

Évaluation de la biodiversité de quelques cucurbitacées d'Afrique subsaharienne à partir des données chromatographiques (CGC et CLHP)

Approche statistique

Marie Geneviève MALOUMBI¹
 Jocelyne DHELLOT²
 Thomas SILOU²
 Alain TCHAPLA¹
 Sylvie HÉRON¹

¹ Groupe de chimie analytique de Paris-Sud,
 EA 40-41, LETIAM, IUT d'Orsay (Univ. Paris
 Sud), Plateau du Moulon,
 F 91400 Orsay, France
 <mgmaloumbi@yahoo.fr>
 <sylvie.heron@iut-orsay.fr>

² Equipe pluridisciplinaire de recherche
 sur l'alimentation et la nutrition (EPRAN),
 Faculté des Sciences BP 69, Brazzaville, Congo

Abstract: Two triacylglycerol quantitative analysis methods, needing none standard, using liquid chromatography coupled with light scattering detection, as well as fatty acid methyl esters quantitative analysis using capillary gas chromatography were led. In application, seed oil saponifiable fraction composition of eight groups of cucurbitaceae's seeds from equatorial and west Africa was determined. Their correct classification and their differentiation using respectively factorial discriminant and principal component analysis were investigated. It is demonstrated that the best method for characterizing an oil is the new original triacylglycerol quantitative analysis reported in this article. The interest of the two other methods is also reported.

Key words: triacylglycerols, quantitative analysis without standard, HPLC, ELSD, PCA, FDA, cucurbitacees

Introduction

Les huiles non conventionnelles constituent une alternative de développement pour les populations des pays émergents [1]. Parmi elles, les graines de cucurbitacées avec leur forte teneur en lipides sont de bonnes candidates [2, 3]. Nous avons donc entrepris de déterminer la composition de la fraction saponifiable des graines de cucurbitacées consommées couramment dans la région équatoriale et ouest-africaine.

Usuellement cette composition est donnée par le bilan pondéral des esters méthyliques des acides gras constitutifs issu d'analyses menées en chromatographie gazeuse capillaire (CGC) [4]. Elle ne permet pas de connaître la composition réelle en triacylglycérols (TAG). Bien que l'analyse directe des TAG par CGC soit possible, elle nécessite de travailler à haute température, des conditions approchant les limites actuelles de cette technique analytique [5, 6]. La chromatographie liquide haute performance (CLHP) offre une alternative mieux adaptée à leur analyse. Les études sont alors menées en mode de polarité inversée de phases non aqueuses (NARP) [7-9]. Parmi tous les modes de détection des TAG possibles, le détecteur évaporatif à diffusion de la lumière (DEDL) offre un des meilleurs compromis [10], bien qu'il ne donne ni de réponse directement proportionnelle à la concentration pour un soluté donné, ni identique pour chacun des solutés [11]. En conséquence, l'analyse quantitative de tous les TAG d'un mélange nécessite la détermination de la courbe d'étalonnage de chacun d'entre eux.

Dans ce travail nous avons utilisé deux méthodes permettant d'exploiter de manière quantitative les résultats obtenus en CLHP-DEDL sans avoir besoin de standards : la première basée sur la détermination de rapports d'aires normalisés [12], l'autre basée sur l'établissement préalable de la courbe générale de réponse du DEDL [13, 14].

Les bilans quantitatifs obtenus par les trois méthodes chromatographiques (2 en CLHP, 1 en CGC) ont été traités par analyse de données afin de mettre en évidence leurs avantages et leurs inconvénients respectifs dans le but de différencier les huiles qui dans le cas particulier de cette étude ont été des huiles de cucurbitacées.

Matériel et méthodes

Solvants

L'hexane, le chloroforme, le THF (VWR International, Fontenay-sous-bois, France), l'acétonitrile (Acros, Noisy le Grand, France) et le chlorure de méthylène (Carlo Erba, Milan, Italie) étaient tous de qualité HPLC.

Article reçu le 15 juin 2007
 accepté le 25 mai 2008

FONDAMENTAL

doi: 10.1684/ocl.2008.0195

Matériel végétal

Les graines proviennent de cinq pays : la République Démocratique du Congo (RDC), la République Centrafricaine (RCA), le Cameroun, le Niger et le Congo Brazzaville. Dans ce dernier cas elles proviennent des zones suivantes : Bouenza-Lekoumou, Pool, Plateaux Batékés, Brazzaville et Pointe-Noire.

Trente-quatre huiles de graines issues de huit espèces différentes de six genres de Cucurbitacées (tableau 1) ont été analysées. Afin de garantir l'authenticité des espèces sélectionnées, les graines analysées ont été achetées séchées et non décortiquées. Le décorticage a été fait manuellement.

L'extraction des lipides totaux a été conduite selon un mode opératoire précédemment décrit [12].

Analyse des acides gras par chromatographie en phase gazeuse (CGC) (méthode 1)

L'analyse des esters méthyliques d'acides gras obtenus après transestérification a été réalisée en suivant les conditions expérimentales décrites par Silou *et al.* [15]. L'ester méthylique de l'acide heptadécanoïque a été choisi comme étalon interne.

