

Cercetări marine	I.R.C.M.	Nr. 7	179-199	1974
------------------	----------	-------	---------	------

ÉTUDE SUR LES FRACTIONS LIPIDIQUES DU MYTILUS GALLOPROVINCIALIS LMK

Molnar I.A. et Panteli C.,

Institut de Recherches Chimiques-Pharmaceutiques, Bucharest

Mirza M.

Institut Roumain de Recherches Marines, Constantza

ABSTRACT

There had been determined the content on free lipids (extracted with ethyl ether) and bound lipids (extracted with dichlorethan), in Mytilus galloprovincialis collected at Agigea on the 4-th of august 1973. The content of free lipids is 8.12%, bound 2.24%, and total 10.38%. The content of the lipidic fractions is different as it follows: free, bound, total: glycerides 54.67%; 15.18%; 46.14%, phospholipids 22.10%; 68.75%, 32.18%, insaponifiables 23.23%; 16.07%; 21.68%; cholesterol 17.55%; 4.48%; 14.47 %; total fatty acids 69.25%; 60.37%; 87.82%. It was shown that the phospholipids had a greater capacity to form cenapses, than the other components. Using thin layer chromatography in the two fractions of the lipids there had been settled and cantitatively determined 9 fractions of phospholipids: lecithins, lysolecithins cephalins, lysocephalins, 3 phospholipids and 2 phosphoaminolipids non identified. The fraction of bound lipids was richer in lecithins and lysolecithins and poorer in cephalins and lysocephalins than the free one. By thin layer chromatography it was shown: free and esterified cholesterol, vitamine A, 5 carotenoids and 4 carotenoids ester.

Les lipides provenant du Mytilus Galloprovincialis ont été relativement peu étudiés. Korobkina et Danilova (1965, 1968) ont montré que lipides totaux representent 2,3% et la phospholipides 0,26 % du tissu congelé bouilli. Le contenu en lipides totaux et en stéroïdes totaux souffre des variations saisonnières (Struzi 1964). En Juin, les triglicérides

représentent 50% du total des lipides et baissent jusqu'à 25% à la fin du mois de Septembre. En même temps le contenu en stéroïdes croît (Manin-gand et coll. 1963). Gastaud et coll. (1972) trouvent aussi des variations saisonnières en lipides totaux qui croissent en partant depuis des valeurs inférieures à 10% pour atteindre 17% en Août. Le contenu en stéroïdes varie depuis 2,44% (dont le cholestérol représente 1,52%) jusqu'à 5,6%; valeur maximum qui est atteinte en Novembre. Pendant la période de régénération le contenu de triglycérides dans l'hépatopancréas croît de façon significative, tandis que pendant la gamétogenèse on observe un niveau élevé de stéroïdes qui atteint la valeur maximum en Novembre et Décembre (Monnier et coll. 1965, Chapat et coll. 1967).

Pour le Mytilus Galloprovincialis on a mis en évidence des vitamines du groupe D en proportion de 0,1% rapportée à la substance sèche (Struzi 1964). Autres auteurs ont trouvé 0,44% insaponifiables totaux dans le tissu frais dont 3,48% représentent la provitamine D.

En ce qui concerne les fractions de phospholipides dans le tissu sec on a trouvé les valeurs suivantes: Céphaline 2,07%, Lécithine 1,58%, Lizoléthine 0,71% (Gastaud et coll. 1972).

Pour le genre Mytilus l'espèce qui a été le plus étudiée du point de vue de la composition des lipides c'est le Mytilus edulis. Le contenu en lipides totaux varie en fonction des saisons et de la taille des mollusques.

On constate des écarts entre les valeurs indiquées par divers auteurs, provoqués a cause des différents méthodes utilisées pour l'extraction de lipides. Les données indiquées dans les ouvrages parus sont comprises entre 3,9-8,5% lipides totaux raportés à la substance siche (Van de Velde 1939, Cerritsen et Pelt 1943, 1945, Vinogradova 1949, Mingo et Calles 1951). On a constaté des variations du contenu en lipides totaux dans le tissu en fonction de la saison, leur taux étant compris entre 0,86% et 2,36% (Fraga 1956). De même, on a constaté des variations du contenu en lipides totaux selon la taille des mollusques (Fraga 1959).

On a appliqué la chromatographie gazeuse pour déterminer la

composition des acides gras extraits par l'éther (Takanashi Masahide et coll. 1968) et on a constaté aussi la présence de la provitamine D (Rosemberg 1949).

Dans le Mytilus edulis et le Mytilus californianus l'on a mis en évidence la présence d'un grand nombre de caroténoïdes dont on retrouve une partie sous forme d'esters (Campbell 1970, Lee Kang-Ho 1971).

Les phospholipides ont été le moins étudiés; dans la coquille du Mytilus edulis on a isolé de la lécithine, céphaline et de la sphingomiéline (de Mingo 1951).

