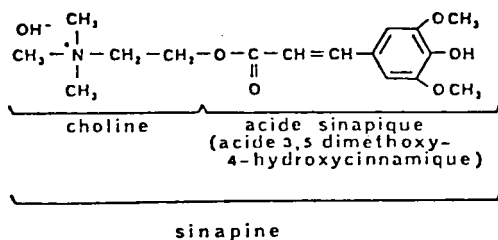


Caractérisation de deux glycosides acylés du kaempférol dans les extraits éthanoliques du tourteau de colza "D-thio".

TANTAWY B., ROBIN J.P., TOLLIER M.Th.

Laboratoire de Technologie Alimentaire
INRA, 91305, MASSY, FRANCE.

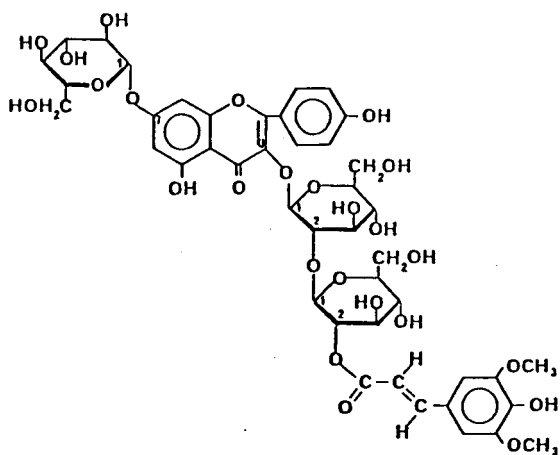
Les études qui ont été réalisées jusqu'à présent sur les composés polyphénoliques du colza sont peu nombreuses, elles ont surtout concerné les aspects nutritionnels du principal composé phénolique de la graine, la sinapine, ester cholinique de l'acide sinapique (figure 1), ou bien ceux de la sinalbine, le para-hydroxybenzyl glucosinolate correspondant.



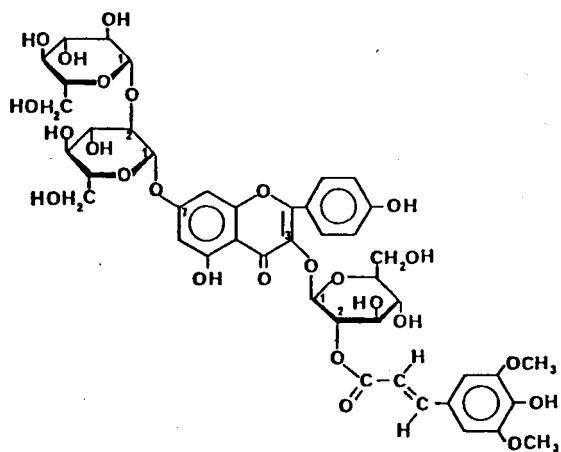
Des études quantitatives telles celles réalisées par MULLER et coll. en 1978 ou par KERBER et BUCHLOH en 1980, indiquent que le pourcentage de sinapine varie, entre 0,65 et 2,25% de la matière sèche du tourteau, notamment en fonction du cultivar. Il ressort également d'autres études (DURKEE et THIVIERGE en 1975) que l'acide trans-sinapique constitue le principal acide phénolique lié des graines de colza; cet acide représenterait d'après KOZLOWSKA et coll. en 1975, 85% des composés phénoliques totaux et d'après KRYGIER et coll. 1982, 99% des divers acides phénoliques et cinnamiques présents sous forme estérifiée. Les acides benzoïques (vanillique, para-hydroxybenzoïque) et cinnamiques (para-coumarique, férulique, caféique, chlorogénique) sous forme libre représentent une faible proportion des polyphénols totaux de la graine. Parallèlement à la présence d'ester cholinique de l'acide sinapique, certains auteurs ont pu mettre en évidence des esters d'acides phénoliques avec le glucose ou le saccharose dans le cas de l'acide sinapique, composés dits "sinapoyles", (FENTON et coll. en 1980).

