



Etude cinétique de l'oxydation thermique du beta-carotène et de son influence sur l'oxydation du linoléate d'éthyle, en présence ou non d'alpha-tocophérol

Hafid El Oualja

► To cite this version:

Hafid El Oualja. Etude cinétique de l'oxydation thermique du beta-carotène et de son influence sur l'oxydation du linoléate d'éthyle, en présence ou non d'alpha-tocophérol. Chimie. Université Henri Poincaré - Nancy 1, 1994. Français. NNT : 1994NAN10316 . tel-01748611

HAL Id: tel-01748611

<https://hal.univ-lorraine.fr/tel-01748611>

Submitted on 20 Jun 2018

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



AVERTISSEMENT

Ce document est le fruit d'un long travail approuvé par le jury de soutenance et mis à disposition de l'ensemble de la communauté universitaire élargie.

Il est soumis à la propriété intellectuelle de l'auteur. Ceci implique une obligation de citation et de référencement lors de l'utilisation de ce document.

D'autre part, toute contrefaçon, plagiat, reproduction illicite encourt une poursuite pénale.

Contact : ddoc-theses-contact@univ-lorraine.fr

LIENS

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 122. 4

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 335.2- L 335.10

http://www.cfcopies.com/V2/leg/leg_droi.php

<http://www.culture.gouv.fr/culture/infos-pratiques/droits/protection.htm>

UNIVERSITE HENRI POINCARÉ, NANCY 1
U.F.R. S.T.M.P
G.F.D. Chimie et Physicochimie Moléculaires et Théoriques

T H E S E

présentée à l'Université Henri Poincaré, Nancy 1
en vue de l'obtention du grade de
Docteur de l'Université Henri Poincaré, Nancy 1
en Chimie Physique
Spécialité Cinétique Chimique

par Hafid **EL OUALJA**
Maître ès Sciences

Sujet :

**ETUDE CINETIQUE DE L'OXYDATION THERMIQUE
DU BETA-CAROTENE ET DE SON INFLUENCE
SUR L'OXYDATION DU LINOLEATE D'ETHYLE,
EN PRESENCE OU NON D'ALPHA-TOCOPHEROL.**

Soutenue publiquement le 8 Décembre 1994, devant la Commission d'Examen

Jury :

F. BARONNET	Président
C. RICHARD	Rapporteur
C. AUCLAIR	Rapporteur
G. SCACCHI	Examineur
R. MARTIN	Examineur
D. PERRIN	Examineur

AVANT-PROPOS

Ce travail a été effectué au laboratoire de Chimie Radicalaire de l'Université Henri Poincaré Nancy I (Unité de recherche n°328 Associée au CNRS) sous la direction de Monsieur le Professeur René MARTIN.

J'exprime ma profonde reconnaissance à Monsieur le Professeur René MARTIN pour m'avoir accueilli au sein de son laboratoire, pour ses conseils précieux tout au long de mon travail. Je ne saurais trop le remercier pour l'intérêt qu'il a accordé à ce travail et pour les longues heures de discussion qu'il m'a toujours réservées.

Je tiens à exprimer toute ma reconnaissance à Madame C. RICHARD, Chargée de Recherches à l'URA 433 de l'Université Clermont-Ferrand 2 et à Monsieur C. AUCLAIR, Directeur de Recherches à l'Institut Gustave Roussy à Villejuif qui ont bien voulu accepter d'être rapporteurs de ce travail.

Mes remerciements vont à Monsieur François BARONNET, Directeur de Recherches au CNRS (Nancy) qui a bien voulu juger ce travail et m'a fait l'honneur de présider le jury de cette thèse, ainsi qu'à monsieur G. SCACCHI, Professeur à l'INPL-ENSIC qui a bien voulu examiner ce travail.

J'adresse mes remerciements les plus vifs à Monsieur D. PERRIN, Maître de Conférences à l'Université de Nancy I, qui a bien voulu être membre de ce jury et pour les connaissances théoriques et pratiques qu'il m'a permis d'acquérir, ainsi que pour ses conseils précieux tout au long de ce travail.

Je ne saurai oublier de remercier tout le personnel technique et administratif du Laboratoire pour sa collaboration à mon travail et plus particulièrement Madame E. DUMAS qui a réalisé matériellement ce mémoire et Messieurs H. FRANCOIS et C. RECEVEUR pour leur précieuse et toujours aimable contribution à la réalisation et à la bonne marche du matériel utilisé.

Je voudrais exprimer toute ma reconnaissance à ma femme, Souâd, pour son soutien fidèle et bienveillant pendant toutes mes études supérieures.

Enfin, je voudrais témoigner ma gratitude à mes frères et soeurs, plus particulièrement Mohamed et Noufissa, pour l'aide efficace et le soutien moral qu'ils m'apportent depuis toujours.

TABLE DES MATIERES

	Page
INTRODUCTION	1
BIBLIOGRAPHIE.....	7
 CHAPITRE I - ETUDE CINETIQUE DE L'OXYDATION THERMIQUE, AUTO-AMORCEE OU INDUITE, DU β-CAROTENE "TOUT TRANS"	 9
I - ETUDE EXPERIMENTALE DE L'OXYDATION THERMIQUE DU β-CAROTENE TOUT TRANS	10
I.1 - Oxydation du β-carotène en l'absence d'AIBN	12
I.1.1 - Influence des impuretés	12
I.1.2 - Influence d' α -tocophérol sur l'oxydation du β -carotène : paramètres cinétiques de la réaction	13
I.2 - Oxydation du β-carotène induite par l'AIBN	15
II - INTERPRETATION ET DISCUSSION.....	16
II-1 - Amorçage de l'oxydation du β -carotène.....	16
II-2 - Oxydation du β -carotène	18
III - CONCLUSION	24
BIBLIOGRAPHIE.....	25
 CHAPITRE II - OXYDATION DU LINOLEATE D'ETHYLE INDUITE PAR L'AZOBISISOBUTYRONITRILE (AIBN) EN PRESENCE DE L'OXYGENE MOLECULAIRE	 26
I - CONDITIONS EXPERIMENTALES.....	27
II - RESULTATS.....	28

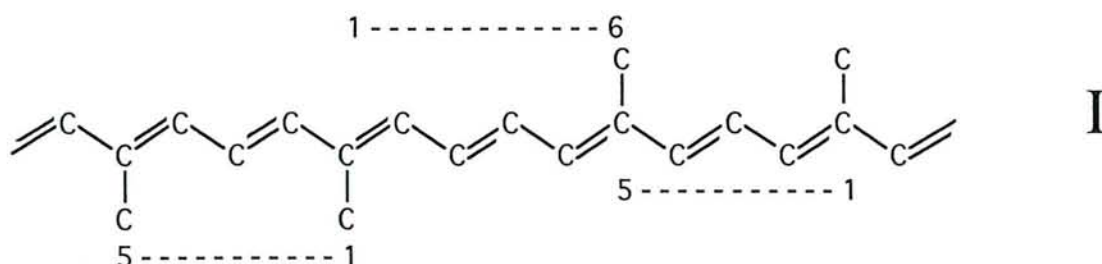
III - INTERPRETATION	28
IV - DISCUSSION	32
V - CONCLUSION	35
BIBLIOGRAPHIE.....	37
 CHAPITRE III - INFLUENCE DU β-CAROTENE SUR L'OXYDATION INDUITE DU LINOLEATE D'ETHYLE	 38
I - CONDITIONS EXPERIMENTALES	40
II - RESULTATS	40
II-1 - Consommations d'oxygène.....	40
II-2 - Dosages chromatographiques de β C	41
III - INTERPRETATION	46
III-1 - Simulation de l'oxydation induite du β -carotène	46
III-2 - Simulation de l'oxydation induite du mélange β -carotène:linoléate..	48
CONCLUSION.....	50
BIBLIOGRAPHIE.....	51
 CHAPITRE IV - INFLUENCE DU β-CAROTENE SUR LES PROPRIETES INHIBITRICES DE L'α-TOCOPHEROL (VITAMINE E) VIS-A-VIS DE L'OXYDATION INDUITE DU LINOLEATE D'ETHYLE	 52
I - RESULTATS EXPERIMENTAUX	53
I-1 - Influence de TH sur l'oxydation induite du linoléate d'éthyle.....	53
I-2 - Influence du mélange TH- β C sur l'oxydation induite du linoléate d'éthyle.....	54
II - INTERPRETATION-DISCUSSION	55
CONCLUSION.....	56
BIBLIOGRAPHIE.....	57
 RESUME - CONCLUSION	 58

ANNEXES	64
ANNEXE I - PARTIE EXPERIMENTALE	65
ANNEXE II - DETERMINATION DE LA VITESSE D'AMORÇAGE PAR L'AIBN.....	73
ANNEXE III - ETUDE CINETIQUE DE L' OXYDATION DE L'ECHANTILLON S ₀ DE β-CAROTENE.....	79
ANNEXE IV - INHIBITION DE L'OXYDATION INDUITE PAR L'AIBN DU LINOLEATE D'ETHYLE PAR UN COMPOSE PHENOLIQUE, LE BHT.....	81
ANNEXE V - DETERMINATION DE LA CONSTANTE D'EQUILIBRE K ₂ DE LA REACTION : L. + O ₂ ⇌ LO ₂ . (2)(-2) RELATIVE AU LINOLEATE D'ETHYLE (LH).....	83
BIBLIOGRAPHIE.....	86

INTRODUCTION

En 1831, Wackenroder extrayait le carotène des carottes et marquait ainsi le début des recherches sur les caroténoïdes.

On entend par caroténoïdes des molécules hydrocarbonées (carotènes proprement dits) et leurs dérivés oxygénés (xanthophyles). Ce sont des composés tétraterpéniques naturels caractérisés par la présence de doubles liaisons conjuguées qui leur confèrent une coloration plus ou moins intense, variant du jaune au rouge. Le squelette carboné de la molécule est composé en général de huit unités isopréniques reliées de telle sorte qu'au centre de la chaîne deux groupements méthyles se trouvent en position 1-6, tandis que les autres groupements méthyles se placent en position 1-5 par rapport aux précédents.



Contrairement aux triterpènes, les caroténoïdes n'ont pas tendance à se cycliser, sauf aux extrémités de la chaîne, ce qui peut être attribué à une certaine rigidité de la molécule due au système de doubles liaisons conjuguées.

Tous les caroténoïdes peuvent provenir de la structure acyclique (I) en $C_{40}H_{56}$, qui présente une longue chaîne de doubles liaisons conjuguées, par hydrogénation, déshydrogénation, cyclisation, oxydation ou par toute opération combinant l'une ou l'autre de ces transformations.

On classe habituellement les caroténoïdes en trois catégories : les hydrocarbures polyéniques acycliques dont le lycopène est le principal type, les dérivés monocycliques, tels les γ -carotènes, enfin les polyènes bicycliques comme les β -carotènes. Dans chacune de ces catégories, on rencontre des dérivés hydroxylés, carbonylés, carbonylés et méthoxylés. Actuellement 600 caroténoïdes environ ont été isolés à partir de sources naturelles, dont 38 sont des précurseurs de la vitamine A (Pfander, 1987).

La plupart des caroténoïdes sont biologiquement actifs et certains d'entre eux (notamment les β -carotènes) sont des sources de rétinol (vitamine A). Les caroténoïdes protègent les plantes des photooxydations destructrices (Krinsky, 1971), probablement par désactivation de l'oxygène singulet (Foote, 1979). Les caroténoïdes ont un rôle important dans la prévention de certains types de cancer (Peto et coll., 1981) ; ils retardent le développement de certaines tumeurs animales induites expérimentalement (Mathews-Roth, 1985, 1989) et finalement, semblent posséder des propriétés antioxydantes, du moins à faible pression d'oxygène (Burton et coll., 1984).

Le plus abondant des caroténoïdes est le β -carotène (β C) qui possède les grandes activités de la vitamine A. Les multiples fonctions biologiques relatives à l'activité de la provitamine A peuvent être attribuées à β C comme par exemple son activité vis-à-vis de l'oxygène singulet (Stahl et coll., 1993) ou des radicaux libres (Burton et coll., 1984) et son action comme agent anticarcinogénique (Krinsky, 1988).

Nombreuses sont les études portant sur le rôle et les fonctions des caroténoïdes mais la plupart des auteurs ne se sont intéressé qu'aux produits de dégradation des carotènes, aux diverses méthodes d'analyse de ces produits et à leurs propriétés dans différents milieux chimiques, biochimiques, biologiques...

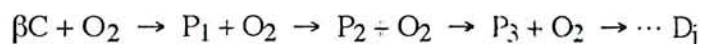
Les études cinétiques des réactions d'oxydation du β -carotène et particulièrement celles impliquant des radicaux libres sont peu nombreuses. Elles méritent pourtant une grande attention par les enseignements qu'elles peuvent apporter dans la transformation de ce substrat complexe.

Dans ce travail, nous nous intéressons surtout à la réaction d'oxydation du β -carotène tout trans qui est le produit naturellement le plus abondant. Nous cherchons à étudier la cinétique d'oxydation auto-amorcée ou induite de ce β -carotène tout trans, seul ou en présence de linoléate d'éthyle, et l'influence de la vitamine E (α -tocophérol) sur ces réactions. Nous cherchons surtout à établir les mécanismes réactionnels d'oxydation.

I - OXYDATION DU β -CAROTENE TOUT TRANS EN SOLUTION

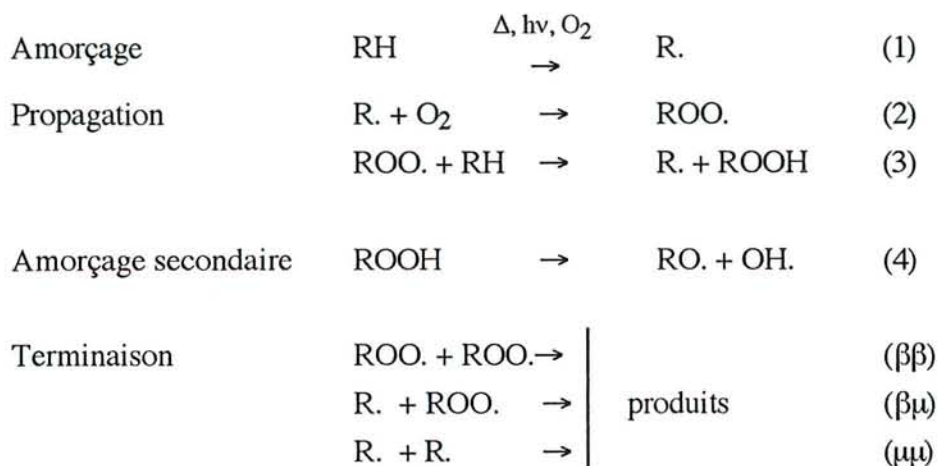
A cause de la forte insaturation de la chaîne carbonée, le β -carotène est très sensible à l'oxydation à l'air et à la lumière. La réaction d'oxydation peut être amorcée par voie photochimique, radiochimique ou thermique. Cette réaction a été étudiée par de nombreux auteurs à l'aide de différentes techniques. Seuls Stefanovich et Karel (1982) ont proposé un mécanisme radicalaire en chaîne d'oxydation du β -carotène avec un modèle cinétique détaillé qui n'était toutefois pas satisfaisant tant que les paramètres cinétiques dépendaient de la concentration initiale de β C.

La plupart des auteurs se sont surtout intéressés à la formation des produits d'oxydation du β -carotène à fort avancement (Krinsky, 1988 ; Handelman, 1991; Kennedy et coll., 1991; Mordt et coll., 1993). Les données de la littérature concernant l'attaque et le site d'attaque du β -carotène par l'oxygène sont controversées. El Tinay et Chichester (1970) suggèrent que la réaction entre β C et O_2 donne lieu à une association complexe de dipôles activés qui se forme à l'équilibre puis se décompose en produits actifs ou redonne β C et O_2 . Gagarina et coll. (1970) proposent le mécanisme suivant :



où P_i est un produit intermédiaire et D_j un produit final.

D'autres auteurs (Emanuel et coll., 1967 ; Karel et coll., 1980; Goldman et coll., 1983) se sont fondés sur la théorie des peroxydes et résument le mécanisme d'oxydation du β -carotène par les étapes suivantes :



où RH représente le β -carotène.

Plus récemment, Mordt et coll. (1993), se fondent sur les données cinétiques concernant l'isomérisation trans-cis du 15,15'-trans- β -carotène discutées par Doering et coll. (1991,1992) pour interpréter l'amorçage de la réaction. En effet, ces auteurs admettent que la molécule de β -carotène tout trans subit une isomérisation trans-cis passant par un biradical intermédiaire singulet, thermodynamiquement stabilisé par l'importante délocalisation des deux électrons non appariés. Cette isomérisation thermique trans-cis favorisée par la stabilité du biradical, provoquerait l'attaque de l'oxygène puis l'amorçage de l'oxydation du β -carotène.

Enfin, toutes les données de la littérature convergent pour démontrer que l'oxydation du β -carotène est une réaction radicalaire. Quel que soit le type d'oxydation, avec ou sans amorceur, les produits d'oxydation sont similaires (Handelman et coll., 1991). Initialement, un radical β -carotényle ($\beta C\cdot$) se forme puis additionne une molécule d'oxygène pour former le radical $\beta COO\cdot$ (β -carotène peroxy) ; ce radical amorce les propagations de chaînes en attaquant d'autres molécules de β -carotène. Cette suggestion de Handelman concernant le mécanisme d'oxydation du β -carotène semble raisonnable.

II - OXYDATION DE SUBSTRATS INSATURES EN SOLUTION

Les réactions d'oxydation de substrats insaturés - généralement les acides gras polyinsaturés et leurs dérivés - relèvent toutes d'un mécanisme radicalaire en chaîne (Bateman, 1954 ; Howard et coll., 1967). Le schéma cinétique classique d'oxydation d'une substance insaturée RH implique généralement les processus décrits ci-dessus au paragraphe I.

L'oxydation est amorcée par voie photochimique, radiochimique ou thermique par l'intermédiaire d'un amorceur de radicaux libres. Le produit primaire de la réaction est un hydroperoxyde (Frankel et coll., 1977 ; Coxon et coll., 1981 ; Rousseau-Richard, 1986). La vitesse de propagation est généralement contrôlée par l'étape (3) (voir schéma cinétique du paragraphe I) qui est souvent le processus le plus difficile.

Dans ce type de réaction, les conditions opératoires ont une influence sur les vitesses de terminaison. Ainsi, pour une faible pression d'oxygène, la concentration quasi-stationnaire en RO_2 diminue et les vitesses des processus ($\mu\mu$) et ($\beta\mu$) ne sont pas négligeables devant celle du processus ($\beta\beta$), complication qui a été négligée par la plupart des auteurs. C'est pourquoi nous avons repris une étude détaillée de l'oxydation induite d'un ester de l'acide linoléique, le linoléate d'éthyle et de l'influence du β -carotène ou de l' α -tocophérol sur cette réaction.

III - PROPRIETES ANTIOXYDANTES DU β -CAROTENE

Les molécules responsables de l'amorçage secondaire des chaînes sont généralement les hydroperoxydes. Pour éviter la peroxydation des lipides, on fait appel à des composés connus sous le nom d'antioxydants. Ces composés sont divisés en deux classes : les antioxydants préventifs et les antioxydants de rupture de chaînes (Burton et coll., 1983, 1984). Les antioxydants préventifs tendent à diminuer la vitesse d'amorçage des chaînes par réduction des hydroperoxydes en alcools ou bien par leur décomposition catalytique en produits non radicalaires. L'autre classe d'antioxydants, celle de rupture de chaînes, intervient dans la propagation des chaînes en capturant ou en transformant les radicaux porteurs de chaînes ROO et R . Ce sont généralement des phénols ou des amines (Rousseau-Richard, 1986). C'est cette dernière classe d'antioxydants qui retient ici notre attention.

Les caroténoïdes sont connus pour leurs propriétés antioxydantes dans les systèmes chimiques ou biochimiques (Krinsky, 1979, 1989). En permettant d'éviter les dommages oxydatifs que peuvent causer les oxydants de nature radicalaire ou non radicalaire, les caroténoïdes pourraient fonctionner comme inhibiteurs d'oxydation par toute une variété de mécanismes. L'expression de leur effet antioxydant dans les organismes vivants est surtout attribuée aux propriétés photoprotectrices des caroténoïdes; les caroténoïdes, plus particulièrement le β -carotène, sont des désactivants efficaces de l'oxygène singulet (Foote et coll., 1968). De plus, ils réagissent rapidement avec les radicaux hydroxyles (Bors et coll., 1982) et les radicaux peroxydes (Packer et coll., 1981).

Pour éviter l'action des radicaux peroxydes, qui sont les principaux porteurs de chaînes dans la peroxydation des lipides, la fonction antioxydante du β -carotène consisterait en la rupture de chaînes cinétiques dans les membranes et autres environnements riches en lipides (Burton et coll., 1984). On s'accorde à penser, depuis les travaux de Burton et coll. (1984) que le

β -carotène n'a de propriétés antioxydantes qu'à faible teneur et aux faibles pressions d'oxygène et que cette activité se transforme en effet pro-oxydant pour les fortes pressions. D'après Suzuki et coll. (1989), cet effet pro-oxydant n'est pas dû au β -carotène ni à ses produits finaux d'oxydation mais aux produits intermédiaires de l'oxydation. Ces derniers sont des amorceurs de la réaction en chaîne de l'oxydation des lipides.

D'autres auteurs (Terao, 1989 ; Kennedy, et coll., 1992) trouvent que les β -caroténoïdes possédant un groupement oxo en position 4 et 4' (canthaxantine, asthaxantine) sont des inhibiteurs plus efficaces de la peroxydation des lipides que les β -carotènes.

En résumé, un grand nombre de travaux ont montré que le rôle joué par le β -carotène est multiple. Cependant, aucune étude cinétique portant sur un système bien défini n'a permis d'établir le mécanisme d'oxydation de cette molécule et de mettre clairement en évidence son influence inhibitrice sur l'oxydation en chaîne d'un substrat organique.

C'est pourquoi nous avons entrepris :

- une étude cinétique de l'oxydation auto-amorcée ou induite du β -carotène tout trans en solution,
- le ré-examen de l'oxydation induite du linoléate d'éthyle, seul ou en présence de β -carotène ou d' α -tocophérol,
- l'étude de l'effet conjugué du β -carotène et de l' α -tocophérol sur l'oxydation induite de linoléate d'éthyle en solution.

BIBLIOGRAPHIE

-
- Bateman, L. ; Morris, A.L. ; *Trans Faraday Soc.* **1953**, 49, 1026.
 - Bateman, L. ; *Quart. Rev. Chem. Soc.* **1954**, 8, 147.
 - Bors, W. ; Saran, M. ; Michel, C. ; *Int. J. Radiat. Biol.* **1982**, 41, 493.
 - Burton, G.W. ; Ingold, K.U. ; *Science* **1984**, 224, 569.
 - Burton, G.W. ; Ingold, K.U. in *Protective Agents in Cancer* ; Mc Brien, D.C.H. ; Slater, T.F. Eds ; Academic press, London, **1983**, p. 81.
 - Coxon, D.T. ; Price, K.R. ; Chan, H.W.S. ; *Chem. Phys. Lipids* **1981**, 28, 365.
 - Doering, W. Von E. ; Birladeann, L. ; Cheng, X-h ; Kitagawa, T. ; Sarma, K. ; *J. Am. Chem. Soc.* **1991**, 113, 4558.
 - Doering, W. Von E. ; Kitagawa, T. ; *J. Am. Chem. Soc.* **1991**, 113, 4288.
 - Doering, W. Von E. ; Sarma, K. ; *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, 114, 6037.
 - El Tinay, A.H. ; Chichester, C.O. ; *J. Org. Chem.* **1970**, 35, 2290.
 - Emanuel, N.M. ; Denisov, E.T. ; Merizuz, Z.K. ; in *Liquid-phase oxidation of hydrocarbons*, Plenum Press, New York, **1967**, p. 9.
 - Foote, C.S. ; Denny, R.W. ; *J. Am. Chem. Soc.* **1968**, 90, 6233.
 - Foote, C.S. in *Singlet Oxygen* ; Wasserman, H.H. ; Murray, R.W. Ed. ; Academic Press, New York, **1979**, p. 139.
 - Frankel, E.N. ; Neff, W.E. ; Rohwedder, W.K. ; Khambay, B.P.S. ; Garwood, R.F. ; Weedon, B.C.L. ; *Lipids* **1977**, 12, 1055.
 - Gagarina, A.B. ; Kasaikin, O.T. ; Emanuel, N.M. ; *Dokl. Akad. Nauk. SSSR* **1970**, 195, 387.
 - Goldman, M. ; Horev, B. ; Saguy, I. ; *J. Food Science* **1983**, 48, 751.
 - Handelman, G.J. ; Van Kuijk, F.J.G.M. ; Chatterjee, A. ; Krinsky, N.I. ; *Free Radical Biol. Med.* **1991**, 10, 427.
 - Howard, J.A. ; Ingold, K.U. ; *Can. J. Chem.* **1967**, 45, 793.
 - Karel, M. in *Antioxidation in Food and Biological systems* ; Simic, M.G. ; Karel, M.P. Eds. ; Plenum Press, N.Y., **1980**, p. 191.
 - Kennedy, T.A. ; Liebler, D.C. ; *Chem. Res. Toxicol.* **1991**, 4, 290.
 - Krinsky, N.I. in *Function in carotenoids*, Isler, O. Ed. ; Birkhäuser Verlag, Basel **1971**, p. 669.
 - Krinsky, N.I. ; *Pure Appl. Chem.* **1979**, 51, 649.
 - Krinsky, N.I. ; *Clin. Nutr.* **1988**, 7, 107.
 - Krinsky, N.I. ; *Free Radical Biol. Med.* **1989**, 7, 617.