Le but de notre ouvrage a été constitué par l'étude des fractions lipidiques et en spécial des fractions phospholipidiques et insaponifiables du Mytilus galloprovincialis de la Mer Noire.

L'extraction des lipides du tissu des organes des animaux est effectuée d'habitude sur les organes préalablement séchés et pulvérisés. Pour l'extraction les différents auteurs utilisent des solvants divers. Dans le passé on utilisait en général l'éther éthylique mais on a observé que, dans le cas de l'extraction à l'alcool éthylique, au chloroforme, mélange de chloroforme-méthanol ou dichloréthane, la quantité de lipides totaux extraite est plus grande. Il est intéressant de noter que la quantité obtenue en plus et qui n'a pas pu être extraite à l'éther en augmentant la durée d'extraction, est tout de même soluble dans l'éther. Ce fait a été expliqué par ce qu'une partie des lipides formes des cenapses, lipoprotéïnes insolubles dans l'éther dont les liaisons ne peuvent être rompues à l'éther mais peuvent l'être à l'aide de solvants polaires comme le sont le chloroforme où le dichloréthane. Le rôle de ces lipoprotéïnes dans l'organisme est très important puisque, par la formation de ces combinaisons entre les lipides en question et les protéïnes, les caractères de solubilité changent et - ainsi - par le caractère hydrophile des groupements protéïques les lipides liées dans ces combinaisons, passent facilement dans la phase aqueuse et jouent un rôle physiologique bien plus important que celle libres, qui - dans une proportion plus élevée - forment des dépôts. Par une connaissance plus approfondie des fractions de lipides qui forment des

cenapses et des proportions dans lesquelles celles-ci se forment, certains phénomènes métaboliques pourront être mieux expliqués.

A présent pour connaître la valeur réelle des lipides totaux, la majorité des auteurs utilise soit l'extraction par un mélange de chloroforme-méthanol, soit l'extraction au dichloréthane. Afin d'avoir une image plus fidèle en ce qui concerne l'état dans lequel les fractions de lipides se trouvent dans le tissu et pour constater dans quelles proportions elles se rencontrent sous leur forme libre ou liée, nous avons imaginé pour nos travaux de renoncer à l'extraction en une seule étape en la remplaçant par une extraction en deux temps. D'abord en utilisant pour l'extraction l'éther éthylique et en considérant que cette fraction (I) comprend les lipides libres, puis à l'aide du dichloréthane en considérant que cette fraction (II) comprend les lipides liés. Nous nous sommes proposés de déterminer la teneur en phospholipides, insaponifiables et acide gras afin d'établir les proportions dans lesquelles on retrouve ces trois catégories de substance, puis d'identifier et de déterminer quantitativement les fractions phospholipidiques et d'identifier - dans la mesure du possible - les fractions de stéroïdes et de caroténoïdes.

MATÉRIAUX ET MÉTHODES

Pour nos expériences nous avons utilisé le Mytilus galloprovincialis cueilli le 26 Août 1973 à Agiea. Les coquillages avaient de 3-8 cm tels qu'on les trouve en proportion naturelle.

La partie tissulaire a été séparée des coquilles et utilisée en totalité. Le tissu a été haché au hache-viande ayant des orifices de 2-3 mm de diamètre et séché sous vide, puis pulvérisé. On passe après à l'extraction à l'appareil Soxhlet en utilisant l'éther éthylique jusqu'à l'épuisement (environ 20 heures). L'évaporation de l'éther commence à la pression atmosphérique et se poursuit sous vide jusqu'à poids constant, la substance obtenue représentant les lipides fraction I. La poudre extraite à l'éther

est séchés dans un courant d'air à 40°C jusqu'à l'élimination totale de l'éther et l'on passe après à l'extraction au dichloréthane (en utilisant toujours l'appareil Soxhlet) jusqu'à l'épuisement. Après évaporation sous vide du dichloréthane on obtient les lipides fraction II.

On a préparé ensuite une quantité d'insaponifiables et de phospholipides totaux. Pour obtenir des fractions de phospholipides on dissout 10 g de lipides dans 10 ml de benzène en chauffant légèrement. La solution est versée goutte à goutte dans 150 ml d'acétone. Le précipité obtenu est dissous à nouveau dans 10 ml. de benzène et reprécipité de la même façon. On répète l'opération. Après la troisième précipitation, la substance obtenue est séchée sous vide.

On a déterminé les insaponifiables totaux, le cholestérol, les phospholipides totaux (P total x 25) ainsi que les acides gras totaux en suivant les méthodes classiques. Les lipides neutres représentent les lipides totaux (phospholipides + insaponifiables).