Analyse des triacylglycérols par chromatographie liquide haute performance (CLHP) (méthodes 2 et 3)

Les conditions analytiques ont été précédemment décrites [8, 9]. L'identification des TAG a été effectuée selon la méthodologie de Héron

Tableau 1. Origine et codification des graines de cucurbitacées analysées (les chiffres représentent les deux derniers chiffres de l'année de récolte).

Pays/Lieux de collecte de graines	Genres et espèces de graines	Codification des graines
Congo BZV/Mouyondzi (Mouy)	<i>Citrullus lanatus</i>	Cl _{Mouy 03}
	<i>Cucurbita moschata</i>	Cmo _{Mouy 03}
	<i>Ntsouéké</i>	NTS _{Mouy 03}
Congo BZV/Tshiguiri (Tshi)	<i>Cucurbita pepo</i>	Cp _{Tshi03}
Congo BZV/Plateau Batéké (Plat)	<i>Cucurbita moschata</i>	Cmo _{Plat05}
	<i>Cucurbita pepo</i>	Cp _{Plat05}
Congo BZV/Kibouendé (Kiboué)	<i>Lagenaria siceraria</i>	Ls _{Kiboué 03}
Congo BZV/Kibongui (Kibo)	<i>Cucurbita pepo</i>	Cp _{Kibo 03}
Congo BZV/Loungui (Loui)	<i>Lagenaria siceraria</i>	Ls _{Loui 03}
Congo BZV/Mati (Mat)	<i>Lagenaria siceraria</i>	Ls _{Mat 03}
Congo BZV/Mbanza-Nkolo (Mbk)	<i>Cucurbita moschata</i>	Cmo _{Mbk03}
	<i>Cucurbita pepo</i>	Cp _{Mbk 02}
Congo BZV/Mbanza- Ndounga (MbNd)	<i>Lagenaria siceraria</i>	Ls _{MbNd 03}
Congo BZV/Brazzaville (Bzv)	<i>Citrullus lanatus</i>	Cl _{Bzv 01} , Cl _{Bzv 03}
	<i>Cucurbita moschata</i>	Cmo _{Bzv 03}
	<i>Cucurbita pepo</i>	Cp _{Bzv 01} , Cp _{Bzv 03}
	<i>Luffa cylindrica</i>	Lc ₀₃
Congo BZV/Pointe Noire (P/N)	<i>Citrullus lanatus</i>	Cl _{P/N 03}
	<i>Cucurbita moschata</i>	Cmo _{P/N 03}
	<i>Cucurbita pepo</i>	Cp _{P/N 03}
RDC/Bas-Ndoudou (RDC)	<i>Citrullus lanatus</i>	Cl _{RDC 03}
RDC/Bas-Zaire (RDC)	<i>Mbika</i>	Mbi ₀₃
République centrafricaine (RCA)	<i>Citrullus lanatus</i>	Cl _{RCA04}
	<i>Cucurbita pepo</i>	Cp _{RCA 04}
	<i>Lagenaria siceraria</i>	Ls _{RCA 04}
Cameroun (Cam)	<i>Cucurbita pepo</i>	Cp _{Cam 04}
	<i>Lagenaria siceraria</i>	Ls _{Cam04}
	<i>Cucumis sativus</i>	Cs _{Cam04}
Niger	<i>Lagenaria siceraria</i>	Ls _{Niger04}

et al. [16] en prenant les huiles de courge, soja et calophyllum [9] comme référence.

L'analyse des TAG dans le cas de la méthode 3 a été conduite en mode gradient d'élution MeCN/CH₂Cl₂ (70/30 à 40/60 en 35 min) à un débit de 1 ml/min.

Pour chaque méthode, chaque huile a fait l'objet de six analyses indépendantes.

Analyse de données

Le grand nombre de données à traiter, (5×34) pour les esters méthyliques et (18×34) pour les triacylglycérols, l'a été en analyse factorielle discriminante et en analyse en composantes principales (XL-stat. Version 7.1, Addinsoft, Paris, France).

Méthodologie

Analyse par CLHP basée sur des valeurs relatives, rapports d'aires normalisés (méthode 2)

Afin de pouvoir comparer les différentes huiles, la concentration et le volume injectés ont été adaptés de telle façon que l'aire du TAG PLL pris en référence et présent dans toutes les huiles soit la même. Le rapport : aire du pic de chaque TAG/aire du pic de PLL permet alors de comparer l'abondance relative de chaque TAG pour les différentes huiles analysées [12].