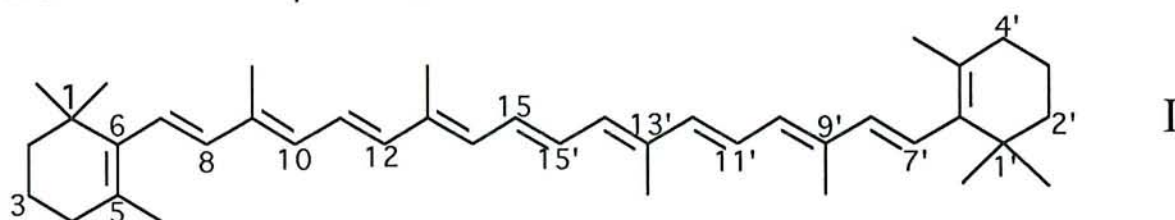
- Mathews-Roth, M.M. ; *Cur. Top. Nut. Dis. (New. Prot. Roles Select. Nutr.)* **1989**, 22, 17.
- Mathews-Roth, M.M. ; *Pure Appl. Chem.* **1985**, 57, 717.
- Mordi, R.C. ; Walton, J.C. ; Burton, G.W. ; Hughes, L. ; Ingold, K.U. ; Lindsay, D.A. ; Moffatt, D.J. ; *Tetrahedron* **1993**, 49, 911.
- Packer, J.E. ; Mahood, J.S. ; Mora-Arellano, V.O. ; Slater, T.F. ; Wilson, R.L. ; Wolfenden, B.S. ; *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **1981**, 98, 901.
- Peto, R. ; Doll, R. ; Buckley, J.D. ; Sporn, M.B. ; *Nature* **1981**, 290, 201.
- Pfander, H. (éd.) 2^{ème} éd., *Key to carotenoids*, Birkhäuser, Basel **1987**.
- Rousseau-Richard, C. ; Thèse Université de Nancy I, **1986**.
- Stahl, W. ; Sies, H. in *Carotenoids in Human Health* ; Canfield, L.M. ; Krinsky, N.I. ; Olson, J.A. Eds. ; *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, **1993**, vol. 691, p. 10
- Stefanovitch, A.F. ; Karel, M. ; *J. Food Processing Preservation* **1982**, 227.
- Suzuki, T. ; Usuki, R. ; Kaneda, T. ; *J. Jpn. Oil Chem. Soc. (Yukagaku)* **1989**, 38, 486.
- Terao, J. ; *Lipids* 1989, 24, 659.

CHAPITRE I

ETUDE CINETIQUE DE L'OXYDATION THERMIQUE, AUTO-AMORCEE OU INDUITE, DU β -CAROTENE TOUT TRANS

En dépit du rôle important qu'ils semblent jouer comme antioxydants et comme stabilisateurs d'espèces excitées, les β -caroténoïdes n'ont jusqu'ici été l'objet que de rares études physico-chimiques.

El Tinay et Chichester (1970) ont examiné le mécanisme d'oxydation du β -carotène tout trans (I) par l'oxygène moléculaire dans le toluène vers 60°C, en l'absence et en présence d'additifs comme la N-bromosuccinimide (NBS), l'azobisisobutyronitrile (AIBN), la diphenylamine,... Ils montrent qu'en présence d'un excès d'oxygène, il n'y a pas de période d'induction et que l'autoaccélération de la réaction est négligeable. La vitesse est indépendante de la concentration de β -carotène.



Les produits sont essentiellement les mono-5,6- et 5,8- époxy β -carotènes et leurs isomères, ainsi que les di-5,6, 5',6' et di-5,8, 5',8'- époxy β -carotènes et des carbonyles polyènes.

En présence de petites quantités de NBS, ces auteurs observent que la vitesse d'oxydation du β -carotène est environ 6 fois plus grande que la référence et que les produits de réaction diffèrent de ceux en l'absence de NBS. Ils trouvent en particulier des 4-céto et 4,4'-céto β -caroténoïdes qui n'apparaissent pas dans l'oxydation non amorcée.

En présence d'AIBN, la vitesse d'oxydation augmente également mais la cinétique de la réaction ainsi que les caractéristiques de l'absorption lumineuse du mélange réagissant sont modifiées. Les auteurs concluent que la réaction en présence d'AIBN est un processus en chaîne - car elle se trouve inhibée par la diphenylamine - très différent de celui en l'absence d'AIBN.

Compte tenu du petit nombre de données cinétiques et de l'influence que peuvent avoir les impuretés des réactifs sur ces données, ces conclusions nous paraissent douteuses.

Il nous a donc paru utile de reprendre une étude cinétique détaillée de l'oxydation thermique du β -carotène tout trans, en portant une attention toute particulière à la pureté des réactifs.

I - ETUDE EXPERIMENTALE DE L'OXYDATION THERMIQUE DU β -CAROTENE TOUT TRANS

L'oxydation thermique du β -carotène tout trans a été étudiée entre 50 et 80°C, sous des pressions d'oxygène moléculaire comprises entre 50 et 750 Torr, le plus souvent en solution dans le chlorobenzène, en présence ou en l'absence d'un inducteur, l'azobisisobutyronitrile (AIBN).

Des échantillons de β -carotène d'origine et de pureté affichée différentes ayant donné des résultats divergents, il a été nécessaire de procéder à une purification de ces échantillons. Cette opération et son incidence sur la cinétique de la réaction seront précisées ci-dessous dans la présentation des résultats expérimentaux (cf aussi annexe I et III).

La disparition du β -carotène était suivie par chromatographie liquide haute pression (cf annexe I). Celle d'oxygène était mesurée au cours du temps d'après les variations de la pression totale régnant dans le réacteur. Dans le cas de la réaction induite par l'AIBN, cette pression doit être corrigée de celle de l'azote qui se dégage lors du processus de décomposition de l'AIBN (cf annexe II).

La vitesse globale de consommation de l'oxygène moléculaire résulte des oxydations du substrat, du solvant et de l'amorceur. Nous avons vérifié que la vitesse de consommation d'oxygène due au solvant est tout à fait négligeable devant celle du substrat dès lors que la concentration de ce dernier dépasse 10^{-4} M.

Dans le cas de l'amorçage par l'AIBN, la vitesse de consommation d'oxygène due à l'amorceur est égale à la vitesse d'amorçage (W_o) puisque tous les radicaux libres isobutyronitrile, $A\cdot$, sont transformés en radicaux libres peroxy $AO_2\cdot$. (cf annexe II). L'importance relative de ce phénomène dépend de la longueur des chaînes, ou pratiquement, de l'importance du rapport $V_{O_2}^o/W_o$. Dans toute la suite de ce travail, nous avons adopté la notation suivante pour l'expression des vitesses initiales de consommation des réactifs : V_i^o : vitesse initiale de consommation de l'espèce i . Les conditions expérimentales du présent chapitre sont résumées dans la tableau I.1.

TABLEAU I-1

Oxydation thermique du β -carotène tout trans.
Résumé des conditions expérimentales.

Echantillon	T, °C	(AIBN) _o , M	(βC) _o , M	$P_{O_2}^o$, Torr
S ₁	50	0	$5 \cdot 10^{-4}$ - 10^{-1}	50-750
		$9 \cdot 10^{-2}$ - $9 \cdot 10^{-3}$	$5 \cdot 10^{-4}$ - $2 \cdot 10^{-2}$	50-750
S ₂	50	0	$5 \cdot 10^{-3}$	450
		$9 \cdot 10^{-3}$	10^{-3} - 10^{-2}	450
S ₃	50-80	0	$5 \cdot 10^{-4}$ - $2 \cdot 10^{-2}$	50-750
		$9 \cdot 10^{-2}$ - $9 \cdot 10^{-3}$	$5 \cdot 10^{-4}$ - $2 \cdot 10^{-2}$	450

I.1 - Oxydation du β -carotène en l'absence d'AIBN

I.1.1 - Influence des impuretés

L'oxydation auto-amorcée (en l'absence d'AIBN) du β -carotène a tout d'abord été examinée à 50°C sur trois échantillons différents numérotés 1, 2 et 3. Les échantillons 1 et 2 (S_1 , S_2) étaient des produits Fluka, étiquetés à 97 % de pureté ; l'échantillon 3 (S_3) était un produit Janssen, étiqueté 96 %. La consommation de β -carotène a été suivie au cours du temps pour chaque échantillon (cf figure I-1 et tableau I-1). Les résultats obtenus pour les échantillons S_1 et S_2 diffèrent beaucoup : on observe pour S_2 une période d'induction de plus de 20 min suivie d'une réaction assez peu autoaccélérée tandis que S_1 s'oxyde dès l'instant initial à une allure qui s'autoaccélère au cours du temps. L'échantillon S_3 qui affiche pourtant une pureté inférieure aux précédents donne une période d'induction plus grande que celle obtenue avec S_2 .

Devant ces incohérences, nous avons procédé à une purification des échantillons "extrêmes" S_1 et S_3 et avons effectué 3 recristallisations successives (cf annexe I). Nous avons observé que deux pics chromatographiques de nature inconnue disparaissent du chromatogramme des échantillons ainsi traités : les recristallisations ont donc bien pour effet d'éliminer des "impuretés". Nous avons ensuite soumis les échantillons "purifiés" S_{1p} et S_{3p} à l'oxydation dans les mêmes conditions que précédemment. L'échantillon S_{1p} donne à peu près les mêmes résultats que S_2 ; S_{3p} donne une période d'induction sensiblement plus grande que S_3 .

Plus le carotène est pur, plus la réaction semble difficile. Cependant, au-delà d'un certain degré de purification, la vitesse se stabilise. Ainsi, la purification de S_{3p} par 3 autres cristallisations successives (S_{3pp}) reste sans effet sur la vitesse d'oxydation (cf figure I-1).

Nous avons comparé les consommations de β -carotène et d'oxygène (cf figure I-2) et cherché à mesurer les périodes d'induction τ définies empiriquement par l'intersection des tangentes d'inflexion avec l'axe des temps (Rousseau-Richard et Coll., 1983, 1988, 1991). Ces périodes d'induction sont pratiquement les mêmes pour l'oxygène et pour le β -carotène : $\tau_1 = 23$ mn pour S_1 , $\tau_2 = 50$ min pour S_2 et $\tau_3 = 57$ min pour S_3 . Elles semblent donc dépendre fortement du degré de pureté du β -carotène.

Il ressort enfin de l'examen de la figure I-2 qu'à chaque instant la vitesse de consommation de l'oxygène est environ 3 fois plus élevée que celle du β -carotène.

Nous avons étudié l'influence de la concentration initiale $(\beta C)_0$ puis de la pression initiale d'oxygène $P_{O_2}^0$ sur la vitesse de disparition du β -carotène. Les résultats expérimentaux sont portés dans le tableau I-2.

Nous avons déterminé les ordres par rapport aux réactifs en mesurant les vitesses maximales de disparition du β -carotène. Les ordres relatifs au β -carotène (fig. I-3) et à l'oxygène (fig. I-4) sont respectivement 1,2 et 0,6 dans le cas de S_1 et 1,0 et 0,85 dans le cas de S_3 .

TABLEAU I-2

Oxydation auto-amorcée du β -carotène tout trans à 50°C.
Influence des concentrations initiales des réactifs sur la
vitesse maximale de consommation de β -carotène.

$10^3.(\beta C), M$	$P_{O_2}^0, Torr$	$10^3.(O_2), M$	$10^{10}.V_{\beta C}, M.s^{-1}$	Echantillon
0,01	450	4,68	2,8	S ₁
0,1	450	4,68	4,45	
1	450	4,68	645	
5	450	4,68	4300	
10	450	4,68	7000	
1	85	0,88	233	S ₁
1	150	1,56	355	
1	450	4,68	645	
1	750	7,79	900	
5	150	1,56	1080	S ₃
5	450	4,68	2680	
1	450	4,68	580	

I.1.2 - Influence de l' α -tocophérol sur l'oxydation du β -carotène : paramètres cinétiques de la réaction

Nous avons recherché quelle était l'influence de l' α -tocophérol (TH) sur l'oxydation du β -carotène. De faibles quantités de TH inhibent fortement l'oxydation du β -carotène (fig. I-5). Durant les premières heures, l' α -tocophérol est consommé lentement et tant qu'il est présent on n'observe pratiquement pas de consommation de β -carotène. Quand TH a complètement disparu, après 80 heures dans le cas de la fig. I-5, l'oxydation du β -carotène démarre tout comme en l'absence de TH, à la cadence d'une molécule de β -carotène consommée pour trois d'oxygène environ.

Comme il a été montré que l'oxydation de TH (Rousseau-Richard et Coll., 1991) est une réaction par stade dont la vitesse est pratiquement égale à celle de production des radicaux libres dans le milieu, la loi de vitesse de disparition de TH peut renseigner sur l'amorçage de

l'oxydation du β -carotène. Nous avons donc déterminé les paramètres cinétiques de la consommation de TH au cours du temps.

Le tableau I-3 résume l'influence de la pression initiale d'oxygène, de la concentration initiale de β -carotène et de la température sur l'oxydation de β -carotène en présence de TH. On en déduit l'expression de vitesse :

$$\left(-\frac{d(\text{TH})}{dt}\right)_o = k (\beta\text{C})_o (\text{O}_2)_o$$

avec $k = 10^{(5,5 \pm 0,5)} \exp((-8000 \pm 500)/T) \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$

donnée par la représentation d'Arrhénius de la fig. I-6. Les incertitudes sur la valeur du facteur préexponentiel, A, et celles sur l'énergie d'activation E sont des écarts type.

TABLEAU I-3

Oxydation auto-amorcée du β -carotène (S_3) en présence d' α -tocophérol (10^{-4} M).
Influence des concentrations initiales des réactifs
sur la vitesse de consommation de tocophérol.

T, °C	P _{O₂} ^o , Torr	10 ³ .(O ₂), M	10 ³ .(βC), M	$-\frac{d(\text{TH})}{dt} \times 10^{11}, \text{M.s}^{-1}$
50	150	1,56	5,00	5,0
50	450	4,68	2,50	6,4
50	450	4,68	5,00	12,9
60	450	4,72	5,00	23,6
70	450	4,76	5,00	54,1
80	735	7,86	5,00	174

Dans les conditions de la figure I-5, vu l'excès de β -carotène par rapport à TH, la consommation de β -carotène ne peut être perçue. Mais on a vérifié qu'en partant de quantités égales de β -carotène et de TH, les deux réactifs s'oxydent lentement à la même vitesse (fig. I-7). La stœchiométrie de la réaction serait alors une mole de β -carotène pour une mole de TH. Ce résultat est important dans l'établissement du mécanisme réactionnel.

Enfin, comme la réaction d'oxydation du β -carotène est très sensible aux impuretés des réactifs, nous avons effectué différents tests et obtenu les résultats suivants :

- en présence d'oxygène, l' α -tocophérol seul n'est pas oxydé après 24 heures de réaction.

- une solution de β -carotène et d' α -tocophérol, soumise à un débit continu d'hélium pur à la pression atmosphérique, ne subit aucune autre transformation que l'isomérisation trans-cis du β -carotène observée par son pic d'absorption, caractéristique vers 340 nm.

Ainsi TH inhibe l'oxydation en chaîne du β -carotène mais se révèle incapable d'inhiber l'isomérisation trans-cis du β -carotène que l'on observe dans ces conditions.

I.2 - Oxydation de β -carotène tout trans induite par l'AIBN

Nous avons étudié l'oxydation du β -carotène amorcée par l'AIBN dans les mêmes conditions de pression, de température et de solvant que l'oxydation auto-amorcée. Tous les résultats sont rassemblés dans le tableau I-4.

TABLEAU I-4

Oxydation amorcée par l'AIBN du β -carotène tout trans à 50°C.

Influence des concentrations initiales des réactifs sur les vitesses maximales de consommation de β -carotène (S_1).

$10^3.(\beta C), M$	$10^3.(AIBN), M$	$P_{O_2}^0, Torr$	$10^3.(O_2), M$	$10^8.V_{\beta C}, M.s^{-1}$
0,1	9	450	4,68	6,4
0,32	9	450	4,68	12,9
1	9	450	4,68	26,3
5	9	450	4,68	63,3
1	9	85	0,88	12,7
1	9	200	2,08	16,7
1	90	450	4,68	91,7
1	9	450	4,68	26,3
1	0,9	450	4,68	9,4

Même en présence d'un inducteur efficace comme AIBN, on observe encore une nette influence des impuretés sur la vitesse initiale d'oxydation du β -carotène (cf fig. I-8 à I-10). Nous avons mesuré les périodes d'induction de la même façon qu'en l'absence d'AIBN. Pour les trois échantillons on trouve : $\tau_1 = 20$ min pour S_1 , $\tau_2 = 28$ min pour S_2 et $\tau_3 = 29$ min pour S_3 . Les vitesses maximales d'oxydation sont supérieures à celles en l'absence d'AIBN. Le rapport de la vitesse de consommation d'oxygène à celle de β -carotène est toujours compris entre 2,8 et 3,2 à tout moment de la réaction. Dans le cas particulier de S_1 , ce rapport est légèrement inférieur à l'unité durant les 20 premières minutes de la réaction, ce qui est probablement dû à la présence de quantités importantes de peroxydes dans cet échantillon qui est le moins pur.

Nous avons aussi vérifié l'influence inhibitrice de l' α -tocophérol sur l'oxydation induite du β -carotène (fig. I-11). Tant que TH est présent, on n'observe pas de consommation de β -carotène puis l'oxydation démarre comme en l'absence de TH.

Nous avons cherché à déterminer les ordres par rapport aux réactifs en mesurant les vitesses maximales de réaction. Dans le cas de l'amorçage par l'AIBN, les vitesses maximales ne sont pas très sensibles à la pureté du β -carotène. En effet, quel que soit l'échantillon considéré, les ordres relatifs au β -carotène (fig. I-12), à l'oxygène (fig. I-13) et à l'AIBN (fig. I-14) sont respectivement 0,6 , 0,6 et 0,5. Par ailleurs, ces ordres ne varient guère avec l'avancement réactionnel.

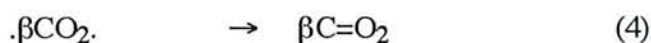
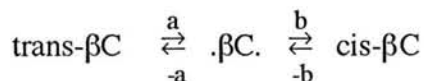
Dans la détermination des ordres par rapport à l'oxygène, on considère la quantité d'oxygène dissoute en solution. On utilise alors la loi de Henry en admettant qu'elle est applicable dans l'intervalle de pression 35-750 Torr (cf annexe I).

II - INTERPRETATION ET DISCUSSION

II.1 - Amorçage de l'oxydation du β -carotène

Doering et Coll. (1992) suggèrent que l'isomérisation du β -carotène tout trans en 15-15'-cis- β -carotène peut avoir lieu en solution à basse température. La réaction est facile parce que le biradical singulet intermédiaire se trouve stabilisé par l'importante délocalisation des deux électrons π non appariés en 15, 15'. Au cours de la rotation du squelette carboné du β -carotène tout-trans, une densité de spin non apparié se développe sur chaque moitié de la molécule (βC). Nos résultats suggèrent qu'un spin non apparié peut être capturé par une molécule d'oxygène donnant ainsi naissance à un biradical triplet de type carbone-peroxyde (processus 2) : une moitié est un radical peroxyde très réactif, l'autre moitié est un radical de type allylique fortement stabilisé par résonance. Ainsi, le biradical βCO_2 est capable d'amorcer la réaction en chaîne par exemple en arrachant un atome d'hydrogène au β -carotène. En présence d' α -tocophérol, les

chaînes sont supprimées mais l'isomérisation n'est pas inhibée. Le schéma résultant de ce processus complexe en présence d' α -tocophérol pourrait être le suivant :



où $\beta\text{C}=\text{O}_2$ est un endoperoxyde et $\text{T}_{\cdot\text{H}}$ l' α -tocophérol déshydrogéné (Dürckheimer et Coll., 1964 ; Csallany et Coll., 1969). De ce schéma on déduit l'équation de vitesse :

$$-\frac{d(\text{TH})}{dt} = -\frac{d(\beta\text{C})}{dt} = k_2 \frac{k_a}{2k_{-a}} (\beta\text{C}) (\text{O}_2)$$

avec $k_{-a} \gg k_2 (\text{O}_2)$, $k_b \approx k_{-a}$, $k_a \approx k_b$ et $k_4 \ll k_3(\text{TH})$.

(βC) représente la concentration globale en isomères cis-trans du β -carotène.

Cette relation est en bon accord avec nos résultats expérimentaux en l'absence d'AIBN et on obtient après identification :

$$k_2 \frac{k_a}{2k_{-a}} = 10^{(5.5 \pm 0.5)} \exp((-8000 \pm 500)/T) \text{ M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$$

En supposant que pour l'étape (2) la barrière d'énergie est nulle et que le facteur de fréquence est normal, on peut écrire :

$$k_2 \approx 10^7 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$$

Quant au processus (-a), nous lui affectons un facteur préexponentiel normal de 10^{13} s^{-1} et une énergie d'activation de 4 kcal/mol qui est la barrière de rotation des orbitales sp^2 , comme dans le butadiène (voir par exemple Benson, 1976) :

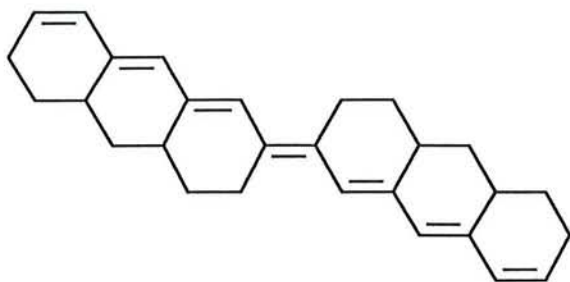
$$k_{-a} = k_b \approx 10^{13} \exp(-2000/T) \text{ s}^{-1}$$

On en déduit les paramètres cinétiques de l'isomérisation trans-cis du β -carotène :

$$E_a \approx (20000 \pm 1000) \text{ cal} \cdot \text{mol}^{-1}$$

$$A_a \approx 10^{(11.8 \pm 0.5)} \text{ s}^{-1}$$

Doering et Coll. (1991, 1992) ont étudié les réarrangements trans-cis d'une série de polyènes conjugués du type $\text{H}(\text{CH}=\text{CH})_n\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}=\text{CH})_p\text{H}$ rendus semi rigides par l'incorporation de toutes les liaisons doubles, sauf la centrale, dans des cycles à 6 carbones fusionnés comme par exemple II :



II

Ils en déduisent les énergies d'activation de l'isomérisation trans-cis de ces polyènes et l'énergie de résonance ER_n de l'électron célibataire en interaction avec n liaisons doubles ; en prenant comme référence $ER_1 = 13,5$ kcal pour le radical libre allyle, ils en déduisent $ER_2 = 16,9$ kcal, $ER_3 = 19,2$ kcal, $ER_4 = 20,7$ kcal. Par extrapolation, ils estiment pour l'isomérisation trans-cis du polyène pour lequel $n = p = 5$, qui serait le modèle du β -carotène, une énergie d'activation de 23 kcal/mol.