Pour fractionner les phospholipides on a recours à la chromatographie en couche mince, méthode de Wagner (1960, 1961) avec quelques améliorations apportées par Winter et Molnar (1970). On a utilisé des plaques au Silicagel G. de 10 x 20 cm avec une épaisseur de la couche de 0,5 mm. On spotule des doses de 0,25 - 1 mg de phospholipides dissoutes dans du benzène. Le migration a lieu dans un système chloroforme-méthanol-eau (65:25:4). On développe à l'aide de vapeurs d'iode. On délimite les taches et on détermine la teneur en phosphore en utilisant la méthode de Berenblum et Chain (1938). Pour définir la nature de lipides, les chromatographies ont été arrosées avec des solutions de ninhydrine (pour les amines), de résorcine (pour les glucides) et de trichlorure de stibium au chloroforme (pour la mise en évidence des stéroïdes qui n'ont pas été totalement éliminés de phospholipides). En dehors de ces réactifs nous avons utilisé l'ordre de migration et les valeurs Rf décrites dans la littérature pour caractériser les fractions de phospholipides.

Pour le fractionnement des insaponifiables on a utilisé aussi la chromatographie en couche mince. On spotule 0,25-2 mg d'insaponifiables

dissouts dans du benzène. La migration s'effectue dans un système benzène-éthanol 95% (9:1). L'identification de la position des insaponifiables a été faite par observation directe et par développement à l'aide d'une solution de trichlorure de stibium dans du chloroforme. En parallèle on a dépassé sur la plaque des spots de cholestérol, de vitamine A et de palmitate de vitamine A. Separément on a effectué des migrations sur plaques chromatographiques en utilisant les deux fractions de lipides totaux; de cette façon apparaissent certaines taches qui ont été observées dans les mêmes conditions que celles qu'on retrouve pour les fractions d'insaponifiables ainsi que d'autres taches qu'on observe pas pour les fractions d'insaponifiables et qui correspondent probablement aux esters de certains stéroïdes et caroténoïdes, tandis que pour les insaponifiables apparaissent des composants qu'on n'observe pas pour les lipides totaux.

RÉSULTATS ET DISCUSSIONS

La fraction I de lipides libres obtenus par extraction à l'éther représente 8,14%, la fraction II de lipides liés extraite par le dichloréthane 2,24% et les lipides totaux 10,38% rapportés au tissu sec.

La composition des deux fractions exprimée en pour-cent est inscrite dans le tableau nr.I.

Tableau I

Composition des fractions lipidiques du Mytilus galloprovincialis

	Fraction I lipides libres	Fraction II lipides liés	Lipides totaux fractions I + II
Phospholipides totaux, %	22,10	68,75	32,18
Insaponifiables totaux, %	23,23	16,07	21,68
Glicérides, %	54,67	15,18	46,14
Cholestérol, %	17,55	4,48	14,47
Acides gras totaux, %	69,95	60,37	67,82

En examinant le tableau ci-dessus on observe que 22% des lipides totaux se trouvent sous forme liée. Il est très intéressant de constater qu'il-y-a de très fortes différences entre les compositions des deux fractions. On trouve les plus grands écarts en ce qui concerne la fraction de phospholipides totaux qui représentent 68,7% dans la fraction II pour 22,1% dans la fraction I.

Les glicerides et les insaponifiables se trouvent dans une proportion plus réduite dans la fraction II par rapport à la fraction I. Cette différence est plus marquée pour le cholestérole que pour les insaponifiables totaux. Ces données montrent que les phospholipides ont une plus grande capacité que les autres fractions lipidiques pour former des cénapses.

En portant des données comprises dans le tableau I on a calculé le contenu en fraction lipidiques du tissu sec. Les chiffres correspondants sont inscrits dans le tableau II.

Tableau II

Contenu en fractions lipidiques du Mytilus galloprovincialis (tissu sec)

	Fraction I lipides libres	Fraction II lipides liés	Lipides totaux Fractions I + II	Liés en total
Lipides totaux, %	8,14	2,24	10,38	21,5
Phospholipides totaux, %	1,80	1,54	3,34	46,1
Insaponifiables totaux, %	1,89	0,36	2,25	16,0
Glicérides, %	4,45	0,34	4,79	7,1
Cholestérole, %	1,43	0,10	1,53	6,5
Acides gras totaux, %	5,69	1,35	7,04	19,2

