

Bioactivité et effet de matrice

Un aliment est un système physico-chimique bioactif

Hervé This

Une fois de plus, me voici en position de faire état de ma passion pour la chimie des aliments et du goût. Que les lecteurs de *L'Actualité Chimique* n'aient aucun doute : je le fais avec beaucoup de reconnaissance, et aussi de joie, car la rubrique (qui n'est pas une chronique qui me serait attribuée) est l'occasion de faire état de travaux. Toutefois, pour reprendre la phrase précédente, cette rubrique est une rubrique, et je ne suis pas parvenu à céder la place aux collègues, pourtant nombreux, de la communauté de la chimie des aliments et du goût. C'est donc un appel que je lance ici : si votre spécialité correspond à la chimie des aliments et du goût, n'hésitez pas à écrire pour la revue de notre communauté !

En attendant, permettez-moi de poser la question : qu'est-ce qu'un « aliment » ? Dans cette rubrique, on a précédemment observé qu'il existait une différence essentielle entre les « réactifs » (les ingrédients à partir desquels les aliments sont élaborés) et les « produits » (les « plats », les « mets », les « aliments ») [1] : nous consommons des ingrédients qui ont généralement fait l'objet d'une transformation, laquelle, même si elle ne semble être que « physique », modifie notablement le contenu en composés ayant des récepteurs dans l'appareil sensoriel ou nutritionnel [2-3]. Parfois les modifications ne sont que mineures, en termes de masse. Par exemple, quand on coupe une pomme (*figure 1*), seule la surface est modifiée en raison de la réaction des composés phénoliques et des enzymes polyphéloxydases libérées, mais ces mêmes réactions peuvent devenir prépondérantes : c'est le cas pour une julienne de carottes, en raison de la forte division du tissu végétal (filaments de quelques mm² de section) [4] ; or les modifications chimiques qui sont alors déclenchées peuvent changer considérablement le goût et la valeur nutritive des ingrédients ainsi transformés [5]. Toutefois, le cas le plus fréquent est celui des modifications de composition dues aux échanges de composés entre des tissus végétaux et leur environnement, que celui-ci soit une sauce ou la salive dans la bouche [6].

On le voit : cette longue introduction veut montrer que la différence entre ingrédients alimentaires (« culinaires ») et

aliments justifie que l'on accorde la plus grande importance aux transformations « culinaires »... qui font l'objet de la « gastronomie moléculaire ». Toutefois, l'attrait pour la bonne chère ne doit pas faire oublier que les aliments sont des produits « formulés », tout comme les médicaments (les principes actifs sont placés dans des gélules, des pastilles, des suppositoires, des comprimés...), les cosmétiques (certaines crèmes hydratantes modernes, par exemple, contiennent des nanosphères à couches concentriques qui dissolvent des composés actifs), les vernis, peintures, etc. Tous ces produits sont des systèmes physico-chimiques composés de plusieurs parties, chaque partie étant le plus souvent de nature colloïdale [7]. Ces systèmes sont « bioactifs », ce qui signifie qu'ils échangent avec leur environnement des composés ayant des récepteurs biologiques, soit visuels, soit sapictifs, soit olfactifs, soit trigéminaux...

Les bioactivités absolues

Bioactivité ? Si j'ai bien compris la nature de la science, un concept est d'abord une quantité ! La température est une mesure, tout comme la chaleur, le désordre, la complexité... Pourquoi en serait-il différemment de la bioactivité ? Commençons par observer que l'effet des composés (luttons contre la confusion permanente, dans les discours publics, entre composé et molécule !) se mesure. Comment ? Par exemple par la quantité de ces composés qui peuvent interagir avec des récepteurs. Toutefois, la présence dans un aliment de composés qui peuvent agir n'est pas confondue avec la présence de composés qui agissent : cette observation conduit à distinguer une « bioactivité potentielle » (la totalité des composés qui peuvent agir) et une bioactivité actuelle (la quantité de composés qui agissent effectivement) [8]. En toxicologie, la différence est essentielle : un poison qui serait inclus dans une « boîte » bien close ne serait pas un poison actuel, mais seulement un poison potentiel, ce qui revient à dire que le risque n'est pas confondu avec le danger.

