

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou



Faculté des Sciences Biologiques et des Sciences Agronomiques
Département de Biochimie-Microbiologie

Mémoire de fin d'études

En vue de l'obtention du Diplôme de Master en Sciences Biologiques
Option : Biochimie Appliquée

Thème

**Synthèse bibliographique sur l'effet de l'interaction
polyphénols-protéines sur l'activité antioxydante**

Réalisé par :

M^{elle} BOURENNANI Sarah

M^{elle} MOKRANI Celia

Soutenu le : 19 / 11 / 2020 devant le jury composé de :

Président : M^r HOUALI K.

Professeur à l'UMMTO

Encadreur : M^r MOUALEK I.

Maître de Conférences B à l'UMMTO

Co-encadreur : M^{me} BENARABE K.

Assistante au CHU de Tizi-Ouzou

Examinatrice : M^{me} IRATNI-AICHE G.

Maître de Conférences B à l'UMMTO

Année universitaire : 2019 / 2020



Remerciements

Avant tout, nous tenons à remercier le bon Dieu tout puissant de nous avoir donné la santé, la volonté, le courage et la patience pour réaliser ce travail.

Nous tenons à exprimer nos vifs remerciements à toutes les personnes qui nous ont aidé et soutenu en particulier :

*Notre promoteur **Monsieur MOUALEK I. Maître de Conférences B** à l'**UMMTO** pour son encadrement de qualité, son aide, ses précieux conseils et ses orientations tout au long de ce travail.*

***Monsieur HOUALI K. Professeur** à l'**UMMTO** d'avoir accepté de présider le jury.*

***Madame IRATNI-AICHE G. Maître de Conférences B** à l'**UMMTO** d'avoir accepté d'examiner ce travail.*

Nos remerciements vont également à tout(e)s les enseignant(e)s de la Faculté des Sciences Biologiques et des Sciences Agronomiques qui nous ont suivis durant notre cursus universitaire.

Nos remerciements sont aussi destinés à nos familles qui nous ont soutenu avec patience et amour, tout en mettant en œuvre le nécessaire afin d'atteindre un tel stade de réussite.

Enfin toute notre sympathie et nos remerciements vont également à tous ceux et celles, qui de près ou de loin, ont contribué à la réalisation de ce mémoire.





Dédicaces

Je dédie ce modeste travail :

A mes très chers parents, pour tous leurs sacrifices, leur amour, leur bienveillance, leur soutien et leurs encouragements tout au long de mes études. Que Dieu leur procure une bonne santé et une longue vie pleine de bonheur et de joie.

*A mon cher oncle **El Hadj Madjid** et sa femme **El Hadja Farida**, pour leurs prières et leurs encouragements.*

*A mes chers frères **Aziz** et **Azzedine**, pour leur soutien tout au long de ce manuscrit.*

*A ma chère sœur aînée **Messaouda** et son mari **Salah**, pour leurs précieux conseils.*

*A ma chère petite sœur **Asma**, pour son encouragement.*

A la mémoire de mes chers grands-parents, que Dieu les accueille dans son vaste paradis.

*A mon binôme **Celia**.*

A mes ami(e)s et à toute la promotion de Biochimie Appliquée de l'année 2019/2020.

*A une personne qui m'est très chère **Y. Salim**.*



SARAH



Dédicaces

Je dédie ce modeste travail :

*A **Dieu** le tout puissant qui m'a accordé la vie, la lumière et sa présence dans mon chemin. Sans son aide ce travail n'aurait pas vu le jour. Seigneur ! Que ce travail soit témoignage de ma reconnaissance et de mon amour sincère et fidèle pour toi.*

*En hommage et à la mémoire de mes chers grands-parents « **Salem** et **Malha** », sans eux je ne serais pas arrivée jusque-là, que Dieu les accueille dans son vaste paradis.*

*A mes très chères tantes « **Nadia** et **Nassira** », affables, honorables et aimables, qui n'ont pas cessé de m'encourager et de prier pour moi. Ce travail est le fruit de vos sacrifices que vous avez consentis pour mon éducation et ma formation. Je vous souhaite une longue vie.*

*A mes chers parents « **Hamid** et **Nouara** », que Dieu vous ait en sa sainte miséricorde.*

*A mes chères sœurs « **Nacima**, **Dalila**, **Lydia**, **Lisa** et **Djouher** », leurs maris et leurs enfants.*

*A mon cher frère « **Ramdane** », sa femme « **Nissa** » et leur fils.*

*A mon binôme « **Sarah** ».*

A mes ami(e)s et à toute la promotion de Biochimie Appliquée de l'année 2019/2020.

A tout(e)s mes enseignant(e)s de l'Université de Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou.



CELIA

Table des matières

Table des matières

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction 01

Chapitre I : Généralités sur les composés phénoliques

I.1. Définition et structure 03

I.2. Classification..... 04

I.2.1. Les formes simples..... 04

I.2.1.1. Les acides phénoliques 04

I.2.1.2. Les flavonoïdes..... 07

I.2.2. Les formes complexes 09

I.2.2.1. Les tanins 09

I.2.2.2. Les lignanes et les lignines 10

I.3. Localisation et répartition cellulaire et tissulaire dans les différents organes de la plante 11

I.4. Biosynthèse des polyphénols 11

I.5. Propriétés physico-chimiques des polyphénols 12

I.6. Principales sources alimentaires 12

I.7. Biodisponibilité des polyphénols 14

I.8. Rôles des polyphénols 16

I.9. Activité antioxydante des polyphénols 18

I.9.1. Mécanismes antioxydants des polyphénols 19

I.9.2. Propriété pro-oxydante des polyphénols 21

Chapitre II : Interactions polyphénols-protéines

II.1. Généralités sur les protéines..... 22

II.2. Interactions polyphénols-protéines..... 23

II.2.1. Types d'interactions 24

II.2.1.1. Interactions réversibles polyphénols-protéines 24

II.2.1.1.1. Différentes liaisons intervenant dans la complexation réversible 25

II.2.1.1.2. Principe de la complexation réversible 26

II.2.1.1.3. Modèles d'interactions réversibles polyphénols-protéines..... 27

II.2.1.1.3.1. Interactions des polyphénols avec les protéines salivaires	27
II.2.1.1.3.2. Interactions des polyphénols avec les protéines plasmatiques	28
II.2.1.1.3.3. Interactions des polyphénols du thé avec les protéines du lait	29
II.2.1.2. Interactions irréversibles polyphénols-protéines.....	29
II.2.1.2.1. Liaisons impliquées dans la complexation irréversible	30
II.2.1.2.2. Principes de la complexation irréversible	30
II.2.1.2.2.1. Formation et réactivité des <i>ortho</i> -quinones.....	30
II.2.1.2.2.2. Formation et réactivité des carbocations	32
II.2.1.2.3. Modèle d'interaction irréversible : protéines végétales et polyphénols.....	32
II.2.2. Paramètres influençant l'interaction polyphénols-protéines.....	32
II.2.2.1. Paramètres intrinsèques	32
II.2.2.1.1. Paramètres liés à la protéine	32
II.2.2.1.2. Paramètres liés au polyphénol	33
II.2.2.2. Paramètres extrinsèques	34
II.3. Techniques utilisées dans l'analyse des interactions polyphénols-protéines.....	37
Chapitre III : Influence de l'interaction polyphénols-protéines sur le pouvoir antioxydant	
III.1. Effets des interactions polyphénols-protéines sur les polyphénols	39
III.1.1. Effets sur la biodisponibilité.....	39
III.1.1.1. Effets sur la biodisponibilité <i>in vivo</i>	39
III.1.1.2. Effets sur la biodisponibilité <i>in vitro</i>	40
III.1.2. Effets sur l'activité antioxydante des polyphénols	41
III.1.2.1. Effets sur l'activité antioxydante des polyphénols dans l'aliment.....	41
III.1.2.1.1. Cas du brunissement enzymatique des fruits.....	42
III.1.2.1.2. Cas de transformation des fèves de cacao.....	42
III.1.2.2. Effets sur l'activité antioxydante des polyphénols dans l'organisme humain.....	42
III.1.2.2.1. Au niveau buccal	43
III.1.2.2.2. Au niveau gastro-intestinal	43
III.1.2.2.3. Au niveau sanguin.....	43
III.2. Effets des interactions polyphénols-protéines sur les protéines.....	45

III.2.1. Effets sur la structure.....	45
III.2.2. Effets sur l'activité biologique	46
III.2.2.1. Effets sur l'activité enzymatique	46
III.2.2.2. Effets sur l'activité antioxydante	47
III.2.3. Effets sur la valeur nutritionnelle et la digestibilité.....	48
III.2.4. Effets sur les propriétés fonctionnelles	48
III.3. Applications potentielles des conjugués polyphénols-protéines.....	50
III.3.1. Emulsions.....	50
III.3.2. Films à base de protéines	50
III.3.3. Gels protéinés	50
III.3.4. Systèmes d'administration basés sur les conjugués	51
Conclusion et perspectives	52
Références bibliographiques	
Résumé	
Abstract	

Liste des abréviations

ABTS	Acide 2,2'-azino-bis (3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique).
ADN	Acide désoxyribonucléique.
BSA	Sérum albumine bovine.
Da	Dalton.
ERN	Espèces réactives de l'azote.
ERO	Espèces réactives de l'oxygène.
Flav-OH	Flavonoïde.
Flav-O[•]	Radical flavonoxy.
FRAP	Pouvoir antioxydant réducteur de l'ion ferrique.
g	Gramme.
HSA	Sérum albumine humaine.
KDa	Kilodalton.
mg	Milligramme.
ml	Millilitre.
nm	Nanomètre.
O₂^{•-}	Anion superoxyde.
OH	Groupement hydroxyle.
OH[•]	Radical hydroxyle.
PF	Poids frais.
pH	Potentiel d'hydrogène.
pH_i	Potentiel d'hydrogène isoélectrique.
PK_a	Constante d'acidité.
PP	Polyphénols.
PPO	Polyphénoloxydases.
PRPs	Protéines riches en proline.
RLs	Radicaux libres.
SH	Groupement thiol.
SOD	Superoxyde dismutase.
UV	Ultraviolet.
μM	Micromolaire.
%	Pourcentage.

Liste des figures

Figure	Titre	Page
1	Structure du noyau phénolique.	03
2	Structure de l'acide hydroxybenzoïque et ses principaux dérivés.	05
3	Structure de l'acide hydroxycinnamique et ses principaux dérivés.	05
4	Structure d'une molécule de coumarine.	06
5	Structure chimique du resvératrol.	06
6	Structure de base d'un flavonoïde.	07
7	Structure générale d'un tanin hydrolysable.	10
8	Structure générale d'un tanin condensé.	10
9	Schéma général de la biodisponibilité des polyphénols.	15
10	Caractéristiques structurales des flavonoïdes avec une forte activité de piégeage des radicaux.	20
11	Réduction des ERO (R [•]) par les flavonoïdes.	20
12	Sites de liaisons aux ions métalliques.	21
13	Structures secondaires d'une protéine.	23
14	Liaisons non covalentes mises en jeu dans l'interaction polyphénols-protéines.	25
15	Mécanisme réactionnel polyphénols-protéines, (A) à faible concentration en protéine, (B) à forte concentration en protéine.	27
16	Réaction d'oxydation des composés phénoliques par des polyphénoloxydases.	31
17	Réaction des diphénols avec des thiols libres dans la chaîne latérale des protéines.	31
18	Effet des polysaccharides sur l'interaction tanins-protéines.	37

Liste des tableaux

Tableau	Titre	Page
I	Présentation des principales classes de flavonoïdes.	08
II	Tableau récapitulatif des principales sources alimentaires des polyphénols.	13
III	Propriétés biologiques des quelques polyphénols dans l'organisme.	18
IV	Différents modèles et techniques d'analyse des interactions tanins-protéines trouvés dans la littérature.	38

Introduction

Introduction

Depuis toujours, l'Homme a recourt à la médecine traditionnelle pour se soigner de diverses maladies telles que le rhume, la toux, la tuberculose, etc. (ISERIN, 2001). Actuellement, nous constatons en recherche scientifique un regain d'intérêt pour les plantes médicinales. L'objectif principal visé est la découverte de molécules bioactives, alternatives aux substances chimiques aux nombreux effets secondaires.

L'innocuité des substances naturelles a pour conséquence, leur large utilisation dans diverses industries comme en agroalimentaire, en cosmétique et en pharmaceutique (NKHILI, 2009).

Les propriétés thérapeutiques des plantes médicinales sont dues à la présence de molécules bioactives connues sous l'appellation de métabolites secondaires, à savoir les terpénoïdes, les alcaloïdes, les huiles essentielles, les composés phénoliques, etc. (TSAO et YANG, 2003).

L'une des classes de métabolites secondaires les plus étudiées, est celle des composés phénoliques, également appelés polyphénols, dont l'utilisation est déjà importante en phytothérapie. Selon plusieurs études, ces derniers seraient à l'origine d'un nombre important de propriétés médicinales des plantes (HENNEBELLE *et al.*, 2004).

En effet, les polyphénols sont dotés de multiples vertus thérapeutiques. Ils jouent un rôle très important, principalement dans la lutte contre les cancers, les maladies cardiovasculaires et le stress oxydant (BRUNETON, 2009).

Lors de l'ingestion d'aliments riches en polyphénols, ceux-ci, entrent en contact avec différentes matrices biologiques (glucides, lipides et protéines) et interagissent avec elles. L'interaction la plus décrite est celle des tanins avec les protéines, car ces dernières jouent des rôles importants dans plusieurs activités physiologiques (SĘCZYK *et al.*, 2019).

Selon BANDYOPADHYAY *et al* (2012), les interactions polyphénols-protéines peuvent avoir des effets significatifs sur la biodisponibilité et les propriétés bénéfiques des polyphénols.

Compte tenu du rôle important que jouent les polyphénols et les protéines dans la préservation de la santé humaine, nous nous sommes fixées pour objectif, de documenter les interactions polyphénols-protéines et l'effet de celles-ci sur la biodisponibilité et l'activité antioxydante des polyphénols.

Pour cela, notre travail théorique est subdivisé en trois (3) chapitres :

- le premier comprenant des généralités sur les composés phénoliques, leur classification, leur biodisponibilité, leurs rôles ainsi que les différents mécanismes intervenant dans leur activité antioxydante ;

- le deuxième présente des généralités sur les interactions polyphénols-protéines, leurs types, les paramètres qui les influencent ainsi quelques techniques qui permettent leur analyse ;

- le troisième est réservé à exposer l'impact des interactions polyphénols-protéines sur la biodisponibilité et le pouvoir antioxydant des polyphénols, leur effet sur les protéines ainsi que les différentes applications de ces conjugués.

A la fin, une conclusion générale est tirée du développement des principaux points traités au cours de ce présent travail et leurs perspectives.

Chapitre I : Généralités sur les composés phénoliques

Une des originalités majeures des plantes médicinales réside dans leur capacité à produire des métabolites secondaires (GHAZGHAZI *et al.*, 2013). Ces derniers ont une répartition limitée dans l'organisme de la plante et ne sont pas toujours nécessaires à la survie de celle-ci (LEE *et al.*, 2013).

Parmi les différentes classes de métabolites secondaires, les composés phénoliques, suscitent actuellement beaucoup d'intérêt (HENNEBELLE *et al.*, 2004 ; ALI *et al.*, 2013). Selon AIRES *et al* (2013), ces composés sont importants, non seulement pour leurs rôles dans les plantes, mais aussi pour leurs nombreuses propriétés biologiques (antioxydants, antimicrobiens, anti-cancérigènes, etc.) et leurs effets thérapeutiques contre plusieurs maladies comme l'hypertension, le diabète et l'obésité.

I.1. Définition et structure

Les composés phénoliques, communément appelés polyphénols (PP), sont des métabolites secondaires (BALASUNDRAM *et al.*, 2006), dont la structure est caractérisée par la présence d'un cycle aromatique portant au moins un groupement hydroxyle (OH) libre (Figure 1). Ils constituent le groupe le plus représenté et le plus largement distribué dans le royaume des végétaux (LUGASI *et al.*, 2003) et ils sont ainsi une partie intégrante de l'alimentation humaine et animale (MARTIN et ANDRIANTSITOHAINA, 2002 ; MEHINAGIC *et al.*, 2011).

Actuellement, plus de 8000 structures phénoliques sont connues, allant de molécules phénoliques simples de bas poids moléculaire tels que les acides phénoliques à des composés hautement polymérisés comme les tanins (MARTIN et ANDRIANTSITOHAINA, 2002 ; LUGASI *et al.*, 2003 ; BALASUNDRAM *et al.*, 2006 ; FALLEH *et al.*, 2008). Ils peuvent être conjugués avec un ou plusieurs résidu(s) sucré(s) ou d'autres composés chimiques, tels que des acides carboxyliques, des amines, des lipides ou avec d'autres phénols (MARTIN et ANDRIANTSITOHAINA, 2002).

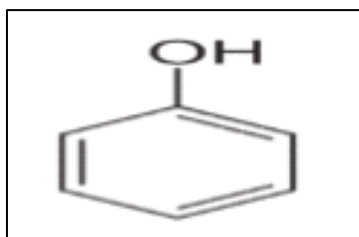


Figure 1 : Structure du noyau phénolique (CHEYNIER, 2005).

I.2. Classification

MOTILVA *et al* (2013) expliquent qu'il n'existe pas de classification universelle des polyphénols. Par contre, selon MANACH *et al* (2004) et CHIRA *et al* (2008), ces derniers peuvent être regroupés en plusieurs classes qui se différencient par :

- la complexité du squelette de base (allant d'un simple C₆ à des formes très polymérisées) ;
- le degré de modifications de ce squelette (degré d'oxydation, d'hydroxylation, de méthylation, etc.) ;
- les liaisons possibles de ces molécules de base avec d'autres molécules (glucides, lipides, protéines, autres métabolites secondaires pouvant être ou non des composés phénoliques).

On peut distinguer deux catégories : les composés phénoliques simples et les composés phénoliques complexes (condensés).

I.2.1. Les formes simples

Les formes phénoliques les plus simples présentent des structures chimiques allant du simple phénol en C₆ (non présent naturellement chez les végétaux) aux formes complexes (LEGRAND, 2015).

I.2.1.1. Les acides phénoliques

D'après BRUNETON (2009), le terme d'acide phénolique peut s'appliquer à tous les composés organiques possédant au moins une fonction carboxylique et un hydroxyle phénolique. Ils se divisent en deux classes : les acides hydroxybenzoïques et les acides hydroxycinnamiques (MANACH *et al.*, 2004 ; BALASUNDRAM *et al.*, 2006 ; LAFAY et GIL-IZUIERDO, 2007).

a- Les acides hydroxybenzoïques

Les acides hydroxybenzoïques dérivent de l'acide benzoïque et ont une formule de base simple de type C₆-C₁, composée d'un noyau benzénique sur lequel vient se greffer une chaîne aliphatique à un carbone (CHIRA *et al.*, 2008). Ils peuvent exister sous forme libre ou estérifiée (MANACH *et al.*, 2004).

Parmi les acides hydroxybenzoïques les plus abondants, on retrouve l'acide gallique, vanillique, protocatéchique et p-hydrobenzoïque (Figure 2) (LAFAY et GIL-IZUIERDO, 2007).

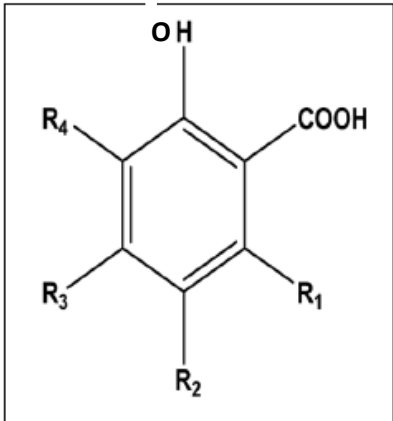
	Nom	R1	R2	R3	R4
	Acide benzoïque	H	H	H	H
	Acide p-hydroxybenzoïque	H	H	OH	H
	Acide vanillique	H	OCH ₃	OH	H
	Acide gallique	H	OH	OH	OH
	Acide protocatéchique	H	OH	OH	H
	Acide syringique	H	OCH ₃	OH	OCH ₃
	Acide gentisique	OH	H	H	OH
	Acide veratrique	H	OCH ₃	OCH ₃	H
	Acide salicylique	OH	H	H	H

Figure 2 : Structure de l'acide hydroxybenzoïque et ses principaux dérivés (STALIKAS, 2007).

b- Les acides hydroxycinnamiques et leurs dérivés

Les acides hydroxycinnamiques présentent une structure de base de forme C₆-C₃ dérivée de celle de l'acide cinnamique. Leur squelette est composé d'un noyau benzénique lié à une chaîne aliphatique à trois carbones, et qui possède un ou plusieurs groupements hydroxyles (CHIRA *et al.*, 2008). Rarement libres, ils sont souvent estérifiés et peuvent également être amidifiés ou combinés avec des sucres ou des polyols tels que l'acide quinique (LAFAY et GIL-IZUIERDO, 2007).

Parmi les acides hydroxycinnamiques les plus courants, les acides caféique, férulique, sinapique et p-coumarique (Figure 3) (MANACH *et al.*, 2004 ; BALANSUNDRAM *et al.*, 2006 ; LAFAY et GIL-IZUIERDO, 2007 ; CHIRA *et al.*, 2008).

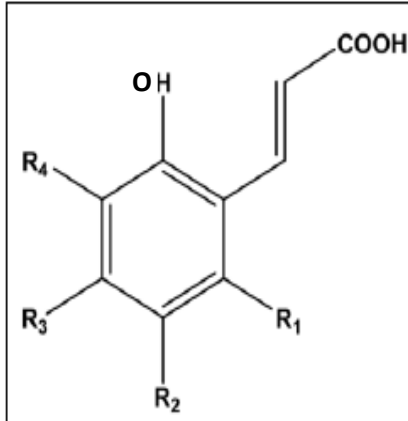
	Nom	R1	R2	R3	R4
	Acide cinnamique	H	H	H	H
	Acide o-coumarique	H	OH	H	H
	Acide m-coumarique	H	OH	H	H
	Acide p-coumarique	H	H	OH	H
	Acide férulique	H	OCH ₃	OH	H
	Acide sinapique	H	OCH ₃	OH	OCH ₃
	Acide caféique	H	OH	OH	H

Figure 3 : Structure de l'acide hydroxycinnamique et ses principaux dérivés (STALIKAS, 2007).

Parmi les dérivés des acides hydroxycinnamiques, on distingue les coumarines et les stilbènes.

b₁- Les coumarines

Présentes dans de nombreux végétaux, les coumarines ont une structure de base C₆-C₃, dérivant des acides hydroxycinnamiques par cyclisation interne de la chaîne latérale (Figure 4). Elles se trouvent dans la nature soit à l'état libre ou bien combiné avec des sucres (COWAN, 1999).

AFEK *et al* (1995) rapportent que la plupart des coumarines sont des phytoalexines impliquées dans des réactions de défense des plantes contre des attaques par des organismes pathogènes.