Notre énergie d'activation, $E_a = 20$ kcal/mol, conduit à une énergie de résonance $ER_5 = 23,2$ kcal/mol, soit une valeur un peu plus grande que celle prévue par Doering (21,7 kcal/mol).

Notons que, d'une part, Doering et coll. ont obtenu leur résultat par extrapolation et que, d'autre part, les molécules qu'ils ont utilisées, quoique toutes trans, n'ont sans doute pas un squelette carboné plan, du fait de la non planéité des cycles; il est donc probable que la stabilisation des radicaux libres qu'ils obtiennent ne soit pas aussi grande que dans le cas du β -carotène pour lequel la chaîne polyénique peut se situer sans contrainte dans un plan.

En conclusion, notre évaluation de k_a qui est la première à notre connaissance, se trouve en bon accord avec l'estimation de Doering et coll. si on considère que les molécules qu'ils ont étudiées ne sont pas des modèles parfaits du β -carotène.

En l'absence d' α -tocophérol, les processus (a) (-a) et (2) peuvent être écrits sous la forme d'un processus global d'amorçage :



avec
$$-\frac{d(\beta C)}{dt} = k_{a'}(O_2)(\beta C)$$

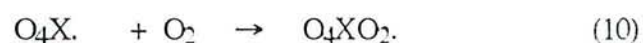
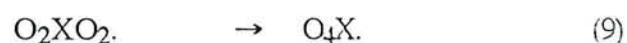
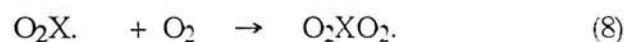
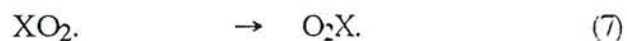
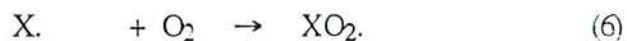
et
$$k_{a'} = 10^{(5.5 \pm 0.5)} \exp((-8000 \pm 500)/T) \text{ M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$$

II.2 - Oxydation du β -carotène

L'oxydation auto-amorcée et l'oxydation induite du β -carotène (noté ci-dessous XH et non plus βC) présentent des similitudes remarquables. Dans les deux cas, l'oxydation est auto-

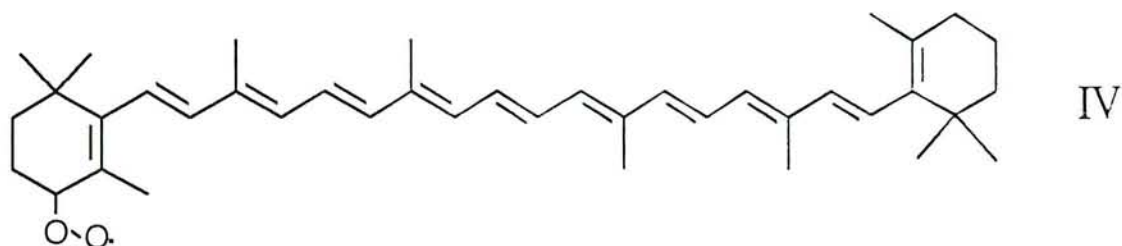
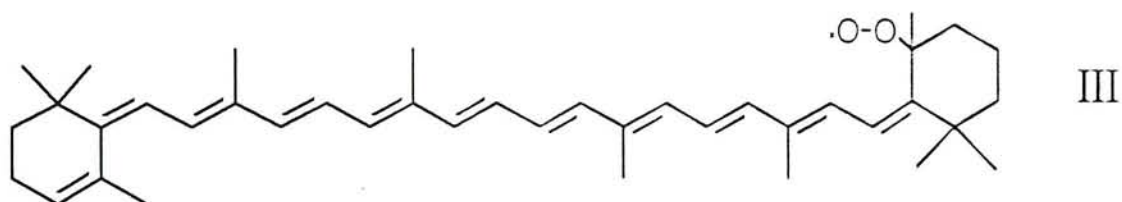
accélérée, présente une période d'induction et est complètement inhibée par de faibles quantités d' α -tocophérol. A tout moment de la réaction, le rapport de la vitesse de consommation d'oxygène à celle de β -carotène est toujours proche de 3.

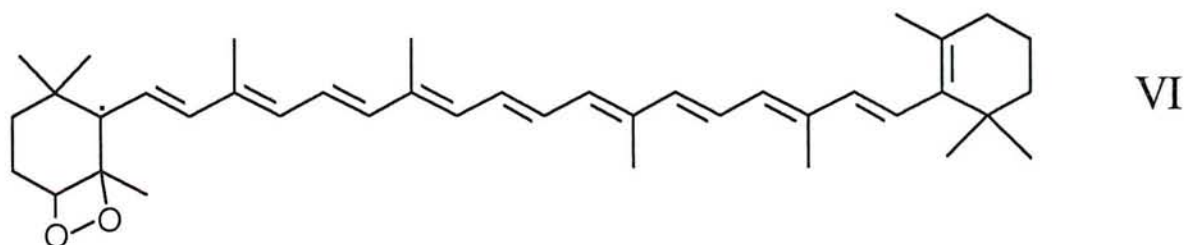
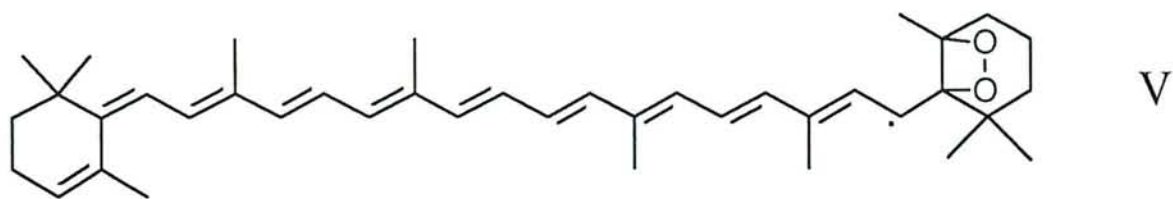
Il est clair que la réaction est radicalaire en chaîne. En présence et en l'absence d'amorceur on peut a priori proposer les étapes de propagation de chaînes suivantes :



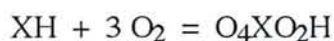
Dans ce schéma, X. est le radical libre stabilisé par résonance provenant de l'arrachement d'un atome d'hydrogène en position 4 ou 4' du β -carotène. Deux types de radicaux peuvent alors être considérés :

- les radicaux libres peroxy très réactifs : $XO_2.$ (par exemple III et IV), $O_2XO_2.$ et $O_4XO_2.$,
- les radicaux libres stabilisés par résonance X., $O_2X.$ (par exemple V et VI) et $O_4X.$ qui sont beaucoup moins réactifs.



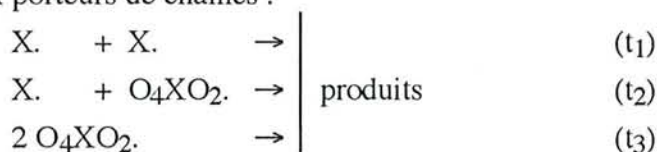


Les processus d'isomérisation (7), (9), etc..., sont supposés suffisamment rapides pour éviter la formation d'hydroperoxydes XO_2H , $\text{O}_2\text{XO}_2\text{H}$, etc... Mais dès qu'un radical oxygéné comme $\text{O}_4\text{XO}_2\cdot$ est lourdement chargé en oxygène, le processus (11) tend à devenir prépondérant devant l'isomérisation et une molécule d'hydroperoxyde $\text{O}_4\text{XO}_2\text{H}$ se forme. Ces propagations de chaînes sont justifiées par la stœchiométrie effectivement observée :



L'effet autocatalytique peut s'expliquer en partie par l'instabilité des hydroperoxydes et des endoperoxydes formés.

Les principales étapes de terminaison consistent en la combinaison deux à deux des deux types de radicaux porteurs de chaînes :



puisque l'on a sans doute : $(\text{X}\cdot) \approx (\text{O}_2\text{X}\cdot) \approx (\text{O}_4\text{X}\cdot)$ et $(\text{XO}_2\cdot) \approx (\text{O}_2\text{XO}_2\cdot)$ à l'état quasi-stationnaire.

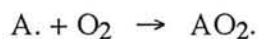
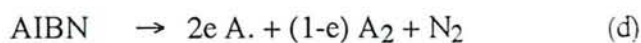
En désignant par r_i la vitesse d'amorçage, en faisant l'hypothèse de l'état quasi-stationnaire sur tous les radicaux libres et en supposant des chaînes longues, on obtient à faible avancement réactionnel :

$$-\frac{d(\text{XH})}{dt} = \frac{k_6 k_{11} (\text{O}_2) (\text{XH})}{k_{t_1}^{1/2} k_{11} (\text{XH}) + k_{t_3}^{1/2} k_6 (\text{O}_2)} \cdot r_i^{1/2} \quad (12)$$

avec $k_6 \approx k_8 \approx k_{10}$, $k_{t_2} \approx 2 k_{t_1}^{1/2} k_{t_3}^{1/2}$.

II.2.1 - Considérons tout d'abord l'oxydation induite du β -carotène.

L'étape d'amorçage s'écrit :



où A. représente le radical libre isobutyronitrile et e le coefficient d'effet cage. La vitesse d'amorçage est (cf annexe II) :

$$r_i = 2e k_d (\text{AIBN})$$

Si les deux termes du dénominateur sont sensiblement égaux, l'expression (12) de la vitesse globale d'oxydation du β -carotène est en accord avec les ordres expérimentaux déterminés à plus fort avancement (0,6 par rapport à XH, 0,5 par rapport à O_2 et par rapport à l'AIBN). Rappelons que les ordres partiels ne semblent guère dépendre de l'avancement réactionnel.

II.2.2 - Dans le cas de l'auto-oxydation du β -carotène, l'étape d'amorçage est la suivante :



et sa vitesse r_i est donnée (cf § II.1) par :

$$r_i = k_{a'} (\text{O}_2) (\text{XH})$$

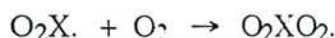
L'expression (12) de la vitesse globale d'oxydation est encore valide avec des ordres partiels 1 et 1 par rapport au β -carotène et à l'oxygène. Ces prévisions sont en parfait accord avec nos résultats expérimentaux concernant l'échantillon S_3 . Rappelons que l'échantillon S_3 est plus pur que S_1 . Dans ce dernier cas, nos résultats expérimentaux seraient en accord avec une étape d'amorçage dans laquelle les ordres relatifs à l'oxygène et au β -carotène sont 0 et 1 respectivement. Il est clair que l'amorçage dans le cas de l'échantillon S_1 est dû à la présence d'impuretés (peroxydes) conduisant à un ordre apparent relatif au β -carotène égal à 1, la concentration en impureté étant évidemment proportionnelle à celle de β -carotène. Dans cette discussion, il est encore supposé que les ordres partiels à vitesse maximale sont les mêmes qu'à faible avancement réactionnel. La continuité des courbes des figures I-12 à I-14 semble bien confirmer cette hypothèse.

Finalement, les schémas cinétiques proposés ici pour l'oxydation auto-amorcée et pour l'oxydation induite du β -carotène diffèrent seulement par le processus d'amorçage à faible avancement réactionnel. A fort avancement, les branchements dégénérés dus à la décomposition des peroxydes deviennent probablement les processus d'amorçage principaux mais, dans les deux cas, les étapes de propagation et de terminaison semblent demeurer pratiquement les mêmes. Les propagations proposées sont parmi les plus simples qui permettent de rendre compte de la stœchiométrie observée. Mais tout autre schéma mettant en jeu des radicaux plus lourdement chargés en oxygène pourrait aussi bien convenir.

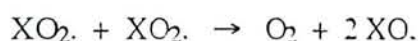
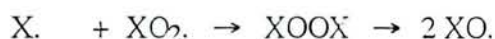
De tels schémas rendent-ils également compte des produits de réaction qui ont été observés ? L'addition de deux ou plusieurs molécules d'oxygène sur une seule molécule du β -carotène est-elle compatible avec les données analytiques de la littérature ?

X. est un radical β -carotényle stabilisé par résonance et XO_2 . un radical peroxy très réactif (III, IV).

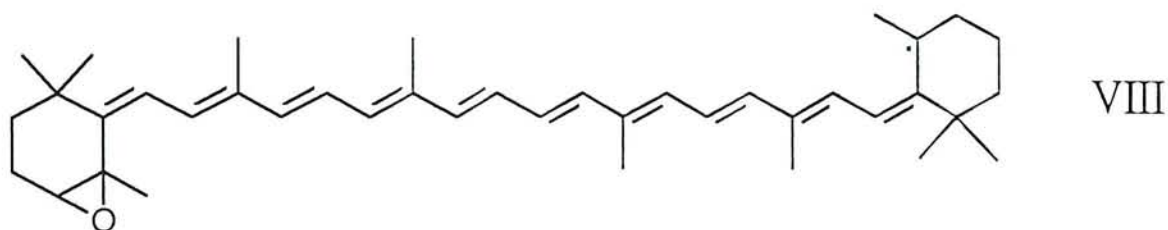
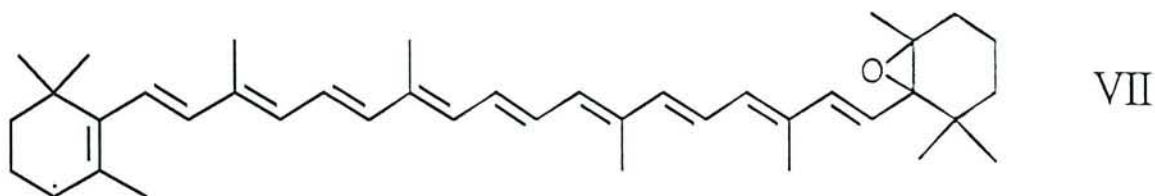
Ces espèces peuvent facilement s'isomériser pour donner des formes endoperoxydiques stabilisées par résonance O_2X . (V, VI) qui peuvent additionner une nouvelle molécule d'oxygène :



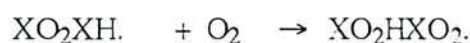
Ce dernier radical $\text{O}_2\text{XO}_2 \cdot$, peut encore s'isomériser en $\text{O}_4\text{X} \cdot$, un radical stabilisé par résonance, pour donner O_4XO_2 . et ainsi de suite. Finalement, on peut obtenir des poly-endoperoxydes O_{2n}XH en position 5,6 7,8 9,10 11,12 et 13,14 correspondant à l'addition successive de 5 molécules d'oxygène mais on peut aussi avoir des poly-endoperoxydes en position 4,5 6,7 8,9 etc... ou 4,5 5',6' 6,7 7',8' etc... Ces endoperoxydes sont instables et peuvent se décomposer en cétones ou aldéhydes. Quand 6 molécules d'oxygène sont successivement additionnées en position 5,6 7,8 9,10 11,12 13,14 et 15,15' il peut y avoir rupture de liaison en 15,15' etc... donnant naissance au rétinol d'une part et à nombre de petites molécules dioxygénées d'autre part. Le rétinol ou l'acide rétinoïque peuvent donc être formés par additions successives de 6 molécules d'oxygène. Les produits les plus lourds peuvent être formés par addition d'une ou deux molécules d'oxygène suivie de ruptures de liaison. Les époxydes sont facilement obtenus dans des processus tels que :



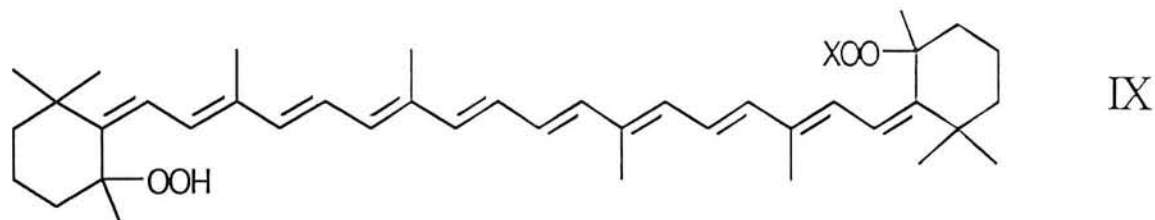
qui donnent les époxy-radicaux $\text{OX} \cdot$, stabilisés par résonance, VII et VIII. Ces derniers peuvent soit additionner des molécules d'oxygène soit arracher un atome d'hydrogène et donner des 5,6 époxy- ou 4,5 époxy- β -carotène. Ce dernier n'a jamais été observé ; ceci peut résulter du fait que la densité de spin est plus forte en position 5 qu'en position 4 du radical libre X. .



$\text{XO}_2\cdot$ peut s'additionner à une molécule de β -carotène, au lieu de s'isomériser selon le processus (7), et donner les étapes de propagation suivantes :



où $\text{XO}_2\text{HXO}_2\text{H}$ est le produit IX ci-dessous.



IX se décompose en $\text{OH}\cdot$, $\text{XO}\cdot$ et $\text{OXHO}\cdot$, qui sont des di-époxy- β -carotènes en position 5,6-5',6' ou 5,6-5',8' ou 5,8-5',8'. Bien entendu, dans ces processus, seulement une demi (ou une) molécule d'oxygène se trouve consommée par molécule de β -carotène : les produits époxy et diépoxy ne peuvent donc pas être les seuls produits primaires de la réaction puisque nous trouvons qu'il se consomme environ trois molécules d'oxygène pour une de β -carotène.

Le schéma cinétique que nous avons proposé est compatible avec le résultat d'études analytiques de la réaction (El Tinay et Coll., 1970 ; Mordi et Coll., 1991, 1993 ; Handelman et Coll., 1991 ; Kennedy et Coll., 1991 ; Zinsou, 1971 ; Yamauchi et Coll., 1993 ; Berset et Coll., 1992). Mordi et Coll. (1993) trouvent ainsi que les principaux produits de faible masse molaire de l'oxydation du β -carotène à 30°C sont, dans l'ordre d'importance décroissante : 5,6 époxy- β -carotène, 5,6,5',6'-di-époxy- β -carotène et 15,15'-époxy- β -carotène, β -apo-10-caroténal, β -apo-12'-caroténal, β -apo-14'-caroténal, β -apo-13-caroténone, rétinol,... et plusieurs composés di et

trioxygénés à chaîne courte. Le 15-15' époxy- β -carotène peut provenir du processus complexe d'amorçage discuté plus haut, après décomposition de $\beta\text{CO}_2\text{H}$ en βCO . et $\cdot\text{OH}$. Ces auteurs ont aussi détecté des oligomères, des composés carbonylés, oxygénés et des matériaux de type polymère qui n'ont pas encore été complètement identifiés.

III - CONCLUSION

L'auto-oxydation du β -carotène tout trans est une réaction radicalaire en chaînes complètement inhibée par l' α -tocophérol. Cette réaction est amorcée par l'isomérisation thermique trans-cis du β -carotène qui s'effectue par l'intermédiaire d'un biradical labile susceptible de réagir avec une molécule d'oxygène. La constante de vitesse de l'étape d'amorçage global :



a été déterminée et nous a permis d'évaluer celle de l'isomérisation trans-cis du β -carotène à $10^{11,8} \exp(-10000/T) \text{ s}^{-1}$.

L'oxydation induite du β -carotène par l'AIBN est aussi une réaction radicalaire en chaîne propagée et terminée par les mêmes processus que l'oxydation auto-amorcée.

En absence ou en présence d'AIBN, le rapport de la vitesse d'oxygène consommé à celle de β -carotène est d'environ 3. Par conséquent, le β -carotène est un agent anti-oxygène très efficace.

Le schéma cinétique proposé rend bien compte de la stœchiométrie et de la cinétique de la réaction. Il est aussi en accord avec les études analytiques récentes des produits d'oxydation.

Une modélisation de l'oxydation induite du β -carotène au cours du temps est proposée au Chapitre III. Ce type de modélisation qui est fondé sur le schéma cinétique proposé dans ce chapitre ne fait appel à aucune hypothèse particulière d'état quasi-stationnaire des radicaux et rend également bien compte des faits expérimentaux.

BIBLIOGRAPHIE

-
- Battino, R. ; Rettich, T.R. ; Tominaga, T. ; *J. Phys. Chem. Ref. Data* **1983**, *12*, 163.
 - Benson, S.W. ; *Thermochemical Kinetics*, 2e éd., Wiley-Interscience, **1976**.
 - Berset, C. ; Marty, C. in *Methods Enzymology* ; Lester Packer Ed., Academic Press, **1992**, vol. 213, p. 123-142.
 - Burton, G.W. ; Ingold, K.U. ; *Sciences* **1984**, *224*, 569.
 - Crouzet, J. ; Kanasawud, P. in *Methods in Enzymology* ; Lester Packer Ed., Academic Press, **1992**, vol. 213, p. 54-62.
 - Csallany, A.S. ; Chiu, M. ; Draper, H.M. ; *Lipids* **1969**, *5*, 63.
 - Doering, W. Von E. ; Birladeann, L. ; Cheng, X-h. ; Kitagawa, T. ; Sarma, K. ; *J. Am. Chem. Soc.* **1991**, *113*, 4558.
 - Doering, W. Von E. ; Kitagawa, T. ; *J. Am. Chem. Soc.* **1991**, *113*, 4288.
 - Doering, W. Von E. ; Sarma, K. ; *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, *114*, 6037.
 - Dürckheimer, W. ; Cohen, L.A. ; *J. Am. Chem. Soc.* **1964**, *86*, 4388.
 - El-Tinay, A.H. ; Chichester, C.O. ; *J. Org. Chem.* **1970**, *35*, 2290.
 - Handelman, G.J. ; Van Kuijk, F.J.G.M. ; Chatterjee, A. ; Krinsky, N.I. ; *Free Radical Biol. Med.* **1991**, *10*, 427.
 - Kennedy, T.A. ; Liebler, D.C. ; *Chem. Res. Toxicol.* **1991**, *4*, 290.
 - Krinsky, N.I. ; *Free Radical Biol. Med.* **1989**, *7*, 617.
 - Mordi, R.C. ; Walton, J.C. ; Burton, G.W. ; Hughes, L. ; Ingold, K.U. ; Lindsay, D.A. ; Moffatt, D.J. ; *Tetrahedron* **1993**, *49*, 911-928.
 - Mordi, R.C. ; Walton, J.C. ; Burton, G.W. ; Hughes, L. ; Ingold, K.U. ; Lindsay, D.A. ; *Tetrahedron Lett.* **1991**, *32*, 4203.
 - Petracek, F.J. ; Zechmeister, L. ; *J. Am. Chem. Soc.* **1956**, *78*, 1427.
 - Rousseau-Richard, C. ; Richard, C. ; Martin, R. ; *J. Chim. Phys.* **1983**, *80*, 827.
 - Rousseau-Richard, C. ; Richard, C. ; Martin, R. ; *J. Chim. Phys.* **1988**, *85*, 175.
 - Rousseau-Richard, C. ; Richard, C. ; Martin, R. ; *New J. Chem.* **1991**, *15*, 283.
 - Yamauchi, R. ; Miyake, N. ; Inoue, H. ; Kato, K. ; *J. Agric. Food Chem.* **1993**, *41*, 708.
 - Zinsou, C. ; *Physiol. Vég.* **1971**, *9*, 149.

CHAPITRE II

OXYDATION DU LINOLEATE D'ETHYLE INDUITE

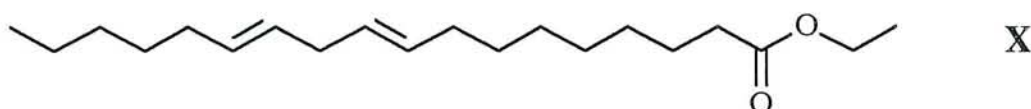
PAR L'AZOBISISOBUTYRONITRILE (AIBN)

EN PRESENCE D'OXYGENE MOLECULAIRE

Rappelons que le présent travail a essentiellement pour objet d'élucider les propriétés physico-chimiques du β -carotène tout trans ainsi que son influence sur l'oxydation thermique de substrats sensibles à l'oxygène.

