

# Variation de la composition en acides gras des lipides du tilapia *Oreochromis Niloticus L.* (Cichlidae) de Madagascar : Différenciation en fonction de la saison et de l'origine

Jean R. E RASOARAHONA <sup>\*</sup>, Emile M. GAYDOU <sup>2</sup>, Jean-Pierre BIANCHINI <sup>3</sup>

1 Ecole Supérieure des Sciences Agronomiques, Département Industries Agricoles et Alimentaires, Université d'Antananarivo, BP 175, Antananarivo (101), Madagascar

2 Laboratoire de Phytochimie de Marseille, Faculté des Sciences et Techniques de Saint-Jérôme, Université d'Aix-Marseille III, France.

3 Université Française du Pacifique, Papeete, Tahiti, Polynésie Française.

\* à qui toute correspondance doit être adressée <jeanras@wanadoo.mg>.

## Résumé

Les poissons d'eau douce constituent, dans les eaux continentales de Madagascar, la principale source d'acides gras polyinsaturés (AGPI), notamment l'acide arachidonique (AA, 20:4n-6) et ceux en n-3, principalement l'acide eicosapentaénoïque (EPA, 20:5n-3) et l'acide docosahexaénoïque (DHA, 22 :6n-3), dont les propriétés diététiques et nutritionnelles sont bien connues actuellement. Ces acides gras sont notamment des précurseurs d'eicosanoïdes (prostaglandines, prostacyclines, thromboxanes), médiateurs hormonaux très puissants, ayant notamment des actions très favorables sur le système cardiovasculaire. Suite à l'introduction de nouvelles espèces dans les années cinquante, la faune dulcaquicole des Hauts Plateaux est actuellement dominée d'une part par le genre *Tilapia*, et principalement *Oreochromis niloticus L* (« barahoa »), objet de la présente étude (et accessoirement *O. macrochir* Boulenger, *Tilapia rendalli* Thys et *T. zillii* Gervais) ; d'autre part par deux cyprinidés, *Cyprinus carpio L.* (carpe) et *Carassius auratus L.* (cyprin doré ou « trondro gasy »). L'étude de la variation mensuelle de la composition en acides gras a mis en évidence la similitude avec les compositions décrites dans la littérature pour les poissons d'eau douce (notamment forte proportion d'acides gras en n-6 par rapport à ceux en n-3). Il a été également constaté un cycle d'évolution bien caractérisé : maximum de concentration en AGPI (jusqu'à 30 % du total, dont 6-7 % d'AA et 8-10 % de DHA) en juillet-octobre. L'analyse en composantes principales sur l'ensemble des acides gras a montré une différenciation suivant l'origine par les acides gras mineurs, notamment impairs et/ou ramifiés. Ceci suggère une origine tropique.

## Introduction

Les poissons d'eau douce constituent, la principale source de protéines animales de l'alimentation, dans les zones rurales des Hautes Terres de Madagascar, île-continent dont certaines régions sont à plus de 300 kilomètres à vol d'oiseau de la mer, En effet, la petite pêche familiale et la pisciculture en étang ou en rizière suppléent pour une grande part à l'absence de structure de distribution de la viande. Il en est de même pour les produits de pêche séchés ou fumés.

Depuis toujours en outre dans les zones de lacs ou de marécages, la pêche commerciale est pratiquée pour la revente en frais vers les grandes agglomérations, ou parfois pour la conservation (poisson séché ou séché-fumé). La principale contrainte de la commercialisation du poisson frais étant le transport, seules les régions faciles d'accès vers les marchés ont vu se développer des flux notables : environs d'Antananarivo, notamment la zone d'Ambohitrimanjaka ; région du lac Itasy ; et plus récemment les régions de Miandrivazo et du lac Alaotra.

Les chiffres officiels pour 2001 et 2002 font état pour le lac Itasy (Anonyme, 2003), respectivement de 240 et 150 tonnes «exportées» de la région (soit des valeurs marchandes de respectivement 3,6 milliards et 2,25 milliards FMG) compte tenu des prix couramment relevés sur les marchés,. Par ailleurs, ces chiffres ne prenant en compte que les chargements effectivement soumis à l'inspection des brigades de pêche, les chiffres réels sont certainement très supérieurs.

Les propriétés préventives de l'huile de foie de morue et des huiles de poisson en général sur les maladies cardio-vasculaires étaient déjà connues depuis longtemps (ACKMAN, 1982). Il est admis actuellement que ces propriétés sont essentiellement liées aux fortes teneurs en acides gras polyinsaturés des lipides

des poissons. Ceux de la famille linoléique en n-6 sont réputés pour ces propriétés depuis longtemps; ceux de la famille linoléique en n-3, et surtout l'acide eicosapentaénoïque 20:5n-3 (EPA), ont été l'objet depuis ces dernières années d'un fort intérêt à ce point de vue (Ackman, 1982 ; Dyerberg et Arnfred, 1981 ; Dyerberg et Jorgensen, 1980 ; Dyerberg et al., 1982).