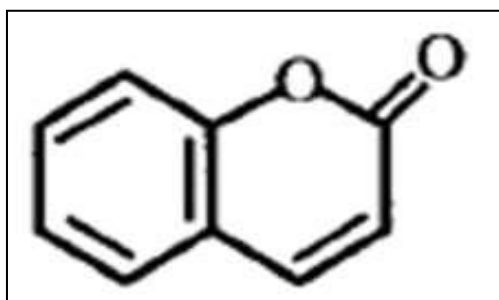


Figure 4 : Structure d'une molécule de coumarine (COWAN, 1999).

b₂- Les stilbènes

Les stilbènes ont une structure de base C₆-C₂-C₆, deux noyaux benzéniques reliés par un pont éthène. Ils sont produits par les plantes en réponse à des attaques fongiques, bactériennes ou virales (CHIRA *et al.*, 2008).

Le resvératrol (3,4',5-trihydroxy-trans-stilbène) est le seul stilbène identifié dans l'alimentation humaine. C'est le composé typique du vin rouge (de 0,3 à 2 mg/g) (DERBEL et GHEDIRA, 2005) et qui est connu pour ses propriétés anticancérogènes. Sa structure chimique est représentée dans la Figure 5.

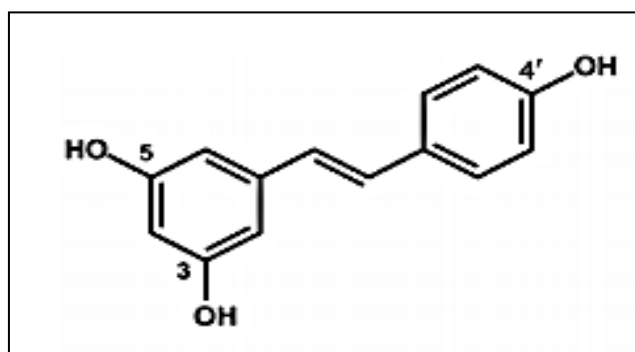


Figure 5 : Structure chimique du resvératrol (TSAI *et al.*, 2016).

I.2.1.2. Les flavonoïdes

Les flavonoïdes constituent le plus grand groupe de composés phénoliques végétaux (KIM *et al.*, 2004 ; BALASUNDRAM *et al.*, 2006). D'après HEIM *et al* (2002), plus de 4000 flavonoïdes ont été identifiés.

La plupart des flavonoïdes existent sous forme de glycosides (CHIRA *et al.*, 2008). Ils constituent un groupe de composés de faible poids moléculaire, constitués de 15 atomes de carbone, disposés dans une configuration C₆-C₃-C₆. Leur structure de base est constituée de deux cycles aromatiques A et B, reliés par un pont à trois carbones, généralement sous la forme d'un hétérocycle oxygéné (cycle C) (Figure 6) (BALASUNDRAM *et al.*, 2006).

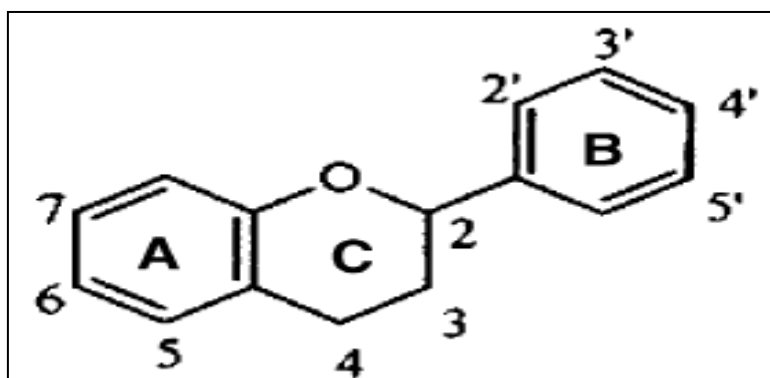


Figure 6 : Structure de base d'un flavonoïde (ERDMAN *et al.*, 2007).

- **Classification**

BALASUNDRAM *et al* (2006) ont démontré que la structure de base des flavonoïdes peut subir de nombreuses substitutions, qui donnent naissance aux différentes classes de flavonoïdes. Ces substitutions peuvent inclure l'oxygénation, l'alkylation, la glycosylation, l'acylation et la sulfatation. Les classes les plus importantes des flavonoïdes sont résumées dans le tableau I.

Tableau I : Présentation des principales classes de flavonoïdes (CHIRA *et al.*, 2008).

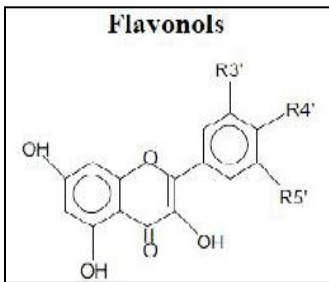
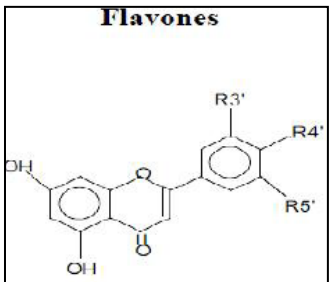
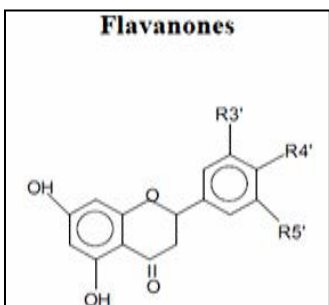
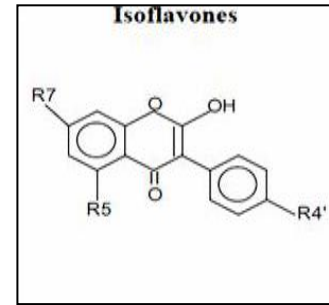
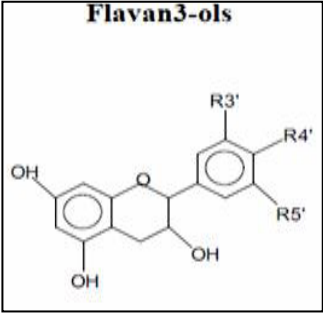
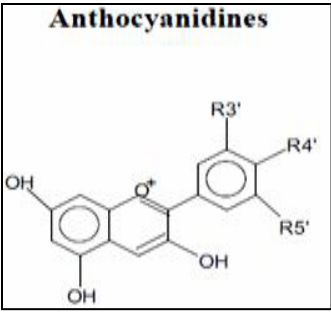
Flavonoïdes	Exemples	Aliments	Caractéristiques
Flavonols 	Quercétine Kæmpférol	Oignon, poireau, brocolis, pommes, chou frisé, vin rouge, thé.	Le groupe le plus abondant des composés phénoliques.
Flavones 	Lutéoline Apigénine	Persil, céleri.	Les flavones se diffèrent des flavonols seulement par le manque d'un OH libre en C ₃ .
Flavanones 	Naringénine Eriodictyol	Fruits du genre <i>Citrus</i> .	Caractérisés par l'absence de la double liaison C ₂ -C ₃ , le flavanone le plus abondant est la naringénine, isolée pour la première fois à partir des écorces de <i>Citrus</i> .
Isoflavones 	Genisteine Daidzeine	Graines de soja et produits qui en dérivent.	Caractérisés par leur variabilité structurale dont l'attachement du cycle B se fait en C ₃ . Ils sont présents dans les plantes sous forme libre ou glycosylée.

Tableau I (suite) : Présentation des principales classes de flavonoïdes (CHIRA *et al.*, 2008).

Flavonoïdes	Exemples	Aliments	Caractéristiques
Flavan3-ols 	Catéchine Epicatéchine Epigallocatec- hine	Vin rouge, thé noir, thé vert, cacao, chocolat.	Flavan-3-ols ainsi que flavan-3,4-diols sont tout les deux impliqués dans la biosynthèse de proanthocyanidines (tanins condensés) par des condensations enzymatiques et chimiques.
Anthocyanidines 	Cyanidine Delphénidine	Raisins, vin rouge, certaines variétés de céréales.	Représentent le groupe le plus important des substances colorées. Ces pigments hydrosolubles contribuent à la coloration des angiospermes.

I.2.2. Les formes complexes

Ces formes sont issues généralement de la condensation des composés phénoliques simples cités précédemment.

I.2.2.1. Les tanins

Cette classe désigne un large groupe de composés phénoliques polymériques, naturellement produits par les plantes. Ces derniers sont solubles dans l'eau et ont une masse moléculaire comprise entre 500 et 3000 Dalton (Da). Ils sont présents dans presque toutes les parties de la plante : écorce, bois, feuilles, fruits et racines (COWAN, 1999).

Les tanins diffèrent des autres composés phénoliques naturels par leur capacité à précipiter les protéines. De même, ils peuvent se combiner à d'autres polymères organiques tels que des glucides, des acides nucléiques, des stéroïdes et des alcaloïdes, pour former avec eux des complexes stables (MAKKAR, 2003).

Selon leur structure biochimique, les tanins se distinguent en deux grands groupes : les tanins hydrolysables et les tanins condensés (SCALBERT, 1991 ; DE FREITAS et MATEUS, 2012).

a- Les tanins hydrolysables

Ce sont des oligo- ou des polyesters d'un sucre et d'un nombre variable d'acide phénol (Figure 7). Le sucre est généralement le D-glucose et l'acide phénol est soit l'acide gallique dans le cas des gallotanins, soit l'acide ellagique dans le cas des ellagitannins (SCALBERT, 1991). Ces substances sont facilement hydrolysables par voie chimique ou enzymatique (BRUNETON, 2009).

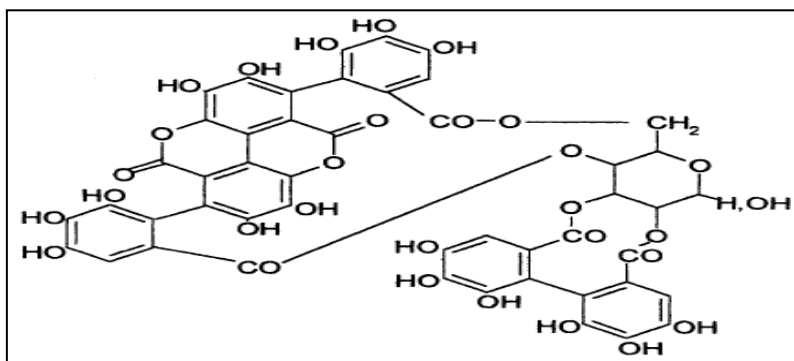


Figure 7 : Structure générale d'un tanin hydrolysable (MCSWEENEY *et al.*, 2001).

b- Les tanins condensés

Les tanins condensés, également connus sous le nom de proanthocyanidines, sont des dimères, des oligomères et des polymères de catéchines liés entre eux par des liaisons carbone-carbone et sont très résistants à l'hydrolyse (Figure 8) (MANACH *et al.*, 2004).

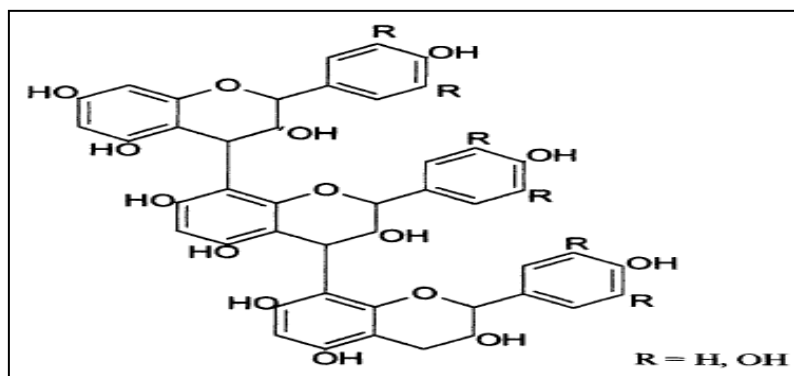


Figure 8 : Structure générale d'un tanin condensé (MCSWEENEY *et al.*, 2001).

I.2.2.2. Les lignanes et les lignines

Les lignanes sont des composés très répandus chez les végétaux supérieurs (LAMBLIN *et al.*, 2008). Ils s'agissent de dimères ramifiés de phénylpropènes, relativement simples, ayant une structure de 2,3-dibenzylbutane, qui est formée par la dimérisation de deux résidus d'acide cinnamique (KUMAR *et al.*, 2014).

Selon BRUNETON (2009), les lignines sont des polymères tridimensionnels résultant de la condensation de trois alcools phénylpropéniques : alcool p-coumarique, alcool coniférique et alcool sinapique. Ce sont des précurseurs de polymères pariétaux des plantes constituant des facteurs de défense contre les agents pathogènes et contribuent à la résistance mécanique et à la rigidité des tiges lignifiées.

I.3. Localisation et répartition cellulaire et tissulaire dans les différents organes de la plante

À l'échelle cellulaire, les polyphénols sont principalement répartis dans deux compartiments : les vacuoles et la paroi. Dans les vacuoles, ils sont conjugués, avec des sucres ou des acides organiques, ce qui permet d'augmenter leur solubilité et de limiter leur toxicité pour la cellule. Au niveau de la paroi, on trouve surtout de la lignine et des flavonoïdes liés aux structures pariétales, qui contribuent à la résistance des parois cellulaires, la régulation de la croissance des plantes et la défense contre les agents pathogènes (NACZK et SHAHIDI, 2006).

Au niveau tissulaire, la localisation des polyphénols est liée à leur rôle dans la plante et peut être très caractéristique. Au sein même des feuilles, la répartition des composés est variable. A titre d'exemple les anthocyanes et les flavonoïdes sont majoritairement présents dans l'épiderme. Au niveau de la plante entière, il faut noter que certains composés ne sont accumulés que dans des organes bien définis. Chez la pomme, par exemple, les polyphénols interviennent au niveau de la coloration de la peau via les anthocyanes, et dans la qualité organoleptique de la chair, notamment pour l'amertume ou l'astringence (BÉNARD, 2009).

Il faut noter qu'une bonne connaissance de la répartition des composés phénoliques dans les différents tissus et organes végétaux est essentielle pour orienter l'utilisation que l'homme souhaite en faire.

I.4. Biosynthèse des polyphénols

D'après MARTIN et ANDRIANTSITOHAINA (2002), les composés phénoliques des végétaux sont issus à partir de deux voies biosynthétiques :

a- celle de l'acide shikimique, qui conduit après transamination et désamination, aux acides cinnamiques et à leurs nombreux dérivés tels que les acides benzoïques ou les phénols simples ;

b- celle issue de l'acétate, qui conduit à des poly- β -cétoesters (polyacétates) de longueur variable, qui engendrent par cyclisation ou condensation à des composés polycycliques tels que les tanins condensés.

De plus, la diversité structurale des composés polyphénoliques, due à cette double origine biosynthétique est encore accrue par la possibilité d'une participation simultanée des deux voies dans l'élaboration de composés d'origine mixte, comme c'est le cas pour les flavonoïdes.

I.5. Propriétés physico-chimiques des polyphénols

Les propriétés physico-chimiques des polyphénols sont essentiellement liées à leur structure chimique. On distingue :

- la solubilité dans les solvants organiques polaires. La plupart des glycosides phénoliques sont solubles dans l'eau, mais les aglycones correspondants le sont généralement moins. En effet, la solubilité dans l'eau augmente avec le nombre de groupements hydroxyles présents (BELŠČAK-CVITANOVIĆ *et al.*, 2018) ;

- l'absorption intense dans la région ultraviolette (UV) et les polyphénols qui sont colorés absorbent dans la région UV-visible. Par exemples, les phénols et les acides phénoliques présentent des maximaux spectraux compris entre 250 et 290 nm ; les flavones et flavonols présentent des bandes d'absorption entre 250 et 350 nm (BELŠČAK-CVITANOVIĆ *et al.*, 2018) ;

- propriété réductrice qui régit leur propriété antioxydante et leur sensibilité à l'oxydation (BELŠČAK-CVITANOVIĆ *et al.*, 2018) ;

- la capacité de se complexer avec des protéines et la capacité de piégeage des radicaux libres (RLs) sont principalement liées au nombre et à l'accessibilité des groupements phénols (CHEYNIER, 2005).

I.6. Principales sources alimentaires

Les fruits et les boissons constituent les principales sources alimentaires de polyphénols, avec de fortes variations selon les espèces. A titre d'exemples, la pomme, le raisin et la poire, contiennent jusqu'à 200 à 300 mg de polyphénols pour 100 g de poids frais (PF). Les céréales, le chocolat et les légumes secs contribuent également à l'apport en polyphénols (SCALBERT *et al.*, 2005). Les principales sources alimentaires des polyphénols sont résumées dans le tableau II.

Tableau II : Tableau récapitulatif des principales sources alimentaires des polyphénols.

Classe de Polyphénols	Sources alimentaires	Références bibliographiques
Stilbènes	- le raisin et son jus ; - les baies, le chou rouge, les épinards et certaines plantes médicinales ; - les cacahuètes et le beurre de cacahuètes ; - le vin rouge.	(CASSIDY <i>et al.</i> , 2000 ; CROZIER <i>et al.</i> , 2009).
Flavones	- persil, céleri et le poivron rouge ; - les glycosides de flavones dans les céréales ; - sous forme glucuronidée dans l'infusé de verveine odorante ; - la peau des agrumes ; - huile essentielle de mandarine.	(MANACH <i>et al.</i> , 2004).
Flavonols	- l'oignon, le chou frisé, les poireaux, le brocoli, les myrtilles, le vin rouge, le thé noir et le thé vert.	(MANACH <i>et al.</i> , 2004).
Flavanones	- les rutinosides de flavanones dans les citrons, les mandarines, les oranges ; - les pamplemousses et les oranges amères ; - la tomate et certaines plantes aromatiques comme la menthe.	(MANACH <i>et al.</i> , 2004).
Isoflavones	- soja (les graines, la farine et le lait), pois cassés verts ;	(CASSIDY <i>et al.</i> , 2000).
Chalcones dihydro-chalcones	- la tomate (la peau, le ketchup) ; - la pomme (peau, chair et pépins).	(BRUNETON, 2009).
(épi) cathéchine	- l'abricot et la cerise ; - le chocolat ; - le thé vert ; - le vin rouge.	(D'ARCHIVIO <i>et al.</i> , 2007).
Proanthocyanidines	- le raisin, les pêches, les kakis ou les pommes ; - le vin, le cidre, le thé et la bière ; - les céréales et les légumineuses (lentille, sorgho et l'orge) ;	(SANTOS-BUELGA et SCALBERT, 2000).
Anthocyanes	- les baies comme le cassis ou les mûres ; - les fruits rouges comme les myrtilles, fraise ou la cerise ; - le vin rouge ; - les céréales, et certains légumes (chou, haricots, oignons et radis).	(MANACH <i>et al.</i> , 2004 ; D'ARCHIVIO <i>et al.</i> , 2007).
Lignanés	- les graines de lin et les céréales ; - les fruits (les poires et les prunes) ; - certains légumes (ail, asperge et carottes) ; - les légumineuses comme les lentilles.	(CASSIDY <i>et al.</i> , 2000 ; MANACH <i>et al.</i> , 2004).

I.7. Biodisponibilité des polyphénols

MARTIN et ANDRIANTSITOHAINA (2002) définissent la biodisponibilité d'une substance comme étant la proportion de celle-ci, qui parvient à la circulation générale après une administration orale ainsi que sa métabolisation, sa distribution et son élimination.

Les effets des polyphénols sur la santé ne dépendent pas seulement de leurs niveaux de consommation mais aussi de leur biodisponibilité dans le plasma sanguin. A la différence de la vitamine E et des caroténoïdes qui s'accumulent dans le tissu adipeux, les polyphénols ne peuvent être stockés (EDEAS, 2007).

La biodisponibilité des polyphénols dépend de leur structure, de leur conjugaison avec les protéines ou d'autres composés phénoliques, du degré de leur glycosylation ou d'acylation, de leur taille moléculaire ainsi que de leur solubilité (BALASUNDRAM *et al.*, 2006). Par conséquent, ce paramètre est très différent d'un composé à un autre. Les polyphénols les plus abondants dans notre alimentation ne sont pas nécessairement ceux conduisant aux concentrations les plus élevées de métabolites actifs dans les tissus cibles.

Les isoflavones et les acides phénoliques comme l'acide caféique et l'acide gallique sont les polyphénols les mieux absorbés, suivis des catéchines, des flavanones et des glycosides de quercétine, mais avec une cinétique différente, tandis que les moins bien absorbés sont les polyphénols de poids moléculaire élevé tels que les proanthocyanidines, les catéchines du thé galloylées et les anthocyanes (HAN *et al.*, 2007).

Selon MANACH et ses collaborateurs (2004), la plupart des polyphénols sont présents dans les aliments sous forme d'esters, de glycosides ou de polymères qui souvent ne peuvent être absorbés tels quels. Pour être absorbés, ces composés doivent être hydrolysés en aglycones par la microflore.

Lors de l'ingestion d'un polyphénol, il traverse plusieurs compartiments dans lesquels il peut être métabolisé, accumulé ou éliminé (Figure 9).

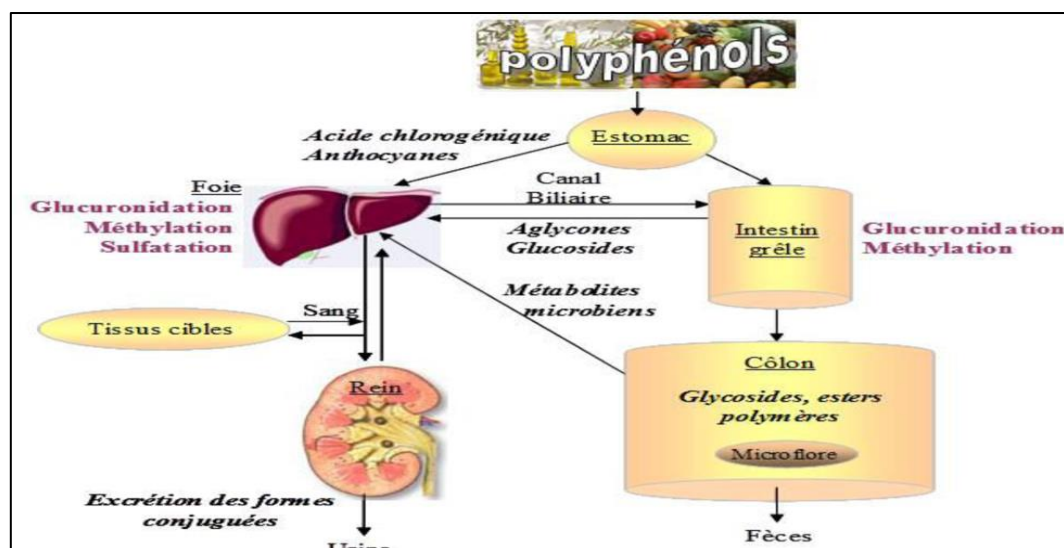


Figure 9 : Schéma général de la biodisponibilité des polyphénols (MANACH *et al.*, 2006).