Dans un premier temps donc, il semble utile de considérer ces deux notions de façon « absolue », sans considération pour la dynamique de libération. Concernant la bioactivité absolue, commençons par distinguer une « bioactivité absolue potentielle » (B_p) et une « bioactivité absolue actuelle » (B_a). La bioactivité potentielle, pour commencer, correspond à la quantité (masse) de composés bioactifs présente dans l'aliment, que cette quantité soit ou non libérée dans l'environnement de l'aliment (*figure 2*).

Si ces définitions sont utiles, elles ne sont que le début d'une étude de « l'effet de matrice » [9], à savoir l'influence de la structure physico-chimique de l'aliment (ou du produit formulé en général) sur la bioactivité. Cette structure, avec une influence physique (par exemple une compartimentation modifie la diffusion des composés bioactifs) et une influence



Figure 1 - Le brunissement d'une pomme coupée est une preuve que même les transformations physiques s'accompagnent de modifications chimiques.

Libérabilité :	$l(t) = \frac{dm(t)}{dt}$
Bioactivité dynamique :	$b(t) = \int_0^t l(t) dt$
Effet de matrice dynamique :	$e(t) = \frac{f(t) - l(t)}{f(t)}$
Libérabilité sans matrice (diffusion moléculaire simple, dans l'environnement considéré) :	$f(t) = \iint j(\vec{r}) \cdot d\vec{s}$

Figure 2 - La bioactivité et l'effet de matrice dynamique.

chimique (par exemple un soluté dissous dans la phase liquide d'un gel peut réagir avec le réseau solide du gel), peut donc être caractérisée par des « effets de matrice physique » ou des « effets de matrice chimique ». On observera que ces deux effets peuvent tout aussi bien être associés à des ralentissements de la libération des composés bioactifs des aliments qu'à des accélérations : la présence du sel dans un potage favorise le relargage des composés odorants, ce qui augmente le « goût » du mets. Et on comprend que la gastronomie moléculaire soit particulièrement intéressée par la relation entre les transformations culinaires et les modifications de bioactivité des systèmes transformés.

Comment décrire quantitativement les effets de matrice ? Partons du cas simple d'un système S qui contient une masse m d'un composé bioactif C. Si les molécules du composé C sont toutes piégées dans la matrice du système S, alors la bioactivité absolue actuelle est nulle : $B_a = 0$. À l'inverse, si les molécules de C sont libérées, la bioactivité absolue actuelle est égale à la bioactivité absolue potentielle. L'effet de matrice absolu E doit alors être défini de telle façon que $E = 0$ quand les bioactivités actuelle et potentielle sont égales, et $E = 1$ quand la bioactivité actuelle est nulle. Afin d'obtenir un nombre sans dimension, on peut donc prendre la définition très simple :

$$E = (B_p - B_a)/B_p$$

Pour terminer dans cette direction, observons que la bioactivité absolue actuelle a des relations avec la biodisponibilité, avec laquelle elle ne se confond pas. En pharmacie, la biodisponibilité décrit la propriété pharmacocinétique des drogues et, notamment, la quantité de composé qui peut atteindre le sang, une mesure de la vitesse d'absorption et de la quantité de drogue absorbée. En nutrition, c'est la proportion d'un nutriment qui est absorbée par l'organisme. La biodisponibilité absolue est la quantité qui caractérise le transfert du composé considéré vers le sang, tandis que la biodisponibilité relative mesure la quantité et la vitesse de transfert d'une drogue vers le sang. Pour l'aliment, en toute généralité (le cas de la nutrition est particulier : il s'apparente à la pharmacie), le passage vers le sang est secondaire, et l'on propose ici de considérer plutôt ce qui sort de l'aliment, puisque la bioactivité s'exerce en amont, sur les récepteurs des diverses modalités sensorielles qui composent la sensation synthétique qu'est le goût.

