



République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur
et de la Recherche Scientifique



Université Echahid Hamma Lakhdar. El Oued
Faculté de la Technologie

Mémoire de Fin d'Etude
En vue de l'obtention du diplôme de

MASTER ACADEMIQUE

Domaine: Sciences et Technologies

Filière: Génie des Procédés

Spécialité: Génie Chimique

Présenté par:

ALLAG Ismail & MESAI Mohammed Hocine

Thème

*Etude de l'effet de pH et la lumière
sur la stabilité de quelques
composés phénoliques*

Soutenu le 28/05/2017

Devant le Jury:

Mr MENACEUR Souhila	Président	Université d'El Oued.
Mr ROUAHNA Nouredine	Examineur	Université d'El Oued.
Mr LAOUINI Salah Edine	Rapporteur	Université d'El Oued.

2016/2017

Remerciements

*Nous remercions tout d'abord le tout puissant
Qui nous a donné le courage et la volonte pour accomplir
ce travail.*

*Nous somme particulièrement reconnaissants a notre
promoteur Mr Laouni Salah Eddine de nous avoir fait
bénéficier de ces remarque et son aide.*

*Notre remerciement s'adresse aussi au président et aux
membres de jury qui ont accepté de juger notre travail.*

*Nous remercions également tout département de Génie
Chimique - université d'El oued.*

*Et Mr Teliba Ali Pour leur accueils chaleureux dans ce
laboratoire et les conditions de travail qu'ils nous ont
fournir durant notre séjour.*

*Sans oublier conseils et encouragements surtout sur le plan
scientifique.*

Dédicace

Nous dédions ce modestes travail à nos chers
Parents qui nous ont toujours encouragé tout au
Long de notre vie
A nos frères et nos sœurs et à tous nos amis.

Ismail Allag, Mesai M^{ed} Hocine



Sommaire

Liste des Figure

Liste des Tableaux

Liste des abréviations

Introduction générale	01
PREMIÈRE PARTIE : Etude Bibliographique	
Chapitre I : Polyphénols, structures, Classification et propriétés	
I.1. Présentation générale sur les polyphénols	03
I.2. Classification des polyphénols	03
I.2.1. Polyphénols simples	03
I.2.1.1. Acides phénoliques	03
I.2.1.2. Flavonoïdes	05
I.2.1.3. Alcools phénoliques	07
I.2.1.4. Polyphénols complexes (tanins)	08
I.3. Propriétés chimiques des polyphénols	09
I.3.1. Nucléophilie	10
I.3.2. Propriétés réductrices	10
I.3.3. Polarisabilité	11
I.3.4. Liaison hydrogen	12
I.3.5. Acidité	12
I.4. Propriétés thérapeutiques des polyphénols	13
I.4.1. Etudes épidémiologiques et propriétés biologiques in vitro	13
I.4.2. Effet antiallergique	13
I.4.3. Effet anti-inflammatoire	14
I.4.4. Effet anti-ulcère	14
I.4.5. Effet anti-cancer	15
I.4.6. Autres activités biologiques	15
I.5. Propriétés pro-oxydantes des polyphénols	15
Chapitre II : Stabilité des composés polyphénols	
II.1. Stabilité des polyphénols	17
II.1.1. Autoxydation	17
II.1.2. Mécanismes d'oxydation	18
Chapitre III : Caractéristiques de l'acide ascorbique, Acide Gallique et Vanilline	
III.1. L'acide ascorbique (Vitamine C)	25
III.1.1. Définition	25
III.1.2. Structure	25
III.1.3. Propriétés physico-chimiques	26

III.1.4. Les effets de l'acide ascorbique	27
III.1.5. Les sources d'acide ascorbique	28
III.1.6. Mécanisme d'oxydation de l'acide ascorbique	28
III.2. L'acide Gallique	28
III.2.1. Définition	28
III.2.2. Structure	29
III.2.2. Propriétés de l'acide gallique	29
III.2.3. Les sources d'acide gallique	30
III.2.4. Activités biologiques	30
III.3. La Vanilline	32
III.3.1. Définition	32
III.3.2. Structure	32
III.3.3. Origine	32
III.3.4. Propriétés physico-chimiques	33
III.3.5. Danger	34
III.3.6. Effets sur la Santé	34
DEUXIÈME PARTIE : Partie Pratique	
Chapitre IV : Matériel et Méthodes	
IV.1. Matériels de laboratoire	35
IV.1.1. Appareillage et Produits chimiques	35
IV.2. Méthodes	35
IV.3. Analyses colorimétriques par spectrophotométrie (UV-visible)	36
IV.3.1. La spectrophotométrie UV-visible	36
IV.3.2. Analyses quantitatives	34
Chapitre V : Résultats et discussion	
V.1. Les courbes d'étalonnage d'acide ascorbique, gallique et vanilline	38
V.2. Effet PH	39
V.3. Etude de l'effet de la lumière sur la stabilité des polyphénols	42
V.4. Détermination de l'activité antioxydante des composés phénoliques	43
V.4.1. Pouvoir antioxydant total	43
V.4.2. Le Test DPPH	44
V.4.3. Résultats d'évaluation d'activité antioxydante	45
V.4.3.1. D'activité antioxydante totale	45
V.4.3.2. DPPH	46

Conclusion général

Annexe

Références bibliographiques

Liste des Figure

Figure	Titer	Page
PREMIÈRE PARTIE : Etude Bibliographique Chapitre I : Polyphénols, structures, Classification et propriétés		
01	Structures chimiques des acides hydroxy benzoïques	04
02	Structures chimiques des acides hydroxycinnamiques	04
03	Squelette de base des flavonoïdes	05
04	Structure chimique des flavanones	06
05	Structures chimiques de flavonols	06
06	Structures chimiques de certains flavan-3-ols	07
07	Structure chimique de certains anthocyanidines courantes	07
08	Structures de l'hydroxytyrosol (a) et du tyrosol (b)	08
09	Structures de l'oleuropéine	08
10	Structure chimique (a) d'un tanin condensé (proanthocyanidol) et (b) d'un tanin gallique (1, 2,3-tri-O-galloyl- β -D-glucose)	09
11	Formes mésomères du phénol	10
12	Oxydation mono-électronique d'un phénol et formes mésomères	11
13	Mécanisme de formation d'espèces réactives par l'acide gallique, métabolite du propylgallate	16
PREMIÈRE PARTIE : Etude Bibliographique Chapitre II : Stabilité des composés polyphénols		
14	Oxydation des polyphénols présentant un noyau catéchol et principales formes oxydées (o-quinones et semi-quinones)	20
15	Réaction de transfert d'atome H depuis l'acide caféique, (En Kcal mol ⁻¹ , BDE = bond dissociation energy : capacité du phénol à céder un hydrogène)	21

16	Produits d'oxydation de l'acide caféique par voie de dimérisation	22
17	Produits d'oxydation de la catéchine par voie de dimérisation	23
18	Produits d'oxydation de la quercétine	24

Liste des Figure

Figure		Page
PREMIÈRE PARTIE : Etude Bibliographique Chapitre III : Caractéristiques de l'acides ascorbique, Acide Gallique et Vanilline		
19	structure acide ascorbique (l'oxo-3-gulofuranolactone)	25
20	structure chimique de l'acide ascorbique et l'acide déhydroascorbique	26
21	Structure des composés acides galliques	29
22	Structure des composés vanilline	32
DEUXIÈME PARTIE : Partie Pratique Chapitre IV : Matériel et Méthodes		
23	La spectrophotométrie UV-visible	37
DEUXIÈME PARTIE : Partie Pratique Chapitre V : Résultats et discussion		
24	Effet de pH sur l'absorbance d'acide Ascorbique	39
25	Effet de pH sur l'absorbance d'acide Gallique	40
26	Effet de pH sur l'absorbance d'vanilline	41
27	Courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour l'activité antioxydante totale	45
28	Activité antioxydante de l'acide ascorbique préparé à pH =3.8 vis-à-vis le radical DPPH	46

29	Activité antioxydante de l'acide ascorbique préparé à pH =7 vis-à-vis le radical DPPH	46
30	Activité antioxydante de l'acide ascorbique préparé à pH =9 vis-à-vis le radical DPPH	47
31	Activité antioxydante de l'acide gallique préparé à pH =3.8 vis-à-vis le radical DPPH	47
32	Activité antioxydante de l'acide gallique préparé à pH =7 vis-à-vis le radical DPPH	48
33	Activité antioxydant de l'acide gallique préparé à pH= 9 vis-à-vis le radical DPPH	48
34	Activité antioxydant de vanilline préparé à pH =3.8 vis-à-vis le radical DPPH	49
35	Activité antioxydant de vanilline préparé à pH =7 vis-à-vis le radical DPPH	49
36	Activité antioxydant de vanilline préparé à pH =9 vis-à-vis le radical DPPH	50

Liste des Tableaux

Tableaux	Titer	Page
PREMIÈRE PARTIE : Etude Bibliographique Chapitre III : Caractéristiques de l'acides ascorbique, Acide Gallique et Vanilline		
01	Propriétés de l'acide ascorbique	27
02	Propriétés de l'acide gallique	30
03	Propriétés de vanilline	33
04	Effets sur la Sant de l'vanilline	34

DEUXIÈME PARTIE : Partie Pratique Chapitre V: Résultats et discussion		
05	L'absorbance d'acide ascorbique en fonction de concentration	38
06	L'absorbance d'acide gallique en fonction de concentration	38
07	L'absorbance de vanilline en fonction de concentration	38
08	L'absorbance de d'acide ascorbique fonction de potentiel hydrogène	39
09	L'absorbance de d'acide gallique fonction de potentiel hydrogène	39
10	L'absorbance de d'vanilline de potentiel hydrogène	40
11	Les traitements thermiques appliqués aux fruits et légumes : intensité et buts	42
12	L'absorbance d'acide ascorbique en fonction de temps	42
13	L'absorbance d'acide gallique en fonction de temps	42
14	L'absorbance d'vanilline en fonction de temps	42

Liste des abréviations

BDE	bond dissociation energy
EDTA	Acide éthylènediamine tétra-acétique
EOR	espèces oxygénées réactives
PI	potentiel d'ionisation
Q	Quinone
QH2	Quercétine
RO•	radical oxyl

ROO•	radical peroxy
RPE	résonance paramagnétique électronique
UV	Ultra-Violet
DPPH•	2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyle
pH	potentiel hydrogène
AMP	Adénosine monophosphate
ADN	acide désoxyribonucléique
UV- visible	Spectrophotométrie ultra violet
A	Absorbance
h	Heures

Introduction

Introduction

Les plantes sont capables de produire de nombreux métabolites secondaires parmi lesquels on distingue les terpénoïdes, les alcaloïdes et les composés phénoliques.

Avec leur diversité structurale remarquable, ces derniers, également appelés polyphénols, constituent une richesse déjà largement exploitée par les industries agro-alimentaire, cosmétique et pharmaceutique.

Les polyphénols (principalement, flavonoïdes, acides phénoliques, tannins) sont présents dans toutes les parties de la plante.

Ils entrent dans la composition des produits de consommation les plus courants, en particulier les fruits et légumes mais également les produits transformés comme le chocolat, le thé et le vin rouge ; le régime méditerranéen, caractérisé par une consommation élevée et variée de légumes et de fruits, est associé à un allongement de l'espérance de vie.

De récentes études épidémiologiques suggèrent que la protection qu'une alimentation riche en produits végétaux semble apporter contre le développement de diverses pathologies dégénératives associées au stress oxydant telles que les maladies cardio-vasculaires, les maladies neurodégénératives et divers cancers, serait due aux microconstituants des fruits et légumes dont les polyphénols sont les principaux représentants [1].

L'interaction des polyphénols avec les activités biologiques est un phénomène de grand intérêt biologique, plusieurs études présentent des relations entre le pH et la stabilité des composés phénoliques.

En fin sur l'activité biologique des composés phénoliques. Il pourrait jouer un rôle important dans le pouvoir antioxydant.

En effet, sont susceptibles d'entrer dans des cycles redox, qui dans des conditions aérobies, produisent des espèces oxygénées réactives ou EOR (superoxyde, peroxyde d'hydrogène, radical hydroxyle).

Les polyphénols sont susceptibles d'inhiber ce stress oxydant, non seulement en piégeant les EOR par réduction, mais aussi en formant des complexes inertes.

Ainsi, les polyphénols sont capables de protéger les lipides polyinsaturés contre les phénomènes d'oxydation générateurs de radicaux et aldéhydes lipidiques responsables du développement des maladies évoquées plus haut [1].

Les polyphénols sont susceptibles d'initier l'oxydation à l'air des polyphénols.

Ce processus, appelé autoxydation, est mal connu et dépend a priori de multiples paramètres : la concentration et la nature des polyphénols, la présence d'agents complexants capables d'entrer en compétition avec les polyphénols, le pH, la température.... Si la

réduction des EOR par les polyphénols est effectivement un mécanisme d'action antioxydante, l'autoxydation des polyphénols, potentiellement génératrice EOR, peut être une source de toxicité (effet pro-oxydant).

En outre, l'autoxydation peut être une voie majeure de dégradation des polyphénols au sein d'extrait naturels et de préparations alimentaires, particulièrement au cours de traitements thermiques (procédés technologiques, cuisson).

Actuellement, grâce au développement des méthodes d'extraction et des techniques d'analyses physico-chimiques et biologiques, une meilleure connaissance de la composition des plantes d'importance alimentaire et des aliments qui en dérivent, du devenir de leurs principaux micronutriments après ingestion (biodisponibilité) et des effets nutritionnels qui en découlent, est devenue possible.

La recherche d'extraits végétaux riches en molécules à fort pouvoir antioxydant et la mesure de l'activité antioxydante dans différents milieux restent des domaines de recherche importants [1].

La qualité alimentaire ou thérapeutique d'un extrait naturel est liée à l'efficacité et à la sélectivité du procédé d'extraction utilisé. Les techniques conventionnelles d'extraction des polyphénols impliquent différents solvants et divers procédés : macération, soxhlet, chauffage conventionnel, infusion... Cependant, ces méthodes impliquent une durée d'extraction qui peut être trop longue et au cours de laquelle des problèmes de dégradation de l'extrait peuvent survenir.

La diminution du temps d'extraction par augmentation de la température n'est pas satisfaisante car la dégradation des polyphénols par autoxydation et/ou hydrolyse est accélérée par le chauffage.

A l'heure où l'efficacité est devenue une des caractéristiques principales d'une bonne technique d'extraction, l'extraction des polyphénols assistée par micro-ondes constitue une alternative très intéressante qui peut permettre des durées d'extraction courtes tout en maintenant des rendements élevés.

C'est dans ce contexte de l'étude de l'extraction et de la stabilité des polyphénols que notre travail a pris naissance.

Le programme de recherche s'articule autour de deux axes principaux:

- Etude de l'effet de pH sur la stabilité des quelques composés phénoliques (Acide gallique, acide ascorbique, vanilline)

Le second axe est focalisé sur l'évaluation de l'activité antioxydante totale et le radical DPPH préparé à différents pH (3.8, 7, 9.2).

PREMIERÉ PARTIE
ÉTUDE BIBLIOGRAPHIQUE

Chapitre I

Les Polyphénols, Structures, Classification et propriétés



I.1. Présentation générale sur les polyphénols

Les polyphénols constituent une famille de molécules très largement répandues dans le règne végétal.

On les trouve dans les plantes, depuis les racines jusqu'aux fruits.

Les polyphénols sont des métabolites secondaires, ce qui signifie qu'ils n'exercent pas de fonctions directes au niveau des activités fondamentales de l'organisme végétal, comme la croissance, ou la production [3].

L'expression de « composés phénoliques » est utilisée pour toutes substances chimiques possédant dans sa structure un noyau aromatique, portant un ou plusieurs groupements hydroxyles [4].

Un nombre considérable de ces composés sont formés de deux noyaux benzéniques A et B reliés par un hétérocycle de type pyrane.

Ces composés diffèrent les uns des autres par la position des substitutions sur les noyaux A et B, par la nature de l'élément central et par la position, la nature et le nombre de molécules de sucre fixées ainsi que par la nature de la liaison hétérosidique.

Les polyphénols sont des produits de la condensation de molécules d'acétyl-coenzyme A et de phénylalanine.

Cette biosynthèse a permis la formation d'une grande diversité de molécules qui sont spécifiques d'une espèce de plante, d'un organe, d'un tissu particulière.

I.2. Classification des polyphénols

La classification des polyphénols est basée essentiellement sur la structure, le nombre de noyaux aromatiques et les éléments structuraux qui lient ces noyaux.

On peut distinguer deux catégories : les composés phénoliques simples et les composés phénoliques complexes [6, 7].

I.2.1. Polyphénols simples

I.2.1.1. Acides phénoliques

Ce sont des composés organiques possédant au moins une fonction carboxylique et un hydroxyle phénolique.

Ils sont représentés par deux sous-classes : les dérivés de l'acide hydroxy benzoïque et de l'acide hydroxy cinnamique [5].

❖ Dérivés de l'acide hydroxy benzoïque (C6-C1)

Ces acides sont très communs aussi bien sous forme libre que sous forme combinée à l'état d'esters ou hétérosides [5, 8].

Cette catégorie est abondante dans les végétaux et les aliments, notamment les épices, les fraises, certains fruits rouges et l'oignon dans lesquels les concentrations peuvent atteindre plusieurs dizaines de milligrammes par kilogramme de fruits frais [8].

Les dérivés de l'acide hydroxy benzoïque les plus répandus sont illustrés dans la figure suivante :

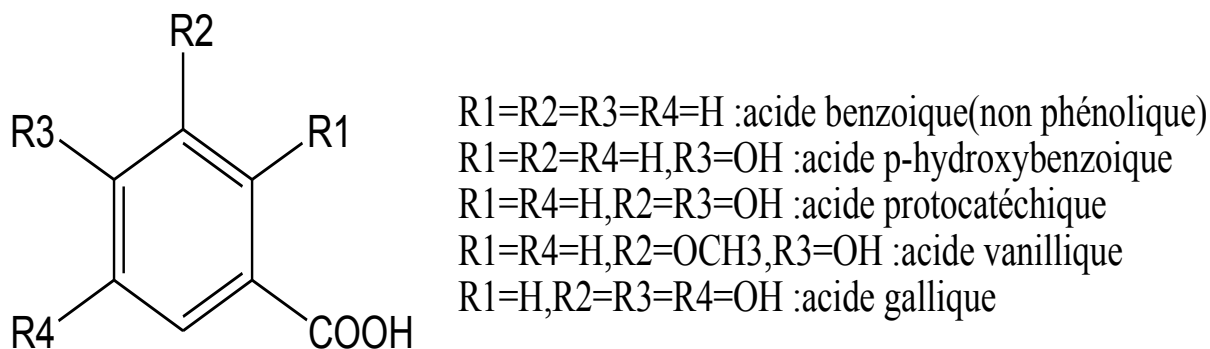


Figure 01 : Structures chimiques des acides hydroxy benzoïques [5].

❖ Dérivés de l'acide hydroxy cinnamique (C6-C3)

Ces composés ont une distribution très large. Rarement libres, ils sont souvent estérifiés [8] et peuvent également être amidifiés ou combinés avec des sucres (O-acylglycosides, O-arylglucosides) ou des polyols tels que l'acide hydroxy cinnamiques (Figure 02) [5].

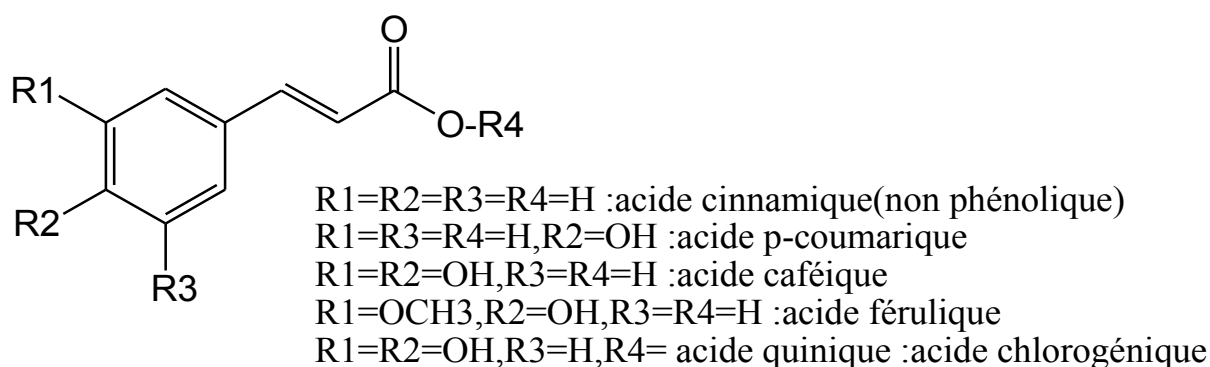


Figure 02 : Structures chimiques des acides hydroxy cinnamiques [10, 11].

L'acide caféique est le principal représentant de cette catégorie.

Il est présent dans de nombreux végétaux (graine de café, tomate, olive, pomme), en particulier dans les fruits.

Il représente 75 à 100% de la teneur totale en acides hydroxy cinnamiques de la majorité des fruits, principalement sous forme d'ester de l'acide quinique (acide chlorogénique) [9].

L'acide chlorogénique est présent en très forte concentration dans la pomme (430 mg/kg) [12] et dans le café, une seule tasse peut en contenir de 70 à 350 mg [9].

❖ Coumarines

Les coumarines dérivent des acides hydroxy cinnamiques par cyclisation interne de la chaîne latérale.

Les coumarines ont fréquemment un rôle écologique ou biologique [9].

I.2.1.2. Flavonoïdes

Les flavonoïdes sont des composés possédant un squelette de base à quinze atomes de carbone, constitués de deux noyaux aromatiques et d'un hétérocycle central de type pyrane, formant une structure C6-C3-C6 (Figure 03) [13].

Ce sont les composés les plus abondants parmi tous les composés phénoliques. Ils interviennent dans la pigmentation des fleurs et dans les processus de défense contre le rayonnement UV, les herbivores et les attaques microbiennes [14].

Les flavonoïdes sont présents dans une grande variété d'aliments (fruits et légumes, céréales, jus de fruits, thé et vin...).

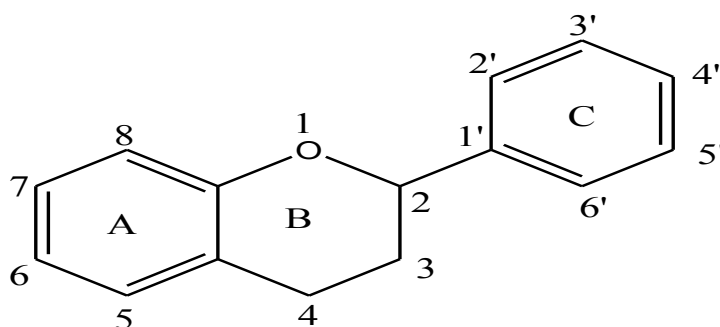


Figure 03 : Squelette de base des flavonoïdes [14].

