

## Études de la variabilité biochimique de cinq cultivars de chénopodium quinoa

T. TRIKI, F. GUASMI, S. BEN ALI, M. BEN MOHAMED, S. DRINE, H. YAHYA, K. NAGAZ, A. FERCHICHI

Institut de Régions Arides, Route El Djorf Km 22.5, 4119, Mednine.

\* Auteur correspondant: tebtiki@yahoo.fr

**Abstract** - The peculiarity of quinoa is that it is a seed consumed as a cereal. In general, the food is cooked or reduced to flour. From the nutritional point of view, quinoa brings much energy that the food similarly used, such as beans, rice, corn or wheat. It is also an important source of quality protein, fiber, fatty acids and mineral salts. However, it should be part of a healthful meal with many other types of foods to eat properly. The contents of macronutrients (carbohydrates, fats and proteins) of quinoa compared with other foods are very remarkable. The present work is a kind of biochemical characterization such as carbohydrate, lipid, protein, and chlorophyll and carotenoid five quinoa cultivars. The synthesis of lipid, carbohydrate and protein in the seed reaches the highest average in five cultivars are respectively of the order of  $1.30 \pm 0.013$ ,  $89.95 \pm 1.01$  and  $17.84 \pm 0.018$  g / 100 g DM. At the aerial part the largest average rate of chlorophyll and carotenoid is respectively about 1.62 mg / g and  $172.83 \pm 0.49$  mg / kg  $\pm 1.79$ .

**Keywords:** carbohydrate, lipid, protein, chlorophyll, carotenoid, characterization and chénopodium quinoa.

**Résumé** - La particularité du quinoa (*Chénopodium quinoa* Wild.) tient au fait qu'il s'agit d'une graine consommée comme une céréale. En général, cet aliment est cuit ou bien réduit en une farine. Du point de vue nutritionnel, le quinoa apporte autant d'énergie que les aliments utilisés de façon similaire, comme les haricots, le riz, le maïs ou le blé. Il est en outre une source importante de protéines de qualité, de fibres alimentaires, d'acides gras et de sels minéraux. Toutefois, il convient de l'intégrer à un repas équilibré comportant de nombreux autres types d'aliments afin de se nourrir convenablement. Les teneurs en macronutriments (glucides, lipides et protéines) du quinoa par rapport à d'autres aliments est très remarquables. Le travail actuel est une sorte de caractérisation biochimique telle que le glucide, le lipide, la protéine, la chlorophylle et le caroténoïde de cinq cultivars de quinoa. La synthèse de lipide, glucide et protéine au niveau du grain atteint le taux moyen le plus élevé chez les cinq cultivars, qui varie entre et  $17.84 \pm 0.018$  et  $89.95$  g/100g de MS. Au niveau aérien le taux moyen le plus important de chlorophylle et de caroténoïde est respectivement de l'ordre de 1.62 mg/g  $\pm 0.49$  et  $172.83$  mg/Kg  $\pm 1.79$ .

**Mots clés :** *Chénopodium quinoa*, glucide, lipide, protéine, chlorophylle, caroténoïde.

### 1. Introduction

Les ressources phylogénétiques pour l'alimentation et l'agriculture jouent un rôle de plus en plus important dans les domaines de la sécurité alimentaire et du développement économique dans le monde. Ces ressources, en tant que composantes intégrées de la biodiversité agricole, sont cruciales pour accroître de façon durable la production agricole et pour assurer les moyens d'existence à un grand nombre de personnes qui dépendent de l'agriculture. Le quinoa (*Chenopodium quinoa* Wild.) est une espèce native d'Amérique du Sud. Le genre *Chenopodium* appartient à la famille des chénopodiacées qui est composé d'un grand nombre d'espèces. La majorité des espèces de ce genre sont spontanées, plantes herbacées dicotylédones, autogames et annuelles. En 1981, la Bolivie est le