Ces travaux ont mis en lumière le rôle essentiel des eicosanoïdes (prostaglandines et structures analogues, telles que prostacyclines, leucotriènes et thromboxanes), dérivés des acides gras polyinsaturés en C<sub>20</sub>, dans la régulation des mécanismes circulatoires. Ce sont des modulateurs hormonaux très puissants dont l'action finale peut être résumée comme suit (Ackman, 1983 ; Rogers *et al*, 1987; Bezard, 1994):

- diminution de la viscosité du plasma sanguin en abaissant la production de lipoprotéines à haute densité (HDL), et par conséquent baisse de la tension artérielle;
- diminution de l'effet néfaste du cholestérol sanguin sur l'artériosclérose.

L'étude de la composition en acides gras des poissons permet donc de déterminer d'une part les espèces et d'autre part les périodes les plus favorables à leur consommation, dans une visée diététique.

Par ailleurs, les lipides, et plus particulièrement leur composition en acides gras, sont sujets à des variations importantes aussi bien qualitatives que quantitatives. Les poissons tendent à adapter la composition de leurs lipides aux sollicitations du milieu et à leurs propres exigences physiologiques, et leur comportement et leurs préférences alimentaires visent cet objectif (Ackman, 1980 et 1983). L'étude de la variation de composition en acides gras est donc également une approche de l'étude des relations du poisson avec son environnement physique et biotique.

Comparativement aux poissons marins, ce n'est que récemment que l'on a pu constater un intérêt croissant pour les poissons d'eaux douces, tant de pêche que de pisciculture, les études sur les poissons d'eau douce se sont multipliées au cours des vingt dernières années. Ackman, (2002) se réjouit d'ailleurs de cet état de choses, considérant que le potentiel en acides gras essentiels des poissons d'eau douce a été fortement sous-estimé.

Le présent travail se propose d'étudier la variation de la composition en acides gras du Tilapia *Oreochromis niloticus* Linné, connu sous le nom vernaculaire de « Barahoa », espèce dominante des eaux douces des Hauts Plateaux de Madagascar. Des études similaires ont parallèlement été effectuées sur la carpe (*Cyprinus carpio*, Cyprinidae) et le cyprin doré (*Carassius auratus*, Cyprinidae) (RASOARAHONA, 2004).

## ACIDES GRAS DU TILAPIA

### Matériel et méthodes :

#### *Echantillon :*

*Oreochromis niloticus* Linné (Cichlidae), nom vernaculaire « Barahoa », introduit à Madagascar en 1956, est l'espèce la plus fréquemment rencontrée dans les eaux continentales, soit, par exemple au lac Itasy, respectivement pour 2001 et 2002, 126,81 (52,8 %) et 86,01 (57,2 %) (Anonyme, 2003).

L'échantillonnage (tableau 1) a consisté en prélèvements mensuels effectués de janvier à décembre 1987, à la station piscicole de la Sisaony (étang de réserve), désigné comme « série SIS », et auprès de collecteurs des pêches provenant du Lac Itasy (« série EL »). Le prélèvement mensuel consiste en trois individus pour chaque origine ; dans le cas de la série SIS cependant, les captures étant aléatoires, les prélèvements comporteront parfois un ou deux individus ; dans le cas de la série EL, l'échantillonnage s'arrête en octobre, la pêche étant fermée les deux mois suivants.

Dans tous les cas, les poissons sont transportés sous glace jusqu'au laboratoire, disséqués, et une portion du muscle dorsal est placée sous poche plastique au congélateur en attente d'extraction.

#### ***Extraction des lipides :***

Les lipides totaux du muscle sont extraits par la méthode de Bligh et Dyer, (1959), dont nous avons adapté une réduction au 1/10: 10 g de tissu frais sont broyés et homogénéisés avec un mélange de 20 ml de méthanol et 10 ml de chloroforme durant 5 mn ; on ajoute 10 ml de chloroforme et on homogénéise durant 1 mn; on ajoute ensuite 10 ml d'eau distillée. Après 1 mn d'homogénéisation, la suspension est filtrée sur coton sous léger vide; le résidu est

Tableau 1: Effectif des échantillons et dates des échantillonnages.

Série	SIS*	EL <sup>a</sup>
Origine	Station de la Sisaony	Itasy
Espèce	O. niloticus	O. niloticus
Mois		
Jan. 87	3 (29-01)	3 (23-01)
Fév. 87	2 (23-02)	3 (21-02)
Mar. 87	0	3 (28-03)
Avr. 87	3 (16-04)	3 (18.04)
Mai 87	3 (19-05)	3 (19-05)
Juin 87	3 (29-06)	3 (17-06)
M. 87	3 (20-07)	3 (17-07)
Aug. 87	3 (28-08)	3 (19-08)
Sep. 87	3 (15-09)	3 (22-09)
Oct. 87	3 (14-10)	3 (19-10)
Nov. 87	3(23-11)	PECHE
Dec. 87	3 (16-12)	FERMEE

SIS: Station piscicole de la Sisaony (Antananarivo).