Analyse par CLHP basée sur la détermination de la courbe générale de réponse du DEDL (méthode 3)

La réponse d'un DEDL est couramment modélisée par la relation empirique : $A = a \cdot m^b$, avec A surface du pic chromatographique, m masse du composé, a coefficient de réponse du détecteur et b, exposant de la loi de puissance. a et b dépendent de nombreux paramètres [11] et sont déterminés expérimentalement à partir des courbes de réponse tracées pour chaque TAG sous la forme dérivée $\log A = \log a + b \log m$. Plusieurs auteurs ont remarqué que lorsque b augmente, log a diminue [14]. Récemment Héron *et al.* ont montré que b et log a varient proportionnellement [14], que l'analyse soit conduite en phase mobile partiellement aqueuse ou non aqueuse, pour un seul composé analysé dans différentes conditions, pour plusieurs composés de classes chimiques différentes analysés dans une même phase mobile ou encore avec différentes températures du tube évaporateur du DEDL. Ceci a été mis à profit pour proposer une nouvelle méthode de dosage lorsque les standards de chaque soluté ne sont pas disponibles. Elle nécessite la détermination préalable de cette relation de proportionnalité. La démarche qui a été proposée se décompose en trois étapes [13].

Détermination de la réponse générale du DEDL

Cela nécessite de déterminer expérimentalement le couple de valeurs (b, log a) à partir du tracé de la courbe d'étalonnage $\log A = \log a + b \log m$ de composés standard choisis préalablement, que ces standards soient présents ou non dans le mélange. Il suffit alors de tracer la droite de réponse générale du détecteur $b = f(\log a)$. Afin d'avoir une bonne précision sur le tracé de cette droite il faut déterminer un minimum de six valeurs différentes de couples (b, log a) couvrant une grande étendue de valeurs expérimentales de b. Plus les composés standard choisis sont de structures chimiques proches de celles des composés à analyser, meilleure sera la précision du dosage.

Détermination de la valeur de b de chacun des solutés d'un mélange

Elle nécessite l'analyse chromatographique d'au moins trois solutions du mélange à analyser de dilution différente. La valeur numérique de b est

donnée par la pente des courbes $\text{Log } A = f(\text{coefficient de dilution})$ établies pour chacun des composés, à la seule condition que la mesure de sa surface de pic A soit précise, c'est-à-dire que les pics soient bien résolus.

Détermination des quantités de solutés présents dans un mélange complexe

Connaissant pour chacun des composés du mélange (qu'ils soient identifiés ou non) la valeur de b, on remonte à (Log a) grâce à l'équation établie à la première étape. Finalement, à partir de la surface du pic chromatographique, la masse de chacun des solutés présents dans l'échantillon est obtenue grâce à la relation :

$$m = \sqrt[3]{\frac{A}{a}}$$

réciproque de $A = a \cdot m^3$

Résultats obtenus

Composition en acides gras (méthode 1)

L'ensemble des huiles analysées présente la même composition qualitative. Les esters méthyliques de cinq acides gras ont été identifiés : les esters palmitique EP, stéarique ES, oléique EO, linoléique EL et linoléique ELn.

Composition en triacylglycérols (TAG)

Les 18 mêmes TAG ont été identifiés, quelle que soit l'huile analysée : six majoritaires (LLL, OLL, PLL, OOL, SLL, POL), neuf minoritaires (PPL, OOO, SOL, POO, PSL, PPO, SOO, SSL, PSO) et trois à l'état de traces (LlnLn, LLnLn, LLLn).

Comme en CGC, les chromatogrammes HPLC des huiles présentent des profils similaires.

Analyse statistique des résultats

Les résultats obtenus par les trois méthodes de dosages pour chacune des 34 huiles, ont été comparés en analyse factorielle discriminante (AFD) et en analyse en composantes principales (ACP).

Dans le cadre de cette étude, l'AFD a été utilisée pour déterminer si une huile classée *a priori* dans un groupe appartenait bien à ce groupe et pour mettre en évidence les variables analytiques permettant de les regrouper. La donnée qualitative dont on a cherché à contrôler la pertinence était le genre et l'espèce de chaque graine, à savoir : *Citrullus lanatus* (Cl), *Cucurbita moschata* (Cmo), *Cucurbita pepo* (Cp) et *Lagenaria siceraria* (Ls). Les huiles de Mbika (Mbi), *Cucumis sativus* (Cs Cam), *Ntsouéki Mouyondzi* (NTS Mouy) et *Luffa cylindrica* (Lc) ont été enlevées de l'étude en AFD car obtenues à partir d'un seul individu. L'analyse en composantes principales a été utilisée pour voir comment les différentes huiles de Cucurbitacées se répartissent les unes par rapport aux autres, et sur quel critère elles se ressemblent ou se différencient.

Analyse factorielle discriminante : AFD

Les diagrammes obtenus sont représentés sur les figures 1A, 2A et 3A (pour la représentation des vecteurs correspondants aux variables) et 1B, 2B et 3B (pour la position des individus dans ce diagramme).

Quelle que soit la méthode quantitative utilisée, la somme des variabilités des axes F1 et F2 est supérieure à 96,5 %. Cela conduit à une excellente représentation de l'ensemble de l'information, permettant de classer et de discriminer les huiles de graine à partir de leur composition pondérale en AG ou en TAG.