premier producteur mondial de quinoa devant le Pérou, qui passe de 9 000 à 26 000 tonnes par an. Le quinoa possède une valeur nutritive élevée et sa qualité nutritionnelle a été comparée en termes de quantité et de qualité de protéines, supérieure à de nombreuses céréales. Le quinoa contient ainsi de 11 à 22 % de protéines, par contre cette teneur n'est généralement que de 7 à 13% chez les céréales (Koziol 1992; Ayala et al., 2001; Wright et al., 2002). Le quinoa ne contient pas de glutéline et est également riche en minéraux, en lipides et en fibres (Tapia 2000). En Tunisie, le déficit hydrique et l'irrégularité des pluies, constituent un facteur limitant qui agit directement sur les ressources phytogénétiques. Ces contraintes exercent des effets dépressifs aussi bien sur le plan morphologique, physiologique et biochimique. De ce fait, la recherche d'espèces plus adaptées à la sécheresse et de bonne qualité nutritionnelle est un enjeu fondamental pour la production agricole dans les prochaines décennies. Cette pseudo-céréale est considérée comme une véritable révolution nutritionnelle et qui connaît un succès commercial planétaire depuis une quinzaine d'années. L'objectif principal du présent travail était d'étudier la caractérisation biochimique des cultivars de quinoa introduit au Sud Est tunisien. Une étude plus détaillée dans ce domaine est nécessaire, y compris le dosage des micronutriments tel que glucides, lipides et protéines totaux et le dosage des chlorophylles et des caroténoïdes à partir des cultures faites au sein du champ de l'IRA.

## 2. Matériel et méthodes

### 2.1. Préparation de la plante

Nous avons étudié 5 cultivars de quinoa (*Chenopodium quinoa* Wild.) introduits de l'Egypte DRC (Desert Research Center- Le Caire) pour la première fois en Tunisie. La liste des cultivars étudiés ainsi que leurs origines sont présentées dans le tableau 1. Le semis de 5 cultivars a été fait dans des planches de 2\*1 m sur un terrain homogène en plein champ (à l'institut des Régions Arides de Médenine). 3 répétitions ont été faites par cultivars. Les plantes sont irriguées par l'eau de puits de salinité 7g/l, 5 fois par semaine (figure 1). Les analyses biochimiques conduites dans ce travail concernent deux types de matériel végétal suite à la maturation de quinoa : les graines et les feuilles.



**Figure1** : Photo de cinq cultivars de quinoa semis au champ de L'Institut des Régions Arides de Médenine (IRA).

**Tableau 1.** Cultivars de quinoa impliqués dans l'étude biochimique

Cultivars	Code	Origine	Provenance des semences
KVL-SRA-2	V2	Danemark	DRC- Le Caire
KVL-SRA-3	V3	Danemark	DRC- Le Caire
Regalona cultivar	V4	Chili	DRC- Le Caire
Q-37	V5	Chili	DRC- Le Caire
Q-52	V6	Chili	DRC- Le Caire

## 2.2. Détermination de macronutriments

L'extraction des différents métabolites (protéines, glucides et lipides) de chaque tissu a été réalisée selon le procédé de Shibko et al. (1966). Les échantillons sont broyés aux ultrasons (Sonifier B-30) puis centrifugés à 5000 tours/ min pendant 10 min. Le surnageant I servira au dosage des glucides et le culot I est additionné de 1 ml d'un mélange éther/ chloroforme (1/1, v/v). Une deuxième centrifugation (5000 tours/ min, pendant 10 min) permet de récupérer le surnageant II qui servira au dosage des lipides. Le culot II, est ensuite repris dans 1ml de NaOH (0,1N), afin de solubiliser les protéines totales, après 1 nuit à + 4°C.

### 2.2.1. Dosage des glucides totaux

Le dosage des glucides totaux a été réalisé selon la méthode de Duchateau et Florkin (1959). Elle consiste à additionner 0,5 ml d'échantillon et 4,5 ml du réactif d'anthrone et de chauffer le mélange à +80°C pendant 10 min. Une coloration verte se développe dont l'intensité est proportionnelle à la quantité de glucides présents dans l'échantillon. L'absorbance est lue à 620 nm contre un blanc de gamme. La préparation du réactif d'anthrone se fait comme suit : peser 150 mg d'anthrone, ajouter 75 ml d'acide sulfurique concentré et 25 ml d'eau distillée. On obtient une solution limpide de couleur verte qui est stockée à l'obscurité. La gamme d'étalonnage est effectuée à partir d'une solution mère de glucose (0,1 mg/ ml).

