérols totaux			
	dl	SC	MC	F
Lieu	2	1212324	606162	319,5*
Génotype	9	643992	71555	37,8*
L x G	18	153053	8503	4,5*
Erreur	83	157468	1897	

(dl : degré de liberté ; SC : somme des carrés ; MC : moyenne des carrés ; F : test statistique ; * P < 0,01).

rols totaux et d' α -tocophérol que Melody et LG5660. L'étude menée en 2002 corrobore ces tendances, la variété Prodisol présentant une teneur en tocophérols significativement plus élevée que LG5660 (figure 7A). Ces résultats indiquent que les interactions génotype-environnement sont plutôt faibles, étant donné la différence importante de conditions climatiques entre ces deux années.

Discussion

Au cours de ce travail, la teneur et la composition en tocophérols d'hybrides commerciaux ont été analysées. L'étude sur la cinétique de remplissage des akènes en tocophérols montre une augmentation des teneurs jusqu'à 25 JAF puis une stabilisation de ceux-ci. Cependant, au regard des résultats obtenus, la température semble être un facteur clé dans la teneur en tocophérols dans l'huile. Les fortes températures durant le remplissage de l'akène limiteraient l'accumulation des tocophérols afin de préserver du stress oxydatif la plante. Cette étude montre aussi que la variabilité de la teneur en tocophérols dans l'huile de tournesol comprend une composante génétique significative ; ainsi, Prodisol présente en moyenne une teneur en tocophérols totaux de 36 % plus élevée que LG5660. De plus, l'interaction génotype-environnement apparaît plutôt faible dans cette étude. Une stabilité de l'expression des performances variétales, et une variabilité génétique suffisante pourraient rendre possible la sélection de variétés hybrides avec des teneurs en tocophérols élevées, voire de combiner cette sélection avec la production de profils modifiés, comme cela se fait déjà pour les acides gras. Des transformations stables du profil des tocophérols par mutagenèse ont d'ailleurs été récemment obtenues chez le tournesol [36, 37].

Ainsi, les données collectées au cours de ces travaux permettent de montrer que les teneurs en tocophérols pourraient être augmentées par sélection variétale, et peut-être aussi en veillant à la conduite culturale. Le tournesol est une culture bien implantée en France (en 2005 : 650 000 ha) [46] mais subit les évolutions du marché : augmentation de la sole oléique au détriment du tournesol classique. Déjà bien reconnue en alimentation par sa composition en acides gras et en vitamine E ; l'huile de tournesol jouit d'une bonne image diététique, et représente 28 % de la consommation apparente en France [47]. Outre les applications alimentaires, l'huile de tournesol (notamment oléique) présente un intérêt industriel pour la production d'esters d'acides gras (secteur des biocarburants et potentiel de développement dans celui des biolubrifiants) [48, 49]. Une fraction insaponifiable contenant les tocophérols et les phytostérols est isolée lors des transformations industrielles ; c'est un co-produit à fort potentiel de valorisation. Ainsi, plus l'huile sera riche en ces composés, plus la plus-value sera élevée. En conséquence, une sélection pour la qualité, intégrant non seulement le profil en acides gras insaturés mais aussi les tocophérols et d'autres molécules d'intérêt santé (i.e. phytostérols), pourrait présenter un grand intérêt pour cette culture. Cette approche nécessite cependant une étude approfondie combinant des approches génétiques et agronomiques.

Remerciements. Les auteurs remercient Caussade semences, Maisadour semences, Monsanto Dekalb SAS, R2n-RAGT Semences, Soltis (Euralis/Limagrain), Syngenta Seeds pour les expérimentations réalisées en plein champ et la fourniture du matériel végétal. Nous remercions l'Association inter-professionnelle du développement des semences du Sud-Ouest (Asedis-SO), l'interprofession des oléagineux (Onidol) et la plate-forme Lipoléochimie de la Région Midi-Pyrénées pour leurs soutiens financiers et la société Cognis-France pour son soutien technique.

RÉFÉRENCES

1. VLAHAKIS C, HAZEBROEK J. Phytosterol accumulation in canola, sunflower, and soybean oils : Effects of genetics, planting location, and temperature. *J Am Oil Chem Soc* 2000 ; 77 : 49-53.