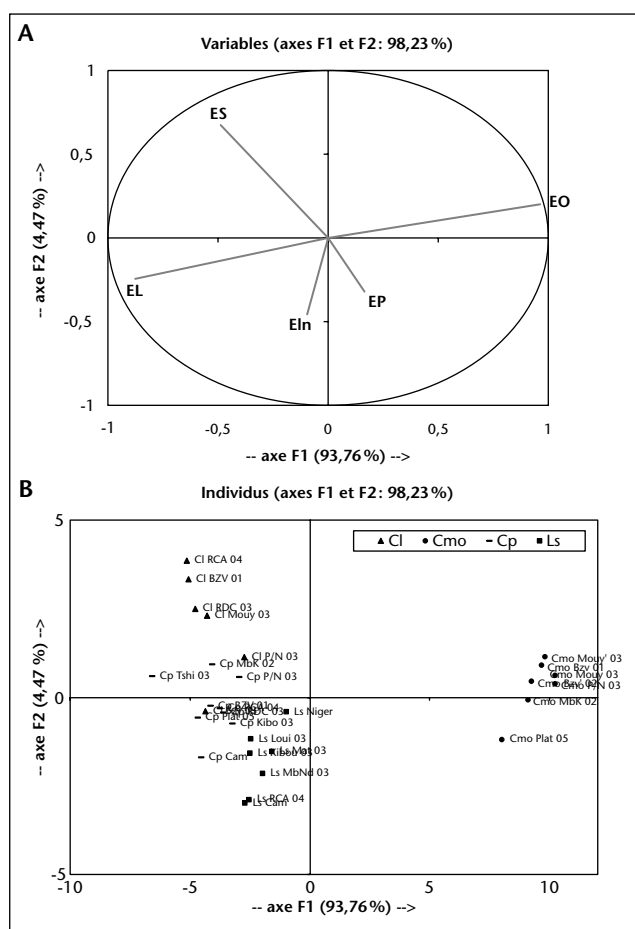


Figure 1. AFD obtenue à partir des esters méthyliques d'acides gras (méthode 1). A) Représentation des variables, B) représentation des individus.

AFD à partir de la composition en esters méthyliques (méthode 1)

Toutes les huiles issues d'un même genre et espèce de graine se regroupent à l'exception de Cl Bzv 03 et Cp Cam qui se retrouvent respectivement au milieu de Ls et Cp (figure 1B).

L'axe F1 (94 % de l'information) est corrélé à l'abondance relative de EO et EL (figure 1A) qui gouvernent principalement la classification des huiles.

Les huiles Cmo sont caractérisées par un plus fort taux de EO alors que celles de Cl, Cp et Ls le sont par un plus fort taux de EL. À taux de EL proche, le groupe Cl se distingue par une quantité plus importante de ES, tandis que le groupe Ls est caractérisé par une quantité plus importante en Eln et EP (cf. la position par rapport à l'axe F2), le groupe Cp étant intermédiaire.

L'axe F2 ne représente que 4,5 % de la variabilité totale. Il peut expliquer que la faible différence de composition pour Cl Bzv 03 et Cp Cam comparativement aux autres graines Cl et Cp conduise à leur déplacement dans le plan F1F2 et éloigne chacune d'entre elles des autres huiles classées *a priori* dans le même groupe.

AFD à partir de la composition relative en TAG (méthode 2)

Les huiles se regroupent très bien en fonction de leur genre et espèce (figure 2B). Les huiles du genre et espèce Cmo sont très bien séparées des huiles issues des trois autres genres ou espèces Cl, Cp et Ls qui sont très proches. Seule l'huile ClBzv03 est mal classée.

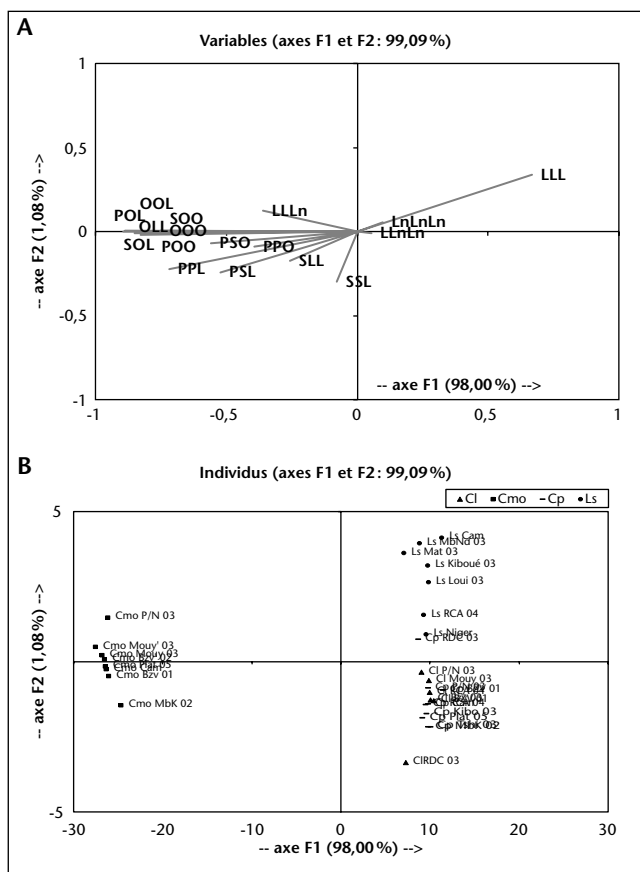


Figure 2. AFD obtenu à partir des triacylglycérols (TAG). Méthode des aires normalisées (méthode 2). A) Représentation des variables, B) représentation des individus.