Les bioactivités dynamiques

Souvent la description de la quantité totale de composé bioactif libérée est insuffisante : la question de la galénique, en pharmacie, est bien d'obtenir des libérations ralenties de principe actif, afin que la concentration en composé libéré dans l'organisme ne devienne pas supérieure à une dose nuisible. Pour l'aliment, la question est la même, avec peut-être le même type d'effet. Pour l'appareil sensoriel, il s'agit

de donner une sensation durable (longueur en bouche), et même si la formulation des aliments n'a pas suffisamment considéré les cinétiques de libération, la réponse à la question détermine la qualité des aliments.

Pour décrire la bioactivité dynamique, considérons l'aliment (système S), objet de forme complexe, dans un environnement M. Soit t le temps compté après une origine que nous prenons comme la mise en contact de S et de M (le plus souvent, l'immersion de S dans M). On définit un débit massique, ou flux de masse du composé par unité de temps à travers la surface de l'aliment, en sommant la masse sortie par tous les éléments de surface avec lesquels on décompose la surface.

Avec cet outil, on peut considérer la quantité totale libérée (bioactivité absolue actuelle) comme l'intégrale entre les temps 0 et $+\infty$ de la « libérabilité » (ou vitesse de libération) $dm(t)/dt$.

Cette définition conduit à l'examen de la bioactivité dynamique : quand l'effet de matrice est physique (pas de modification moléculaire des composés bioactifs), une « bioactivité dynamique » peut être définie pour chaque composé bioactif ; cette fonction $b(t)$ est égale à l'intégrale entre 0 et t de la libérabilité.

Observons que, avec cette définition, la bioactivité dynamique pour les temps infinis est égale à la bioactivité absolue actuelle ; comme nous l'avons vu, cette valeur est inférieure à celle de la bioactivité absolue potentielle, m .

Si la bioactivité dynamique décrit la libération du composé C au cours du temps, l'effet de matrice dynamique $e(t)$ doit décrire la variation de vitesse de libération – due à la matrice – du composé C. Comme précédemment, un nombre sans dimension doit être introduit, et une référence s'impose : il semble justifié de considérer que l'effet de matrice dynamique est nul si la matrice est inactive (ou aucune matrice présente), ce qui conduit à comparer la libérabilité $l(t)$ à une libérabilité sans matrice $f(t)$, soit au temps t , soit quand t tend vers $+\infty$. On privilégie de diviser l'écart à la « libération sans matrice » (on considère que le composé C diffuse librement dans un milieu analogue à l'environnement considéré) par cette diffusion pure, au même temps, parce que si la solution de diviser par la valeur au temps $+\infty$ était adoptée, les variations aux temps courts seraient artificiellement réduites. Autrement dit, l'effet de matrice dynamique est alors défini par :

$$e(t) = (f(t) - l(t))/f(t)$$

Évidemment, pour déterminer cette fonction, on doit considérer un objet de forme comparable au système S.

Observons que si toutes les bioactivités dynamiques $b(t)$ de C avaient la même forme, par exemple $p.m.k.exp(-kt)$, p étant égal au rapport B_a/B_p , alors le paramètre k pourrait mesurer la vitesse de libération, et il pourrait alors être utilisé comme mesure de l'effet de matrice dynamique. Cependant, en général, la bioactivité dynamique est plus complexe, avec par exemple un premier régime en \sqrt{t} suivi aux temps longs par une loi en $exp(-kt)$ [10].

L'effet de matrice chimique

L'effet de matrice chimique décrit comment la matrice influence les transformations moléculaires qui ont lieu lors des transformations culinaires (le traitement thermique, ou cuisson, étant un cas particulier important de telles transformations). Pour introduire un paramètre d'effet de matrice chimique, on considère maintenant un composé bioactif C, qui est modifié lors de sa libération.