Il existe plusieurs classes de flavonoïdes, dont les principales sont les flavones, les flavonols, les flavan-3-ols, les isoflavones, les flavanones et les anthocyanidines.

La structure de base de ces différents flavonoïdes peut subir de nombreuses substitutions, les groupements hydroxyles étant généralement en positions 4, 5 et 7.

Ces substances existent généralement sous forme de glycosides [11].

❖ Flavanones

Les flavanones sont caractérisées par l'absence de la double liaison entre C2 et C3 et par la présence d'un centre de chiralité en C2 [5, 11].

Les agrumes constituent la principale source alimentaire de flavanones.

Les principaux aglycones sont l'ériodictyol dans le citron, la naringénine dans le pamplemousse et l'hésperétine dans l'orange (Figure 04) : un jus d'orange contient entre 200 et 600 mg d'hésperétine / L [9].

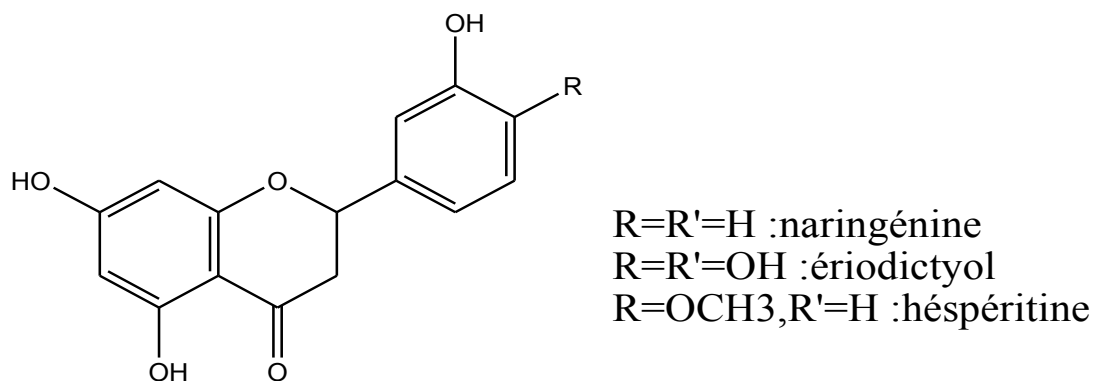


Figure 04 : Structure chimique des flavanones [20].

❖ Flavonols

Les flavonols se distinguent par la présence d'un groupement OH en position C3 et d'une double-liaison en C2-C3 (Figure 05).

Ils peuvent exister soit sous forme d'aglycones, soit sous forme d'hétérosides.

Les sucres les plus souvent impliqués sont des aldoses : D-glucose et L- rhamnose [14].

Leurs principaux représentants sont la quercétine, le kaempférol et la rutine. Les sources les plus riches sont les oignons (350-1200mg/kg de matière fraîche) [15, 16], le poireau, le chou et les baies telles que le cassis (115 mg/kg de matière fraîche) [23].

Le thé contient aussi des flavonols à hauteur de 45 mg/L [18].

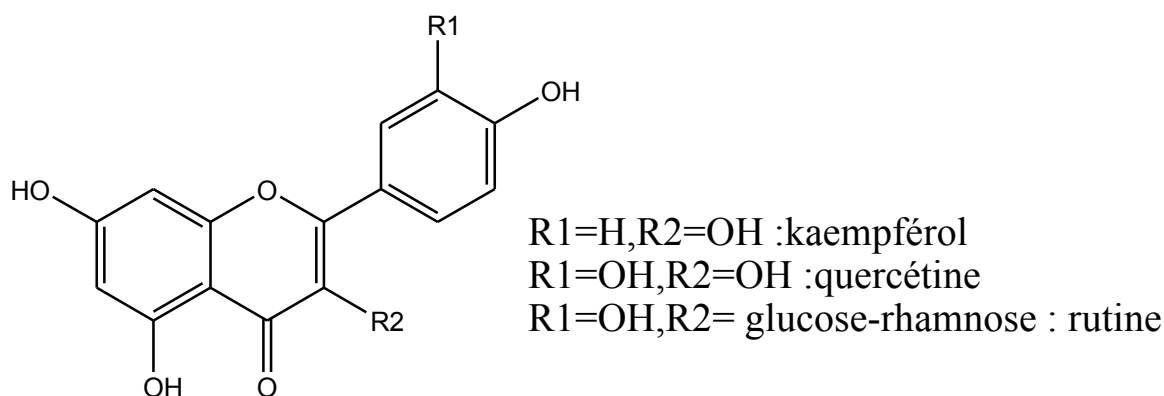


Figure 05 : Structures chimiques de flavonols [14].

❖ Flavan-3-ols

Les flavan-3-ols ou dérivés de catéchine sont la catégorie de flavonoïdes la plus complexe. Ces composés vont des simples monomères, (+)-catéchine et son isomère (-)-épicatechine, jusqu'aux oligomères et polymères, les proanthocyanidines.

De plus, les flavan-3-ols peuvent être estérifiés par l'acide gallique ou hydroxylés pour former les gallocatéchines (épicatechine gallate, épigallocatéchine, épigallocatéchine gallate) (Figure 06) [11].

Les catéchines sont présentes dans le chocolat (jusqu'à 132,4 mg/kg de matière fraîche de chocolat noir), le thé (jusqu'à 120 mg du thé noir de Chine) et dans les fruits comme l'abricot [19, 20].

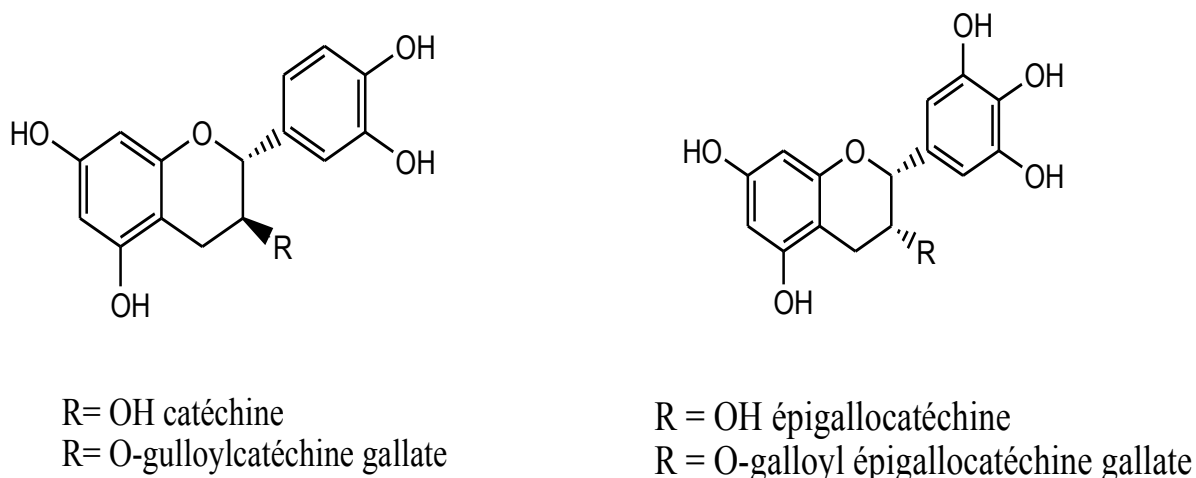


Figure 06 : Structures chimiques de certains flavan-3-ols [11].

❖ Anthocyanidines

Ce sont des pigments, principalement sous formes de glycosides stables et hydrosolubles, rouges en milieu acide, virant au bleu-violet en milieu neutre ou faiblement alcalin [21].

Les composés les plus courants sont la pélagonidine, la cyanidine et la malvidine (Figure 07) [22, 2].

Ils sont présents dans le vin rouge (340-420 mg de malvidine 3-O-glucoside/L) [23].

De nombreux glucosides de cyanidine et deux dérivés de pélagonidine ont aussi été caractérisés dans l'oignon rouge [30].

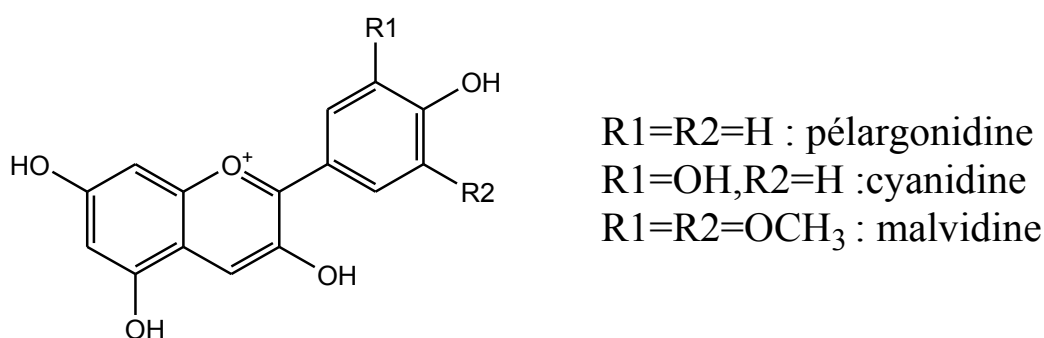


Figure 07 : Structure chimique de quelques anthocyanidines courantes [10, 11].

I.2.1.3. Alcools phénoliques

Un alcool phénolique est un composé organique possédant au moins un alcool aliphatique et un hydroxyle phénolique.

Le tyrosol (4-hydroxyphenylethanol) et hydroxytyrosol (3,4-dihydroxyphenylethanol) (Figure 08) sont les principales molécules de cette classe.

Ces composés sont très abondants dans l'olive (fruit et feuille), libres ou associés à l'acide élénolique [25, 27].

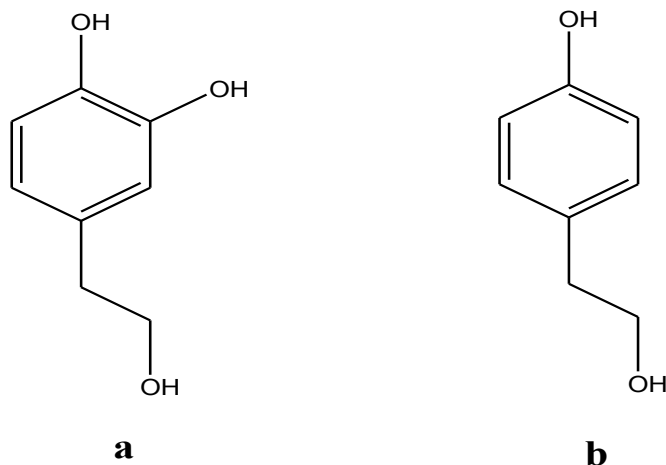


Figure 08 : Structures de l'hydroxytyrosol(a) et du tyrosol(b) [20].

Le principal alcool phénolique de l'olive (responsable de l'amertume du fruit) est l'oleuropéine (Figure 09) (60 à 90 mg/g matière sèche) [28].

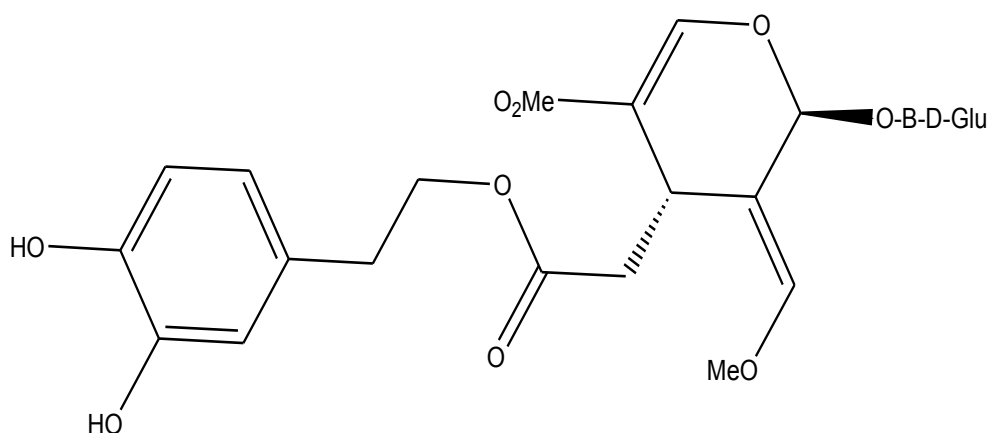


Figure 09 : Structures de l'oleuropéine [28].

I.2.1.4. Polyphénols complexes (tanins)

Les tanins représentent une classe très importante de polyphénols localisés dans les vacuoles [29].

Historiquement, le terme « tanin » regroupe des composés polyphénoliques caractérisés par leurs propriétés de combinaison aux protéines [30], d'où leur capacité à tanner le cuir.

Sur le plan structural, les tanins sont divisés en deux groupes, tanins hydrolysables et

tanins condensés [31]:

✓ **Tanins hydrolysables** : ce sont des esters du D-glucose et de l'acide gallique ou de ses dérivés, en particulier l'acide ellagique (Figure 10) [32, 33].

Ces substances sont facilement hydrolysables par voie chimique ou enzymatique (tannase) [34].

✓ **Tannins condensés** : les tannins condensés ou les proanthocyanidines sont des polymères constitués d'unités flavane reliées par des liaisons entre les carbones C4 et C8 ou C4 et C6 (Figure 10) [35, 33].

En raison de leur complexation avec les protéines salivaires, les tanins condensés sont responsables de l'astringence caractéristique des fruits avant maturité (raisin, pêche, pomme, poire, etc...) et de certaines boissons (vin, cidre, thé, etc...) et de l'amertume du chocolat.

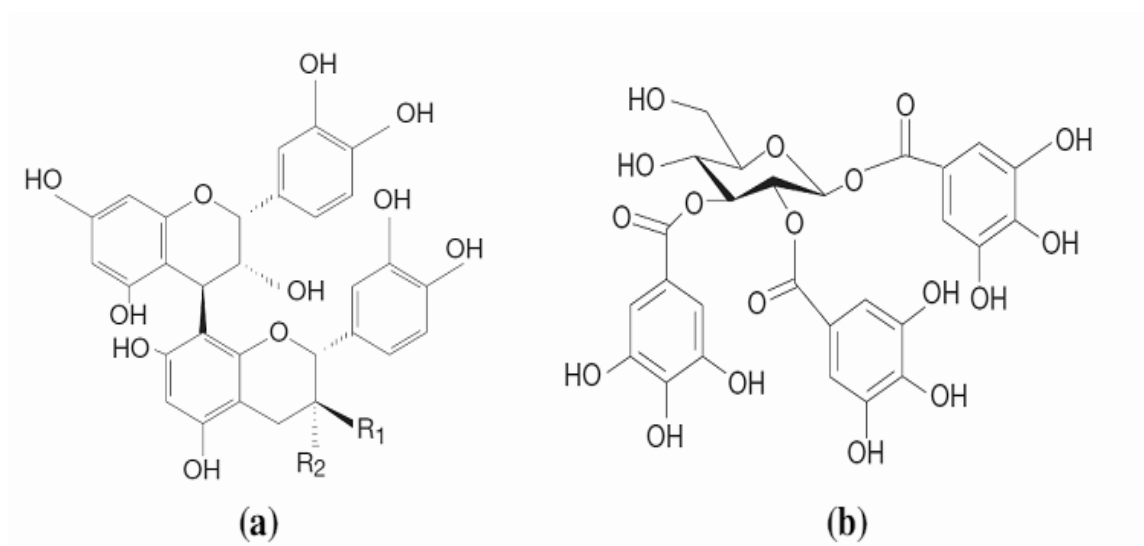


Figure 10 : Structure chimique (a) d'un tanin condensé (proanthocyanidine) et (b) d'un Gallotanin (1, 2, 3-tri-O-galloyl-β-D-glucose) [36].

I.3. Propriétés chimiques des polyphénols

Les propriétés chimiques des polyphénols sont essentiellement liées à celles des noyaux phénoliques, [37] particulièrement des substituants à effet mésomère attracteur d'électrons (- M) et substituants à effet mésomère donneur (+M).

La conjugaison d'une des deux paires libres de l'atome O avec le cycle traduit l'effet (+M) du groupe OH.

Ce phénomène augmente la délocalisation électronique et produit une charge négative partielle sur les atomes C2, C4, C6, l'effet (+M) peut être représenté par quatre formes mésomères.

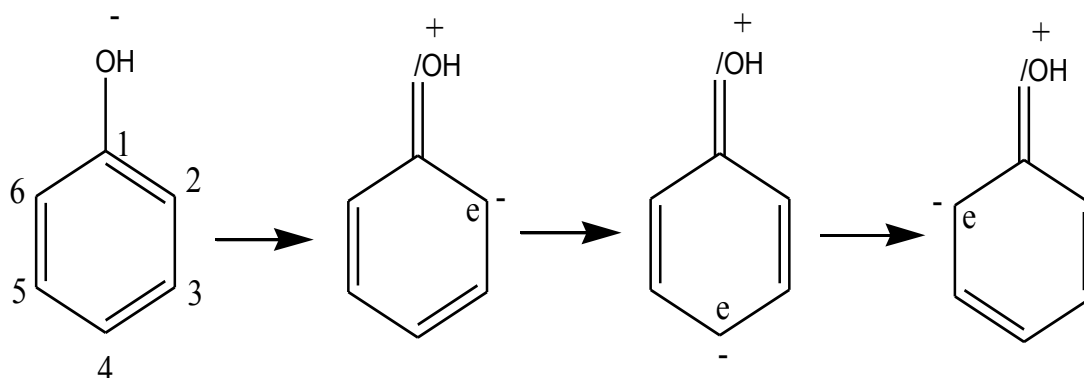


Figure 11 : Formes mésomères du phénol.

De ces caractères de base découlent les différentes propriétés physico-chimiques suivantes :

I.3.1. Nucléophilie

La nucléophilie des composés phénoliques est portée par l'atome d'oxygène et les atomes de carbone en ortho et para du groupement OH (suite à l'effet (+M)). Cette propriété est à l'origine des réactions de substituants électrophiles aromatique (alkylation, acylation, etc.) régiosélectives des positions ortho et para.

Les substituants de type 1,3-dihydroxy (résorcinol) et 1, 3,5-tri hydroxy (phloroglucinol) permettent une accumulation de densité électronique sur les sommets C2, C4 et C6 (tous ortho ou para des groupements OH), accentuant ainsi le caractère nucléophile.

Le cycle A des flavanols possède deux centres C6 et C8 fortement nucléophiles car en ortho et en para de trois groupements OH ou OR à effet (+M).

Le noyau A est également activé par le groupement carboné saturé en C4.

Cette nucléophilie permet des réactions de substitutions électrophiles aromatiques qui peuvent par exemple intervenir lors de la production du thé noir.

I.3.2. Propriétés réductrices

Le potentiel d'ionisation (PI) d'une molécule est l'énergie minimale qu'il faut lui fournir pour lui arracher un électron.

Plus un composé aromatique est substitué par des groupements donneurs d'électrons, plus son PI est faible et plus son caractère réducteur est grand.

Il peut alors subir une oxydation mono-électronique qui conduit au radical correspondant.

Dans le cas d'un phénol $ArOH$, le radical-cation formé est un acide fort qui se déprotonne aussitôt pour conduire à un radical phénoxy ou aryloxy $ArO^{\bullet}$ [37].

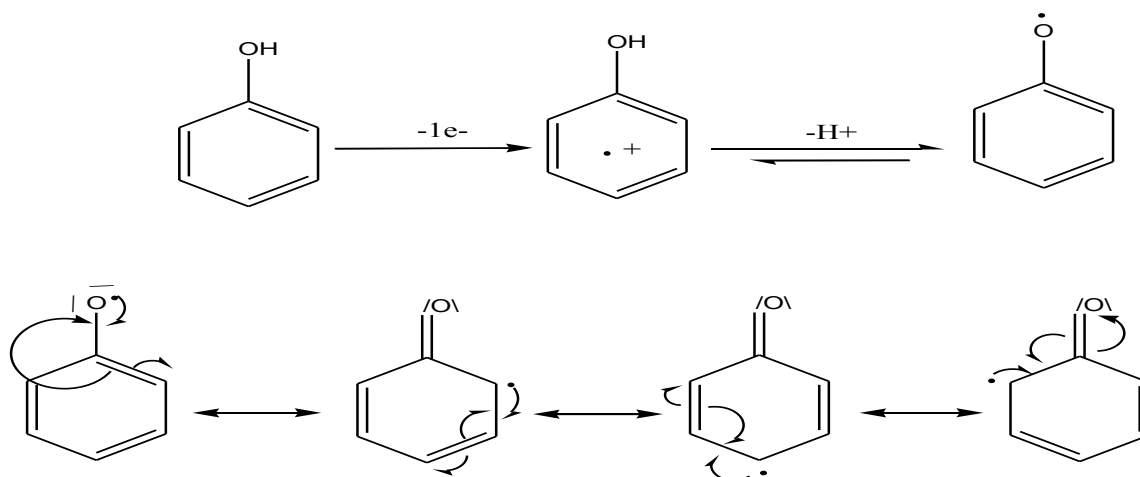


Figure 12 : Oxydation mono-électronique d'un phénol et formes mésomères du radical aryloxy formé [37].

Le radical aryloxy ($\text{ArO}^\bullet$) peut être formé directement par transfert d'hydrogène phénolique vers un radical de haute énergie tels que les radicaux oxyl ($\text{RO}^\bullet$) et peroxy ($\text{ROO}^\bullet$) formés par exemple au cours de l'autoxydation des lipides.

Ces réactions de transfert d'atome H et/ou d'électrons avec conversion d'un radical très réactif en radical aryloxy stabilisé par résonance sont l'un des principaux mécanismes d'action antioxydant des phénols.

La capacité du phénol à céder un atome (H) peut être quantifiée par l'énergie de dissociation homolytique de la liaison OH (bond dissociation energy, BDE).

Plus la BDE d'un phénol est faible, plus fort est son caractère donneur d'hydrogène [37].

I.3.3. Polarisabilité

La polarisabilité des phénols leur permet de développer de fortes interactions moléculaires de dispersion (composante attractive des interactions de Vander Waals) avec autres composés polarisables.

Ce phénomène résulte du couplage entre les fluctuations électroniques de deux molécules voisines, ainsi, en solution aqueuse, l'interaction du noyau benzénique apolaire du phénol avec une autre entité polarisable telle qu'un second cycle aromatique est favorisée par l'effet hydrophobe.

Les molécules d'eau de solvation s'organisent de manière à maintenir entre elles autant de liaison hydrogène que possible, et de ce fait, l'empilement de deux noyaux benzéniques dans l'eau a deux conséquences avantageuses:

- Le développement de forte interaction de dispersion entre les deux noyaux;

- Le relargage d'une partie des molécules d'eau de solvation dans le corps du solvant.