Avec 17 variables, 99 % de la variabilité s'exprime dans le plan F1F2 (figure 2A). L'axe F1 est principalement gouverné par le taux de TAG à résidu O (OOL, OOO, POO) qui est anti-corrélé à celui de LLL. Ainsi, les huiles Cmo sont plus riches en TAG à résidu O et moins riches en LLL que Cp, Ls et Cl. La deuxième composante principale représentant une contribution totale mineure (1 %) est reliée à la quantité de SSL.

AFD à partir de la composition absolue en TAG (méthode 3)

Les huiles se regroupent très bien en fonction de leur genre et espèce, les groupes étant très bien séparés les uns des autres (figure 3B). Aucune huile n'est mal classée.

96,5 % de la variabilité s'exprime dans le plan F1F2. L'axe F1 est principalement gouverné par un taux de TAG à résidu O très fort qui est anti-corrélé à celui de TAG à résidu L. Ainsi, on retrouve le fait que les huiles Cmo sont plus riches en TAG à résidu O et moins riches en TAG à résidu L que Cp, Ls et Cl. La deuxième composante principale représente une contribution non négligeable (20 %), montrant que les Ls se caractérisent par un taux en OLL plus riche que les Cp et Cl et les Cp par un taux en PSL et PPL plus grand que les Ls ou les Cl.

Analyse en composantes principales : ACP

ACP à partir de la composition en esters méthyliques (méthode 1)

Les résultats obtenus en ACP sont donnés figures 4A (représentation des variables sur F1F2) et 4B (représentation des individus). Les variables EL, ELn, EO et ES sont très bien représentées, car très proches des axes et du cercle de corrélation (figure 4A).

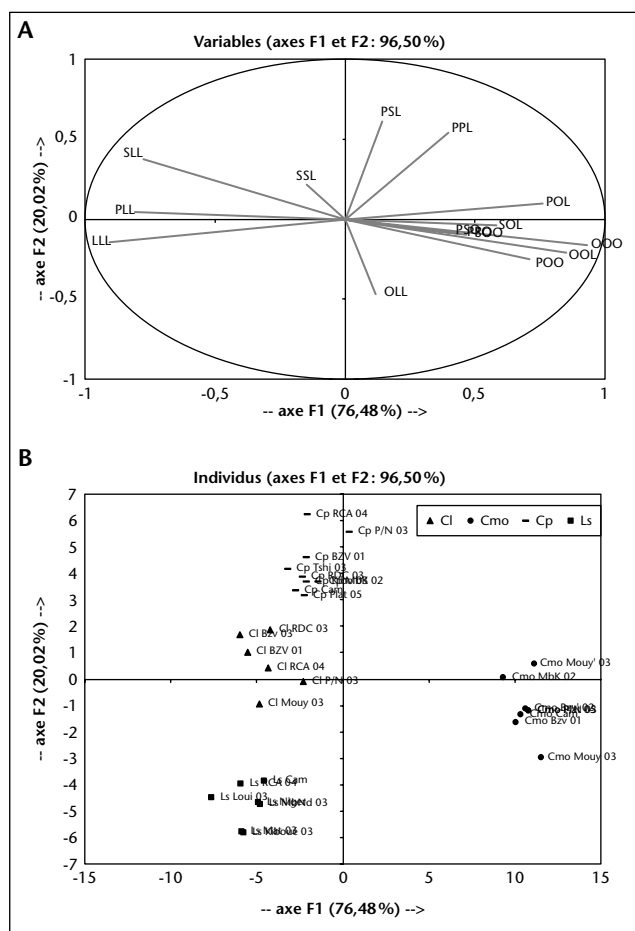


Figure 3. AFD obtenu à partir des triacylglycérols (TAG). Méthode de l'étalonnage préalable (méthode 3). A) Représentation des variables, B) représentation des individus.

Les Cmo sont caractérisés par un fort taux en EO, tandis que les Ls, Cl et Cp sont caractérisés par un taux proche en EL, les Ls se marginalisant des autres par un taux plus élevé en ELn (figure 4B). Cl Bzv 03 se retrouve avec les Cp, tandis que Cp Cam se regroupe avec les Ls. L'ensemble est cohérent avec les résultats obtenus en AFD.

Dans cette représentation qui reflète 69,5 % de la variabilité, Ls Niger apparaît comme individu isolé. En ce qui concerne les quatre huiles non étudiées en AFD, Lc est proche des Cmo, mais tout de même isolé, Cs Cam se retrouve dans le groupe des Cp ; Mbi 03 est au milieu des Cl et Ls ; NTS Mouy 03 est très différente de toutes les autres huiles.