Si l'effet de matrice absolu E décrit également bien les effets de matrice physique et chimique, l'effet de matrice dynamique précédemment décrit n'indique qu'une influence de la matrice sur une libération du composé, sans tenir compte de l'effet des transformations chimiques.

Pour introduire un tel paramètre, on doit faire des hypothèses sur l'indépendance des composés considérés et de leurs produits. Cette fois, la libération du composé bioactif C est modifiée (libérabilité $l'(t)$) par une réaction, qui fait disparaître ou apparaître une quantité $r(t)$ (par unité de temps) (figure 3).

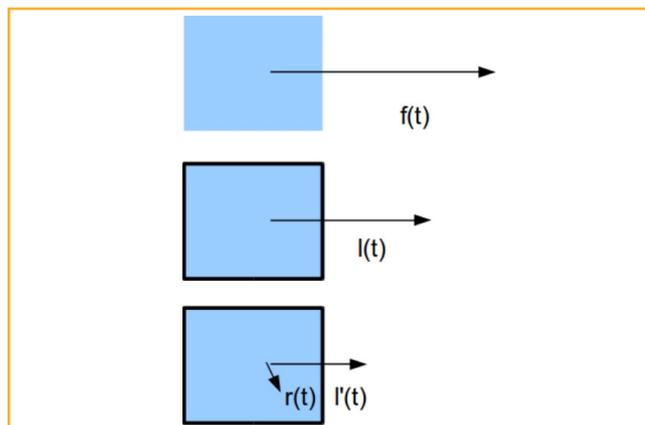


Figure 3 - On définit un effet de matrice en comparant la libération des solutés quand ils sont libres (en haut) et quand ils sont dans une matrice (au milieu). Avec des modifications chimiques (en bas), la quantité libérée est encore modifiée, ce qui conduit à la définition d'un effet de matrice chimique.

On écrit donc : $l'(t) = l(t) - r(t)$.

Ici encore, on introduit un nombre sans dimension $e_c(t)$, effet de matrice dynamique chimique, qui décrit l'influence spécifique des réactions, et que l'on définit par : $e_c(t) = r(t)/l(t)$.

On voit que cet effet de matrice chimique dynamique est égal à 0 si la réaction n'a pas lieu, et qu'il est égal à 1 si tout le composé bioactif C est transformé dans la matrice.

Que faire de ces définitions ?

À quoi bon ces traductions en équations ? D'abord à reconnaître un cadre général, et identifier des libérabilités et des effets de matrice que l'on pourra ensuite corrélérer avec la microstructure. Par exemple, avec plusieurs collègues – Anne Cazor, Audrey Tardieu, Marcia B. France et Guillaume Pichot –, nous avons exploré ce schéma dans le cas du traitement thermique d'échantillons de tissus végétaux en solution aqueuse. Notamment, nous avons exploré des « bouillons de carotte », où les tissus végétaux sont des segments de racine de *Daucus carotta* L. Pour ce système, nous avons analysé par spectroscopie de résonance magnétique nucléaire les solutions aqueuses et déterminé leur composition jusqu'au troisième ordre.

Pour les trois saccharides principaux de ces systèmes, que sont le glucose, le fructose et le saccharose, les variations sont indiquées sur la figure 4 [11]. Dans un tel cas, le modèle théorique est plus complexe qu'un simple gel, puisque le tissu végétal est composé de tissu conducteur (xylème, phloème) et de tissu parenchymateux, comme dans le modèle de la figure 5 [12].

