**Chapitre 03 : dosage des glucides**

**Introduction :**

Les glucides forment un groupe de substances naturelles et synthétiques, composées de carbone, d’hydrogène et d’oxygène. Ils ont été longtemps désignés sous le nom d’hydrates de carbone : dans la plupart d’entre eux, en effet, l’hydrogène et l’oxygène se trouvent dans les mêmes proportions que dans l’eau. Ils comprennent essentiellement :

* des sucres simples réducteurs : les oses ;
* des sucres complexes : les osides dont l’hydrolyse libère un ou plusieurs oses.

Les oses sont eux-mêmes caractérisés par la coexistence, dans la même molécule, d’une fonction réductrice, aldéhydique ou cétonique, et de plusieurs fonctions alcools.

**Les sucres simples ou oses** portent le nom d’aldoses ou de cétoses selon que la fonction réductrice est située en fin de chaîne ou sur un chaînon intermédiaire. Ils sont par ailleurs classés d’après le nombre d’atomes de carbone contenus dans la molécule.

**Les osides** sont subdivisés en : holosides et hétérosides.

1. Holosides, si tous les produits d’hydrolyse sont des oses : ils sont classés suivant le nombre d’oses obtenus.

2. Hétérosides, si les oses ne sont pas les seuls produits d’hydrolyse. La fraction non glucidique est nommée aglycone.

**I. Rôle des glucides**

**1. Rôle énergétique**

Le principal rôle des glucides est de fournir de l’énergie aux cellules du corps humain (1g de glucides fournit 4 calories). Lorsque nous les mangeons, ils se transforment plus ou moins rapidement en glucose, qui est le carburant de certaines cellules du corps. C’est le cas des cellules du cerveau. Notez que le glucose est le carburant exclusif du cerveau, qui en a besoin d’environ 140 g par jour.

**2. Régulation de l'appétit**

Les glucides complexes, et surtout les fibres, jouent un rôle important dans la régulation de l'appétit. Ils permettent d'arriver plus rapidement à satiété et d'être rassasié plus durablement. Ils sont donc indispensables à l'équilibre alimentaire.

**3. Hyperglycémiants**

Tous les glucides ont un pouvoir hyperglycémiant propre, celui du glucose étant un des plus élevés. Les sucres simples, plus rapidement assimilés permettent donc d'élever rapidement la glycémie et de resucrer l'organisme. Cette caractéristique est particulièrement appréciée et utilisée chez le sportif de haut niveau ou encore chez le diabétique en cas d'hypoglycémie.

**4. Favorise un bon sommeil**

L'assimilation des glucides induit une élévation de la disponibilité du tryptophane dans l'organisme. Le tryptophane est un acide aminé précurseur, entre autres, de la sérotonine et de la mélatonine. Ces deux substances agissent favorablement sur l'endormissement.

**5. Constitution de stock de glycogène**

Le glucose est soit utilisé immédiatement par l’organisme, car ce dernier a constamment besoin d’énergie, soit stocké sous forme de glycogène dans le foie et dans les muscles pour une utilisation ultérieure.

**II. Dosage des glucides**

Dans le domaine des glucides, les dosages globaux que l'on peut effectuer concernent:

- **les sucres réducteurs** (y compris le dosage du saccharose)

- **les fibres alimentaires**, composées principalement de polysaccharides non assimilables.

La mesure de la quantité totale de glucides d'une denrée est généralement faite par calcul (différence avec les autres nutriments).

1. **Méthodes physiques**
2. **Polarimétrie :** fondée sur le pouvoir rotatoire des sucres (loi de Biot α=α°.I.C)
3. **Réfractométrie :** l’indice de réfraction d’une solution aqueuse de sucres augmente avec la concentration (n= n°. k. C)
4. **Viscosimetrie :** la viscosité d’une solution aqueuse de sucres varie avec la concentration de la solution.