ACP à partir de la composition relative en TAG (méthode 2)

Deux séries d'ACP ont été effectuées : l'une sur les 5 TAG majeurs, l'autre sur l'ensemble des TAG. Les conclusions déduites étant très similaires, nous ne présenterons que le traitement avec les TAG majeurs. Les diagrammes sont reportés figures 5A et 5B. Plus de 88 % de la variabilité est exprimée dans ce plan.

Les huiles du genre et espèces Cmo sont plus riches en OOL, OLL et POL et moins riches en LLL que celles de l'ensemble des groupes Cl, Cp et Ls, qui sont de ce point de vue équivalentes. L'axe F2 gouverné par SLL et en partie par LLL fait apparaître une différenciation dans le groupe Cl, Cp et Ls. Les huiles du genre et espèce Ls ont tendance à être moins riches en SLL et en LLL que celles des genres et espèces Cp et Cl qui ne sont pas séparés. Pour les quatre huiles non étudiées en AFD, les mêmes conclusions que celles déduites de l'analyse quantitative à partir des

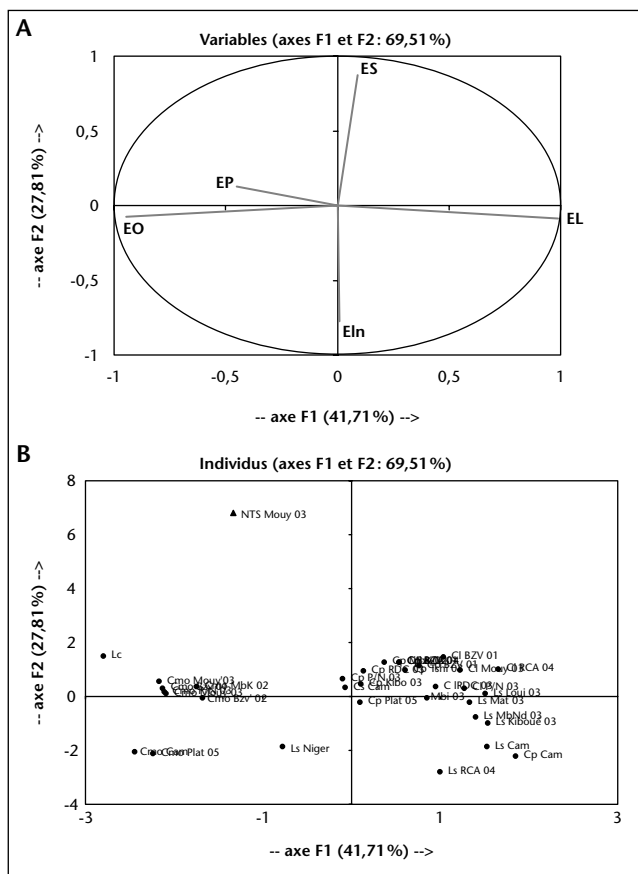


Figure 4. ACP obtenue à partir des esters méthyliques d'acides gras (méthode 1). A) Représentation des variables, B) représentation des individus.

esters méthyliques d'acides gras peuvent être tirées. Seule l'huile NTS qui était isolée, intègre le groupe des Cmo.

ACP à partir de la composition absolue en TAG (méthode 3)

Les diagrammes sont reportés figures 6A et 6B.

Les Cmo sont caractérisés par un taux important en OOL et POL, et se distinguent entre eux par le taux en OLL (sur l'axe F2). Les autres classes, Cp, Cl et Ls, sont caractérisées par leur taux en LLL, PLL et SLL.

En ce qui concerne les individus isolés, NTS Mouy et Lc sont comparables au groupe des Cmo, Mbi est très voisin des Cl et Cs Cam des Cp.

Comparaison des 3 méthodes

Si l'on compare les résultats déduits des AFD par les deux méthodes CLHP, il apparaît très nettement que normaliser les résultats par rapport à PLL (méthode 2) fait perdre de l'information. La variabilité qui s'exprime dans le plan F1F2 est toujours très grande mais, avec la méthode basée sur les aires normalisées, on perd beaucoup de discrimination selon l'axe F2. En effet, la variabilité passe de 20 % pour la méthode basée sur l'étalonnage préalable du DEDL (méthode 3) à 1 % pour la méthode basée sur les aires normalisées (méthode 2). On perd alors aussi en information selon l'axe F1 puisque la quantité de PLL varie d'une huile à une autre et que PLL s'exprime principalement suivant l'axe F1.

La réduction des données (méthode 2) conduit à de mauvaises attributions pour des huiles dont la composition se situe à la frange entre deux genres, alors qu'aucune huile n'est mal classée par la nouvelle méthode d'analyse quantitative proposée ici (méthode 3). Dans cette méthode, les quatre genres et espèces se distinguent bien les uns des autres.