### 2.2.2. Dosage des lipides totaux

Les lipides totaux ont été déterminés selon la méthode de Goldsworthy et al. (1972) utilisant la vanilline comme réactif. Les lipides forment à chaud avec l'acide sulfurique en présence de vanilline et d'acide ortho phosphorique, un complexe rose. Le dosage se fait sur des prises aliquotes de 100µl des extraits lipidiques ou de gamme d'étalonnage auxquelles on ajoute 1ml d'acide sulfurique concentré (96%). Les tubes sont fermés, agités et placés pendant 10 minutes dans un bain sec à +100°C. Après refroidissement pendant 5 minutes, on prend 200µl de ce mélange auquel on ajoute 2,5ml de réactif sulphosphovanillique et on agite vigoureusement. Après 30 minutes à l'obscurité, l'absorbance est lue dans un spectrophotomètre à 530 nm contre un blanc de gamme. Le réactif est préparé comme suit : dissoudre 0,38g de vanilline dans 55ml d'eau distillée et ajouter 195ml d'acide ortho phosphorique à 85%. Ce réactif se conserve pendant 3 semaines à +4°C et à l'obscurité. La solution mère de lipides est préparée extemporanément à partir de 2,5mg d'huile de table (99% de triglycérides) dissous dans 1ml d'éther / chloroforme, 1/1 ; V/V).

### 2.2.3. Dosage des protéines totales

Le dosage des protéines a été effectué selon la méthode de Bradford (1976). Dans une fraction aliquote de 100µl on ajoute 4ml de réactif au Bleu Brillant de Commassie (BBC ; G 250, Merck). La solution de BBC se prépare comme suit : on homogénéise 100mg de BBC dans 50ml d'éthanol 95°C. On y ajoute ensuite 100ml d'acide ortho phosphorique à 85% et on complète à 1000ml avec de l'eau distillée. La durée de conservation du réactif est de 2 à 3 semaines à +4°C. Celui-ci révèle la présence des protéines en les colorant en bleu. L'absorbance est lue à 595 nm contre un blanc de gamme. La gamme d'étalonnage est réalisée à partir d'une solution d'albumine de sérum de bœuf (Sigma) titrant 1 mg/ ml.

## 2.3. Détermination des chlorophylles (a et b) et des caroténoïdes

Pour déterminer la teneur en chlorophylles, on a utilisé la méthode de Mckiney (1941). Il s'agit de broyer 100mg des feuilles vertes dans un mortier en présence de 10ml d'acétone à 80%. Après filtration, on mesure la densité optique (DO) au spectrophotomètre à 663, 645, 470 et 647nm. Les concentrations en chlorophylles sont déduites par les formules suivantes :

$$\text{Chl a} = 12.7 A_{663} - 2.69 A_{647} \text{ et } \text{Chl b} = 22.9 A_{647} - 4.68 A_{663}$$

Les concentrations en caroténoïdes sont déduites par la formule suivante :

$$\text{Car} = 5 * A_{470} + 2.846 * A_{663} - 14.876 * A_{647}$$

## 2.4. Analyse statistique

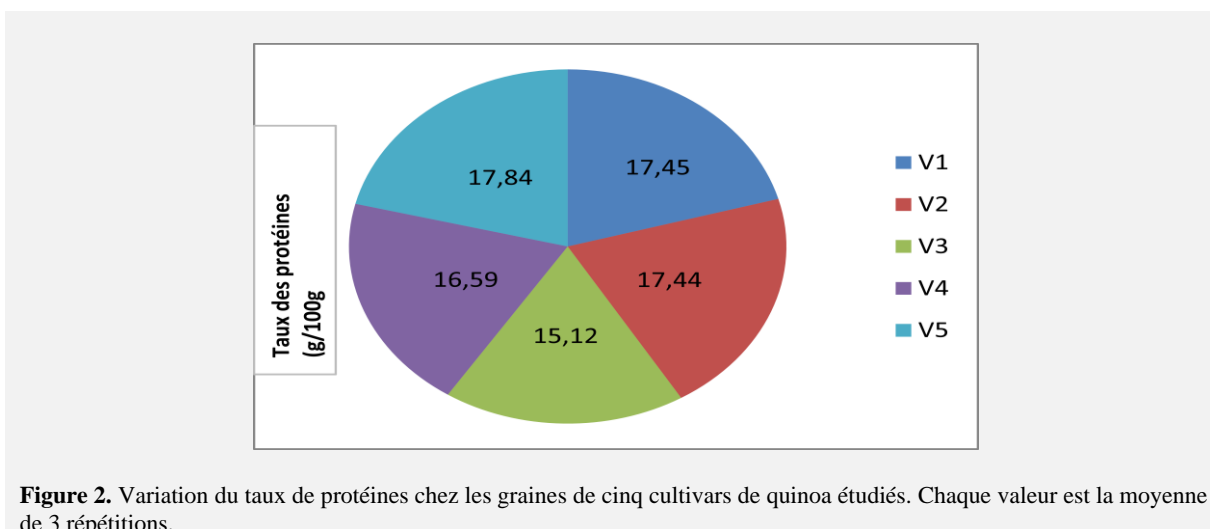
Le traitement statistique a été réalisé par le logiciel SPSS, Version 18.0 et les paramètres enregistrés ont été soumis à l'analyse de la variance.