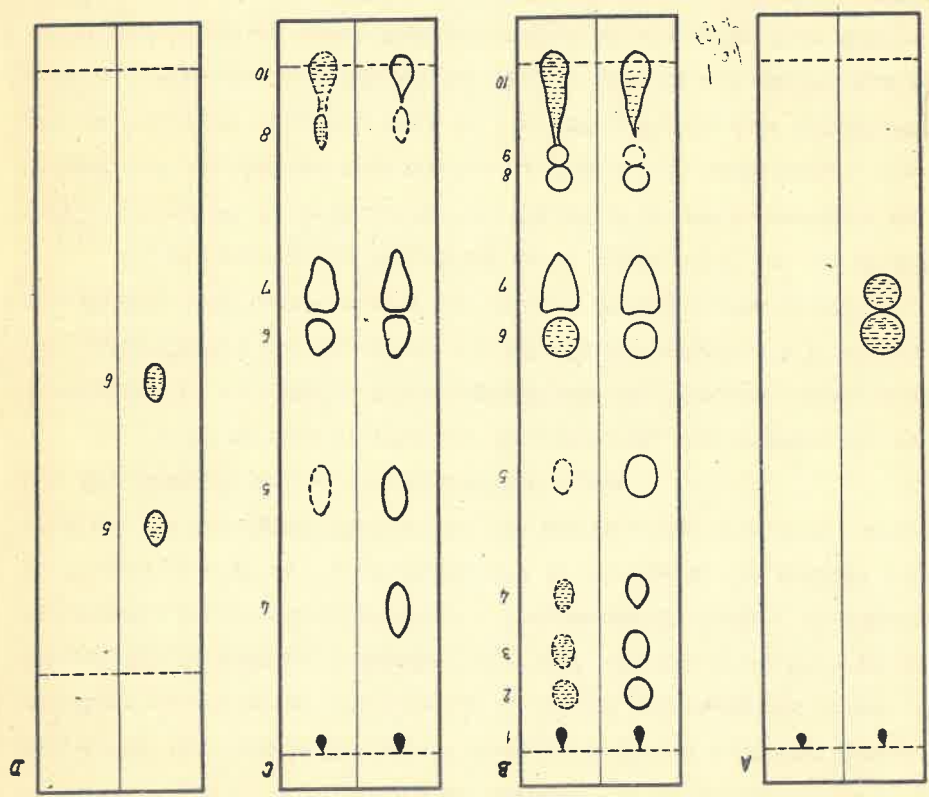
Ces données mettent encore mieux en évidence l'aptitude sensiblement plus grande des phospholipides à former des cénapses. Du total en phospholipides dans le tissu sec on retrouve 46,1% sous forme liée tandis que pour les insaponifiables totaux le chiffre est de 16% et pour les

glicérides et le cholestérole le pourcentage est beaucoup plus bas ne représentant que 7,1 et respectivement 6,5%.

Pour connaître la composition des fractions de phospholipides et pour savoir lesquels des composants peuvent être trouvés dans le tissu et dans quelles proportions ils s'y trouvent sous forme libre ou liée, on a procédé à l'identification sur plaques chromatographiques en conchémence. L'aspect caractéristique des plaques est présenté dans la figure 1.

Après le développement au iode on a pu distinguer 10 taches qui apparaissent dans toutes les deux fractions de phospholipides mais dont - pour quelques unes - l'intensité de la coloration diffère pour les deux fractions. Toutes les 10 fractions contiennent du phosphore. En développant à la ninhydrine pour mettre en évidence les composants qui contiennent des groupes aminiques on peut constater que la coloration caractéristique n'apparaît pas pour les taches 1, 2, 3, et 9 tandis qu'elle peut être observée pour toutes les autres. En utilisant la résorcine la coloration caractéristique des glucides réductrices apparaît pour les taches 5 et 6. Au tétrachlorure d'antimoine apparaît une très légère coloration rose autour des taches 6 et 7 qui provient des traces de quelques stéroïdes qui n'ont pas été totalement éliminés des phospholipides. En effectuant des migrations parallèles avec les phospholipides totaux du soja et du foie de rat et en connaissant l'ordre de migration des fractions de phospholipides nous avons conclu que les fractions observées contiennent les composants suivants: 1, 2, 3- phospholipides non identifiés qui ne comprennent pas des fonctions aminiques; 4- phosphoaminolipide non identifié; 5- céphaline (phosphatidylcolamines et probablement phosphatidilinositides); 6- lisocéphaline (lisophosphatidylcolamine et probablement lisophosphatidilinositides); 7- phosphatidylcholine; 8- lisophosphatidylcholine; 9- phosphoaminolipides non identifiés; 10- start, mélange de phosphoaminolipides. Il faut signaler ici que, pour les deux fractions de phospholipides étudiées, on n'a pas observé la tache correspondant à la sphingomyéline qui, dans nos conditions de travail se situent entre les taches 6 et 7 et peuvent être clairement observées dans les phospholipides provenant du foie de rat. Dans le cas où le *Mytilus*

Fig. 1. Le chromatogramme des fractions lipidiques I et II
A- développement au trichlorure de stibium; B- développement à l'iode; C- dé-
veloppement à la ninhydrine; D- développement à la résorcine



contient des sphingomiélines, leurs teneur est en dessous de la limite de sensibilité de la méthode utilisée. On a déterminé aussi le contenu en phosphore de chaque composant, les résultats étant inscrits dans le tableau III.

