

TP n° 04 : Dosage de vitamine C et de polyphénols totaux dans les fruits

• Introduction :

La vitamine C, aussi appelée acide ascorbique, est une vitamine hydrosoluble naturellement présente dans la plupart des fruits et légumes. Elle intervient dans d'importantes fonctions de l'organisme mais notre corps n'est pas capable de la produire ni de la stocker, c'est pourquoi il est indispensable de l'apporter à travers une consommation régulière d'aliments riches en vitamine C.

Les composés phénoliques (ou polyphénols) sont des molécules qui appartiennent au métabolisme secondaire. Les polyphénols constituent un groupe important de métabolites secondaires, environ 10 000 composés ont été caractérisés jusqu'à aujourd'hui. La plupart des molécules phénoliques sont formées à partir de deux acides aminés aromatiques la tyrosine et surtout de la phénylalanine.

Le vitamine C et les polyphénols sont des antioxydants qui aident à protéger les cellules contre les dommages causés par les radicaux libres.

• Objectifs du TP :

- Dosage de vitamine C dans l'extrait de tomate et dans l'extrait d'orange.
- Dosage des polyphénols totaux dans les différents extraits par la méthode de Folin-Ciocalteu.

• Protocole expérimental :

III.1. Préparation de l'extrait :

Presser une tomate (et une orange) et filtrer l'extrait à travers d'un papier filtre.

III.2. Dosage de vitamine C dans l'extrait de tomate et dans l'extrait d'orange :

• Principe :

La vitamine C contenue dans les échantillons est mise en présence d'une quantité de diiode (I_2) connue. Le diiode est le réactif en excès. Dans ces conditions la totalité de la vitamine C est oxydée (réactif limitant), puis on titre le diiode en excès restant par une solution titrante de thiosulfate ($S_2O_3^{2-}$).

Les différents couples rédox mis en jeu sont :

- $S_4O_6^{2-} / S_2O_3^{2-}$
- $C_6H_6O_6 / C_6H_8O_6$
- I_2 / I^-

• Matériel et produits utilisés :

- Burette graduée. - Solution de I_2 à $C_1=5,0 \cdot 10^{-3} \text{mol.L}^{-1}$
- Pipettes jaugées (5 et 10mL). - Solution de $Na_2S_2O_3$ à $C_2=5,0 \cdot 10^{-3} \text{mol.L}^{-1}$

- Agitateur magnétique. - Empois d'amidon
- 1 bécher de 100mL

• **Mode opératoire :**

- Prélever $V_0=5\text{mL}$ de l'extrait et les introduire dans l'erlenmeyer.
- Ajouter ensuite $V_1=10\text{mL}$ de solution de diiode et mélanger. Remplir la burette avec la solution de thiosulfate et ajuster au zéro.
- Attendre environ 5 minutes. Rajouter 4 gouttes d'empois d'amidon dans l'erlenmeyer puis procéder au titrage de l'excès de diiode par le thiosulfate.
- Arrêter l'ajout de thiosulfate dès que la solution se décolore. Noter alors le volume versé V_{2E} .

• **Questions :**

- 1- Ecrire les demi équations puis l'équation de la réaction entre la vitamine C et le diiode.
- 2- Faire de même pour la réaction entre le diiode et les ions thiosulfate (équation du titrage).
- 3- On appelle n_0 la quantité de vitamine C contenu dans les $V_0=5\text{mL}$ de l'extrait. On appelle n_1 la quantité de diiode introduite au départ. On appelle n_{2E} la quantité de thiosulfate nécessaire au dosage de l'excès de diiode.
 - Etablir la relation entre n_0 , n_1 et n_{2E} .
 - Etablir la relation entre C_0 , C_1 , C_2 , V_0 , V_1 et V_{2E} .
- 4- Calculer la concentration en vitamine C de chaque extrait, soit C_0 . En déduire la concentration massique (ou titre) t_0 (en mg.L^{-1}).

III.3. Dosage des polyphénols totaux dans les différents extraits par la méthode de Folin-Ciocalteu :

• **Principe :**

Le réactif de Folin-Ciocalteu est constitué par un mélange d'acide phosphotungstique ($\text{H}_3\text{PW}_{12}\text{O}_{40}$) et phosphomolibdique ($\text{H}_3\text{PMo}_{12}\text{O}_{40}$), il est réduit par les phénols en un mélange d'oxydes bleus de tungstène (W_8O_{23}) et de molybdène (Mo_8O_{23}). Cette coloration bleue dont l'intensité est proportionnelle aux taux de composés phénoliques présents dans le milieu donne un maximum d'absorption à 760 nm.

• **Matériel et Produits utilisés :**

- Erlenmeyer. - Ethanol.
- Entonnoir. - Eau distillée.
- Papier filtre. - Réactif de Folin-Ciocalteu.
- Pipettes. - Carbonate de sodium.

- Tube à essai.
- Acide gallique.
- Spectrophotomètre.

• **Mode opératoire :**

- Mettre 20 μ l de chaque extrait dans des tubes à essais ;
- Ajouter 1.58 ml d'eau distillée et 100 μ l de réactif de Folin-Ciocalteu dilué dans H₂O distillée (v/v) dans chaque tube ;
- Agiter vigoureusement puis laisser agir 3 min avant d'ajouter 300 μ l de carbonate de sodium à 7.5%.
- Après 2 heures d'incubation à température ambiante et à l'abri de la lumière, lire les absorbances à partir du spectrophotomètre UV-visible à 760 nm.
- Effectuer la même opération pour l'acide gallique à différentes concentrations en introduisant 20 μ l de ces dernières dans une série de tubes et ajout des autres réactifs.
- Le blanc est représenté par l'éthanol additionné du Folin-Ciocalteu, de l'eau distillée et de carbonate de sodium.
- Toutes les mesures sont réalisées en triplicata.
- Les concentrations des polyphénols totaux contenus dans les extraits sont calculées en se référant à la courbe d'étalonnage obtenue en utilisant l'acide gallique comme standard. Les résultats sont exprimés en mg équivalent en acide gallique/ g de matière fraîche.

• **Question :**

- 1- Etablir un tableau complet : N° de tube, Absorbance, concentration de l'acide gallique.
- 2- Tracer, sur papier millimétré, la courbe d'étalonnage : $A = f(\text{concentration de l'acide gallique/tube})$.
- 3- En déduire la concentration de polyphénols (en g/L) dans chaque extrait.