EL: eaux libres; la provenance est précisée

rincé avec 5-10 ml de chloroforme, et le filtrat est laissé décanter jusqu'à obtention d'une ligne de séparation nette (généralement 30 mn à 1 h suffisent). La phase inférieure chloroformique est soutirée et évaporée à sec sous vide à 40°C dans un ballon taré. L'extrait est ensuite conservé au congélateur à -20°C.

## ACIDES GRAS DU TILAPIA

### ***Préparation des esters méthyliques d'acides gras EMAG (d'après Wolff, 1968) :***

50 mg d'extrait lipidique total sont saponifiés dans un flacon hermétique à 80°C durant 30 mn par 1 ml de potasse alcoolique 2M.

Après refroidissement et addition de 1 ml d'eau, l'insaponifiable est extrait par 2 fois 2 ml d'hexane.

Les savons sont ensuite décomposés par addition de 1 ml d'acide chlorhydrique 5N, et les acides gras extraits par 2 fois 2 ml d'hexane. On évapore à sec sous vide cet extrait dans un tube à essais; les acides gras sont ensuite conservés au congélateur à -20°C jusqu'à l'analyse par chromatographie en phase gazeuse. La méthylation est effectuée extemporanément par addition de 1 ml de méthanol chlorhydrique (environ 2M), que l'on porte à ébullition au bain-marie. La réaction est complète à ébullition de la solution. Après refroidissement, on ajoute 1-2 ml d'eau et on extrait les esters méthyliques par 1 ml d'hexane.

### ***Identification des acides gras :***

*Chromatographie en phase gazeuse (CPG) et autres techniques chromatographiques :*

Les EMAG sont identifiés par calcul des longueurs de chaîne équivalentes et comparaison avec les données de la littérature (Ackman, 1983b ; Mordret et al., 1977). L'analyse est effectuée sur un chromatographe

GIRDEL série 30, avec détecteur à ionisation de flamme, sur colonne capillaire en verre (phase fixe : CARBOWAX 20M, L = 25 m, d.i. = 0,25 mm, épaisseur de phase 0,28 nm), température de colonne 180 °C, température d'injecteur et détecteur 220 °C, gaz vecteur azote à 0,6 bar en tête de colonne.

Les identifications sont confirmées indirectement par fractionnement sur colonne de gel de silice imprégnée de nitrate d'argent en fraction de degré d'insaturation donné (Bottino, 1971 ;Randerath, 1971).

Les résultats obtenus sont comparés pour confirmation avec ceux de la CG/SM (cf. infra).

#### *Analyse par couplage Chromatographie gazeuse/Spectrométrie de Masse (CG/SM)*

L'identification est effectuée sur les pyrrolidides d'acides gras, en se basant sur les principes énoncés dans la littérature (Ayanoglu,1982 ; Walkup et al., 1981).

Les pyrrolidides sont préparés à partir des esters méthyliques des acides gras correspondants par action de la pyrrolidine en présence d'acide acétique. Ils sont ensuite extraits après acidification du milieu (Walkup, 1981). L'analyse des pyrrolidides des acides gras des lipides de *O. niloticus* a été menée sur un appareil

DI 200/AUTOMASS (Delsi Nermag Instruments), équipé d'une colonne capillaire de 25 m, phase stationnaire OV-17.

#### ***Analyse en Composantes Principales :***

Cette technique transforme un nuage de données multidimensionnel complexe en un petit nombre de projections d'interprétation plus aisée (Berthier et Bouroche, 1981 ; Lebart et al, 1982).

## ACIDES GRAS DU TILAPIA

Elle a été utilisée pour discerner les caractéristiques pouvant différencier des profils d'acides gras complexes, tels que ceux des poissons (Ould El Kebir et al., 2003 ; De Silva et al, 1997; Sheikh-Eldin et al, 1996; Ulvund et Grahl-Nielsen, 1988)

Nous avons utilisé le logiciel ANDON pour la réalisation de l'ACP (Llinas, 1983).