Les principales données de la biodisponibilité des polyphénols de l'alimentation sont résumées comme suit :

• Absorption et métabolisme

Les polyphénols présents dans les aliments sous forme de glycosides résistent habituellement au pH acide de l'estomac. En effet, seuls les anthocyanes et quelques acides hydroxycinnamiques sous forme liée peuvent être absorbés directement à partir de l'estomac (MANACH *et al.*, 2005). Quelques rares glycosides tels que la rutine peuvent être absorbés au niveau de l'intestin grêle, tous les autres polyphénols ne pourront être absorbés qu'au niveau du côlon après hydrolyse en aglycones par les bactéries de la microflore. L'action de cette dernière sur les aglycones ainsi libérés, conduit à la production de divers acides aromatiques simples, ce qui réduit l'efficacité de leur absorption (MANACH *et al.*, 2004).

Les polyphénols et les métabolites microbiens absorbés subissent trois types de conjugaison dans les entérocytes et dans les hépatocytes : méthylation, glucuronidation et sulfatation. Il s'agit d'un processus de détoxification métabolique commun à de nombreux xénobiotiques, qui limite leurs effets toxiques potentiels et facilite leur élimination biliaire et urinaire en augmentant leur hydrophilie (MANACH *et al.*, 2004).

Les mécanismes de conjugaison sont très efficaces et les aglycones sont généralement soit absentes dans le sang, soit présentes à de faibles concentrations après consommation de doses nutritionnelles. Les polyphénols circulants sont des dérivés conjugués fortement liés à l'albumine (MANACH *et al.*, 2004).

• Distribution

DUPAS (2005) rapporte que la distribution des polyphénols dans les tissus reste le point le plus méconnu. De rares études font état de la présence de ceux-ci et de leurs métabolites dans de nombreux tissus (foie, reins, cerveau, poumon, etc.) mais leur concentration reste faible.

• Elimination

Les polyphénols sont principalement excrétés par les voies biliaire et urinaire. L'implication de chacune de ces voies dépend principalement de la structure des molécules. Ainsi, les métabolites hautement conjugués seront principalement éliminés dans la bile tandis que les moins conjugués comme les monosulfates seront préférentiellement éliminés par voie urinaire (CRESPY *et al.*, 2003). Les métabolites sont déversés via la bile dans le duodénum et peuvent ensuite être hydrolysés par les β -glucuronidases de la flore colique libérant ainsi les formes aglycones qui peuvent être réabsorbées au niveau de la muqueuse colique établissant ainsi un cycle entéro-hépatique (MANACH *et al.*, 2004).

D'après MANACH *et al* (2005), la quantité de métabolites excrétés dans les urines est corrélée à la concentration plasmatique maximale des polyphénols. L'excrétion urinaire varie d'une molécule à l'autre et peut aller de 0,3 à 43 % de la dose ingérée. Cette excrétion est faible pour les anthocyanes, les flavanols et les flavonols et particulièrement élevée pour les acides phénoliques et les isoflavones.

Malgré toutes ces données rapportées sur la biodisponibilité des polyphénols, celle-ci, reste encore mal élucidée. C'est pourquoi, il est important de connaître non seulement la quantité journalière ingérée de polyphénols, mais également leur biodisponibilité, puisque leurs qualités nutritionnelles et leurs effets biologiques particulièrement leur activité antioxydante dépendront de leur absorption au niveau du tractus digestif.

I.8. Rôles des polyphénols**a- Chez les végétaux**

Les polyphénols en particulier les flavonoïdes seraient impliqués dans différents domaines de la physiologie de la plante et dans ces relations avec l'environnement :

➤ les flavonoïdes sont responsables de la couleur des fleurs, des feuilles, des fruits et des graines et jouent un rôle important dans l'attraction des pollinisateurs et des disperseurs des graines (insectes, oiseaux, etc.) participants ainsi à la fertilité de la plante et la germination du pollen (WINKEL-SHIRLEY, 2001 ; PETTI et SCULLY, 2009) ;

➤ ils protègent les plantes contre les radiations UV (STALIKAS, 2007) ;

- lorsque la plante subit des agressions d'origine mécaniques, ils interviennent dans la cicatrisation du tissu endommagé (BAHORUN, 1997) ;
- ils jouent aussi un rôle primordial dans la protection de la plante en agissant comme antibactériens, antifongiques, antiviraux et insecticides, ainsi leurs concentrations augmentent après infection (HARBORNE et WILLIAMS, 2000) ;
- ils protègent aussi les plantes contre les herbivores et les omnivores, plusieurs mécanismes ont été rapportés, les tanins ingérés par les herbivores sont toxiques et provoquent la nécrose de la muqueuse gastro-intestinale et l'insuffisance rénale et hépatique (PETTI et SCULLY, 2009) ;
- ils déterminent également la saveur des fruits. Les tanins sont à l'origine de la sensation d'astringence des fruits non mûrs ; les flavanones sont responsables de l'amertume des *Citrus* et peuvent donner naissance, par transformation chimique, à des dihydrochalcones à saveur sucrée (BAHORUN, 1997) ;
- ils sont impliqués aussi dans de nombreux processus physiologiques comme la croissance cellulaire, la rhizogenèse, la germination des graines et la maturation des fruits (BOIZOT et CHARPENTIER, 2006) ;
- ils sont des agents allélopatiques en réduisant la compétition des autres espèces de plantes par inhibition de leur germination (BUER *et al.*, 2010).

b- Chez les humains

MARTIN et ANDRIANTSITOHAINA (2002) ont rapporté que la consommation des polyphénols réduit le développement de nombreuses pathologies, telles que le cancer, l'athérosclérose et l'hypertension. Les effets biologiques de quelques composés phénoliques sont récapitulés dans le tableau III.

Tableau III : Propriétés biologiques de quelques polyphénols dans l'organisme (BAHORUN, 1997).

Polyphénols	Activités biologiques
Acides phénols (cinnamiques et benzoïques)	Antibactérienne, Antifongique, Antioxydante.
Coumarines	Protectrice vasculaire et antioedémateuse.
Flavonoïdes	Anti-tumorale, Anticarcéno-gène, Anti-inflammatoire, Hypotenseur et diurétique, Antioxydante.
Anthocyanes	Protectrice capillaro-veineux.
Proanthocyanidines	Effet stabilisant sur le collagène, Antioxydante, Anti-tumorale, Antifongique, Anti-inflammatoire.
Tanins galliques et catéchiques	Antioxydante.

c- À l'échelle industrielle

D'après DAGLIA (2012), il est désormais possible, grâce aux propriétés antimicrobiennes de certains polyphénols comme les flavan-3-ols et les tanins, de développer des conservateurs alimentaires et de nouvelles thérapies dans de nombreuses maladies infectieuses en considérant la résistance microbienne face à certains traitements antibiotiques.

La capacité antioxydante des polyphénols est utilisée dans l'alimentation pour lutter contre la peroxydation lipidique et ainsi permettre une meilleure stabilisation des denrées alimentaires (MOURE *et al.*, 2001). Selon la même source, ils sont également préconisés pour améliorer la stabilité des pigments de jus colorés et d'arômes alimentaires. De même, ils sont utilisés comme additifs alimentaires en charcuterie.

HENNEBELLE *et al* (2004) rapportent que dans l'industrie cosmétique, les composés phénoliques trouvent leur application pratique en luttant contre la production de RLs néfastes pour la santé et la beauté de la peau.

I.9. Activité antioxydante des polyphénols

Selon XIUZHEN *et al* (2007), des études ont montré que beaucoup de maladies sont liées au stress oxydatif, qui consiste à un déséquilibre entre la production exagérée des espèces réactives de l'oxygène (ERO) et d'azote (ERN) et les antioxydants. Afin de faire face à un excès de RLs produits par ce stress, les humains ont développé des mécanismes endogènes et exogènes afin de maintenir l'homéostasie redox. Parmi ceux-ci, les polyphénols alimentaires qui pourraient jouer un rôle protecteur important en raison de leurs fortes

capacités antioxydantes, qui d'après FALLEH *et al* (2008), sont plus fortes que celles des antioxydants synthétiques et présentent une innocuité d'utilisation.

Les antioxydants sont des protecteurs chimiques dont la fonction est d'empêcher les ERO d'atteindre leurs cibles biologiques (acide désoxyribonucléique (ADN), lipides et protéines). Leur efficacité est étroitement liée à leur aptitude à capter les RLs (GARDÈS-ALBERT *et al.*, 2003).

Selon leur cible et leur mécanisme d'action, les antioxydants sont divisés en deux groupes : les primaires et les secondaires (RÉ *et al.*, 2005). Les polyphénols peuvent être d'une part, classés comme antioxydants primaires car ils interrompent la chaîne radicalaire et forment un radical stable en cédant un hydrogène ou un électron et d'autre part comme antioxydants secondaires car ils peuvent complexer, piéger ou décomposer diverses molécules impliquées dans la production des RLs (oxygène, ions métalliques, peroxydes, etc.) (MOUALEK, 2018).

BALASUNDRAM et ses collaborateurs (2006) expliquent que les propriétés antioxydantes des polyphénols sont étroitement liées à leur structure chimique. Le type de composé, le degré de méthylation, de glycosylation, de polymérisation et le nombre et la position des groupements hydroxyles sont les paramètres qui déterminent l'activité antioxydante. Selon la même source, cette dernière augmente avec le degré d'hydroxylation et diminue avec le degré de méthylation.

II.9.1. Mécanismes antioxydants des polyphénols

Les principaux mécanismes antioxydants des polyphénols sont :

➤ Piégeage ou réduction des radicaux libres

Les composés phénoliques, en particulier les flavonoïdes, sont susceptibles de piéger la plupart des RLs : radicaux hydroxyles ($\text{OH}^\bullet$), anions superoxydes ($\text{O}_2^{\bullet-}$) et radicaux peroxy lipidiques. Cette aptitude est due à leur structure chimique (Figure 10), dont la présence des éléments suivants :

- la structure 3',4'-dihydroxy du cycle B, qui est essentielle à l'activité des flavonoïdes possédant un hétérocycle saturé ;
- la double liaison $\text{C}_2\text{-C}_3$ conjuguée avec le groupe oxo ($\text{C}_4=\text{O}$), qui est responsable de la délocalisation d'électrons du noyau B, ce qui améliore encore plus l'activité antiradicalaire ;
- les hydroxyles en positions C_3 et C_5 qui permettent une activité maximale (PIETTA, 2000).

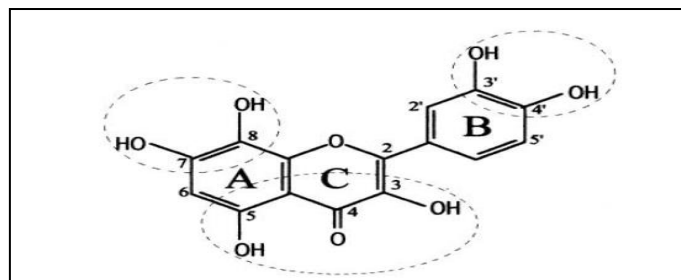


Figure 10 : Caractéristiques structurales des flavonoïdes avec une forte activité de piégeage des radicaux (AMIC *et al.*, 2003).

Les flavonoïdes (Flav-OH) sont thermodynamiquement capables de réduire les RLs en raison de leur faible potentiel redox par transfert d'hydrogène. Le radical flavonoxy (Flav-O[•]) qui en résulte peut réagir avec un autre radical pour former une structure quinone stable (JOVANOVIĆ *et al.*, 1994). La figure suivante illustre le mode d'action des flavonoïdes.

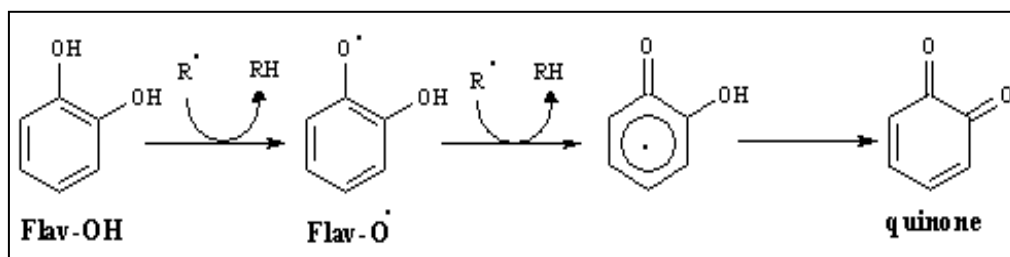


Figure 11 : Réduction des ERO (R[•]) par les flavonoïdes (MARFAK, 2003).

Selon MOHAMMEDI (2013), les tanins possèdent aussi des propriétés antioxydantes significatives et agissent comme piègeurs ou réducteurs de RLs lipidiques produits lors de la peroxydation. De même, les coumarines ont la capacité de capter les RLs. Les conditions structurales requises pour leur activité anti-péroxydante sont similaires à celles signalées pour les flavonoïdes.

➤ Chélation des métaux de transition responsables de la production des RLs

Les flavonoïdes et les tanins inhibent la formation de RLs par la chélation des métaux tels que : le cuivre et le fer. En plus de leurs rôles essentiels dans de nombreuses fonctions physiologiques, ces derniers renforcent les effets nocifs du stress oxydatif en stimulant la production des radicaux hydroxyles (HIDER *et al.*, 2001).

Ces composés en chélatant les ions métalliques, forment des complexes de coordination avec ceux-ci, en occupant tous les emplacements et peuvent ainsi convertir ces métaux en complexes insolubles, empêchant leurs interactions avec les intermédiaires lipidiques (LEE *et al.*, 2004). La chélation des ions métalliques nécessite trois sites principaux (Figure 12) (HEIM *et al.*, 2002) :

- le noyau catéchol sur le cycle B ;
- le groupe 3-hydroxyle et 4-oxo du cycle C ;
- le groupe 4-oxo et 5-hydroxyle entre les cycles A et C.

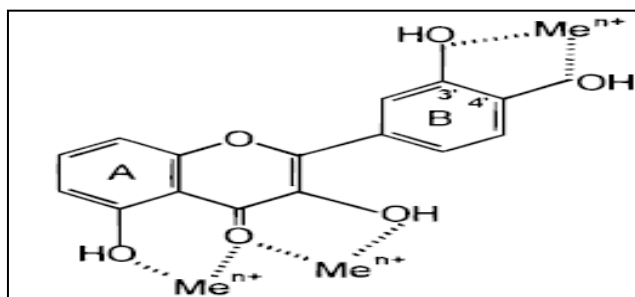


Figure 12 : Sites de liaisons aux ions métalliques (PIETTA, 2000).

➤ Inhibition des enzymes

L'interaction polyphénols-protéines ont été largement étudiés *in vitro*, particulièrement dans le cas des flavonoïdes : inhibition d'une grande variété d'enzymes (HAVSTEEN, 2002). Ce type d'interaction est impliqué dans l'inhibition de la production des ERO par formation d'un complexe inhibiteur-enzyme (NKHILI, 2009). Cette action est bien illustrée dans le cas de la xanthine oxydase, une enzyme considérée comme une source biologique importante de radical superoxyde. HANASAKI et ses collaborateurs (1994) dans une étude sur la maladie de la goutte, ont montré que les flavonoïdes peuvent agir sur l'activité de la xanthine oxydase et par conséquent, peuvent prévenir cette maladie en réduisant à la fois les concentrations de l'acide urique et celles du radical superoxyde dans les tissus humains.

II.9.2. Propriété pro-oxydante des polyphénols

Nous avons décrit précédemment les propriétés antioxydantes des flavonoïdes mais il ne faut pas négliger leurs propriétés pro-oxydantes.

Certains polyphénols particulièrement réducteurs peuvent manifester une activité pro-oxydante en entrant dans des cycles redox qui génèrent des RLs. A titre d'exemple, l'acide gallique est capable de réduire le Fe^{3+} en Fe^{2+} , ou Cu^{2+} en Cu^{+} , et ainsi d'enclencher la réaction de Fenton avec formation du radical hydroxyle. Par leurs effets pro-oxydants, certains flavonoïdes peuvent promouvoir la dégradation oxydante de l'ADN (NKHILI, 2009).

BISHT *et al* (2010) ont expliqué qu'à de fortes concentrations, les flavonoïdes peuvent agir comme pro-oxydants. A titre d'exemple la quercétine à des concentrations supérieures à $100\ \mu\text{M}$ provoque chez les rats une cytotoxicité des muscles lisses de l'aorte par production des ERO qui induisent l'apoptose.

Chapitre II : Interactions polyphénols- protéines

Les composés phénoliques possèdent des propriétés qui sont en grande partie attribuable à leur tendance à interagir entre eux et avec d'autres macromolécules, de manière réversible et irréversible formant des systèmes moléculaires organisés (BAXTER *et al.*, 1997). Ces caractéristiques leur confèrent de nombreux intérêts biologiques exploités notamment par les industries pharmaceutiques et agroalimentaires (HASLAM, 1998). D'après BENNICK (2002), l'une des propriétés caractéristiques des tanins, est leur capacité à précipiter les protéines des solutions aqueuses et à former des complexes très stables avec celles-ci. Un exemple simple de conséquence de cette complexation est l'astringence qui est due à des interactions entre les tanins et les protéines salivaires (JÖBSTL *et al.*, 2004a). Étant donné que la plupart des activités biologiques des tanins sont censées être liées à leur liaison aux protéines, l'interaction entre les tanins et les protéines a été largement étudiée (BENNICK, 2002).

Selon DUPAS (2005), les interactions polyphénols-protéines sont multiples et susceptibles de se produire à plusieurs niveaux (dans l'aliment végétal, ses dérivés, lors de leurs ingestions, dans le tractus gastro-intestinal, le sang, etc.).

II.1. Généralités sur les protéines

Les protéines sont des macromolécules caractérisées par un enchaînement d'acides aminés reliés de manière covalente par des liaisons peptidiques. Cette organisation linéaire appelée structure primaire est constituée d'une séquence d'acides aminés (il en existe vingt différents) dont l'assemblage est contrôlé par le code génétique. Selon la séquence des résidus constituant cette structure, la protéine peut adopter différentes structures secondaires, les principales étant les hélices α , les feuillets β (Figure 13) ou les coudes. La structure secondaire résulte d'un repliement local de la protéine créé par des interactions stériques et électrostatiques et stabilisée par des liaisons hydrogène entre les acides aminés. Il en existe plusieurs variétés, et il est courant qu'une protéine possède globalement plusieurs types de structures secondaires. Après une succession de repliements locaux, la protéine subit un repliement à l'échelle de la molécule toute entière qui lui donne sa structure tertiaire et son activité biologique. Ce repliement est stabilisé par tout un ensemble d'interactions conduisant le plus souvent à l'enfouissement des acides aminés hydrophobes de la protéine, la formation d'éventuelles liaisons disulfures (entre deux résidus cystéines distantes), d'interactions ioniques, de liaisons hydrogène. Finalement, l'interaction de plusieurs protéines (deux chaînes peptidiques ou plus), appelées dans ce cas sous-unités protéiques, conduit à une structure

quaternaire. Cette structure concerne un petit nombre de protéines de grande taille issues de l'agrégation des plus petites (WHITFORD, 2005).

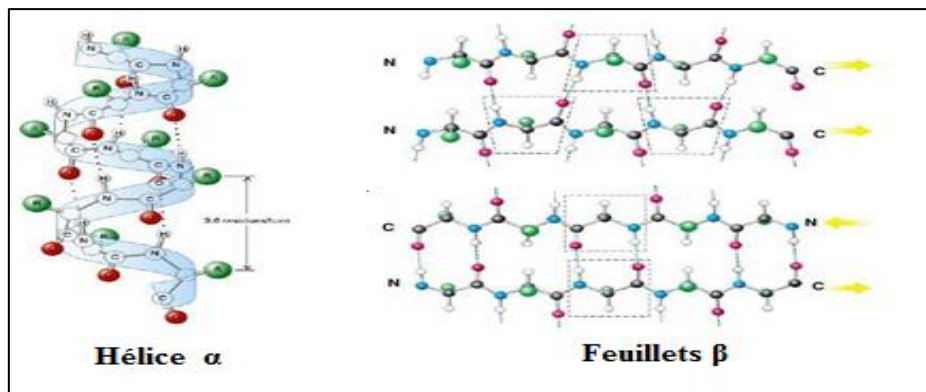


Figure 13 : Structures secondaires d'une protéine (BOUMAZA, 2015).

Individuellement ou associées sous forme de complexes, les protéines sont des éléments essentiels de tout organisme vivant puisqu'elles sont impliquées dans presque tous les processus biologiques au sein de la cellule. Les fonctions qu'elles réalisent sont basées sur leurs structures, qui une fois modifiées, présentent une influence importante sur leurs activités biologiques.

En fonction de leurs structures tertiaires, les protéines se distinguent en trois grands groupes : les protéines globulaires (protéines compactes), les protéines fibreuses (protéines allongées en forme de tiges) et les protéines membranaires.

Les protéines assurent de nombreux rôles dans la cellule. Elles peuvent être des protéines structurelles (la tropocollagène, la kératine, etc.) ou fonctionnelles (enzymes, transport, signalisation, etc.). Les protéines ne sont cependant pas des molécules entièrement rigides. Elles sont susceptibles d'adopter plusieurs conformations apparentées en réalisant leurs fonctions biologiques (WHITFORD, 2005).

D'après OZDAL et ses collaborateurs (2013), les protéines peuvent former des complexes avec des composants alimentaires, principalement les polyphénols.

II.2. Interactions polyphénols-protéines

L'élucidation des mécanismes de formation et de la nature des interactions polyphénols-protéines n'est pas un sujet d'étude récent (QUIDEAU *et al.*, 2011). En effet, ce phénomène a été déjà utilisé par nos ancêtres dans la transformation des peaux d'animaux en un matériau imputrescible, souple, imperméable et résistant : le cuir (ZIMMER et CORDESSE, 1996).

Les premières recherches effectuées sur les interactions entre les polyphénols et les protéines se sont axées sur la compréhension des modes d'association lors de la précipitation des protéines par les polyphénols (système de défense des plantes, propriété d'astringence, etc.) (QUIDEAU *et al.*, 2011).

II.2.1. Types d'interactions

QUIDEAU *et al* (2011) rapportent que la nature chimique des interactions entre les polyphénols et les protéines dépend d'une part de la structure et des propriétés physico-chimiques du polyphénol et d'une autre part des conditions environnementales (DINIZ *et al.*, 2008). Par conséquent, deux grands types d'interactions sont distingués :

- **Interactions réversibles** : formation par liaisons de faible énergie de complexes solubles qui finissent par précipiter. Il s'agit soit des complexes se formant dans l'organisme lorsque les polyphénols sont ingérés non complexés, soit de la première étape de la formation des complexes trouvés dans les aliments (HASLAM *et al.*, 1988) ;

- **Interactions irréversibles** : formation de complexes comportant des liaisons covalentes. Cette association est favorisée par la capacité du polyphénol à produire des quinones (OZDAL *et al.*, 2013). Elle se rencontre plutôt dans des aliments ayant subi une transformation industrielle tels que les jus de fruits (DUPAS, 2005).

Il est important de souligner qu'un grand nombre d'études se concentrent sur les interactions réversibles principalement en raison du manque de méthodes appropriées pour quantifier les liaisons covalentes entre molécules (OZDAL *et al.*, 2013 ; BUITIMEA-CANTÚA *et al.*, 2017).