Toutes ces méthodes sont rapides mais ne donnent de résultats satisfaisants que si les solutions sont concentrées. De plus, elles ne sont pas spécifiques.

**B. Dosage chimiques des glucides**

**B.1. Dosage des sucres totaux**

1. **Méthode Lane-Eynon**

La méthode Lane-Eynon est une méthode volumétrique de détermination des sucres réducteurs totaux dans les aliments. C’est une méthode empirique qui relie, à l’aide d’une table de conversion, une quantité de sucres réducteurs contenus dans un volume de solution alimentaire requis pour réduire un volume donné de réactif de Fehling.

Le principe de la méthode est basé sur la capacité des sucres réducteurs de réduire l’hydroxyde cuivrique en oxyde cuivreux. On titre à chaud un volume donné de réactif de Fehling (10 ml ou 25 ml) à l’aide d’une solution de l’aliment contenant le ou les sucres réducteurs. L’indicateur Bleu de méthylène est utilisé pour rendre plus claire la disparition de la couleur bleue du réactif de Fehling (point de virage). Le volume de solution alimentaire utilisé pour le titrage est converti en mg de sucres réducteurs à l’aide d’une table de conversion.

Quantités mesurables de sucres réducteurs:

L’aliment doit être dilué de façon à ce que le volume de solution alimentaire utilisé pour le titrage corresponde à une quantité mesurable de sucres réducteurs.

On doit utiliser des colonnes de conversion spécifiques pour les aliments contenant un mélange de sucre inverti et de saccharose.

**Dosage indirect du saccharose**

Le saccharose, un disaccharide non réducteur, ne peut donc pas être dosé directement par cette méthode. Cependant, il est possible de le doser indirectement en faisant d’abord une hydrolyse du saccharose, puis en appliquant la méthode sur les produits d’hydrolyse. En effet, l’hydrolyse du saccharose donne des quantités égales de D-glucose et de D-fructose.

1. **Méthode Munson-Walker**

La méthode Munson-Walker est une méthode gravimétrique de détermination des sucres réducteurs totaux dans les aliments. C’est une méthode empirique qui relie, à l’aide d’une table de conversion, une quantité de précipité formé par la réaction de Fehling à une quantité d’un sucre réducteur particulier.

Principe de la méthode :

Les sucres possédant une fonction aldéhyde ou cétone libre peuvent réduire l’hydroxyde cuivrique (réactif de Fehling) en oxyde cuivreux, un précipité de couleur rouge brique.

L’aliment est mis en solution et une portion de la solution est traitée avec un excès de ls solution de Fehling. Le précipité Cu2O formé par la réaction est récupéré quantitativement, séché et pesé. La quantité de précipité est convertie en mg de sucres réducteurs à l’aide d’une table de conversion (table de Hammond).

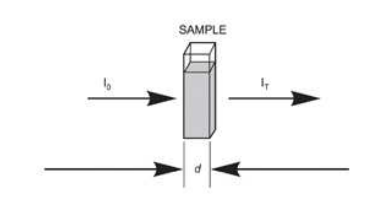
Quantités mesurables de sucres réducteurs:

L’échantillon doit être dilué de façon à ce que la quantité de précipité Cu2O formé par la réaction puisse être convertie en quantité mesurable d’un sucre réducteur dans la table de Hammond: Glucose : 4,6 - 236,9 mg ; Fructose : 5,1 - 253,7 mg ; Lactose : 7,7 - 342,0 mg et Maltose : 6,2 - 405,8 mg

1. **méthode de Dubois**

Le principe de cette méthode se repose sur la réaction suivante : l’acide sulfurique concentré provoque, à chaud, le départ de plusieurs molécules d’eau à partir des oses. Cette déshydratation s’accompagne par la formation d’un hydroxy-méthylfurfural (HMF) dans le cas d’hexose et d’un furfural dans le cas d’un pentose. Ces composés se condensent avec le phénol pour donner des complexes colorés (jaune-orangé). L’intensité de la coloration est proportionnelle à la concentration des oses. La densité optique est mesurée à 488 nm à l aide d’un spectrophotomètre.