En ce qui concerne les flavonoïdes, peu d'études ont été entreprises; notons cependant celle réalisée par DURKEE et HARBORNE qui, en 1973, rapportent la présence de 7-glucoside, de 3,7-diglucoside et de 3-sophoroside,

FIGURE 3

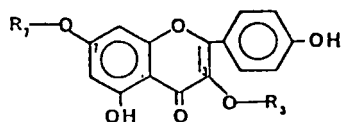


Formule du 3-(O-sinapoyl sophoroside) 7-O-glucoside kaempférol.



Formule du 3-(O-sinapoyl glucoside) 7-O-sophoroside kaempférol.

7-glucoside du kaempférol (figure 2).



$R_3 = H$; $R_7 = \text{Glucose}$
 $R_3 = R_7 = \text{Glucose}$
 $R_3 = \text{Sophorose}$; $R_7 = \text{Glucose}$

7-Glucoside Kaempférol
 3,7-digluco-side Kaempférol
 3-Sophoroside 7-Glucoside Kaempférol

Par ailleurs, la présence de tanins condensés a été relevée dans les coques de la graine par certains auteurs (DURKEE en 1971; LEUNG et coll. en 1979). Malgré le caractère "antinutritionnel" de la sinapine, mis en évidence à maintes reprises par des études récentes ^(notamment) sur porcs et sur poulets, certaines données semblent indiquer que d'autres facteurs pourraient être également impliqués dans la moindre efficacité alimentaire du tourteau de colza.

C'est en partie pour cette raison et aussi pour tenter d'approfondir les connaissances de base sur les composés polyphénoliques faiblement représentés dans le tourteau, qu'une étude visant à répertorier et à identifier certains de ces composés qualifiés de "mineurs", a été entreprise, à partir d'un tourteau de colza à faible teneur en glucosinolates (tourteau "O-thio"). Les composés extraits par l'éthanol à 80° et séparés du "pool sinapine-acide sinapique libre", ont été isolés par chromatographies et identifiés à l'aide de la méthode spectrophotométrique ultraviolette dite des "déplacements spectraux" établie par MABRY et coll. en 1975, associée aux méthodes d'hydrolyses acide, totale et partielle, alcaline et enzymatique.

Ainsi, a-t-on pu caractériser dans le tourteau, deux flavonoïdes estérifiés par l'acide sinapique : le 3-(O-sinapyle sophoroside) 7-O-glucoside du kaempférol et le 3-(O-sinapyle glucoside) 7-O-sophoroside du même aglycone (figure 3).

On remarquera dans les deux cas que l'hydrolyse alcaline permet la libération de l'acide sinapique d'une part et des flavonols glycosylés correspondants d'autre part; dans le cas du premier composé le glycoside est le 3-O-sophoroside 7-O-glucoside kaempférol, dans le cas du second, le glycoside est le 3-O-glucoside 7-O-sophoroside kaempférol. L'hydrolyse acide totale, coupant toutes les liaisons glycosidiques, libère l'aglycone, le kaempférol, alors que l'hydrolyse acide partielle libère respectivement du sophorose et du 7-O-glucoside kaempférol dans le cas du premier composé, et du glucose et du 7-O-sophoroside kaempférol dans le cas du second. Enfin, l'hydrolyse enzymatique par la β -glucosidase libère respectivement du glucose et du 3-O-sophoroside kaempférol dans le cas du premier composé et du sophorose et du 3-O-glucoside kaempférol dans le cas du second.

