

Extraction et Identification de Quelques Polyphénols du Chocolat Noir Commercial (Cote d'or)

Kouamé Bosson Antoine

*Laboratoire de Chimie Bio Organique et de Substances Naturelles (LCBOSN)
UFR-SFA Université Nangui Abrogoua 02 BP 801 Abidjan 02 Côte D'ivoire*
E-mail: abossonk@gmail.com
Tel: 04479893/66282653

Boua Boua Benson

Corresponding Author

*Laboratoire de Chimie Bio Organique et de Substances Naturelles (LCBOSN)
UFR-SFA Université Nangui Abrogoua 02 BP 801 Abidjan 02 Côte D'ivoire*
E-mail: bouayao@yahoo.fr
Tel: (225) 01671832

Mamyrbékova-Békro Janat Akhanovna

*Laboratoire de Chimie Bio Organique et de Substances Naturelles (LCBOSN)
UFR-SFA Université Nangui Abrogoua 02 BP 801 Abidjan 02 Côte D'ivoire*

Békro Yves-Alain

*Laboratoire de Chimie Bio Organique et de Substances Naturelles (LCBOSN)
UFR-SFA Université Nangui Abrogoua 02 BP 801 Abidjan 02 Côte D'ivoire*
E-mail: bouayao@yahoo.fr

Resume

A partir de 300 g de chocolat noir commercial à 86% de cacao de la marque Côte d'or, nous avons obtenu un concentré de polyphénols (Cp) de masse 1,37 g soit un rendement de 0,45 %. L'analyse de Cp au moyen de CLHP (phase inverse) en mode analytique, suivi d'une co-injection avec quelques références nous a permis d'identifier des composés phénoliques naturels telles que la (-)-épicatéchine, la (+)-catéchine, les procyanidines B2 et B5. Un composé non natif à savoir la (-)-catéchine a été également identifié.

Mots clés: Chocolat noir, côte d'or; polyphénols; (-)-épicatéchine; (+)-catéchine; (-)-catéchine; procyanidines B2 et B5

1. Introduction

Les meilleures qualités gustatives du chocolat noir impose une torréfaction en outre, les conditions de température (à chaud) et de pH (très élevé) peuvent être responsables de formation de complexes racémiques favorisant ainsi l'épimérisation des carbones C2 des différents flavanols. Par compte, certains polyphénols y résistent [1]. Il est connu que certains polyphénols tels que la (-)-épicatéchine, la (+)-catéchine et les procyanidines B2 et B5 ont des effets biologiques bien connus. En effet, ils sont

doués d'activités antioxydante, baissent la pression artérielle sanguine et entraîne un effet anti-agrégation des plaquettes[3, 4], entraînent des effet bénéfiques sur le système cardiovasculaire[5]. Tout ce potentiel biologique doit nous interpeller quant à la nécessité de situer les parts des polyphénols naturels ainsi que celle des non naturels issus de la fabrication du *Chocolat noir*. Le but de cette investigation est d'acquérir une meilleure connaissance du contenu polyphénolique dû à d'éventuelle modification dans le chocolat commercial suite aux différents procédés de l'industrie du chocolat à savoir la fermentation, le séchage, la torréfaction et l'alcalinisation. Pour atteindre cet objectif, nous avons extrait de façon spécifique les polyphénols et par la suite les avons identifiés au moyen de CLHP.

2. Materiel et Methodes

2.2. Méthode D'extraction des Polyphénols Totaux

Notre étude a été réalisée à partir de 300 g de chocolat noir à 86% de cacao (marque Côte d'or) dissout dans 300 ml d'eau portée à 90 °C. Après refroidissement la solution est délipidée par 3 lavages successifs à l'hexane. L'extrait hexanique est concentré à l'aide d'un évaporateur rotatif puis repris avec de l'eau. La solution aqueuse délipidée est alors lavée par 10 litres d'acétate d'éthyle pour en extraire les polyphénols. Cette solution organique après évaporation est lyophilisée. Le lyophilisat est à nouveau mis en solution dans 100 ml d'eau portée à 90°C pour en obtenir la dissolution. Après refroidissement, la solution aqueuse est lavée par 4 litres de chlorure de méthylène [6] pour en extraire la caféine et la théobromine. La solution aqueuse résiduelle est alors lyophilisée pour fournir un concentré de polyphénols (Cp).

2.3. Méthode D'identification des Polyphénols

Pour identifier les différents composés polyphénoliques présents dans Cp, nous avons utilisé deux supports différents en CLHP. Le premier utilise une colonne C18 en phase inverse et le second utilise une colonne chirale à base de β -cyclodextrine dans le but de déceler la présence d'éventuels énantiomères

2.2.1. La CLHP C18

Tableau 1: Conditions de la CLHP phase inverse C18 appliquée à Cp.

CLHP analytique C18: coinjection de la catéchine, l'épicatéchine, les dimères B2 et B5 Echantillon: Cp = 6 mg/mL filtré sur filtre 0,45 μ m.