On peut simplifier un tel modèle en considérant deux compartiments. En faisant l'hypothèse d'une migration donnée seulement par des coefficients de transfert de masse de type

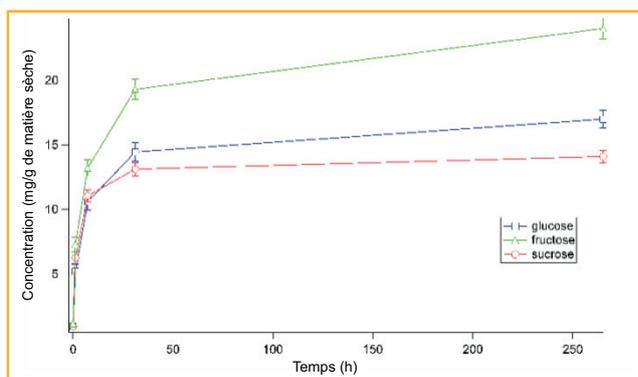


Figure 4 - Accumulation de glucose, fructose et saccharose dans une solution aqueuse où des échantillons de tissus végétaux (racines de *Daucus carotta* L.) sont traités thermiquement.

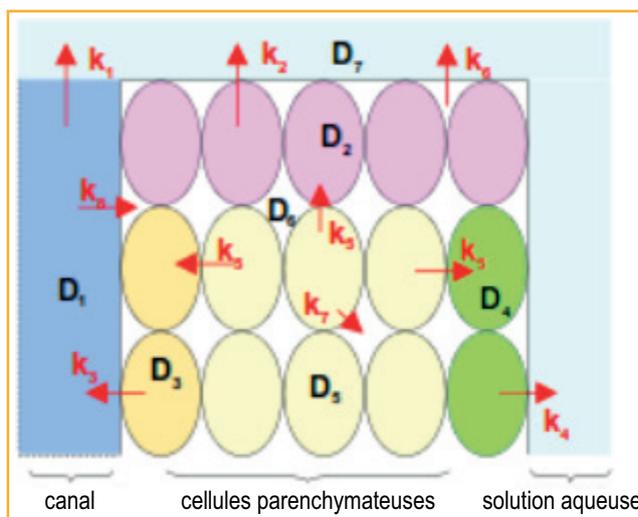


Figure 5 - Modèle de tissu végétal pouvant échanger des composés avec son environnement.

k_{on} (quand le tissu végétal a une masse bien inférieure à celle de la solution aqueuse) [13], on peut modéliser la sortie d'un composé bioactif par un des six profils de la figure 6, selon que la quantité de composé bioactif est forte ou faible dans le tissu conducteur, que l'extraction est plus rapide ou plus lente que pour le tissu parenchymateux (cas limites).

À partir de ces profils, on peut supposer que le cas 3 est improbable. Surtout, un ajustement des courbes expérimentales donne les constantes du modèle. Par exemple, en considérant la matière sèche totale extraite, on calcule des constantes de temps de 0,048 et 0,97, pour des quantités respectives de 32 et 40. Les mécanismes évoqués font penser que les premières valeurs correspondent aux tissus conducteurs, mais cela reste à établir.

Diffusions

Plus généralement, et formellement, considérons un système bioactif S , d'où un composé C sortirait par diffusion. La première loi de Fick [14] stipule que, dans un milieu continu et en présence d'un gradient de concentration, la migration des molécules d'un soluté (composé bioactif dans le système bioactif) due au mouvement moléculaire d'origine thermique s'effectue des régions de fort potentiel chimique (forte concentration) vers les régions de potentiel chimique inférieur (faible concentration) [15]. La force motrice de la diffusion est un gradient de concentration (mieux : un gradient de potentiel chimique).