II.2.1.1. Interactions réversibles polyphénols-protéines

D'après DINIZ *et al* (2008), les polyphénols se lient aux protéines d'une manière réversible. Cette complexation est basée sur des liaisons de faible énergie formées entre les chaînes latérales des acides aminés et les cycles aromatiques des polyphénols (SIEBERT *et al.*, 1996). Ainsi depuis plus d'une vingtaine d'années, de nombreuses équipes de recherche se sont intéressées à l'étude de ce type d'interaction en utilisant divers modèles de protéines et de polyphénols (FAURIE, 2014). À l'issue de ces différentes études, quelques exemples d'interactions réversibles seront présentés dans la prochaine section.

II.2.1.1.1. Différentes liaisons intervenant dans la complexation réversible

Selon JAKOBEK (2015), les interactions réversibles entre les polyphénols et les protéines font intervenir un ensemble de liaisons dites non covalentes. Ces dernières sont représentées par trois principaux types : liaisons ioniques, hydrogène et interactions hydrophobes (Figure 14) (MCMANUS *et al.*, 1985).

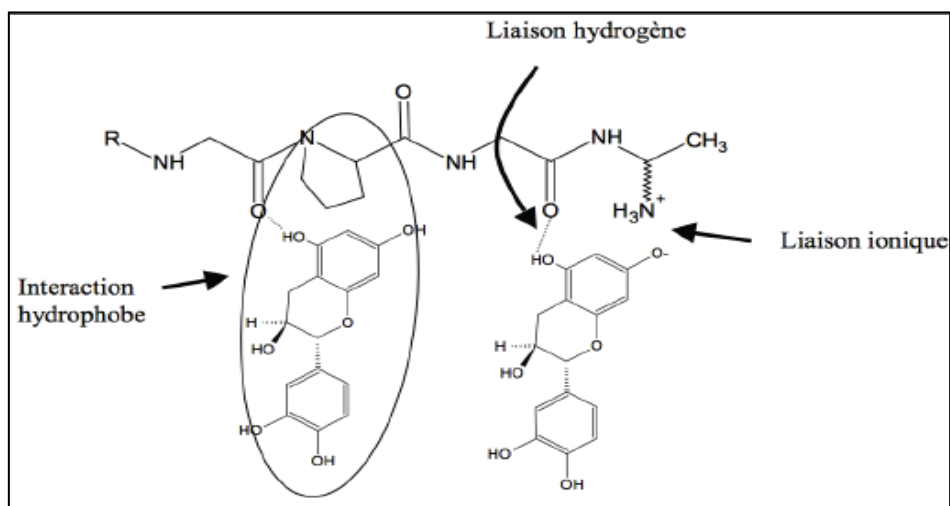


Figure 14 : Liaisons non covalentes mises en jeu dans l'interaction polyphénols-protéines (ASANO *et al.*, 1982).

- **Liaisons ioniques :** dans lesquelles des groupes de protéines chargés positivement tels que les groupes amines de la lysine réagissent avec des groupes hydroxyles chargés négativement des polyphénols (SIEBERT, 2006 ; QUAN *et al.*, 2019). HAGERMAN et BUTLER (1978) rapportent qu'aucune interaction n'a été observée entre tanins et protéines à des valeurs de pH où les groupements hydroxyles phénoliques du tanin sont ionisés, ce qui indique que les interactions ioniques avec les protéines ont peu d'importance. À noter que lorsque les groupements hydroxyles sont ionisés, des répulsions électrostatiques empêchent la complexation.

- **Liaisons hydrogène :** se forment entre les fonctions hydroxyles (-OH) des polyphénols et les groupes carbonyles (C=O) et amino- (NH₂) des protéines (DE FREITAS et MATEUS, 2012). L'implication des liaisons hydrogène dans la formation de complexes polyphénols-protéines a été démontré par SIEBERT et ses collaborateurs (1996), suite à des ajouts de diméthylformamide (accepteur pour les liaisons hydrogène) et de dioxane (solvant non polaire) dans des solutions de catéchine et de polypeptide. Ces deux solvants ont montré

un effet inhibiteur sur la formation du complexe tanin-protéine, prouvant ainsi que les liaisons hydrogène jouent un rôle majeur dans ces interactions.

- **Interactions hydrophobes :** sont également impliquées dans la conjugaison des protéines et des polyphénols, où les acides aminés hydrophobes (leucine, isoleucine, glycine, méthionine, alanine, phénylalanine, valine, tyrosine, cystéine et tryptophane) interagissent avec les cycles aromatiques non polaires des polyphénols (OZDAL *et al.*, 2013).

En général, les liaisons hydrogène et les interactions hydrophobes ont été décrites comme les principales forces motrices impliquées dans la formation de conjugués polyphénols-protéines (QUAN *et al.*, 2019).

II.2.1.1.2. Principe de la complexation réversible

Plusieurs hypothèses ont été avancées à fin d'expliquer le mécanisme de formation des complexes réversibles polyphénols-protéines. Un mécanisme de complexation a été proposé par HASLAM *et al* (1988). Selon ces auteurs, la complexation polyphénols-protéines s'effectue selon un processus de reconnaissance moléculaire induisant une précipitation.

L'efficacité de la liaison des polyphénols aux protéines provient du fait que les polyphénols sont des ligands multidentés capables de se lier simultanément (via différents groupes phénoliques) en plus d'un point à la surface des protéines (HASLAM *et al.*, 1988). Lorsque les polyphénols provoquent la précipitation des protéines, deux situations peuvent être envisagées (Figure 15). À faible concentration en protéine (Figure 15A), l'interaction est telle qu'un ou plusieurs tanins viennent se fixer sur la protéine en formant une monocouche, diminuant ainsi son caractère hydrophile, cela conduit à la formation d'agrégats. En revanche, à forte concentration en protéine (Figure 15B), les tanins joueraient un rôle d'agent de pontage, grâce à leur propriété multidentate, qui permettrait au premier complexe d'interagir avec une autre protéine. Ces étapes peuvent ainsi se répéter jusqu'à obtention d'un complexe final hydrophobe composé de plusieurs protéines pontées entre elles par les tanins conduisant au phénomène de précipitation (HASLAM *et al.*, 1988). Il s'agit d'un phénomène réversible : en effet, le précipité formé peut toutefois être à nouveau solubilisé par l'ajout de protéines (LUCK *et al.*, 1994).

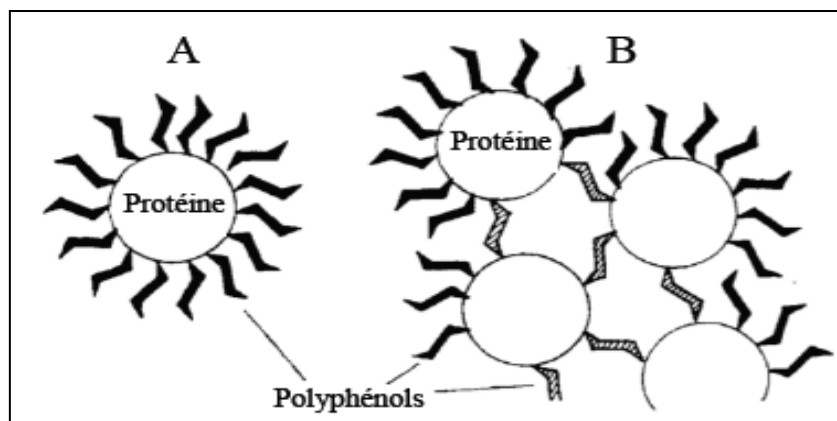


Figure 15 : Mécanisme réactionnel polyphénols-protéines ; (A) à faible concentration en protéine, (B) à concentration élevée en protéine (HASLAM *et al.*, 1988).

II.2.1.1.3. Modèles d'interactions réversibles polyphénols-protéines

II.2.1.1.3.1. Interactions des polyphénols avec les protéines salivaires

La consommation de produits riches en polyphénols, particulièrement en tanins tels que les raisins, les dattes ou les boissons comme le thé, le café, sont à l'origine de la sensation d'astringence (JÖBSTL *et al.*, 2004a ; BANDYOPADHYAY *et al.*, 2012). Cette dernière est définie comme étant la somme de plusieurs effets tels que la sécheresse (perte de lubrification), la rugosité (différence de texture dans la cavité orale) et la rétraction des muqueuses buccales (HASLAM *et al.*, 1988). D'après ces mêmes auteurs, l'astringence n'est pas circonscrite à une région particulière de la bouche, ce qui suggère qu'elle n'est pas un simple goût. En effet, selon plusieurs études (HASLAM *et al.*, 1988 ; CHARLTON *et al.*, 2002 ; JÖBSTL *et al.*, 2004a ; SOARES *et al.*, 2007 ; DE FREITAS et MATEUS, 2012), cette sensation d'astringence résulte des interactions entre les proanthocyanidines et les protéines salivaires, plus particulièrement celles riches en proline (PRPs). Ces interactions entraînent la formation d'agrégats, dont la conséquence est une perte de lubrification de la salive, généralement perçue comme une sensation désagréable dans la bouche.

Les protéines riches en proline (PRPs) sont l'une des classes dominantes des protéines salivaires (70 %) (BAXTER *et al.*, 1997 ; SOARES *et al.*, 2007 ; ADRAR *et al.*, 2019) et comme leur nom l'indique, elles sont constituées majoritairement de proline (40 %), de glycine (21 %) et de glutamine (17 %) (MEHANSHO *et al.*, 1987). Les PRPs ont tendance à avoir des conformations structurales hélicoïdales ouvertes, qui fournissent la flexibilité moléculaire et les sites de liaisons hydrogène facilement disponibles pour les tanins. Elles

sont classées en trois groupes selon leur point isoélectrique et leur degré de glycosylation : PRPs acides, basiques et glycosylées (ADRAR *et al.*, 2019). Selon BACON et RHODES (2000), les PRPs basiques ont une affinité plus forte que les autres PRPs pour les tanins.

Cependant, certaines études montrent qu'il existe d'autres protéines salivaires qui peuvent être impliquées dans le phénomène d'astringence, à savoir les histatines (protéines riches en histidine) (YAN et BENNICK, 1995 ; ADRAR *et al.*, 2019) et l' α -amylase (BAXTER *et al.*, 1997 ; SOARES *et al.*, 2007).

II.2.1.1.3.2. Interactions des polyphénols avec les protéines plasmatiques

Les bioactivités des polyphénols sont souvent exécutées dans des systèmes biologiques complexes tels que le sang où diverses interactions ont lieu (XIAO et KAI, 2012). En effet, les polyphénols sont connus pour interagir de manière non covalente avec les protéines plasmatiques du sang. Cette complexation étant réversible, permet aux complexes polyphénols-protéines de se dissocier et libérer ainsi les polyphénols libres (ZOU et XIE, 2013).

Parmi les protéines plasmatiques capables d'interagir avec les polyphénols : l'albumine sérique humaine (HSA) ou l'albumine sérique bovine (BSA). Cette dernière est largement utilisée en recherche car, d'une part, elle est commerciale et d'autre part, elle représente une protéine modèle pour l'étude de l'interaction des protéines avec les polyphénols (FRAZIER *et al.*, 2010). De plus, la BSA possède une analogie structurale avec la HSA, ce qui la rend une protéine de choix (CARVALHO *et al.*, 2004).

La BSA est une protéine soluble, présentant approximativement 60 % des protéines totales du plasma sanguin (CARTER et HO, 1994). C'est une protéine globulaire possédant un poids moléculaire important (66 KDa), caractérisée par une proportion relativement élevée en acides aminés chargés. Ce qui lui donne la capacité à transporter certaines substances et molécules bioactives comme les polyphénols (CUSHMAN et RIZACK, 1970).

Les interactions entre la BSA et les polyphénols tels que les catéchines et l'acide caféique, ont été montrées (RAWEL *et al.*, 2005 ; ADRAR *et al.*, 2019). Les données rassemblées suggèrent l'implication des liaisons hydrogène et des effets hydrophobes lors de la complexation (DUFOUR et DANGLES, 2005 ; ADRAR *et al.*, 2019). Il semble que ces liaisons se fassent à proximité des résidus tryptophane de la protéine, puisqu'il est possible de

les mettre en évidence par quenching de fluorescence, au niveau de sites de fixation (PRIGENT *et al.*, 2003).

II.2.1.1.3.3. Interactions des polyphénols du thé avec les protéines du lait

Le troisième champ d'investigation au sujet des interactions polyphénols-protéines est le phénomène d'agrégation entre les protéines laitières et les polyphénols du thé.

Le thé constitue une des sources les plus riches en polyphénols de notre alimentation. Les principales molécules qu'il contient sont des flavanols (épicatechines), des flavonols, des acides phénoliques, avec également dans le thé noir des formes condensées appelées théaflavines et théarubigènes (JOGUET, 2014).

Le thé, l'une des boissons les plus populaires au monde, est souvent consommé avec l'ajout de lait (JAKOBEK, 2015). Ce dernier est constitué de 80 % de caséines (consistant en α -caséine, β -caséine et κ -caséine) et les 20 % restant, présentent les protéines du lactosérum (principalement l' α -lactalbumine et la β -lactoglobuline) (DÖNMEZ, 2017).

Une étude *in vitro* a démontré que la liaison des polyphénols du thé vert avec les protéines du lait est hydrophobe (YUKSEL *et al.*, 2010). Cela a été prouvé dans une étude *in vitro*, récente réalisée par HASNI et ses collaborateurs (2011) où ils ont démontré que la liaison entre les polyphénols du thé avec l' α - et la β -caséine est hydrophile et hydrophobe mais la liaison hydrophobe prédomine. Selon BENNICK (2002), la liaison des polyphénols aux caséines permet de surmonter l'astringence du thé, par la capacité de ces dernières, qui présentent une teneur relativement élevée en proline, à séquestrer les polyphénols du thé dans les micelles de caséines. Par conséquent, une diminution de l'interaction des polyphénols du thé avec les protéines salivaires.

Une autre étude *in vitro* réalisée par KANAKIS *et al* (2011), montrent que la complexation des polyphénols du thé avec la β -lactoglobuline était aussi de nature hydrophile et hydrophobe.

II.2.1.1.2. Interactions irréversibles polyphénols-protéines

Les interactions irréversibles polyphénols-protéines se produisent généralement dans les produits alimentaires ayant subi des traitements plus ou moins drastiques. L'établissement de ces nouvelles liaisons est facilité par le rapprochement occasionné par les complexes formés

dans la phase réversible, et favorisé par l'intervention d'agents extérieurs tels que le dioxygène (DUPAS, 2005).

DINIZ et ses collaborateurs (2008) ont rapporté que les polyphénols réagissent facilement avec les espèces réactives de l'oxygène par conséquence, l'oxydation de leurs groupements phénoliques en quinones. Selon JONGBERG *et al* (2015), ces substances sont des composés électrophiles déficients en électrons, ce qui leur permet de réagir avec les protéines.

II.2.1.2.1. Liaisons impliquées dans la complexation irréversible

D'après LE BOURVELLEC et RENARD (2012), les interactions dites irréversibles entre les polyphénols et les protéines se font par le biais de liaisons covalentes (ponts disulfures), ce qui a été démontré par KROLL *et al* (2003). Ces dernières sont très résistantes à la perturbation par les agents dénaturants (DINIZ *et al.*, 2008).

Les quinones étant des produits intermédiaires réactifs, réagissent facilement avec les résidus nucléophiles des chaînes latérales des protéines, comme la méthionine, la lysine, le tryptophane et la cystéine, ce qui aboutit à la formation de liaisons covalentes (QUAN *et al.*, 2019). Une fixation covalente a été suggérée entre les enzymes et les polyphénols (α - amylase, trypsine et lysozyme) (ROHN *et al.*, 2002). Cependant, à l'heure actuelle, il n'y a que peu d'arguments pour l'existence de liaisons covalentes entre les polyphénols et les protéines.

II.2.1.2.2. Principes de la complexation irréversible

Les interactions irréversibles polyphénols-protéines peuvent être le résultat de liaisons entre des tanins oxydés en *ortho*-quinones et des protéines ou entre des semi-quinones et des radicaux portés par les protéines ou encore des carbocations formés suite à la rupture des liaisons interflavaniques des tanins (en milieu acide et à chaud) et des sites réactifs des protéines (WATRELOT, 2013).

II.2.1.2.2.1. Formation et réactivité des *ortho*-quinones

En présence d'oxygène, les polyphénoloxydases (PPO) sont capables de catalyser l'hydroxylation des monophénols en *ortho*-diphénols via l'activité crésolase, puis l'oxydation de ces derniers en *ortho*-quinones colorées, est assurée par l'activité de deux enzymes : la catécholase et la laccase (Figure 16). Cette oxydation est le mécanisme de brunissement

enzymatique observé lors de la fabrication de jus de pomme par exemple (ROUET-MAYER *et al.*, 1990).

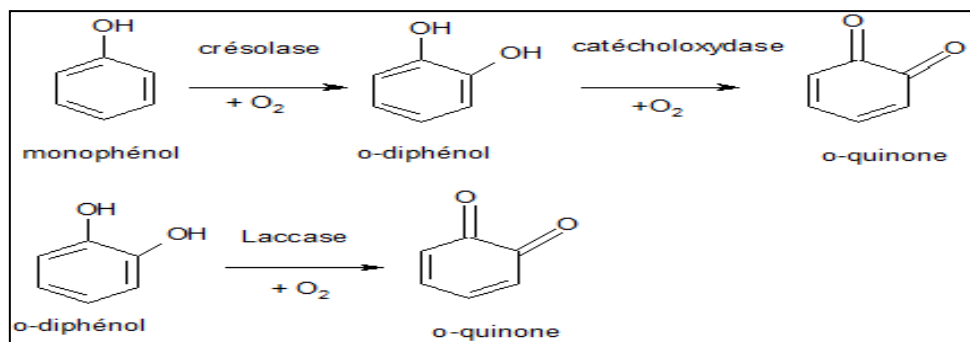


Figure 16 : Réaction d'oxydation des polyphénols par des polyphénoloxydases (WATRELOT, 2013).

Les *ortho*-quinones formées possèdent un fort pouvoir électrophile ce qui facilite leur réaction avec les chaînes latérales des protéines par liaisons covalentes (BUI TIMEA-CANTÚA *et al.*, 2017), permettant ainsi de générer des modifications post-traductionnelles sous forme d'adduits protéines-phénols (JONGBERG *et al.*, 2015). La réaction entre une quinone générée par l'oxydation du groupement catéchol d'un phénol (Figure 17a) et un groupe thiol libre (SH) dans une protéine est illustrée dans la figure 17. Lorsque l'adduit protéine-phénol est formé (Figure 17b), les groupes hydroxyles sur le fragment catéchol sont régénérés. Par la suite, le catéchol lié aux protéines est capable de subir une seconde réaction d'oxydation (Figure 17c), permettant une réaction avec un autre nucléophile formant une seconde liaison covalente. Si deux nucléophiles de molécules protéiques différentes réagissent avec le même composé phénolique (Figure 17d), une réticulation protéique médiée par le phénol est créée (JONGBERG *et al.*, 2015).

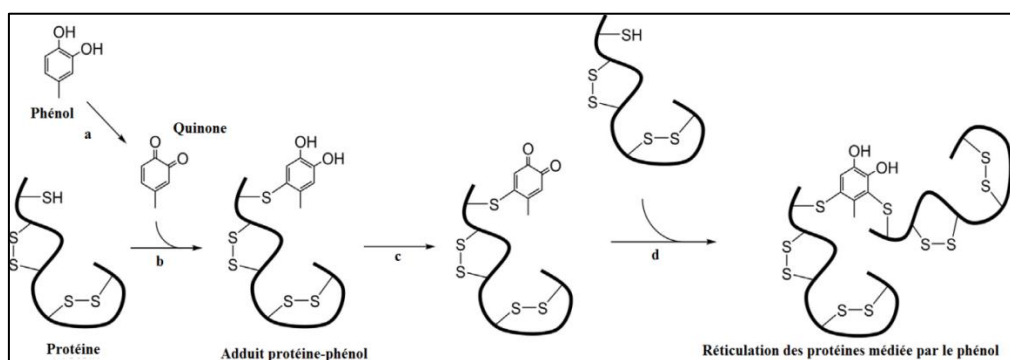


Figure 17 : Réaction des diphenols avec des thiols libres dans la chaîne latérale des protéines (JONGBERG *et al.*, 2015).

II.2.1.2.2.2. Formation et réactivité des carbocations

À pH acide (≤ 4), les liaisons interflavoniques reliant les unités constitutives des proanthocyanidines sont rompues, ce qui aboutit à la formation de carbocations très électrophiles. Ceux-ci réagissent rapidement avec les groupements nucléophiles des protéines, notamment les groupements SH. En l'absence de tels groupements, il peut se produire des phénomènes de polymérisation entre les différentes molécules en présence, ce qui conduit à terme à la formation de composés de très hauts poids moléculaires qui précipitent avec le temps (HASLAM *et al.*, 1988).

II.2.1.2.3. Modèle d'interaction irréversible : protéines végétales et polyphénols

Les interactions entre les protéines végétales et les polyphénols sont peu étudiées dans la littérature. RAWEL et ses collaborateurs (2002) mettent en évidence les interactions covalentes entre les protéines de soja (la glycine) et divers polyphénols (acide caféique, acide chlorogénique, acide gallique, quercétine, apigénine, kœmpférol et myricétine) à pH=9. Cette étude montre que les polyphénols se greffent sur les résidus tryptophane, lysine et en général sur les groupements amino et thiol des protéines avec des taux de greffage différents. RAWEL et son équipe expliquent que cette différence peut être due à la réactivité des polyphénols, qui augmente avec le nombre de groupements hydroxyles et dépend également de la position de ces groupements.

II.2.2. Paramètres influençant l'interaction polyphénols-protéines

Il existe plusieurs paramètres qui affectent les interactions polyphénols-protéines (OZDAL *et al.*, 2013), qui peuvent être regroupés en deux classes :

- les paramètres intrinsèques liés à la nature de la protéine et du polyphénol ;
- les paramètres extrinsèques liés aux conditions réactionnelles dans lesquelles s'effectuent la complexation.

Ces facteurs déterminent les conjugués polyphénols-protéines formés par des interactions non covalentes ou covalentes (QUAN *et al.*, 2019).