2. BURTON GW, TRABER MG, ACUFF RV, *et al.* Human plasma and tissue alpha-tocopherol concentrations in response to supplementation with deuterated natural and synthetic vitamin E. *Am J Clin Nutr* 1998 ; 67 : 669-84.
3. IGARASHI O, KIYOSE C. Physiological functions of vitamin E and biodiscrimination of its stereoisomers. *Anticancer Res* 1999 ; 19 : 3783-5.
4. STONE WL, LECLAIR I, PONDER T, BAGGS G, REIS BB. Infants discriminate between natural and synthetic vitamin E. *Am J Clin Nutr* 2003 ; 77 : 899-906.
5. BEARDSSELL D, FRANCIS J, RIDLEY D, ROBARDS K. Health promoting constituents in plant derived edible oils. *J Food Lipids* 2002 ; 9 : 1-34.
6. NIKI E. Antioxidants and atherosclerosis. *Biochem Soc T* 2004 ; 32 : 156-9.
7. LÉGER C. La vitamine E : état actuel des connaissances, rôle dans la prévention cardiovasculaire, biodisponibilité. *OCL* 2000 ; 7 : 257-65.
8. AZZI A, BREYER I, FEHER M, *et al.* Nonantioxidant functions of alpha-tocopherol in smooth muscle cells. *J Nutr* 2001 ; 131 : 3785-3815.
9. MICHAUD DS, PIETINEN P, TAYLOR PR, *et al.* Intakes of fruits and vegetables, carotenoids and vitamin A, E, C, in relation to the risk of bladder cancer in the ATBC cohort study. *Br J Cancer* 2002 ; 87 : 960-5.
10. NETSCHER T. Synthesis and production of vitamin E. In : Gunstone FD, ed. *Lipid Synthesis and Manufacture*. Sheffield : Academic Press, 1999 : 250-67.
11. EC. European Parliament and Council Directive No 95/2/EC. In : *Foods Additives other than colours and sweeteners*. 1995 : 1-40.
12. LAMPI AM, KAMAL-ELDIN A, PIIRONEN V. Tocopherols and tocotrienols from oil and cereal grains. *Fun Fo Nutr Series* 2002 ; 2 : 1-38.
13. SCHNEIDER C. Chemistry and biology of vitamin E. *Mol Nutr Food Res* 2005 ; 49 : 7-30.
14. LODGE JK. Vitamin E bioavailability in humans. *J Plant Physiol* 2005 ; 162 : 790-6.
15. DELLAPENNA D, POGSON B. Vitamin synthesis in plants : Tocopherols and carotenoids. *Annu Rev Plant Biol* 2006 ; 57 : 711-38.
16. SOLL J, SCHULTZ G, JOYARD J, DOUCE R, BLOCK A. Localization and synthesis of Prenylquinones in isolated outer and inner envelope membranes from Spinach chloroplasts. *Arch Biochem Biophys* 1985 ; 238 : 290-9.
17. VIDI P, KANWISCHER M, BAGINSKY S, *et al.* Tocopherol cyclase (VTE1) localization and vitamin E accumulation in chloroplast plastoglobule lipoprotein particles. *J Biol Chem* (In press).
18. HAVAUX M, LUTZ C, GRIMM B. Chloroplast membrane photostability in chIP transgenic tobacco plants deficient in tocopherols. *Plant Physiol* 2003 ; 132 : 300-10.
19. MUNNÉ-BOSCH S, ALEGRE L. The function of tocopherols and tocotrienols in plants. *Crit Rev Plant Sci* 2002 ; 21 : 31-57.
20. GRUSAK MA, DELLAPENNA D. Improving the nutrient composition of plants to enhance human nutrition and health. *Annu Rev Plant Phys* 1999 ; 50 : 133-61.
21. FRANKEL EN. Lipid Oxidation : Mechanisms, Products and Biological Significance. *J Am Oil Chem Soc* 1984 ; 61 : 1908-16.
22. BRAMLEY PM, ELMAFDA I, KAFATOS A, *et al.* Vitamin E. *J Sci Food Agr* 2000 ; 80 : 913-38.
23. SATTLER SE, GILLILAND LU, MAGALLANES-LUNDBACK M, POLLARD M, DELLAPENNA D. Vitamin E is essential for seed longevity, and for preventing lipid peroxidation during germination. *Plant Cell* 2004 ; 16 : 1419-32.
24. DAOOD H, VINKEL M, MARKUS F, HEBISHI EA, BIACS PA. Antioxidant vitamin content of spice red pepper (paprika) as affected by technological and varietal factors. *Food Chem* 1996 ; 55 : 365-72.
25. LAMPART-SZCZAPA E, KORCZAK J, NOGALA-KALUCKA M, ZAWIRSKA-WOJTASIAK R. Antioxidant properties of lupin seed products. *Food Chem* 2003 ; 83 : 279-85.