En examinant les données contenues dans le tableau III on constate que la répartition des composants phospholipidiques n'est pas identique dans les deux fractions de phospholipides libres et liées. Les plus grandes différences apparaissent pour les composants principaux. Dans les fractions de lipides I (libres) la proportion de céphalines et de lisocéphalines est plus grande que dans la fraction II. Dans les fractions I (lipides libres) les céphalines lisocéphalines représentent 36,9% des phospholipides totaux, tandis que dans la fraction II (lipides liées) leur taux est de 15,0% seulement. Par contre, les phosphatidilcholines + lisophosphatidilcholines représentent 25,0% dans la fraction I pour 37,9% dans la fraction II. Ce chiffres montrent que les phosphatidilcholines ont une tendance plus prononcée à former des cénapses que les phosphatidilcholamines.

Pour la mise en évidence des stéroïdes, des carotenoides et de la vitamine A, les plaques chromatographiques des fractions lipidiques et des insaponifiables correspondants ont été d'abord soumises à l'observation directe, puis arrosées avec une solution de trichlorure de stibium.

Les aspects chromatographique en comparaison avec le cholestérol, la vitamine A, le palmitate de vitamine A et les carotenoïdes de carotes sont représentés dans les figures 2 et 3. Les observations concernant la coloration de chaque tache et leur interprétation sont synthétisées dans le tableau IV. Il en résulte que dans la fraction I de lipides une partie du cholestérol se trouve sous forme libre et une partie sous forme d'éther. On a mis en évidence la vitamine A que l'on retrouve seulement sous la forme libre. A l'observation directe de la fraction I on constate la présence de 9 taches colorées en diverses nuances de jaune qui, traitées au $SbCl_3$, donnent diverses colorations. Dans les insaponifiables correspondants 5 de ces taches (No.1, 2, 7, 9 et 15) n'apparaissent plus, par contre il-y-a 3 taches qui apparaissent (No. 8, 10 et 14) que l'on ne retrouve pas chez les lipides non saponifiés. Ces dernières correspondant a des

188

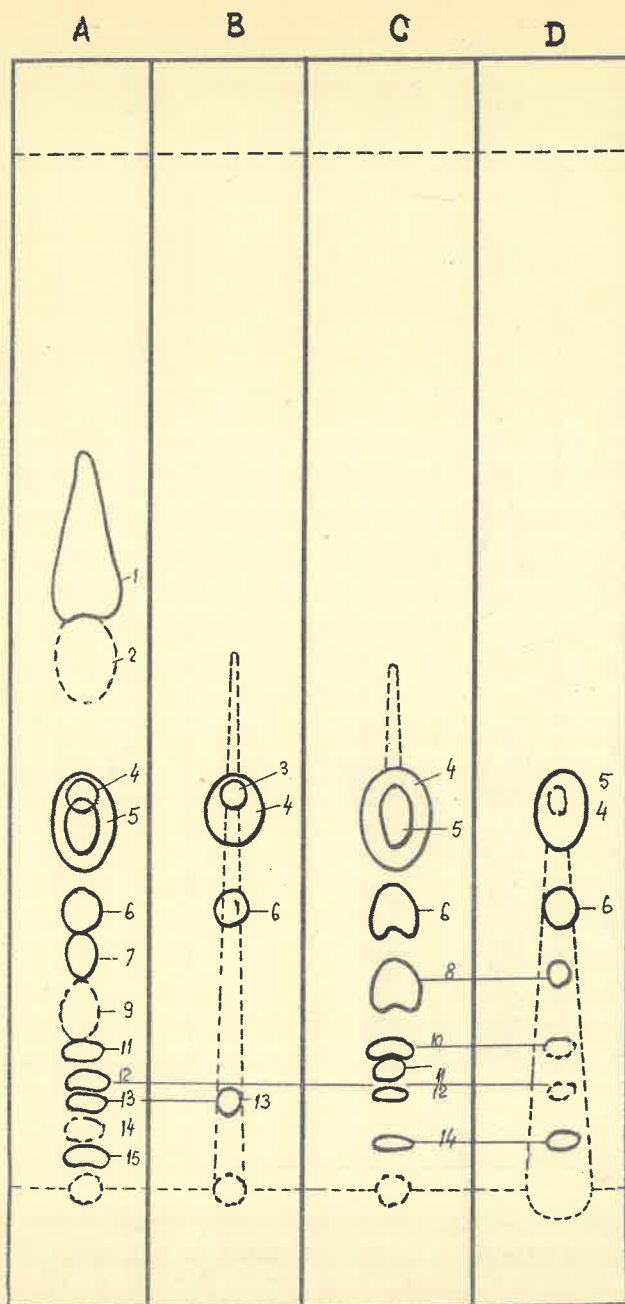


Fig.3. Aspect chromatographique des lipides et des insaponifiables dans les deux fractions. Coloration au $SbCl_3$

A- Lipides totaux fraction I; B- Lipides totaux fraction II; C- Insaponifiables, fraction I; D- Insaponifiables fraction II

Tableau III

Composition des fractions de phospholipides et la teneur en phospholipides pour le *Mytilus galloprovincialis* (tissu sec)