Les acides gras polyinsaturés appartiennent à cette catégorie de molécules réactives et présentent, en outre, un intérêt biologique particulier. En effet, on sait depuis longtemps que l'oxydation des lipides relève d'un mécanisme radicalaire à séquences fermées. Or, plus récemment, il a été suggéré que les radicaux libres oxygénés formés dans tous les systèmes vivants sont responsables de nombreux effets pathologiques. Comme les lipides sont des produits naturels beaucoup trop complexes pour permettre d'élucider les mécanismes réactionnels des peroxydations, on leur substitue des molécules modèles comme l'acide linoléique, l'acide linolénique, l'acide arachidonique et leurs esters car ce sont des composants des lipides que l'on peut obtenir avec un haut degré de pureté.

Dans le présent travail, nous avons donc choisi d'étudier l'oxydation du linoléate d'éthyle (X).



Différents aspects de l'oxydation de ce substrat en phase liquide homogène (pur ou en solution) ont déjà été étudiés. Bolland (1949) et Bateman (1954) sont les premiers à avoir proposé le mécanisme radicalaire généralement admis pour l'oxydation de ce substrat, réaction qui conduit à la formation d'un hydroperoxyde en position allylique.

Bien que ces oxydations continuent de faire l'objet de nombreux travaux qui sont régulièrement passés en revue (voir par exemple Martin et Coll., 1990), les données cinétiques de la littérature sont rares et peu sûres. Il était donc indispensable de reprendre une étude cinétique détaillée de l'oxydation du linoléate d'éthyle induite par l'azobisisobutyronitrile (AIBN), en présence d'oxygène moléculaire dans nos conditions expérimentales.

I - CONDITIONS EXPERIMENTALES

La réaction a été suivie en mesurant seulement l'oxygène consommé dans les conditions décrites au chapitre I. La pression totale mesurée était corrigée de l'azote dégagé par l'AIBN. L'oxydation était suffisamment rapide et la mesure d'oxygène consommé assez sensible pour qu'il ne soit pas nécessaire de doser par chromatographie les produits d'oxydation. On n'aurait pas pu suivre la réaction par dosage du linoléate, car sa consommation était généralement très faible.

Les mesures ont été effectuées dans le chlorobenzène comme solvant.

II - RESULTATS

Dans tous les cas, la consommation d'oxygène varie linéairement au cours du temps (cf par exemple figure II-1). Ce phénomène signalé par d'autres auteurs est dû au faible avancement de la réaction et à la stabilité des hydroperoxydes formés, à la température considérée de 50°C. Il en résulte donc une grande précision dans la détermination des vitesses initiales $V_{O_2}^0$ de consommation de l'oxygène.

On a examiné l'influence sur $V_{O_2}^0$ des facteurs suivants :

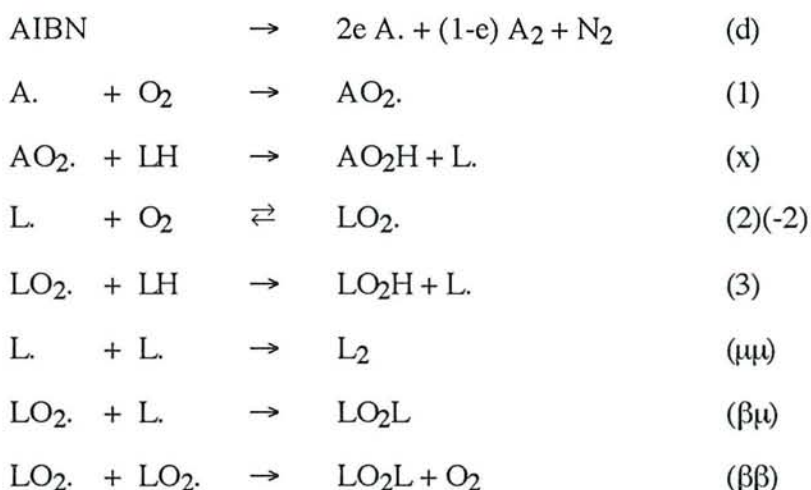
- concentration initiale de linoléate (figure II-1),
- concentration initiale d'AIBN (figure II-2),
- pression initiale d'oxygène (figure II-3).

L'ensemble des résultats obtenus est résumé dans le tableau II-1. Les vitesses croissent avec $(LH)_0$, $(AIBN)_0$ et $P_{O_2}^0$. Le rapport $V_{O_2}^0/W_0$ de la vitesse de consommation de O_2 à la vitesse d'amorçage représente la longueur de chaîne : celle-ci croît avec $(LH)_0$ et $P_{O_2}^0$ mais décroît quand $(AIBN)_0$ augmente.

Les figures II-4 à II-6 montrent que la vitesse $V_{O_2}^0$ de consommation de O_2 est en moyenne d'ordre 0,7 , 0,5 et 0,2 par rapport à LH, AIBN et O_2 respectivement. Les courbes portées sur ces figures résultent de l'optimisation du paragraphe suivant.

III - INTERPRETATION

A faible avancement réactionnel, l'oxydation du linoléate d'éthyle LH induite par l'AIBN peut être interprétée à l'aide d'un mécanisme radicalaire en chaînes classique du type suivant :



avec $\text{A.} \equiv (\text{CH}_3)_2\dot{\text{C}}\text{CN}$

et e : coefficient d'effet cage (cf annexe II).

TABLEAU II-1

**Oxydation du linoléate d'éthyle induite par l'AIBN
à 50°C dans le chlorobenzène. Influence des concentrations des réactifs sur la vitesse
initiale de consommation d'oxygène et sur la longueur de chaîne.**

$10^2 \cdot (\text{AIBN})_0$ M	$(\text{LH})_0$ M	$P_{\text{O}_2}^0$, Torr	$10^6 \cdot V_{\text{O}_2}^0$ M.s ⁻¹	$V_{\text{O}_2}^0 / W_0$
0,9	0,4	50	0,99	45
2,0	0,4	50	1,52	31
4,5	0,4	50	2,23	21
9,0	0,4	50	3,55	16
18	0,4	50	4,41	10
9,0	0,1	50	1,01	5
9,0	0,2	50	1,84	8
9,0	0,4	50	3,55	16
9,0	0,8	50	5,19	24
9,0	0,4	35	2,5	11
9,0	0,4	50	3,55	16
9,0	0,4	85	4,52	20
9,0	0,4	150	5,30	24
9,0	0,4	300	6,18	28
9,0	0,4	450	6,32	29
9,0	0,4	750	7,75	35

Avant que nous en examinons les conséquences, ce schéma appelle plusieurs commentaires.

1 - Il nous semble important d'écrire le processus (-2) de décomposition de LO_2 , compte tenu du fait que L. est un radical libre de type allylique fortement stabilisé par résonance. L'équilibre (2)(-2) est d'ailleurs d'autant plus déplacé à gauche que $(O_2)_o$ est plus faible. Nous n'écrivons pas le processus - important à plus haute température - de déshydroperoxydation de LO_2 , selon :



puisqu'il a déjà été vérifié (Rousseau-Richard, 1986) qu'il ne se forme pas d'ester m en C_{18} à plus fort degré d'insaturation que LH.

2 - Nous n'écrivons aucun processus de décomposition ou d'oxydation du solvant puisque nous avons vérifié qu'en l'absence de substrat, il n'y a pas consommation d'oxygène. Mais les solvants utilisés peuvent avoir une influence sur la vitesse d'oxydation en modifiant la valeur du coefficient d'effet cage e (cf annexe II) ou en changeant la valeur de l'une ou de l'autre des constantes de vitesse du schéma.

Les conséquences de ce schéma sont bien en accord avec nos expériences. En effet, si l'on fait l'hypothèse classique de l'état quasi-stationnaire sur tous les radicaux libres et si l'on pose : $Z = k_{\beta\mu} / (2k_{\mu\mu}^{1/2} k_{\beta\beta}^{1/2})$, on obtient l'équation suivante en $(LO_2 \cdot)$:

$$\frac{W_o}{2} = k_{\beta\beta} (LO_2 \cdot)^2 [1 + 2ZA + A^2] \quad (I)$$

$$\text{avec} \quad A = \frac{k_3 (LH)_o / k_{\beta\beta}^{1/2} + k_2 / k_{\beta\beta}^{1/2} + 2 k_{\beta\beta}^{1/2} (LO_2 \cdot)}{k_2 (O_2)_o / k_{\mu\mu}^{1/2} - 2 Z k_{\beta\beta}^{1/2} (LO_2 \cdot)}$$

et $W_o = 2 e k_d (AIBN)_o$, vitesse d'amorçage par l'AIBN.

La vitesse globale de consommation d'oxygène due à l'oxydation du substrat, compte tenu de la production d'oxygène dans le processus $(\beta\beta)$, et à l'oxydation de l'amorceur s'écrit :

$$(II) \quad V_{O_2}^o = \frac{3}{2} W_o + k_3 (LO_2 \cdot) (LH) - k_{\beta\beta} (LO_2 \cdot)^2 A^2$$

La vitesse d'oxydation de LH proprement dite est représentée par la différence $V_{O_2}^o - W_o$.

En supposant les chaînes longues, $(LO_2 \cdot)$ est négligeable dans l'expression de A et on obtient :

$$A = \frac{k_3 (LH)_o / k_{\beta\beta}^{1/2} + k_{-2} / k_{\beta\beta}^{1/2}}{k_2 (O_2)_o / k_{\mu\mu}^{1/2}}$$

L'expression de la vitesse devient :

$$V_{O_2}^o = \frac{(W_o/2)^{1/2} k_3 (LH)_o / k_{\beta\beta}^{1/2}}{(1 + 2 ZA + A^2)^{1/2}}$$

En faisant l'hypothèse du carré parfait :

$$k_{\beta\mu} = 2 k_{\beta\beta}^{1/2} k_{\mu\mu}^{1/2} \quad \text{c'est-à-dire} \quad Z = 1$$

on obtient l'expression de vitesse :

$$V_{O_2}^o = \frac{(W_o/2)^{1/2} k_2 k_3 (LH)_o (O_2)_o}{k_{\beta\beta}^{1/2} k_2 (O_2)_o + k_{\mu\mu}^{1/2} (k_{-2} + k_3 (LH)_o)} \quad (II)$$

qui peut s'écrire :

$$\frac{(W_o/2)^{1/2}}{V_{O_2}^o} = \frac{\alpha}{(LH)_o} + \frac{\beta}{(LH)_o (O_2)_o} + \frac{\gamma}{(O_2)_o} \quad (III)$$

avec :

$$\alpha = \frac{k_{\beta\beta}^{1/2}}{k_3} ; \quad \beta = \frac{k_{\mu\mu}^{1/2} k_{-2}}{k_2 k_3} \quad \text{et} \quad \gamma = \frac{k_{\mu\mu}^{1/2}}{k_2}$$

La forme (III) est linéaire par rapport aux paramètres α , β et γ ; on obtient donc par régression multilinéaire :

$$\begin{aligned} \alpha &= (16,7 \pm 0,6) \quad M^{1/2} \cdot s^{1/2} \\ \beta &= (7,20 \pm 0,88) 10^{-3} \quad M^{3/2} \cdot s^{1/2} \\ \gamma &= (1,35 \pm 0,21) 10^{-2} \quad M^{1/2} \cdot s^{1/2} \end{aligned}$$

Les marges d'incertitude sont les écarts type des paramètres ; elles indiquent que α est le paramètre déterminé avec la meilleure précision et que γ est le moins précis. Ces résultats sont reportés comme courbes d'ordres calculées dans les figures II-4, II-5 et II-6.

On peut adopter un autre point de vue et considérer l'équation (III) comme une relation linéaire en $1/(O_2)_o$ à concentration de linoléate constante, ou linéaire en $1/(LH)_o$ à pression d'oxygène constante. Les figures II-7 et II-8 illustrent ces deux cas. Dans le premier cas, à l'aide des valeurs du tableau II-1, on obtient par régression linéaire :

$$\begin{aligned} \alpha &= 16,7 \pm 0,7 \quad M^{1/2} \cdot s^{1/2} \\ \frac{\beta}{0,4} + \gamma &= (3,16 \pm 0,16) 10^{-2} \quad M^{1/2} \cdot s^{1/2} \end{aligned}$$

Dans le second cas, à $P_{O_2}^0$ constante, on a :

$$\gamma = (1,35 \pm 0,19) 10^{-2} M^{1/2}.s^{1/2}$$

$$\alpha + \frac{\beta}{5,2.10^{-4}} = 30,55 \pm 1,41 M^{1/2}.s^{1/2}$$

On obtient quatre relations entre trois paramètres, donc en admettant :

$$\alpha = 16,7 \text{ et } \gamma = 1,35.10^{-2} M^{1/2}.s^{1/2}$$

on trouve deux valeurs de β :

$$\beta = 7,24.10^{-3} M^{3/2}.s^{1/2}$$

$$\beta = 7,20.10^{-3} M^{3/2}.s^{1/2}$$

Ces deux valeurs sont très proches, d'où l'accord remarquable entre les deux séries de mesures, l'une à pression d'oxygène constante, l'autre à concentration de linoléate constante.

IV - DISCUSSION

L'interprétation et le schéma cinétique proposés sont classiques. La modélisation informatique de l'ensemble de nos résultats est très satisfaisante. Nous cherchons maintenant à déterminer les constantes de vitesse relatives aux processus d'oxydation du linoléate d'éthyle et à comparer ces résultats aux données de la littérature. Nous avons obtenu, à 50°C. dans le chlorobenzène :

$$\frac{k_2}{k_{\mu\mu}^{1/2}} = 73,9 M^{-1/2}.s^{-1/2}$$

$$\frac{k_3}{k_{\beta\beta}^{1/2}} = 0,0598 M^{-1/2}.s^{-1/2}$$

$$\frac{k_{-2}}{k_{\beta\beta}^{1/2}} = 0,0318 M^{1/2}.s^{-1/2}$$

Or, la littérature présente quelques données cinétiques relatives à l'oxydation induite du linoléate de méthyle, en particulier le rapport $k_3/(2 k_{\beta\beta})^{1/2}$ appelé généralement oxydabilité du substrat ; nous les rapportons dans le tableau II-2.

TABLEAU II-2

Données de la littérature relatives aux esters
de l'acide linoléique (éthylrique ou méthylrique).

Paramètre cinétique	T (°C)	Valeur à T	Valeur estimée à 50°C	Solvant	Référence
$k_3 / k_{\beta\beta}^{1/2}$ ($M^{-1/2}.s^{-1/2}$)	45	$20,7.10^{-3}$	$24,9.10^{-3}$	sans	Bateman 1954
	55	$27,8.10^{-3}$	$23,3.10^{-3}$	sans	Bateman 1954
	30	$29,7.10^{-3}$	$64,2.10^{-3}$	chlorobenzène	Howard 1967
	37	$14,4.10^{-3}$	$23,4.10^{-3}$	chlorobenzène	Cosgrove 1987
	30	$30,8.10^{-3}$	$66,6.10^{-3}$	chlorobenzène	Barclay 1985
	30	$63,8.10^{-3}$	138.10^{-3}	acétonitrile	Barclay 1987
	50	134.10^{-3}	134.10^{-3}	acétonitrile	Yamamoto 1982
	50	109.10^{-3}	109.10^{-3}	acétonitrile	Yamamoto 1984
	50	$59,8.10^{-3}$	$59,8.10^{-3}$	chlorobenzène	présent travail
$k_2 / k_{\mu\mu}^{1/2}$ ($M^{-1/2}.s^{-1/2}$)	45	$1,6.10^3$	$1,6.10^3$	sans	Bateman 1954
	50	73,9	73,9	chlorobenzène	présent travail
k_3 / k_2 (M^{-1})	10	1,5	-	benzène	Porter 1980
	30	0,56	-	benzène	Porter 1980
	37	0,25	-	benzène	Porter 1980
	50	0,20	0,20	benzène	Porter 1980
	50	1,9	1,9	chlorobenzène	présent travail
$k_{\beta\beta}$ ($M^{-1}.s^{-1}$)	30	$4,4.10^6$	$4,4.10^6$	chlorobenzène	Howard 1967
	30	$1,22.10^6$	$1,22.10^6$	acétonitrile	Barclay 1987
	30	$1,35.10^6$	$1,35.10^6$	chlorobenzène	Barclay 1985
	?	5.10^6	5.10^6	?	Hasegawa 1978

Nous avons recalculé, quand c'était nécessaire, les différents paramètres à 50°C en prenant comme énergies d'activation : $E_3 = 7,5 \text{ kcal.mol}^{-1}$ (Korcek et Coll., 1972), $E_2 \approx 0$ et $E_{\beta\beta} \approx 0$. Notre estimation de $k_3/k_{\beta\beta}^{1/2}$ est en bon accord avec celles de Howard et Coll. (1967) et de Barclay et Coll. (1985) dans le même solvant. Par contre, la détermination de $k_2/k_{\mu\mu}^{1/2}$ par Bateman (1954) pour le linoléate pur est très différente de la nôtre. Mais cet auteur a négligé le processus (-2) c'est-à-dire k_{-2} devant k_3 (LH) ; or, nous montrons que pour (LH) = 0,4 M, par exemple, $\frac{k_{-2}}{k_3 \text{ (LH)}} = 1,3$, ce qui prouve l'importance du processus (-2). Notre valeur dans le chlorobenzène paraît donc plus sûre que celle de Bateman pour le substrat pur.

Enfin, nos résultats permettent d'évaluer le rapport : $k_3/k_{-2} = 1,9 \text{ M}^{-1}$ à 50°C dans le chlorobenzène. Cette valeur est assez différente de celle de Porter et Coll. (1980) déterminée dans le benzène. Notons que les mesures de Porter permettent aussi d'évaluer :

$$E_3 - E_{-2} \approx -9,6 \text{ kcal.mol}^{-1}$$

ce qui conduirait, compte tenu de la valeur de E_3 que nous avons retenue ($E_3 = 7,5 \text{ kcal.mol}^{-1}$), à :

$$E_{-2} = 17,1 \text{ kcal.mol}^{-1}$$

Howard et coll. (1967) ont mesuré $k_{\beta\beta} = 1,8.10^7 \text{ M}^{-1}.\text{s}^{-1}$ pour le linoléate de méthyle et $4,4.10^6 \text{ M}^{-1}.\text{s}^{-1}$ pour le linoléate. La différence entre ces valeurs est surprenante au regard des résultats de Cosgrove et coll. (1987) qui montrent clairement que le rapport $k_3/k_{\beta\beta}^{1/2}$ est directement proportionnel au nombre d'atomes H doublement allyliques, c'est-à-dire arrachables. Ce serait donc probablement k_3 qui varierait avec le substrat et non $k_{\beta\beta}$. En fait, Howard (1967) a rencontré des difficultés expérimentales avec le linoléate et il est fort probable que sa détermination de $k_{\beta\beta}$ ne soit bonne que pour le linoléate. D'ailleurs, si l'on utilise les mêmes valeurs pour le linoléate, ses résultats deviennent en accord avec ceux de Cosgrove (1987). Finalement, on peut admettre pour le linoléate d'éthyle :

$$k_{\beta\beta} = 4,4.10^6 \text{ M}^{-1}.\text{s}^{-1} \quad \text{et} \quad k_{\mu\mu} = 10^9 \text{ M}^{-1}.\text{s}^{-1}$$

On en déduit, à 50°C :

$$k_2 = 2,3.10^6 \text{ M}^{-1}.\text{s}^{-1}$$

$$k_3 = 125 \text{ M}^{-1}.\text{s}^{-1}$$

$$k_{-2} = 67 \text{ s}^{-1}$$

Par les méthodes de la cinétique thermochimique (cf annexe V), on évalue dans un solvant non polaire :

$$\frac{k_2}{k_{-2}} = 10^{-3,45} \exp(15900/RT) \text{ M}^{-1}$$

avec $R = 2 \text{ cal.mol}^{-1}.\text{K}^{-1}$.

Le chlorobenzène étant polaire, il nous faut corriger le terme préexponentiel. Pour cela nous conservons l'énergie d'activation calculée, $E_2 = 15,9 \text{ kcal.mol}^{-1}$ (en admettant $E_2 = 0$) et utilisons la valeur du rapport k_2/k_{-2} obtenue à 50°C . Il vient :

$$\frac{k_2}{k_{-2}} = 10^{-6,2} \exp(15900/RT) \text{ M}^{-1}$$

dont on déduit :

$$k_{-2} = 10^{12,6} \exp(-15900/RT) \text{ s}^{-1}$$

Notons que l'énergie d'activation E_2 déduite de la cinétique thermochimique est en bon accord avec celle déduite du travail précité de Porter et Coll. (1980). Par contre, le rapport des facteurs pré-exponentiels $A_2/A_{-2} \approx 10^{-3,45} \text{ M}^{-1}$ que nous calculons pour un solvant non polaire paraît beaucoup plus fort que la valeur expérimentale de Porter ($10^{-6,2}$) et que la nôtre. Cet écart peut être essentiellement attribué au fait que les solvants utilisés par Porter et par nous sont assez polaires et que la constante de vitesse k_2 se trouve ainsi plus diminuée par la solvation que ne l'est k_{-2} . En effet, en milieu polaire, le complexe activé $\text{LO}_2^\ddagger$ est nettement plus solvato que les réactifs L. et O_2 et, par suite, l'entropie d'activation du processus (2) est, dans ce milieu, fortement négative. Par contre, le radical peroxy $\text{LO}_2\cdot$ est probablement aussi solvato que le complexe activé $\text{LO}_2^\ddagger$ et l'entropie d'activation du processus (-2) ne peut pas être très importante. Ces phénomènes de solvation peuvent donc rendre facilement compte de l'écart entre la valeur théorique de A_2/A_{-2} en milieu apolaire et sa valeur expérimentale dans le chlorobenzène. En admettant (Korcek et Coll., 1972) $E_3 = 7,5 \text{ kcal.mol}^{-1}$, on trouve :

$$k_3 = 10^{7,17} \exp(-7500/RT) \text{ M}^{-1}.\text{s}^{-1}$$

soit un facteur pré-exponentiel normal pour un processus biparticulaire en phase liquide.

Enfin, comme on suppose que l'énergie d'activation du processus (2) est négligeable, notre valeur de k_2 à 50°C représente bien l'ordre de grandeur d'un facteur pré-exponentiel normal pour un processus biparticulaire en phase liquide :

$$A_2 \approx 2,3 \cdot 10^6 \text{ M}^{-1}.\text{s}^{-1}$$

Il est donc satisfaisant de trouver les mêmes ordres de grandeur pour k_2 , A_3 et $k_{\beta\beta}$.

V - CONCLUSION

Nous avons repris une étude expérimentale détaillée de la cinétique d'oxydation du linoléate d'éthyle induite par l'AIBN, en présence d'oxygène moléculaire, à 50°C et dans le chlorobenzène.