Ce dernier phénomène, appelé « Effet hydrophobe » puisqu'il minimise la surface de contact entre les deux solutés et l'eau, se traduit par une augmentation du nombre de liaison hydrogène entre noyau et molécule d'eau ($\Delta H < 0$) et une relative désorganisation ($\Delta S > 0$) qui tendent à stabiliser le complexe moléculaire formé entre deux molécules empilées. La combinaison des interactions de dispersion et de l'effet hydrophobe constitue la principale force motrice pour la complexation moléculaire des phénols dans l'eau.

I.3.4. Liaison hydrogen

Les phénols sont des donneurs de liaison hydrogène (liaison H) en raison du caractère acide du proton du groupe OH.

Ce sont aussi des accepteurs de liaison H.

En fait, seule la paire libre de l'atome O qui n'est pas conjuguée avec le cycle est capable d'accepter une liaison H en provenance d'un donneur.

Ainsi, un phénol est capable de donner une liaison H et d'en recevoir une seulement.

Notons que ces liaisons H se renforcent mutuellement (coopérativité). Par exemple, en donnant une liaison H, le phénol allonge sa liaison OH.

Cet état de prédissoiation accentue la densité électronique sur le centre O et donc son caractère accepteur de liaison H.

I.3.5. Acidité

La coupure hétérolytique de la liaison OH (déprotonation) entraîne la formation d'un ion phénate dans lequel la délocalisation électronique de l'atome O vers le cycle (effet +M) est fortement augmentée (Figure 11).

Ce phénomène et la forte solvation de l'anion phénate par formation de liaison H avec l'eau permettent d'expliquer les propriétés acides faibles des phénols dans l'eau.

Les propriétés caractéristiques des phénols (nucléophilie, caractère réducteur, polarisabilité) sont amplifiées lors de la formation des anions phénates correspondants. Les groupements OH en position para et ortho des noyaux phénoliques de polyphénols présentent un caractère acide renforcé, ce qui permet une dissociation au moins partielle à pH neutre.

Cette exaltation de l'acidité est due à la stabilisation de l'ion phénate correspondant par délocalisation de la densité électronique vers le groupement à effet (-M). Elle peut être traduite en termes de formes mésomères.

I.4. Propriétés thérapeutiques des polyphénols

I.4.1. Etudes épidémiologiques et propriétés biologiques in vitro

Les propriétés biologiques des polyphénols sont essentiellement établies in vitro et découlent de leur activité réductrice (effets anti- voire pro-oxydants) et de leur affinité pour une grande variété de protéines (enzymes, récepteurs, facteurs de transcription).

L'une des premières propriétés reconnue aux flavonoïdes est d'être «veino-actifs» c'est-à-dire ayant la capacité de diminuer la perméabilité des capillaires sanguins et de renforcer leur résistance.

De nos jours, les propriétés des polyphénols sont largement étudiées dans le domaine médical où on leur reconnaît des activités anti-virales, anti-tumorales, anti-inflammatoires, anti-allergiques et anti-cancer.

Ils ont également des actions positives sur l'obésité, le diabète, les maladies d'Alzheimer et de Parkinson.

Les catéchines du thé sont des inhibiteurs de l'angiogénèse in vitro. Les activités biologiques des polyphénols ont souvent été évaluées in vitro, avec des protéines purifiées, des extraits cellulaires et des cellules entières en culture.

Les propriétés biologiques des métabolites conjugués majoritairement présents dans le sang et les tissus ont en revanche été très peu étudiées, faute de disposer des standards commerciaux.

La signification de ces effets biologiques dans le domaine de la nutrition humaine est encore loin d'être établie d'autant qu'ils mettent presque toujours en jeu les formes natives ou aglycones de polyphénols et non pas les formes conjuguées circulantes.

Pour progresser dans la démonstration in vivo des effets santé des polyphénols, une meilleure connaissance de la biodisponibilité des polyphénols (leur devenir après absorption éventuelle au travers de la paroi intestinale) et une combinaison d'études cliniques pertinentes est indispensable.

Le développement récent de nouveaux outils et méthodes pourrait permettre des avancées importantes dans les années à venir.

C'est notamment le cas de la nutriginomique qui vise à mettre en évidence les gènes dont l'expression est régulée (à la hausse ou à la baisse) par les composants de l'alimentation. La difficulté réside ensuite dans l'analyse et l'interprétation de ces données biologiques complexes.

I.4.2. Effet antiallergique

Ces effets sont attribués à l'influence des flavonoïdes sur la production de l'histamine.

En effet, les flavonoïdes inhibent les enzymes, telles que l'AMP cyclique phosphodiesterase et ATPase Ca^{+2} -dépendante, responsables de la libération de l'histamine à partir des mastocytes et des basophiles. par exemple, l'ATPase Ca^{+2} -dépendante dégrade l'ATP produisant ainsi de l'énergie afin de faciliter l'absorption du calcium par les membranes cellulaires, ce qui favorise la libération de l'histamine stockée dans les vésicules.

En inactivant cette enzyme, la quercétine a montré un potentiel d'action supérieur à celui du cromoglycate de sodium utilisé comme médicament en empêchant la libération de l'histamine et d'autres substances endogènes qui causent l'asthme [38].

I.4.3.Effet anti-inflammatoire

Sous l'action de la cyclooxygénase et la lipoxygénase, l'acide arachidonique est métabolisé respectivement en prostaglandines et leucotriènes induisant ainsi des phénomènes inflammatoires.

Une étude de Landolfi et son groupe a montré que certains polyphénols sont capables de modifier le métabolisme de l'acide arachidonique dans les plaquettes [39].

Les effets de la quercétine et de la myricétine sont dose-dépendants. A de fortes concentrations, ils inhibent la cyclooxygénase et la lipoxygénase. Cependant, à de faibles concentrations, seule la lipoxygénase est affectée.

En revanche, d'autres flavonoïdes tels que l'apigénine et la chrysine agissent principalement sur l'activité de la cyclooxygénase.

La phagocytose qui accompagne une infection virale ou bactérienne est suivie d'une production d'espèces oxygénées réactives par les neutrophiles, ce qui va promouvoir l'inflammation.

D'une manière générale, les espèces radicalaires, quelles que soient leurs origines, peuvent induire des dommages tissulaires, favoriser le processus de vieillissement, voire être à l'origine de certaines pathologies telles que le cancer et l'athérosclérose [40].

Il est intéressant de noter que de nombreux flavonoïdes sont capables de contrer cette production d'espèces oxygénées par les neutrophiles [41].

I.4.4.Effet anti-ulcère

Dans des expériences réalisées sur des rats, il a été démontré que la quercétine et la naringénine jouent un rôle important dans la réduction de l'ulcère et la protection des cellules gastriques.

Il a été suggéré que la quercétine exerce son activité via un mécanisme complexe impliquant la production du mucus, le piégeage des radicaux libres et également l'inhibition

de la production le utérines [42].

D'autres études ont permis d'établir une relation étroite entre les propriétés anti-ulcère de la quercétine, la naringénine, la rutine et le kaempférol, et la production de PAF (PlateletActivating Factor) qui est un agent l'érogène potentiel [43].

En effet, il s'est avéré que la réduction des dommages gastro-intestinaux est due probablement à l'inhibition du PAF par ces flavonoïdes.

I.4.5.Effet anti-cancer

Présente dans tous les types de thé et en particulier dans le thé vert, la catéchine a montré une activité anti-tumorale [44].

Une telle activité est attribuée à la capacité de ce flavonoïde à inactiver l'action de la P-glycoprotéine qui est impliquée dans la résistance phénotypique des cellules cancéreuses [45].

La croissance cellulaire peut être inhibée également par d'autres mécanismes, à savoir : la stabilisation du collagène, l'altération de l'expression des gènes et la réduction des radicaux libres [39].

En effet, la catéchine augmente la résistance du collagène [46] et inhibe l'activité de la collagénase [53].

Les flavonoïdes ont montré des effets protecteurs contre les cancers de la prostate, du côlon et du poumon [48].

I.4.6.Autres activités biologiques

Les flavonoïdes peuvent aussi prévenir le développement du diabète en inhibant l'enzyme aldose réductase.

Ong et Khoo ont reporté que la myricétine possède un effet hypoglycémiant chez des animaux diabétiques. [49, 50,51].

Certains flavonoïdes peuvent inhiber l'athérosclérose et par conséquent réduire le risque des maladies cardiovasculaires. [52,53].

Les effets anti-viraux des flavonoïdes ont été également démontrés [60].

I.5. Propriétés pro-oxydantes des polyphénols [55, 56,57]

Certains polyphénols particulièrement réducteurs peuvent manifester une activité pro- oxydante en entrant dans des cycles redox qui génèrent des EOR.

Par exemple, l'acide gallique est capable de réduire Fe^{3+} en Fe^{2+} , ou Cu^{2+} en Cu^{+} , et ainsi d'enclencher la réaction de Fenton avec formation du radical hydroxyle (Figure 13) [58, 59,60].

Le peroxyde d'hydrogène nécessaire à la réaction est produit par autoxydation des ions de basse valence.

Par leurs effets pro-oxydants, certains flavonoïdes peuvent promouvoir la dégradation oxydante de l'ADN.

La signification biologique de ces effets pro-oxydants est dépendante de la présence d'ions du fer libres, c'est-à-dire non liés aux protéines.

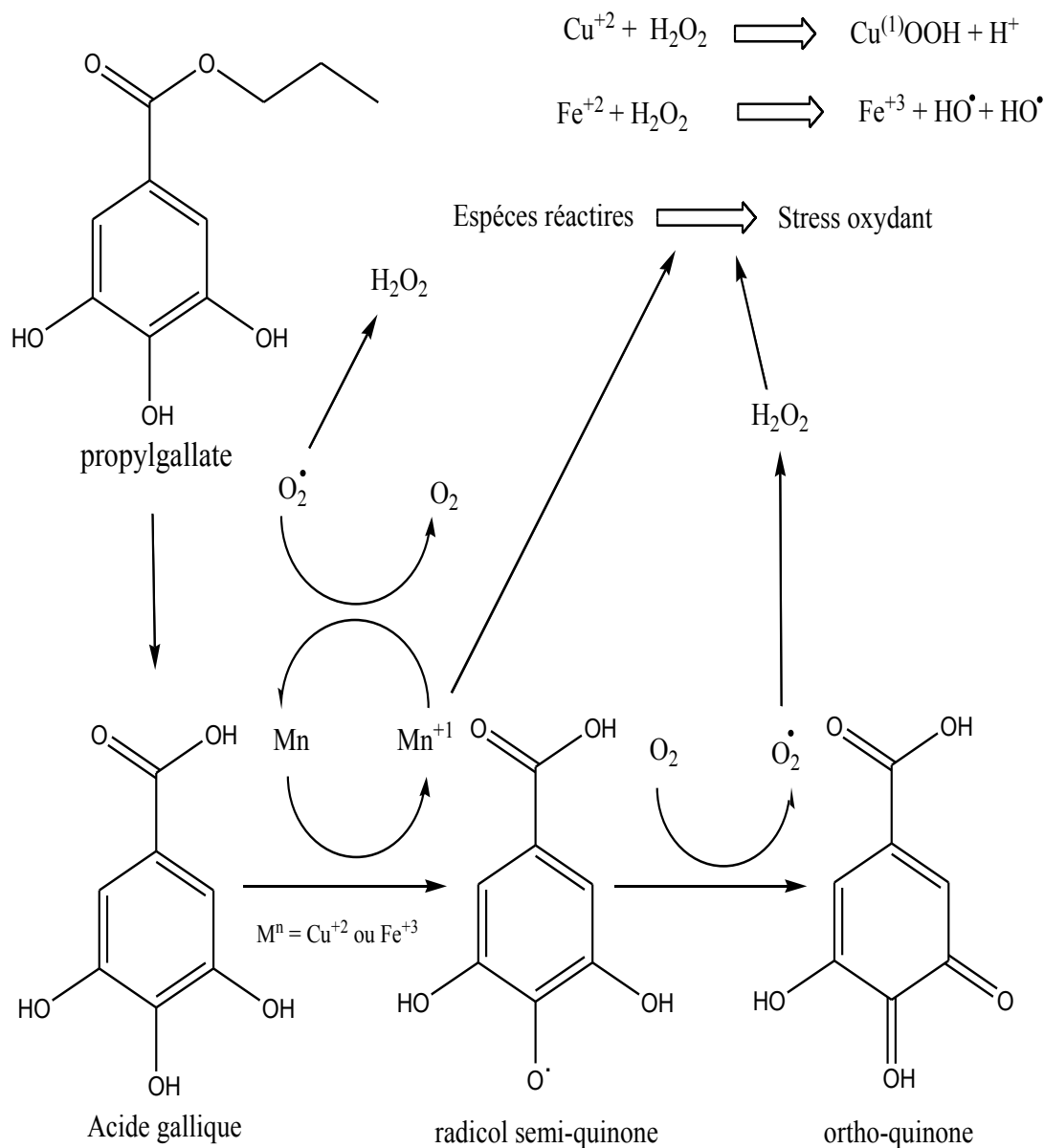


Figure 13 : Mécanisme de formation d'espèces réactives par l'acide gallique, métabolite du propylgallate [59].

De plus, des effets indésirables ont été rapportés suite à l'administration de doses pharmacologiques chroniques de polyphénols excédant la dose moyenne absorbée via l'alimentation [61].

Ainsi, des cas de défaillance rénale, anémie, fièvre et réaction cutanée ont été relevés pour des doses allant de 1 à 1,5 g de flavonoïdes par jour.

Chapitre II
Stabilité des composés
polyphénols

II.1. Stabilité des polyphénols

L'oxydation des polyphénols est susceptible d'intervenir :

- Par voie enzymatique (catalysée par la polyphénoloxydase dans des conditions d'aérobies ou par les peroxydases en présence de peroxyde d'hydrogène) au cours des procédés technologiques d'élaboration des aliments ou après ingestion (catabolisme oxydant).
- Par voie non enzymatique : autoxydation lors des traitements thermiques, oxydation conjointe à l'action antioxydante.

Dans ce dernier cas, il s'agit typiquement de processus d'oxydation couplés à la peroxydation des lipides polyinsaturés et qui peuvent intervenir dans l'aliment ou chez l'homme après ingestion.

II.1.1. Autoxydation [37]

Si la capture des espèces oxygénées réactives (EOR) est effectivement un mécanisme d'action antioxydante, la réaction éventuelle des phénols avec le dioxygène de l'air (autoxydation) est une cause potentielle d'instabilité et de toxicité par production des EOR.

Heureusement, ce phénomène est défavorable :

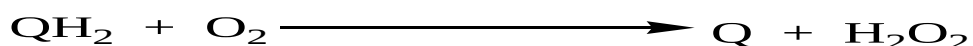
- d'un point de vue thermodynamique, car la réduction mono-électronique du dioxygène requiert des réducteurs forts : $O_2 + 1 e^- \rightarrow O_2^{\circ-}$, $E_0 = -0,16 \text{ V}$ pour $c(O_2) = 1M$

Seuls les polyphénols les plus réducteurs et en milieu fortement basique où ils sont sous forme de polyanions seraient susceptibles de transférer directement un électron vers O_2 .

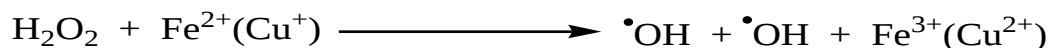
- D'un point de vue cinétique, car le dioxygène présente deux électrons célibataires ($OM \pi^*$) dans l'état fondamental qui lui confèrent un spin total de 1 (biradical). La loi de conservation du spin total au cours d'une réaction chimique autorise la combinaison des radicaux organiques avec O_2 mais interdit l'oxygénation directe des molécules organiques dont les électrons sont appariés.

Cependant les ions de métaux de transition, particulièrement Fe(III), contaminant par exemple les sels utilisés dans la préparation de solutions tampons, et dont la concentration peut aisément atteindre $1\mu M$, peuvent catalyser efficacement l'autoxydation avec production de peroxyde d'hydrogène voire de superoxyde.

Pour un polyphénol à noyau catéchol (QH_2), le bilan chimique de la réaction peut s'écrire :



La décomposition de H_2O_2 par les traces métalliques (réaction de Fenton) conduit ensuite au radical $HO^\bullet$ très réactifs :



Ainsi, l'autoxydation de la quercétine en milieu faiblement basique s'accompagne de la consommation d'O₂ et de la formation du radical HO• mis en évidence par résonance paramagnétique électronique (RPE) par détection du composé d'addition stable formé en présence d'un piègeur de spin (DPMO).

Dans les mêmes conditions, la rutine, un b3- glycoside de la quercétine, et le kaempférol (analogue 3'-désoxy de la quercétine) ne sont pas Oxydés.

Même si le mécanisme de l'autoxydation des polyphénols demeure mal connu, il semble que l'étape-clé consiste en la réduction de Fe^{III} en Fe^{II} par le polyphénol. La production d'EOR procéderait alors par réduction du dioxygène et du peroxyde d'hydrogène par Fe^{II} avec régénération de Fe^{III}.

Notons que le phénomène semble très dépendant de la nature des ligands du fer.

Ainsi, à pH neutre, les flavonoïdes fortement réducteurs tels que la quercétine seraient capables de réduire le complexe Fe^{III}- EDTA, favorisant ainsi la réaction de Fenton mais pas le complexe Fe^{III}- citrate.

L'autoxydation des polyphénols peut être responsable des effets pro-oxydants parfois observés, notamment lors de tests antioxydants impliquant des générateurs métalliques de stress oxydant.

II.1.2. Mécanismes d'oxydation [37]

Il semble que, pour un polyphénol donné, la distribution de produit d'oxydation soit peu dépendante de la nature du système oxydant.

Selon ce dernier, l'oxydation peut procéder par succession de transfert mono-électronique avec formation d'intermédiaires radicalaires (radicaux aryloxy) ou par oxydation bi-électronique. +Malgré la forte délocalisation de leur électron π , les radicaux aryloxy dérivés des polyphénols sont des intermédiaires très instables qui ne sont détectable que par méthodes cinétiques rapides.

Ils évoluent rapidement par dimérisation, dismutation voire réaction avec le dioxygène.

Il semble que la plupart des radicaux dérivés de polyphénols suivent une cinétique de second ordre, ce qui suggère que la dimérisation, dismutation sont les voies privilégiées.

Cette dernière voie requiert en générale un noyau catéchol (Figure 14) (voire pyrogallol

ou 1, 2,3-trihydroxybenzène) tels que la catéchine, la quercétine, l'acide gallique ou l'acide caféique, elle s'accompagne alors de la formation d'une ortho-quinone avec régénération du polyphénol parent.

La formation de radicale semi-quinone à partir d'un polyphénol à noyau catéchol est représentée sur la (Figure 15) dans le cas de l'acide caféique.

Le renforcement de la liaison H intramoléculaire au cours de la dissociation favorise le transfert d'atome H.

Dans le cas particulier des 3,4'-dihydroxyflavones (4'-hydroxyflavonols), la dismutation conduit à des *p*-méthylènequinones.

Les *o*-quinones et *p*-méthylènequinones sont elles-mêmes des intermédiaires peu stables.

Du fait de leur fort caractère électrophile, elles évoluent rapidement par diverses voies (Figure 14):

- Dimérisation, voire oligomérisation, cette voie semble prépondérante avec les quinones dérivées de l'acide caféique (Figure 16) et de la catéchine (Figure 17).

La réaction peut procéder par addition nucléophile d'une molécule de polyphénol sur l'*o*-quinone correspondante ou par recombinaison de radicaux aryloxy.

L'oxydation de la catéchine par la polyphénoloxydase conduit à une variété de dimères de types biaryle et biaryléther et dont la liaison entre deux unités catéchine implique le cycle A de l'une et le cycle B de l'autre.

D'après ces structures, il semble que les deux mécanismes soient en compétition;

- Addition de solvant (eau, alcool).

Dans le cas de la quercétine, l'addition de solvant a lieu sur le centre C2 de la *p*-méthylènequinone, ce qui entraîne une déconjugaison du cycle central (Figure 18).

Dans le cas des anthocyanes, l'addition d'eau peut être suivie par l'élimination du cycle B avec formation de coumarines ; Addition d'un bon nucléophile présent dans le milieu tel que le résidu Cys du tripeptide glutathion voire un autre polyphénol.

Notons que le couplage des quinones à des résidus nucléophiles de protéines et d'acide nucléiques est un phénomène à répercussion biologique potentielle.

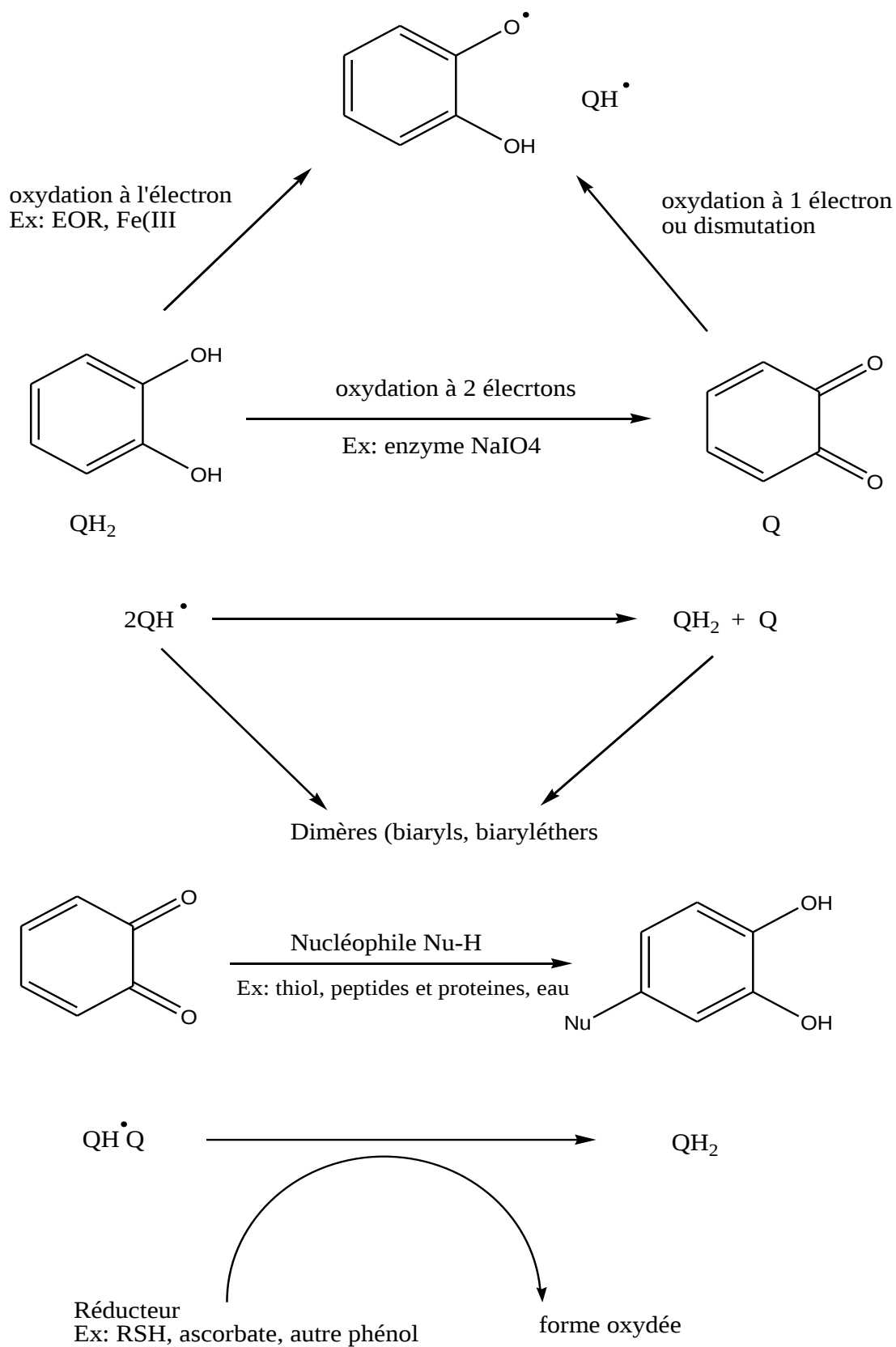


Figure 14 : Oxydation des polyphénols présentant un noyau catéchol et principales formes oxydées (o-quinones et semi-quinones).