Tableau 2: Conditions de gradient de la CLHP phase inverse C18 appliquée Cp

Temps en minutes	Solvant A: H ₂ O %	Solvant B: MeOH %
0	85	15
60	0	100

2.2.2. La CLHP Chirale

La colonne chirale est précédée d'une précolonne C18, la pression de la colonne ne doit jamais dépasser 2500 psi et il faut:

- rincer la colonne avec du H₂O à 0,6 mL /min pendant 30 minutes;
- rincer la colonne avec de EtOH à 0, 8 mL/min pendant 30 minutes;
- équilibrer la colonne avec le solvant de départ pendant 25 minutes.

Tableau 3: Conditions de la CLHP phase chirale appliquée à Cp

CLHP sur colonne chirale (β - cyclodextrine) puis par co-injection avec la (-)-épicatéchine, la (+)-épicatéchine, la (+)-catéchine et la (-)-catéchine. Echantillon: Cp = 6 mg/mL filtré sur filtre 0,45 μ m, 5 μ L injecté		
Temps en minutes	Solvant A: H ₂ O %	Solvant B: MeOH %
0	85	15
40	0	100
Enantiomères identifiés: la (-)- épicatéchine, la (+)-catéchine et la (-)-catéchine		

2. Resultats et Discussion

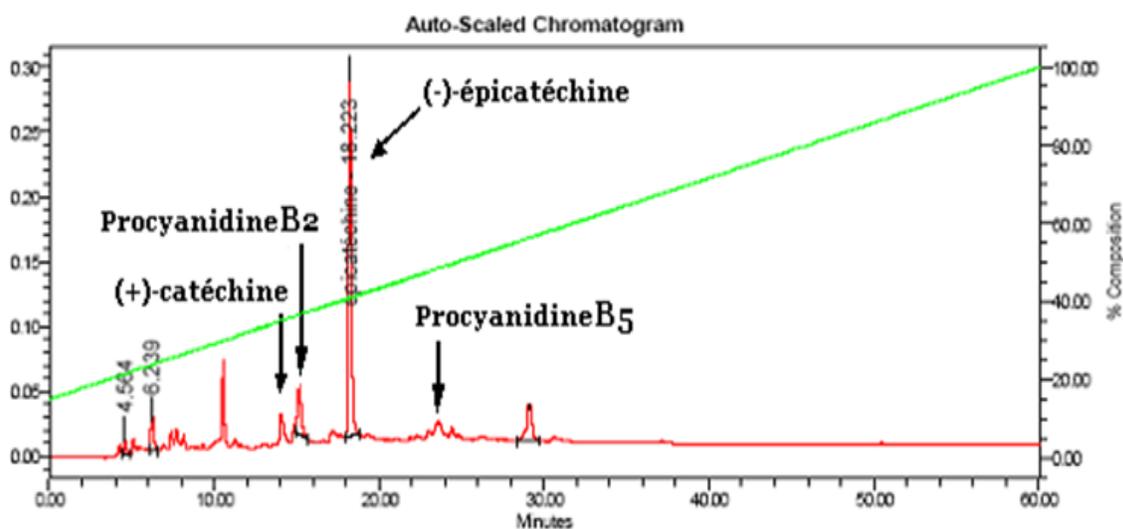
2.2. Extraction Spécifique de Polyphénols

L'extraction spécifique au moyen de solvants de polarité différentes a fourni un concentré de polyphénols (Cp) 1,37 g soit 0,45 % de rendement.

2.3. Analyse CLHP Phase Inverse C18

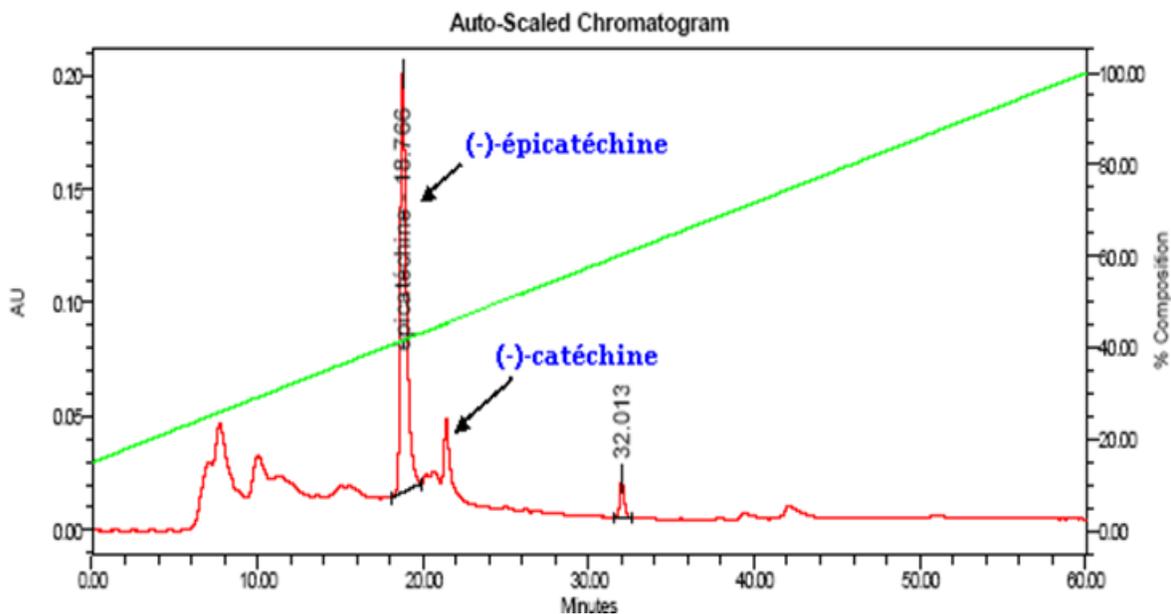
Le Cp obtenu précédemment a été analysé en CLHP (Figure 1). La (-)-épicatéchine, la (+)-catéchine et les procyanidines B2 et B5 ont été identifiés dans ce diagramme par co-injection des produits de références.