Un dosage colorimétrique est possible lorsqu’une réaction chimique donne des produits colorés et que l’intensité de la coloration est proportionnelle à la concentration de l’élément à doser. Les dosages colorimétriques s’appuient sur la loi de Beer – Lambert qui définit la transmittance (T) d’une solution comme étant la fraction de l’intensité lumineuse la traversant: T = I0/IT. La transmittance varie en fonction de la longueur d’onde choisie au spectrophotomètre.



**Figure:** représentation d’une cuvette spectrophotométrique et des rayonnements incidents et transmis.

La loi de Beer – Lambert est généralement exprimée en fonction de l’absorbance (A), appelée également densité optique (DO) : A = ε . d . C avec ε, le coefficient d’extinction moléculaire (l/mole/cm); d, la longueur parcourue par le rayonnement lumineux, c’est-à-dire la longueur de la cuve (cm) et C, la concentration de la solution (mole/l). Absorbance et transmittance sont reliées par la relation suivante : A = log (1/T).

Les conditions qui doivent impérativement être remplies pour réaliser un dosage colorimétrique sont les suivantes :

1. la réaction doit donner une coloration proportionnelle à la concentration
2. la coloration doit être stable dans le temps
3. le composé à analyser doit être présent en faible concentration dans la solution
4. la longueur d’onde du spectrphotomètre doit être celle qui permet la plus forte absorbance possible

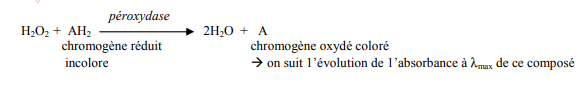
**B.2. Méthodes enzymatiques**

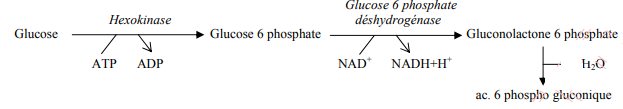
Les dosages enzymatiques peuvent être effectués pour les sucres suivants: glucose, fructose, saccharose, lactose, galactose (amidon après hydrolyse)

**Dosage du glucose par la méthode à la glucose oxydase**



L’évolution de cette réaction est suivie grâce à une réaction indicatrice, catalysée par une peroxydase

**Dosage du glucose par la méthode à l’hexokinase**



On suit l’évolution de l’absorbance à la longueur d’onde d’absorption maximum du NADH (340 nm).

**B.3. Dosage des fibres alimentaires (méthode enzymo-gravimétrique)**

La notion de « fibres alimentaires totales » recouvre une multitude de composés organiques complexes, essentiellement des polysaccharides végétaux autres que l’amidon et la lignine, ces substances (cellulose, hémicelluloses, pectines, hydrocolloïdes, lignine) résistent à la digestion par les enzymes humaines. Des volumes suffisants de fibres alimentaires doivent être ingérés dans le cadre d’une alimentation saine; il est donc indispensable de connaître la teneur en fibres alimentaires des aliments.

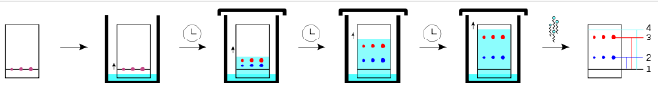
La méthode est basée sur une technique enzymo-gravimétrique dans laquelle l'élimination des protéines et des amidons de l'échantillon est faite par voie enzymatique. Le dosage s’effectue toujours sur deux échantillons de masse pratiquement identique. Les échantillons sont d’abord traités par de l’α-amylase stable à chaud, pour empâter l’amidon et le dégrader en partie. Puis les protéines sont digérées par la protéase et l’amidon résiduel dégradé par l’amyloglucosidase. Les fibres alimentaires solubles sont précipitées avec de l’éthanol (à 95 %, concentration volumique), le précipité est filtré et lavé à l’éthanol et à l’acétone. Le résidu déshydraté est ensuite pesé. Les protéines sont dosées selon la méthode de Kjeldahl (voire chapitre 04) dans le résidu du premier échantillon, les cendres dans le second. La masse moyenne des deux résidus obtenu après déduction des chiffres de protéines, des cendres et de la solution à blanc est la teneur en fibres alimentaires du produit.