II.2.2.1. Paramètres intrinsèques

II.2.2.1.1. Paramètres liés à la protéine

a- La taille moléculaire

Selon CHARLTON *et al* (1996), une taille moléculaire plus importante permet à la protéine de s'enrouler autour du tanin augmentant ainsi les possibilités d'interaction. A priori,

SIMON (2003) a rapporté qu'une protéine trop longue a tendance à se replier masquant ainsi les sites de fixation et par voie de conséquence limiter la reconnaissance de certains sites d'interaction entre les polyphénols et les protéines. Néanmoins, cette taille lui permet l'augmentation du nombre de sites potentiels étant donné l'aspécificité de la réaction.

b- Le poids moléculaire et la structure

HAGERMAN et BUTLER, en utilisant un test de liaison compétitif entre les proanthocyanidines et un grand nombre de protéines et de peptides ont indiqué que les protéines de poids moléculaire inférieur à 20 000 Da, ont des affinités plutôt faibles pour les tanins et que les peptides avec moins de six résidus d'acides aminés interagissent très faiblement (HAGERMAN et BUTLER, 1981). Ces mêmes auteurs ont également conclu que les protéines globulaires étroitement enroulées ont des affinités beaucoup plus faibles pour le tanin que les protéines enroulées de manière conformationnelle et aléatoire, probablement en raison de l'accessibilité accrue du squelette de ces dernières et également d'une exposition plus élevée aux acides aminés hydrophobes nécessaires à la mise en place de liaisons hydrogène (HAGERMAN et BUTLER, 1981).

c- La composition en acides aminés

La composition en acides aminés des protéines a un impact sur leurs associations avec les polyphénols. Les interactions sont plus fortes entre les polyphénols et les prolines ou les hydroxyprolines qu'avec d'autres acides aminés comme la phénylalanine (SIEBERT, 1999).

d- La glycosylation

L'effet de la glycosylation des protéines sur l'interaction polyphénol-protéique n'est pas très bien documenté. L'effet de la glycosylation dans les protéines salivaires a été le plus souvent signalé comme indirect en améliorant la solubilité des complexes colloïdaux formés lors de la liaison aux tanins, en exigeant une concentration plus élevée de tanins pour que la précipitation se produise (PASCAL *et al.*, 2007). Selon ASQUITH *et al* (1987), les interactions entre les proanthocyanidines et une glycoprotéine riche en proline ont été suggérées comme étant plus fortes que celles avec la forme déglycosylée de la protéine, tel que déterminé par un test de liaison compétitif avec précipitation de BSA marqué.

II.2.2.1.2. Paramètres liés au polyphénol

a- Le poids et la taille moléculaire

L'augmentation du poids moléculaire du polyphénol favorise la complexation avec les protéines. Les polyphénols sont capables d'établir des liaisons multidentates avec les protéines et l'augmentation de leur masse permettrait d'accentuer ce phénomène (OKUDA *et al.*, 2006).

Selon DE FREITAS et MATEUS (2012), les molécules tanniques doivent être suffisamment petites pour pouvoir pénétrer les régions protéiques, mais en même temps, suffisamment larges pour pouvoir lier les chaînes protéiques en plus d'un point. Donc, pour les galloyl-D-glucose, l'addition de groupes galloyl ester augmente la complexation avec la BSA avec un maximum pour le pentagalloyl glucose (MCMANUS *et al.*, 1985).

De même, un tanin condensé doit avoir au moins trois sous-unités flavonol pour pouvoir précipiter les protéines. Les dimères sont moins efficaces tandis que les monomères sont généralement incapables de précipiter les protéines (ARTZ *et al.*, 1987).

b- La structure

La structure des polyphénols affectent l'accès aux sites accepteurs lors des interactions avec les protéines (SIEBERT *et al.*, 1996). L'efficacité des polyphénols à lier les protéines réside dans leur structure polydentée qui leur permet de s'attacher simultanément et consécutivement à plus d'un emplacement de la structure protéique (HASLAM, 1998).

c- La flexibilité conformationnelle

La flexibilité conformationnelle des tanins favorise leur association aux protéines (HASLAM, 1998 ; MCMANUS *et al.*, 1985).

d- Le degré d'hydroxylation

SIMON (2003) rapporte que le nombre de groupements hydroxyles sur les cycles aromatiques pourraient moduler l'interaction polyphénols-protéines. Ainsi, plus il y a de OH, l'affinité est importante et donc le nombre d'unités monomériques fait accroître la quantité en hydroxyle. De plus, MCMANUS *et al* (1985) ont démontré qu'un noyau aromatique avec au moins deux groupes hydroxyles est requis pour la complexation. Les groupes OH voisins sont plus actifs que les groupes séparés (SIEBERT et LYNN, 1998).

II.2.2.2. Paramètres extrinsèques

Ces paramètres concernent les conditions de solubilisation du complexe, on distingue :

a- Le pH

L'interaction polyphénols-protéines est fortement affectée par le pH. Selon la littérature, l'affinité des protéines pour les polyphénols augmente sensiblement quand le pH est proche du point isoélectrique (pH_i) de la protéine, ce qui permet une précipitation maximale. Ceci est dû à la diminution des répulsions électrostatiques des molécules protéiques à ce pH (HAGERMAN et BUTLER, 1978).

Les résultats de MAKKAR et BECKER (1996) montrent que les pH alcalins inactivent les tanins. Selon LOOMIS et BATTAILE (1966), la capacité des tanins condensés à précipiter les protéines est indépendante du pH tant que celui-ci est au-dessous de 8.

Les constantes d'acidité (pKa) des polyphénols se situent en majorité à des valeurs entre 7 et 9 (HERRERO-MARTÍNEZ *et al.*, 2005). À des pH supérieurs aux pKa, les polyphénols se retrouvent ainsi sous leur forme non protonée et perdent leur capacité à complexer les protéines. Il est suggéré que le pH a des effets sur la conformation des protéines ou la structure du polyphénol, en déterminant l'interaction covalente ou non covalente des conjugués protéine-polyphénol (QUAN *et al.*, 2019).

b- La température

C'est un paramètre qui peut influencer l'affinité de l'interaction. La précipitation des protéines par les tanins augmente généralement avec la température (OH *et al.*, 1980). L'augmentation de la température déroule les protéines, permettant aux sites hydrophobes concentrés à l'intérieur de celles-ci d'être exposés aux interactions hydrophobes qui peuvent les lier aux polyphénols (SIEBERT *et al.*, 1996). Mais une augmentation excessive de la température conduit à inactiver les tanins (MAKKAR et BECKER, 1996). De même, le complexe tanin-protéine déjà formé pourrait être plus stable à basse température (HAGERMAN et BUTLER, 1978).

c- Le ratio polyphénols/protéines

La quantité de précipité formé dépend des concentrations en polyphénols et protéines dans la solution ainsi que du rapport polyphénols/protéines (SIEBERT *et al.*, 1996).

De plus, selon MCMANUS *et al.* (1985), la stœchiométrie et la taille des complexes polyphénols-protéines sont influencées par les concentrations des réactifs et le rapport protéines/polyphénols. En effet, pour une concentration donnée en protéines, la quantité de précipité augmente avec l'addition de polyphénols pour arriver à un plateau qui est souvent suivi d'une diminution. Une allure similaire est observée en fixant la concentration en polyphénols et en faisant varier la concentration en protéines (SIEBERT *et al.*, 1996). Ce phénomène a été noté par d'autres auteurs (HASLAM *et al.*, 1988 ; LUCK *et al.*, 1994) et peut être expliqué par la réversibilité de l'agrégat tanin-protéine.

d- La force ionique

Les effets de la force ionique sur les interactions entre les polyphénols et les protéines sont complexes et dépendent des partenaires en présence. La force ionique, plus elle augmente, plus l'interaction entre des tanins hydrolysables et des protéines augmente (HAGERMAN *et al.*, 1998). Mais il reste difficile de savoir si l'effet de la force ionique est lié à des modifications de conformation des protéines ou des polyphénols, voire à une modification des propriétés du solvant ; tous ces mécanismes ont été mis en cause.

e- Le temps d'incubation

La réaction de complexation est très rapide en présence de tanins et de protéines purifiés : moins de 15 minutes quelles que soient les protéines pures et quelle que soit la classe de tanins purifiés, alors que 15 h de contact sont, par exemple, nécessaires pour obtenir le poids maximal de complexes précipités de caséines purifiées en présence de tanins non purifiés extraits de feuilles de chêne (ZIMMER et CORDESSE, 1996).

f- Les solvants

CODORNIU-HERNÁNDEZ *et al* (2003) concluent que la présence de l'eau favorise entropiquement la réaction entre les protéines contenant la proline. OH *et al* (1980) affirment que les deux modes d'association entre les tanins et les protéines dépendent du solvant. Les liaisons hydrogène sont favorisées dans les solvants hydrophobes comme le tétrachlorure de carbone, tandis que les liaisons hydrophobes sont favorisées dans les solvants hydrophiles ou polaires comme l'eau.

g- Les polysaccharides

L'interaction entre tanins et protéines est influencée par la présence d'autres co-substrats comme les polysaccharides (Figure 18) (HASLAM, 1998).

A l'exception du dextrane, la plupart d'entre eux (glucose, arabinogalactan, β -cyclodextrine, gomme arabique, pectine, gomme de xanthane, acide polygalacturonique) conduisent à une solubilisation des complexes tanins-protéines à divers degrés (DE FREITAS *et al.*, 2003). Une combinaison de plusieurs approches analytiques a permis de postuler le mécanisme proposé par SOARES *et al* (2009) : dans certains cas, les polysaccharides forment un complexe ternaire en « enveloppant » le complexe tanin-protéine existant. Ceci conduit à une augmentation de la taille des particules en solution, et peut, selon les propriétés du polysaccharide, aboutir à la solubilisation du complexe (Figure 18a). Le polysaccharide peut également être en compétition avec les protéines pour complexer les tanins. Le complexe tanin-protéine existant est détruit au profit d'un complexe tanin-polysaccharide, la taille des agrégats diminue (Figure 18b).

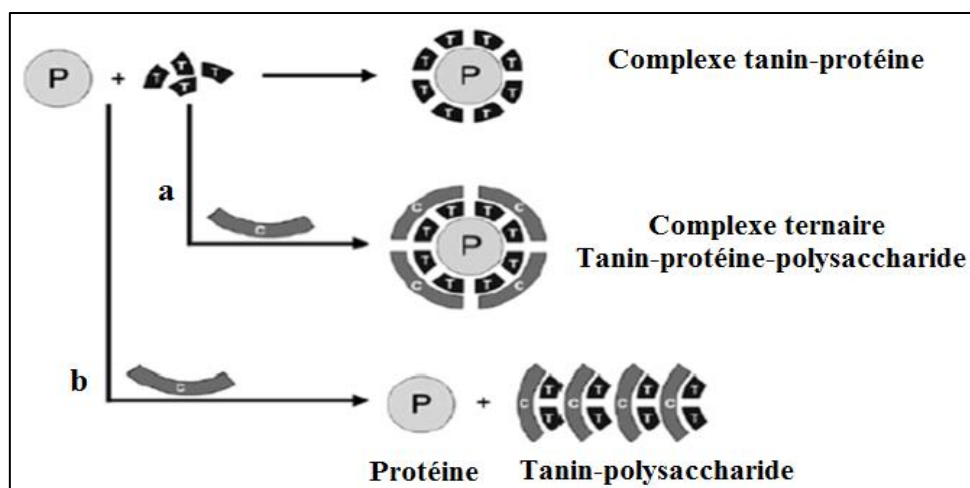


Figure 18 : Effet des polysaccharides sur l'interaction tanins-protéines (DE FREITAS et MATEUS, 2012).

II.3. Techniques utilisées dans l'analyse des interactions polyphénols-protéines

Diverses techniques à la fois au niveau macromoléculaire ou moléculaire ont été mises en œuvre en utilisant divers modèles de protéines ou de tanins dans le but d'analyser les différentes interactions qui s'effectuent entre eux (Tableau IV).

Du point de vue macromoléculaire, l'ensemble des techniques employées se base principalement sur les propriétés de diffusion de la lumière. On retrouve des expériences de néphélométrie permettant de mesurer la turbidité d'une solution, de diffusion dynamique de la lumière mais également des expériences de titration calorimétrique, de dichroïsme circulaire, de mesure de radioactivité, etc. D'autre part, du point de vue moléculaire, de nombreuses techniques ont été adaptées dans l'objectif d'étudier les interactions tanins-protéines. On trouve ainsi des techniques de spectrométrie de masse, des techniques de résonance magnétique nucléaire couplées ou non à de la modélisation moléculaire (FAURIE, 2014).

Tableau IV : Différents modèles et techniques d'analyse des interactions tanins-protéines trouvés dans la littérature.

Niveau d'observation	Protéines	Tanins	Méthodes	Référence bibliographique
Macromoléculaire	BSA	Différents polyphénols	Néphélométrie / Turbidité	(DE FREITAS et MATEUS, 2001).
	BSA	Tanins du thé, raisin, sorgho	Titration calorimétrique	(FRAZIER <i>et al.</i> , 2003).
	BSA	Ellagitanin, Gallotanin, ou Procyanidine	Mesure de radioactivité de la BSA	(HAGERMAN et BUTLER, 1981 ; HAGERMAN <i>et al.</i> , 1998).
	β - caséine	Epigallocatechine Gallate	Microscopie électronique à transmission et ultracentrifugation analytique	(JÖBSTL <i>et al.</i> , 2004b).
	PRP	Divers tanins	Diffusion de la lumière, titration par microcalorimétrie et dichroïsme circulaire	(PASCAL <i>et al.</i> , 2009).
Moléculaire	PRP	Catéchine	Spectrométrie de masse	(CANON <i>et al.</i> , 2011).
	Fragments de PRP	Divers tanins	La modélisation moléculaire et la résonance magnétique nucléaire	(SIMON <i>et al.</i> , 2003).

Chapitre III : Influence de l'interaction polyphénols- protéines sur le pouvoir antioxydant

Diverses études ont rapporté que les interactions entre les polyphénols et les protéines ont un effet sur les propriétés biologiques des deux composés (CHARLTON *et al.*, 2002). En effet, d'après DE MORAIS *et al* (2020), cette complexation affecte la biodisponibilité et le pouvoir antioxydant des polyphénols ; mais aussi la structure, la digestibilité et les fonctions des protéines.

III.1. Effets des interactions polyphénols-protéines sur les polyphénols

Les interactions polyphénols-protéines peuvent influencer les polyphénols. Selon certaines études, ces derniers peuvent interagir de manière irréversible avec les protéines alimentaires et les enzymes digestives dans l'intestin et être transportés *in vivo*, liés aux protéines plasmatiques (GALLO *et al.*, 2013). En général, ces interactions ont le potentiel d'affecter de manière significative la biodisponibilité des polyphénols et par conséquent, leur capacité antioxydante pourrait être également modifiée (BANDYOPADHYAY *et al.*, 2012 ; GALLO *et al.*, 2013). D'autre part, en raison des interactions des polyphénols avec les protéines, celles-ci pourraient être des porteurs de polyphénols à travers le tractus gastro-intestinal et permettent leur protection vis-à-vis des réactions d'oxydation (JAKOBEK, 2015).

Plusieurs études *in vivo* et *in vitro* se sont intéressées à l'évaluation des effets des interactions polyphénols-protéines sur la biodisponibilité et le pouvoir antioxydant des polyphénols. La problématique de ce genre d'interaction se situe au niveau de la biodisponibilité des polyphénols, notamment pour le mélange du lait et du thé. Des études contradictoires montrent d'un côté que les complexes polyphénols-protéines n'influencent en rien la biodisponibilité des polyphénols et leurs actions bénéfiques pour la santé, alors que d'autres démontrent que ces complexes empêchent une bonne absorption des polyphénols par le système digestif et inhibent leurs pouvoirs antioxydants (JOGUET, 2014).

III.1.1. Effets sur la biodisponibilité

III.1.1.1. Effets sur la biodisponibilité *in vivo*

Des études antérieures décrivaient des effets minimes voir nuls de l'interaction protéines-polyphénols sur la biodisponibilité de ces derniers. KEOGH *et al* (2007) ont mené des études expérimentales sur des sujets humains composés de 24 hommes et femmes d'âge moyen pour évaluer si l'interaction entre les protéines du lait et les polyphénols du cacao modulent l'absorption et la concentration des polyphénols dans le plasma. Il a été prouvé que le lait en poudre n'influçait pas la concentration moyenne en polyphénols. Bien que cela ait légèrement accéléré l'absorption, cela n'avait aucune signification physiologique (KEOGH *et al.*, 2007).

Dans une autre étude menée *in vivo*, sur onze volontaires humains en bonne santé, SERAFINI *et al* (2009) ont étudié la biodisponibilité des composés phénoliques des myrtilles consommées avec et sans lait. Les résultats ont montré que l'ingestion de bleuets augmentait les concentrations plasmatiques d'acides caféique et férulique. Cependant, il y avait une réduction des concentrations plasmatiques maximales d'acide caféique et férulique ainsi que de l'absorption globale de l'acide caféique lorsque les bleuets et le lait étaient ingérés. En conclusion de cette étude, les chercheurs ont suggéré que les interactions du lait et des myrtilles réduisent l'absorption d'acide caféique (SERAFINI *et al.*, 2009).

Des études plus récentes décrivent des effets positifs ou négatifs. DUARTE et FARAH (2011) ont également étudié l'effet de la consommation simultanée de café et de lait sur l'excrétion urinaire de l'acide chlorogénique et de ses métabolites. Les sujets expérimentaux ont été soumis à la consommation d'eau, de café instantané dissous dans l'eau et de café instantané dissous dans le lait. Après 24 h de consommation, l'analyse de l'urine des sujets a montré que la quantité de l'acide chlorogénique et des métabolites récupérés après la consommation de café-lait combiné ($40 \% \pm 27 \%$) était systématiquement inférieure chez tous les sujets par rapport à celle du café seul ($68 \% \pm 20 \%$). Il a été suggéré que la consommation simultanée de lait et de café peut altérer la biodisponibilité de l'acide chlorogénique du café chez l'homme (DUARTE et FARAH, 2011).

Autre étude réalisée par BURG-KOOREVAAR et son équipe (2011) afin de vérifier si l'interaction du lait réduit la biodisponibilité des catéchines du thé. L'ajout de lait au thé noir a entraîné la formation de complexes polyphénols-protéines et une diminution de la récupération totale des catéchines. Les complexes polyphénols-protéines ont été dégradés pendant la digestion. Il était très peu probable que la consommation de thé avec ou sans lait entraîne une différence de concentration plasmatique de catéchine. Ce résultat est en désaccord avec d'autres études dans lesquelles une diminution de la biodisponibilité des polyphénols a été observée sous l'effet des interactions polyphénols-protéines (BURG-KOOREVAAR *et al.*, 2011).

III.1.1.2. Effets sur la biodisponibilité *in vitro*

Plusieurs études ont documenté sur l'effet des interactions polyphénols-protéines sur la biodisponibilité des polyphénols *in vitro*.

DUPAS *et al* (2006) ont étudié l'effet de l'ajout de lait au café sur la biodisponibilité des composés phénoliques du café, principalement l'acide chlorogénique. Les interactions entre ce dernier et les protéines du lait ont été étudiées. L'absorption et la biodisponibilité de l'acides chlorogénique ont ensuite été étudiées *in vitro* en utilisant un modèle cellulaire Caco-

2 (une lignée cellulaire humaine d'origine intestinale) couplé à un processus de digestion *in vitro*. Les résultats ont révélé que l'absorption de ce polyphénol sous sa forme native est faible et non modifiée par l'ajout de protéines de lait. Ces données ont montré la présence d'interactions entre les composés phénoliques du café et les protéines du lait, mais aucun effet significatif n'a été observé sur la biodisponibilité de l'acide chlorogénique (DUPAS *et al.*, 2006).

D'autre part, NEILSON *et al* (2009) ont étudié l'effet de l'ajout de lait au chocolat sur la biodisponibilité de l'épicatéchine du chocolat. Selon les résultats, la biodisponibilité *in vitro* n'était pas significativement modifiée, ce qui est en accord avec les études suggérant que la présence de lait n'affecte pas négativement la biodisponibilité des flavan-3-ols de cacao (NEILSON *et al.*, 2009).

Cependant, il est difficile de tirer des conclusions sur l'influence de la matrice alimentaire, notamment les protéines sur la biodisponibilité des polyphénols en se basant uniquement sur des comparaisons de biodisponibilité des polyphénols dans différents aliments.

III.1.2. Effets sur l'activité antioxydante des polyphénols

En plus de leur effet sur la biodisponibilité, les interactions polyphénols-protéines pourraient affecter l'activité antioxydante des polyphénols. De ce fait, diverses études se sont intéressées à l'effet de cette complexation sur cette dernière (MORAND et MILENKOVIC, 2014).

Le pouvoir antioxydant des polyphénols peut s'exprimer à deux niveaux :

- soit dans l'aliment, en protégeant les lipides alimentaires de l'oxydation avant leur ingestion ;
- soit après ingestion, en protégeant les lipides alimentaires lors du tractus gastro-intestinal, ou en limitant les phénomènes associés au stress oxydatif (oxydation des lipoprotéines, des membranes cellulaires, etc.) (DUPAS, 2005).

III.1.2.1. Effets sur l'activité antioxydante des polyphénols dans l'aliment

Le « pouvoir antioxydant d'un aliment » se caractérise par la nature, la quantité, et l'activité des molécules susceptibles d'avoir une action antioxydante qu'il contient. Cette donnée ne peut être mesurée en extrayant ces molécules de l'aliment, puisque le mode d'extraction choisi en élimine nécessairement une partie. De plus, si on isole les différents antioxydants du produit, on ne prend pas en compte les antagonismes et les synergies. La mesure de cette donnée permet de déterminer si tel ou tel aliment est plus intéressant

potentiellement qu'un autre pour l'organisme. Enfin, il est possible que la forme d'ingestion des polyphénols, libre ou liée, de manière covalente ou non, à des protéines, ait une influence sur leur pouvoir antioxydant (DUPAS, 2005). Quelques exemples représentant l'effet de ces interactions sur l'activité antioxydante des polyphénols seront développés ci-dessous.

III.1.2.1.1. Cas du brunissement enzymatique des fruits

L'interaction entre les polyphénols du fruit et la polyphénoloxylase modifie de façon radicale la couleur du fruit, conduisant à des colorations brunes. Ce type d'interaction polyphénols-protéines conduit à une modification du pouvoir antioxydant des polyphénols. En effet, transformés en quinones par l'action de l'enzyme, ceux-ci deviennent extrêmement réactifs et se lient de façon covalente à certains résidus acides aminés des protéines, rendant ainsi les groupements phénoliques inaccessibles et donc la diminution de leur pouvoir antioxydant (DUPAS, 2005).

III.1.2.1.2. Cas de la transformation des fèves de cacao

Dans certains aliments tels que le cacao, les interactions polyphénols-protéines peuvent être recherchées. En effet, les interactions entre protéines et leucoanthocyanidines se produisant durant l'étape de fermentation de ce produit seraient à l'origine d'une diminution de son astringence (DUPAS, 2005). C'est d'ailleurs probablement ce même processus qui conduit les consommateurs à rajouter du lait dans certaines boissons. De ce fait, le pouvoir antioxydant potentiel de l'aliment se trouve ainsi amoindri (SÁNCHEZ-GONZÁLEZ *et al.*, 2005).

III.1.2.2. Effets sur l'activité antioxydante des polyphénols dans l'organisme humain

Lorsque l'aliment est ingéré, on peut se demander si les composés phénoliques liés aux protéines sont susceptibles d'être libérés lors de la digestion, ou au contraire, si la complexation peut s'en trouver renforcée. De plus, dans l'organisme, de nombreuses interactions, qui n'existaient pas dans l'aliment seul, peuvent se produire lorsque celui-ci se trouve en interaction avec les protéines du milieu digestif. De même, lorsqu'ils sont ingérés, les polyphénols liés aux protéines peuvent avoir un pouvoir antioxydant différent vis-à-vis des lipides des parois du tube digestif ou de ceux du bol alimentaire que leurs équivalents libres (DUPAS, 2005).