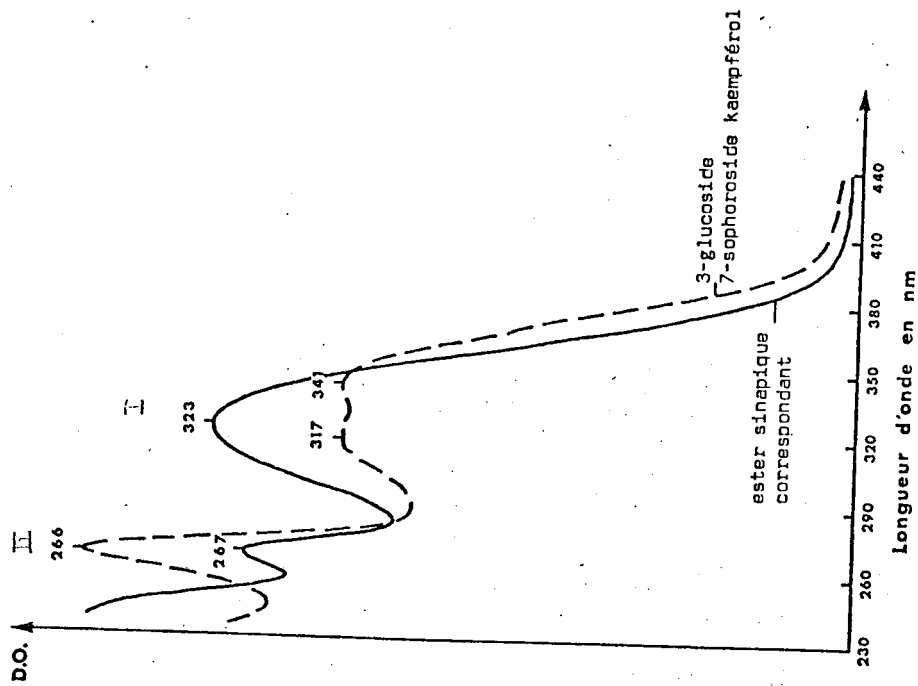
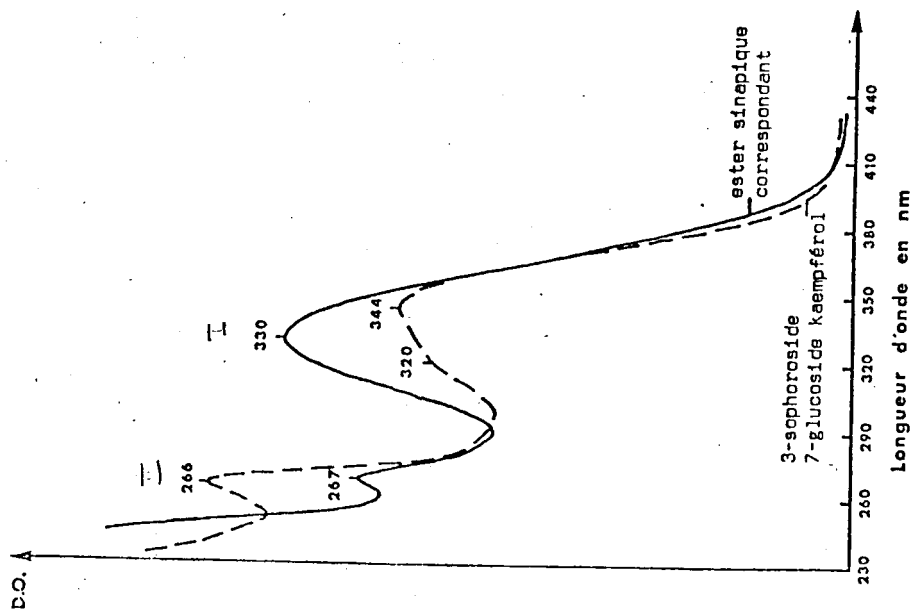


FIGURE 4

L'identification du premier composé acylé, le 3-(O-sinapoyle sophoroside) 7-O-glucoside kaempférol, ainsi que celle du glycoside intermédiaire le 3-O-sophoroside 7-O-glucoside kaempférol, confirme la structure établie en 1976, par STENGEL et GEIGER, à l'aide de la RMN du ^{13}C , pour un composé phénolique également extrait de graines de colza. L'identité a d'ailleurs été vérifiée par co-chromatographie en utilisant un échantillon gracieusement fourni par le professeur GEIGER.

Le second composé acylé, le 3-(O-sinapoyle glucoside) 7-O-sophoroside kaempférol ainsi que son glycoside intermédiaire, le 3-O-glucoside 7-O-sophoroside du même aglycone, sont des flavonoïdes nouveaux non encore mentionnés dans la littérature.