### 3. Résultats et discussion

Cette étude a permis de révéler une variabilité entre les cultivars en se basant sur les l'analyse des caractéristiques biochimiques.

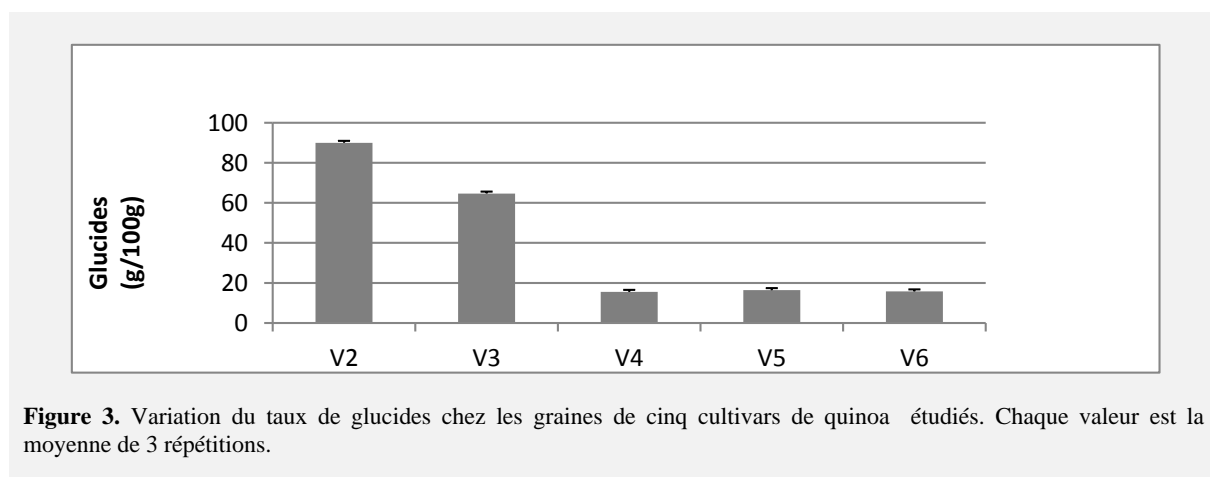
#### 3.1. Taux des protéines totaux dans les graines de quinoa

Les taux des protéines des échantillons analysés oscillent entre 15.12 et 17.84 g/100g respectivement chez les cultivars V3 et V5 (figure 2). On a confirmé nos résultats avec ceux trouvés par Fuentes et al. (2009) sur le quinoa qui a trouvé une moyenne de 14.12g/100g. Aussi bien les travaux faites par Koziol (1992), qui a prouvé que le quinoa possède 16.5g/100g et qui est plus intéressante que celle trouver dans l'orge. On dans les graines de et dans des conditions différents peut comparer ce pseudo-céréale à la céréale (orge) entant que valeur nutritionnelle et que peut être une plante relai pour les céréales les prochaines années en tunisie. Puisque le quinoa tolère bien le climatique sévère de Sud tunisien. L'AFO considère l'année 2013 années du quinoa pour leur valeur nutritionnelle extraordinaire.