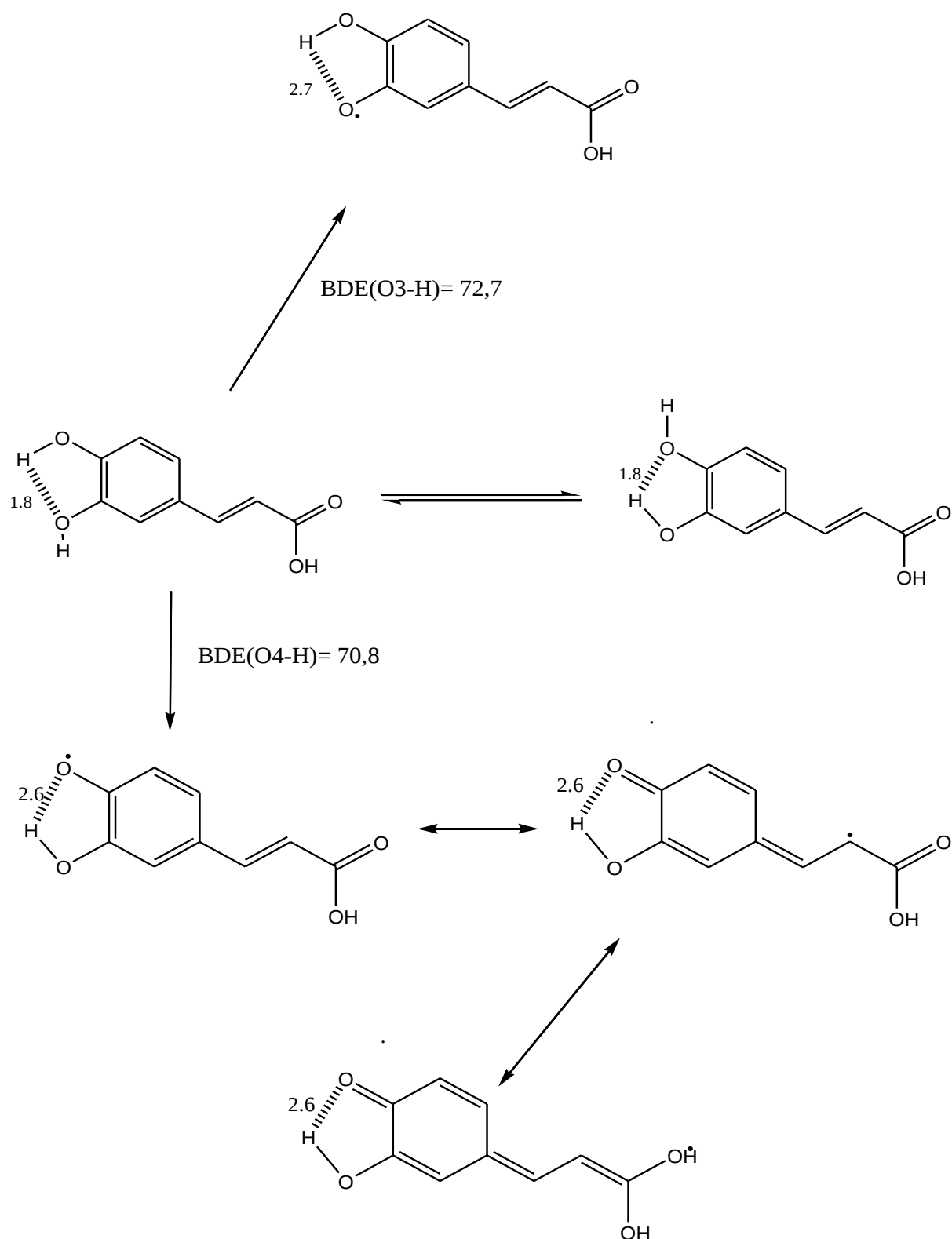


Figure 15 : Réaction de transfert d'atome H depuis l'acide caféique, (En Kcal mol⁻¹,
BDE = bond dissociation energy : capacité du phénol à céder un hydrogène).

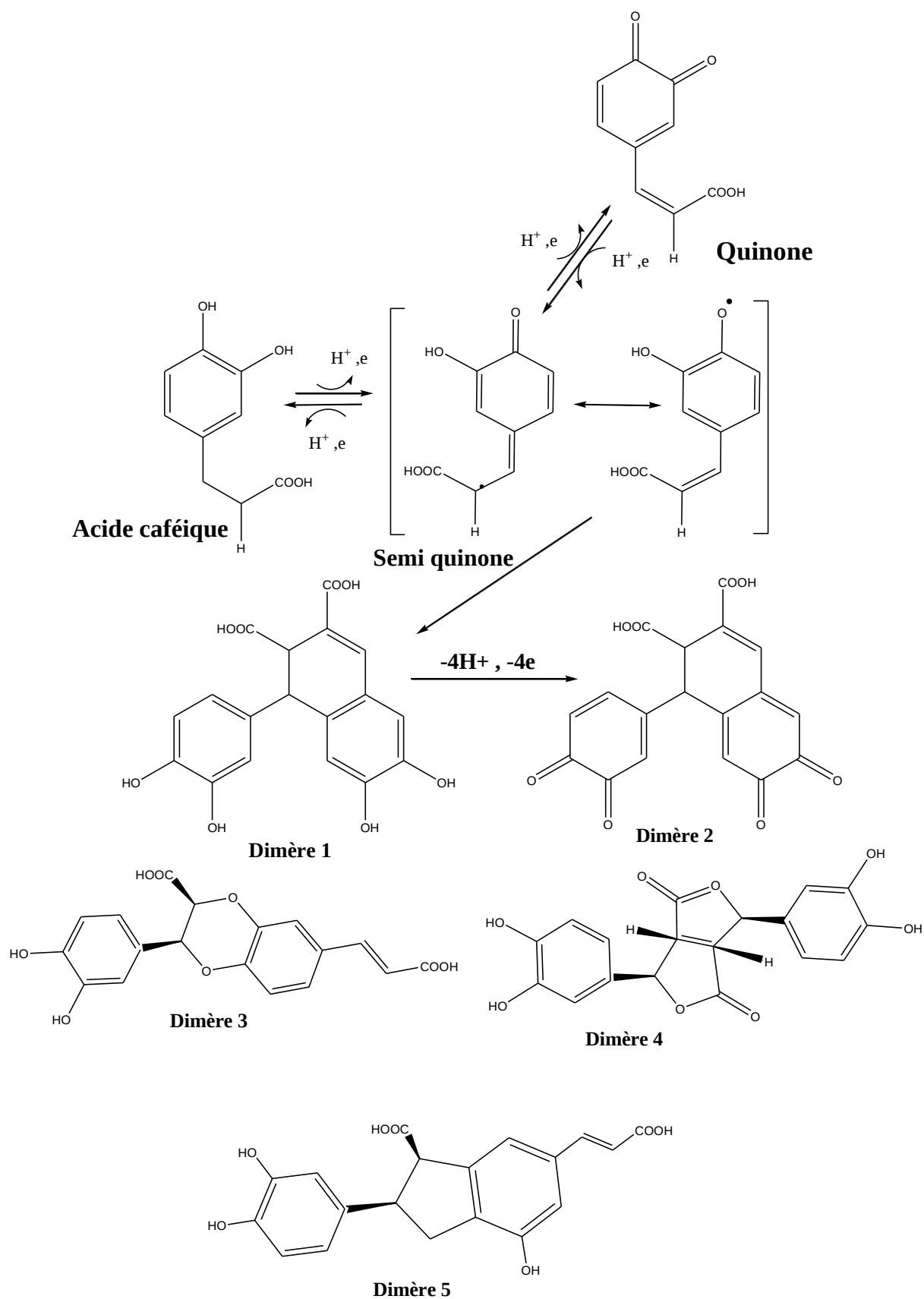


Figure 16 : Produits d'oxydation de l'acide caféique par voie de dimérisation [62].

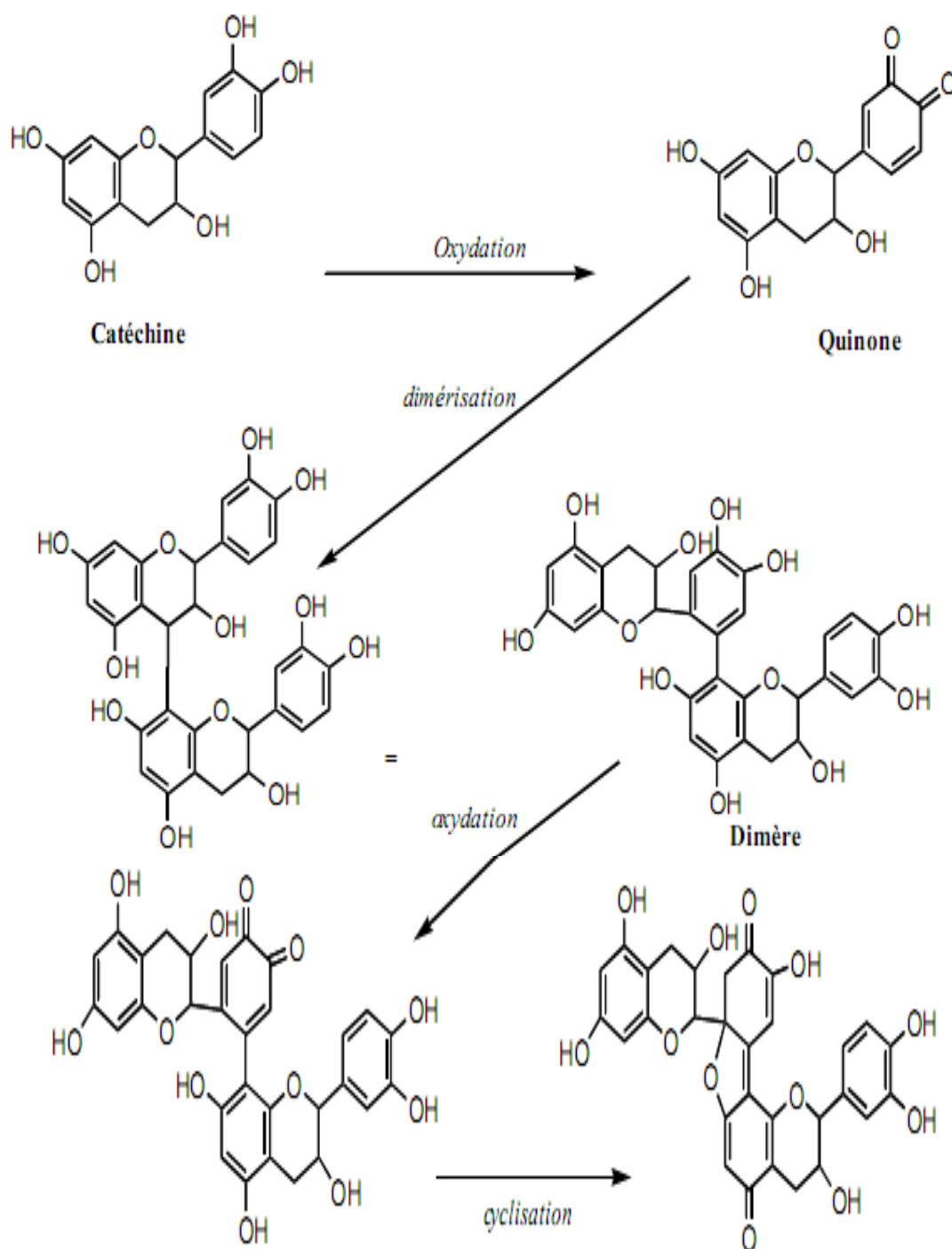


Figure 17 : Produits d'oxydation de la catéchine par voie de dimérisation [63].

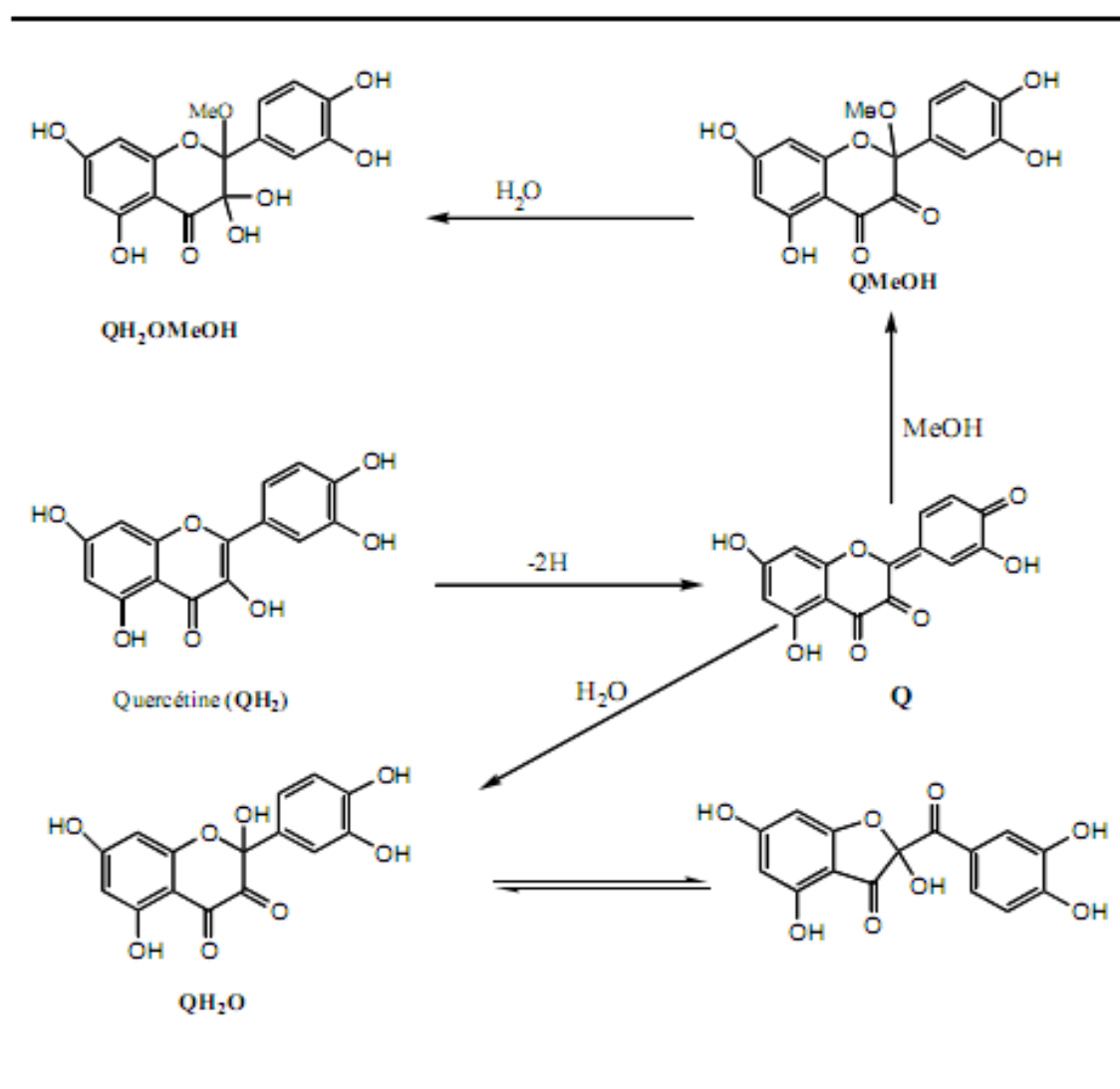


Figure 18 : Produits d'oxydation de la quercétine [64].

En outre, le caractère oxydant des *o*-quinones et des radicaux aryloxy permet la co-oxydation de substrats réducteurs tels que l'ion ascorbate, le glutathion et d'autres phénols.

Enfin, signalons que les dimères et produits d'addition présentent également des noyaux phénoliques et sont donc à leurs tours oxydables de sorte que les mélanges réactionnels obtenus dans les réactions d'oxydation des polyphénols sont souvent complexes à analyser.

Au cours de l'action antioxydante, ces cascades réactionnelles permettent la capture de plusieurs équivalents d'EOR par mole d'antioxydant, particulièrement lorsque ce dernier présente un noyau catéchol.

En plus de la rapidité des réactions de capture des EOR, c'est un avantage important pour l'activité antioxydante des polyphénols.

Chapitre III
Caractéristiques de l'acides
ascorbique, Acide Gallique et
Vanilline

III.1. L'acide ascorbique (Vitamine C)

III.1.1. Définition

La vitamine C ou acide ascorbique, l'ascorbate ou simplement (l'anion de l'acide ascorbique), est un nutriment essentiel pour l'homme et certains autres espèces animales.

La vitamine C se réfère à un certain nombre de vitamines qui ont une activité de vitamine C chez les animaux, y compris l'acide ascorbique et ses sels, et des formes oxydées de la molécule comme l'acide ascorbique.

L'ascorbate et de l'acide ascorbique sont tous deux présents naturellement dans l'organisme lorsque l'une d'entre elles est introduite dans des cellules, puisque les formes inter converti en fonction du pH [65].

III.1.2. Structure

Le terme vitamine C est utilisé comme terme générique Pour tous les composes possédant l'activité biologique de l'acide L'ascorbique.

Le principal compose naturel ayant une activité vitamine C est l'acide ascorbique ce dernier est synthétise par les plantes et la plupart des animaux, exceptes les primates et les cochons d'Inde.

Selon la terminologie actuelle, il s'agit de l'oxo-3- Gulofuranolactone, l'acide ascorbique a une structure apparentée à celle des hexoses [66].

De formule brute $C_6H_8O_6$, avec un poids moléculaire de 176,13 g/mol, l'acide ascorbique comporte Synthèse bibliographique une fonction γ lactone, une fonction en diol ($HO-C=C-OH$) support de son activité biologique et qui conféré à la molécule des propriétés acides (formation de sels sodique, plombique) et enfin deux fonctions alcool, l'une primaire et l'autre secondaire (Figure 19).

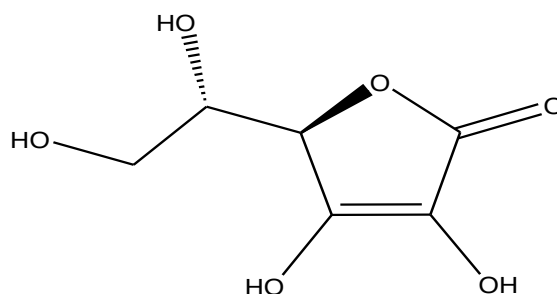


Figure 19 : structure acide ascorbique (l'oxo-3-gulofuranolactone) [66].

La structure chimique de l'acide ascorbique (noté AA) fut établie par Haworth en 1932.

Sa formule chimique est $C_6H_8O_6$. Il possède une fonction ène-diol, deux fonctions alcool et une fonction lactone qui unit les carbones C1 et C4. Sa forme oxydée est l'acide

déhydroascorbique (noté DHA), de formule chimique $C_6H_6O_6$.

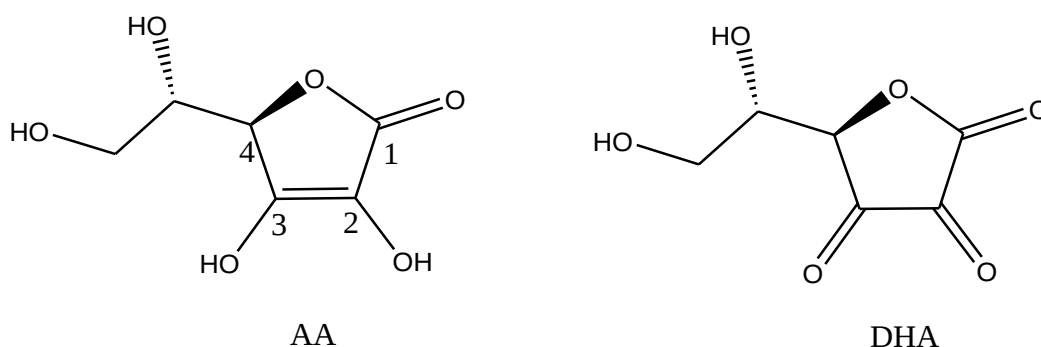
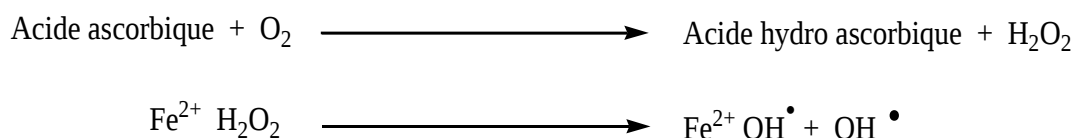


Figure 20 : structure chimique de l'acide ascorbique et l'acide déhydroascorbique.

III.1.3. Propriétés physico-chimiques

L'acide ascorbique est une poudre cristalline, blanche, inodore, stable au contact de l'air, à la lumière du jour et à température ambiante pendant plusieurs mois, de saveur légèrement acide et qui se décompose à la température de 190°C .

L'oxydation en milieu aérobie de l'acide ascorbique en présence d'ions de métaux de transition est la plus importante réaction responsable de la perte de la vitamine C dans les aliments, en présence de dioxygène et de traces d'ions métalliques (Fe^{3+} et Cu^{2+} , en particulier) un complexe intermédiaire est formé qui subit un transfert de deux électrons pour produire de l'acide dehydroascorbique et du peroxyde d'hydrogène selon la réaction la suivante :



Radical hydroxyle ($\text{OH}^{\bullet}$) selon :

La vitesse d'oxydation dépend des concentrations de vitamine C et d'ions métalliques mais aussi de la teneur en ions H^+ du milieu ; en effet à pH très bas, voisin de 1, l'acide ascorbique est complètement protoné et plus difficilement oxydable qu'à un pH plus élevé.