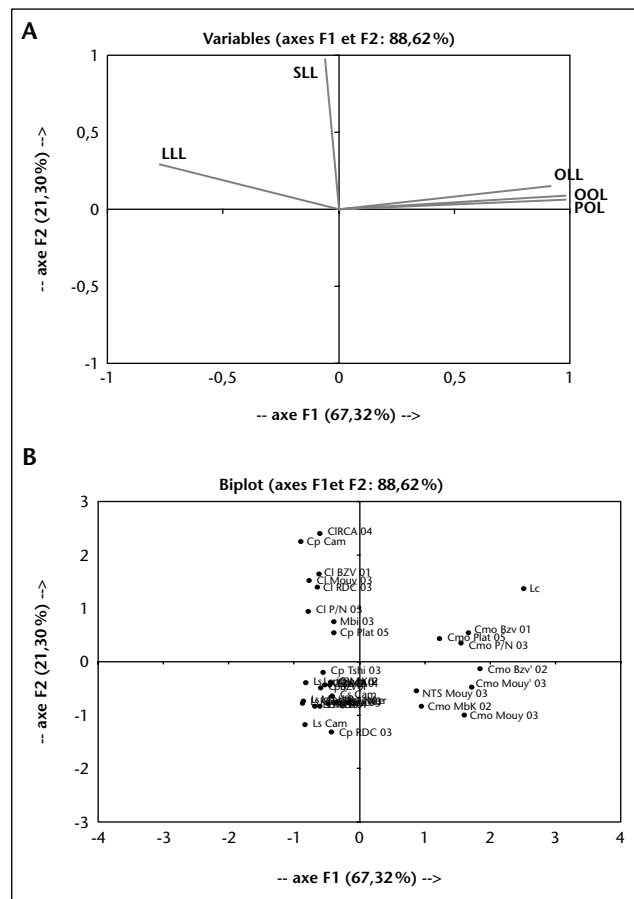


Figure 5. ACP obtenue à partir des triacylglycérols majeurs (TAG). Méthode des aires normalisées (méthode 2). A) Représentation des variables, B) représentation des individus.

Les pourcentages en EM (méthode 1) donnent des informations similaires mais moins précises que celles obtenues à partir des pourcentages des TAG. Tous les genres et espèces ne sont donc pas facilement discernables par la simple analyse de la composition primaire en acides gras. La répartition dans le plan ACP est beaucoup moins fiable puisqu'elle ne représente que 69,5 % de la variabilité pour la méthode des EM, alors qu'elle représente 86 % par la méthode des TAG. Ainsi, certains individus isolés apparaissent comme isolés en utilisant un dosage CGC des EM, alors qu'avec le dosage des TAG, ils ne le sont plus.

Conclusion

Trois méthodes de dosage différentes ont été menées et comparées afin de voir laquelle permettait de différencier au mieux les huiles à partir de l'analyse de leur fraction saponifiable. Les huiles des graines de cucurbitacées de la zone équato-guinéenne ont été prises comme exemple. Une méthode CLHP originale de dosage des TAG sans avoir besoin de standards a été proposée conduisant à la composition quantitative des huiles. Elle nécessite au préalable un étalonnage du détecteur (DEDL). Une méthode CLHP alternative basée sur des valeurs relatives donne des informations moins précises que la méthode originale proposée. La méthode classique de dosage des EM plus simple à mettre en œuvre, conduit à une elle aussi à une caractérisation moins précise, et donne des résultats voisins de la méthode CLHP normalisée des TAG. La mise en évidence de variabilité intraspécifique entre des huiles de genre proche, n'a pu se conduire qu'à partir de la nouvelle méthode CLHP de dosage des TAG proposée dans cet article.

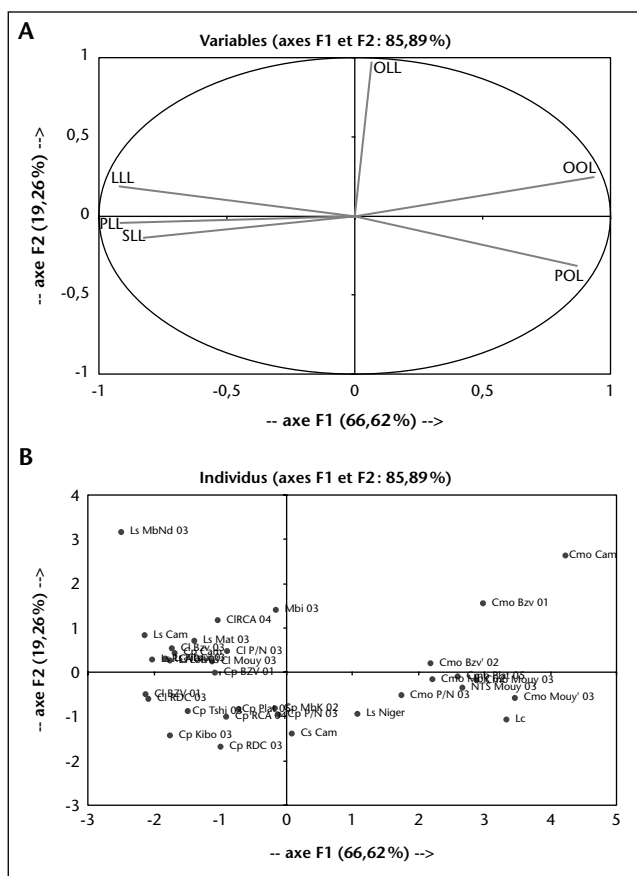


Figure 6. ACP obtenue à partir des triacylglycérols majeurs (TAG). Méthode de l'éta-lonnage préalable (méthode 3). A) Représentation des variables, B) représentation des individus.