Nr. de la tâche	Composants	Fraction I		Fraction II		Total fr.	I + II
		P % du P total	Phospholipides % par rapport au tissu sec	P % du P total	Phospholipides % par rapport au tissu sec	P % du P total	Phospholipides % par rapport au tissu sec
1	Non Identifié	10,7	0,193	11,7	0,180	11,17	0,373
2	Non Identifié	5,5	0,099	4,5	0,069	5,02	0,168
3	Non Identifié	4,7	0,085	4,7	0,072	4,70	0,157
4	Phosphoaminolipides non identifié	4,3	0,077	6,0	0,092	5,06	0,169
5	Céphalines	13,9	0,250	4,5	0,069	9,55	0,319
6	Lisocéphalines	13,0	0,234	10,5	0,162	11,86	0,396
7	Phosphatidilcolines	19,8	0,356	31,4	0,484	25,18	0,840
8	Lisophosphatidilcoline	5,2	0,093	6,5	0,101	5,81	0,194
9	Phosphoaminolipide non identifié	4,2	0,076	6,7	0,103	5,35	0,179
10	Start	18,7	0,337	13,5	0,208	16,32	0,545
	Total	100,0	1,80	100,0	1,54	100,0	3,340

esthères de caroténoïdes. Le chromatogramme de la fraction II de lipides (liés) et de l'insaponifiable correspondant a été plus difficile à interpréter parceque les plaques présentent une longue trainée qui commence depuis le start et dont la mise en évidence des taches est plus ardue. Dans l'insaponifiable de la fraction II on a trouvé plus de composants que dans les lipides totaux parcequ'elles se trouvent dans l'insaponifiable dans une plus grande concentration que dans les lipides totaux. Le nombre de composants dans la fraction II est beaucoup plus réduit que dans la fraction I: on y a trouvé seulement 6 caroténoïdes. Pour la fraction II il n'a pas été possible de mettre en évidence sur les plaques chromatographiques la présence de la vitamine A et du cholestérol-esther: il est probable que ces composants ne forment pas de cénapses.

CONCLUSIONS

Les résultats obtenus démontrent qu'il est possible d'extraire une fraction des lipides totaux contenus dans le Mytilus galloprovincialis par l'éther éthilique (fraction qui est constituée par les lipides libres) et de continuer l'extraction en dichlorethan pour obtenir une autre fraction (constituée par les lipides liés sous forme de cénapses). La composition des deux fraction présente de grandes différences. Le contenu en phospholipides totaux des lipides liés est environ, 3 fois plus grande que pour les lipides libres; le contenu en triglicérides et insaponifiables des lipides liés est beaucoup plus bas que pour les lipides libres se qui indique que les phospholipides ont une aptitude beaucoup plus grande à former des cénapses que les autres composants des lipides.

Dans les phospholipides totaux préparés en portant des deux fractions lipidiques on a pu mettre en évidence par chromatographie en couche mince 9 fractions: lécitines, lisolécitines, céphalines, lisocéphalines, 3 fractions phospholipides et 2 fractions de phosphoaminolipides non identifiées. Il est intéressant de noter qu'il n'a pas été possible de mettre en évidence la sphingomiéline; si pourtant elle existe la proportion est si

Tableau IV

Observation sur la coloration et leur interprétation

No. de la tache dans l'ordre de migration	Lipides totaux, fraction I		Insaponifiables des lipides fraction I		Interpretation des observations
	Observation directe	Coloration au $SbCl_3$	Observation directe	Coloration au $SbCl_3$	
0	1	2	3	4	5
1	Jaune très faible	Rose faible passant au rose sale	-	-	Cholestérol esthèr (+ traces d'esthèr de cartotenoïde)
2	Jaune faible	Bleu sale faible	-	-	Esthèr d'un carotenoïde
3	Petite tache rose-orange (bien contourée)	Couverte par une grande tache (4, 5)	Petite tache rose-orange	Couverte par une grande tache (4, 5)	Carotenoïde
4	-	Après 1-2' apparait une mance orange qui vire lentement au rose-violacé (comme l'étalon de cholestérol)	-	Après 1-2' apparait une mance orange qui vire lentement au rose-violacé (comme l'étalon de cholestérol)	Cholestérol