❖ dans la zone de pH allant de 5 à 10 la maximum absorption de l'acide ascorbique est à 265 nm.

❖ En solution très acide ($\text{pH} < 2$), l'acide ascorbique présente un maximum d'absorption à 244 nm [65].

Tableaux 01 : Propriétés de l'acide ascorbique :

Identification	
Nom UICPA	5 -(1,2-dihydroxyéthyl)-3,4-dihydroxyfuran-2-one
Synonymes	acide DL-ascorbique
Propriétés chimiques	
Formule brute	C ₆ H ₈ O ₆
Masse molaire	176,1241 ± 0,0072 g/mol

III.1.4. Les effets de l'acide ascorbique

- La vitamine C est impliquée dans un grand nombre de réactions biologiques où elle n'agit pas en tant que coenzyme, mais comme oxydoréduction par inter conversion forme oxydée/forme réduite.

- Il existe une controverse au sujet de la possibilité que de hautes doses de vitamine C augmentent le risque de calculs rénaux.

- De hautes doses de vitamine C (plus de 2 000 mg par jour) peuvent occasionner des selles molles, de la diarrhée et des troubles gastro-intestinaux.

Un arrêt temporaire du supplément ou une diminution du dosage remédie généralement à ces effets indésirables.

Fractionner la dose quotidienne en plusieurs prises réparties dans la journée et prendre la vitamine C en mangeant peut aussi aider.

Les personnes qui suivent un régime faible en sodium devraient éviter les méga doses de vitamine C sous forme d'ascorbate de sodium, car 1 000 mg (1 g) fournissent en moyenne 131 mg de sodium.

Il s'agit cependant d'une forme peu fréquente sur le marché [67] :

- Amélioration de la cicatrisation cutanée.
- Protège la vitamine E.
- Effet protecteur vis-à-vis de certains cancers (il existe de plus en plus de preuves de l'effet protecteur anticancéreux de la Vitamine C) [66].

III.1.5. Les sources d'acide ascorbique

L'acide ascorbique est une vitamine hydrosoluble.

Il possède deux isomères : l'acide L ascorbique et l'acide D ascorbique. Seule la forme L est métabolisée de façon efficace chez l'homme, tandis que la forme D est synthétisée et utilisée chez les eucaryotes inférieurs (champignons).

A l'instar des primates ou du cobaye, l'homme est incapable de la synthétiser du fait d'une mutation du gène de la L-gluconolactone oxydase.

En outre l'organisme ne dispose pas de capacité de stockage.

Un apport minimal quotidien d'origine alimentaire est donc nécessaire.

En France, la majeure partie des apports (70 %) provient des fruits (agrumes essentiellement) et des légumes [68].

Les pommes de terre, le pain et les céréales en apportent de 12 à 22 %.

III.1.6. Mécanisme d'oxydation de l'acide ascorbique

L'acide ascorbique est un diacide dont les pKa respectifs sont égaux à 4,25 et 11,7 à 25 °C [69]. Son oxydation a été étudiée sur différentes électrodes ; à goutte de mercure, vitreux et platine [70, 71].

L'oxydation de l'acide ascorbique conduit à la formation de l'acide déhydroascorbique qui s'hydrate rapidement en donnant un composé bi cyclique.

III.2. L'acide Gallique

III.2.1. Définition [72]

L'acide gallique (acide 3,4,5-trihydroxybenzoïque) est un composé organique aromatique, l'un des six isomères de l'acide trihydroxybenzoïque, largement répandu dans les plantes soit sous forme libre soit comme composant des gallotanins. Il est classé dans les acides-phénols (ou acides phénoliques) puisqu'il comporte à la fois une fonction carboxylique et des hydroxyles phénoliques.

Et comme il est dérivé de l'acide benzoïque, on le classe aussi dans les acides hydroxybenzoïques.

On le trouve à l'état naturel dans des galls de chênes (ou noix de galle), de sumac, d'hamamélis, les feuilles de thé, l'écorce de chêne, entre autres plantes. Sa formule chimique est $C_6H_2(OH)_3COOH$.

Les sels et esters tirés de cet acide sont appelés gallates. Fréquemment utilisé dans l'industrie pharmaceutique, il est un précurseur pour la synthèse de la mescaline.

III.2.2. Structure

L'acide gallique ou acide 3, 4, 5-trihydroxy-benzoïque ($C_6H_2(OH)_3COOH$) (Figure 20) issu de la voie de l'acide gallique est un membre de la classe des acides hydroxy-benzoïques.

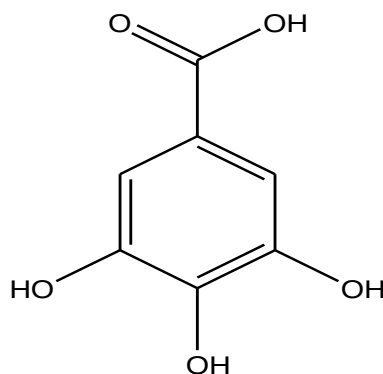


Figure 21 : Structure des composés acides gallique.

III.2.2. Propriétés de l'acide gallique

Avec une structure cristalline, l'acide gallique est d'un blanc jaunâtre pour une masse molaire de 170,1195 g / mol, un point de fusion à 250°C et une solubilité dans l'eau de 1,1% à 20°C.

L'acide gallique est considéré comme un antioxydant potentiel, il est ainsi donc utilisé comme additif dans les aliments, les médicaments et cosmétiques.

En outre, l'acide gallique possède des activités anti-allergique, anti-inflammatoire, anti-mutagène et anti-cancéreuse [72].

Des recherches récentes ont étudié ses effets anti-tumoraux, pro-apoptotique et anti-inflammatoire.

L'acide gallique a fortement inhibé la migration des cellules cancéreuses et les métastases via la suppression de l'expression du métallo protéases et ces effets semblent inclure l'inhibition de plusieurs protéines incriminées dans les voies de métastases et la réorganisation du cytosquelette.

L'acide gallique a aussi induit une apoptose des lignées cancéreuses humaines par une régulation de la voie mitochondriale.

De plus, l'acide gallique pourrait supprimer l'expression des cytokines pro-inflammatoires et des chimiokines [73].

En outre, les dérivés de l'acide gallique sont également retrouvés dans de nombreux phyto- médicaments avec diverses activités biologiques et pharmaceutiques, y compris l'effet

de piégeage des radicaux libres, l'induction de l'apoptose des cellules cancéreuses, et la protection des cellules contre les dommages induits par les irradiations notamment UV [74].

L'acide gallique est très bien absorbé chez l'homme; en effet, des concentrations micro-molaires de formes libres et glucuronidés d'acide gallique et son principal métabolite 4-O-methylgallic ont été observées dans le plasma de sang humain après ingestion de nourriture riche en l'acide gallique.

Tableaux 02 : Propriétés de l'acide gallique :

Identification	
Nom UICPA	Acide 3,4,5-trihydroxybenzoïque
Synonymes	cristaux blancs, hygroscopiques
Propriétés chimiques	
Formule brute	$C_7H_6O_5$
Masse molaire	$170,1195 \pm 0,0075$ g/mol C 49,42 %, H 3,55 %, O 47,02 %,
T° fusion	Point de sublimation : $210\text{ }^{\circ}\text{C}^1$
Solubilité	$11,9\text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$ (eau $20\text{ }^{\circ}\text{C}$) ou 1,1% à 20°C
Masse volumique	$1,694\text{ g}\cdot\text{cm}^{-3}$ à $6\text{ }^{\circ}\text{C}$

III.2.3. Les sources d'acide gallique

L'acide gallique est largement distribué dans diverses plantes, fruits et aliments, où il est présent sous forme libre ou, plus communément, comme ingrédient de tanins, à savoir les gallotannins [75].

Les noix de galle, le sumac, l'écorce de chêne, le thé vert, raisins, fraises, ananas, bananes, citrons, hamamélis, vins rouges et blancs et l'épluchure de pomme sont connus pour être riches en acide gallique [76].

III.2.4. Activités biologiques

❖ Activités antioxydantes et pro-oxydantes

On sait que des agents antioxydants comme la vitamine E ou le bêta-carotène, peuvent dans certaines conditions rompre l'équilibre fragile de synergie des antioxydants et devenir des agents pro-oxydants.

Il existe aussi des substances qui protègent les lipides de l'oxydation mais qui par ailleurs, peuvent augmenter les dommages occasionnés par les radicaux libres sur des non-lipides comme l'ADN ou les glucides.

C'est le cas du gallate de propyle ou du gossypol qui réduisent Fe^{3+} en Fe^{2+} et stimulent la dégradation des glucides et de l'ADN par les radicaux libres. Il en est de même avec l'acide gallique qui, à une concentration de 1,65 mM, accélère l'oxydation du désoxyribose induite par des radicaux hydroxyles $\text{OH}^{\bullet}$ (produits par $\text{Fe}^{3+} - \text{H}_2\text{O}_2$).

Au-delà de cette concentration, l'acide gallique se comporte en antioxydant capable de réduire les dommages du désoxyribose occasionnés par $\text{Fe}^{3+} - \text{H}_2\text{O}_2$. On observe aussi l'aptitude de l'acide gallique à générer des radicaux hydroxyles en présence de cuivre Cu(II) mais en quantité bien moindre que ne le fait l'acide tannique. Inversement, l'activité antioxydant se manifeste par son aptitude à réduire la dégradation de l'ADN.

La riboflavine photo sensibilisée est apte à dégrader l'ADN mais si on lui rajoute de l'acide gallique la dégradation est alors limitée [72].

L'acide tannique dans ce cas inhibe complètement la dégradation.

L'acide gallique est aussi un piègeur de radicaux libres. À la concentration de 4,17 mM, il est capable de piéger 44 % des radicaux DPPH $^{\bullet}$ et 60 % du peroxyde d'hydrogène.

❖ **Activité antitumorale**

L'acide gallique possède une activité cytotoxique contre les cellules cancéreuses (leucémie, cancer de la prostate, du poumon etc).

Une culture de cellules de l'adénocarcinome pulmonaire exposée à l'acide gallique voit sa croissance diminuer en fonction du temps et de la dose.

L'observation suggère que la mort cellulaire induite par l'acide gallique soit liée au stress oxydant résultant de la production d'espèces oxygénées activées EOA. You et al 14 ont observé que l'acide gallique provoquait une forte croissance du radical su peroxyde $\text{O}_2^{\bullet-}$ mitochondriaux.

L'acide gallique semble donc se comporter comme un pro-oxydant sur les cellules cancéreuses du poumon.

❖ **Activité antibactérienne, antivirale**

Kratz et al (2008) ont montré que l'acide gallique manifestait une activité anti-virale contre le virus de l'herpès HSV-2 : il réduit la réplication du HSV-2 d'une manière dépendante de la concentration.

III.3. La Vanilline

III.3.1. Définition [77]

La vanilline est une poudre blanche à la forte odeur de vanille. Les chimistes organiciens la désignent sous le nom de 4-hydroxy-3-méthoxy benzal déhyde (formule brute : $C_8H_8O_3$). Elle fait partie de ce que l'on appelle les composés aromatiques parce que sa structure de base est une chaîne hydrocarbonée cyclique à six carbones : la vanilline dérive du benzène.

C'est en réalité du benzaldéhyde (benzène pourvu d'une fonction aldéhyde : $-CHO$) dont l'hydrogène du carbone numéro 4 a été remplacé (substitué, dit-on) par un groupement hydroxyle ($-OH$) tandis que celui du carbone numéro 3 a été substitué par une fonction éther ($-O-$) portant un groupement méthyle ($-CH_3$).

III.3.2. Structure

L'vanilline ou 4-hydroxy-3-méthoxy benzaldéhyde [$(HO)-C_6H_3(OCH_3)-COOH$] (Figure 22).

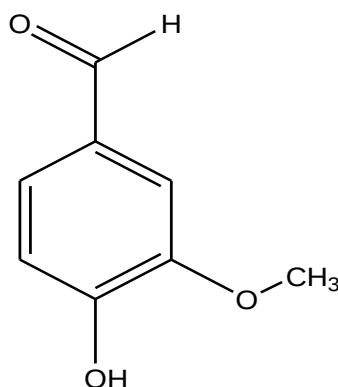


Figure 22 : Structure des composés vanilline.

III.3.3. Origine

La vanilline est, parmi les multiples composants de l'arôme naturel de la vanille, le plus important et le plus caractéristique.

Elle représente 0,75 % à 2 % de la masse de la gousse.

Une gousse pesant autour des trois grammes n'en contient donc que 22 à 60 mg.

Elle a été extraite pour la première fois à l'état pur par le chimiste Théodore Nicolas Golbey par macération de la vanille dans l'alcool à 85 °, suivie d'une extraction à l'éther.

La substance brune très odorante qu'il obtient après évaporation est portée à ébullition dans l'eau, puis filtrée à chaud.

La vanilline est finalement isolée après plusieurs recristallisations successives sous forme de longues aiguilles incolores.

La vanilline a pour la première fois pu être synthétisée en 1874 par Wilhelm Haarmann et Ferdinand Tiemann, à partir de coniférine, un dérivé d'iso eugénol qu'on trouve dans l'écorce de pin. Karl Reimer propose deux ans plus tard, en 1876, une nouvelle voie de synthèse à partir du gäiacol.

III.3.4. Propriétés physico-chimiques [78]

La molécule est un aldéhyde aromatique, d'où ses autres appellations de vanillaldéhyde ou aldéhyde vanillique.

En solution en présence de fer et d'autre composé alcalin, l'aldéhyde développe une couleur rouge et perd son pouvoir odorant.

La vanilline a une odeur similaire à la vanille avec un goût sucré. Son intensité aromatique est cependant de 2 à 4 fois moins puissant que celui de l'éthyle vanilline.

Tableaux 03 : Propriétés de la vanilline :

Identification	
Nom UICPA	4-hydroxy-3-méthoxybenzaldéhyde
Synonymes	Methylprotocatechuic aldehyde
Propriétés chimiques physiques	
Formule brute	$C_8H_8O_3$
Masse molaire	$152,1473 \pm 0,0079$ g/mol C 63,15 %, H 5,3 %, O 31,55 %,
T° fusion	353–354 K (81,5 °C)
T° ébullition	558 K (285 °C)
Solubilité	10 g·l ⁻¹ dans l'eau (25 °C) Librement sol. dans le chloroforme, l'éther, le CS ₂ l'acide acétique glacial, la pyridine
Masse volumique	1,056 g·cm ⁻³ (solid)
Aspect	Poudre cristalline

Etat physique	Solide à 20°C
Couleur	Incolore à jaune pâle

III.3.5. Danger [77]

Additif alimentaire des plus banals, la vanilline n'est pas un produit dangereux ; elle est- pendant un peu nocive.

Il est préférable d'éviter tout contact avec les mains, non pas à cause d'un danger quelconque, mais bien parce que son odeur forte et tenace masque tous les autres par- fums, et notamment ceux des champignons...

La sulfo vanilline, quant à elle, contient de l'acide sulfurique, avec tous les dangers que cela comporte.

III.3.6. Effets sur la sant [78]

Tableaux 04 : Effets sur la sant de l'vanilline :

Evaluation des effets	Résultat
Toxicité aigüe Voies orale/dermale/inhalation	- Voies orale et dermale : non classé -par inhalation : pas de donnée
Irritation / corrosion Peau/yeux/tractus respiratoire	- Non classé pour l'irritation cutanée Provoque une sévère irritation des yeux
Sensibilisation Peau/Tractus respiratoire	Non classé pour la sensibilisation
Toxicité à doses répétées Voies orale/dermale/inhalation	- Voie orale : non classé pour la toxicité à doses répétées -Voie dermale et inhalation : pas de donnée
Génotoxicité / Mutagenicity	Non classé : ni mutagène ni génotoxique
Cancérogénicité	Non classé cancérigène
Toxicité pour la reproduction	Non classé : pas d'effet sur la fertilité et non tératogène

DEUXIÈME PARTIE

PARTIE PRATIQUE

Chapitre IV
Matériels et Méthodes

IV.1. Matériels de laboratoire

- Balance de précision.
- Tube à essai.
- Fiole.
- 03 jaugée carburant (250 ml).
- 05 becher (10 ml).

IV.1.1. Appareillage et Produit chimiques

Appareillage

- UV spectrophotometer (UV-1800 SHIMADZU).
- pH mètre Consort (multi- paramétrer analyser C2030).
- UV lampes (254 nm).

Les logiciels utilisés

- Logiciel Origin Pro 8, pour trace les courbes d'étalonnages.
- Logiciel ChemDraw Ultra8.0 , pour tracer les structure des composés.

Produit chimique

- Acide gallique ($C_7H_6O_5$), acide 3, 4, 5-trihydroxy-benzoïque
- Acide Ascorbique ($C_6H_8O_6$).
- Vanilline ($C_8H_8O_3$), 4-hydroxy-3-méthoxy benzal déhyde
- DPPH ($C_{18}H_{12}N_5O_6$).

IV.2. Méthodes

Travail 01 :

Le but de l'travail :

La mesure de la longueur d'onde à l'absorption (λ_{max}) pour chaque solution de (acide ascorbique, acide gallique et vanilline) pour une gamme de longueurs d'onde allant de (200-580 nm).

Mode opératoire :

Préparer une solution aqueuse et on dissout la masse de 1 mg d'acide ascorbique dans 20 ml d'eau distillée pour obtenir une concentration de 0.05 mg/ ml, à partir de la solution mère nous préparons 5 solutions de différentes concentrations (0.03, 0.02, 0.01, 0.008, 0.006 mg/ml).

De la même manière on prépare la solution mère pour chaque composé phénolique (acide gallique et vanilline) de concentration (0.02 mg/ml). À partir de la solution mère nous préparons 5 solutions de différentes concentrations (0.01,0.008,0.006,0.004,0.002 mg/ml).

Travail 02 :

Le but de l'travail :

Étude de l'effet des rayonnements UV et pH sur les trois composés en mesurant l'absorbance.

Mode opératoire:

Choisir l'une des concentrations de 5 mise au point précédent, puis interdire 5 solutions dans la même concentration de chaque composé, nous offrons des échantillons à des périodes différentes des rayonnement UV (1 heure, 2 heures, 3 heures, 4 heures, 5 heures), prouver la valeur de ($\lambda_{\max}$) qui ont été obtenu à partir de la première travail, puis attribuer séquentiellement chaque solution d'absorbance et indiqué dans le (tableau 12,13,14). On choisit la même que la mise au point précédent, puis introduire 3 solutions de la même concentration de chaque composé de différents pH (3.8,7,9.2), enregistre la valeur de ($\lambda_{\max}$) obtenu à partir de premier travail et ensuite affectuer chaque absorbance séquentiellement et indiqué dans le (tableau 8,9,10).

IV.3. Analyses colorimétriques par spectrophotométrie (UV-visible)

IV.3.1. La spectrophotométrie UV-visible

La spectrophotométrie est une méthode analytique quantitative qui consiste à mesurer l'absorbance ou la densité optique d'une substance chimique donnée en solution. Plus cette espèce est concentrée plus elle absorbe la lumière dans les limites de proportionnalités énoncées par la loi de Beer-Lambert.

La densité optique des solutions est déterminée par un spectrophotomètre préalablement étalonné sur la longueur d'onde d'absorption de l'espèce chimique à étudier.

Lorsqu'une lumière d'intensité (I_0) passe à travers une solution, une partie de celle-ci est absorbée par le(s) soluté(s).

L'intensité (I) de la lumière transmise est donc inférieure à (I_0). L'absorbance de la solution est définie comme suit :

$$A = \log_{10}\left(\frac{I_0}{I}\right)$$

$$A = -\log T$$

Avec T (transmittance) $T = \frac{I}{I_0}$

L'absorbance est une valeur positive, sans unité.

Elle est d'autant plus grande que l'intensité transmise est faible.



Figure 23 : La spectrophotométrie UV-visible.

❖ **Domaine UV-visible de la spectrophotométrie**

Un soluté coloré ou chromophore absorbe la lumière visible (longueurs d'onde comprises entre 400 et 800 nm).

On parle de spectrophotocolorimétrie ou plus simplement de colorimétrie.

Certaines solutions absorbent dans l'ultraviolet (longueurs d'onde inférieures à 380 nm), on parle alors de spectrophotométrie UV.

Un spectrophotomètre mesure l'absorbance d'une solution à une longueur d'onde donnée.

Un dispositif monochromateur permet de générer, à partir d'une source de lumière visible ou ultraviolette, une lumière monochromatique, dont la longueur d'onde est choisie par l'utilisateur.

La lumière monochromatique incidente d'intensité (I_0) traverse alors une cuve contenant la solution étudiée, et l'appareil mesure l'intensité (I) de la lumière transmise.

La valeur affichée par le spectrophotomètre est l'absorbance à la longueur d'onde étudiée.

Le spectrophotomètre peut être utilisé pour mesurer de manière instantanée une absorbance à une longueur d'onde donnée ou pour produire un spectre d'absorbance (spectrophotomètre à balayage).

Dans ce dernier cas, le dispositif monochromateur décrit en un temps court l'ensemble des longueurs d'onde comprises entre deux valeurs choisies.

IV.3.2. Analyses quantitatives

Les méthodes colorimétriques basées sur l'utilisation du spectrophotomètre UV-visible, ont été utilisées pour évaluer la quantité des composés phénoliques dans la matière végétale.

Chapitre V
Résultats et discussion

V.1. Les courbes d'étalonnage d'acide ascorbique, gallique et vanilline

L'acide ascorbique

$\lambda=263.5$ nm

Table 05 : L'absorbance d'acide ascorbique en fonction de concentration.

C (mg/ml)	0.04	0.02	0.01	0.008	0.006
A	0.319	0.167	0.083	0.069	0.054

Cette courbe est établie en utilisant l'acide ascorbique comme référence et les résultats sont exprimés en concentration d'acide ascorbique des médicaments, par (mg/ml). La courbe d'étalonnage est établie avec un coefficient de corrélation $R^2 = 0.99981$ (Annexe 01).

L'acide Gallique

$\lambda =259$ nm

Table 06 : L'absorbance d'acide gallique en fonction de concentration.

C (mg/ml)	0.01	0.008	0.006	0.004	0.002
A	0.444	0.375	0.278	0.182	0.092

Cette courbe est établie en utilisant l'acide gallique comme référence et les résultats sont exprimés en concentration d'acide ascorbique des médicaments, par (mg/ml). La courbe d'étalonnage est établie avec un coefficient de corrélation $R^2 = 0.99849$ (Annexe 02).

La Vanilline

$\lambda=229.5$ nm

Table 07 : L'absorbance de vanilline en fonction de concentration.

C (mg/ml)	0.01	0.008	0.006	0.004	0.0002
A	0.822	0.651	0.487	0.328	0.185

Cette courbe est établie en utilisant de vanilline comme référence et les résultats sont exprimés en concentration d'acide ascorbique des médicaments, par (mg/ml). La courbe d'étalonnage est établie avec un coefficient de corrélation $R^2 = 0.99946$ (Annexe 03).

