

DÉVELOPPEMENTS MÉTHODOLOGIQUES : STRATÉGIE ET CARACTÉRISATION DE MÉTABOLITES SECONDAIRES DANS LES RÉSIDUS DE POMMES

Laëtitia Fougère¹, Émilie Destandau¹, Cristina Gabriela Grigoras¹, Éric Lesellier¹, Claire Elfakir¹

1 - Institut de chimie Organique et Analytique, UMR 7311 rue de Chartres F-45067 Orléans

La transformation agro-alimentaire des pommes entraîne l'obtention de résidus non-exploités représentant environ 30% du fruit. Les familles de molécules présentent dans la pomme sont bien connues mais ce sont principalement les flavonols et leur propriété anti-oxydante qui sont étudiés et exploités. La famille des terpénoïdes est en revanche peu étudiée.

Notre objectif est de caractériser dans ces résidus les molécules bioactives potentiellement valorisables dans des secteurs cosmétique, pharmaceutique ou nutraceutique. De par la complexité des extraits, et la présence de molécules isobares, une méthode séparative s'avère indispensable avant une identification des constituants de chaque famille par spectrométrie de masse (API 3000 triple quadripôle, AB Sciex) en mode d'ionisation ESI ou APCI. Le mode d'ionisation par électrospray (ESI) est le plus adapté pour la classe des polyphénols et l'APCI pour celle des triterpènes.

Une méthode générique en chromatographie liquide haute performance (HPLC) a été développée en couplage SM-ESI. Celle-ci a permis en une seule analyse de caractériser une trentaine de molécules d'un même extrait, dont une dizaine d'acides phénoliques et de flavonols, puis des terpènes avec des groupements coumaryles et des acides triterpéniques. Les molécules ont été identifiées en accord avec la littérature, grâce à leur pic moléculaire et leur fragmentation en source. Les spectres de masse des flavonoïdes obtenus sont souvent très riches car on observe de multiples fragments dus aux pertes de sucres et à la fragmentation de la génine par des réactions de rétro-Diels-Alder (RDA). Pour les composés triterpéniques, il a été spécifiquement montré qu'en mode d'ionisation positif on observe des pertes de neutres et un clivage de type RDA. Le couplage de cette méthode HPLC avec la spectrométrie de masse haute résolution (maXis, Bruker) confirme les hypothèses d'identification émises. Pour la caractérisation des acides triterpéniques l'HPLC s'étant avérée peu résolutive et l'ESI peu sensible une méthode spécifique par chromatographie en phase supercritique (SFC) a été mise au point afin de collecter les composés minoritaires qui ont été identifiés par SM-APCI.

La complémentarité des différentes méthodes séparatives couplées aux différentes sources de la spectrométrie de masse est nécessaire pour caractériser finement la composition d'un extrait végétal complexe.