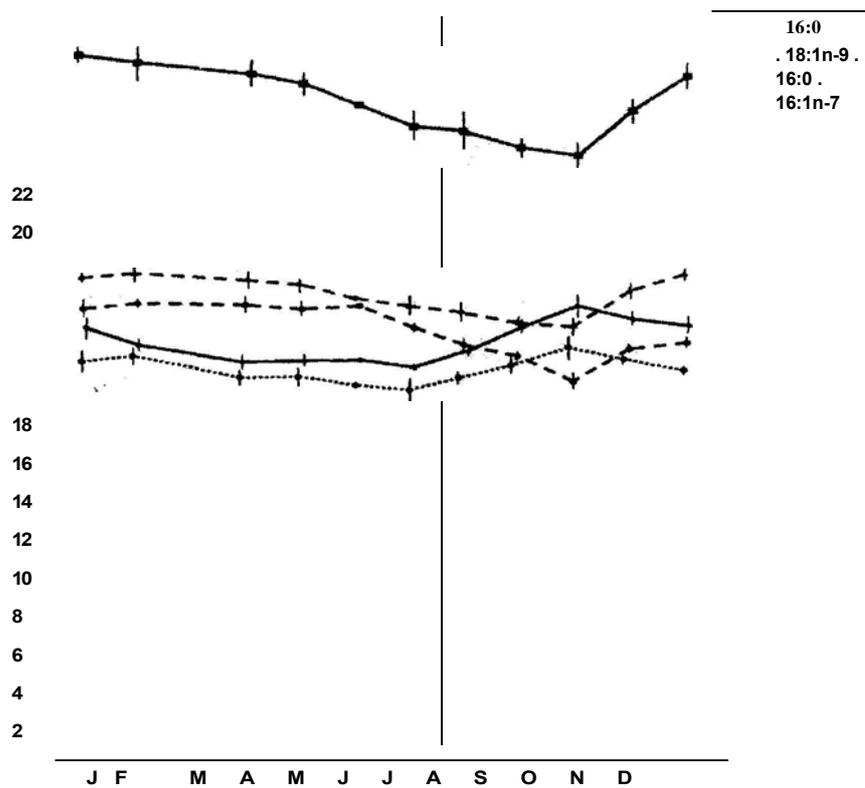


### **Résultats et discussion :**

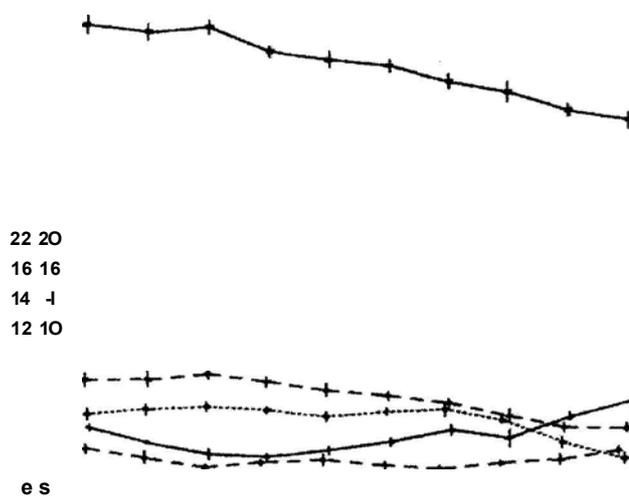
#### ***Teneur en lipides :***

Le muscle de tilapia est maigre, car il contient moins de 2 % de lipides et parfois même moins de 1 % : les teneurs en lipides du tilapia vont de 0,96 (au mois de mai pour la série EL) à 1,57 % (mois d'octobre pour la série SIS). Elles sont généralement inférieures aux chiffres cités par la littérature, Rahman et al. (1995) signalent des teneurs de 1,17 à plus de 30 % pour des poissons d'eau douce de Malaisie, dont respectivement 2,41 et 2,75 % pour un tilapia hybride (*O. niloticus* x *O. mossambicus* x *O. aureus*) et *O. mossambicus* en Malaisie. Cependant Al-Shagravi et al. (1998) rapportent une teneur de 1,18 % pour des tilapias (*O. niloticus*) sauvages en Egypte, ce qui est tout à fait comparable à nos résultats. Cette faible teneur en lipides pourrait être expliquée par la relative pauvreté des eaux continentales malgaches, faiblement minéralisées étant sur un socle cristallin, et donc peu riches en plancton.

On constate pour les deux séries une évolution assez régulière de la teneur en lipides avec un maximum vers les mois d'août à octobre (1,57 pour la série SIS et 1,38 pour la série EL); la teneur décroît ensuite pour atteindre un minimum vers les mois de mai à juillet (respectivement 0,97 et 0,96).

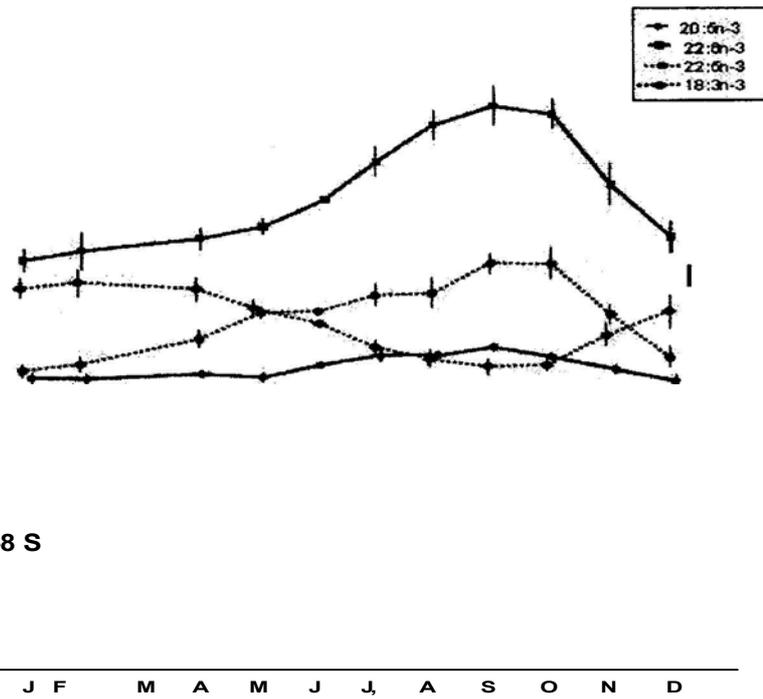


Série SIS (Sisaony)