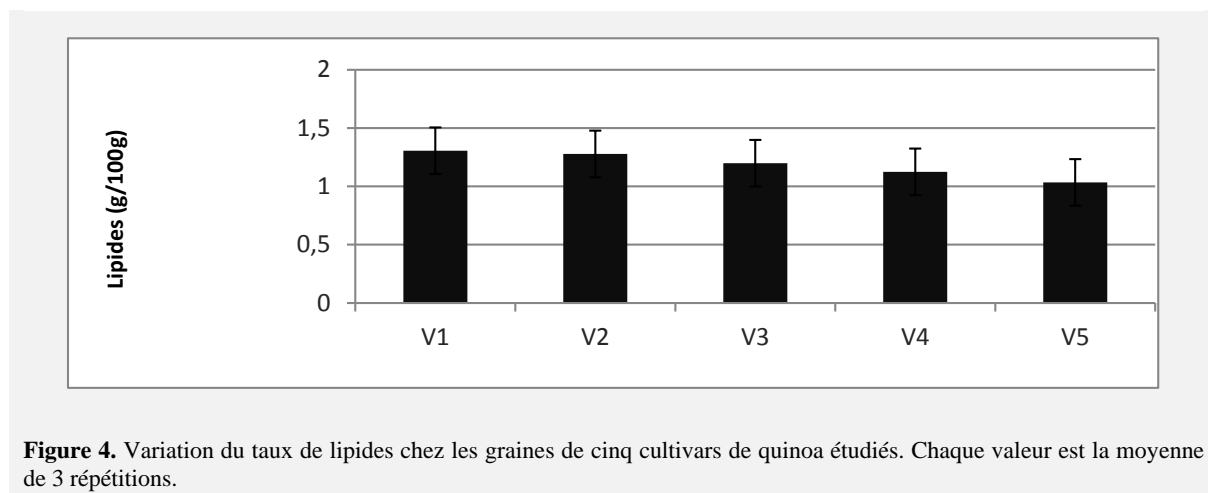
#### 3.2. Taux des glucides totaux dans les graines de quinoa

La teneur en glucides des échantillons analysés varie entre 15.49 et 89.95g/100g MS respectivement pour les cultivars V 4 et V 2 (figure 3). Nos résultats sont comparables à ceux trouvés par Jancurova et al. (2009) et Fuentes et al. (2009) qui sont respectivement 64.16 et 69g/100g dans ces travaux sur le quinoa. Le taux sur les glucides dosé dans les graines de quinoa est très comparable à ceux trouver dans les graines des plusieurs céréales et légumes comme l'orge, le blé, le maïs, riz, l'avoine et l'haricot qui ont une teneur respectivement de l'ordre de 80.7, 78.4, 81.1, 80.4, 69.8 et 61.2g/100g MS respectivement (Chamorro 2003).



### 3.3. Taux des lipides totaux dans les graines de quinoa

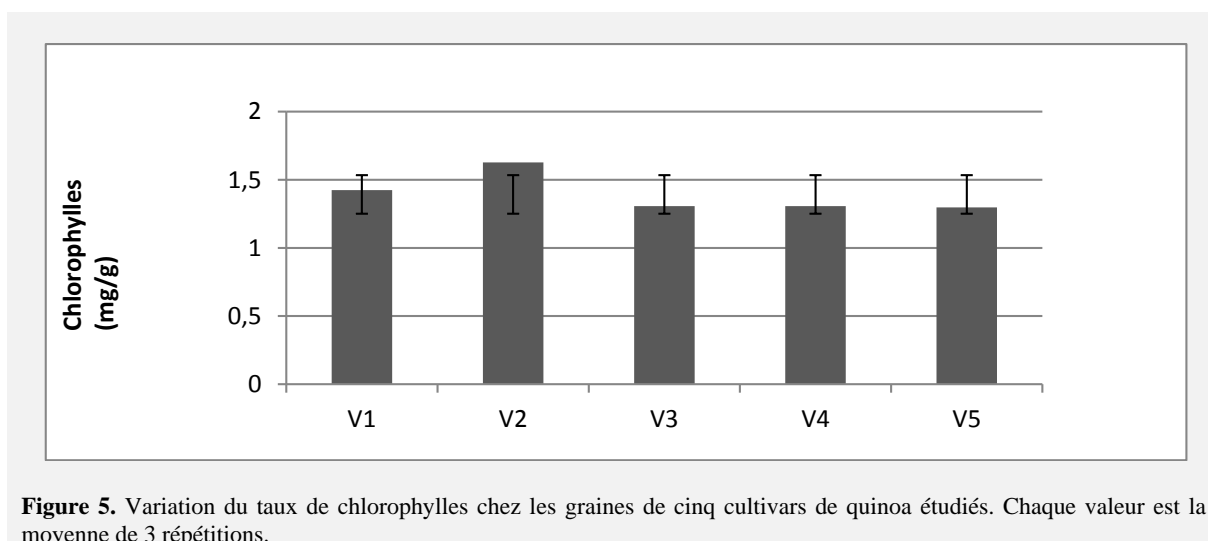
Concernant, la teneur en lipides trouvés pour les échantillons étudiés varie entre 1.03 et 1.30 g/100g (figure 4). Les résultats trouvés sont inférieurs à ceux de Jancurova et al. (2009), Koziol (1992) et Fuentes et al. (2009) dans leurs travaux sur le quinoa et qui ont trouvé des moyennes respectivement 6.3, 6.07 et 5g/100g. D'après (Chamorro 2003) la teneur en lipides chez les graines de quinoa collectés de champs de L'IRA est comparable à des céréales et des légumes. La moyenne de ce paramètre biochimique est de l'ordre de 1.9 et 2.3 g/100g respectivement pour l'orge et le blé. Alors que pour l'haricot est 1.1 g/100g.