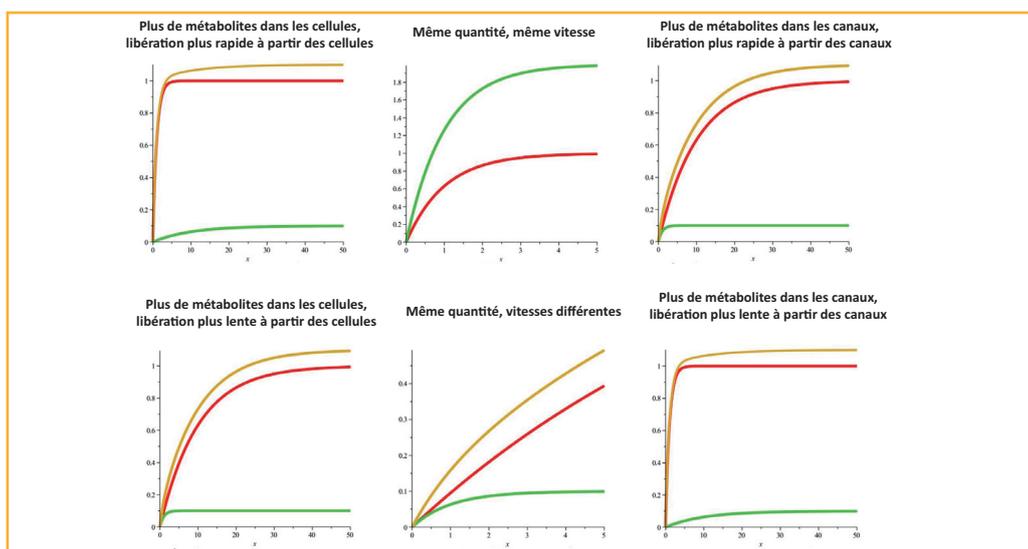


Figure 6 - Les diverses possibilités de libération pour un système à deux compartiments, tel le tissu végétal, composé de tissu parenchymateux et de tissus conducteurs (xylème et phloème).

En vert : canaux ; en rouge : tissu parenchymateux ; en orange : somme des deux, hormis pour les courbes « même quantité, même vitesse » où canaux et tissu parenchymateux sont en rouge et la somme des deux en vert.

La seconde loi de Fick stipule que la vitesse à laquelle ce phénomène a lieu en un point particulier de l'espace, pour un système binaire dilué (un soluté dans un fort volume de solvant) est proportionnelle à la variation de la dérivée du gradient de concentration [16].

La diffusion moléculaire, de type fickéenne, est largement utilisée comme modèle général de transport de matière dans des systèmes complexes. Elle a l'avantage que l'affichage des données expérimentales sous forme logarithmique en fonction du temps permet de déterminer un coefficient de diffusion efficace D_{eff} à partir d'une partie droite de la courbe [17]. Le paramètre D_{eff} (qui est un coefficient de transport de matière) regroupe toutes les formes possibles de transport de matière intervenant lors du phénomène, et pas seulement la diffusion. En revanche, cette méthode a l'inconvénient qu'elle ne conduit pas à analyser les mécanismes des phénomènes [18]. En contrepartie, les valeurs de D_{eff} peuvent être calculées à partir de la structure d'un solide composé et des valeurs individuelles de la diffusivité, dans les phases constituant ce solide [19].

Les aliments étant des systèmes dispersés complexes, multiphasiques, il n'est pas étonnant qu'une diffusivité efficace soit très difficile à trouver. On la détermine alors empiriquement à partir de corrélation entre la concentration, le temps et la température. Une analyse simple utilisée pour la mise en œuvre du modèle de diffusion fickéenne consiste à vérifier si la variable de réponse expérimentale (la quantité totale de matière transportée) varie proportionnellement à \sqrt{t} [20]. Cette relation est notamment à l'origine de l'application de l'équation de diffusion pour la migration de la matière grasse dans le chocolat. La relation en racine carrée du temps résulte de la résolution analytique de la seconde loi de Fick, exprimée en termes du rapport $m(t)/m(+\infty)$, où $m(+\infty)$ est la masse transportée une fois que l'équilibre est atteint.