Nos résultats expérimentaux sont compatibles avec un mécanisme radicalaire en chaîne dont les processus élémentaires ont été précisés. On a évalué les constantes de vitesse des processus de propagation :



$$k_2 = 2,3 \cdot 10^6 \text{ M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$$

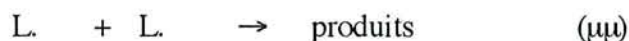
$$k_{-2} = 4 \cdot 10^{12} \exp(-15900/RT) \text{ s}^{-1}$$



$$k_3 = 1,5 \cdot 10^7 \exp(-7500/RT) \text{ M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$$

$$(RT \text{ en cal.mol}^{-1})$$

en admettant pour les processus de terminaison :



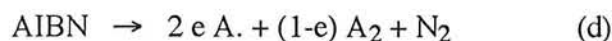
les constantes de vitesse données par la littérature et rediscutées :

$$k_{\mu\mu} = 10^9 \text{ M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$$

$$k_{\beta\beta} = 4,4 \cdot 10^6 \text{ M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$$

$$k_{\beta\mu} = 2 (k_{\beta\beta} \cdot k_{\mu\mu})^{1/2}$$

et pour l'amorçage :



une vitesse W_o , mesurée dans nos conditions expérimentales de température et de solvant (cf Annexe II) :

$$W_o = 2 \cdot e \cdot k_d (AIBN)_o$$

avec $e = 0,56$ (coefficient d'effet cage)

$$k_d = 10^{13,6} \exp(-28500/RT) \text{ s}^{-1}$$

$(AIBN)_o$ concentration initiale de AIBN

BIBLIOGRAPHIE

- Barclay, L.R.C. ; Baskim, K.A. ; Locke, S.J. ; Schaeffer, T.D. ; *Can. J. Chem.* **1987**, 65, 2529.
- Barclay, L.R.C. ; Locke, S.J. ; Mac Neil, J.M. ; Van Kessel, J. ; *Can. J. Chem.* **1985**, 63, 2633.
- Bateman, L. ; *Quart. Rev. Chem. Soc.* **1954**, 8, 147.
- Bolland, J.L. ; *Quart. Rev. Chem. Soc.* **1949**, 3, 1.
- Cosgrove, J.P. ; Church, D.F. ; Pryor, W.A. ; *Lipids* **1987**, 22, 299.
- Hasegawa, K. ; Patterson, L.K. ; *Photochem. Photobiol.* **1978**, 28, 817.
- Howard, J.A. ; Ingold, K.U. ; *Can. J. Chem.* **1967**, 45, 793.
- Ingold, K.U. in *Free Radicals*, Kochi éd., Wiley, N.Y. **1973**, 1, 37.
- Korcek, S. ; Chenier, J.H.B. ; Howard, J.A. ; Ingold, K.U. ; *Can. J. Chem.* **1972**, 50, 2285.
- Martin, R.A. ; Richard, C. ; Rousseau-Richard, C. in *Membrane Lipid Oxidation* ; Carmen Vigo-Pelfrey Ed. ; CRC Press ; **1990**, vol. 1, p. 63-99.
- Porter, N.A. ; Weber, B.A. ; Weenen, H. ; Khan, J. ; *J. Am. Chem. Soc.* **1980**, 102, 5597.
- Rousseau-Richard, C. ; Thèse Université de Nancy I, **1986**.
- Ushkalova, V.N. ; *Kenet. Catal. (U.S.S.R.)* **1984**, 25, 225.
- Yamamoto, Y. ; Niki, E. ; Kamiya, Y. ; *Bull. Chem. Soc. Jpn* **1982**, 55, 1548.
- Yamamoto, Y. ; Niki, E. ; Kamiya, Y. ; Shimasaki, H. ; *Oxid. Commun.* **1984**, 6, 211.

CHAPITRE III

INFLUENCE DU β -CAROTENE SUR L'OXYDATION

INDUITE DU LINOLEATE D'ETHYLE

Pour lutter contre l'oxydation des lipides, on utilise depuis longtemps des substances antioxydantes qui, à faible concentration, inhibent ces oxydations. Par ailleurs, les caroténoïdes jouent un rôle essentiel dans le métabolisme des êtres vivants grâce, semble-t-il, à leurs propriétés antioxydantes (Carotenoïds in Human Health, 1993). Bien qu'ayant fait l'objet de quelques revues (Krinsky, 1979 et 1989 ; Liebler, 1993), ces propriétés antioxydantes ne sont pas clairement démontrées. Plusieurs auteurs ont étudié l'oxydation du β -carotène couplée à celle des acides gras polyinsaturés (AGPI) (Holman, 1949 ; Friend, 1956 et 1958 ; Ramakrishnan et coll., 1979) : aucune conclusion précise concernant l'influence du β -carotène sur l'oxydation des AGPI ne peut être tirée de ces travaux .

Hunter et Coll. (1947) ont étudié l'oxydation du β -carotène, sous atmosphère d'oxygène, à 50°C, en solution dans le benzène ou dans l'huile d'arachide. Ils trouvent que l'oxydation est plus lente en présence d'huile d'arachide qu'en l'absence et attribuent ce phénomène à des antioxydants naturels et des AGPI (50 % oléique ; 25 % linoléique) présents en impuretés dans l'huile d'arachide. Cette conclusion a été contredite par des études plus récentes sur l'oxydation couplée du β -carotène en présence d'AGPI (Budowski et Coll. 1960 ; Burton et Coll., 1984 ; Burton, 1989 ; Suzuki et Coll., 1989) : ces auteurs observent une vitesse maximale de consommation d'oxygène plus grande en présence d'AGPI qu'en l'absence et montrent que cet effet prooxydant des AGPI augmente quand leur degré d'insaturation croît (voir aussi Ramakrishnan et Coll., 1979). De même, Holman (1949) montre que l'oxydation du β -carotène sous pression atmosphérique d'air à 37°C est plus rapide dans le linoléate d'éthyle que dans le butanol comme solvant. Ces auteurs ont parfois observé une courte période d'induction qui semble indiquer que le β -carotène inhibe l'oxydation des AGPI à l'instant initial. Mais ce phénomène n'est généralement pas discuté.

Le β -carotène serait, comme l' α -tocophérol (cf chapitre IV), un antioxydant de rupture de chaîne (Liebler et Coll., 1992 ; Terao, 1989 ; Burton et coll., 1984) qui réagit avec les radicaux peroxydes par transfert d'hydrogène. Les porteurs de chaînes peroxydes seraient ainsi transformés en radicaux aryloxydes très peu réactifs qui se recombineraient entre eux ou avec d'autres radicaux hydroperoxydes et termineraient les chaînes en produits non radicalaires (Debal, 1992). Mais le β -carotène pourrait aussi exercer une activité antioxydante par un mécanisme dans lequel les radicaux peroxydes s'additionneraient au système polyénique conjugué du β -carotène (Terao, 1989) et se transformeraient en radicaux stabilisés par résonnance donnant également lieu à des terminaisons des chaînes. Plusieurs auteurs sont d'accord avec ce dernier mécanisme (Terao, 1989 ; Terao et Coll., 1992 ; Burton et Coll., 1984 ; Sies et Coll., 1992 ; Palozza et Coll., 1992). Mais Ramakrishnan (1979) suggère plutôt un mécanisme par arrachement d'un atome d'hydrogène.

Finalement, les propriétés antioxydantes des β -caroténoïdes restent assez controversées. De plus, rares sont les études cinétiques portant sur des systèmes bien définis. Burton et Coll. (1984) sont les seuls, semble-t-il, à avoir démontré l'existence des propriétés

antioxydantes du β -carotène dans de telles conditions. Mais leurs conclusions reposent sur un tout petit nombre d'expériences, au demeurant peu détaillées sur le plan cinétique.

Nous avons donc repris une étude cinétique détaillée de l'oxydation induite de mélanges linoléate d'éthyle / β -carotène.

I - CONDITIONS EXPERIMENTALES

Nous avons examiné l'influence du β -carotène (β C) sur l'oxydation du linoléate d'éthyle (LH) induite par l'AIBN, en mesurant l'oxygène consommé et en suivant les concentrations résiduelles de β C au cours du temps. Rappelons que la consommation d'oxygène était mesurée à partir de la pression qui surmonte le mélange réactionnel, corrigée de l'azote dégagé par l'AIBN ; β C était dosé par chromatographie liquide (cf annexe I).

Nous nous sommes surtout intéressés à l'influence de la concentration initiale de β C et de la pression initiale d'oxygène sur la vitesse d'oxydation du linoléate d'éthyle. Mais nous avons également cherché à voir quelle était l'influence de la pureté des divers échantillons S_0 , S_1 et S_{1p} de β C sur la réaction. Rappelons que S_1 et S_{1p} ont été définis au chapitre I. S_1 est un produit Fluka affichant sur l'étiquette une pureté de 97 %. S_{1p} est un produit S_1 recristallisé trois fois dans les conditions décrites en annexe I. S_0 est un produit Janssen étiqueté à 99 % mais ne renfermant que 5 %, seulement, de β C.

II - RESULTATS

II.1 - Consommation d'oxygène

La figure III-1 illustre l'influence de β C (échantillon S_1) sur l'oxydation induite du mélange linoléate d'éthyle- β -carotène pour une pression d'oxygène de 450 Torr. Pour de très faibles concentrations, β C est sans effet sur l'oxydation de ce mélange (courbe 0). A plus forte concentration β C inhibe la consommation d'oxygène à faible avancement (courbe 1). Lorsque la teneur en β C augmente encore, l'effet inhibiteur diminue (courbe 2) puis semble disparaître, du moins à faible avancement (courbes 3 et 4).

Comme les phénomènes sont complexes, il nous a semblé utile de porter le rapport des vitesses de consommation d'oxygène en présence et en l'absence de β -carotène ($V_{O_2}^{LH,\beta C} / V_{O_2}^{LH}$), en fonction de la teneur en β C (échelle logarithmique) et ceci pour différents temps de réaction. Puisque $V_{O_2}^{LH}$ demeure pratiquement constant au cours du temps, le rapport précité représente, en réalité, les variations de $V_{O_2}^{LH,\beta C}$ en fonction de la teneur en β C du mélange.

La figure III-2 illustre les résultats obtenus, la courbe à $t=0$ ayant été extrapolée à partir des valeurs à temps constant.

Il apparaît clairement qu'à l'instant initial de la réaction et pour des concentrations croissantes de β C, l'additif est d'abord sans effet ; à partir d'une certaine teneur il commence à exercer une influence inhibitrice qui croît, passe par un maximum, décroît et tend à devenir nulle aux fortes concentrations. Ces effets s'estompent lorsque l'avancement réactionnel augmente ($t = 10$ et 40 min) ; on observe alors une influence inhibitrice à faible concentration de β C et une influence apparemment accélératrice à forte concentration.

Ces résultats sont en accord, pour l'essentiel, avec les observations de Budowski et coll.(1960) et de Burton et coll. (1984 et 1989).

Nous avons cherché à faire varier la pression initiale d'oxygène, tous les autres paramètres restant fixes. Les figures III-3a et III-3b correspondant respectivement à des oxydations effectuées sous des pressions de 150 et 50 Torr d'oxygène confirment les observations faites sous 450 Torr. Les figures III-4a et III-4b montrent effectivement que l'effet inhibiteur de β C est d'autant plus marqué que la pression d'oxygène est plus faible. A 150 Torr, l'inhibition totale est obtenue à temps nul pour une concentration de β C voisine de $8 \cdot 10^{-4}$ M. A 50 Torr, elle est obtenue pour toute une plage de concentrations allant de $5 \cdot 10^{-4}$ à $2 \cdot 10^{-3}$ M.

La figure III-5 résume nos observations concernant l'influence de β C, extrapolée à avancement nul, sur l'oxygène consommé lors de l'oxydation du mélange linoléate d'éthyle- β -carotène à différentes pressions d'oxygène.

Naturellement, une partie de l'oxygène consommé est utilisée pour oxyder β C : le rapport des vitesses d'oxydation du seul linoléate en présence et en l'absence de β C est donc encore inférieur au rapport $(V_{O_2}^{LH,\beta C} / V_{O_2}^{LH})_0$ mentionné sur la figure III-5.

On a recherché quelle était l'influence éventuelle de la pureté des échantillons de β C sur ses propriétés mises en évidence ci-dessus. Les figures III-6 et III-7 illustrent les résultats obtenus sur les échantillons S_0 et S_{1p} . L'échantillon le plus impur, S_0 (figure III-6), a un effet tout à fait semblable à celui de S_1 (figure III-1), mais son efficacité dans l'inhibition est beaucoup moins grande. S_{1p} est au contraire beaucoup plus efficace que S_0 et S_1 dans ses propriétés inhibitrices (cf figure III-7).

II.2 - Dosages chromatographiques de β C

On a cherché à contrôler le bien-fondé des résultats obtenus ci-dessus par mesure de l'oxygène consommé en effectuant des dosages chromatographiques (CLHP) du seul β C résiduel, puisque nous ne sommes pas en mesure de doser le linoléate dont la consommation est trop faible. Les figures III-8 et III-9 illustrent ces contrôles qui portent sur l'échantillon S_3 de β C (cf chapitre I) avec des pressions initiales d'oxygène de 50 Torr et 450 Torr respectivement. Il existe à chaque instant une bonne corrélation entre l'oxygène consommé et β -carotène résiduel.

La figure III-8 montre clairement que pour une concentration de β -carotène égale à $5 \cdot 10^{-3}$ M, l'oxygène consommé par cet additif est négligeable à l'instant zéro, ce qui est en accord avec les données de la figure III-5. L'oxygène consommé par le linoléate est donc a fortiori négligeable. En fait la figure III-8 présente toutes les caractéristiques de l'oxydation induite de β C seul (cf figure I-9 du chapitre I). Dans le cas de la figure III-9, l'oxygène consommé par le β -carotène pour une concentration de ce dernier égale à $5 \cdot 10^{-3}$ M n'est plus négligeable. La vitesse initiale de disparition de β C en présence de linoléate est évaluée à $8,6 \cdot 10^{-7} \text{ M.s}^{-1}$ (courbe 3) ; ceci correspondrait normalement à une vitesse de consommation d'oxygène égale à 3 fois cette valeur soit $2,6 \cdot 10^{-6} \text{ M.s}^{-1}$. La vitesse de consommation d'oxygène par le seul linoléate est donc la différence entre la vitesse globale de consommation de O_2 par β C et LH (courbe 2 : $4,42 \cdot 10^{-6} \text{ M.s}^{-1}$) et celle de consommation par β C seul ($2,6 \cdot 10^{-6} \text{ M.s}^{-1}$) soit environ $1,82 \cdot 10^{-6} \text{ M.s}^{-1}$. Le rapport des vitesses initiales d'oxydation du seul linoléate en présence et en l'absence de β C est donc $1,84 \cdot 10^{-6} / 6,5 \cdot 10^{-6}$ soit 28 % alors que la vitesse d'oxydation du mélange LH- β C est globalement 68 % ($4,42 \cdot 10^{-6} / 6,5 \cdot 10^{-6}$) de celle de LH seul (cf figure III-5).

On peut se demander si les courbes de la figure III-5 représentent fidèlement l'effet de β C sur l'oxydation de LH. C'est sans doute bien le cas aux faibles teneurs de β C. Qu'en est-il aux fortes teneurs, lorsque β C semble inhiber de moins en moins la consommation de O_2 ? En adoptant un raisonnement du type précédent on peut corriger l'oxygène globalement consommé par β C + LH de l'oxygène consommé par le seul β C. On détermine ainsi une nouvelle vitesse de consommation d'oxygène par le seul linoléate en présence de β C : $(v_{\text{O}_2}^{\text{LH-}\beta\text{C}})_0$ dans le tableau III-3 et la figure III-10. Bien qu'il soit assez peu précis, nous avons tenté de faire ce type de correction et obtenons les résultats de la figure III-10. Sous 450 Torr d'oxygène, il semble que l'influence inhibitrice limite de β C soit de l'ordre de 70 à 80 % et indépendante de la concentration de β C. Seul le point à $5 \cdot 10^{-4}$ M de β C correspond à une inhibition totale. Sous 50 Torr, l'inhibition semble totale pour de faibles valeurs de (β C) puis décroît lentement lorsque la concentration de β C augmente. Un phénomène de ce type a été trouvé dans le cas de l'inhibition du linoléate de méthyle par l' α -tocophérol (Rousseau, 1986) (Rousseau et Coll., 1988).

En résumé, quelles que soient la pression d'oxygène et la concentration de β -carotène on a toujours initialement un effet inhibiteur du β -carotène sur la consommation globale d'oxygène. Les tableaux III-1 à III-3 résument l'ensemble de nos résultats expérimentaux en ce qui concerne les vitesses initiales de consommation d'oxygène par le mélange LH- β C, par β C et par LH, dans différentes conditions de pression, de concentration et de pureté de β C.

TABLEAU III-1

Influence de la concentration de β -carotène (échantillon S₁)
et de $P_{O_2}^0$ sur la vitesse initiale de consommation d'oxygène
par le mélange linoléate d'éthyle / β -carotène.

$(LH)_0 = 0,4 \text{ M}$; $(AIBN)_0 = 9.10^{-2} \text{ M}$; $T = 50^\circ\text{C}$

$10^3.(\beta C)_0, \text{ M}$	$10^6.[V_{O_2}^{LH,\beta C}]_0, \text{ M.s}^{-1}$	$P_{O_2}^0, \text{ Torr}$
0 ; 0,05 0,5 5 10 20	6,50 0,78 4,42 5,72 6,31	450
0 ; 0,05 0,5 5 10 20	5,00 0,25 1,85 3,00 3,50	150
0 ; 0,05 0,5 5 10 20 100	3,33 0,03 0,23 0,67 1,18 3,33	50

TABLEAU III-2

Influence de la pureté du β -carotène sur la vitesse initiale de consommation
d'oxygène par le mélange linoléate d'éthyle / β -carotène.
 $(LH)_o = 0,4 \text{ M}$; $(AIBN)_o = 9.10^{-2} \text{ M}$; $P_{O_2}^o = 50 \text{ Torr}$; $T = 50^\circ\text{C}$

$10^3.(\beta C)_o, \text{ M}$	$10^6.[V_{O_2}^{LH,\beta C}]_o, \text{ M.s}^{-1}$	Echantillon
0	3,5	S_0
0,5	1,86	
5	1,5	
20	0,81	
100	1,86	
0	2,8	S_{1F}
0,1	1,54	
0,5	0	
5	0,32	
20	0,78	
100	0,78	
0 ; 0,05	3,33	S_1
0,5	0,03	
5	0,23	
10	0,67	
20	1,18	
100	3,33	

TABLEAU III-3

Influence de la concentration de β -carotène (échantillon S₁)
et de $P_{O_2}^o$ sur la vitesse initiale de consommation d'oxygène
par le linoléate d'éthyle seul $[V_{O_2}^{LH-\beta C}]_o$ et influence inhibitrice
de βC sur l'oxydation de LH à l'instant initial (colonne 6).

$10^3.(\beta C)_o$ (M)	$P_{O_2}^o$ (Torr)	$10^6.[V_{O_2}^{LH,\beta C}]_o$ (M.s ⁻¹)	$10^6.[V_{O_2}^{\beta C}]_o$ (M.s ⁻¹)	$10^6.[V_{O_2}^{LH-\beta C}]_o$ (M.s ⁻¹)	$[V_{O_2}^{LH-\beta C} / V_{O_2}^{LH}]_o$
0	450	6,5	-	6,5	1
0	50	3,3	-	3,3	1
0,5	450	0,8	0,82	≈ 0	0
0,5	50	0,03	≈ 0	0,03	0,01
5	450	4,4	2,6	1,8	0,28
5	50	0,23	0,26	≈ 0	0
10	450	5,7	3,7	2,0	0,3
10	50	0,67	0,37	0,3	0,1
20	450	6,3	5,2	1,1	0,17
20	50	1,18	0,52	0,66	0,2
100	450	3,3	1,2	2,1	0,64

III - INTERPRETATION

On cherche à décrire ici le comportement d'un mélange réactionnel comprenant initialement quatre réactifs : oxygène, AIBN, linoléate d'éthyle et β -carotène. Il paraît logique de proposer un schéma cinétique compatible avec ceux de l'oxydation induite du β -carotène (cf chapitre I) et du linoléate d'éthyle (cf chapitre II). On décrit donc la cooxydation induite du mélange β -carotène/linoléate par ces deux schémas que l'on complète par les interactions mutuelles des porteurs de chaînes de chacune des oxydations et leurs interactions avec les substrats.

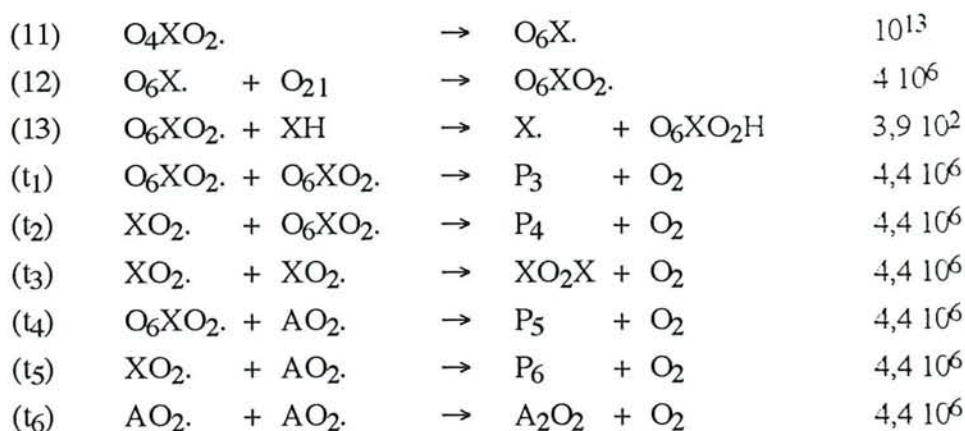
Etant donné la complexité du système, il semble opportun d'effectuer une modélisation des concentrations des espèces en fonction du temps à partir d'un schéma aussi simplifié que possible et en dehors de toute hypothèse d'état quasi-stationnaire des radicaux ou de chaîne longue. La simulation a donc été effectuée à l'aide du programme LSODE (Livermore Solver of Ordinary Differential Equations) dérivé de l'algorithme de GEAR (1971). Le logiciel accepte les processus élémentaires et leurs constantes de vitesse, les concentrations initiales des réactifs. Le test de sensibilité permet de repérer les processus non déterminants.

III.1 - Simulation de l'oxydation induite du β -carotène

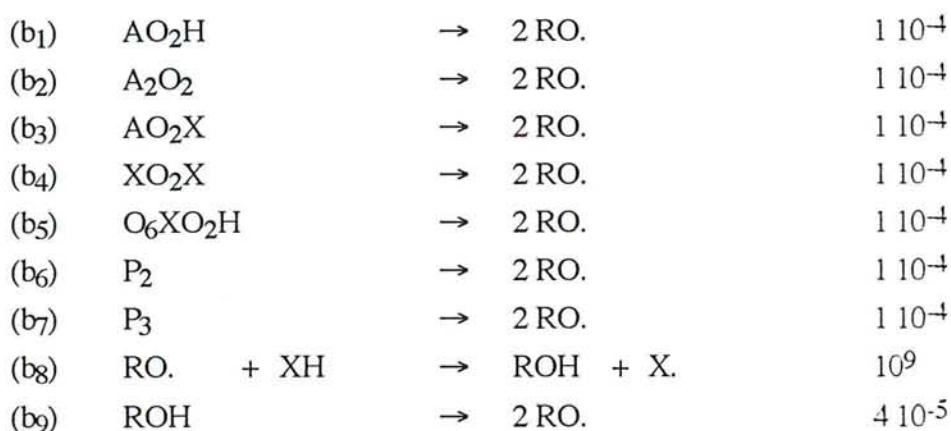
Avant d'examiner le comportement du mélange β -carotène/linoléate, nous avons examiné l'oxydation induite du β -carotène seul à la lumière du programme LSODE.

Nous avons ré-écrit en le complétant le schéma du chapitre I. Les constantes de vitesse à 50°C (unités : M, s) correspondent aux meilleures valeurs de la littérature ou aux valeurs les plus vraisemblables discutées aux chapitres précédents.

Nos	Processus			k (unités : M, s)
(a ₁)	AIBN	→	2 A. + N ₂	1,2 10 ⁻⁶
(a ₂)	AIBN	→	A ₂ + N ₂	0,95 10 ⁻⁶
(x ₁)	O _{2g}	→	O _{2l}	7,425
(x ₂)	O _{2l}	→	O _{2g}	10 ³
(y ₁)	A. + O _{2l}	→	AO ₂ .	4 10 ⁶
(y ₂)	AO ₂ . + XH	→	AO ₂ H + X.	3,9 10 ²
(6)	X. + O _{2l}	→	XO ₂ .	4 10 ⁶
(7)	XO ₂ .	→	O ₂ X.	10 ¹³
(8)	O ₂ X. + O _{2l}	→	O ₂ XO ₂ .	4 10 ⁶
(9)	O ₂ XO ₂ .	→	O ₄ X.	10 ¹³
(10)	O ₄ X. + O _{2l}	→	O ₄ XO ₂ .	4 10 ⁶



Le facteur d'autoaccélération au cours du temps est lié aux branchements dégénérés suivants :



Dans ce schéma, O_{2g} et O_{21} représentent l'oxygène gazeux et en solution; les processus x_1 et x_2 simulent la dissolution de l'oxygène dans le chlorobenzène, leurs constantes de vitesse sont choisies pour satisfaire la constante de Henry à 50°C et sont telles que l'équilibre soit rapidement atteint.