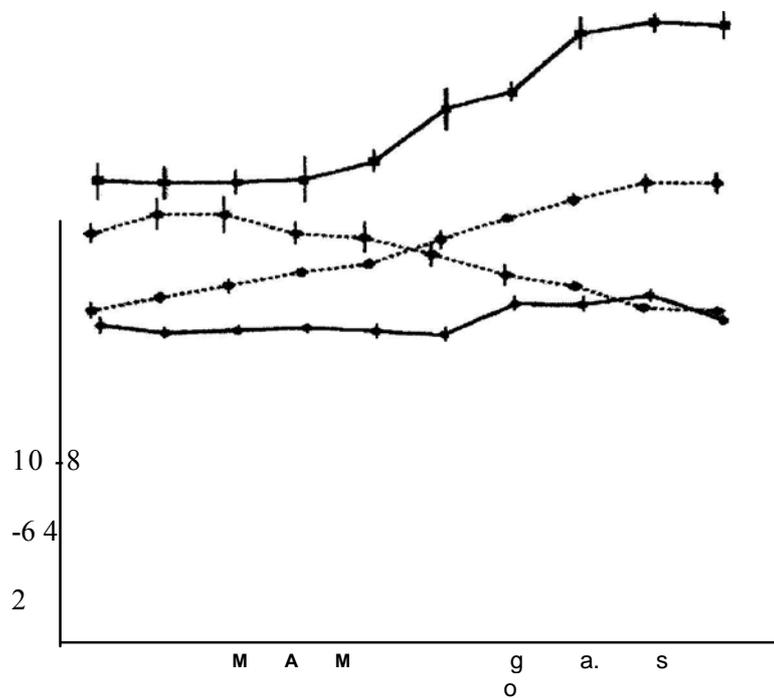


Série EL (Ambohitrimanjaka)

Figure 1: Evolution des principaux acides gras du tiapia (*Oreochromis nUoticus*) : acides gras saturés et monoinsaturés

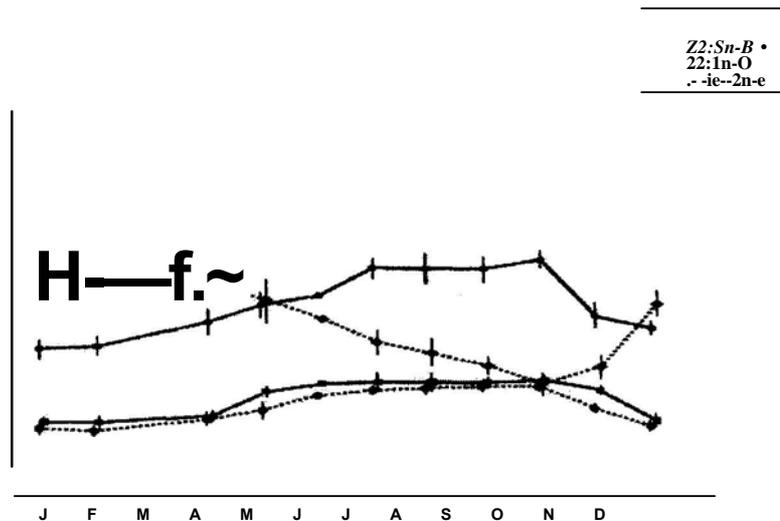


Série SIS (Sisaony)

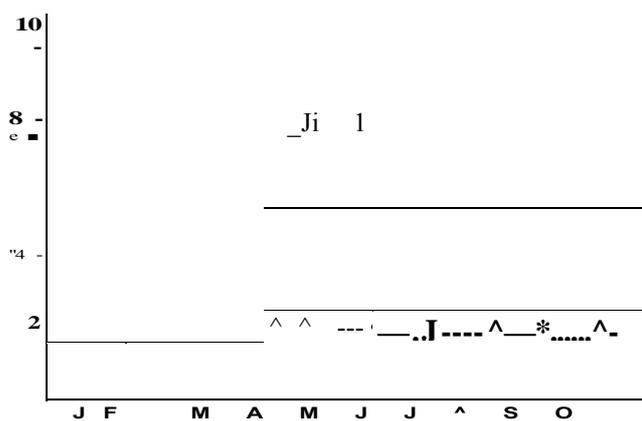


Série EL (Ambohitrimanjaka)

Figure 2 : Evolution des principaux acides gras du *tilapia* (*Oreochromis niloticus*) : acides gras polyinsaturés. Acides gras en n-3



Série SIS (Sisaony)



Série EL (Ambohitrimanjaka)

**Figure 3 : Evolution des principaux acides gras du tilapia (Oreochromis niloticus) : acides gras polyinsaturés. Acides gras en n-6**

Ceci correspond bien aux observations de la littérature, la période de décroissance correspondant à la période de reproduction, au cours de laquelle les réserves sont mobilisées en vue de la maturation des œufs (Ackman et al., (1967); Mukhopadhyay et Gosh, (2003)., tandis que la période du maximum de la teneur en lipides est celle d'un réchauffement des eaux et correspond donc à une plus grande quantité de nourriture disponible; en effet, durant cette période, la turbidité des eaux est faible à cause de l'absence de pluie diluant le biotope.