Compte tenu des données essentielles de la biodisponibilité des polyphénols, à savoir leur faible niveau d'absorption couplé à l'intensité de leur métabolisme qui produit des

métabolites à potentialité antioxydante réduite. En effet, les faibles taux circulants de polyphénols ($< 1 \mu\text{M}$) par rapport à ceux des autres antioxydants endogènes (glutathion, acide urique, etc.) ou exogènes (vitamines E, C, etc.) ne permettent pas d'envisager une action antioxydante directe des polyphénols dans l'organisme. Ceci toutefois à l'exception du tractus gastro-intestinal où les polyphénols présents en quantité importante peuvent agir en tant que piègeurs de RLs (MORAND et MILENKOVIC, 2014).

III.1.2.2.1. Effet au niveau buccal

La plupart des publications de la littérature étudie l'interaction polyphénols-protéines dans des milieux réactionnels proche de la réalité, sans provoquer la réticulation par oxydation (DUPAS, 2005). Selon le même auteur, les interactions intervenant dans le phénomène d'astringence, avec les protéines salivaires peuvent bloquer les fonctions phénoliques, d'où il est supposé qu'elles font diminuer le pouvoir antioxydant que les polyphénols pourraient exercer vis-à-vis des muqueuses buccales.

III.1.2.2.2. Effet au niveau gastro-intestinal

KROLL *et al* (2000) ont rapporté que les complexes polyphénols-protéines à liaison covalente tels que le complexe myoglobine-acide phénolique (acide caféique, chlorogénique et quinones correspondantes), après digestion, feraient diminuer le potentiel antioxydant des composés phénoliques vis-à-vis des lipides lors du tractus gastro-intestinal si les groupements phénoliques sont bloqués par l'interaction.

III.1.2.2.3. Effet au niveau sanguin

Ainsi, SERAFINI *et al* (1996) montrent que l'addition de 25 % de lait à une infusion de thé vert ou noir annule totalement le pouvoir antioxydant acquis par le plasma après ingestion de la même quantité de thé pur chez l'homme. Des résultats similaires ont été trouvés par le test FRAP (Ferric Reducing Ability of Plasma) pour une consommation de 6 tasses de thé noir tout au long d'une matinée, avec ou sans lait (LANGLEY-EVANS, 2000). Dans les deux cas, les auteurs attribuent ce phénomène à la formation de complexes polyphénols-protéines lactiques, non dissociés au pH gastrique, entraînant la non absorption des polyphénols et donc la disparition du pouvoir antioxydant. Cette hypothèse est confirmée par les travaux de d'autres auteurs, qui montrent que l'incubation *in vitro* d'extraits de thé vert ou noir avec différentes protéines lactiques (caséines et albumine) se traduit par un masquage partiel du pouvoir antioxydant des polyphénols du thé (ARTS *et al.*, 2002). L'annulation du pouvoir antioxydant acquis par le plasma suite à l'ajout de lait dans le thé ingéré par les sujets pourrait donc être due dans un premier temps à une complexation d'une partie des composés actifs du

thé dans la tasse elle-même avant ingestion. Les composés restants pourraient ensuite se complexer avec des protéines salivaires et/ou intestinales, voire des protéines plasmatiques.

Des chercheurs ont étudié les interactions entre le plasma sanguin humain et la quercétine, la rutine, la catéchine et le 7-monohydroxyéthylrutoside en utilisant la méthode ABTS (acide 2,2'-azino-bis (3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique)). Ils ont constaté que la capacité antioxydante du plasma sanguin humain enrichi de ces composés phénoliques était inférieure à la somme des capacités antioxydantes des deux composants. Cet effet s'est avéré beaucoup plus faible dans le plasma déprotéiné. Par conséquent, il a été attribué aux interactions des catéchols avec le plasma sanguin humain. Cependant, la capacité antioxydante de l' α -tocophérol, qui se lie également aux protéines, n'est pas affectée par l'interaction. Cela signifie qu'en plus de la capacité antioxydante du composé lui-même, l'environnement dans lequel l'antioxydant doit exécuter sa fonction est important (ARTS *et al.*, 2001).

LEENEN *et al* (2000) ont également étudié l'effet de l'ajout de lait sur la capacité antioxydante du plasma d'échantillons de thé noir et vert *in vivo*. Des échantillons de sang ont été prélevés au départ et à plusieurs moments jusqu'à 2h après la consommation de thé. Le plasma a été analysé pour les catéchines totales et l'activité antioxydante, en utilisant le test FRAP. Les résultats ont indiqué que l'ajout de lait au thé noir ou vert n'affectait pas de manière significative l'activité antioxydante du plasma. Dans une autre étude de REDDY *et al* (2005), les résultats étaient en accord avec les résultats de LEENEN *et al* (2000). Ils ont étudié l'effet de l'ajout de lait au thé noir sur la capacité à moduler le stress oxydatif et le statut antioxydant chez des volontaires humains de sexe masculin adultes. Il n'a pas affecté les effets bénéfiques du thé noir sur l'activité antioxydante totale du plasma et la résistance du plasma à l'oxydation induite *ex vivo*. Les résultats suggèrent que l'ajout de lait ne peut pas empêcher le thé noir de moduler le statut antioxydant des sujets et que la consommation de thé noir avec ou sans lait prévient les dommages oxydatifs *in vivo* (REDDY *et al.*, 2005).

De même, SERAFINI *et al* (2003) ont mis en évidence *in vivo* une diminution de la capacité antioxydante du plasma humain si le chocolat (solide) était consommé en présence de lait ou sous forme de chocolat au lait. Le pouvoir antioxydant du plasma humain a été mesuré par le test FRAP après la consommation de 100 g de chocolat noir, avec ou sans 200 ml de lait, et de 200 g de chocolat au lait. Les résultats montrent que le pouvoir antioxydant plasmatique acquis par les sujets suite à l'ingestion de chocolat noir seul est significativement plus important une heure après ingestion que celui des sujets ayant ingérée des préparations contenant également du lait. Ce pouvoir antioxydant moindre est associé à une absorption

plus faible de la (+)-catéchine, qui est retrouvée en concentration significativement inférieure dans le plasma des sujets ayant consommé le chocolat en présence de lait. Cependant, une autre équipe a trouvé des résultats différents, mais en utilisant une boisson au cacao à l'eau ou au lait : aucune différence significative n'a été retrouvée dans la composition plasmatique en (-)-épicatéchine ou dans le pouvoir antioxydant des plasmas des différents sujets ayant consommé l'une ou l'autre des boissons (SCHROETER *et al.*, 2003). Toutefois, là encore, la quantité de lait utilisée est moins importante que dans l'étude de SERAFINI *et al* (2003). Les résultats concernant le pouvoir antioxydant du plasma suite à l'ingestion de produits alimentaires solides ou liquides contenant à la fois des polyphénols et du lait sont donc contradictoires.

Il est donc indispensable, pour connaître le pouvoir antioxydant potentiel total du plasma, de mener de front les deux types d'étude, à savoir l'analyse du pouvoir antioxydant du plasma, ce qui donne une information sur l'effet santé « réel » de la consommation de polyphénols dans une matrice alimentaire, et l'analyse de la teneur plasmatique en composés phénoliques.

III.2. Effets des interactions polyphénols-protéines sur les protéines

Généralement, les tanins condensés sont considérés comme des produits naturels sûrs avec plusieurs avantages nutritionnels comme leur propriété antioxydante. Cependant, ils pourraient agir comme des composants antinutritionnels (FRAZIER *et al.*, 2010 ; BANDYOPADHYAY *et al.*, 2012). En effet, les interactions polyphénols-protéines peuvent également entraîner des changements dans les propriétés physico-chimiques et nutritionnelles des protéines (JAKOBEK, 2015). Donc, une compréhension fondamentale de ces changements résultant des interactions avec les composés phénoliques est essentielle du point de vue scientifique, industriel et économique.

III.2.1. Effets sur la structure

Les changements structuraux des protéines globulaires ont déjà été étudiés dans les mélanges lait et thé. L'interaction des protéines du lait avec les polyphénols du thé induit des changements structuraux des protéines du lactosérum et des caséines (HASNI *et al.*, 2011).

HASNI *et al* (2011) ont étudié l'interaction des α - et β -caséines avec les polyphénols du thé. Il a été conclu que la β -caséine forme des complexes plus forts avec les polyphénols du thé que l' α -caséine, en raison de sa nature plus hydrophobe. La modélisation structurale de l'interaction entre les α - et β -caséines et les polyphénols du thé a montré que la participation

de plusieurs résidus d'acides aminés à la complexation polyphénol-protéine avec un réseau de liaisons hydrogène étendu. Par conséquent, la conformation de la caséine a été modifiée par le polyphénol avec une réduction majeure de l'hélice α et de la feuille β et une augmentation de la bobine aléatoire (HASNI *et al.*, 2011). Une étude similaire a été réalisée par KANAKIS et ses collaborateurs (2011), cette fois, en faisant interagir la β -lactoglobuline avec les polyphénols du thé. La modélisation moléculaire a montré une modification de la structure secondaire de la β -lactoglobuline en présence de polyphénols avec une augmentation de la feuille β et de l'hélice α (KANAKIS *et al.*, 2011).

Il a également été observé que les interactions protéines-phénoliques augmentent le poids moléculaire des protéines. Dans une étude de PRIGENT *et al* (2003), une augmentation du poids moléculaire de l' α -lactalbumine et du lysozyme a été constatée, après incubation avec de l'acide chlorogénique à pH= 7 de 680 à 690 Da. Il a été suggéré que cela pourrait être le résultat d'interactions covalentes entre les protéines et les quinones formées par oxydation thermique des composés phénoliques (PRIGENT *et al.*, 2003).

Tous ces changements structuraux des protéines suite à leurs interactions avec les polyphénols, conduisent au changement de leur activité biologique (JAKOBEK, 2015).

III.2.2. Effets sur l'activité biologique

III.2.2.1. Effets sur l'activité enzymatique

Compte tenu de la capacité des tanins à précipiter les protéines, il n'est pas surprenant qu'ils puissent affecter l'activité des enzymes digestives. L'inhibition de ces dernières par le tanin *in vitro* a été étudiée, mais la situation *in vivo* est plus complexe (BANDYOPADHYAY *et al.*, 2012). Cette inhibition enzymatique peut être expliquée par la formation de complexes polyphénol-enzyme inactifs ou suite à la précipitation (DE FREITAS et MATEUS, 2012).

D'après JAKOBEK (2015), les polyphénols modifient l'activité de l' α -amylase. A savoir, certaines fonctions de cette enzyme peuvent conduire à la formation de plaques et de caries dentaires. En inhibant son activité, les associations polyphénols- α -amylase pourraient avoir des effets positifs sur la prévention de la formation de caries. Les polyphénols peuvent aussi se lier au lysozyme ce qui permet de diminuer son activité lytique. Il a été également démontré une inhibition de l'activité de l' α -chymotrypsine après son interaction avec les polyphénols. En conséquence, l'hydrolyse des protéines alimentaires a été plus lente et l'affinité pour le substrat a diminué.

Selon DE FREITAS et MATEUS (2012), les polyphénols très complexes sont censés rester dans le tube digestif pendant de longues périodes où ils interagissent de manière irréversible soit avec des protéines alimentaires, soit avec les enzymes digestives, ce qui pourrait représenter un problème nutritionnel important. En outre, ils peuvent également endommager la muqueuse du tube digestif ou exercer des effets toxiques systémiques.

Les polyphénols permettent d'inhiber les enzymes impliquées dans la surproduction d'espèces réactives. Leur activité antioxydante *in vivo* est attribuée à leur capacité à inhiber les enzymes pro-oxydantes telles que la cyclooxygénase et la lipoxygénase, via la formation de complexes polyphénols-enzymes (ADRAR *et al.*, 2019).

III.2.2.2. Effets sur l'activité antioxydante

L'activité antioxydante est l'une des propriétés les plus importantes du conjugué polyphénol-protéine. De nombreuses études prouvent que ce dernier présente une activité antioxydante plus forte que les protéines d'origine (QUAN *et al.*, 2019).

JIANG *et al* (2018) ont constaté que la capacité de piégeage des radicaux était considérablement augmentée de manière dose-dépendante lorsque la protéine du lactosérum et la caséine étaient conjuguées à l'acide chlorogénique. De même, les activités antioxydantes des conjugués de gallate d'épigallocatechine- α -lactalbumine, - α -caséine, - β -lactoglobuline et - β -caséine étaient plus élevées que celles des protéines natives (ALMAJANO *et al.*, 2007). ARTS *et al* (2002) ont rapporté l'effet de l'interaction entre les flavonoïdes et les protéines sur la capacité antioxydante totale. Ils ont remarqué que l'ajout de catéchine à la β -caséine augmentait la capacité antioxydante de la solution de β -caséine.

De plus, TSAI et SHE (2006) ont documenté que la capacité antioxydante des pois a augmenté après avoir interagi avec des composés phénoliques et l'acide coumarique a fourni l'activité antioxydante maximale aux pois par rapport à l'acide gallique, la catéchine, l'acide férulique et l'acide caféique. L'augmentation de l'activité antioxydante des pois était le résultat d'interactions protéiniques-phénoliques chez les pois qui stabilisaient la protéine, généralement la superoxyde dismutase (SOD), et fournissaient la capacité antioxydante de la protéine pendant le chauffage (TSAI et SHE, 2006).

III.2.3. Effets sur la valeur nutritionnelle et la digestibilité

Certaines études suggèrent un blocage de certains acides aminés essentiels par les polyphénols lorsqu'ils sont liés à des protéines. Ceci pourrait affecter la disponibilité de ces acides aminés. RAWEL *et al* (2002) ont suggéré que les acides phénoliques et les flavonoïdes, qui réagissaient avec les protéines de soja, pourraient affecter le blocage des résidus lysine, tryptophane et cystéine dans les molécules de protéines, et donc diminuer la disponibilité des acides aminés essentiels, la lysine et le tryptophane.

Il a été également rapporté que la présence de tanins condensés diminuait la digestibilité *in vivo* et *in vitro* des protéines. Leurs interactions forment des protéines non digestibles et des enzymes digestives inhibitrices. Il a été observé que les tanins condensés du sorgho peuvent complexer la kafirine qui est l'une des principales protéines du sorgho. À la suite de cette complexation, une diminution de la digestibilité des protéines du sorgho a été observée (OZDAL *et al.*, 2013).

III.2.4. Effets sur les propriétés fonctionnelles

a- Effets sur la solubilité

La solubilité des protéines est une propriété importante pour déterminer leurs diverses fonctionnalités lorsqu'elles sont appliquées dans différents systèmes alimentaires, car les protéines insolubles sont connues pour posséder des propriétés fonctionnelles limitées. La conjugaison des protéines avec des polyphénols pourrait augmenter ou diminuer la solubilité des protéines dans l'eau, selon la nature du système. L'attachement de polyphénols chargés pourrait modifier les propriétés électriques des protéines, en particulier leur point isoélectrique, ce qui pourrait modifier leur profil de solubilité au pH (QUAN *et al.*, 2019).

La conjugaison de polyphénols non polaires a augmenté l'hydrophobicité de surface des protéines, ce qui pourrait non seulement augmenter leur activité de surface, mais également réduire leur solubilité dans l'eau (BANDYOPADHYAY *et al.*, 2012). L'interaction polyphénols-protéines peut favoriser la réticulation des protéines, ce qui peut également diminuer leur solubilité dans l'eau (OZDAL *et al.*, 2013).

A titre d'exemple, la solubilité protéique de l'isolat de protéines de lactosérum et de la caséine pourrait être augmentée après une interaction non covalente avec l'acide chlorogénique. Cependant, il y avait une diminution de la solubilité du lysozyme en présence d'acide chlorogénique à $\text{pH} \geq 8$, associée à l'oxydation de l'acide chlorogénique pour former des quinones (QUAN *et al.*, 2019). En principe, il a été rapporté que la réaction des

polyphénols avec des protéines entraîne une modification de la solubilité de celles-ci (OZDAL *et al.*, 2013). Par conséquent, d'autres propriétés fonctionnelles importantes des protéines sont affectées, notamment les propriétés émulsifiantes, moussantes et gélifiantes des conjugués polyphénol-protéine (RAWEL *et al.*, 2002).

b- Effets sur la stabilité thermique

L'interaction des protéines avec les composés phénoliques peut améliorer la stabilité thermique des protéines (OZDAL *et al.*, 2013). TSAI et SHE (2006) ont observé que la stabilité thermique de la SOD était augmentée après son interaction avec les composés phénoliques. En effet, l'activité de la SOD était plus élevée après incubation avec des composés phénoliques et que les acides hydroxycinnamiques avaient plus d'effet que l'acide hydroxybenzoïque sur son activité ; ceci était dû à la structure de résonance des acides hydroxycinnamiques ayant la capacité de soutenir la stabilité de la SOD par incubation.

c- Effets sur les propriétés émulsifiantes

Les émulsions alimentaires sont généralement constituées d'une phase aqueuse et d'une phase huileuse. En raison de la grande surface interfaciale entre les deux phases non miscibles, les émulsions ont une mauvaise stabilité thermodynamique. Afin de les stabiliser, des émulsifiants sont généralement incorporés dans les formulations pour assurer des émulsions stables.

Les complexes polyphénols-protéines sont connus comme une approche efficace en tant que nouveaux émulsifiants, qui ont suscité un grand intérêt ces dernières années (QUAN *et al.*, 2019). A titre d'exemple, le complexe covalent de l'acide caféique avec la β -lactoglobuline montre de meilleures propriétés émulsifiantes que la β -lactoglobuline native (ABD EL-MAKSoud *et al.*, 2018).

d- Effets sur les propriétés gélifiantes

De nombreux polyphénols végétaux sont capables d'interagir avec les protéines, donnant un gel aux propriétés améliorées. Les gels formés par des interactions covalentes sont plus rigides et thermiquement stables que ceux médiés par d'autres interactions non covalentes (QUAN *et al.*, 2019). Par exemple, STASZEWSKI et ses collaborateurs (2012) ont révélé que la β -lactoglobuline modifiée par les polyphénols du thé vert présentait une gélification accrue, comme en témoignent une température de gélification plus basse et un temps de gélification plus court. L'incorporation de polyphénols de thé dans la β -lactoglobuline a affecté la viscoélasticité des gels (STASZEWSKI *et al.*, 2012).

III.3. Applications potentielles des conjugués polyphénols-protéines

III.3.1. Emulsions

D'après QUAN *et al* (2019), les conjugués polyphénol-protéine ont été largement utilisés pour améliorer la stabilité des émulsions alimentaires en raison de leurs excellentes propriétés émulsifiantes et de leur activité antioxydante. Par conséquent, ils peuvent être utilisés comme émulsifiants antioxydants dans des produits alimentaires en émulsion.

III.3.2. Films à base de protéines

Les films à base de protéines ont suscité un vif intérêt pour le développement de matériaux d'emballage alimentaire alternatifs en raison de leurs caractéristiques biodégradables, renouvelables et respectueuses de l'environnement. Cependant, les films protéiques ont toujours une mauvaise propriété de barrière à la vapeur d'eau en raison de leur hydrophilie et de la présence de plastifiants hydrophiles. Pour surmonter cet inconvénient, plusieurs substances hydrophobes telles que les graisses et les huiles ont été ajoutées dans la solution filmogène avant la formation du film. Néanmoins, l'incorporation de lipides dans le film protéique pourrait rencontrer l'oxydation, conduisant à la formation d'une mauvaise odeur ou d'une décoloration (QUAN *et al.*, 2019).

Les protéines telles que les protéines des légumineuses sont d'abord solubilisées dans des conditions alcalines, tandis que le polyphénol peut être ajouté ultérieurement. L'oxydation des polyphénols pourrait se produire à certains degrés, dans lesquels un conjugué polyphénol-protéine pourrait se former. De plus, des extraits de plantes ou des polyphénols ont été incorporés comme antioxydants dans des films à base de protéines (MARYAM ADILAH *et al.*, 2018). Par exemple, un film de gélatine incorporé à un extrait de graine de longane a inhibé efficacement l'oxydation lipidique de l'huile de soja pendant 30 jours de stockage par rapport au film de gélatine seul (SAI-UT *et al.*, 2014).

Il est suggéré que les films à base de protéines modifiés ou ajoutés avec des polyphénols soient développés de manière intensive comme emballage pour les graisses et les huiles, qui sont sensibles à l'oxydation des lipides.

III.3.3. Gels protéinés

Le gel protéiné est un réseau tridimensionnel continu composé de chaînes protéiques liées par des liaisons covalentes ou non covalentes. Les polyphénols

végétaux naturels, en particulier sous les formes oxydées, ont été largement utilisés comme agents de réticulation des protéines, ce qui pourrait améliorer considérablement la formation de gel (QUAN *et al.*, 2019). Par conséquent, les composés phénoliques oxydés peuvent être les additifs alternatifs, qui peuvent améliorer les propriétés gélifiantes des produits de gel à base de protéines.

III.3.4. Systèmes d'administration basés sur les conjugués

Des études récentes sur les conjugués polyphénol-protéine ont démontré que ces derniers possèdent une affinité de liaison envers les composés hydrophobes et hydrophiles en raison des propriétés amphiphiles des protéines (CHANPHAI *et al.*, 2018). Par conséquent, les conjugués de polyphénols-protéines peuvent être utilisés comme vecteurs pour divers composés bioactifs tels que les médicaments, les acides gras, les hormones stéroïdes et de nombreux autres composés lipophiles (CHANPHAI et TAJMIR-RIahi, 2019).

A titre d'exemple, FAN *et al* (2018), ont utilisé un conjugué acide caféique-BSA comme émulsifiant pour stabiliser les nanoparticules de zéine chargées de resvératrol. Le conjugué d'acide caféique-BSA était capable de protéger la dégradation du resvératrol plus efficacement que le BSA seul. L'étude sur l'activité antioxydante cellulaire a confirmé que le resvératrol dans les nanoparticules de conjugué acide caféique-BSA avait des activités antioxydantes significativement plus élevées que le resvératrol seul (FAN *et al.*, 2018).

Ainsi, les conjugués polyphénol-protéine pourraient être considérés comme des systèmes potentiels d'administration de nutraceutiques.

Conclusion et perspectives

Conclusion et perspectives

Les polyphénols, groupe de molécules bioactives, suscitent actuellement beaucoup d'intérêt en raison de l'impact réel de leur activité antioxydante sur la santé, qui est encore mal élucidé. Cette dernière dépend essentiellement de la biodisponibilité des polyphénols, qui elle-même est mal connue. C'est pourquoi des études, tant pharmacologiques que cliniques sont encore nécessaires. L'étude de la biodisponibilité des polyphénols se base uniquement sur sa comparaison dans différents aliments, et ce pour plusieurs raisons :

- les conditions et les méthodes d'analyse sont rarement comparables d'une étude à l'autre (méthode d'analyse différente, modèle animal différent, etc.) ;
- les polyphénols ne sont pas nécessairement sous la même forme dans les différents aliments (forte variabilité dans l'absorption).

L'influence des différents facteurs internes ou externes aux polyphénols et aux protéines sur leur interaction réciproque, montre toute la complexité présentée par ces phénomènes, mêlant divers types de forces et molécules aux multiples propriétés. Toutefois, le nombre d'études effectuées sur l'effet de ces paramètres est très limité et devraient être étudiés plus en détails pour optimiser les conditions du processus et pour améliorer les effets bénéfiques des composés phénoliques sur la santé.