**Figure 4.** Variation du taux de lipides chez les graines de cinq cultivars de quinoa étudiés. Chaque valeur est la moyenne de 3 répétitions.

### 3.4. Taux des chlorophylles totaux dans les feuilles de quinoa

La figure 5 montre une variation de la teneur en chlorophylles des échantillons des feuilles étudiés qui varie entre 1,29 et 1,62 mg/g MF respectivement, pour les cultivars V5 et V2. Ce résultat est comparable à celui obtenu par Bhargava (2007) sur le quinoa du Nord-indien et qui a trouvé une moyenne de 1,43 mg/g. L'orge est une céréale très utilisée dans le monde en générale et dans la Tunisie en particulier, pour cela on a essayé de le comparer avec le quinoa L'orge et le quinoa ont une teneur en chlorophylle proche, ce premier possède une moyenne est égale à 2.26 mg/g (Khalaf et Bazaid 2013). Le soja possède une moyenne en chlorophylle plus intéressant est de l'ordre de 52.7 mg/g (Moussa 2011).

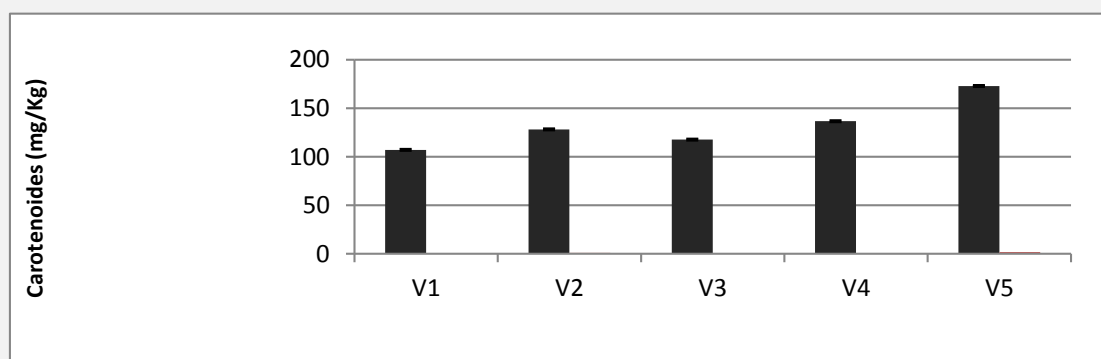


**Figure 5.** Variation du taux de chlorophylles chez les graines de cinq cultivars de quinoa étudiés. Chaque valeur est la moyenne de 3 répétitions.

### 3.4. Taux des caroténoïdes totaux dans les feuilles de quinoa

La teneur en caroténoïdes des feuilles du quinoa analysés oscillent entre 107.07 et 172.63 mg/Kg MF respectivement, pour les cultivars V1 et V5 comme le montre la figure 6. Ce résultat est comparable

aussi à celui obtenu par Bhargava (2007) dans ces travaux sur le quinoa du Nord-indien et qui a trouvé des valeurs plus intéressantes chez les feuilles que chez les graines. La moyenne de caroténoïde chez les feuilles est 484.09 mg/kg alors que chez les graines est 2.83 mg/kg.