#### **Profil de composition en acides gras.**

Le profil de composition du tilapia *O. niloticus* est caractérisé par :

- une teneur assez élevée en 16 :0 (16,2 à 21,8 %), nettement supérieure à celles du cyprin ou de la carpe (Rasoarahona, 2004) ;
- une teneur assez élevée en 18 :0 (5,0 à 8,7 %), dont le maximum (en octobre) est nettement plus élevé que ceux de la carpe et du cyprin (respectivement 6,3 et 5,2 %) ;
- une teneur modérée en 18 :ln-9 (4,3 à 8,2 %), souvent comparable à celle de 18 :ln-7 (3,9 à 6,0%) ;
- une teneur modérée en 18 :2n-6 (3,4 à 7,1 %, contre 10 à 13 % pour le cyprin et la carpe) ;
- pour les acides gras polyinsaturés en n-3, le DHA 22 :6n-3 reste le plus représenté, avec 5,0 à 10,0 %, ce qui est plus élevé que pour les deux autres espèces ; l'EPA 20 :5n-3 quant à lui reste à des niveaux assez modérés (1,2 à 2.5 %) ;
- pour les acides gras de la série n-6, le principal est l'AA 20 :4n-6 (4,0 à 7,1 %). Jeon et al., (1990) observent un profil de composition analogue pour *O. niloticus* en Corée de même que Zenebe et al. (1998) dans la vallée du Rift en Ethiopie

Cette composition est globalement analogue à celles décrites dans la littérature comme typiques des poissons d'eau douce (Ackman et al., 1967; Henderson et Tocher, 1987 ; Rahman et al., 1995), à savoir :

- teneur moyenne à élevée en 18:2n-6, et accessoirement en 18:3n-3;
  - importance relative des polyinsaturés en n-6, qui représentent (18:2n-6 non compris) en tout environ 7 à 8 % du total alors qu'ils ne sont que très peu représentés chez les poissons de mer;
- faiblesse relative des acides gras polyinsaturés en n-3, en tout environ 10 % du total, alors qu'ils peuvent atteindre plus de 20 et même 30 % chez les poissons de mer;
  - fortes teneurs en 16 :0, et 18 :ln-9 ;
  - faible niveau des 20:1 et quasi-inexistence des 22:1.

On observe pour les acides gras 16:0, 16:ln-7, 18:ln-9 et 18:2n-6 (figure 1) une évolution analogue à celles de la carpe et du cyprin (Rasoarahona, 2004). Les minima, situés à la période de septembre-octobre, sont très caractérisés. Les acides gras 18:0 et 18:ln-7 présentent par contre des variations sensiblement opposées aux quatre acides gras précédents. Ce constat est très marqué.

Les acides gras polyinsaturés en n-6 (fig.2) atteignent leur niveau maximum entre mai et juillet et s'y maintiennent jusqu'en octobre. Les deux paliers correspondant aux niveaux maximum et minimum sont très nettement caractérisés pour 22:4n-6 et 22:5n-6..

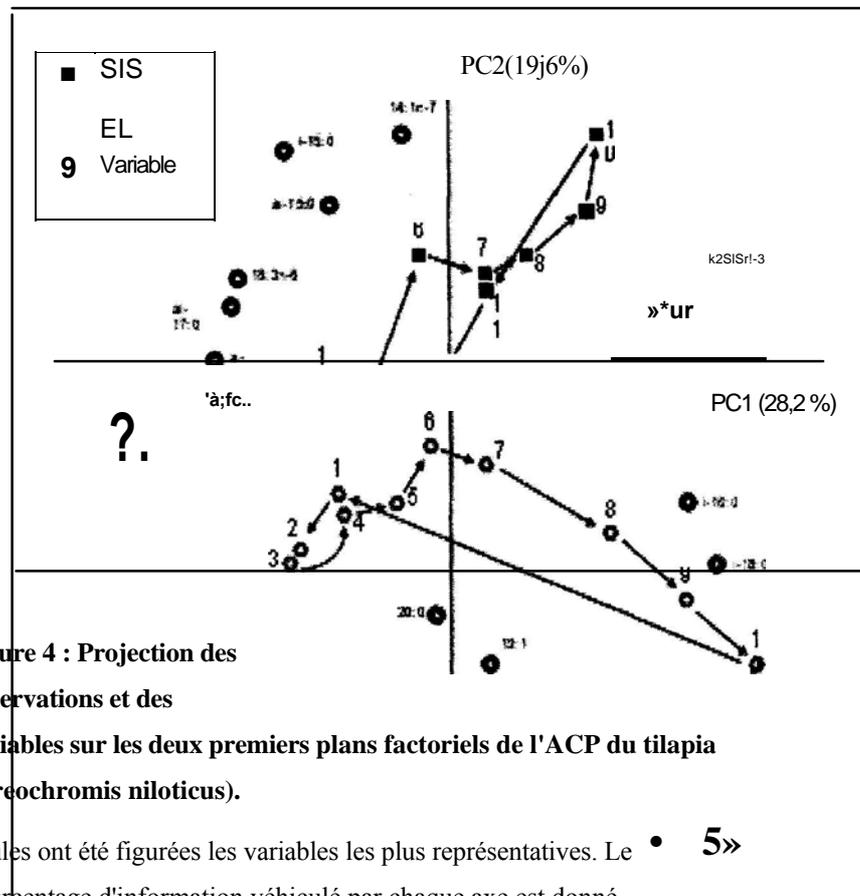
Les acides gras polyinsaturés en n-3 manifestent (fig. 3) également une évolution similaire, avec une amplitude de variation plus élevée que dans le cas du cyprin et de la carpe (Rasoarahona, 2004). Les niveaux des maxima sont d'ailleurs nettement plus élevés. On constate pour l'acide gras 18:3n-3 une évolution nettement caractérisée: un minimum vers septembre-octobre et un maximum vers février-mars; cette évolution est opposée à celles des autres acides gras qui dérivent biosynthétiquement de 18:3n-3; il semble donc que, dans le cas du tilapia, l'augmentation des teneurs des acides gras polyinsaturés en n-3 s'accompagne corrélativement d'une diminution du niveau de leur précurseur, dont le bilan devient négatif, en raison certainement des hauts niveaux atteints par les autres polyinsaturés de cette famille, 5 % et 10 % environ respectivement pour les deux principaux, 22:5n-3 et 22:6n-3.