L'interaction polyphénols-protéines affecte ces deux constituants, d'où les effets sur leurs structures et leurs propriétés biologiques ont été décrits. Le mécanisme exact de l'influence des protéines sur les polyphénols n'est pas encore connu, car des résultats contradictoires sont obtenus par rapport à leurs effets sur la biodisponibilité et l'activité antioxydante des polyphénols. En général, on peut conclure que les protéines diminuent considérablement la capacité antioxydante des polyphénols, mais il existe des résultats controversés, qui sont probablement dus aux différences dans les méthodes et les techniques analytiques utilisées. C'est pourquoi, il est recommandé d'utiliser plusieurs méthodes et de comparer les résultats obtenus. De plus, il est également important d'évaluer la biodisponibilité des polyphénols en utilisant différentes sources alimentaires de protéines et de polyphénols pour mieux comprendre l'effet exact de l'interaction de ces deux composés.

Enfin, il serait intéressant de poursuivre ce travail sur le plan pratique ; en l'orientant sur l'étude de détermination des sites de liaisons polyphénols-protéines, pour mieux comprendre les mécanismes sous-jacents aux interactions polyphénols-protéines afin de clarifier les résultats controversés obtenus jusqu'à présent. Cela permettra de fournir des effets bénéfiques maximaux des protéines et des polyphénols sur la santé des consommateurs avec des propriétés nutritionnelles et fonctionnelles optimales.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

- **ABD EL-MAKSoud, A. A., ABD EL-GHANY, I.H., EL-BELTAGI, H.S., ANANKANBIL, S., BANERJEE, C., PETERSEN, S.V., PÉREZ, B., & GUO, Z. (2018).** Adding functionality to milk-based protein : Preparation, and physico-chemical characterization of β -lactoglobulin-phenolic conjugates. *Food Chemistry*, 241, 281-289.
- **ADRAR, N.S., MADANI, K., & ADRAR, S. (2019).** Impact of the inhibition of proteins activities and the chemical aspect of polyphenols-proteins interactions. *PharmaNutrition*, 7, 1-12.
- **AFEK, U., CARMELI, S., & AHARONI, N. (1995).** Columbianetin, a phytoalexin associated with celery resistance to pathogens during storage. *Phytochemistry*, 39(6), 1347-1350.
- **AIRES, A., MARQUES, E., CARVALHO, R., ROSA, E.A.S., & SAAVEDRA, M.J. (2013).** Evaluation of Biological Value and Appraisal of Polyphenols and Glucosinolates from Organic Baby-Leaf Salads as Antioxidants and Antimicrobials against Important Human Pathogenic Bacteria. *Molecules*, 18(4), 4651-4668.
- **ALI, M., ABBASI, B.H., & UL-HAQ, I. (2013).** Production of commercially important secondary metabolites and antioxidant activity in cell suspension cultures of *Artemisia absinthium* L. *Industrial Crops and Products*, 49, 400-406.
- **ALMAJANO, M.P., DELGADO, M.E., & GORDON, M.H. (2007).** Changes in the antioxidant properties of protein solutions in the presence of epigallocatechin gallate. *Food Chemistry*, 101(1), 126–130.
- **AMIĆ, D., DAVIDOVIĆ-AMIĆ, D., BEŠLO, D., & TRINAJSTIĆ, N. (2003).** Structure-Radical Scavenging Activity Relationships of Flavonoïdes. *Croatica Chemica Acta*, 76(1), 55-61.
- **ARTS, M. J. T. J., HAENEN, G. R. M. M., VOSS, H.P., & BAST, A. (2001).** Masking of antioxidant capacity by the interaction of flavonoids with protein. *Food and Chemical Toxicology*, 39(8), 787-791.
- **ARTS, M. J. T. J., HAENEN, G. R. M. M., WILMS, L. C., BEESTRA, S. A. J. N., HEIJNEN, C. G., VOSS, H.P., & BAST, A. (2002).** Interactions between flavonoids and proteins : effect of the total antioxidant capacity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(5), 1184-1187.

- **ARTZ, W.E., BISHOP, P.D., DUNKER, A.K., SCHANUS, E.G., & SWANSON, B.G. (1987).** Interaction of synthetic proanthocyanidin dimer and trimer with bovine serum albumin and purified bean globulin fraction. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 35(3), 417-421.
- **ASANO, K., SHINAGAWA, K., & HASHIMOTO, N. (1982).** Characterization of Haze-Forming Proteins of Beer and Their Roles in Chill Haze Formation. *Journal of the American Society of Brewing Chemists*, 40(4), 147-154.
- **ASQUITH, T.N., UHLIG, J., MEHANSHO, H., PUTMAN, L., CARLSON, D.M., & BUTLER, L. (1987).** Binding of condensed tannins to salivary proline-rich glycoproteins: The role of carbohydrate. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 35(3), 331-334.
- **BACON, J. R., & RHODES, M. J. C. (2000).** Binding affinity of hydrolyzable tannins to parotid saliva and to proline-rich proteins derived from it. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48(3), 838-843.
- **BAHORUN, T. (1997).** Substances naturelles actives : la flore mauricienne, une source d'approvisionnement potentielle. *Food and Agricultural Research Council, Reduit, Mauritiassi*, 83-94.
- **BALASUNDRAM, N., SUNDRAM, K., & SAMMAN, S. (2006).** Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. *Food Chemistry*, 99(1), 191-203.
- **BANDYOPADHYAY, P., GHOSH, A.K., & GHOSH, C. (2012).** Recent developments on polyphenol–protein interactions: effects on tea and coffee taste, antioxidant properties and the digestive system. *Food & Function*, 3(6), 1-14.
- **BAXTER, N.J., LILLEY, T.H., HASLAM, E., & WILLIAMSON, M.P. (1997).** Multiple Interactions between Polyphenols and Salivary Prolin-Rich Protein Repeat Result in Complexation and Precipitation. *Biochemistry*, 36(18), 5566-5577.
- **BELŠČAK-CVITANOVIĆ, A., DURGO, K., HUĐEK, A., BAČUN-DRUŽINA, V., & KOMES, D. (2018).** Overview of polyhenols and their properties. *Polyphenols : Properties, Recovery, and Applications*, 3-44.
- **BÉNARD, C. (2009).** Étude de l'impact de la nutrition azotée et des conditions de culture sur le contenu en polyphénols chez la tomate. Thèse de Doctorat en Sciences Agronomiques. Université de Nancy INPL, France.

- **BENNICK, A. (2002).** Interaction of plant polyphenols with salivary proteins. *Critical Reviews in Oral Biology and Medicine*, 13(2), 184-196.
- **BISHT, K., WAGNER, K.H., & BULMER, A.C. (2010).** Curcumin, resveratrol and flavonoids as anti-inflammatory, cyto-and DNA- protective dietary compounds. *Toxicology*, 278(1), 88-100.
- **BOIZOT, N., & CHARPENTIER, J.P. (2006).** Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier. *Le Cahier des Techniques de l'INRA, Numéro spécial 2006 : Méthodes et outils pour l'observation et l'évaluation des milieux forestiers, prairiaux et aquatiques*, 79-82.
- **BOUMAZA, S. (2015).** Évaluation rapide des protéines par turbidimétrie : Application à quelques effluents agro-alimentaires avant et après un traitement de clarification. Thèse de Doctorat en Biochimie Appliquée. Université Badji Mokhtar, Annaba, Algérie, 148 p.
- **BRUNETON, J. (2009).** Pharmacognosie, Phytochimie et Plantes Médicinales. Technique et Documentation, 4^{ème} éd., Lavoisier, Paris.
- **BUER, C.S., IMIN, N., & DJORDJEVIC, M.A. (2010).** Flavonoids : New Roles for Old Molecules. *Journal of Integrative Plant Biology*, 52(1), 98-111.
- **BUITIMEA-CANTÚA, N.E., GUTIÉRREZ-URIBE, J.A., & SERNA-SALDÍVAR, S.O. (2017).** Phenolic-Protein Interactions : Effects on Food Properties and Health Benefits. *Journal of Medicinal Food*, 21(2), 1-11.
- **BURG-KOOREVAAR, M. C. D., MIRET, S., & DUCHATEAU, G. S. M. J. E. (2011).** Effect of milk and brewing method on black tea catechin bioaccessibility. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59(14), 7752-7758.
- **CANON, F., BALLIVIAN, R., CHIROT, F., ANTOINE, R., SARNI-MANCHADO, P., LEMOINE, J., & DUGOURD, P. (2011).** Folding of a salivary Intrinsically Disordered Protein upon binding to tannins. *Journal of the American Chemical Society*, 133(20), 7847-7852.
- **CARTER, D. C., & HO, J. X. (1994).** Structure of serum albumin. *Advances in Protein Chemistry*, 45, 153-203.
- **CARVALHO, E., MATEUS, N., & DE FREITAS, V. (2004).** Flow nephelometric analysis of protein-tannin interaction. *Analytica Chimica Acta*, 513(1), 97-101.

- **CASSIDY, A., HANLEY, B., & LAMUELA-RAVENTOS, R.M. (2000).** Isoflavones, lignans and stilbenes : origins, metabolism and potential importance to human health. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 80(7), 1044-1062.
- **CHANPHAI, P., BOURASSA, P., KANAKIS, C.D., TARANTILIS, P.A., POLISSIOU, M.G., & TAJMIR-RIAH, H.A. (2018).** Review on the loading efficacy of dietary tea polyphenols with milk proteins. *Food Hydrocolloids*, 77, 322-328.
- **CHANPHAI, P., & TAJMIR-RIAH, H.A. (2019).** Tea polyphenols bind serum albumins : A potential application for polyphenol delivery. *Food Hydrocolloids*, 89, 461-467.
- **CHARLTON, A.J., BAXTER, N.J., KHAN, M.L., MOIR, A.J.G., HASLAM, E., DAVIES, A.P., & WILLIAMSON, M.P. (2002).** Polyphenol/Peptide Binding and Precipitation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(6), 1593-1601.
- **CHARLTON, A.J., BAXTER, N.J., LILLEY, T.H., HASLAM, E., MCDONALD, C.J., & WILLIAMSON, M.P. (1996).** Tannin interactions with a full-length human salivary proline-rich protein display a stronger affinity than with single proline-rich repeats. *Federation of European Biochemical Societies Letters*, 382(3), 289-292.
- **CHEYNIER, V. (2005).** Polyphenols in foods are more complex than often thought. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 81(1), 223S-229S.
- **CHIRA, K., SUH, J.H., SAUCIER, C., & TEISSÈDRE, P.L. (2008).** Les polyphénols du raisin. *Phytothérapie*, 6, 75-82.
- **CODORNIU-HERNÁNDEZ, E., MESA-IBIRICO, A., MONTERO-CABRERA, L.A., MARTÍNEZ-LUZARDO, F., BORRMANN, T., & STOHRER, W.D. (2003).** Theoretical study of flavonoids and proline interactions. Aqueous and gas phases. *Journal of Molecular Structure : THEOCHEM*, 623(1-3), 63-73.
- **COWAN, M.M. (1999).** Plant products as anti-microbial agents. *Clinical Microbiology Reviews*, 12(4), 564-582.
- **CRESPY, V., MORAND, C., BESSON, C., COTELLE, N., VÉZIN, H., DEMIGNÉ, C., & RÉMÉSY, C. (2003).** The splanchnic metabolism of flavonoids highly differed according to the nature of the compound. *American Journal of Physiology Gastrointestinal and Liver Physiology*, 284(6), G980-G988.
- **CROZIER, A., SAGANATH, I.B., & CLIFFORD, M.N. (2009).** Dietary phenolics : chemistry, bioavailability and effects on health. *Natural Products Reports*, 26(8), 1001-1043.

- **CUSHMAN, S.W., & RIZACK, M.A. (1970).** Structure-function relationships in the adipose cell. III. Effects of Bovine Serum Albumin on the metabolism of glucose and the release of nonesterified fatty acids and glycerol by the isolated adipose cell. *Journal of Cell Biology*, 46(2), 354-361.
- **D'ARCHIVIO, M., FILESI, C., DI BENEDETTO, R., GARGIULO, R., GIOVANNINI, C., & MASELLA, R. (2007).** Polyphenols, dietary sources and bioavailability. *Annali dell'Istituto Superiore di sanita*, 43(4), 348-361.
- **DAGLIA, M. (2012).** Polyphenols as antimicrobial agents. *Current Opinion in Biotechnology*, 23(2), 174-181.
- **DE FREITAS, V., CARVALHO, E., & MATEUS, N. (2003).** Study of carbohydrate influence on protein-tannin aggregation by nephelometry. *Food Chemistry*, 81(4), 503-509.
- **DE FREITAS, V., & MATEUS, N. (2001).** Nephelometric study of salivary protein-tannin aggregates. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 82(1), 113-119.
- **DE FREITAS, V., & MATEUS, N. (2012).** Protein/Polyphenol Interactions : Past and Present Contributions. Mechanisms of Astringency Perception. *Current Organic Chemistry*, 16(6), 724-746.
- **DE MORAIS, F.P.R., PESSATO, T.B., RODRIGUES, E., MALLMANN, L.P., MARIUTTI, L.R.B., & NETTO, F.M. (2020).** Whey protein and phenolic compound complexation : Effects on antioxidant capacity before and after *in vitro* digestion. *Food Research International*, 133, 109104.
- **DERBEL, S., & GHEDIRA, K. (2005).** Les phytonutriments et leur impact sur la santé. *Phytothérapie*, 3(1), 28-34.
- **DINIZ, A., ESCUDER-GILABERT, L., LOPES, N.P., VILLANUEVA-CAMAÑAS, R.M., SAGRADO, S., & MEDINA-HERNÁNDEZ, M.J. (2008).** Characterization of interactions between polyphenolic compounds and human serum proteins by capillary electrophoresis. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 391(2), 625-632.
- **DÖNMEZ, Ö. (2017).** Effect of protein polyphenol interaction on the physicochemical properties of set type yogurt and on the digestibility of milk proteins. Thèse pour l'obtention du degré de maîtrise des Sciences en Génie Alimentaire. Université de Hacettepe, Ankara, Turquie.

- **DUARTE, G. S., & FARAH, A. (2011).** Effect of simultaneous consumption of milk and coffee on chlorogeni acids' bioavailability in humans. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59(14), 7925-7931.
- **DUFOUR, C., & DANGLES, O. (2005).** Flavonoid–serum albumin complexation : determination of binding constants and binding sites by fluorescence spectroscopy. *Biochimica and Biophysica Acta*, 1721(1-3), 164-173.
- **DUPAS, C. (2005).** Influence des protéines laitières sur le pouvoir antioxydant et la biodisponibilité des polyphénols du café. Thèse de Doctorat en Sciences Alimentaires. École Nationale Supérieure des Industries Agricoles et Alimentaires (ENSIA), Paris, France.
- **DUPAS, C. J., MARSSET-BAGLIERI, A. C., ORDONAUD, C. S., DUCEPT, F. M. G., & MAILLARD, M. N. (2006).** Coffee antioxidant properties : effects of milk addition and processing conditions. *Journal of Food Science*, 71(3), S253-S258.
- **EDEAS, M. (2007).** Les polyphénols et les polyphénols de thé. *Phytothérapie*, 5, 264-270.
- **ERDMAN, J.W., BALENTINE, D., ARAB, L., BEECHER, G., DWYER, J.T., FOLTS, J., HARNLY, J., HOLLMAN, P., KEEN, C.L., MAZZA, G., MESSINA, M., SCALBERT, A., VITA, J., WILLIAMSON, G., & BURROWS, J. (2007).** Flavonoids and Heart Health : Proceedings of the ILSI North America Flavonoids workshop, May 31-June 1, 2005, Washington, DC. *The Journal of Nutrition*, 137(3), 718S-737S.
- **FALLEH, H., KSOURI, R., CHAIEB, K., KARRAY-BOURAOUI, N., TRABELSI, N., BOULAABA, M., & ABDELLY, C. (2008).** Phenol composition of *Cynara cardunculus* L. organs, and their biological activities. *Comptes Rendus Biologies*, 331(5), 372-379.
- **FAN, Y., LIU, Y., GAO, L., ZHANG, Y., & YI, J. (2018).** Improved chemical stability and cellular antioxidant activity of resveratrol in zein nanoparticle with bovine serum albumin-caffeic acid conjugate. *Food Chemistry*, 261, 283-291.
- **FAURIE, B. (2014).** Les sucres et l'astringence : effet des polysaccharides présents dans le vin sur les interactions tanins-protéines. Thèse de Doctorat en Chimie-Physique. Université de Bordeaux, France.
- **FRAZIER, R.A., DEAVILLE, E.R., GREEN, R.J., STRINGANO, E., WILLOUGHBY, I., PLANT, J., & MUELLER-HARVEY, I. (2010).** Interactions of tea tannins and condensed tannins with proteins. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 51(2), 490-495.

- **FRAZIER, R.A., PAPADOPOULOU, A., MUELLER-HARVEY, I., KISSOON, D., & GREEN, R.J. (2003).** Probing protein-tannin interactions by isothermal titration microcalorimetry. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(18), 5189-5195.
- **GALLO, M., VINCI, G., GRAZIANI, G., DE SIMONE, C., & FERRANTI, P. (2013).** The interaction of cocoa polyphenols with milk proteins studied by proteomic techniques. *Food Research International*, 54(1), 406-415.
- **GARDÈS-ALBERT, M., BONNEFONT-ROUSSELOT, D., ABEDINZADEH, Z., & JORE, D. (2003).** Espèces réactives de l'oxygène. *L'actualité chimique*, 91.
- **GHAZGHAZI, H., AOUDHI, C., SEBEI, H., & HASNOUI, B. (2013).** Étude comparative de la teneur et de l'activité antioxydante des caroténoïdes de deux espèces tunisiennes : *Rosa canina* et *Rosa sempervirens*. *Journal of Essential Oil Research*, 24(5), 76-85.
- **HAGERMAN, A.E., & BUTLER, L.G. (1978).** Protein precipitation method for the quantitative determination of tanins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 26(4), 809-812.
- **HAGERMAN, A.E., & BUTLER, L.G. (1981).** The specificity of proanthocyanidin-protein interactions. *The Journal of Biological Chemistry*, 256(9), 4494-4497.
- **HAGERMAN, A.E., RICE, M.E., & RITCHARD, N.T. (1998).** Mechanisms of protein precipitation for two tannins, pentagalloyl glucose and epicatechin₁₆ (4 → 8) catechin (procyanidin). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46(7), 2590-2595.
- **HAN, X., SHEN, T., & LOU, H. (2007).** Dietary Polyphenols and Their Biological Significance. *International Journal of Molecular Sciences*, 8(9), 950-988.
- **HANASAKI, Y., OGAWA, S., & FUKUI, S. (1994).** The correlation between active oxygens scavenging and antioxidative effects of flavonoids. *Free Radical Biology & Medicine*, 16(6), 845-850.
- **HARBORNE, J.B., & WILLIAMS, C.A. (2000).** Advances in flavonoid research since 1992. *Phytochemistry*, 55(6), 481-504.
- **HASLAM, H. (1998).** Practical polyphenolics : From structure to molecular recognition and physiological action. Cambridge University Press, 169-336.
- **HASLAM, E., LILLEY, T.H., & BUTLER, L.G. (1988).** Natural astringency in foodstuffs- A molecular interpretation. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 27(1), 1-40.

- **HASNI, I., BOURASSA, P., HAMDANI, S., SAMSON, G., CARPENTIER, R., & TAJMIR-RIABI, H.A. (2011).** Interaction of milk α - and β -caseins with tea polyphenols. *Food Chemistry*, 126(2), 630-639.
- **HAVSTEEN, B.H. (2002).** The biochemistry and medicinal significance of the flavonoids. *Pharmacology & Therapeutics*, 96(2-3), 67-202.
- **HEIM, K.E., TAGLIAFERRO, A.R., & BOBILYA, D.J. (2002).** Flavonoid antioxidants : chemistry, metabolism and structure-activity relationships. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 13(10), 572-584.
- **HENNEBELLE, T., SAHPAZ, S., & BAILLEUL, F. (2004).** Polyphénols végétaux, sources, utilisations et potentiel dans la lutte contre le stress oxydatif. *Phytothérapie*, 2(1), 3-6.
- **HERRERO-MARTÍNEZ, J.M., SANMARTIN, M., ROSÉS, M., BOSCH, E., & HÁFOLS, C. (2005).** Determination of dissociation constants of flavonoids by capillary electrophoresis. *Electrophoresis*, 26(10), 1886-1895.
- **HIDER, R.C., LIU, Z.D., & KHODR, H.H. (2001).** Metal chelation of polyphenols. *Methods in Enzymology*, 335, 190-203.
- **ISERIN, P. (2001).** Larousse Encyclopédie des Plantes Médicinales. Identification, préparations, soins. 2^{ème} éd., Dorling Kindersley Limited, Londres. p : 6.
- **JAKOBEK, L. (2015).** Interactions of polyphenols with carbohydrates, lipids and proteins. *Food Chemistry*, 175, 556-567.
- **JIANG, J., ZHANG, Z., ZHAO, J., & LIU, Y. (2018).** The effect of non-covalent interaction of chlorogenic acid with whey protein and casein on physicochemical and radical-scavenging activity of *in vitro* protein digests. *Food Chemistry*, 268, 334-341.
- **JÖBSTL, E., O'CONNELL, J., FAIRCLOUGH, J.P.A., & WILLIAMSON, M.P. (2004a).** Astringency-A Molecular Model for Polyphenol/Protein binding. *Fibre Diffraction Review*, 12, 66-69.
- **JÖBSTL, E., O'CONNELL, J., FAIRCLOUGH, J.P.A., & WILLIAMSON, M.P. (2004b).** Molecular model for astringency produced by polyphenol/protein interactions. *Biomacromolecules*, 5(3), 942-949.
- **JOGUET, N. (2014).** Utilisation et fonctionnalisation de protéines pour la conception de nouvelles microsphères permettant la protection et le relargage contrôlé de vitamine A. Thèse de Doctorat en Valorisation Chimique et Biologique des Agro-Ressources. Université de la Rochelle, France.