V.2. Effet pH

Table 08 : L'absorbance de d'acide ascorbique en fonction de potentiel hydrogène.

Potentiel hydrogène (pH)	3.80	7	9.20
Absorbance	1.436	0.700	0.086

Cette courbe est établie en utilisant l'acide galique comme référence et les résultats sont exprimés en potentiel hydrogène d'acide ascorbique des médicaments, la courbe d'étalonnage est établie avec un coefficient de corrélation $R^2 = 0.9940$ (Figure 27).

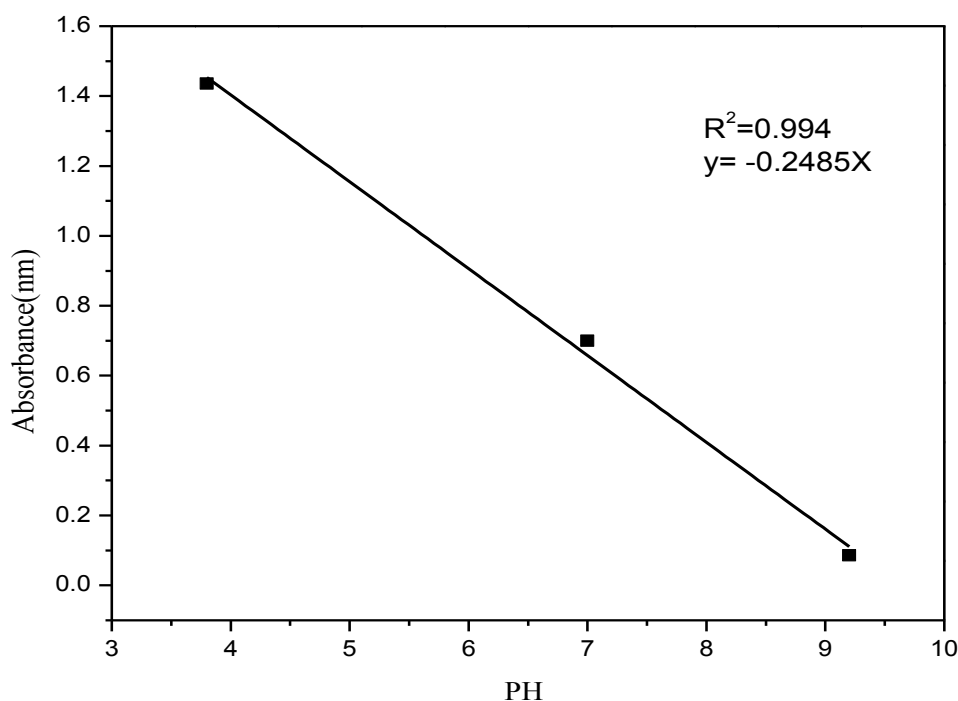


Figure 24 : Effet de pH sur l'absorbance d'acide Ascorbique.

Table 09 : L'absorbance de d'acide gallique fonction de potentiel hydrogène.

Potentiel hydrogène (pH)	3.80	7	9.20
Absorbance	0.870	0.595	0.0435

Cette courbe est établie en utilisant l'acide galique comme référence et les résultats sont exprimés en potentiel hydrogène d'acide galique des médicaments, la courbe d'étalonnage est établie avec un coefficient de corrélation $R^2 = 0.9957$ (Figure 28).

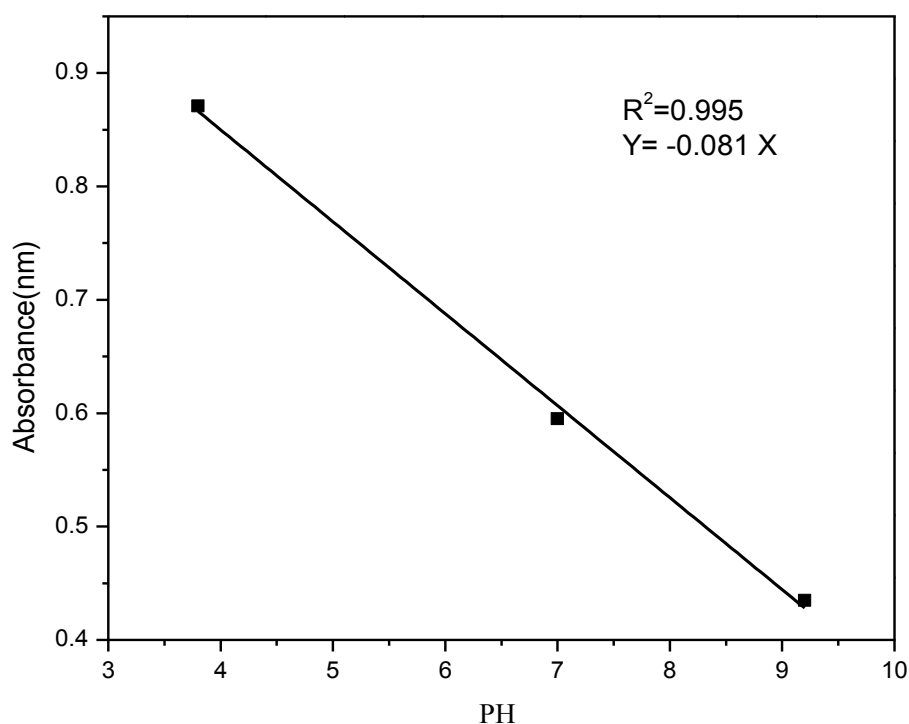


Figure 25 : Effet de pH sur l'absorbance d'acide gallique.

Table 10 : L'absorbance de d'vanilline de potentiel hydrogène.

Potentiel hydrogène (pH)	3.80	7	9.20
Absorbance	4.00	1.974	0.523

Cette courbe est établie en utilisant l'acide galique comme référence et les résultats sont exprimés en potentiel hydrogène d'vanilline des médicaments, la courbe d'étalonnage est établie avec un coefficient de corrélation $R^2=0.9997$ (Figure 29).

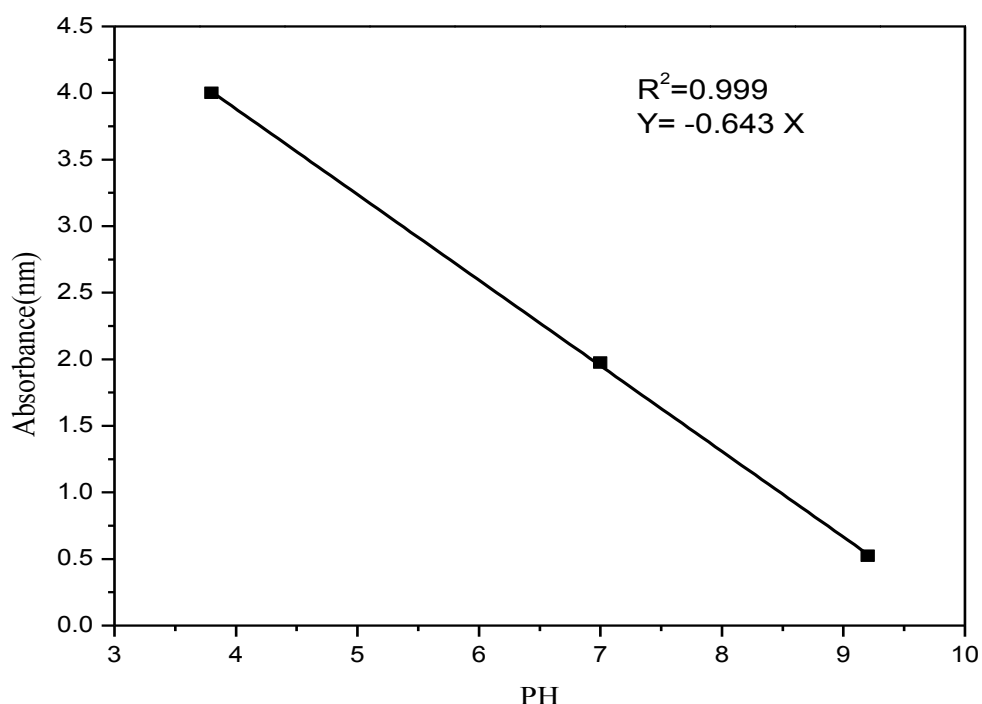


Figure 26 : Effet de pH sur l'absorbance d'vanilline.

Discussions des résultats

La plupart des plantes contient des composés phénoliques, ces composés présentent une activité maximale à des valeurs de pH neutres ou proches de 7, le pH est un facteur déterminant dans l'expression de l'activité enzymatique.

Il modifie les états d'ionisation des chaînes latérales d'acides aminés ou l'ionisation du substrat, l'une des raisons de la perte d'activité antioxydante au pH 7 pourrait être une activité plus élevée des composés phénoliques à ce pH, ce qui entraîne une plus grande dégradation de la structure phénoliques.

La stabilité de composés phénoliques a augmenté que les valeurs de pH ont augmenté de 3.8 à 7 et diminuée pour une valeur de 7 à 9.2.

Ce qui indique que la valeur du pH influe de manière significative sur la solubilité des composés phénoliques ; l'augmentation de la solubilité des composés phénolique dans les conditions de pH neutre pourrait être due à l'inhibition de l'oxydation enzymatique des polyphénols.

Les propriétés antioxydant d'un composé donné dépendent non seulement de sa structure chimique, mais aussi du type de radical généré, il peut neutraliser ; pour cette raison, nous avons testé le potentiel antioxydant de l'acide gallique, l'acide ascorbique et la

vanniline ; des résultats similaires pour l'absorbance que pour l'activité antioxydante ; on remarque que le milieu pH 7 donne l'activité la plus élevée puis le pH 9.2 et en fin le pH 3.8.

Table 11 : Les traitements thermiques appliqués aux fruits et légumes : intensité et buts.

	Buts	Barème typique	Méthode de conservation associée	
			Aliment acide (pH < 4.6)	Aliment peu acide (pH > 4,6)
Blanchiment	Inactivation des enzymes endogènes	90-100°C, 1-10min	prétraitement avant congélation, emboîtement...	
Pasteurisation	Destruction des formes végétatives des microorganismes	100°C, 15-30 min	Conservation à température ambiante, DLUO*	Conservation
Stérilisation	Destruction des formes végétatives et sporulées	120°C, > 20 min		Conservation

V.3. Etude de l'effet de la lumière sur la stabilité des polyphénols

Lumière ultraviolet de 254 nm

Table 12 : L'absorbance d'acide ascorbique en fonction de temps.

Temps (h)	1	2	2	3	4	5
A	0.068	0.068	0.067	0.068	0.066	0.069

Table 13 : L'absorbance d'acide gallique en fonction de temps.

Temps (h)	1	2	2	3	4	5
A	0.373	0.376	0.377	0.374	0.373	0.375

Table 14 : L'absorbance de vanilline en fonction de temps.

Temps (h)	1	2	2	3	4	5
A	0.216	0.218	0.214	0.215	0.213	0.215

❖ Effet de la lumière : Aucune effet et variation de l'absorption de la lumière sur la stabilité des composés phénoliques.

V.4. Détermination de l'activité antioxydante des composés phénoliques

La mesure du potentiel antioxydant est réalisée en déterminant les produits résultant de l'oxydation ou en évaluant l'aptitude à piéger des radicaux de modèles réactionnels.

Le premier mode, plus ancien, nécessite une connaissance préalable des composés issus de l'oxydation.

En effet ces méthodes recherchent certains groupements fonctionnels (aldéhydes, cétones, dicarbonylés...) dans les dérivés des constituants d'origine ; le second relie la quantité de radicaux piégés à celle d'antioxydant utilisé.

Nous avons choisi parmi de nombreux modes d'expression de cette mesure d'utiliser le pourcentage d'inhibition (IP) et/ ou l'équivalence en polyphénols standards obtenu par spectroscopie UV-Visible.

Le pourcentage d'inhibition qui permet d'évaluer l'activité antioxydant d'un échantillon de calcul selon la formule suivante :

$$IC (\%) = [(A-B) / (A)] \times 100$$

Avec : a = absorbance de la solution oxydée en absence d'agents antioxydant,

b = absorbance de la solution oxydée en présence d'agents antioxydant.

L'évaluation de l'aptitude du composé composé à piéger des radicaux libres consiste donc à mesurer sa capacité à piéger les radicaux libres et donc à ralentir ou inhiber la création de radicaux libres.

Dans le cas de l'évaluation de l'activité antioxydante en fonction de l'équivalence en polyphénols standards, la méthode consiste à comparer l'absorbance de nos échantillons à celle d'une droite d'étalonnage qui relie l'absorbance à la concentration en des standards.

Les types de radicaux que nous avons utilisés pour évaluer l'activité antioxydante de notre composé phénolique: Activité antioxydante total et DPPH.

V.4.1. Pouvoir antioxydant total

Au cours de ce test, l'hydrogène et l'électron sont transférés du composé réducteur (composé phénolique-antioxydant) vers le complexe oxydant (PPM) ; Ce transfert dépend du potentiel redox, du pH du milieu et de la structure du composé antioxydant.

Le test est basé sur la réduction du molybdène de l'étage d'oxydation (VI) à l'étage d'oxydation (V). Cette réduction se matérialise par la formation d'un complexe verdâtre

(phosphate/ Mo (V)) à un pH acide. On mesure la diminution de la coloration du complexe molybdène (VI) en présence d'antioxydant.

A la différence des autres tests, ce test permet non seulement de quantifier l'apport de l'activité antioxydante des polyphénols mais aussi d'autres composés antioxydants tel que les vitamines.

La méthode consiste à introduire dans un tube Eppendorff 300 µl de composé phénolique phénolique mélangées à 2.7 ml d'un réactif composé de H₂SO₄ (0.6 M), de NaH₂PO₄ (28 mM) et du molybdate d'ammonium (4 mM).

Le tube est ensuite bien fermé puis incubé à 95°C pendant 90 minutes. Après les avoir refroidis, l'absorbance est mesurée à 695 nm.

Le témoin est constitué de 300 µl de méthanol mélangé avec 2.7 ml du réactif mentionné ci-dessus.

Les étalons, les échantillons et les témoins sont incubés dans les mêmes conditions ; Les résultats obtenus sont exprimés en mg équivalent d'acide gallique par gramme de matière sèche (mg E AG/g Ms).

V.4.2. Le Test DPPH

Le test DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) est une méthode largement utilisée dans l'analyse de l'activité antioxydant ; En effet, le DPPH se caractérise par sa capacité à produire des radicaux libres stables. Cette stabilité est due à la délocalisation des électrons libres au sein de la molécule.

La présence de ces radicaux DPPH^{*} donne lieu à une coloration violette foncée de la solution, qui absorbe aux environs de 517 nm ; La réduction des radicaux DPPH^{*} par un agent antioxydant entraîne une décoloration de la solution à examiner.

L'évaluation de la capacité antioxydante est réalisée comme suit : à 0.5 ml d'une solution méthanolique de DPPH (7.8 mg DPPH dans 100 ml méthanol) a été mélangé 0.3 ml de composé phénolique ; Le mélange obtenu est ensuite gardé à l'abri de la lumière à la température ambiante pendant 30 minutes.

Puis l'absorbance est mesurée à 517 nm contre un témoin composé de 0.5 ml de la solution de DPPH et de 0.3 ml de méthanol ; La préparation des échantillons et du témoin est réalisée dans les mêmes conditions opératoires.

La décroissance de l'absorbance est mesurée au spectrophotomètre et le % IC (pourcentage d'inhibition) est calculé suivant la formule ci-dessous

$$\% \text{ IP} = [(A_{t0} - A_{t30}) / A_{t0} \times 100]$$

Avec A_{t0} : absorbance du témoin (ne contenant aucun antioxydant) après 30 minutes

A_{t30} : absorbance du composé mesuré après 30 minutes.

L'activité anti radicalaire exprimée en IC_{50} ($\mu\text{g} / \text{ml}$), la dose anti radicalaire nécessaire pour provoquer 50% d'inhibition. Toutes les résultats présentées sont des moyennes ($\pm$ SEM) et analysées avec trois répétition.

En faisant varier la concentration des composés et en calculant pour chaque concentration le % IC correspondant, nous avons établi une régression linéaire entre les différentes concentrations et les % IC.

V.4.3. Résultats d'évaluation d'activité antioxydante

V.4.3.1. D'activité antioxydante totale

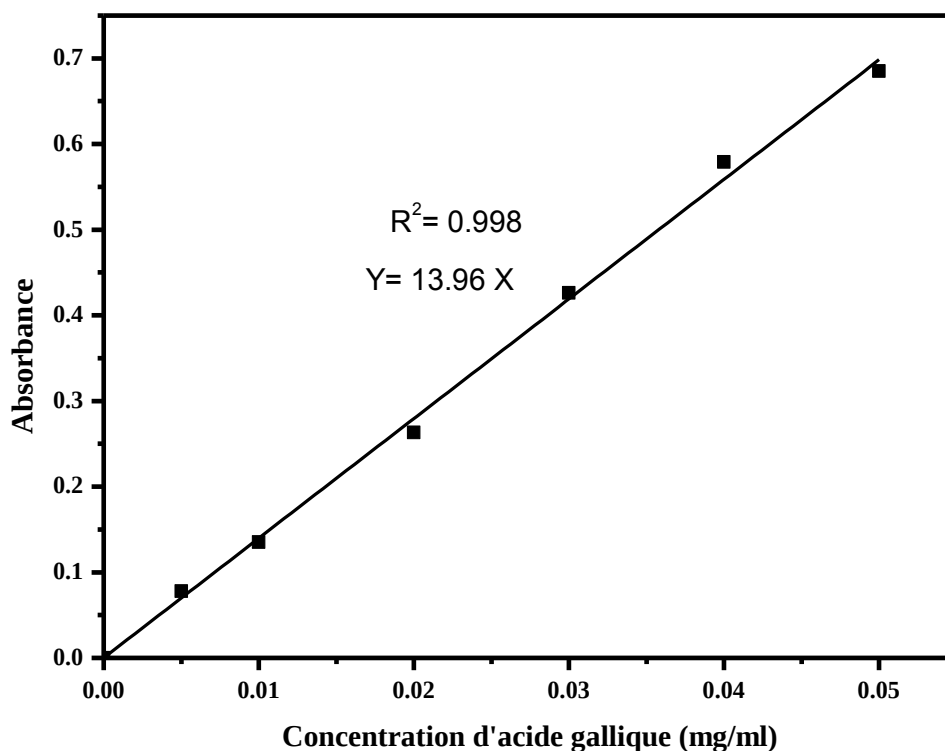


Figure 27 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour l'activité antioxydante totale.

V.4.3.2. DPPH

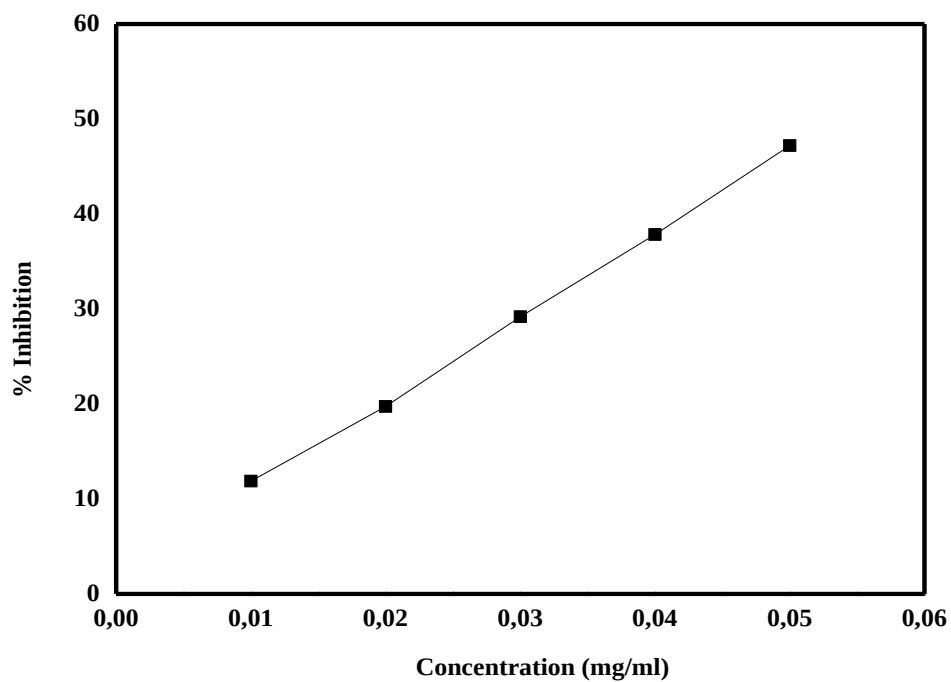


Figure 28 : Activité antioxydant de l'acide ascorbique préparé à pH =3.8 vis-à-vis le radical DPPH.

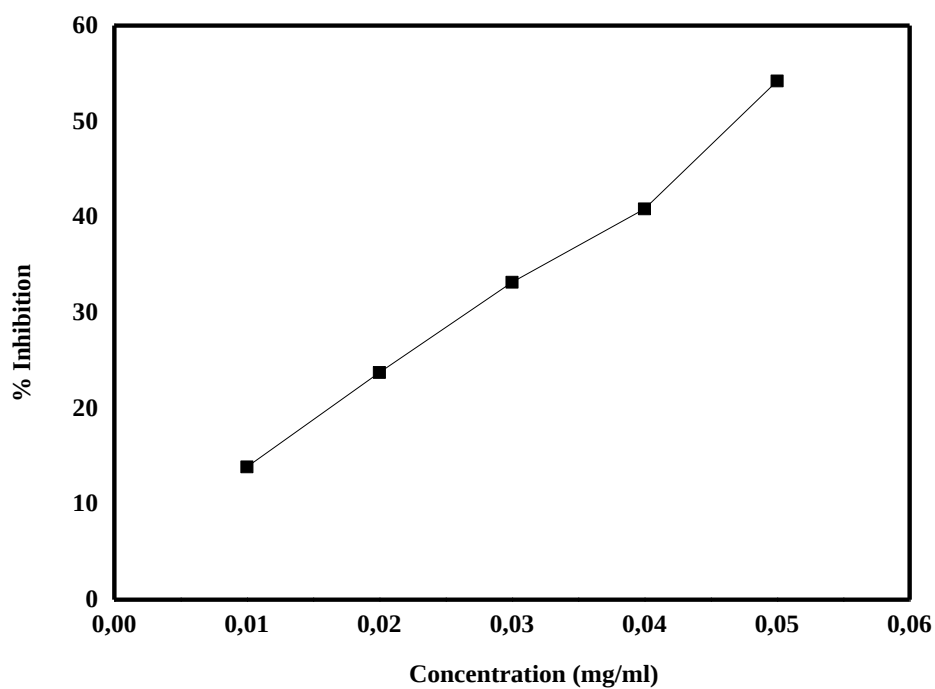


Figure 29 : Activité antioxydant de l'acide ascorbique préparé à pH =7 vis-à-vis le radical DPPH.