26. MERRIEN A, MORICE J, POUZET A, MORIN O, SULTANA C. Graines oléagineuses des climats tempérés et leurs huiles. In : Karleskind A, ed. *Manuel des corps gras*. Paris : Tec&Doc, 1992 : 116-64.
27. DOLDE D, VLAHAKIS C, HAZEBROEK J. Tocopherols in breeding lines and effects of planting location, fatty acid composition, and temperature during development. *J Am Oil Chem Soc* 1999 ; 76 : 349-55.
28. KURILICH AC, JUVIK JA. Quantification of carotenoid and tocopherol antioxidants in *Zea mays*. *J Agr Food Chem* 1999 ; 47 : 1948-55.
29. GOFFMAN FD, BECKER HC. Genetic variation of tocopherol content in a germplasm collection of *Brassica napus* L. *Euphytica* 2002 ; 125 : 189-96.
30. VELASCO L, FERNANDEZ-MARTINEZ JM, GARCIA-RUIZ R, DOMINGUEZ J. Genetic and environmental variation for tocopherol content and composition in sunflower commercial hybrids. *J Agr Sci* 2002 ; 139 : 425-9.
31. BERGMAN CJ, XU Z. Genotype and environment effects on tocopherol, tocotrienol, and gamma-oryzanol contents of Southern US rice. *Cereal chem* 2003 ; 80 : 446-9.
32. HAMPSHIRE J. Investigations of vitamin E contents in oat varieties and industrial milling oats. *Deut Lebensm-Rundsch* 2003 ; 99 : 222-31.
33. MARWEDE V, SCHIERHOLT A, MOLLERS C, BECKER HC. Genotype X environment interactions and heritability of tocopherol contents in canola. *Crop Sci* 2004 ; 44 : 728-31.
34. ALMONOR GO, FENNER GP, WILSON RF. Temperature effects on tocopherol composition in soybeans with genetically improved oil quality. *J Am Oil Chem Soc* 1998 ; 75 : 591-6.
35. BRITZ SJ, KREMER DF. Warm temperatures or drought during seed maturation increase free alpha-tocopherol in seeds of soybean (*Glycine max* L. Merr.). *J Agr Food Chem* 2002 ; 50 : 6058-63.
36. DEMURIN Y, SKORIC D, KARLOVIC D. Genetic variability of tocopherol composition in sunflower seeds as a basis of breeding for improved oil quality. *Plant Breed* 1996 ; 115 : 33-6.
37. VELASCO L, PEREZ-VICH B, FERNANDEZ-MARTINEZ JM. Novel variation for the tocopherol profile in a sunflower created by mutagenesis and recombination. *Plant Breed* 2004 ; 123 : 490-2.
38. BAYDAR H, ERBAS S. Influence of seed development and seed position on oil, fatty acids and total tocopherol contents in sunflower (*Helianthus annuus* L.). *Turk J Agric For* 2005 ; 29 : 179-86.
39. AFNOR. Norme Européenne, NF EN ISO 659 ; Norme française V 03-905 : Graines oléagineuses. Détermination de la teneur en huile (Méthode de référence). Paris, p. 14+ 3. 1998.
40. ISO. Norme Internationale ISO 9936 : Corps gras d'origine animale et végétale- Détermination des teneurs en tocophérols et en tocotriénols- Méthode par chromatographie en phase liquide à haute performance. Suisse, p. 11. 1997.
41. LAGRAVERE T, KLEIBER D, SURELO O, ET AL. Comparison of fatty acid metabolism of two oleic and one conventional sunflower hybrids : A new hypothesis. *J Agron Crop Sci* 2004 ; 190 : 223-9.
42. TRIKI S, BEN HAMIDA J, MAZLIAK P. Study of the metabolism of lipid reserves in ripening sunflower seeds : a tracing experiment with 1-C-14 acetate. *OCL* 1997 ; 4 : 451-8.
43. MOZZON M, BOCCI F, FREGA N. A study on the lipidic fraction extracted from high oleic sunflower seeds (*Helianthus annuus* L.) during the ripening process. *J Agr Food Chem* 1998 ; 46 : 4198-202.
44. PREVOT A. L'huile de tournesol aujourd'hui. *Rev Fr corps gras* 1986 ; 1 : 183-95.
45. MUNNÉ-BOSCH S. The role of alpha-tocopherol in plant stress tolerance. *J Plant Physiol* 2005 ; 162 : 743-8.
46. CETIOM. (2006).
47. PROLEA. De la production à la consommation. *Recueil de statistiques des oléagineux et protéagineux, huiles et protéines végétales*. Paris : France-Europe-Monde, 2005 ; (p. 1-128).
48. BALLERINI D. *Les biocarburants : Etat de lieux, perspectives et enjeux du développement*. Paris : IFP Publications., 2006.
49. DE CARO D, CECUTTI C. Lubrifiants et environnement. *OCL* 2005 ; 12 : 279-84.