- **JONGBERG, S., LUND, M.N., & OTTE, J. (2015).** Dissociation and reduction of covalent β -lactoglobulin-quinone adducts 4 by dithiothreitol, tris(2-carboxyethyl)phosphine, or sodium sulfite. *Analytical Biochemistry*, 478, 40-48.
- **JOVANOVIC, S.V., STEENKEN, S., TOSIC, M., MARJANOVIC, B., & SIMIC, M.G. (1994).** Flavonoids as Antioxidants. *Journal of the American Chemical Society*, 116(11), 4846-4851.
- **KANAKIS, C. D., HASNI, I., BOURASSA, P., HAMDANI, S., TARANTILIS, P. A., & TAJMIR-RIAH, H. A. (2011).** Milk β -lactoglobulin complexes with tea polyphenols. *Food Chemistry*, 127(3), 1046–1055.
- **KIM, H.P., SON, K.H., CHANG, H.W., & KANG, S.S. (2004).** Anti-inflammatory plant flavonoids and cellular action mechanisms. *Journal of Pharmacological Sciences*, 96(3), 229-245.
- **KEOGH, J. B., MCINERNEY, J., & CLIFTON, P. M. (2007).** The effect of milk protein on the bioavailability of milk polyphenols. *Journal of Food Science*, 72(3), S230-S233.
- **KROLL, J., RAWEL, H.M., & ROHN, S. (2003).** Reactions of plant phenolics with food proteins and enzymes under special consideration of covalent bonds. *Food Science and Technology Research*, 9(3), 205-218.
- **KROLL, J., RAWEL, H.M., & SEIDELMANN, N. (2000).** Physicochemical properties and susceptibility to proteolytic digestion of myoglobin-phenol derivatives. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48(5), 1580-1587.
- **KUMAR, H., CHOUDHARY, N., VARSHA, K.N., & SETH, S.R. (2014).** Phenolic compounds and their health benefits : A review. *Journal of Food Research and Technology*, 2(2), 46-59.
- **LAFAY, S., & GIL-IZQUIERDO, A. (2008).** Bioavailability of phenolic acids. *Phytochemistry Reviews*, 7, 301-311.
- **LAMBLIN, F., HANO, C., FLINIAUX, O., MESNARD, F., FLINIAUX, M.A., & LAINÉ, É. (2008).** Intérêts des lignanes dans la prévention et le traitement de cancers. *Médecine/Science*, 24(5), 511-519.
- **LANGLEY-EVANS, S. C. (2000).** Consumption of black tea elicits an increase in plasma antioxidant potential in humans. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 51(5), 309-315.

- **LE BOURVELLEC, C., & RENARD, C.M.G.C. (2012).** Interactions between Polyphenols and Macromolecules : Quantification Methods and Mechanisms. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 52(3), 213-248.
- **LEE, D.K., HYE YOON, M., PYO KANG, Y., YU, J., HILL PARK, J., LEE, J., & WON KWON, S. (2013).** Comparison of primary and secondary metabolites for suitability to discriminate the origins of *Schisandra chinensis* by GC/MS and LC/MS. *Food Chemistry*, 141(4), 3931-3937.
- **LEE, J., KOO, N.S., & MIN, D.B. (2004).** Reactive Oxygen Species, Aging, and Antioxidative Nutraceuticals. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 3(1), 21-33.
- **LEENEN, R., ROODENBURG, A.J.C., TIJBURG, L.B.M., & WISEMAN, S.A. (2000).** A single dose of tea with or without milk increases plasma antioxidant activity in humans. *European Journal of Clinical Nutrition*, 54, 87-92.
- **LEGRAND, G. (2015).** Contribution à la caractérisation du métabolisme des acides chlorogéniques chez la chicorée : approches biochimique et moléculaire. Thèse de Doctorat en Ingénierie des Fonctions Biologiques. Université de Lille 1, France.
- **LOOMIS, W.D., & BATTAILE, J. (1996).** Plant phenolic compounds and the isolation of plant enzymes. *Phytochemistry*, 5(3), 423-438.
- **LUCK, G., LIAO, H., MURRAY, N.J., GRIMMER, H.R., WARMINSKI, E.E., WILLIAMSON, M.P., LILLEY, T.H., & HSLAM, E. (1994).** Polyphenols, astringency and proline-rich proteins. *Phytochemistry*, 37(2), 357-371.
- **LUGASI, A., HÓVÁRI, J., SÁGI, K.V., & BÍRÓ, L. (2003).** The role of antioxidant phytonutrients in the prevention of diseases. *Acta Biologica Szegediensis*, 47(1-4), 119-125.
- **MAKKAR, H.P.S. (2003).** Effects and fate of tannins in ruminant animals, adaptation to tannins, and strategies to overcome detrimental effects of feeding tannin-rich feeds. *Small Ruminant Research*, 49(3), 241-256.
- **MAKKAR, H.P.S., & BECKER, K. (1996).** Effect of pH, temperature, and time on inactivation of tannins and possible implications in detannification studies. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 44(5), 1291-1295.
- **MANACH, C., SCALBERT, A., MORAND, C., RÉMÉSY, C., & JIMÉNEZ, L. (2004).** Polyphenols : food sources and bioavailability. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 79(5), 727-747.

- **MANACH, C., SCALBERT, A., RÉMÉSY, C., & MORAND, C. (2006).** Consommation et disponibilité des polyphénols. In : Les polyphénols en agroalimentaire. P. Sarni-Manchado and V. Cheynier (*Ed*). Paris, Lavoisier, 361-380.
- **MANACH, C., WILLIAMSON, G., MORAND, C., SCALBERT, A., & RÉMÉSY, C. (2005).** Bioavailability and bioefficacy of polyphenols in humans. I. Review of 97 bioavailability studies. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 81(1), 230S-242S.
- **MARFAK, A. (2003).** Radiolyse gamma des flavonoïdes. Étude de leur réactivité avec les radicaux libres issus des alcools : formation de depsides. Thèse de Doctorat en Biophysique. Université de Limoges, France.
- **MARTIN, S., & ANDRIANTSITOHAINA, R. (2002).** Mécanismes de la protection cardiaque et vasculaire des polyphénols au niveau de l'endothélium. *Annales de Cardiologie et d'Angéiologie*, 51(6), 304-315.
- **MARYAM ADILAH, Z.A., JAMILAH, B., & NUR HANANI, Z.A. (2018).** Functional and antioxidant properties of protein-based films incorporated with mango kernel extract for active packaging. *Food Hydrocolloids*, 74, 207-218.
- **MCMANUS, J.P., DAVIS, K.G., BEART, J.E., GAFFNEY, S.H., LILLEY, T.H., & HASLAM, E. (1985).** Polyphenol interactions. Part 1. Introduction ; some observations on the reversible complexation of polyphenols with proteins and polysaccharides. *Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions 2*, (9), 1429-1438.
- **MCSWEENEY, C.S., PALMER, B., MCNEILL, D.M., & KRAUSE, D.O. (2001).** Microbial interactions with tannins : nutritional consequences for ruminants. *Animal Feed Science and Technology*, 91(1-2), 83-93.
- **MEHANSHO, H., BUTLER, L.G., & CARLSON, D.M. (1987).** Dietary tannin mediated and salivary proline-rich protein : Interactions, induction and defense mechanisms. *Annual Review of Nutrition*, 7(1), 423-440.
- **MEHINAGIC, E., BOURLES, E., & JOURJON, F. (2011).** Composés des fruits d'intérêt nutritionnel : impact des procédés de transformation sur les polyphénols. *Revue Suisse Viticulture, Arboriculture et Horticulture*, 43(6), 364-368.
- **MOHAMMEDI, Z. (2013).** Étude phytochimique et activités biologiques de quelques plantes médicinales de la région Nord et Sud Ouest de l'Algérie. Thèse de Doctorat en Biologie. Université Abou Bekr Belkaid, Tlemcen, Algérie.

- **MORAND, C., & MILENKOVIC, D. (2014).** Polyphénols et santé vasculaire : mise en évidence du rôle direct des polyphénols dans les effets bénéfiques des agrumes dans la protection vasculaire. *Innovations Agronomiques*, 42, 47-62.
- **MOTILVA, M.J., SERRA, A., & MACIÀ, A. (2013).** Analysis of food polyphenols by ultra high-performance liquid chromatography coupled to mass spectrometry : An overview. *Journal of Chromatography A*, 1292, 62-82.
- **MOUALEK, I. (2018).** Activités biologiques de l'extrait aqueux de feuilles d'*Arbutus unedo* de la région de Tizi-Ouzou. Thèse de Doctorat en Sciences Biologiques, option Biochimie Appliquée et Biotechnologie. Université Mouloud Mammeri, Tizi-Ouzou, Algérie.
- **MOURE, A., CRUZ, J.M., FRANCO, D., MANUEL DOMINGUEZ, J., SINEIRO, J., DOMINGUEZ, H., NUNEZ, M.J., & CARLOS-PARAJO, J. (2001).** Natural antioxidants from residual sources. *Food Chemistry*, 72(2), 145-171.
- **NACZK, M., & SHAHIDI, F. (2006).** Phenolics in cereals, fruits and vegetables : Occurrence, extraction and analysis. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 41(5), 1523-1542.
- **NEILSON, A. P., GEORGE, J. C., JANLE, E. M., MATTES, R. D., RUDOLPH, R., MATUSHESKI, N. V., & FERRUZZI, M.G. (2009).** Influence of chocolate matrix composition on cocoa flavan-3-ol bioaccessibility *in vitro* and bioavailability in humans. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57(20), 9418-9426.
- **NKHILI, E. (2009).** Polyphénols de l'Alimentation : Extraction, Interactions avec les ions du Fer et du Cuivre, Oxydation et Pouvoir antioxydant. Thèse en cotutelle pour l'obtention du Diplôme de Doctorat en Sciences des Aliments. Université Cadi Ayyad, Marrakech, Maroc.
- **OH, H.I., HOFF, J.E., ARMSTRONG, G.S., & HAFF, L.A. (1980).** Hydrophobic interaction in tannin-protein complexes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 28(2), 394-398.
- **OKUDA, T., FUKUI, M., TAKAYANAGI, T., & YOKOTSUKA, K. (2006).** Characterization of major stable proteins in chardonnay wine. *Food Science and Technology Research*, 12(2), 131-136.
- **OZDAL, T., CAPANOGLU, E., & ALTAY, F. (2013).** A review on protein-phenolic interactions and associated changes. *Food Research International*, 51(2), 954-970.

- **PASCAL, C., PATÉ, F., CHEYNIER, V., & DELSUC, M.A. (2009).** Study of the interactions between a Proline-Rich Protein and a Flavan-3-ol by NMR : Residual Structures in the natively unfolded Protein provides anchorage points for the ligands. *Biopolymers*, 91(9), 745-756.
- **PASCAL, C., PONCET-LEGRAND, C., IMBERTY, A., GAUTIER, C., SARNI-MANCHADO, P., CHEYNIER, V., & VERNHET, A. (2007).** Interactions between a non glycosylated human proline-rich protein and flavan-3-ols are affected by protein concentration and polyphenol/protein ratio. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(12), 4895-4901.
- **PETTI, S., & SCULLY, C. (2009).** Polyphenols, oral health and disease : A review. *Journal of Dentistry*, 37(6), 413-423.
- **PIETTA, P.G. (2000).** Flavonoids as Antioxidants. *Journal of Natural Products*, 63(7), 1035-1042.
- **PRIGENT, S.V.E., GRUPPEN, H., VISSER, A.J.W.G., VAN KONINGSVELD, G.A., DE JONG, G.A.H., & VORAGEN, A.G.J. (2003).** Effects of Non-covalent Interactions with 5-O-Caffeoylquinic Acid (Chlorogenic Acid) on the Heat Denaturation and Solubility of Globular Proteins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(17), 5088-5095.
- **QUAN, T.H., BENJAKUL, S., SAE-LEAW, T., BALANGE, A.K., & MAQSOOD, S. (2019).** Protein-polyphenol conjugates : Antioxidant property, functionalities and their applications. *Trends in Food Science & Technology*, 91, 507-517.
- **QUIDEAU, S., DEFFIEUX, D., DOUAT-CASASSUS, C., & POUYSÉGU, L. (2011).** Plant polyphenols : Chemical properties, biological activities, and synthesis. *Angewandte Chemie International Edition*, 50(3), 586-621.
- **RAWEL, H.M., CZAJKA, D., ROHN, S., & KROLL, J. (2002).** Interactions of different phenolic acids and flavonoids with soy proteins. *International Journal of Biological Macromolecules*, 30(3-4), 137-150.
- **RAWEL, H.M., MEIDTNER, K., & KROLL, J. (2005).** Binding of selected phenolic compounds to proteins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(10), 4228-4235.
- **RÉ, D.B., NAFIA, I., NIEOULLON, A., KERKERIAN LE GOFF, L., & HAD-AISSOUNI, L. (2005).** Stress oxydatif cérébral : les astrocytes sont-ils vulnérables aux

faibles concentrations intracellulaires de glutamate ? Implications sur la survie neuronale. *Annales Françaises d'Anesthésie et de Réanimation*, 24(5), 502-509.

- **REDDY, V.C., VIDYA SAGAR, G.V., SREERAMULU, D., VENU, L., & RAGHUNATH, M. (2005).** Addition of milk does not alter the antioxydant activity of black tea. *Annals of Nutrition & Metabolism*, 49(3), 189-195.

- **ROHN, S., RAWEL, H.M., & KROLL, J. (2002).** Inhibitory effects of plant phenols on the activity of selected enzymes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(12), 3566–3571.

- **ROUET-MAYER, M.A., RALAMBOSOA, J., & PHILIPPON, J. (1990).** Roles of *o*-quinones and their polymers in the enzymic browning of apples. *Phytochemistry*, 29(2), 435-440.

- **SAI-UT, S., BENJAKUL, S., & RAWDKUEN, S. (2014).** Retardation of lipid oxidation using gelatin film incorporated with longan seed extract compared with BHT. *Journal of Food Science and Technology*, 52(9), 5842-5849.

- **SÁNCHEZ-GONZÁLEZ, I., JIMÉNEZ-ESCRIG, A., & SAURA-CALIXTO, F. (2005).** *In vitro* antioxidant activity of coffees brewed using different procedures (Italian, espresso and filter). *Food Chemistry*, 90(1-2), 133-139.

- **SANTOS-BUELGA, C., & SCALBERT, A. (2000).** Proanthocyanidins and tannin-like compounds-nature, occurrence, dietary intake and effects on nutrition and health. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 80(7), 1094-1117.

- **SCALBERT, A. (1991).** Antimicrobial properties of tannins. *Phytochemistry*, 30(12), 3875-3883.

- **SCALBERT, A., MANACH, C., MORAND, C., RÉMÉSY, C., & JIMÉNEZ, L. (2005).** Dietary Polyphenols and the Prevention of Diseases. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 45(4), 287-306.

- **SCHROETER, H., HOLT, R.R., OROZCO, T.J., SCHMITZ, H.H., & KEEN, C.L. (2003).** Milk and absorption of dietary flavanols. *Nature*, 426(6968), 787-788.

- **SĘCZYK, L., ŚWIECA, M., KAPUSTA, I., & GAWLIK-DZIKI, U. (2019).** Protein-Phenolic Interactions as a Factor Affecting the Physicochemical Properties of White Bean Proteins. *Molecules*, 24(3), 1-24.

- **SERAFINI, M., BUGIANESI, R., MAIANI, G., VALTUENA, S., DE SANTIS, S., & CROZIER, A. (2003).** Plasma antioxidants from chocolate. *Nature*, 424, 1013.

- SERAFINI, M., GHISELLI, A., & FERRO-LUZZI, A. (1996). *In vivo* antioxidant effect of green and black tea in man. *European Journal of Clinical Nutrition*, 50(1), 28-32.
- SERAFINI, M., TESTA, M.F., VILLAÑO, D., PECORARI, M., WIEREN, K. V., AZZINI, E., BRAMBILLA, A., & MAIANI, G. (2009). Antioxidant activity of blueberry fruit is impaired by association with milk. *Free Radical Biology and Medicine*, 46(6), 769-774.
- SIEBERT, K.J. (1999). Effects of protein-polyphenol interactions on beverage haze, stabilization, and analysis. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47(2), 353-362.
- SIEBERT, K.J. (2006). Haze formation in beverages. *LWT-Food Science and Technology*, 39(9), 987-994.
- SIEBERT, K.J., & LYNN, P.Y. (1998). Comparison of polyphenol interactions with polyvinylpyrrolidone and haze-active protein. *Journal of the American Society of Brewing Chemists*, 56(1), 24-31.
- SIEBERT, K.J., TROUKHANOVA, N.V., & LYNN, P.Y. (1996). Nature of Polyphenol-Protein Interactions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 44(1), 80-85.
- SIMON, C. (2003). Structure et dynamique des protéines de la salive humaine en interaction avec les tanins du vin de Bordeaux. Thèse de Doctorat en Chimie-Physique, mention Chimie Analytique. Université de Bordeaux 1, France.
- SIMON, C., BARATHIEU, K., LAGUERRE, M., SCHMITTER, J.M., FOUQUET, E., PIANET, I., & DUFOURC, E.J. (2003). Three-Dimensional Structure and Dynamics of Wine Tannin-Saliva Protein Complexes. A Multitechnique Approach. *Biochemistry*, 42(35), 10385-10395.
- SOARES, S.I., GONÇALVES, R.M., FERNANDEZ, I., MATEUS, N., & DE FREITAS, V. (2009). Mechanistic approach by which polysaccharides inhibit α -amylase/procyanidin aggregation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57(10), 4352-4358.
- SOARES, S., MATEUS, N., & DE FREITAS, V. (2007). Interaction of different polyphenols with bovine serum albumin (BSA) and human salivary α -amylase (HSA) by fluorescence quenching. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(16), 6726-6735.
- STALIKAS, C.D. (2007). Extraction, separation and detection methods for phenolic acids and flavonoids. *Journal of Separation Science*, 30, 3268-3295.
- STASZWESKI, M.V., RUIZ-HENESTROSA, V.M.P., & PILOSOFF, A.M.R. (2014). Green tea polyphenols- β -lactoglobulin nanocomplexes : Interfacial behavior, emulsification and oxidation stability of fish oil. *Food Hydrocolloids*, 35, 505-511.

- **TSAI, H.Y., HO, C.T., & CHEN, Y.K. (2016).** Biological actions and molecular effects of resveratrol, pterostilbene, and 3'-hydroxypterostilbene. *Journal of Food and Drug Analysis*, 25(1), 134-147.
- **TSAI, P.J., & SHE, C.H. (2006).** Significance of phenol-protein interactions in modifying the antioxidant capacity of peas. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54(22), 8491-8494.
- **TSAO, R., & YANG, R. (2003).** Optimization of a new mobile phase to know the complex and real polyphenolic composition : Towards a total phenolic index using high-performance liquid chromatography. *Journal of Chromatography A*, 1018(1), 29-40.
- **WATRELOT, A. (2013).** Interactions non-covalentes entre les polyphénols et les pectines. Etude sur un substrat modèle : la pomme. Thèse de Doctorat en Biochimie. Université d'Avignon et des Pays du Vaucluse, France.
- **WHITFORD, D. (2005).** Proteins, Structure and Function. Wiley & Sons Ltd, The Atrium, Southern Gate, Chichester, England.
- **WINKEL-SHIRLEY, B. (2001).** Flavonoid Biosynthesis. A Colorful Model for Genetics, Biochemistry, Cell Biology, and Biotechnology. *Plant Physiology*, 126(2), 485-493.
- **XIAO, J., & KAI, G. (2012).** A Review of Dietary Polyphenol-Plasma Protein Interactions : Characterization, Influence on the Bioactivity, and Structure-Affinity Relationship. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 52(1), 85-101.
- **XIUZHEN, H., TAO, S., & HONGXIANG, L. (2007).** Dietary polphenols and their biological significance. *International Journal of Molecular Sciences*, 8(9), 950-988.
- **YAN, Q., & BENNICK, A. (1995).** Identification of histatins as tannin-binding proteins in human saliva. *Biochemical Journal*, 311(1), 341-347.
- **YUKSEL, Z., AVCI, E., & ERDEM, Y.K. (2010).** Characterization of binding interactions between green tea flavanoids and milk proteins. *Food Chemistry*, 121(2), 450-456.
- **ZIMMER, N., & CORDESSE, R. (1996).** Influence des tanins sur la valeur nutritive des aliments des ruminants. *INRA, Production Animale*, 9(3), 167-179.
- **ZOU, D., & XIE, A. (2013).** Influence of Polyphenol-Plasma Protein Interaction on the Antioxidant Properties of Polyphenols. *Current Drug Metabolism*, 14(4), 451-455.

Résumé

Les polyphénols sont des métabolites secondaires de plantes les plus abondants dans l'alimentation. Ces composés font l'objet de nombreuses recherches scientifiques visant à explorer et exploiter leur propriété antioxydante. Le potentiel de cette activité est lié principalement à la biodisponibilité des polyphénols, qui elle-même dépend de plusieurs paramètres liés à ceux-ci. Les polyphénols sont connus pour former des complexes avec des matrices alimentaires, qui peuvent avoir un impact significatif sur le devenir et le rôle des polyphénols dans le corps. C'est dans ce contexte que le présent travail est mené, dont on s'est intéressée à l'interaction des polyphénols-protéines. Celle-ci se fait principalement par l'intervention de liaisons hydrophobes, bien que des liaisons hydrogène et covalentes puissent également être créées et diverses associations peuvent être formées. Des conditions telles que la température, le pH, les types de protéines, concentration protéique, types et structures des polyphénols et plusieurs autres facteurs affectent les interactions polyphénols-protéiques.

En raison des interactions polyphénols-protéines, des changements se produisent sur les deux composés. Les principaux changements observés dans les polyphénols, se traduisent par des modifications de leur activité antioxydante ainsi de leur biodisponibilité *in vivo* et *in vitro*. Des résultats contradictoires sont rapportés sur les effets de ces interactions sur ces deux donnés, mais il a été constaté que les protéines peuvent diminuer la biodisponibilité et la capacité antioxydante des polyphénols. En outre, des changements de structure et de propriétés fonctionnelles des protéines ont été observés. En effet, les interactions polyphénols-protéines engendrent des modifications des structures secondaires et tertiaires des protéines, une diminution de leur solubilité et une amélioration de leur stabilité thermique. De plus, la quantité de certains acides aminés et leur digestibilité pourraient être réduites.

Enfin, les conjugués polyphénols-protéines présentent de fortes activités antioxydantes et de meilleures propriétés émulsifiantes et peuvent être utilisés comme nouveaux additifs alimentaires pour améliorer les qualités nutritionnelles, fonctionnelles, sensorielles ainsi que les bioactivités des produits alimentaires.

Mots clés : polyphénols, protéines, interactions, biodisponibilité, stress oxydant, activité antioxydante.

Abstract

Polyphenols are the most abundant secondary metabolites of plants in the diet. These compounds are the subject of much scientific research aimed at exploring and exploiting their antioxidant property. The potential of this activity is linked mainly to the bioavailability of polyphenols, which itself depends on several parameters linked to them. Polyphenols are known to form complexes with food matrices, which can have a significant impact on the fate and role of polyphenols in the body. It is in this context that the present work is carried out, which investigated the interaction of polyphenols-proteins. This is done mainly through the intervention of hydrophobic bonds, although hydrogen and covalent bonds can also be created and various associations can be formed. Conditions such as temperature, pH, protein types, protein concentration, types and structures of polyphenols, and several other factors affect polyphenol-protein interactions.

Due to polyphenol-protein interactions, changes occur in both compounds. The main changes observed in polyphenols are reflected in changes in their antioxidant activity as well as in their bioavailability *in vivo* and *in vitro*. Conflicting results are reported on the effects of these interactions on these two data, but it has been found that proteins can decrease the bioavailability and antioxidant capacity of polyphenols. In addition, changes in the structure and functional properties of proteins have been observed. In fact, polyphenol-protein interactions generate modifications of the secondary and tertiary structures of proteins, a decrease in their solubility and an improvement in their thermal stability. In addition, the amount of certain amino acids and their digestibility could be reduced.

Finally, the polyphenol-protein conjugates exhibit strong antioxidant activities and better emulsifying properties and can be used as new food additives to improve the nutritional, functional, sensory qualities as well as the bioactivities of food products.

Keywords : polyphenols, proteins, interactions, bioavailability, oxidative stress, antioxidant activity.