RÉFÉRENCES

- BADIFU GIO. Food potentials of some unconventional oilseeds grown in Nigeria - A brief review. *Plant Foods Hum Nutr* 1993 ; 43 : 211-24.
- SILOU T, MAMPOUYA D, LOKA LONYANGE WD, SAADOU M. Composition globale et caractérisation des huiles extraites de 5 espèces de Cucurbitacées du Niger. *Riv Ital sostanze grasse* 1999 ; LXXVI : 141-4.
- YOUNIS YMH, GHIRMAY S, AL-SHIHRY SS. African Cucurbita pepo L. : properties of seed and variability in fatty acid composition of seed oil. *Phytochemistry* 2000 ; 54 : 71-5.
- CHRISTIE WW. Gas chromatographic analysis of fatty acid derivatives. In : Library Top, ed. *Lipids analysis Third Ed.* Bridgewater : The oily press, 2003 : 225-54.

- MAYER BX, ZOLINER P, LORBEER E, RAUTER W. A new 75% diphenyl, 25% dimethyl-polysiloxane coated on fused silica capillary columns for high temperature gas chromatography. *J Sep Sci* 2002 ; 25 : 60-6.
- MARES P. High temperature capillary gas liquid chromatography of triacylglycerols and other intact lipids. *Prog Lipid Res* 1988 ; 27 : 107-33.
- NIKOLOVA-DAMYANOVA B. Reversed phase high performance liquid chromatography : general principles and application to the analysis of fatty acids and triacylglycerols. In : Christie WW, ed. *Advances in lipid methodology-four.* Dundee : The oily press LTD, 1997 : 193-251.
- HERON S, BLETON J, TCHAPLA A. Mechanism for separation of triacylglycerols in oils by liquid chromatography : identification by mass spectrometry. In : Sebedio JL, Perkins EG, eds. *New trends in lipid and lipoprotein analyses.* Champaign Illinois : AOCS Press, 1995 : 205-31.
- HERON S, TCHAPLA A. *Finger prints of triacylglycerols from oils and fats by HPLC isocratic elution and evaporative light scattering detection* Alfortville. Sedere, 1994.
- SHUKLA VKS. High performance liquid chromatography : normal-phase, reverse-phase detection methodology. In : Sebedio JL, Perkins EG, eds. *New trends in lipid and lipoprotein analyses.* Champaign III : AOCS Press, 1995 : 38-44.
- HERON S, DREUX M, TCHAPLA A. Factors affecting sensitivity of evaporative light scattering detection. *LC-GC Europe* 2007 ; 21 : 414-9.
- SILOU T, BIYOKO S, HERON S, TCHAPLA A, MALOUMBI MG. Caractéristiques physico-chimiques et potentialités technologiques des amandes de Irvingia gabonensis. *Riv Ital sostanze grasse* 2004 ; LXXXI : 49-57.
- HERON S, MALOUMBI M-G, DREUX M, VERETTE E, TCHAPLA A. Method development for a quantitative analysis performed without any standard using an evaporative light-scattering detector. *J Chromatogr* 2007 ; A 1161 : 152-6.
- HERON S, MALOUMBI M-G, DREUX M, VERETTE E, TCHAPLA A. Experimental proofs of a correlation between the coefficients for the slope of the response line and the response factor of an ELSD. *LC-GC Europe* 2006 ; 19 : 664-72.
- SILOU T, KINKELA T, HERON S, TCHAPLA A. Variation inter arbre des lipides de safou (*Dacryodes edulis*) en tant qu'indicateur de la biodiversité. Mise au point méthodologique. *Riv Ital sostanze grasse* 2006 ; LXXXIII : 129-36.
- HERON S, LESELLIER E, TCHAPLA A. Analysis of triacylglycerols of borage oil by RPLC. Identification by coinjection. *J Liq Chromatogr* 1995 ; 18 : 599-611.
- BOURRE JM. Développement du cerveau et acides gras. *OCL* 1996 ; 3 : 173-8.
- KINKELA T, BEZARD J. Les lipides de quelques produits alimentaires. *Sci Aliments* 1993 ; 13 : 567-75.
- COMBE N. Biodisponibilité des acides gras et apports nutritionnels conseillés. *OCL* 2002 ; 9 : 135-8.
- RENAUD S, RUF J, PETITHORY D. The positional distribution of fatty acids in palm oil and lard influences their biologic effects in rats. *J Nutr* 1995 ; 125 : 229-37.