**B.3. Méthodes chromatographiques :**

**1. Chromatographie sur couche mince (CCM)**

La chromatographie sur couche mince (CCM) est une technique dans laquelle les composés sont séparés sur une fine couche de matériau adsorbant, typiquement un revêtement de gel de silice sur une plaque de verre ou une feuille d'aluminium ou de plastique.

La CCM est une technique simple et très bon marché, permettant la préparation de l'échantillon et la séparation chromatographique en une seule étape en raison d'une tolérance élevée vis-à-vis de la matrice de l'échantillon.



Une petite goutte, de solution contenant l'échantillon, est déposée sur une plaque. Une petite quantité d'un solvant approprié (l'éluant) est versé dans une cuve de séparation. La plaque de CCM est ensuite placée dans la cuve, de façon à ce que la/les goutte(s) d'échantillon ne touche(nt) pas la surface de l'éluant à l'intérieur de la cuve, puis le couvercle est fermé. Le solvant remonte le long de la plaque par capillarité, rencontre le mélange d'échantillon et l'entraîne vers le haut de la plaque.

Les composés sont séparés en fonction de leurs différences d'attraction vis-à-vis de la phase

stationnaire et en raison de leurs différences de solubilité dans le solvant. Dans certains cas, si les échantillons sont colorés, vous pouvez détecter visuellement les différents composés sur la plaque. Les options les plus fréquemment utilisées sont :

* L'utilisation d'une solution spéciale, qui donne une réaction colorée avec l'analyte (telle que l'iode)
* La lumière U.V. (à 366 nm pour voir certains composés organiques fluorescents ou à 254 nm en utilisant une plaque avec une couche d'adsorbant fluorescent à cette longueur d'ondes, sur laquelle les gouttes d'analyte éteindrons la fluorescence).

**2. Chromatographie en phase gazeuse (CPG)**

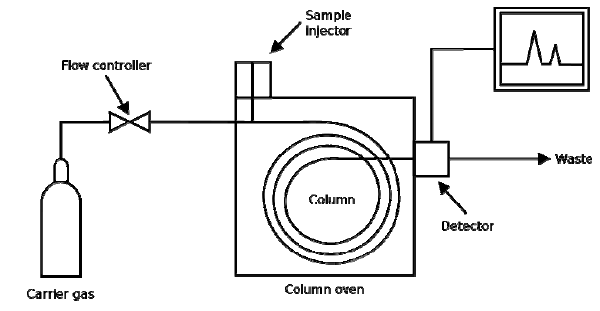
La chromatographie en phase gazeuse (CPG ou GC) est une technique de séparation pour les

composés volatils thermiquement stables. Il s'agit d'une technique simple, facile à mettre en œuvre et qui peut être hautement automatisée.

En chromatographie en phase gazeuse, un gaz peut être utilisé pour transporter un mélange à

travers un lit de matériau, en utilisant la pression comme force. Par conséquent, le système comporte une source de gaz (réservoir ou générateur de gaz) incluant des régulateurs pour contrôler le débit de gaz. Les gaz vecteurs les plus communément employés sont l'hélium, l'hydrogène et l'azote.

Il faut également un four, un injecteur pour l'introduction de l'échantillon, la colonne et un détecteur. L'injection doit être effectuée sous pression. La phase stationnaire est une colonne capillaire, avec différentes modifications de surface intérieure.

****