**Figure 6.** Variation du taux de caroténoïdes chez les graines de cinq cultivars de quinoa étudiés. Chaque valeur est la moyenne de 3 répétitions.

#### 4. Conclusion

L'étude biochimique de cette pseudo-céréale montre que le quinoa a un potentiel nutritif important. Elle se caractérise par une teneur élevée en protéines: 14 à 21%, alors que 7 à 12% chez la plupart des céréales (blé, riz, maïs, orge, etc.), (Bhargava et al. 2007, Ayala et al. 2001). Les résultats obtenus, bien que préliminaires, apportent des éléments d'informations ouvrant des pistes pour une exploitation plus approfondie de la diversité biochimique et des relations entre les cultivars de quinoa sauvage en Tunisie. Il serait intéressant d'élargir l'étude de la variabilité biochimique à un plus grand nombre de variétés issues de régions différentes

#### 5. Références

- Ayala G, Ortega L, Moron C (2001)** Quinoa (*Chenopodium quinoa* Wild.): Valor nutritivo y usos de la quinoa. In: Izquierdo Fernández, J.I., Mujica, A., Jacobsen, S.E., Marathée, J.P., Morón, C. (Eds.). Cultivos Andinos, versión 1.0. (CD-Rom). Santiago, Chile: FAO.
- Bhargava A, Shukla S, Ohri D (2007)** Genetic variability and interrelationship among various morphological and quality traits in quinoa (*Chenopodium quinoa* Wild.). *Field Crops Research* 101, 104–116.
- Bradford M M (1976)** A Rapid and sensitive Method for the quantification of Microgram Quantities of Protein Utilizing the Principle of Protein - Dye Binding. *Analytical Biochemistry*, 72, 248 - 254.
- Dini I, Tenore GC & Dini A (2004)** Phenolic constituents of Kancolla seeds. *Food Chemistry*, 84: 163-168.
- Duchateau TS, Retnakaran A, Smaghe G (2005)** Insect growth and development disrupting insecticides. In: Gilbert, L.I., Latrou K., Gill, S.S. (Eds.) *Compreh. Mol. Insect S*, Elsevier-Pergamon, Oxford, UK. 6, 55-115.
- Francisco F, Ximena P G (2009)** Nutraceutical perspectives of quinoa: Biological Properties and Functional Applications.
- Goldsworthy GJ, Mordue W, Guthkelch J, (1972)** Studies on insect adipokinetic hormones. *Genr. Compar. Endocrinol.* 18: 545-551.
- Khalaf A F et Bazaid S A (2013).** Improving drought and salinity tolerance in barley by application of salicylic acid and potassium nitrate. *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences*
- Koziol M J (1992)** Chemical Composition and Nutritional Evaluation of Quinoa (*Chenopodium quinoa* Wild.) *JOURNAL OF FOOD COMPOSITION AND ANALYSIS* 5, 35-68.
- Koziol MJ (1992)** Chemical composition and nutritional evaluation of quinoa (*Chenopodium quinoa* Wild.) *Journal of Food Composition and Analysis.* 5,35-68.
- McKinney G (1941)** Absorption of light by chlorophyll solutions. *J. Biol. Chem.* 140, 315–322.
- Michala J, Lucia Mand Alexander D (2009)** Quinoa – a Review *Czech J. Food Sci.* Vol. 27., No. 2: 71–79.
- Moussa, H. R., 2011.** Low dose of gamma irradiation enhanced drought tolerance in soybean. *Bulg. J. Agric. Sci.*, 17: 63-72.
- Ng SC, Anderson A, Coker J, Ondrus M (2007)** Characterization of lipid oxidation products in quinoa (*Chenopodium quinoa*). *Food Chemistry.* 101,185-192.
- Shibko S, Koivistoinen P, Tratnyneck C, New hall A, Freidman L (1966)** A method for the sequential quantitative separation and glycogen from a single rat liver homogenate or from a subcellular fraction, *Analyt. Biochem.* 19: 415-428.
- Valencia-Chamorro S.A (2003)** Quinoa. In: Caballero B.: *Encyclopedia of Food Science and Nutrition.* Vol. 8. Academic Press, Amsterdam: 4895–4902.