

Une nouvelle méthode de dosage des acides phénoliques dans les aliments

N Jehl ^{1,2}, D Debroas ², G Blanchart ²

¹INRA, Station de recherches cynicoles, 31320 Castanet Tolosan ; ²INRA-ENSAIA, laboratoire de zootechnie, 54505 Vandoeuvre, France

Les acides phénoliques non polymérisés permettent de relier les hemicelluloses à la lignine. L'élimination de ces composés pourrait augmenter la dégradation de la paroi pectocellulosique (Jung et Sahl, 1986, J Sci Food Agric, 37, 659). Il a été montré *in vitro* que ces monomères de lignine possédaient une activité inhibitrice sur la croissance des bactéries cellulolytiques (Chesson *et al*, 1986, Appl Environ Microbiol, 44, 597). Les acides phénoliques pourraient par conséquent jouer un rôle important dans la dégradation des parois végétales. Nous exposerons dans cette étude une nouvelle méthode pour doser ces composés dans les parois.

Préparation des parois. 1g d'aliment en suspension dans 20 ml d'eau est placé 1 h à 90°C puis 3 h à 60 °C. 80 ml d'éthanol sont rajoutés à froid. Le mélange est incubé pendant 12 h à 4°C. Le résidu insoluble dans l'éthanol (RIE) est filtré sur creuset puis séché à l'étuve à 80°C. Cette méthode permet d'éviter une solubilisation des monomères de lignine.

Extraction des acides phénoliques. 500 mg de parois sont mélangés à 5 ml de NaOH 1 M contenant un étalon interne (acide 3, 4, 5 triméthoxycinnamique) à 1 mg/l. L'hydrolyse est réalisée à 39°C pendant 24 h en présence d'azote. Le mélange est filtré sur 8 µm.

Dérivation. Une méthode, décrite récemment par Husek (1991, J Chromatogr, 547, 289),

basée sur l'utilisation du (chloro)alkyl chloroformate a été utilisée. L'étude de tous les paramètres de dérivation a montré que celle-ci est optimale pour un pH neutre. Par conséquent le produit de l'extraction est neutralisé par HCl. 50 µl de l'échantillon à analyser sont mélangés à 10 µl d'étalon interne (acide 3, 3, 4 diméthoxyphenyl propionique à 1 mg/ml dans un tampon phosphate 0,01 M) puis à 40 µl d'une solution éthanol-pyridine (4:1 v/v). L'addition de 5 µl d'éthyle chloroformate (ECF) permet de dériver les acides phénoliques qui sont alors extraits par une solution de chloroforme contenant 1 % d'ECF.

Analyse. La séparation des acides phénoliques est réalisée sur une colonne capillaire OV 1701 greffée (25 m, diamètre interne 0,32 mm Spiral, Dijon) par une programmation de température de 155°C à 270°C à 10°C/min.

Cette méthode permet d'analyser les principaux acides phénoliques présents sous forme de monomères dans les parois végétales (acide trans cinnamique, acide hydroxybenzoïque, acide vanilique, acide p-coumarique et acide férulique). Elle a été testée sur des aliments différents et a permis d'obtenir des résultats reproductibles. L'avantage de cette méthode réside dans la rapidité de la réaction de dérivation (moins de 1 minute) et le faible coût des réactifs.

Teneurs en acide p-coumarique et férulique (mg/g de MS de RIE), moyennes et écarts types sur quatre répétitions

	n	acide p-coumarique		acide férulique	
		(mg/g de MS de RIE)			
Paille	4	3,28 ± 0,01		2,40 ± 0,10	
Pulpe de betteraves	4	traces		9,05 ± 0,31	
Son	4	traces		5,95 ± 0,36	