XH représente le β -carotène, $O_nXO_2.$ un radical libre peroxy, $O_{n-2}X.$ son isomère centré sur un carbone, P_i un produit non radicalaire, $RO.$ regroupe tous les radicaux libres alkoxy et le radical hydroxyle.

Jusqu'à 4 molécules d'oxygène s'additionnent sur XH ; les processus de type (-6) sont ici sans importance car les radicaux libres de type $XO_2.$ sont supposés très facilement isomérisables par les processus (7), (9) et (11). Seul le radical oxydé $O_6XO_2.$ réagit par métathèse avec le carotène (processus 13).

Les amorçages secondaires (branchements dégénérés) conduisent à divers radicaux libres que nous confondons tous sous le nom de $RO.$ et qui sont très réactifs (processus b₈).

Les processus de terminaison (t₁) à (t₆) sont ceux qui demeurent après une analyse de sensibilité ; notons que la terminaison en $X. + X.$ pourrait avoir une constante de vitesse aussi

faible que $10^2 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ mais que nous la trouvons négligeable même avec une valeur de $10^9 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$.

La constante de vitesse des processus du type



qui vaut, après ajustement $3,9 \cdot 10^2 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ est très proche des valeurs mesurées par Rousseau-Richard (1986) : $5,7 \cdot 10^2 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ à 50°C pour le linoléate de méthyle et par nous (chapitre II) $1,25 \cdot 10^2 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ pour le linoléate d'éthyle à la même température.

Les processus du type



ont, après ajustement, une constante de vitesse de $4 \cdot 10^6 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ assez proche de celles mesurées par Rousseau (1986) et Rousseau-Richard et Coll. (1988), $4 \cdot 10^7 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$, pour le linoléate de méthyle, et par nous, $2,3 \cdot 10^6 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$, pour le linoléate d'éthyle.

Quant aux constantes de vitesse des processus de terminaison entre radicaux peroxy, nous avons conservé la valeur proposée par Howard et Coll. (1967). Les constantes de vitesse des amorçages secondaires (b_1) à (b_7) ont été ajustées globalement; celle de (b_9) a été prise plus faible pour tenir compte du fait que toutes les molécules ROH n'ont pas la fonction peroxyde.

Les résultats de la simulation sont présentés, avec les résultats expérimentaux, sur les figures III-11 (consommation de βC) et III-12 (consommation de O_2). Bien que l'ajustement des courbes à l'expérience ne soit pas parfait, en particulier pour l'oxygène, le modèle discuté au chapitre I paraît solidement fondé, compte tenu des très grandes simplifications que nous avons faites.

III.2 - Simulation de l'oxydation induite du mélange β -carotène-linoléate

Pour rendre compte de la cooxydation du β -carotène et du linoléate d'éthyle, le schéma proposé ci-dessus doit être complété par les processus d'oxydation du linoléate (LH) discutés au chapitre II, à savoir :

Nos	Processus				k (unités: M, s)
(x3)	$\text{AO}_2\cdot$	+ LH	$\rightarrow$	$\text{AO}_2\text{H} + \text{L}\cdot$	$4,8 \cdot 10^3$
(2)	$\text{L}\cdot$	+ O_{21}	$\rightarrow$	$\text{LO}_2\cdot$	$2,3 \cdot 10^6$
(-2)	$\text{LO}_2\cdot$		$\rightarrow$	$\text{L}\cdot + \text{O}_{21}$	$7 \cdot 10^1$
(3)	$\text{LO}_2\cdot$	+ LH	$\rightarrow$	$\text{LO}_2\text{H} + \text{L}\cdot$	$1,3 \cdot 10^2$
($\mu\mu$)	$\text{L}\cdot$	+ $\text{L}\cdot$	$\rightarrow$	L_2	10^9
($\beta\mu$)	$\text{L}\cdot$	+ $\text{LO}_2\cdot$	$\rightarrow$	LO_2L	$5,2 \cdot 10^8$



et par les processus de co-réaction de LH et de XH:



L'importance des processus (4 β), (4 μ), etc... a déjà été discutée (cf par exemple Rousseau-Richard, 1986) (Rousseau-Richard et Coll., 1988). Le processus inverse de (4 μ) n'a pas été écrit car il est très certainement négligeable compte tenu de la stabilité de X. .

Les résultats de la simulation sont donnés par les figures III-13 à III-15. Notons que cette simulation a été faite sans *aucun* ajustement des constantes de vitesse. Il apparaît que, pour des teneurs croissantes de β -carotène, la consommation d'oxygène diminue, à l'instant initial, passe par un minimum, puis augmente (figure III-13). Ce comportement simulé pour une pression d'oxygène de 450 Torr est donc bien conforme aux résultats expérimentaux.

Toujours pour des teneurs croissantes de β C, la consommation de LH diminue jusqu'à l'inhibition totale (figure III-14). Ce comportement est en assez bon accord avec les résultats expérimentaux illustrés par la figure III-10 : rappelons que ces derniers ont été obtenus en consommation d'oxygène et après correction puisqu'il n'était pas possible de doser LH.

Enfin, plus la teneur en β C augmente, moins ce dernier disparaît rapidement en valeur relative (figure III-15). En valeur absolue, sa vitesse de consommation est d'autant plus forte que sa concentration est plus grande. L'oxygène consommé est corrélativement plus important : c'est pourquoi le β -carotène semble moins inhiber la consommation d'oxygène à forte concentration qu'à faible concentration.

Ceci pourrait expliquer les observations de Burton et coll. (1984) dont les expériences les mènent à conclure que le β -carotène n'est un antioxydant efficace qu'aux faibles pressions d'oxygène et aux faibles teneurs en β -carotène et que ce dernier devient prooxydant aux fortes pressions. En effet, ces auteurs ont suivi la réaction par la seule consommation d'oxygène: notre simulation montre que le β -carotène, à toute concentration, inhibe l'oxydation de LH mais que plus il y a de β -carotène, plus celui-ci s'oxyde et plus son oxydation est auto-accélérée; la consommation d'oxygène à avancement non nul passe par un minimum avant lequel l'inhibition de l'oxydation de LH prédomine, et après lequel c'est l'oxydation auto-accélérée de β C qui domine.

A la suite du travail de Burton et Ingold, d'autres auteurs (Kennedy et coll., 1991; Palozza et coll., 1992; Yamauchi et coll., 1993) ont proposé que l'équilibre d'addition d'oxygène au radical libre β -carotényle X.



soit déplacé vers la droite aux fortes pressions d'oxygène, produisant ainsi des radicaux libres peroxydes capables d'exercer un effet prooxydant, mais on voit mal pourquoi ces radicaux XO_2 seraient plus réactifs que les radicaux LO_2 .

Quoi qu'il en soit, il est clair que, l'oxydation de βC étant fortement auto-accélérée, celui-ci, quelle que soit sa concentration, aura toujours un effet prooxydant plus ou moins fort *au cours* du temps.

CONCLUSION

Le β -carotène exerce sur l'oxydation induite du linoléate d'éthyle une influence inhibitrice d'autant plus marquée que sa teneur dans le milieu est plus forte.

Cet effet inhibiteur n'apparaît clairement sur la consommation d'oxygène qu'aux faibles teneurs de β -carotène. Aux fortes teneurs, l'oxygène consommé par le β -carotène masque un peu l'effet inhibiteur mais ce dernier est bien réel.

Nous confirmons ainsi l'importante propriété antioxydante de ce composé qui depuis longtemps a été mise en évidence .

Comme nous avons montré au chapitre I que le β -carotène est un bon antioxygène, c'est-à-dire un consommateur efficace d'oxygène moléculaire, il n'est pas surprenant que son influence antioxydante paraisse atténuée aux fortes concentrations. En fait, son efficacité antioxydante persiste à forte concentration, mais une part croissante d'oxygène va à l'oxydation de l'inhibiteur. De ce point de vue, notre travail démontre que les propriétés antioxydantes et antioxygène du β -carotène à faible avancement sont beaucoup plus importantes qu'on ne l'admettait jusqu'ici.

La simulation de la cooxydation induite du mélange β -carotène/linoléate, fondée sur les schémas d'oxydation du β -carotène et du linoléate seuls rend bien compte qualitativement de tous les résultats expérimentaux et confirme la cohérence de l'ensemble des interprétations proposées dans ce travail.

BIBLIOGRAPHIE

- Budowski, P. ; Bondi, A ; *Arch. Biochem. Biophys.* **1960**, 89, 66.
- Burton, G.W. ; Ingold, K.U. ; *Science* **1984**, 224, 569.
- Burton, G.W. ; *J. Nutr.* **1989**, 119, 109.
- Carotenoids in Human Health ; Eds. Canfield, L.M. ; Krinsky, N.I. ; Olson, J.A. ; *Ann. N.Y. Acad. Sci.* **1993**, vol. 691.
- Debal, A. ; in *Vitamine E, Tocophérols et composés apparentés* ; Ed. Claude L. Leger, Polytechnica, Paris, **1992**, p. 1.
- Friend, J. ; *Biochem. J.* **1956**, 64, 19.
- Friend, J. ; *Chem. Ind. (London)* **1958**, p. 597.
- Gear, C.W. ; *Numerical Initial Value Problems in Ordinary Differential Equation* ; Englewood Cliffs, N.J. ; Prentice-Hall ; **1971**.
- Holman, R.T. ; *Arch. Biochem.* **1949**, 21, 51.
- Howard, J.A. ; Ingold, K.U. ; *Can. J. Chem.* **1967**, 45, 793.
- Hunter, R.F. ; Krakenberger, R.M. ; *J. Chem. Soc.* **1947**, p. 1.
- Kennedy, T.A. ; Liebler, D.C. ; *Chem. Res. Toxicol.* **1991**, 4, 290.
- Krinsky, N.I. ; *Free Radicals Biol. Med.* **1989**, 7, 617.
- Krinsky, N.I. ; *Pure Appl. Chem.* **1979**, 51, 649.
- Liebler, D.C. ; in Carotenoids in Human Health, Eds. Canfield, L.M. ; Krinsky, N.I. ; Olson, J.A. ; *Ann. N.Y. Acad. Sci.* **1993**, vol. 691, p. 20.
- Liebler, D.C. ; Kennedy, T.A. ; in *Methods in Enzymology*, Lester Packer Ed., Academic Press, **1992**, vol. 213, p. 472.
- Palozza, P. ; Krinsky, N.I. ; in *Methods in Enzymology*, Lester Packer Ed., Academic Press, **1992**, vol. 213, p. 403.
- Ramakrishnan, T.V. ; Francis, F.J. ; *J. Food Quality* **1979**, p. 277.
- Rousseau-Richard, C. ; Richard, C. ; Martin, R. ; *J. Chim. phys.* **1988**, 85, 167 et 175.
- Rousseau-Richard, C. ; Thèse Université de Nancy I, **1986**.
- Sies, H. ; Stahl, W. ; Sundgrist, A.R. ; *Annals New York Acad. Sci.* **1992**, 669, 7.
- Suzuki, T. ; Usuki, R. ; Kaneda, T. ; *J. Jpn. Oil Chem. Soc. (Yukagaku)* **1989**, 38, 486.
- Terao, J. ; *Lipids* **1989**, 24, 659.
- Terao, J. ; Nagao, A. ; Park, O.K. ; Lim, B.P. ; in *Methods in Enzymology*, Lester Packer Ed., Academic Press, **1992**, vol. 213, p. 455.
- Yamanchi, R. ; Miyake, N. ; Inoue, H. ; Kato, K. ; *J. Agric. Food Chem.* **1993**, 41, 708.

CHAPITRE IV

INFLUENCE DU β -CAROTENE SUR LES PROPRIETES INHIBITRICES DE L' α -TOCOPHEROL (VITAMINE E) VIS-A-VIS DE L'OXYDATION INDUITE DU LINOLEATE D'ETHYLE

Nous avons montré au chapitre précédant que le β -carotène inhibe l'oxydation induite du linoléate d'éthyle, mais qu'il s'oxyde aussi lui-même d'autant plus vite que sa teneur dans le milieu est plus importante. On sait également que la vitamine E (α -tocophérol ou TH) exerce une très forte influence inhibitrice sur l'oxydation induite des acides gras polyinsaturés et de leurs dérivés (Burton et Coll., 1981 ; Niki et Coll., 1983 ; Rousseau-Richard et Coll., 1988 ; Debal, 1992). Mais contrairement au β -carotène, l' α -tocophérol disparaît lentement dans une réaction par stade dont la vitesse est proche de celle de l'amorçage. La grande aptitude de la vitamine E à limiter la peroxydation des lipides, malgré sa présence en faible quantité par rapport à celle des substrats, a conduit à imaginer une possible régénération de la vitamine E par une molécule agissant donc avec elle par effet de synergie. Les données de la littérature concernant l'influence du mélange β -carotène/ α -tocophérol sur les oxydations sont rares et portent surtout sur les réactions de photooxydation (Terao et Coll., 1980) ou sur des systèmes biologiques : Palozza et Coll. (1991 et 1992) ont étudié l'oxydation des lipides dans un milieu membranaire ou en solution homogène dans l'hexane. Ils observent un effet de synergie entre le β -carotène et l' α -tocophérol lorsque les concentrations de ces additifs sont sensiblement égales : l'effet inhibiteur est alors la somme des effets inhibiteurs de chaque constituant. Mais lorsque la concentration de TH devient négligeable devant celle de β C (excès de β -carotène), ces auteurs observent alors un effet prooxydant de β -carotène. Le même comportement a été observé, par Suzuki et Coll. (1989), dans le cas de l'oxydation du linoléate de méthyle et de l'huile de colza raffinée, à 30°C, dans le trichlorométhane.

Il nous a semblé utile d'examiner l'effet de synergie éventuel qu'exerce β C sur les propriétés inhibitrices de TH ou, inversement, l'effet de TH sur les propriétés de β C. A cet effet, nous avons repris une étude succincte de l'influence de TH puis de mélanges TH- β C sur l'oxydation induite du linoléate d'éthyle dans les conditions expérimentales de ce travail, à savoir, 50°C et en solution dans le chlorobenzène.

I - RESULTATS EXPERIMENTAUX

I.1 - Influence de TH sur l'oxydation induite du linoléate d'éthyle

La réaction a été suivie par mesure de l'oxygène consommé au cours du temps, sous une pression de 50 Torr, exclusivement. La figure IV-1 illustre l'effet inhibiteur de TH sur l'oxydation induite du linoléate. On observe (voir aussi tableau IV-1) que la période d'induction (τ) croît avec la teneur en TH et la vitesse de consommation de O_2 au temps τ , $V_{O_2}^\tau$, est constante et égale à celle de consommation de l'oxygène en l'absence de TH. On peut donc admettre que l'effet inhibiteur s'arrête lorsque TH est totalement consommé. Par ailleurs, la figure IV-1 montre que la consommation d'oxygène est réduite à zéro durant toute la période

d'inhibition ce qui indique que TH est un inhibiteur particulièrement efficace. On retrouve là un comportement déjà observé sur l'oxydation du linoléate (Rousseau-Richard et Coll., 1991).

I.2 - Influence du mélange TH- β C sur l'oxydation induite du linoléate d'éthyle

Deux échantillons de β -carotène ont été testés : S_1 et S_{1p} (cf chapitre I). La réaction a été suivie au cours du temps par mesure de l'oxygène consommé et par dosage chromatographique de TH et de β C (cf Annexe I).

Les figures IV-2 et IV-3 illustrent les résultats obtenus en mesurant l'oxygène consommé. On observe tout d'abord que la pureté de l'échantillon n'est pas ici un paramètre critique : l'échantillon S_{1p} de β C le plus pur donne seulement des effets plus marqués que l'échantillon S_1 moins pur. De fortes concentrations de S_1 suppriment même la période d'induction (courbe 5, figure IV-2). Ce phénomène est sans doute lié à la présence de fortes quantités de peroxydes accélérateurs.

TABLEAU IV-1

**Influence de TH sur l'oxydation induite
par l'AIBN du linoléate d'éthyle.**

$(LH)_0 : 0,4 \text{ M}$; $(AIBN)_0 = 9.10^{-2} \text{ M}$; $P_{O_2}^0 = 50 \text{ Torr}$

$10^4.(TH)_0, \text{ M}$	$\tau, (\text{min})$	$10^6.V_{O_2}^\tau, \text{ M.s}^{-1}$
0	0	3,26
1	18	3,26
2	33	3,26
5	94	3,00

Dans ce qui suit, nous commenterons les résultats obtenus avec S_{1p} (figure IV-3). L'addition de β C change la forme des courbes (0,1) obtenues en présence ou en l'absence de TH. Comme en l'absence de TH (cf chapitre III), des quantités croissantes de β C inhibent la consommation d'oxygène à son maximum, tout d'abord de plus en plus, puis de moins en moins. Aux plus fortes concentrations de β C, la consommation d'oxygène démarre même avant la fin de la période

d'induction obtenue avec le TH seul. La figure IV-4 illustre les variations du rapport de la vitesse de consommation d'oxygène au temps t en présence de TH + β C ($V_{O_2}^{(LH, TH + \beta C)}$) à sa vitesse de consommation en l'absence de TH + β C ($V_{O_2}^{LH}$) en fonction de la teneur en β C. Les courbes de cette figure rappellent celles de la figure III-4b, en l'absence de TH.

En présence de β C, les périodes d'induction des courbes de la figure IV-3 sont d'autant plus difficiles à mesurer que la vitesse maximale de consommation d'oxygène n'est pas nécessairement atteinte dans le domaine de temps considéré. On peut cependant évaluer ces périodes τ (cf Annexe IV). Comme le montre la figure IV-5 relative à l'échantillon S_{1p}, la période τ augmente puis diminue, ce qui confirme les observations faites sur les vitesses maximales (figure IV-4). La comparaison des figures IV-3 et III-7 semble indiquer qu'on a addition des effets inhibiteurs de TH et de β C.

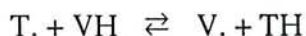
Nous avons complété cette étude par des analyses chromatographiques de TH et β C au cours du temps (cf figure IV-6). Il apparaît clairement que TH "protège" β C de l'oxydation et que la consommation d'oxygène ne devient appréciable que lorsque TH a pratiquement disparu (environ 30 min). Lorsque TH a disparu du milieu, l'influence de β C qui n'a pas encore été oxydé commence à s'exercer sur l'oxydation de LH comme il a été décrit au chapitre III. En effet, les courbes de la figure IV-6 sont superposables à celles de la figure III-8 obtenues dans les mêmes conditions, mais en l'absence de TH : ces courbes sont seulement décalées dans l'échelle des temps d'environ 25 à 30 min, c'est-à-dire pratiquement de la période d'induction en présence de TH seul.

On peut donc conclure que le mélange TH- β C présente vis-à-vis de l'oxydation induite du linoléate des propriétés antioxydantes remarquables puisque l'effet global du mélange est pratiquement la somme des effets de chaque composant pris séparément.

II - INTERPRETATION-DISCUSSION

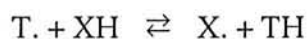
Pendant la consommation de TH, celle de β C (cf figure IV-6) a déjà commencé, bien qu'elle soit beaucoup plus lente qu'en l'absence de TH (cf figure III-8). La consommation d'oxygène correspondante est visible (cf figure IV-3) dès lors que la concentration de β C est suffisamment élevée. C'est sans doute ce phénomène, à rapprocher de ce qu'a montré la simulation du chapitre précédent, qui fait penser à plusieurs auteurs (Susuki et coll., 1989 ; Palozza et coll., 1991 et 1992) que le β -carotène exerce un effet prooxydant en forte concentration, en présence de TH.

D'autre part, les faits expérimentaux mis ici en évidence avec le mélange TH- β C peuvent être rapprochés de ceux qu'observe Rousseau-Richard (1986 et 1988) avec le mélange α -tocophérol/vitamine C (VH). Dans ce dernier cas, VH s'oxyde en chaîne et protège ainsi TH. En réalité, il a été montré que le quasi-équilibre :



est continuellement déplacé à droite puisque V. s'oxyde aisément tandis que le radical α -tocophéryle T. ne s'oxyde pratiquement pas (Rousseau-Richard, 1986 et 1991). On comprend donc que l'oxydation de VH "régénère" TH et que ce dernier ne se consomme pas tant que VH est présent dans le milieu. Lorsque VH a disparu, TH commence à se consommer, mais tout en exerçant ses propriétés inhibitrices vis-à-vis de l'oxydation du substrat.

Dans le cas du mélange TH- β C, c'est au contraire l'oxydation en chaîne de β C qui se trouve tout d'abord inhibée - tout comme celle du linoléate. TH se consomme donc en premier. Lorsque TH a disparu, β C exerce son influence inhibitrice tout en s'oxydant. L'effet global résulte donc de l'addition d'abord de l'effet de TH puis de celui de β C. On peut se demander pourquoi un équilibre du type :



(où XH est le β -carotène) ne régénère pas TH mais plutôt XH. On connaît à peu près les énergies de dissociations : D_{T-H} vaut environ 78 kcal/mol (Rousseau-Richard et coll., 1989), et l'on peut évaluer D_{X-H} au plus à 76 kcal/mol : 99 kcal/mol pour un hydrogène lié à un carbone allylique secondaire dont on déduit au moins 23 kcal/mol d'énergie de résonnance du radical β -carotényle (cf chapitre I). La réaction serait donc légèrement exothermique. Il reste que le facteur entropique, compte tenu des phénomènes de solvation, pourrait être favorable au déplacement de l'équilibre vers la gauche. Il n'est donc pas certain qu'un mécanisme analogue à celui proposé pour le système TH-VH soit valable pour le couple TH- β C.

Une modélisation de ce système semblable à celle du chapitre III pourrait être tentée, mais le nombre de constantes de vitesse inconnues et la complexité du système n'autorisent guère cet essai.

CONCLUSION

Nous n'observons pas d'effet prooxydant du β -carotène aux fortes concentrations que ce soit en présence ou en absence d' α -tocophérol, contrairement à ce qu'ont soutenu d'autres auteurs. En effet, Le mélange α -tocophérol/ β -carotène présente vis-à-vis de l'oxydation induite du linoléate d'éthyle des propriétés anti-oxydantes remarquables qui sont la somme des propriétés antioxydantes des deux additifs pris séparément. A cette propriété antioxydante se superpose le rôle antioxygène du β -carotène ce qui rend un tel mélange particulièrement intéressant pour les systèmes vivants.

BIBLIOGRAPHIE

- Burton, G.W. ; Ingold, K.U. ; *J. Am. Chem. Soc.* **1981**, 103, 6472.
- Debal, A. in *Vitamine E, Tocophérols et composés apparentés* ; Ed. Leger, C.L., Polytechnica, Paris, **1992**, p. 1.
- Niki, E. ; Saito, T. ; Kamiya, Y. ; *Chem. Letters* **1983**, 631.
- Palozza, P. ; Krinsky, N.I. ; *Free Radical Biol. Med.* **1991**, 11, 407.
- Palozza, P. ; Krinsky, N.I. ; *Arch. Biochem. Biophys.* **1992**, 297, 184.
- Rousseau-Richard, C. ; Thèse Université de Nancy I, **1986**.
- Rousseau-Richard, C. ; Richard, C. ; Martin, R. ; *J. Chim. phys.* **1988**, 85, 167.
- Rousseau-Richard, C. ; Richard, C. ; Martin, R. ; *J. Chim. phys.* **1988**, 85, 175.
- Rousseau-Richard, C. ; Auclair, C. ; Richard, C. ; Martin, R. ; *FEBS Letters* **1989**, 252, 58.
- Rousseau-Richard, C. ; Richard, C. ; Martin, R. ; *New J. Chem.* **1991**, 15, 283.
- Suzuki, T. ; Usuki, R. ; Kaneda, T. ; *J. Jpn. Oil Chem. Soc. (Yukagaku)* **1989**, 38, 486.
- Terao, J. ; Yamauchi, R. ; Murakami, H. ; Matsushita, S. ; *J. Food Process. preserv.* **1980**, 4, 79.

RESUME - CONCLUSION

Le présent travail avait essentiellement pour objet d'élucider le mécanisme d'oxydation thermique du β -carotène tout trans ainsi que l'influence qu'il exerce, seul ou en mélange avec l' α -tocophérol, sur l'oxydation thermique d'acides gras polyinsaturés.