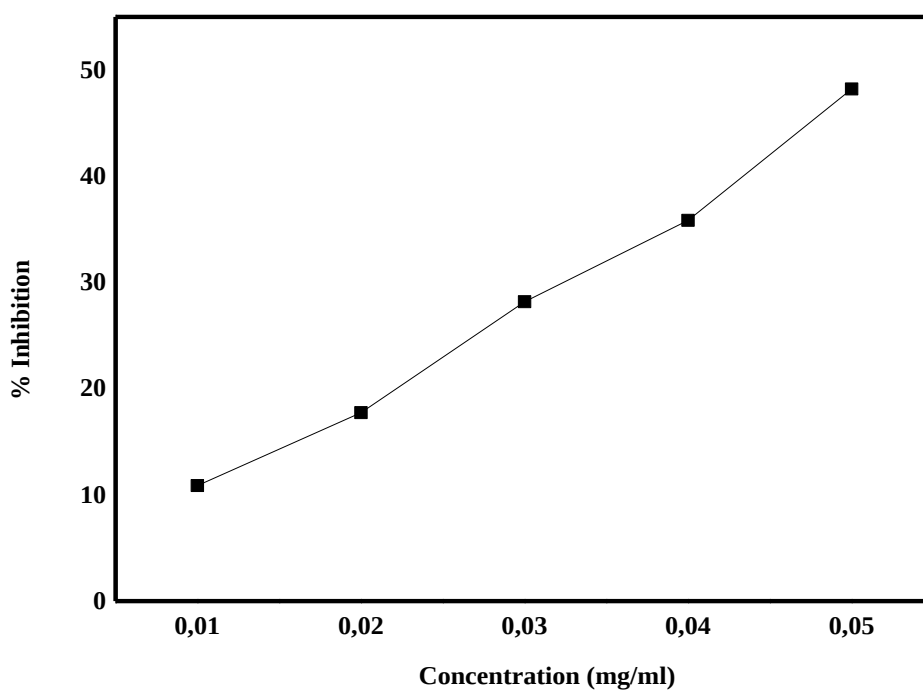


Figure 30: Activité antioxydant de l'acide ascorbique préparé à pH =9.2 vis-à-vis le radical DPPH.

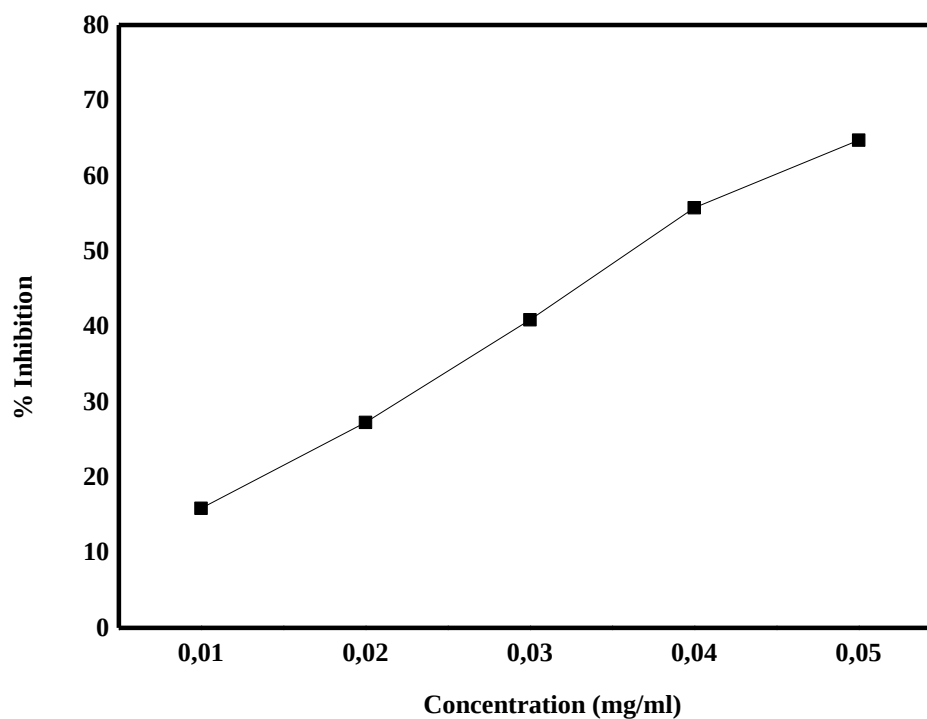


Figure 31 : Activité antioxydant de l'acide gallique préparé à pH =3.8 vis-à-vis le radical DPPH.

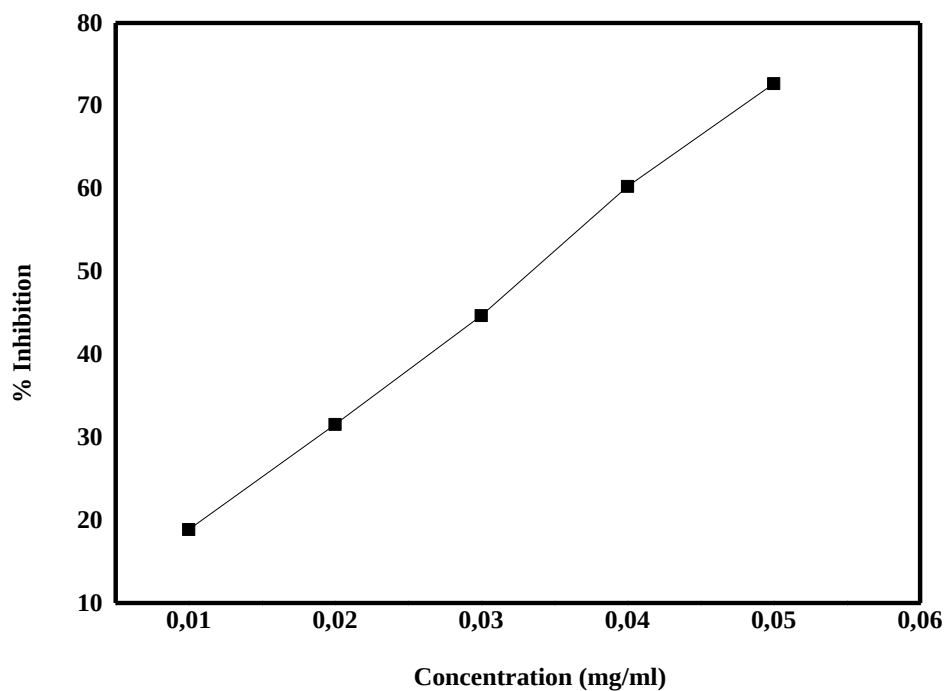


Figure 32 : Activité antioxydant de l'acide gallique préparé à pH =7 vis-à-vis le radical DPPH.

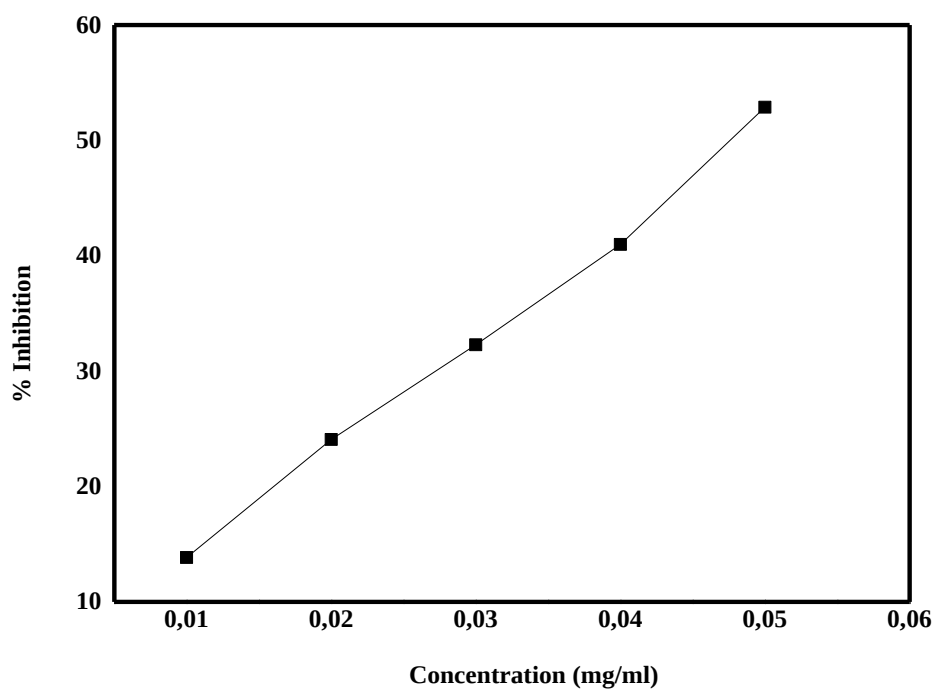


Figure 33 : Activité antioxydant de l'acide gallique préparé à pH= 9.2 vis-à-vis le radical DPPH.

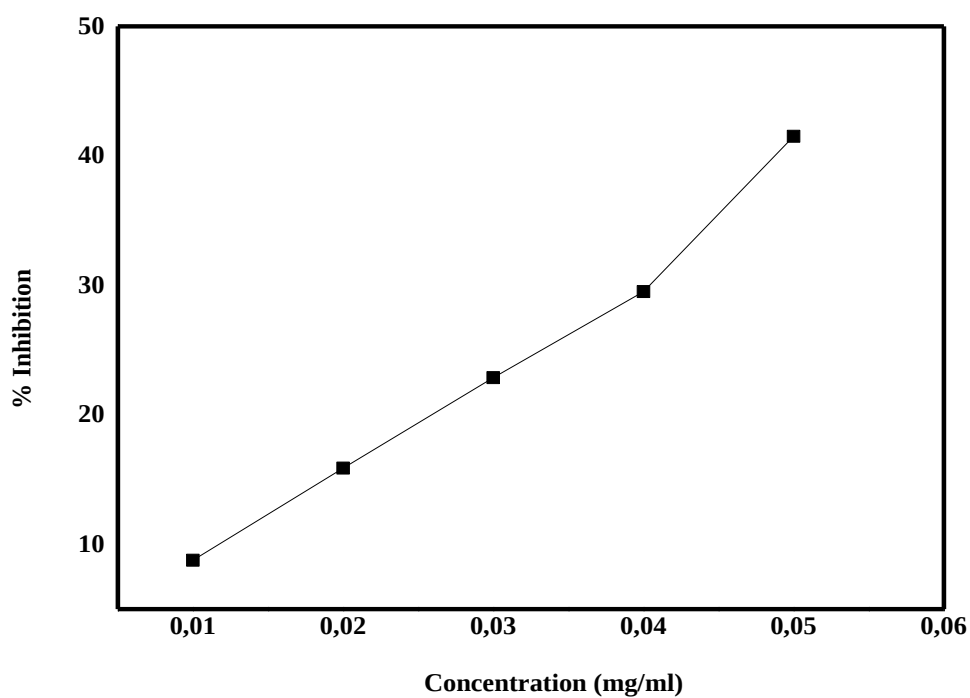


Figure 34 : Activité antioxydant de vanilline préparé à pH =3.8 vis-à-vis le radical DPPH.

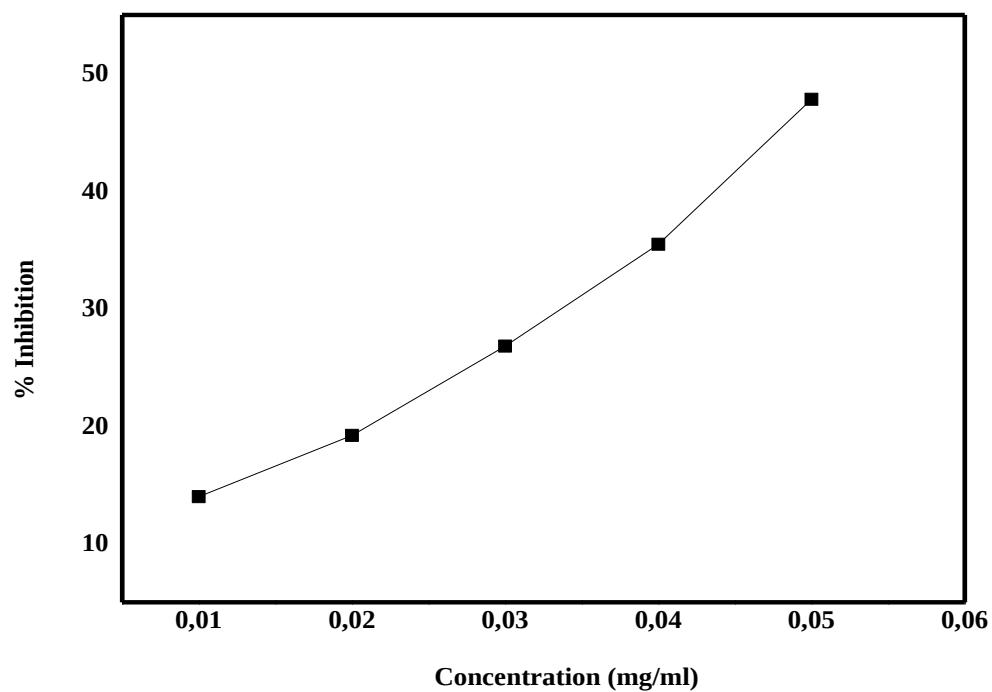


Figure 35 : Activité antioxydant de vanilline préparé à pH =7 vis-à-vis le radical DPPH.

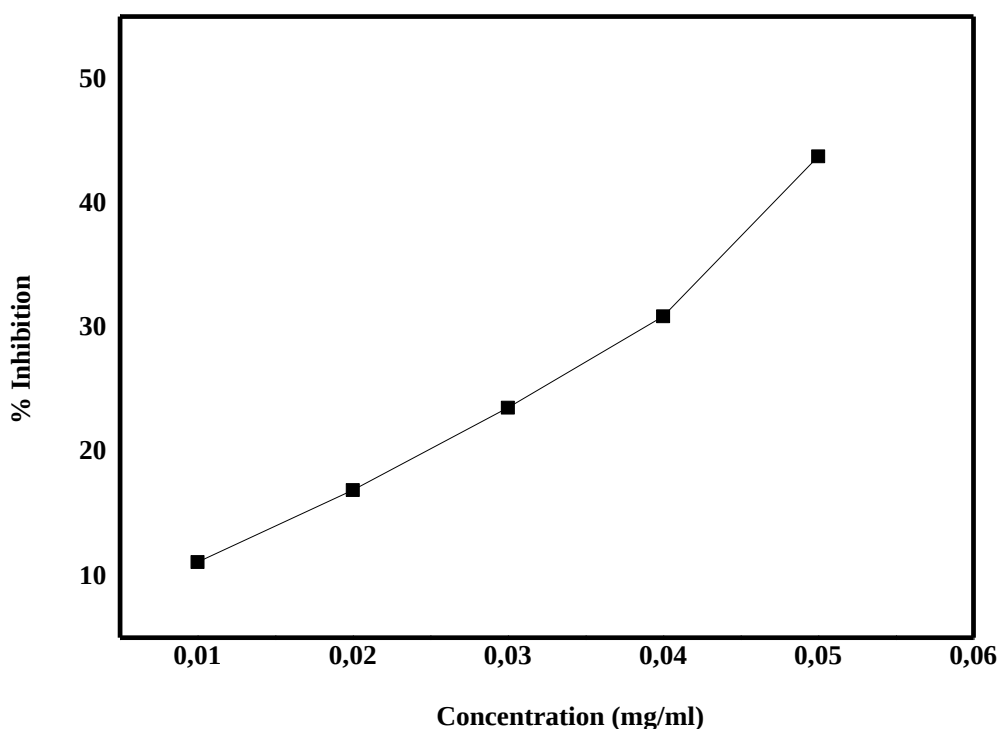


Figure 36 : Activité antioxydante de vanilline préparé à pH =9.2 vis-à-vis le radical DPPH.

Discussions des résultats

La famille des polyphénols renferme de très nombreux composés à potentialités antioxydantes plus au moins fortes. Ces propriétés jouent un rôle de prévention important contre le stress oxydant.

L'autoxydation des lipides est responsable non seulement de la détérioration des aliments (rancissement), mais aussi, *in vivo*, de dommage aux tissus.

Ainsi, ce phénomène est impliqué dans diverses pathologies courantes telles que les maladies cardiovasculaires, certains types de cancers, divers préjudices inflammatoires, immunitaires et neurodégénératifs.

Le fait que les antioxydants puissent prévenir ou ralentir la progression de telles maladies a des implications importantes en termes de nutrition et santé ; Chez l'homme et l'animal, des systèmes de défense ont été développés contre les processus d'oxydation lipidique.

En particulier, les glutathion peroxydases (en association avec la glutathion réductase) sont capables de réduire une variété d'hydroperoxydes en les alcools correspondants ; Par ailleurs, l'alimentation apporte une grande variété d'antioxydants (Acide ascorbique, acide

gallique, vanilline) susceptibles de participer à la prévention de l'oxydation lipidique dans les aliments et chez l'homme.

De nombreux travaux expérimentaux et études épidémiologiques soulignent l'intérêt d'une alimentation variée, riche en fruits et légumes ; Plusieurs hypothèses suggèrent que la consommation de produits végétaux en quantité suffisante serait bénéfique pour l'homme, en réduisant le risque de développer certaines pathologies.

Ainsi, la préservation des antioxydants dans les formulations alimentaires n'a plus pour seul but de préserver les qualités sensorielles du produit mais aussi de renforcer sa valeur nutritionnelle.

La famille des polyphénols renferme de très nombreux composés à potentialités antioxydantes plus au moins fortes qui peuvent intervenir dans l'inhibition de la peroxydation lipidique qui initie l'autoxydation des lipides et/ou en réduisant (directement ou plus probablement en association avec l' α -tocophérol qu'ils contribuent à régénérer) les radicaux oxyl et peroxy lipidiques impliqués dans le processus.

Enfin, certains polyphénols sont des inhibiteurs des enzymes d'oxydation, en particulier de la lipoxygénase ; Pour répondre aux exigences à la fois de la technologie industrielle et de la santé publique, un bon antioxydant alimentaire doit être efficace à faible concentration, facile à incorporer dans le produit et résistant aux traitements thermiques.

En outre, il ne doit pas modifier les propriétés sensorielles de l'aliment ni présenter de toxicité pour le consommateur ; L'oxydation lipidique et son inhibition par des antioxydants dépendent fortement du milieu : polarité, température, nature de substrat, milieu solide, milieu liquide homogène ou émulsionné.

C'est la raison pour laquelle de nombreux résultats publiés apparaissent divergents, particulièrement, dans les classements différents de l'ordre d'efficacité des antioxydants. Les nombreux travaux de la littérature mettent en œuvre des méthodologies diverses, selon le processus modélisé.

La réduction (transfert d'atome H ou d'électron) des radicaux oxydes et peroxydes par les phénols (ArOH) est généralement rapide en raison de la stabilisation par délocalisation électronique des radicaux aryloxydes ($\text{ArO}^\bullet$) ainsi produits ; Ces réactions inhibent les étapes d'initiation et de propagation.

Dans le cas de l'acide gallique, la vitesse de peroxydation est plus élevée en présence du polyphénol. On peut donc conclure que l'acide gallique stimule la production des radicaux initiateurs probablement par réduction.

En présence d'un effet de température, on pouvait supposer une complexation totale des polyphénols. Il semble que ce ne soit le cas que de la quercitrine dont le groupement 3-hydroxy-4-oxo a assez d'affinité pour complexer cet ion malgré la compétition des groupements complexants en fort excès à la surface des micelles (groupements sorbitol et éthylène glycol du tween 20, groupement carboxylate de l'anion linoleate).

En revanche, la vanilline, l'acide gallique et ascorbique reste sous forme libre, ce qui indique que leur groupement catéchol n'a pas assez d'affinité pour former un complexe dans ces conditions.

C'est probablement aussi le cas de l'acide gallique et de la catéchine. On peut donc distinguer 2 comportements selon l'antioxydant considéré :

- L'acide ascorbique et inhibe la peroxydation sous forme libre, c'est-à-dire en réduisant les radicaux impliqués dans le mécanisme ; Compte tenu de leur caractère hydrophile, il est probable que l'inhibition procède surtout par réduction des radicaux $\text{HO}^\bullet$ produits à l'interface des micelles par réaction de Fenton plutôt que par inhibition de la propagation par réduction directe des radicaux $\text{ROO}^\bullet$.

- La vanilline forme un complexe puis s'oxyde rapidement avec réduction probable selon le mécanisme déjà mis en évidence en l'absence de lipide.

Ainsi, ce serait les produits d'oxydation de l'acide ascorbique et leurs complexes qui seraient responsables de l'inhibition assez modeste (plus faible qu'avec l'acide gallique) qui est observée

Conclusion

Conclusion

La famille des polyphénols renferme de nombreux composés d'intérêt nutritionnel et valorisables dans l'industrie alimentaire et la cosmétologie en raison de leurs propriétés réductrices (antioxydantes) et de leur stabilité vis-à-vis le pH.

Cette étude a permis de mieux comprendre les paramètres qui gouvernent la réactivité des polyphénols dans différent milieu acide, basique et neutre.

Dans des conditions fortement acides, les polyphénols sont très solubles mais présentent une activité antioxydante faible.

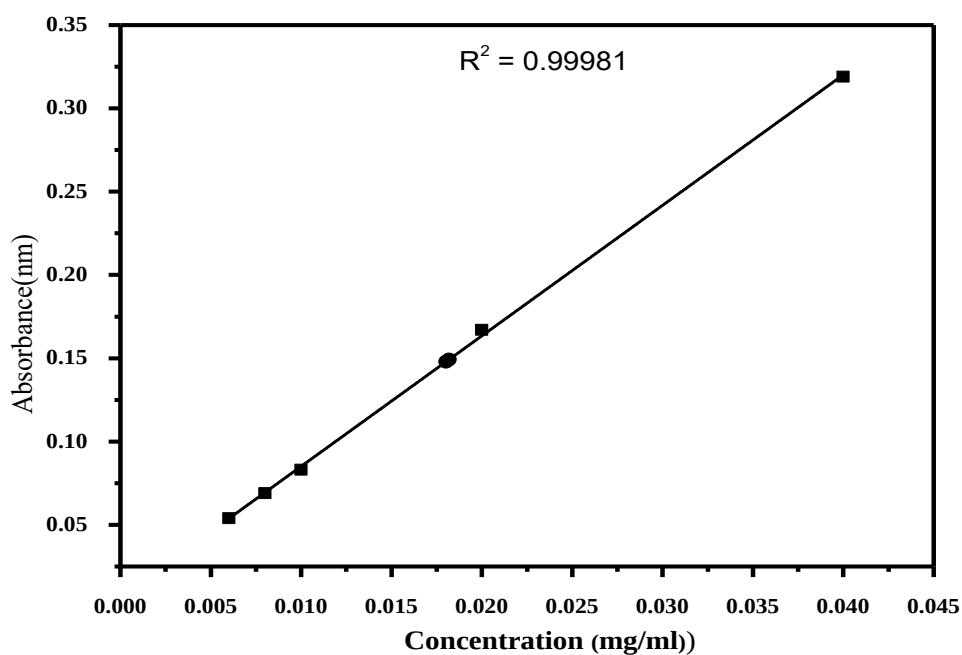
Par contre à milieu basique, les composés phénolique peu soluble mais présentent une activité antioxydante élevé par rapport le pH acide.