Ce nouveau glycoside acylé se caractérise d'une part, par le fait que la position 7 est diglucosylée, tandis que la position 3 est monoglycosylée, ce qui ne se rencontre que très exceptionnellement chez les flavonols glycosylés, d'autre part, par le fait qu'il est estérifié par l'acide sinapique. En effet, outre ces deux composés aucun autre ester sinapique de flavonoïde glycosylé n'a été répertorié.

La comparaison des propriétés physicochimiques des deux flavonoïdes acylés, ainsi que celles de leurs glycosides correspondants, ces deux derniers étant en quelque sorte "symétriques", permet d'obtenir certains renseignements sur les effets de l'estérification et de la glycosylation. Ainsi, par exemple, au niveau des spectres d'absorption ultraviolette (figure 4), on a pu constater que l'effet de l'estérification est identique pour les deux glycosides : effets hypsochrome et hyperchrome sur la bande I des flavonoïdes. Les maxima de la bande à 344 et 340 nm respectivement pour le premier et le second glycoside acylé sont en effet déplacés à 330 et 323 nm respectivement dans le cas du premier et du second glycoside, le rapport entre les intensités des deux bandes étant inférieur à 1 dans le cas des glycosides et supérieur à 1 dans le cas des esters. Par ailleurs la présence du sophorose en position 3 déplace vers les plus grandes longueurs d'onde, le maximum d'absorption des bandes à 330 et à 344 nm, l'épaulement de cette bande vers 320 nm étant plus marqué pour le 3-O-glucoside 7-O-sophoroside kaempférol. Enfin, la bande à 266 nm est plus intense dans le cas des dérivés sophorosylés en 7 que dans le cas des dérivés glycosylés en 7.

respectivement D'un point de vue quantitatif, les teneurs moyennes de ces composés sont 0,82 - 0,35 et 0,17 g/Kg de tourteau sec (tableau 1).

POLYPHENOLS TOTAUX	7-Glu 3-(Sin. Sop) K	7-Glu 3-Sop K	7-Sop 3-(Sin. Glu) K
18,2-47,3	0,57-1,07	0,32-0,38	0,12-0,23

En dehors de l'intérêt d'ordre fondamental ou taxonomique que présente la caractérisation des flavonoïdes précédents, rien ne semble devoir au travers de cette étude contribuer à améliorer, à terme, l'utilisation du tourteau de colza. Cependant, l'observation de produits de dégradation apparaissant au cours de la manipulation des deux flavonoïdes acylés, a permis de montrer qu'il existait, en plus des divers glycosides intermédiaires et de l'acide sinapique susceptibles d'apparaître, des composés dérivant de l'acide sinapique ainsi libéré et conduisant à des produits colorés. On a d'ailleurs observé que ces mêmes dérivés pouvaient être présents dans le tourteau.

Ainsi, du fait que l'acide sinapique libre ou lié représente la presque totalité des polyphénols du colza, il n'est pas exclu que de tels dérivés, dont la structure et les caractéristiques restent à déterminer puissent apparaître dans le tourteau dans une proportion non négligeable et puissent être impliqués ou à l'origine des problèmes technologiques (coloration des isolats protéiques par exemple) ou nutritionnels liés à l'utilisation ou à la valorisation du tourteau de colza.

Pour exemples, rappelons les problèmes nutritionnels subsistants lors du remplacement du tourteau de soja par du tourteau de colza "00", comme l'ont remarqué HULAN et PROUDFOOT en 1980, PEARSON en 1980 et MARCH en 1981. Rapportons également l'effet antivitaminique B₁ présenté par l'ester méthylique de l'acide sinapique (BHATTACHARYA et CHAUDHURI, 1973), les effets hypotensifs de la dilactone de l'acide déhydrodisinapique (UMESAWA et coll. en 1977) et enfin les effets neurologiques de l'asatone, néolignane dérivant d'un dimère d'unités syringiques (YAMAMURA et coll. en 1976).