C'est pourquoi, nous avons cherché à déterminer les caractéristiques cinétiques de l'oxydation, auto-amorcée ou induite,

- du β -carotène tout trans,
- du linoléate d'éthyle, seul ou en présence de β -carotène **ou** d' α -tocophérol,
- du linoléate d'éthyle en présence de β -carotène **et** d' α -tocophérol.

Ces réactions, conduites en solution dans le chlorobenzène, ont été suivies, en système statique, par mesure de l'oxygène consommé et par dosage chromatographique (CLHP) des réactifs β -carotène et α -tocophérol. L'amorceur était l'AIBN.

La pureté des réactifs et l'évolution au cours du temps de certains des produits de la réaction ont en outre été contrôlées ou suivies par spectrophotométrie d'absorption UV-visible et infra-rouge.

* *

I - Nous avons tout d'abord examiné l'oxydation par l'oxygène moléculaire du β -carotène tout trans en présence ou en l'absence d'AIBN.

Les réactions radicalaires sont connues pour être sensibles aux impuretés éventuellement présentes dans les réactifs de départ. Nous avons donc procédé à des purifications successives du β -carotène par cristallisation. On a vérifié que ces opérations conduisent à l'élimination progressive de substances inconnues présentes dans le réactif de départ. On a aussi observé que la teneur en β -carotène des échantillons commerciaux de ce substrat peut être très inférieure à celle mentionnée sur l'étiquetage.

La cinétique d'oxydation du β -carotène en présence ou en l'absence d'AIBN se révèle sensible à la présence des impuretés. Plus le β -carotène est pur, plus lente est son oxydation - plus longue la période d'induction et plus faible la vitesse maximale.

En présence ou en l'absence d'AIBN et à chaque instant de la réaction, la vitesse de consommation de l'oxygène est environ trois fois plus importante que celle de β -carotène. Cette seule particularité fait déjà du β -carotène un antioxygène efficace.

En l'absence d'amorceur, nous avons déterminé, au maximum de vitesse, les ordres partiels relatifs à l'oxygène et au β -carotène pour des échantillons de pureté variable. Ces ordres sont fractionnaires, ce qui prouve le caractère radicalaire de la réaction. Toujours en l'absence d'amorceur, nous avons montré que, tant qu'il est présent dans le milieu, l' α -tocophérol (TH) inhibe complètement l'oxydation du β -carotène, c'est dire que l'oxygène et le β -carotène ne sont apparemment pas consommés. Seul l' α -tocophérol (et une quantité égale de β -carotène mesurable dans certaines conditions seulement) est lentement consommé. Lorsque TH a

complètement disparu, le β -carotène commence à s'oxyder comme il le ferait spontanément en l'absence de TH, à la cadence d'une molécule de β -carotène pour trois d'oxygène, environ. On montre ainsi clairement qu'en présence de TH, les chaînes d'oxydation du β -carotène sont totalement supprimées et que pratiquement seule subsiste alors la vitesse d'amorçage de la réaction. De la vitesse de consommation de l'inhibiteur TH, on déduit la vitesse globale du processus d'amorçage de l'oxydation :



ainsi que sa constante de vitesse :

$$k_{a'} = 10^{(5.5 \pm 0.5)} \exp((-8000 \pm 500)/T) \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$$

Si l'on admet avec Doering et coll. que l'amorçage est lié à l'isomérisation trans-cis du β -carotène, isomérisation qui est facilitée par la délocalisation des deux électrons en 15, 15' du biradical intermédiaire, on évalue la constante de vitesse de cette isomérisation (a) :

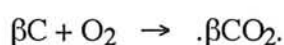
$$k_a = 10^{(11.8 \pm 0.5)} \exp((-20000 \pm 500)/RT) \text{ s}^{-1}$$

(RT en cal.mol⁻¹)

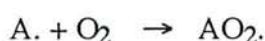
L'énergie d'activation de ce processus correspond à une énergie de résonance d'un radical de type undécapentaényle conjugué qui serait voisine de 23 kcal.mol⁻¹ soit une valeur un peu supérieure à celle prévue par Doering (21,7 kcal.mol⁻¹). Ce point fera l'objet d'études théoriques ultérieures.

En présence d'amorceur, nous avons également déterminé, à vitesse maximale, les ordres partiels relatifs à l'oxygène, au β -carotène et à l'AIBN.

L'ensemble de ces données expérimentales est compatible avec un mécanisme radicalaire en chaînes dont l'amorçage **primaire** est déterminé par la présence ou l'absence d'AIBN. En l'absence d'AIBN, le processus d'amorçage primaire s'écrit :



et en présence d'AIBN, il devient :



Les peroxydes formés dans les propagations de chaînes sont probablement les agents de branchement dégénéré des chaînes, responsables de l'allure autoaccélérée de la réaction.

Les propagations de chaînes en présence d'AIBN ne peuvent pas différer beaucoup de celles en l'absence d'amorceur puisque, dans les deux cas, le rapport de l'oxygène au β -carotène consommé est pratiquement le même et voisin de 3. En désignant le β -carotène par XH, nous proposons les processus suivants comme meilleure hypothèse permettant de rendre compte des faits expérimentaux :



où $X.$, $O_2X.$, $O_4X.$ représentent des radicaux hydrocarbonés éventuellement endoperoxydiques, de type allylique, peu réactifs, et $XO_2.$, $O_2XO_2.$, $O_4XO_2.$ des radicaux peroxydes réactifs.

Les terminaisons de chaînes impliqueraient la combinaison (ou disproportionnation) deux à deux de ces deux types de radicaux $X.$, ... et $XO_2.$, ...

On montre que ce schéma est compatible avec l'ensemble des données cinétiques et en particulier avec les ordres partiels déterminés à vitesse maximale, si l'on admet que ces derniers reflètent les ordres partiels à l'instant initial (cf aussi § III suivant). On montre qu'il est également compatible avec les données analytiques de la littérature et qu'il peut rendre compte en particulier des mono- et diépoxydes qui ont été mis en évidence. Mais ces derniers ne peuvent pas être les seuls produits de la réaction car ils correspondraient à un rapport oxygène/ β -carotène consommés égal à 0,5 ou 1 au lieu de 3 environ comme nous le trouvons à chaque instant de la réaction et dans tous les cas, avec ou sans amorceur.

En résumé, il ne fait aucun doute que l'oxydation du β -carotène est une réaction de type radicalaire en chaînes longues puisque celles-ci peuvent être totalement supprimées par addition d' α -tocophérol. A la température des expériences, les vitesses initiales de consommation de l'oxygène et du β -carotène ne sont généralement pas mesurables, lorsqu'on opère sur des substrats purifiés. Il en résulte une période d'induction plus ou moins longue durant laquelle la réaction est auto-accélérée, probablement en raison de l'instabilité thermique des peroxydes formés (endoperoxydes ou hydroperoxydes). Une analyse détaillée des produits de réaction constitue une entreprise considérable qui dépasse le cadre du présent travail.

II - Dans un second chapitre, nous avons repris une étude expérimentale détaillée de la cinétique d'oxydation du linoléate d'éthyle induite par l'AIBN, en présence d'oxygène moléculaire, à 50°C et dans le chlorobenzène. Nos résultats expérimentaux sont compatibles avec un mécanisme radicalaire en chaîne dont les processus élémentaires ont été précisés. On a évalué par modélisation les constantes de vitesse des processus de propagation :



$$k_2 = 2,3 \cdot 10^6 \text{ M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$$

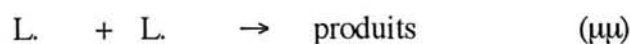
$$k_{-2} = 4 \cdot 10^{12} \exp(-15900/RT) \text{ s}^{-1}$$



$$k_3 = 1,5 \cdot 10^7 \exp(-7500/RT) \text{ M}^{-1}\cdot\text{s}^{-1}$$

$$(\text{RT en cal}\cdot\text{mol}^{-1})$$

en admettant pour les processus de terminaison :



les constantes de vitesse suivantes données par la littérature et rediscutées :

$$k_{\mu\mu} = 10^9 \text{ M}^{-1}\cdot\text{s}^{-1}$$

$$k_{\beta\beta} = 4,4 \cdot 10^6 \text{ M}^{-1}\cdot\text{s}^{-1}$$

$$k_{\beta\mu} = 2 (k_{\beta\beta} \cdot k_{\mu\mu})^{1/2}$$

Il est satisfaisant de trouver les mêmes ordres de grandeur pour k_2 , A_3 et $k_{\beta\beta}$, grandeurs cinétiques liées à des processus bimoléculaires en phase liquide. On a également évalué la constante de vitesse du processus d'amorçage :



dans nos conditions expérimentales de température et de solvant :

$$k_d = 10^{13,6} \exp(-28500/RT) \text{ s}^{-1}$$

avec le coefficient d'effet cage : $e = 0,56$.

III - On montre que le β -carotène exerce sur l'oxydation induite du linoléate d'éthyle une influence inhibitrice qui est d'abord d'autant plus marquée que sa teneur dans le milieu est plus forte puis qui tend à diminuer un peu lorsque cette teneur continue de croître.

Cet effet inhibiteur est mis en évidence sur la consommation globale d'oxygène d'autant plus nettement que l'avancement réactionnel est plus faible ou que la concentration d'oxygène est elle-même plus réduite ou enfin que la concentration de β -carotène est plus petite. Aux fortes teneurs en oxygène et en β -carotène, la fraction d'oxygène consommée par le β -carotène devient importante, ce qui masque un peu son effet inhibiteur. Mais cet effet est encore très marqué comme le prouvent aussi les dosages chromatographiques de β -carotène.

On confirme donc le caractère anti-oxydant du β -carotène mis en évidence par Ingold et coll. (1984) à faible concentration. Associé à ses propriétés d'antioxygène, ce caractère fait de la molécule de β -carotène une arme remarquablement efficace dans la lutte contre les oxydations même à relativement forte concentration d'oxygène ou de β -carotène. Cette molécule

disparaissant très rapidement du milieu par cooxydation radicalaire, son efficacité est toutefois de brève durée.

En se fondant sur les schémas proposés pour les oxydations du β -carotène seul (1er chapitre) et du linoléate seul (2ème chapitre), nous avons simulé la réaction au cours du temps, sans faire l'hypothèse de l'AEQS sur les radicaux libres. Cette simulation rend bien compte de tous les résultats expérimentaux (notamment ceux du chapitre I) et confirme la cohérence de l'ensemble des interprétations proposées dans le présent travail.

IV - Nous avons enfin examiné l'influence de l' α -tocophérol (TH) sur les propriétés antioxydantes du β -carotène lors de l'oxydation induite du linoléate d'éthyle dans les conditions expérimentales des précédents essais.

Nous montrons que TH inhibe totalement l'oxydation induite du linoléate, du moins tant qu'il est présent dans le milieu.

En présence de β -carotène, TH inhibe à la fois l'oxydation du linoléate et celle du β -carotène. Lorsque TH a disparu du milieu, le β -carotène prend le relais et inhibe à son tour l'oxydation du linoléate. Lorsque le β -carotène a enfin disparu, commence l'oxydation du linoléate.

L'effet inhibiteur du mélange β -carotène/ α -tocophérol vis-à-vis de l'oxydation induite du linoléate apparaît comme résultant de l'addition des effets inhibiteurs de chaque composant pris séparément. Les propriétés d'un tel mélange associées au rôle antioxygène du β -carotène semblent donc particulièrement intéressantes pour les systèmes vivants et justifient les nombreux travaux entrepris par les biologistes dans ce domaine pour lutter contre la peroxydation.

ANNEXES

ANNEXE I

PARTIE EXPERIMENTALE

I - DESCRIPTION DU MONTAGE

La réaction d'oxydation a été suivie par mesure, au cours du temps, de la consommation d'oxygène à température constante.

Afin d'augmenter la sensibilité de nos mesures nous avons réalisé un réacteur pour lequel le volume de la phase gazeuse a été réduit au minimum, environ 100 cm^3 pour la phase gazeuse (pompe de circulation de gaz et canalisation) et 4 cm^3 pour la phase liquide.

Nous avons opéré dans des conditions telles que :

- l'agitation de la phase liquide soit suffisante pour que la vitesse de dissolution de l'oxygène devienne indépendante de la vitesse d'agitation.
- la tension de vapeur de la phase liquide soit très faible, en tout cas négligeable devant la pression d'oxygène. On ne pourra pas, par exemple à 50°C , observer des oxydations à des pressions d'oxygène inférieures à 35 mm Hg dans le cas du chlorobenzène.

I.1 - Description du réacteur

La réaction se déroule au sein d'un réacteur en pyrex à double enveloppe, de volume environ 16 cm^3 , surmonté d'un réfrigérant à une température de 5°C servant à condenser le solvant. Un tube capillaire en pyrex de faible diamètre plonge dans le réacteur assurant le barbotage d'oxygène dans la phase liquide. Ce barbotage assure à la fois l'homogénéisation, l'agitation de la phase liquide et une grande surface de contact entre l'oxygène et la solution.

La température du réacteur est réglée par une circulation rapide d'eau dans la double enveloppe. Cette eau passe aussi dans un bain marie en circuit fermé, la circulation étant assurée par une pompe centrifuge.

I.2 - Pompe à circulation d'oxygène

Il s'agit d'une pompe à piston à double effet entièrement étanche, construite en Pyrex, dont on peut régler le débit grâce à un rhéostat. Elle permet d'assurer une agitation suffisante de la phase liquide.

I.3 - Appareil de mesure de la consommation d'oxygène

Au cours du temps et à température constante, la variation de pression dans le système était obtenue grâce à un capteur de pression électronique, de grande sensibilité, relié à un enregistreur. Les consommations d'oxygène suivies expérimentalement en unités de pression pour un volume gazeux donné sont converties en nombre de moles puis rapportées à un volume de phase liquide de 1 litre (cf § VI).

I.4 - Appareil d'établissement du vide

L'ensemble du montage décrit ci-dessus est complété par une station de vide constituée par une pompe à palettes montée en parallèle avec une pompe à diffusion de mercure permettant d'évacuer tout l'ensemble à des pressions inférieures à 10^{-4} mm Hg. La qualité du vide est contrôlée par une jauge de MacLeod.

L'introduction de gaz (oxygène, hélium, etc) dans le réacteur se fait directement à partir de la partie stockage de la station de vide.

La figure A.I.1 décrit les quatre parties : réacteur, pompe à circulation, station de vide et la partie stockage du dispositif expérimental.

II - METHODES D'ANALYSE DES REACTIFS ET PRODUITS DE REACTION

II.1 - Analyse chromatographique

Le β -carotène, l' α -tocophérol ainsi que certains produits d'oxydation du β -carotène ont été dosés par chromatographie liquide haute pression (CLHP).

L'appareil utilisé est un Waters (pompes modèle 510 et détecteur U.V.-visible à longueur d'onde variable modèle 481) avec des colonnes RP-18 Licrosorb (silice greffée C_{18} , 5 μ m).

La phase mobile est le méthanol pur (Craft, 1992) et les longueurs d'ondes de détection sont : 450 nm pour le β -carotène et 290 nm pour l' α -tocophérol. Toutefois, pour des analyses de β -carotène à intervalle de temps très court (5 à 10 mn entre analyses successives) on

a utilisé l'acétonitrile qui nous permet d'augmenter le débit de la phase mobile (jusqu'à 4 ml/mn) et d'avoir des temps de rétention très faibles.

II.2 - Analyse U.V.-visible

Cette méthode d'analyse a été utilisée d'une part pour la mesure de la constante de vitesse de décomposition d'AIBN dans l'heptanol et d'autre part pour la vérification de la pureté des différents échantillons de β -carotène. Elle nous a permis surtout de suivre l'évolution du pic cis (à 340 nm) du β -carotène au cours des temps dans différentes conditions de la réaction d'oxydation.

L'appareil utilisé est un spectrophotomètre U.V.-visible PERKIN ELMER (Lambda 2).

II.3 - spectroscopie infra-rouge

Cette méthode était utilisée uniquement pour comparer les degrés de pureté des différents stocks de β -carotène.

L'appareil est un spectrophotomètre infra-rouge à transformée de Fourier (FTIR) PERKIN ELMER 1750 à simple faisceau. Ce spectrophotomètre est relié à une station d'acquisition de données PERKIN ELMER 7300 permettant une analyse quantitative.

L'avantage de cette station de données c'est d'enregistrer et de stocker les spectres pour un traitement ultérieur. Il est donc possible de comparer les spectres et de réaliser des opérations telles que soustraction, addition, multiplication, division, lissage de spectre, transformation immédiate des spectres de transmission en absorption et inversement.

Les caractéristiques du spectromètre sont :

- résolution 2 cm^{-1}
- domaine spectral de $5000\text{ à }400\text{ cm}^{-1}$
- largeur du faisceau 8 mm
- rapport signal/bruit 1000/1 à 2000 cm^{-1} pour une mesure de 4 secondes. Ce rapport est assuré sur toute la gamme spectrale.

Pour l'acquisition du spectre infra-rouge, la méthode conduisant aux meilleurs résultats a été le pastillage avec le bromure de potassium (KBr).

III - PURETE DES REACTIFS

La plupart des réactifs étaient de qualité puriss.. Le tableau A.I.1 résume les degrés de pureté de l'ensemble des réactifs utilisés.

L'oxygène et l'hélium de qualité N45 (99,990 %) et l'azote de qualité U (99,995 %) étaient fournis par l'Air Liquide.

TABLEAU A.I.1

Puretés et qualités des réactifs.

Réactifs ou solvants	Pureté affichée en %	Marque
AIBN	> 98	Fluka
Linoléate d'éthyle	99	Sigma, Fluka
α -tocophérol	> 98	Fluka
β -carotène : S ₀	99*	Janssen
β -carotène : S ₁	> 97	Fluka
β -carotène : S ₂	> 97	Fluka
β -carotène : S ₃	> 96	Janssen
Chlorobenzène	> 99,5	Fluka (sur tamis moléculaire)
Heptanol	> 98	Fluka
Méthanol	> 99,8	Prolabo (pour HPLC)
Acétonitrile	> 99,7	SDS (pour HPLC)

* : Une analyse spectroscopique a montré que ce réactif avait en réalité une pureté de 5 %, seulement.

IV - METHODE DE PURIFICATION DU β -CAROTENE

Pour purifier le β -carotène, afin d'éviter sa dégradation par l'effet de la température, on a choisi la méthode de recristallisation par déplacement de solvant à température ambiante. Celle-ci consiste à dissoudre le β -carotène dans un volume de chlorobenzène puis le précipiter en ajoutant deux volume de méthanol.

Le méthanol est un solvant miscible au chlorobenzène et ne dissout pas le β -carotène. On répète l'opération plusieurs fois. On lave au méthanol les cristaux, qui prennent un aspect doré, avant de les sécher au dessiccateur sous vide.

V - SOLUBILITE DE L'OXYGENE DANS LE CHLOROBENZENE : LOI DE HENRY

Dans la détermination de constantes de vitesse de divers processus, nous avons été amenés à convertir les pressions, données expérimentalement en Torr, en nombre de moles par litre de solution.

La concentration d'oxygène dans le solvant s'écrit :

$$[O_2] = \frac{n_{O_2}}{V_s} = \frac{n_{O_2}}{n_s} \frac{\rho_s}{M_s} \approx x_{O_2} \frac{\rho_s}{M_s}$$

n_i : nombre de moles de l'espèce i

$\rho_s = 1,1064 \text{ g/cm}^3$, masse volumique du chlorobenzène

$M_s = 112,56 \text{ g mol}^{-1}$, masse molaire du chlorobenzène

La fraction molaire x_{O_2} de l'oxygène dissout est donnée en fonction de la pression par la loi de Henry :

$$P_{O_2} = k_H x_{O_2}$$

avec k_H : constante de Henry
 P_{O_2} : pression d'oxygène

En supposant que la variation de la masse volumique est négligeable dans nos conditions de pression et de température, on écrit :

$$[O_2] = \frac{\rho_s}{M_s} \frac{P_{O_2}}{k_H}$$

Les valeurs de k_H calculées d'après les données de R. BATTINO et coll.,(1983) en fonction de la température et pour une pression de 760 Torr sont groupées dans le tableau suivant.

T (K)	323,15	333,15	343,15	353,15
$10^{-5}x_{k_H}$ (Torr)	9,46	9,37	9,29	9,19

VI - CONVERSION DE LA PRESSION EN NOMBRE DE MOLES D'OXYGENE

Pour déterminer la quantité d'oxygène par unité de pression (n_{O_2}/P_{O_2}) dans la partie réacteur on utilise deux méthodes.

a - Calcul direct par la loi des gaz parfaits

Si on considère, en première approximation, que le système est constitué de 3 volumes à 3 températures différentes, le réacteur lui-même (V_1, T_1), le réfrigérant (V_2, T_2) et le reste à la température ambiante (V_3, T_3), on a alors:

$$n_{O_2} = \frac{P_{O_2}}{R} \left(\frac{V_1}{T_1} + \frac{V_2}{T_2} + \frac{V_3}{T_3} \right)$$

On obtient alors par exemple pour une réaction à 50°C, la température ambiante étant de 20°C :

$$\frac{n_{O_2}}{P_{O_2}} = 5,21 \cdot 10^{-6} \text{ mole/Torr}$$

b - Détermination expérimentale de n_{O_2}/P_{O_2}

Cette méthode consiste à effectuer plusieurs détentes d'oxygène du stock vers la partie réacteur. On procède de la façon suivante.

Etat initial :

$$\text{Stock A : } P_o, T_o, V_A \text{ avec } n_{A_o} = \frac{P_o V_A}{RT_o}$$

Après la détente à température constante :

$$\text{Stock A : } P_f, T_o, V_A \text{ avec } n_{A_f} = \frac{P_f V_A}{RT_o}$$

$$\text{Partie réacteur : } P_f, V_R \text{ avec } n_{R_f} = n_{A_o} - n_{A_f}$$

On peut donc calculer le nombre de moles d'oxygène dans la partie réacteur :

$$n_{R_f} = \frac{P_o - P_f}{RT_o} V_A$$

P_o et P_f : pressions initiale et finale mesurées expérimentalement.

V_A et V_R : volume du stock et de la partie réacteur.

T_o : température ambiante.

En traçant n_{R_f} en fonction de P_f (figure A.I.2) on obtient des droites dont la pente donne :

$$\frac{n_{O_2}}{P_{O_2}} = 4,89 \cdot 10^{-6} \text{ mole/Torr pour l'heptanol}$$

et

$$\frac{n_{O_2}}{P_{O_2}} = 4,84 \cdot 10^{-6} \text{ mole/Torr pour le chlorobenzène}$$

On constate que la droite concernant l'heptanol passe par l'origine et non pas celle concernant le chlorobenzène. Le réfrigérant est à 5°. A cette température la tension de vapeur de

l'heptanol est négligeable ($< 0,1$ Torr) alors que celle du chlorobenzène est de 1 Torr à -13°C et 10 Torr à 22°C (Hand book). Ceci est en bon accord avec le décalage de la droite concernant le chlorobenzène par rapport à l'origine.

Finalement, nos deux méthodes convergent mais nous avons opté pour la seconde qui, compte tenu des approximations faites dans la première, est la meilleure.

VII - ANALYSE SPECTROSCOPIQUE DU β -CAROTENE

Le β -carotène est un produit organique très sensible aux attaques de l'air et de la lumière. Son stockage se fait sous atmosphère d'azote, dans des emballages opaques, à des températures en-dessous de 0°C . Nous avons utilisé des méthodes d'analyse telles que la chromatographie liquide haute pression (CLHP), la spectroscopie infra-rouge et la spectroscopie U.V.-visible, pour vérifier le degré de pureté des différents stocks de β -carotène.

Les impuretés du β -carotène ont été détectées par CLHP. A part le pic caractéristique de βC à 15 mn, le chromatogramme présente deux autres pics, l'un élué à 3 mn (PR1) et l'autre à 6 mn (PR2). En purifiant βC par recristallisation (cf paragraphe IV) on arrive à éliminer progressivement ces deux produits PR1 et PR2. Dans le chromatogramme de l'échantillon S_3 , on ne voit que PR2 en très faible quantité. Les recristallisations répétées de S_3 n'améliorent pas pour autant la pureté de ce dernier, puisqu'on n'arrive pas à éliminer complètement PR2. D'autre part, pendant l'oxydation de βC , la quantité de PR1 et PR2 augmente, atteint un maximum puis décroît au cours du temps. Ce sont donc des produits instables d'oxydation de βC . L'analyse U.V.-visible de ces deux produits donne des spectres similaires à celui de βC (Zechmeister et coll., 1943). Le spectre de PR1 présente un maximum à 400 nm (figure A.I.3) et celui de PR2 à 425 nm (figure A.I.3). Ces produits sont donc moins conjugués que βC dont le maximum est à 450 nm (cf figure A.I.4).