La stabilité plus importante enregistrée pour les composés phénoliques dans le milieu neutre à pH 7.

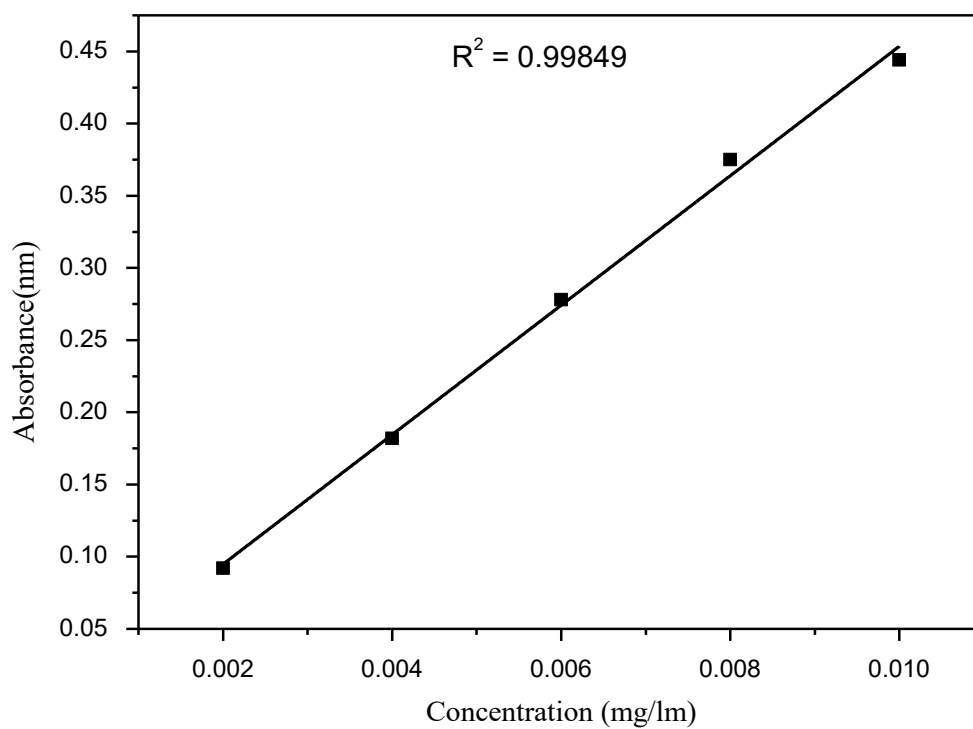
Notre étude confirmé les résultats obtenues par plusieurs recherche que la lumière ne présentent aucune effet sur la stabilité des composés phénoliques

Annexe

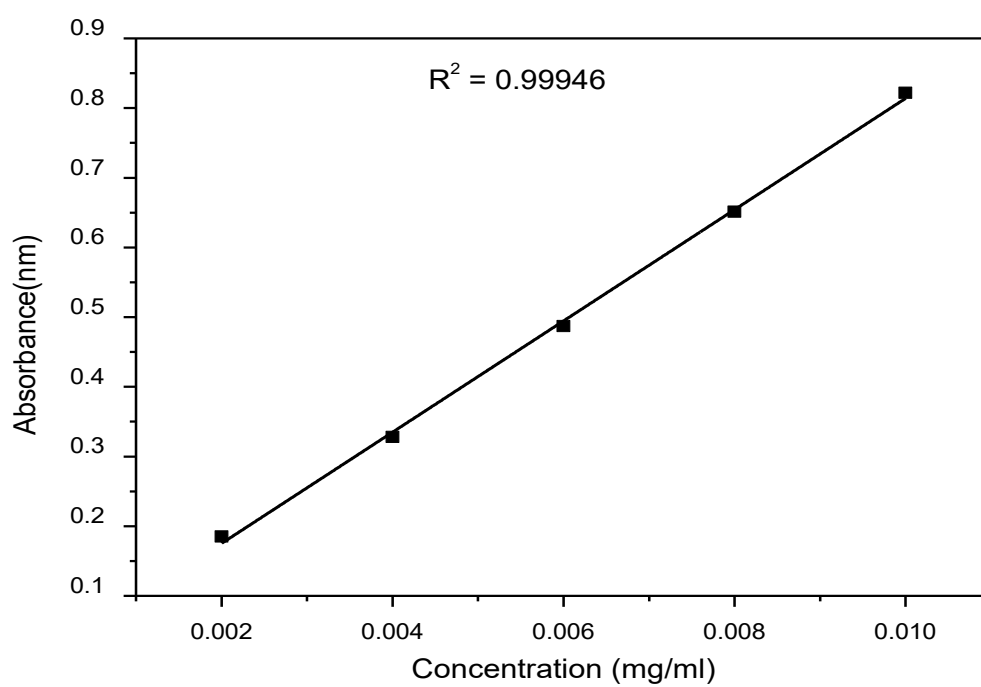
Annexe



Annexe 01 : Courbes d'étalonnages des Acide Ascorbique.



Annexe 02 : Courbes d'étalonnages des Acide Gallique.



Annexe 03 : Courbes d'étalonnages des Vanilline.

Références bibliographiques

Références bibliographiques:

- [1] Introduction thème diplôme de doctorat polyphénols de l'alimentation : Extraction, Interactions avec les ions du Fer et du Cuivre, Oxydation et Pouvoir antioxydant Par Ez-zohra NKHILI unvièrsité d'avignonet 23 Mars 2009 page 1,2
- [2] Vitrac X., Bornet A., Vanderlinede R. (2005). Determination of stableness (Delta-vine Erin, Trans-as ringing, trans-pieced, chis- and trans-resveratrol.epsilon on niferin) in Brazilian wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 53 (14): 5664-5669.
- [3] Yusuf Y., 2006. *Trends Food Sci. Tech*, 17, 64-71.
- [4] Bloor S. J., 2001. *Method. Enzyme*, 335, 3-14.
- [5] Bruneton J. (2008). Acides phénols. In: *Pharmacognosie, phytochimie et plantes médicinales*. Ed: Tec & Doc. Lavoisier, Paris. pp 198-260.
- [6] Clifford M.N. (1999). Appendix 1. A nomenclature for phenols with special reference to tea Washington, DC, CRC Press, Boca Raton Florida. 41 (5): 393-397.
- [7] D'Archivio M., Filesi C., Di Benedetto R., Gargiulo R., Giovannini C. et Masella R. (2007). Polyphenols, dietary sources and bioavailability. *Annali-dell'Istituto-Superiore-di-Sanità*. 43(4): 348-361.
- [8] Skerget M., Kotnik P., Hadolin B., Hras A.-R., Simonic M. ET Knees Z. (2005). Phenols, proanthocyanidines, flavones and flavonols in some plant materials and their antioxidant activities. *Food Chemistry*. 89: 191-198.
- [9] Manach C., Scalbert A., Morand C., Remesy C., Jimenez L. (2004). Polyphenols: food sources and bioavailability. *American Journal of Clinical Nutrition*. 79: 727-747.
- [10] Han X.H., Hong S.S., Hwang J.S., Lee M.K., Hwang B.Y., Ro J.S. (2007). Monoamine oxidase inhibitory components from *Cayratia japonica*. *Archives Pharmacal Research*. 30: 07- 13.
- [11] Chira K., Such J., Saucier C., Teissèdre L. (2008). *Les polyphénols du raisin*. Ed : Springer 6 :75-82.
- [12] Podsdek A., Wilska-Jeszka J., Anders B., Markowski J. (2000). Compositional characterisation of some apple varieties. *European Food Research and Technology*. 210: 268- 272.
- [13] Heder K. (2005). Les flavonoïdes: structures, propriétés biologiques, rôles prophylactiques et emplois en thérapeutique. *Phytothérapie*. 04: 162-169.
- [14] Crozier A. (2003). Classification and biosynthesis of secondary plant products: an overview. In *Plants" Diet and Health"*. Ed. Goldberg. pp: 27- 48.
- [15] Hertog M.G.L., Hollman P.C.H., Katan M.B. (1992). Content of potentially

- anticarcinogenic flavonoids of 28 vegetables and 9 fruits commonly consumed in The Netherlands. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 40: 2379-2383.
- [16] Manach C. (1998). Biodisponibilité des flavonoïdes. Thèse: Clermont-Ferrand: Université Blaise Pascal.
- [17] Hackney HER. Karenlampi SO., Heinonen I.M., Myökyne H.M., Toronen AIR... (1999). Content of the flavonols quercetin, myricetin and kaempferol in 25 edible berries. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 47:2274-2279.
- [18] Hertog M.G.L., Hollman P.C.H, Van de Putte B. (1993). Content of potentially anticarcinogenic flavonoids of tea infusions, wines, and fruit juices. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 41: 1242-1246.
- [19] Arts I.C.W., Van de Putte B., Hollman P.C.H. (2000). Catechin contents of foods commonly consumed in the Netherlands. 1. Fruits, vegetables, staple foods and processed foods. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 48: 1746-1751.
- [20] Arts I.C.W, Van de Putte B., Hollman P.C.H. (2000). Catechin contents of foods commonly consumed in the Netherlands. 2. Tea, Wine, Fruit juices and chocolate milk. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 48: 1752-1757.
- [21] Košir I-J., Lapornik B., Andrenšek S., Wondra A., Vrhovšek U et Kidric J. (2004). Identification of anthocyanins in wines by liquid chromatography, liquid chromatography-mass spectrometry and nuclear magnetic resonance. *Analytical Chemical Act*. 513: 277-282.
- [22] Ribeiro M T., Waffo-Teguo P., Teissèdre PL. (1999). Determination of stilbenes (trans-astringing, chis and Trans pieced, and chis and Trans resveratrol) in Portuguese wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 47: 266-267.
- [23] Mazza G., Fukumoto L., Delaquis P., Girard B., Ewert B. (1999). Anthocyanins, phenolics, and color of Cabernet Franc, Merlot, and Pinot Noir wines from British Columbia. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 47: 4009-40017.
- [24] Fossen T., Andersen O.M., Ovstedal D.O., Pedersen A.T., Raknes A. (1996). Characteristic anthocyanin pattern from onions and other *Allium* spp. *Journal of Food Science* 61: 703-706.
- [25] Micol V., Caturia N., Perez-Fons L., Mas V., Perez L. et Estepa A. (2005). The olive leaf extract exhibits antiviral activity against viral haemorrhagic septicaemia Rhadovirus (VHSV). *Antiviral Research*. 66: 129-136.
- [26] Long HAS. Tinley P.M. ET Van Week B.-E. (2010). the ethno botany and pharmacognosy of *Olea europaea* subsp. *africana* (Oleaceae). *South African Journal of*

Botany. 76 (02): 167-420

- [27] Silva S., Gomes L., Leitaó F., Bronse M., Coelho ADV. ET Boas V. (2010). Secoiridoids in olive seed: characterization of nüzhenide and 11-methyl oleo sides by liquid chromatography with diode array and mass spectrometry. Grassasy Aceittes. 61 (02): 157-164.
- [28] Briante R., Patumib M., Febbria F. et Nuccia R. (2004). Production of highly purified hydroxytyrosol from *Olea europaea* leaf extract biotransformed hyperthermophilie B-glucosidase. Journal of Biothechnology. 111(01): 67-77.
- [29] Aguilera-Carbo A., Augur C., Prado-Barragan L. A., Favela-Torres E., Aguilar C N. (2008). Microbial production of ellagic acid and biodégradation of ellagitannins. Applied Microbiology and Biotechnology. 78: 189-199.
- [30] Paris M., Hurabeillen M. (1981). Abrégé de Matière médicale, pharmacognosie. Ed: Masson. 210-215.
- [31] Linden et Lorient D. (1994). Pigments et arômes .In : Biochimie agro-industrielle valorisation alimentaire de la production agricole. Ed: Masson. 338-340.
- [32] Cowan M.M. (1999). Plant products as antimicrobial agents. Clinical Microbiology Reviews. 12: 564-582.
- [33] O'Connell J.E., Fox P.F. (2001). Signification and applications of phénolic compounds in the production and quality of milk dairy products: a review. International Dairy Journal. 11(3): 103-120.
- [34] Ribéreau-Gayon P. (1968). Les composés phénoliques des végétaux. Edition Dunod. Paris. pp.: 173-201.
- [35] Bruyne T., Pieters L., Deelstra H. et Vlietink A. (1999). Condensed vegetable tannins: Biodiversity in structure and biological activities. Biochemical Systematic and Ecology. 27: 445- 459.
- [36] Derbel S., Ghedira K. (2005). Phytothérapie et nutrition : Les phytonutriments et leur impact sur la santé. Phytothérapie. 1: 28-34.
- [37] Dangles O, 2006. Les polyphénols en agroalimentaire, Lavoisier, 2006, 29-50.
- [38] Di Carlo G., Mascolo N., Izzo A.A., Capasso F., 1999. Rev. Life Sci., 65, 337-53.
- [39] Landolfi R., Mower R.L., Steiner M., 1984. Biochem Pharmacol, 33, 1525-1530.
- [40] Ward J., 1994. Austr. J. Physic., 23, 1297-301.
- [41] Limasset B., Doucen C., Dore J. Ch., Ojasoo T., Damon M., de Paulet A. C., 1993. Biochem. Pharmacology. 46, 1257-1271.
- [42] Di Carlo G., Mascolo N., Izzo A.A., Capasso F., 1999. Rev. Life Sci., 65, 337-53.

- [43] Izzo A.A., 1996. *Rev. J. Pharm. Pharmacol.*, 48, 1103-1111.
- [44] Bracke M., Vyncke B., Opdenakker G., Foidart J.M., De Pestel, G., Mareel, M., 1991. *Clin. Exp. Metastasis.*, 9, 13-25.
- [45] Jodoin J., Demeule M., Béliveau R., 2002. *J. Biochem. Biophys. Acta*, 1542, 149-159.
- [46] Scutt A., Meghji S., Canniff J.P., Harvey W., 1987. *Experiential*. 43, 391- 393.
- [47] Makimura M., Hirasawa M., Kobayashi K., Indo, J., Sakanaka S., Taguchi T., Otake S., 1993. *J. Periodontol*, 64, 630-636.
- [48] Duthie G. G., Duthie S. J., Kyle J. A. M., 2000. *Nut. Res. Rev.*, 13, 79- 106.
- [49] Ong K.C., Khoo H.E., 1997. *Gen. Pharmacol.*, 29, 121-126.
- [50] Ong K.C., Khoo H.E., 2000. *Life Sci.*, 67, 1695-1705.
- [51] Hertog M.G., Feskens E.J., Hollman P.C., Katan M.B., Kromhout D., 1993. *Lancet*, 342, 1007-1011.
- [52] Yann C. & Ramarrons A., 2005. *Pharmacol.Rep.*, 57, 97-107.
- [53] Goodarzi1 M. T., Zal1 F., Malakooti M., Safari1 M. R., Sadeghian1 S., 2006. *Acta. Medical Ironical*, 44, 41-45.
- [54]] Chu S.C., Hsieh Y.S., Lin J.Y., 1992. *J Nat Prod.*, 55, 179-183.
- [55] Laughton MR., Halliwell.B. Evans P.J., Hoult J., Robin S., 1989. *Biochem. Pharmacol.*, 38, 2859-2865.
- [56] Kessler M., Ubeau G., Jung L. 2002. *J. Pharm. Pharmacol*, 55, 1-11.
- [57] Yen G.C., Chen H.Y., Peng H.H., 1997. *J. Agr. Food Chem.*, 45, 30-34.
- [58] Aruoma O.I., Murcia A., Butler J., Halliwell B., 1993. *J. Agric. Food. Chem.*, 41, 1880-1885.
- [59] Kobayashi H., Oikawa S., Hirakata K. Kawanishi S., 2004. *Muta. Res.*, 558, 111-120.
- [60] Gow-Chin Yen, Pin-Der Duh, Hui-Ling Tsai, 2002. *J. Food. Chem.*, 79, 307-313.
- [61] Cook N. C. & Sampan S., 1996. *J. Nutr. Brioche*. 7, 66-76.
- [62] Ruche A. Masashi Y., Hiroki H., Toshiyuki O., Takashi K., 2004. *Am. Soc. Mass Spectrometry*, 15, 1228-1236.
- [63] Guyot S. Vercauteren J., Cheynier V., 1995. *Phytochemistry*, 42, 1279-1288.
- [64] El Hajji H., Nkhili EZ., Tomao V., Dangles O., 2006. *Free Radical Res.*, 40, 303-320.
- [65] DAMIEN F., DEBRUXELLES Ph., LOUVEAUX M. (2002) « Présentation et dosage de l'acide ascorbique » ICAFOC – Louvain-La-Neuve.
- [66] Harakeh S, Jariwalla R, « NF-kappa B-independent suppression of HIV expression by ascorbic acid », *AIDS Res Hum Retroviruses*, vol. 13, no 3, 1997, p. 235-9.

- [67] ATKINS P., JONES, L. (1998) « CHIMIE, molécules, matière, métamorphoses ». 1060 p. De Boeck Université.
- [68] M. J. Amiot-Carlin, F. Caillavet, M. Causse, P. Combris, J. Dallongeville, M. Padilla, C. Renard ; Les fruits et légumes dans l'alimentation. Enjeux et détermination de la consommation. Expertise scientifique collective, INRA France, (2007).
- [69] G. R. Buettner, B. A. Jurkiewicz; Chemistry and biochemistry of ascorbic acid. In Hand book of Antioxydants. M. Dekker. New York, (1996) 13-17.
- [70] S. Ono, M. Takagi, T. Was a; Polarography investigations of vitamin C. I. The oxidation waves of L-ascorbic acid and the reduction wave of DE hydro-L-ascorbic acid. Bull. Chem. Soc. Jpn, 31 (1958) 356-364.
- [71] P. Karabinas, D. Janakoudakis; Kinetic parameters and mechanism of the electrochemical oxidation of L-ascorbic acid on platinum electrodes in acid solutions. J. Electroanal. Chem., 160 (1984) 159-167.
- [72] FUKUMOTO L.R. and MAZZA G. (2000). Assessing Antioxidant and Prooxidant Activities of Phenolic Compounds. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 48 (8), 3597-3604.
- [73] YOON CH., CHUNG SQ., LEE S.W., PARK YD., LEE SUK. ET PARK M.C. (2013). L'acide gallique, acide polyphénolique naturel, induit l'apoptose et inhibe l'expression des gènes pro-inflammatoires dans les synoviocytes fibroblastiques de polyarthrite rhumatoïde. Revue du rhumatisme, 80, 271-278.
- [74] CIRILLO G., KRAEMER K., FUESSEL S., PUOCI F., CURCIO M., SPIZZIRRI U. G., ALTIMARI I. and IEMMA F. (2010). Biological Activity of a Gallic Acid-Gelatin Conjugate, Bio macromolecules, 11, 3309-3315.
- [75] NIEMETZ R. and GROSS G.G. (2005). Enzymology of Gallo tannin and ellagitannin biosynthesis. Phytochemistry, 66, 2001-2011.
- [76] WOLFE K., WU X. and LIU RAH. (2003).Antioxidant activity of apple peels. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 51, 609-614.
- [77] Créateur du projet : Didier BAAR (+) Auteur de la fiche technique : Didier BAAR (+) & Marcel LECOMTE Responsable : Marcel LECOMTE (Cercle Mycologique de Namur & Cercle des M.L.B.) Cercle des Mycologues du Luxembourg belge asbl (M.L.B.), Président : Paul PIROT, rue des Peupliers, 10, B-6840 NEUFCHATEAU Pour vos commandes : voir la feuille du Catalogue.
- [78] RhodiaGPS12/2011.www.rhodia.com/en/sustainability/global_product_strategy/index.tcm

RÉSUMÉ

Les polyphénols sont considérés comme des composés quasi- universels des végétaux. Structuellement, ils se répartissent en plusieurs classes allant de composés présentant un simple noyau phénolique (ex. : acide gallique) à des composés polymériques complexes comme les tanins ; les polyphénols constituent les principes actifs de nombreuses plantes médicinales ; on les trouve, d'une manière générale, dans toutes les plantes vasculaires, où ils peuvent être localisés dans divers organes: racines, tiges, bois, feuilles, fleurs et fruit. In vitro, les polyphénols présentent des activités antioxydants, antivirales, anti-inflammatoires ; c'est dans ce contexte de l'étude de la stabilité des polyphénols que notre travail a pris naissance ; le programme de recherche s'articule autour de deux axes principaux :

Étudier l'effet d'un rayonnement ultraviolet sur la stabilité de certains composés phénoliques (l'acide gallique et de l'acide ascorbique, la vanilline), par moments différents temps ; étude de l'effet de pH sur la stabilité des quelques composés phénoliques (Acide gallique, acide ascorbique, vanilline), et sur de l'évaluation de l'activité antioxydants totale et le radical DPPH préparé à différents pH (3.8, 7, 9.2).

Mots clés : Polyphénols, Activité antioxydant, Absorbance, UV visible, pH, DPPH.

ملخص

وتعتبر مادة البوليفينول المركبات النباتية العالمية تقريبا. هيكليا، تم تقسيمها إلى عدة فئات من المركبات جود نواة بسيطة الفينول (مثلا: حمض الغال) إلى مركبات البوليمر معقدة مثل العفص. البوليفينول هي المكونات الفعالة للعديد من النباتات الطبية. وهي توجد بشكل عام في جميع النباتات الوعائية، حيث يمكن أن يكون موجودا في مختلف الأجهزة: الجذور والسيقان والخشب والأوراق والأزهار والفواكه. في المختبر، البوليفينول المضادة للأكسدة، المضادة للفيروسات، مضاد للالتهابات. وفي هذا السياق من دراسة استقرار البوليفينول التي نشأ عملنا. ويركز برنامج البحث على مجالين رئيسيين: دراسة تأثير الأشعة فوق البنفسجية على استقرار بعض المركبات الفينولية (حمض الغاليك وحمض الأسكوربيك، فانيليا). في أوقات زمنية مختلفة. دراسة تأثير درجة الحموضة على استقرار بعض المركبات الفينولية (حمض الغاليك وحمض الأسكوربيك، فانيليا). وتقييم النشاط مجموع المواد المضادة للاكسدة و DPPH جذري أعدت في درجة الحموضة مختلفة (3.8 و 7 و 9.2).

الكلمات المفتاحية : البوليفينول، النشاط المضاد للأكسدة، الامتصاصية، الأشعة فوق البنفسجية مرئية، درجة الحموضة،

DPPH