Considérons par exemple une feuille plane, une répartition constante de soluté dans la feuille, et la condition selon laquelle la concentration en soluté est réduite à 0 des deux côtés de la feuille au temps $t = 0$ (solvant pur) [21]. Même dans ce cas simple, la solution s'exprime comme une série complexe qui peut se représenter graphiquement. Quand on donne le rapport $m(t)/m(+\infty)$ en fonction de $\sqrt{(D_{\text{eff}}t/l^2)}$, où l est une longueur caractéristique, le résultat est une courbe (pour

les temps courts, tels que le rapport de masse soit $< 0,62$) qui s'apparente à une droite :

$$m(t)/m(+\infty) = \sqrt{[(4\pi D_{\text{eff}}/l^2)t]}$$

Un corollaire, hélas... mais des possibilités

Supposons un système S contenant un composé bio-actif C dans deux « compartiments », deux « environnements internes », caractérisés par des D_{eff} différents D1 et D2. Si les libérations par ces deux compartiments sont indépendantes, la loi de sortie du système aux temps courts peut être écrite sous la forme d'un produit, avec un terme indépendant du temps, et l'autre

terme égal à \sqrt{t} . Autrement dit, une étude des temps courts ne permettra pas de distinguer deux cinétiques de sortie.

Plus généralement, si la loi de sortie est du type loi de puissance avec le même exposant, les deux régimes ne seront pas discernables. En revanche, avec deux exposants différents, ou bien avec une loi exponentielle, les régimes sont discernables. On voit ainsi que le cas précédent, celui de la sortie de composés par diffusion ou par capillarité, est particulièrement malheureux, et que l'étude de la bioactivité, partant de l'effet de matrice, doit imposer d'autres moyens que l'étude de la cinétique de libération des composés bioactifs... sauf si les interactions des composés bioactifs et de la matrice permettent de considérer des lois de libération différentes de celles qui caractérisent la diffusion ou la capillarité.

Pour autant, la connaissance des temps courts n'est pas la seule qui compte, fort heureusement, et l'ensemble de la courbe de libération peut être exploité, en vue d'élucider les mécanismes de la bioactivité dans les cas expérimentaux explorés. Trouverons-nous, en creusant cette question, des comportements inédits ?

Références

- [1] This H., Dix ans de gastronomie moléculaire, *L'Act. Chim.*, **2011**, 353-354, p. 111.
- [2] Seybold C., Fröhlich K., Bitsch R., Otto K., Böhm V., Changes in contents of carotenoids and vitamin E during tomato processing, *J. Agric. Food Chem.*, **2004**, p. 7005.
- [3] Gennaro L., Leonardi C., Esposito F., Salucci M., Maiani G., Quaglia G., Fogliano V., Flavonoid and carbohydrate contents in Tropea red onions: Effects of homelike peeling and storage, *J. Agric. Food Chem.*, **2002**, 50, p. 1904.
- [4] Danjou J.-L., Masson Y., *La cuisine professionnelle*, Jacques Lanore, Paris, **2003**.
- [5] *Les polyphénols en alimentaire*, P. Sarni-Manchado, V. Cheyrier (eds), Tec et Doc, Lavoisier, **2006**.
- [6] Scholten E., Peters M., The edible cocktail: the effect of sugar and alcohol impregnation on the crunchiness of fruit, accepté dans *Flavour*.
- [7] This H., Formal descriptions for formulation, *Int. J. Pharmaceut.*, **2007**, 344(1-2), p. 4.
- [8] This H., Solutions are solutions, and gels are almost solutions, *Pure Appl. Chem.*, **2012**, <http://dx.doi.org/10.1351/PAC-CON-12-01-01>.
- [9] Boyer J., Liu R.H., Apple phytochemicals and their health benefits, *Nutr. J.*, **2004**, 3, p. 5.
- [10] Aguilera J.M., Michel M., Mayor G., Fat migration in chocolate: diffusion or capillary flow in a particulate solid? A hypothesis paper, *J. Food Science*, **2004**, 69(7), p. 167.
- [11] Cazor A., Deborde C., Moing A., Rolin D., This H., Sucrose, glucose and fructose extraction in aqueous carrot root extracts prepared at different