Les coefficients de variation sont relativement bas: généralement moins de 0,05 pour les acides gras majeurs, et il n'apparaît pas de différence entre les valeurs pour les deux séries. L'espèce semble donc homogène.

La période diététiquement optimale pour la consommation du tilapia *S.niloticus* se situe en septembre-octobre, avec environ 0,6 g d'acides gras polyinsaturés pour 100 g de muscle frais.

### ***Analyse en composantes principales***

On constate sur les représentations de l'ACP (figure 4) que la stratification des variables est moins évidente que dans le cas de la carpe et du cyprin (RASOARAHONA, 2004). On peut cependant repérer un groupe de variables très significatives comprenant les principaux acides gras saturé (16:0), monoinsaturés (16:1n-7 et 18:1n-9) et diinsaturé (18:2n-6), ainsi que certains acides gras



• 5»

polyinsaturés tels 18:3n-3 et 20:4n-3, tous très proches et fortement corrélés entre eux (coefficients de corrélation de l'ordre de 0,9).

Dans le secteur opposé se retrouvent les acides gras polyinsaturés majeurs (20:3n-6, 20:4n-6, 22:4n-6, 22:5n-6, 20:5n-3, 22:5n-3 et 22:6n-3), dont le regroupement est moins resserré (coefficients de corrélation de 0,7 à 0,9). La teneur en lipides participe à ce groupe, mais est moins significative. Les autres variables ne manifestent pas de tendance particulière au regroupement.

La différenciation entre les séries s'effectue surtout par les acides gras 14:1n-7, **i-15:0**, ai-15:0, 18:3n-6, i-14:0 et ai-17:0 pour la série SIS; par 20:0, 19:1n-10, 13:0 et 16:2n-4 pour la série EL.

Les deux séries évoluent suivant deux boucles assez régulières, dont les extrémités ont tendance à diverger d'une série à l'autre, surtout pour les points représentant les mois de septembre et octobre, alors qu'elles sont proches dans leur partie médiane : pour la période du maximum d'acides gras polyinsaturés, la différenciation suivant le biotope d'origine du poisson par les acides gras mineurs est également à son maximum d'importance.

On peut ici considérer le premier axe factoriel comme caractérisant la saison, et le deuxième l'origine.

## Conclusion

L'étude de l'évolution des acides gras majeurs met en évidence un mode de variation commun pour les deux séries. On constate dans les deux cas un maximum de teneur en acides gras polyinsaturés des deux familles (n-3 et n-6) vers septembre-octobre, avec corrélativement un minimum pour les acides gras majeurs saturés, mono- et diinsaturés.

La composition en acides gras est par ailleurs caractéristique des poissons d'eau douce.

L'utilisation de l'ACP a permis de confirmer le mode d'évolution de la composition en acides gras majeurs à savoir:

- forte augmentation des teneurs en acides gras polyinsaturés dans la période d'août à octobre, correspondant à la fin de la saison froide et diminution durant cette période des concentrations des acides gras saturés, mono- et diinsaturés;
- inversion de cette évolution pour la saison chaude (décembre à avril).

Ces deux groupes d'acides gras semblent être les pôles entre lesquels varie la composition des acides gras majeurs durant l'année.



Remerciements au FADES pour la bourse accordée à J. R. E. R., lui ayant permis de finaliser la Thèse de Doctorat d'Etat et une série de publications y liées, dont la présente.