En conclusion, bien qu'ayant pu mettre en évidence et préciser la structure de substances polyphénoliques nouvelles quantitativement peu importantes dans le tourteau, nous pouvons mettre l'accent sur la nécessité d'approfondir les données sur les composés de nature phénolique susceptibles d'apparaître à partir de l'acide sinapique, composé qui constitue une proportion non négligeable de la fraction hydrosoluble des graines de colza.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- BHATTACHARYA J., CHAUDHURI D.K., 1973. Isolation and characterisation of a crystalline antithiamine factor from mustard seed, *Brassica juncea*. *Biochim. and Biophys. Acta*, 343, 211-214.
- DURKEE A.B., 1971. The nature of tannin in Rapeseed (*Brassica campestris*). *Phytochemistry*, 10, 1583-1585.
- DURKEE A.B., HARBORNE J.B., 1973. Flavonol glycosides in *Brassica* and *Sinapis*. *Phytochemistry*, 12, 1085-1089.
- DURKEE A.B., THIVIERGE P.A., 1975. Bound phenolic acids in *Brassica* and *Sinapis* oilseeds. *J. Food Sci.*, 40, 820-822.
- FENTON T.W., LEUNG J., CLANDININ D.R., 1980. Phenolic components of rapeseed meal. *J. Food Sci.*, 45, 1702-1705.
- HULAN H.W., PROUDFOOT F.G., 1980. The nutritional value of rapeseed meal for layer genotypes housed in pens. *Poultry Science*, 59, (3), 585-593.
- KERBER E., BUCHLOH G., 1980. The sinapine content crucifer seeds. *Angew. Bot.*, 54, (1-2), 47-54.
- KOZLOWSKA H., SABIR M.A., SOSULSKI F.W., 1975. Phenolic constituents in Rapeseed Flour. *Can. Inst. Food Sci. Technol. J.*, 8, (3), 160-163.
- KRYGIER K., SOSULSKI F., HOGGE L., 1982. Free, Esterified, and Insoluble-Bound Phenolic Acids. Composition of Phenolic Acids in Rapeseed Flour and Hulls. *J. Agric. Food Chem.* 30, 334-336.
- LEUNG J., FENTON T.W., MUELLER M.M., CLANDININ D.R., 1979. Condensed tannins of Rapeseed meal. *J. Food Sci.*, 44, 1313-1316.
- MABRY T.J., MARKHAM K.R., THOMAS M.B., 1970. The Systematic identification of Flavonoids. *Springer-Verlag. New York. Heidelberg. Berlin.*
- MARCH B.E., 1981. Choline Supplementation of Layer Diets Containing Soybean Meal or Rapeseed Meal as Protein Supplement. *Poultry Science*, 60, (4), 818-823.

- MUELLER M.M., COLEMAN R.N., CLAUDININ D.R., 1978. Trimethylamine production from sinapine by enteric bacteria from laying hens. *Proc. 5th Int. Rapeseed Congr.*, 1, 27.
- PEARSON G., 1980. New Zealand-grown and processed rapeseed (CV. Tower) meal as a protein supplement for growing pigs. *N.Z. Journal of Experimental Agriculture*, 8, 205-209.
- STENGEL B., GEIGER H., 1976. Kämpferol-3-(O-sinapyolsophorosid)-7-glucosid, ein neues Flavonoid aus *Brassica napus* L. (Cruciferae). *Z. Naturforsch.*, 31, (c), 622-623.
- UMEZAWA H., TAKEUCHI T., KUMADA Y., 1977. 2 (3', 5'-dimethoxy-4'-hydroxy) phenylméthylène -3-carboxy-4-(3", 5"-dimethoxy-4"-hydroxy phenyl)- γ -butyrolactone. *Japan Kokai*, 136, 163.
- YAMAMURA S., TERADA Y., CHEN Y-P., HONG M., HSU H-Y., SASAKI K., HIRATA Y., 1976. The structures of two novel neolignans, Asatone and Isoasatone. *Bulletin of the Chemical Society of Japan*, 49, (7), 1940-1948.