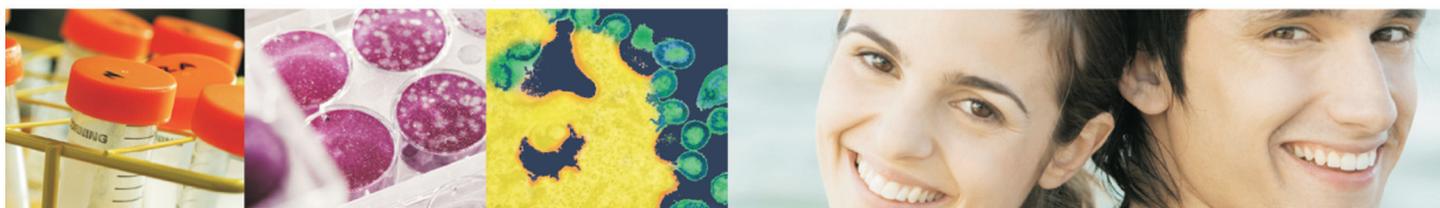
- temperatures by means of direct NMR measurements, *J. Agric. Food Chem.*, **2006**, *54*, p. 4681.
- [12] Tardieu A., de Man W., This H., Using one dimensional (1D) and two dimensional (2D) quantitative proton (1H) nuclear magnetic resonance spectroscopy (q NMR) for the identification and quantification of taste compounds in raw onions (*Allium cepa* L.) bulbs and in aqueous solutions where onion tissues are soaked, *Analytical & Bioanalytical Chemistry*, **2010**, *398(7)*, p. 3139.
- [13] Kördel W. *et al.*, The reference-matrix concept applied to chemical testing of soils, *Trends in Analytical Chemistry*, **2009**, *28(1)*, p. 51.
- [14] Cussler E.L., *Diffusion*, Cambridge University Press, **1997**.
- [15] McQuarrie D.A., Simon J.D., *Chimie physique*, Dunod, **2000**.
- [16] Efron N., Pearson R., Centenary celebration of Fick's Eine Contactbrille, *Arch. of Ophthalmol.*, **1988**, *106*, p. 1370.
- [17] Schwartzberg H.G., Leaching-organic materials, *Handbook of Separation Process Technology*, R.W. Rousseau (ed), Wiley, **1987**, p. 540.
- [18] Aguilera J.M., Stanley W., *Microstructural Principles of Food Processing and Engineering*, 2nd ed., Aspen Publishers, **1999**.
- [19] Cussler EW., *Diffusion: Mass transfer in fluid systems*, 2nd ed., Cambridge University Press, **1997**.
- [20] Geurtz T.G., Oortwijn H., Transport phenomena in butter, in relation to its structure, *Netherl. Milk Dairy J.*, **1975**, *29*, p. 253.
- [21] Cai L.-W., Weitsman Y., Non-Fickian moisture diffusion in polymeric composites, *J. Comp. Mat.*, **1994**, *28*, p. 130.



Hervé This

est professeur consultant à AgroParisTech, chimiste à l'INRA*, directeur scientifique de la Fondation « Science & Culture Alimentaire » (Académie des sciences) et secrétaire de la section VIII de l'Académie d'agriculture de France.

* Équipe de gastronomie moléculaire, UMR 1145, INRA/Institut des sciences et industries du vivant et de l'environnement (AgroParisTech), 16 rue Claude Bernard, F-75005 Paris.
Courriel : herve.this@paris.inra.fr
<http://sites.google.com/site/travauxdehervethis>



IDENIX

Le siège du groupe Idenix est situé à Cambridge, Massachusetts, USA.
Idenix a également une unité de Recherche et Développement à Montpellier, France