Figure 1: Chromatogramme CLHP de l'extrait brut de chocolat enrichi en polyphénols.



2.4. Analyse CLHP Sur Phase Chirale

L'analyse CLHP de Cp sur phase chirale (β -cyclodextrine) nous permet de confirmer la présence de la (-)-épicatéchine mais aussi celle de la (-)-catéchine, bien qu'en plus faible quantité. L'identification des produits a été obtenue par co-injection avec les quatre molécules de références que sont: la (-)-épicatéchine, la (+)-épicatéchine, la (+)-catéchine et la (-)-catéchine (Figure 2).

Figure 2: Chromatogramme CLHP sur phase chirale de Cp

Cette investigation nous a permis de mettre en évidence la présence dans le chocolat noir commercial (86 % de cacao) des composés phénoliques naturels suivants: la (-)-épicatéchine, la (+)-catéchine et les procyanidines B2 et B5 tous ces composés ont été déjà isolés des fèves de cacao [7]. La présence de (-)-catéchine issue de l'épimérisation de la (-)-épicatéchine naturelle lors des procédés de fabrication du chocolat (alcalinisation) est également observée. Il est à noter que pendant l'alcalinisation, le pH très alcalin autour de 11 favorise l'ouverture du cycle C en 2 puis une recyclisation qui peut avoir lieu soit sur la face *re*, soit sur la face *si* du même carbone C2 conduisant ainsi à la formation soit du produit natif de départ, soit de son épimère en C2 qui est ici (-)-catéchine.

3. Conclusion

Dans l'optique d'acquérir une meilleure connaissance du contenu polyphénolique du chocolat noir dû à d'éventuelle modification (différents procédés de l'industrie) dans le chocolat commercial, nous avons extrait de façon spécifique les polyphénols et par la suite les avons identifiés au moyen de CLHP. Ainsi, à partir de 300 g de chocolat noir commercial à 86% de cacao de la marque Côte d'or, nous avons obtenu un concentré de polyphénols (Cp) de masse 1,37 g soit un rendement de 0,45 %. L'analyse de Cp au moyen de CLHP (phase inverse) en mode analytique, suivi d'une co-injection avec quelques références nous a permis d'identifier la présence des composés phénoliques naturels telles que la (-)-épicatéchine, la (+)-catéchine et les procyanidines B2 et B5. Outre ces composés naturels observés, un composé non natif à savoir la (-)-catéchine a été identifié.

References

- [1] Bosson Antoine KOUAME Thèse de Doctorat de l'Université de Montpellier I – *Impact santé des procédés de préparation des aliments riches en polyphénols: chocolat, vin, thé* 2006, 128 p
- [2] Sanchez-Gonzalez, I., A. Jimenez-Escrig, and F. Saura-Calixto, *In vitro antioxidant activity of coffees brewed using different procedures (Italian, espresso and filter)*. Food Chem., 2005. **90**(1-2), 133-139 pp.
- [3] Vinson, J.A., J. Proch, and L. Zubik, *Phenol antioxidant quantity and quality in foods: cocoa, dark chocolate, and milk chocolate*. J. Agri. and Food Chem., 1999, **47**(12) 4821-4824 pp

- [4] Vinson, J.A. *Chocolate: A heart-healthy food/snack and a significant contributor of antioxidant in the US diet*. in *230th ACS National Meeting*. 2005. Washington, D.C.
- [5] Bearden, M.M., Rein D., Chevaux K. A., Carpentier D. R., Keen C. L. and Schmitz H., *Potential cardiovascular health benefits of procyanidins present in chocolate and cocoa*. *Am. Chem. Soc.*, 2000, **19**, 177-186 p
- [6] Tanaka, T., S. Watarumia, and I. Kouno. *Structure and synthesis of polyphenols-amino acid conjugate isolated from black tea*. in *XXII International Conference on polyphenols*. 2004. Helsinki, Finland.
- [7] Gotti, R., S. Furlanetto, S. Pinzauti, and V. Cavrini, *Analysis of catechin in Theobroma cacao beans by cyclodextrin-modified micellar electrokinetic chromatography*. *J. Chroma. A*, 2006. *Journal of Chromatography A*, 1112, 345–352 pp