0	1	2	3	4	5
5	-	Au milieu de la tache 4 apparait une grande tache bleue que l'on observe mieux sur le revers de la plaque (mance semblable à l'étalon de vitamine A)	-	Au milieu de la tache 4 apparait une grande tache bleue que l'on observe mieux sur le revers de la plaque (mance semblable à l'étalon de vitamine A)	Vitamine A
6	Rose-orange faible	Rose-violet passe en 2 heures au violet, puis au bleu sale	Rose-orange faible	Rose-violet passe en 2 heures au violet, puis au bleu sale	Carotenoide
7	Jaune foncé	Bleu-ciel, la coloration résiste 2 heures	-	-	Esthèr d'un carotenoide
8	-	-	-	Rose très intense qui passe au violet et en 2 heures au bleu. La couleur reste très stable dans le temps	Carotenoide qui correspond à un esthèr provenant de lipides non saponifiés
9	Orange faible	Rose très faible	-	-	Esthèr d'une carotenoide
10	-	-	Jaunâtre	Bleu très intense, coloration stable plus de 2 jours	Carotenoide qui correspond à un esthèr provenant de lipides non saponifiés
11	Jaune clair	Violet-gris coloration très stable	Jaune clair	Violet-gris coloration très instable	Carotenoide
12	Jaune	Mauve, passe vers le bleu coloration instable	Jaune	Mauve, passe vers le bleu, coloration instable	Carotenoide

0	1		2	3	4	5
13	Verdâtre		Bleu faible, passe rapidement au gris faible, coloration instable	Verdâtre	Bleu faible, passe rapidement au gris faible, coloration instable	Carotenoide
14	-		Rouge carmin très intense en 2-3' passe au violet, en 10' au bleu, puis disparaît	-	Rouge carmin très intense en 2-3' passe au violet, en 10' au bleu, puis disparaît	Carotenoide qui correspond a un esthèr provenant de lipides non saponifiés
15	Jaune faible	très	Gris, coloration instable	-	-	Esthèr de carotenoide
<u>Substances utilisées comme étalon</u>						
Cholestérol	-		Après 1-2' apparait une coloration rose-orange qui vire lentement au rose-violacé			
Vitamine A palmitate	-		Bleu foncé			
Vitamine A	-		Bleu clair			
Carotène de carote	Jaune		Bleu clair			

faible qu'elle se situe en dessous de la limite de sensibilité des méthodes analytiques utilisées. Il est aussi intéressant de remarquer que la répartition des fractions phospholipidiques est différente dans les deux fractions lipidiques (libres et liés). Les lipides liés contiennent une plus grande proportion de lécitines + isolécitines et une proportion moindre de céphalines + lisocéphalines que les lipides libres, ce qui indique que les lécitines ont une plus grande aptitude que les céphalines à former des cénapses. Une partie du cholestérol se trouve sous forme esthérifiée. On a mis en évidence la vitamine A qui se trouve sous forme libre. Les lipides contiennent des caroténoïdes; par chromatographie en couche mince on a pu mettre en évidence la présence de 5 caroténoïdes et de 4 esthères de caroténoïdes.

RÉSUMÉ

Pour le Mytilus galloprovincialis collecté à Agigea en Août 1973 on a déterminé le contenu en lipides libres (extraits à l'éthér éthérique) et liés (extrait au dichlorethane). Le contenu en lipides libres est de 8,14%, liés 2,24%, totaux 10,38%. La composition des deux fractions de lipides est différente, c'est à dire pour les fractions libres, liées et le total respectivement: glycérides 54,67; 15,18; 46,14; phospholipides totaux 22,10; 68,75; 32,18; insaponifiables totaux 23,23; 16,07; 21,68; cholestérol 17,55; 4,48; 14,47; acides gras totaux 69,95; 60,37; 67,82%. Les données ci-dessous indiquent une plus grande aptitude des phospholipides à former des cénapses que n'en montrent les autres composants.

Par chromatographie en couche mince des deux fractions de lipides on a mis en évidence 9 fractions de phospholipides: lécitines, isolécitines, céphalines, lisocéphalines, 3 phospholipides et 2 phosphoaminolipides non identifiés. Toutes ont été déterminées quantitativement. La fraction liée de lipides est plus riche en lécitines et isolécitines et plus pauvre en céphalines et lisocéphalines que la fraction libre. Par chromatographie en couche mince on a mis en évidence du cholestérol libre et esthérifié, de la vitamine A non esthérifiée, 5 caroténoïdes et 4 esthères de caroténoïdes.