## BIBLIOGRAPHIE

ACKMAN R, G. (1980) Fish lipids. In *Advances in Fish science and Technology* (J. J. Connell éd.) Fishing News Books Ltd., Surrey (England)

ACKMAN, R. G. (1983a) Marine lipids. In *Proceedings of the International Conférence on Oils, Fats and Waxes- Fats for the Future* Duromark Publishing, Auckland

ACKMAN, R.G. (1967) Characteristics of the fatty acid composition and biochemistry of some freshwater fish oils and lipids in comparison with marine oils and lipids. *Comp. Biochem. Physiol*, 22 (3), 907-922

ACKMAN, R.G. (1983b) Some old and new problems in capillary gas liquid chromatography. In *Proceedings of the International Conférence on Oils, Fats and Waxes- Fats for the Future* Duromark Publishing, Auckland

ACKMAN, R.G. (2002) Freshwater fish lipids, an overlooked source of bénéficiai long-chain n-3 fatty acids. *EuropeanJ. ofLipidSc. Technol*, **104** (5) 253-254

AL-SHAGRAWI, R.A., AL-SHEDDY, LA., HEWEDY, F.M. (1998) Total lipids and fatty acids composition of wild and cultured tilapia. *Alexandria Science Exchange*, 19,303-312

ANONYME (2002) Rapport d'activité de la Brigade des Pêches de l'Itasy - Ampefy. Ministère de l'Agriculture, de l'Elevage et de la Pêche, Antananarivo

AYANOGLU, E. ; WALKUP, R. D. ; SICA, D. ; DJERASSI, C. (1982) Phospholipids studies of marine organisms. III New phospholipids fatty acids from *Petrosiaficiformis*. *Lipids*, 17 (9), 617-625

BERTHIER, P.; BOUROCHE, J. M. (1981) Analyse de données multidimensionnelles. P. U. F., Paris

BEZARD, J ; BLOND, J.P. ; BRENARD, A. ; CLOUET, P. (1994) The metabolism and availability of essential fatty acids in animal and human tissues. *Reprod. Nutr. Dev.*, 34,539-558

BLIGH E, G. ; DYER W. J. (1959) A rapid method of total lipid extraction and purification. *Can. J. Biochem. Physiol.*, 37 (8), 911-917

BOTTINO, N. R. I. (1971) The composition of marine-oil triglycérides as determined by silver ion thin-layer-chromatography. *J. Lipid Res.*, 12 (1), 24-**30**

DYERBERG, J. ; JORGENSEN K. A. (1980) The effect of arachidonic and eicosapentaenoic acids on the synthesis of prostacyclin-like material in human umbilical vasculature. *Artery*, 8 (1), 12-17

DYERBERG, J. ; JORGENSEN, K. A. ; ARNFRED, T. (1981) Human umbilical vessel converts *cis* 5,8,11,14,17-eicosanoic acid to prostaglandin 13. *Prostaglandins*, 22 (6), 857-862

DYERBERG, J. ; MORTENSEN, J. Z. ; NIELSEN, A. H. ; SCHMIDT, E. B. (1982) n-3 polyunsaturated fatty acids and ischémie heart disease. *Lancet*, 11, 614-628

HENDERSON, R.J. ; TOCHER, D.R. (1987) The lipid composition and biochemistry of freshwater fish. *Prog. Lipid Res.* 26,281-347

LEBART, L. ; MORINEAU, A. ; FENELON, J. P. (1982) Traitement de données statistiques. Dunod, Paris

LLINAS, J. R. (1983) Introduction à l'analyse de données multidimensionnelles. Université d'Aix-Marseille III

MORDRET, F. ; PREVOT, A. ; LE BRABANCHON, N. ; BARBATIC. (1977) Fat analysis by TLC on rods and gas phase chromatography on glass capillary columns. Rev. Fr. Corps Gras, 24 (10), 467-475

MUKHOPADHYAY, T.; GHOSH, S. (2003). Lipid profile and fatty acid composition in eggs of common carp (*Cyprinus carpio*). Journal of Oleo Science, 52,439-442.

OULD EL KEBIR, M. V. ; BARNATHAN, G., SIAU, Y. ; MIRALLES, J ; , GAYDOU, E. M. (2003). Fatty Acid Distribution in Muscle, Liver and Gonads of Rays (*Dasyatis marmorata*, *Rhinobatos cemiculus* and *Rhinoptera marginata*) from the East Tropical Atlantic Océan. J. Agric. Food Chem., 51,1942-1947.

RAHMAN, S .A., HUAH, T. S., HASSAN, O., DAUD, N.M. (1995). Fatty acid composition of some Malaysian freshwater fish. Food Chemistry, 54,45-49.

RANDERATH, K. (1971) Chromatographie en couches minces, Gauthiers-Villars, Paris

RASOARAHONA, J. R. E. (2004) Lipides de poissons d'eau douce de Madagascar: identification des acides gras particuliers et évolution du profil de leur composition chez *Cyprinus carpio*, *Carassius auratus*, *Oreochromis niloticus*, *Oreochromis macrochir*, *Tilapia rendalli*, *Tilapia zillii* et *Arius madagascariensis*. Application a la différenciation de ces espèces en fonction de la saison et/ou de l'origine. Thèse de Doctorat d'Etat ès-Sciences Physiques, ESPA, Antananarivo