BIBLIOGRAPHIE

1. BERENBLUM, I., CHAIN, E. - 1938. The colorimetric determination of phosphate. *Biochem. J.*, 32, 286-94.
2. CAMPBELL, SALLY, A. - 1970. Carotenoid pigments of Mytilus edulis and Mytilus californianus. *Comp. Biochem. Physiol.* 32(1), 97-115.
3. CHAPAT, M., SANY, C., ARNAVIELHE-BONY, M., GRAVAGNE, G. - 1967. Yearly variations in the steroids and triglycerides of Mytilus galloprovincialis. *C. R. Soc. Biol.* 161(12), 2571-4.
4. FRAGA, F. - 1956. Seasonal variation in the chemical composition of the mussel Mytilus edulis Consejo super. invest. cient., Patronato "Juan de la Cierva" invest. pesquera 4, 109-25.
5. FRAGA, F. - 1959. Relationship between the weight, size and chemical composition of the mussel Mytilus edulis at the mouth of the Vigo River. *Invest. pesquera* 14, 25-32.
6. GASTAUD, M. J., HUGUET, R., SOLERE, M. - 1972. Variations des fractions lipidiques de Mytilus galloprovincialis Lmk et Crassostrea angulata Lmk de l'étang de Than. *Rapp. Comm. int. Mer. Médit.*, 21, (5), 243-244.
7. GERRITSEN, D. J., PELT van J. G. - 1943. Carbohydrate content and protein factor of the flesh of the mussel. *Rec. trav. chim.* 62, 835-839.
8. GERRITSEN, D. J., PELT van J. G. - 1945. Carbohydrate content and "albumin factor" of mussel tissue II. *Rec. trav. chim.* 64, 390-12.
9. KOROBKINA, S. G., DANILOVA, N. E., KALIVRINA, N. N., LEONOVA, T. A. - 1965. Pitatelinaia tzenosti Chernomorskih middi. *Ribnoe hoz-zaistvo* 12, 57-59.
10. KOROBKINA, G. S., DANILOVA, E. N., KALININA, N. N. - 1969. Effect of technological processing on the food value of mussels. *Vop. Pitan* 28 (5), 85-6.

11. LEE, KANG-HO, KIM, CHONG-BAE - 1971. Pigments in marine fish and shell-fish 1. Carotenoids in sea mussel Mytilus edulis. Pisan Susan Tachak Xon'gu Pogo, Chayon Kwahak 11 (1) , 57-62.
12. MANINGRAD, M., SANY, C., MONNIER, R., ARNAVIELHE-BONY, M., DURAND, M. - 1963. Variations in steroids and tryglycedes in Mytilus galloprovincialis during the summer months. Compt. Rend. Soc. Biol. 157 (12), 2244-6.
13. DE MINGO, M., CALLES, J.A. - 1946. Composition of the mussel (Mytilus edulis) I The Fatty component. Rev. Real. Acad. Cienc. exact. fis. y nat. Madrid 40, 361-92.
14. DE MINGO, M., JUAN DE LA ESPINACO - 1951. Biochemical study of the phosphatides of the cockle (Mytilus edulis). Rev. Real. Acad. Cienc. exact. fis. y nat. Madrid, 45, 263-323.
15. MONNIER, P., SANY, C., ARNAVIELHE-BONY, M., CHAPOT, M., GRAVAGNE, G.M. - 1965. Changes in levels of hepatopancreatic triglycerides and steroides of Mytilus galloprovincialis during an annual cycle Bull. Trav. Soc. Pharm. Lyon 9(3), 151.
16. ROSEMBERG, R. - 1949. Mussel provitamine D U.S. 2475917, July 12.
17. STRUSI, A. - 1964. Some chemical cgaracteristic of massels (Mytilus galloprovincialis) grown in Mar Piccolo and Mar Grande (Taranto Gulf) Boll. Pesca. Piscicolt. Idrobiol., 19 (2), 199-218-
18. TAKANASHI, MASAHIDE, MILSUHASTI, TATSUO - 1968. Lipidis of mussel (Mytilus edulis) . Tokyo Gakugei Daigaku Kilo, Ser. 20(1), 39-42.
19. VANDE VELDE A.J.J. - 1939. Chemical composition of the sea mussel (Mytilus edulis) Naturw. Tijdschr. 21 , 32-46.
20. VENDT, P.V. - 1953. Invertebrate as source of vitamins of the group D. Vitaminy, Akad. Nauk Ukr. S. S. R. 1, 106-21.
21. VINOGRADOVA, Z.A. - 1948. Chemical composition of the invertebrates of the Black Sea Ukrain. Bickhim. Zhur. 20, 90-3.
22. VINOGRADOVA, Z.A., KANDIUK, P.R. - 1967. Biohimia morskih organizm. Naukova Dumka Kiev, 61-69.

23. WAGNER, H. - 1960. Neuere Ergebnisse auf Gebiet des Isolierung und Analize von Phosphatiden und Glycolipides. Fette, Seife, Austrichmittel, 62, 1115.
24. WAGNER, H. - 1961. Quantitative Bestimmung von Lecithin und Colaminkephalin in pharmazeutischen Präparate mit Hiefe Dünnschicht-Chromatographie. Fette, Seife, Austrichmittel, 63, 1119.
25. WINTER, J., MOLNAR, I.A. - 1970. Analiza fosfolipidelor totale din Helianthus annuus. A II-a Conferință Republicană de Chimie-fizică generală și aplicată, vol. II, pag. 227, București, 1970.
26. YADOVA, R.P.S., MUSGRAVE, I.A. - 1972. Phosphorous pattern of two Symbiote-Harboring Weevils, the vice weevil, Sitophilus oryzae L., and the corn weevil, Sitophilus Zeamais (Mots) (Coleopteza curculionidae). Comp. Biochem. Physiol. 42 B 197.