L'échantillon S_2 a un spectre U.V.-visible caractéristique du β -carotène (figure A.I.4). Par contre, l'échantillon S_0 affichant une pureté de 99 % présente un spectre nettement différent (figure A.I.4). Nous avons vérifié par CLHP que sa pureté est de l'ordre de 5 %. Nous avons tenté de vérifier le degré de pureté des différents échantillons de βC par analyse spectroscopique infrarouge. Les spectres correspondants étaient similaires pour tous les échantillons sauf S_0 et ne présentent que de petites différences au niveau des faibles longueurs d'ondes ($600\text{-}1000\text{ cm}^{-1}$) (Isler et coll., 1956). Pour l'échantillon S_0 , on obtient un spectre nettement différent (figure A.I.5) de celui qu'on obtient par exemple avec l'échantillon S_2 (figure A.I.6). Nous avons obtenu un spectre identique à celui de S_0 , en faisant vieillir S_2 à pression atmosphérique d'air et à la température de la salle pendant trois mois. Donc les impuretés du stock S_0 sont sûrement dues à une négligence au niveau de son stockage de la part du fabricant.

Enfin, même en présence d' α -tocophérol dans le cas de l'oxydation auto-amorcée du β -carotène, l'isomérisation trans-cis a toujours lieu. Dans ce cas l'isomère cis caractérisé par le pic à 340 nm (Zinsou,1971; Edward et Coll., 1986; Pfander,1992) croît au cours du temps et atteint un maximum après 40 heures de réaction (figure A.I.7).

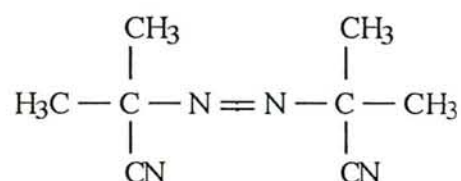
ANNEXE II

DETERMINATION DE LA VITESSE D'AMORÇAGE PAR L'AIBN

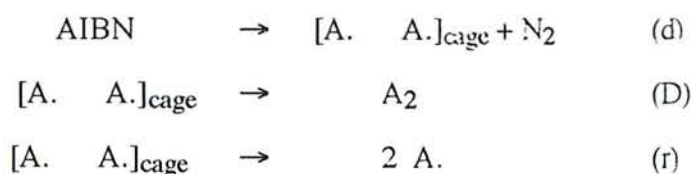
I - DETERMINATION DE LA CONSTANTE DE VITESSE DE DECOMPOSITION DE L'AIBN

L'azobisisobutyronitrile (AIBN) est un initiateur classique des réactions radicalaires comme l'oxydation et la polymérisation.

Sa formule est la suivante :



La décomposition thermique de l'AIBN en solution est un processus unimoléculaire (d) ; les radicaux libres formés peuvent se recombiner dans la cage de solvant (processus r), ou s'en échapper (processus D):



Ces radicaux qui s'échappent sont oxydés par l'oxygène :



A. est le radical libre diméthylcyanométhyl (isobutyronitrile)

A₂ est le tétraméthylsuccinonitrile

Les radicaux libres A. (ou AO₂. en présence d'oxygène) réagissent ensuite sur le substrat et amorcent les chaînes.

Si l'on suppose que tous les radicaux libres qui diffusent hors de la cage amorcent les chaînes, la vitesse d'amorçage s'écrit :

$$W = 2 e k_d (\text{AIBN})$$

avec : $e = \frac{k_D}{k_D + k_r}$, coefficient d'effet cage

k_D , constante de vitesse de diffusion des radicaux libre A. hors de la cage.

k_r , constante de vitesse de recombinaison des radicaux libres A. entre eux.

I-1 - Méthodes de mesure de k_d

a) Méthode manométrique

Le dispositif expérimental est celui utilisé dans les expériences d'oxydation (voir annexe I). Nous avons suivi l'évolution du dégagement d'azote dans la décomposition thermique de l'AIBN en mesurant la pression au cours du temps jusqu'à réaction complète.

La vitesse de décomposition de l'AIBN, par le processus (d), s'écrit :

$$V = - \frac{d(\text{AIBN})}{dt} = k_d (\text{AIBN})$$

Comme $(\text{AIBN}) = (\text{AIBN})_0 - \frac{n_{\text{N}_2}}{V_l}$

avec n_{N_2} : nombre de moles d'azote
 V_l : volume de la phase liquide

V s'écrit : $\frac{1}{V_l} \frac{dn_{\text{N}_2}}{dt} = k_d \left((\text{AIBN})_0 - \frac{n_{\text{N}_2}}{V_l} \right)$

Comme l'accroissement de pression ΔP est proportionnel à n_{N_2} et qu'à temps infini $n_{\text{N}_2}^\infty = n_{\text{AIBN}}^0$

$$\frac{d\Delta P}{dt} = k_d (\Delta P_\infty - \Delta P)$$

ou

$$\text{Ln} \left(1 - \frac{\Delta P}{\Delta P_\infty} \right) = - k_d t$$

En suivant la pression jusqu'à ce qu'elle soit constante, on peut donc déterminer k_d .

Pratiquement, cette méthode s'est heurtée à certaines difficultés. D'une part l'équilibre solution-gaz de l'azote semble très lent à s'établir; Van Hook et Tobolsky (1958) ont suivi la réaction à 30°C dans le toluène pendant 800 heures; il a fallu attendre 300 h pour que la

loi de vitesse d'ordre 1 ci-dessus devienne applicable! D'autre part, dans nos expériences, la phase gazeuse n'était pas assez bien thermostatée pour qu'on puisse suivre avec précision une réaction très lente.

Nous avons donc utilisé aussi la méthode suivante.

b) Méthode spectrophotométrique

L'AIBN présente un maximum d'absorption de la lumière à 345 nm. Cette méthode consiste donc à mesurer l'absorbance, qui est proportionnelle à la concentration d'AIBN, au cours du temps.

La cinétique de décomposition de l'AIBN est donnée par :

$$(\text{AIBN}) = (\text{AIBN})_0 e^{-k_d t}$$

et, en appliquant la loi de Beer-Lambert :

$$A = A_0 e^{-k_d t} \quad (A : \text{absorbance})$$

k_d sera donc donné par la pente de la droite obtenue en portant $\text{Log } A$ en fonction du temps.

Cette méthode a l'avantage de ne pas utiliser de mesure à temps infini. Elle a été utilisée dans l'heptanol-1 ; par contre, dans le chlorobenzène, un des produits formés absorbe à 345 nm, rendant la méthode impraticable.

I-2 - Résultats et discussion

Nous avons mesuré la constante de vitesse k_d dans deux solvants de polarités différentes, le chlorobenzène et l'heptanol-1.

Les deux méthodes de mesure décrites ci-dessus ont été utilisées. Les valeurs de k_d mesurées à des températures comprises entre 50 et 90°C sont rassemblées dans le tableau A.II.1

La figure AII-1 donne une représentation d'Arrhénius de nos résultats expérimentaux; la droite est celle proposée par Van Hook, le solvant étant le benzène.

Par régression linéaire, nous avons déterminé dans le chlorobenzène :

$$k_d = 10^{(13,6 \pm 0,4)} \exp - \left[\frac{(28,5 \pm 0,7) \text{ kcal mol}^{-1}}{RT} \right] \text{ s}^{-1}$$

et dans l'heptanol-1 :

$$k_d = 10^{(16,2 \pm 0,3)} \exp - \left[\frac{(32,3 \pm 0,9) \text{ kcal mol}^{-1}}{RT} \right] \text{ s}^{-1}$$

Les incertitudes données ici représentent l'écart type des paramètres.

Tableau A-II.1

Mesures de la constante k_d de décomposition de l'AIBN

T (°C)	k_d (s ⁻¹) dans le chlorobenzène	k_d (s ⁻¹) dans l'heptanol-1	k_d (s ⁻¹) , solvant (mesures d'autres auteurs)
90	2,63.10 ⁻⁴ 3,23.10 ⁻⁴	6,04.10 ⁻⁴ * 5,38.10 ⁻⁴	4,86.10 ⁻⁴ * benzène (Van Hook, 1958)
80	8,67.10 ⁻⁵	1,48.10 ⁻⁴ * 1,88.10 ⁻⁴	1,53.10 ⁻⁴ benzène (Van Hook, 1958)
70	3,62.10 ⁻⁵ 2,5 .10 ⁻⁵	4,17.10 ⁻⁵	4,1.10 ⁻⁵ chlorobenzène (Niki, 1969)
62	-	1,37.10 ⁻⁵ *	1,54.10 ⁻⁵ chlorobenzène (Hammond, 1955)
60	9,29.10 ⁻⁶ 7,5 .10 ⁻⁶	-	9,15.10 ⁻⁶ * benzène (Van Hook, 1958)
50	2,19.10 ⁻⁶ 2,10.10 ⁻⁶	-	2,16.10 ⁻⁶ * benzène (Van Hook, 1958)

* valeurs mesurées par la méthode spectrophotométrique.

Les autres valeurs sont mesurées par la méthode manométrique.

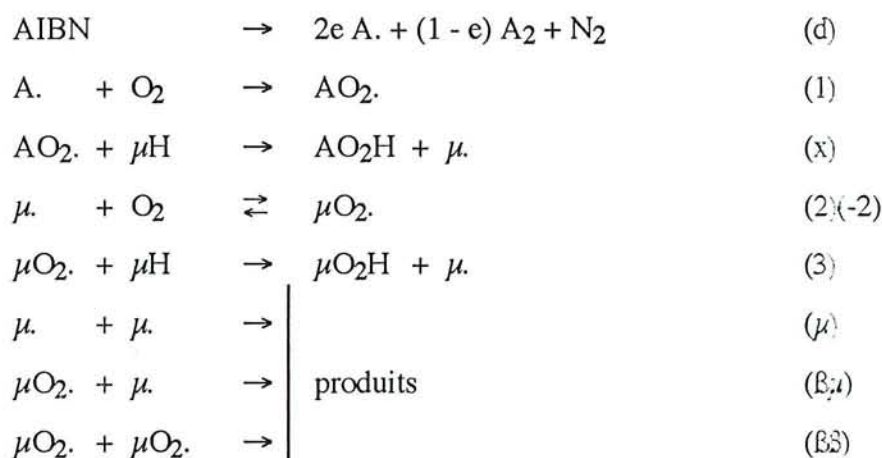
La valeur de $E_a = 30,7$ kcal mol⁻¹ de Bawn et Mellish (1951) et V. Hook et Tobolsky (1958) se trouve entre nos deux valeurs de E_a dans l'heptanol et dans le chlorobenzène. Dans le cas de l'heptanol les deux méthodes d'analyse utilisées donnent des valeurs cohérentes de k_d ; l'énergie d'activation est un peu plus élevée que dans les autres solvants, ceci peut être lié à l'importance de la polarité de l'heptanol. Notons que, d'après Bawn et Mellish, la vitesse de décomposition thermique de l'AIBN dépend peu de la nature des solvants ; les propriétés physiques de ces derniers comme la viscosité, la constante diélectrique ou bien le volume moléculaire conduisent à des petites variations de la constante de vitesse.

Enfin, compte tenu de la précision sur les mesures de k_d , nos résultats sont en bon accord avec ceux de la littérature.

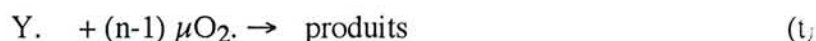
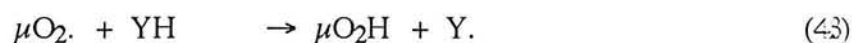
II - DETERMINATION DU COEFFICIENT D'EFFET CAGE

Dans la décomposition thermique de l'AIBN, l'efficacité de production des radicaux libres A. dépend essentiellement de la viscosité du milieu. Cette efficacité qu'on exprime par le coefficient d'effet cage augmente quand la viscosité du milieu diminue ; elle varie donc avec la nature du solvant et la température. La méthode généralement utilisée dans la littérature pour déterminer le coefficient d'effet cage e est celle proposée par Boozer et coll. (1955). Elle consiste à mesurer la période d'inhibition lors de l'oxydation en chaîne d'un substrat μH en présence d'un inhibiteur YH.

Le mécanisme d'oxydation du substrat μH est :



En présence d'un antioxydant YH, Boozer et coll.(1955) admet que les terminaisons de chaînes sont remplacées par les processus :



n étant le "facteur stoechiométrique" représentant le nombre de radicaux libres peroxy captés par molécule YH selon (4 β) et (t). On montre alors que la vitesse de consommation de YH est W_0/n avec :

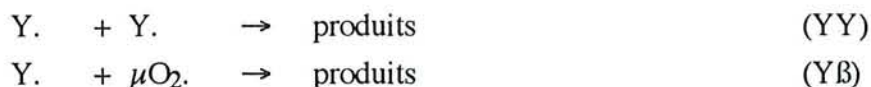
$$W_0 = 2 e k_d (\text{AIBN})$$

Si la période d'inhibition τ est le temps au bout duquel disparaît l'inhibiteur, on en déduit :

$$e = \frac{n (\text{YH})_0}{2 k_d (\text{AIBN})_0 \tau}$$

Malheureusement l'évaluation de n est difficile et le processus (t) n'a pas de signification physique claire: il a été montré (Rousseau-Richard et coll., 1988) qu'on obtient $n=2$

$n=2$ si YH est un inhibiteur pour lequel la recombinaison (YY) est très difficile, la terminaison (Y β) étant prépondérante,



à condition que YH soit un inhibiteur très efficace, c'est-à-dire que la réaction (4 β) soit très facile. De plus, il faut que la pression d'oxygène soit suffisamment élevée pour que les terminaisons faisant intervenir les radicaux libres μ . soient négligeables.

On obtient alors :

$$e = \frac{(\text{YH})_0}{(\text{AIBN})_0 [1 - \exp(-k_d\tau)]}$$

et, si la consommation d'amorceur est faible :

$$e = \frac{(\text{YH})_0}{(\text{AIBN})_0 k_d\tau}$$

La période d'inhibition a été mesurée dans l'oxydation du linoléate d'éthyle en présence de ditertiobutyl-3,5 hydroxy-4 toluène ou BHT (annexe IV). On obtient $e = 0,56$ à 50°C . Niki et coll. (1969) trouvent $e = 0,64$ dans le chlorobenzène à 70°C . Hammond et Boozer (1955) trouvent $e = 0,64$ à $62,5^\circ\text{C}$ dans le chlorobenzène. Notre résultat est en bon accord avec ces valeurs puisque e augmente avec la température.

La vitesse d'amorçage par l'AIBN dans le chlorobenzène à 50°C s'écrit donc :

$$W_0 = 2 \times 1,23 \cdot 10^{-6} (\text{AIBN})_0 \text{ M.s}^{-1}$$

ANNEXE III

ETUDE CINETIQUE DE L' OXYDATION DE L'ECHANTILLON S₀ DE β -CAROTENE

L'un des échantillons de β -carotène sur lesquels nous avons travaillé contenait plus d'impuretés que de produit pur. Rappelons que ce stock, denoté échantillon S₀, est un produit Janssen étiqueté à 99 % de trans - β -carotène (cf. annexe I) .

A partir d'analyses spectrophotométriques U.V-visible et infra-rouge, on a déduit que l'échantillon S₀ contient environ 5 % de β -carotène et 94 % d'impuretés. Il nous a paru utile de décrire la cinétique d'oxydation de cet échantillon pollué pour mieux comprendre l'influence des impuretés du substrat sur une telle étude.

I- RESULTATS EXPERIMENTAUX

L'étude de la réaction est effectuée à 50°C, généralement dans le chlorobenzène, en suivant la consommation d'oxygène et en dosant β C par chromatographie liquide au cours du temps .

I.1 - Oxydation auto-amorcée du β -carotène S₀

Nous avons examiné l'influence de la concentration initiale de β -carotène (β C)₀ et de la pression initiale d'oxygène P_{O₂}⁰ sur la vitesse de disparition de β -carotène. Dans ce qui suit, toutes les concentrations de β -carotène sont données en le supposant pur (il faut en fait les multiplier par 0,05). Les résultats expérimentaux sont donnés par les figures A.III.1 et A.III.2. En prenant les pentes initiales on obtient des ordres 1 et 0,5 par rapport à (β C)₀ et P_{O₂}⁰ respectivement. Le rapport des vitesses de consommation d'oxygène à celle du carotène, donné par la figure A.III.3, est égal à 0,07 après 20 minutes de réaction. Si l'on tient compte de la quantité réelle de β C qui se trouve réellement dans la solution, ce rapport devient 1,2 mais reste toujours inférieur à celui obtenu avec le β -carotène pur qui est d'environ 3 (cf. chapitre I) .

Nous avons aussi examiné l'influence de différents solvants organiques sur l'oxydation du carotène S₀. Dans le benzène, le nitrobenzène et le tétrachlorométhane on obtient

les mêmes résultats que dans le chlorobenzène. Mais on observe un phénomène étrange dans l'heptanol: la figure A.III.4 montre que dans ce solvant, à 50°C et $P_{O_2}^o = 450$ Torr, le carotène S_0 semble se former pendant les 20 premières minutes de la réaction avant qu'il ne commence à disparaître. On remarque aussi que, pendant les 20 premières minutes, moins on a de βC plus on en produit ! Ces anomalies s'expliquent peut-être par l'interférence de produits non séparés du β -carotène dans l'analyse chromatographique.

Enfin, nous avons observé l'influence de l' α -tocophérol (TH) sur cette réaction dans le chlorobenzène. Sur la figure A.III.5 on voit bien que pour des faibles quantités de TH, la consommation de βC peut être complètement inhibée.

I.2 - Oxydation induite par l'AIBN du β -carotène S_0

Une étude similaire de l'oxydation du carotène S_0 amorcée par l'AIBN a été effectuée dans les mêmes conditions que celles du paragraphe précédent. Les résultats expérimentaux sont résumés dans le tableau A.III.1. On en déduit des ordres 0,75 ; 0,46 et 0 relatifs au carotène, à l'AIBN et à l'oxygène respectivement. Le rapport des vitesses de consommation d'oxygène à celle du carotène, donné par la figure A.III.6, est de 1,9 à $t = 10$ minutes si l'on tient compte de la quantité réelle de βC en solution.

En conclusion, le comportement de l'échantillon pollué S_0 est conforme à celui des produits purifiés si l'on tient compte de la teneur réelle en β -carotène de cet échantillon S_0 . Les anomalies constatées sur S_0 pourraient expliquer les résultats divergents et contradictoires de la littérature.

TABLEAU A.III.1

**Oxydation induite par l'AIBN du β -carotène (S_0)
à $T = 50^\circ C$ dans le chlorobenzène.**

$10^2.(\beta C)_0$ M	$10^2.(AIBN)$ M	$P_{O_2}^o$ Torr	$10^6.V_{\beta C}^o$ M.s ⁻¹
0,1	9	450	2,78
1	9	450	15,20
1	0,9	450	5,3
1	9	300	13,90
1	9	750	15,2

ANNEXE IV

INHIBITION DE L'OXYDATION INDUITE PAR L'AIBN DU LINOLEATE D'ETHYLE PAR UN COMPOSE PHENOLIQUE, LE BHT

Nous présentons dans cette annexe les faits expérimentaux relatifs à l'inhibition de l'oxydation induite du linoléate d'éthyle (LH) par le di-t-butyl-3,5 hydroxy-4 toluène (BHT).

L'importance de l'effet inhibiteur d'un additif comme le BHT est donnée par la période d'induction τ , qu'on définit par l'intersection de la tangente d'inflexion avec l'axe des temps (Rousseau-Richard 1988,1991).

Nous avons examiné l'influence du BHT sur l'oxydation induite par l'AIBN de LH, à 50°C dans le chlorobenzène, en suivant la consommation d'oxygène au cours du temps. On a fait varier plusieurs paramètres pour voir ainsi leur effet surtout sur la période d'induction; les résultats sont reportés dans le tableau A.IV.1. La vitesse $V_{O_2}^{\tau}$ donnée dans ce tableau est la vitesse obtenue après la période d'induction. τ croît avec la concentration de BHT (cf figure A.IV.1) et diminue quand on augmente la concentration en amorceur (cf figure A.IV.2). On retrouve donc le résultat de Niki et coll. (1969) qui suggèrent que le temps d'inhibition τ est proportionnel à la concentration de l'inhibiteur et inversement proportionnel à celle de AIBN (cf annexe III).

D'autre part, les courbes de consommation d'oxygène de la figure A.IV.4 montrent que τ est indépendante de la pression d'oxygène pour des pressions supérieures ou égales à 450 Torr. Le but essentiel de ce travail était d'évaluer avec précision la valeur de τ à partir de laquelle on calcule le coefficient d'effet cage "e", nécessaire pour la détermination de la vitesse d'amorçage par l'AIBN (cf Annexe II). Les meilleures valeurs de e sont obtenues pour des hautes pressions d'oxygène (cf tableau A.IV.1 et figure A.IV.4).

TABLEAU A.IV.1

Influence de BHT sur l'oxydation induite
par l'AIBN du linoléate d'éthyle. (LH)₀ = 0,4 M.

$10^2.(AIBN)_0, M$	$P_{O_2}^0, Torr$	$10^4.(BHT), M$	τ, mn	$10^6.V_{O_2}^\tau, M.s^{-1}$
9	50	0	0	3,6
9		0,5	6	3,6
9		1	16	3,6
9		5	62	3,5
18		5	35	4,0
4,5		5	165	2,1
9	700	0	0	6,2
9	450	5	75	6,2
9	700	5	75	6,2
9	740	5	75	6,2

ANNEXE V

DETERMINATION DE LA CONSTANTE D'EQUILIBRE K_2 DE LA REACTION : $L + O_2 \rightleftharpoons LO_2$ (2)(-2) RELATIVE AU LINOLEATE D'ETHYLE LH

I - DETERMINATION DANS LA PHASE GAZEUSE

Les paramètres cinétiques (facteur pré-exponentiel A et énergie d'activation E) de la constante d'équilibre K_2 sont reliés aux grandeurs thermodynamiques standards (ΔH_T^0 , ΔS_T^0) par les relations suivantes (Richard et coll., 1971) (Benson, 1976) :

$$E_2 - E_{-2} = \Delta U_T^0 = \Delta H_T^0 + RT$$

$$\ln (A_2/A_{-2}) = \Delta S_T^0/R + 1 + \ln R_1 T$$

avec $R = 1,987 \text{ cal.mol}^{-1} \cdot \text{K}^{-1}$

$$R_1 = 0,082 \text{ l.atm.mol}^{-1} \cdot \text{K}^{-1}$$

Les variations d'enthalpie et d'entropie standard à 298 K sont déterminées à partir des enthalpies de formation ΔH_f^0 et des entropies S_f^0 . Les valeurs utilisées sont regroupées dans le tableau A.V.1. Elles sont soit extraites de tables (Stull et coll., 1969), soit calculées en utilisant la méthode d'additivité de groupe (Benson, 1976).

En prenant de plus $D_{LO_2-H} = 89 \text{ kcal.mol}^{-1}$ (Benson, 1965) et $D_{L-H} = 76 \text{ kcal.mol}^{-1}$ (Korcek et coll., 1972), on calcule :

$$\Delta H_{298}^0 \approx -16,5 \text{ kcal.mol}^{-1}$$

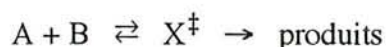
et $\Delta S_{298}^0 \approx -28,3 \text{ cal.mol}^{-1} \cdot \text{K}^{-1}$

soit $K_{2g} \approx 10^{-4,36} \exp(15900/RT) \text{ M}^{-1}$

où K_{2g} désigne la constante d'équilibre dans la phase gazeuse.

II - DETERMINATION DANS LA PHASE LIQUIDE

Côme et coll. (1981) ont montré que pour un processus élémentaire :



s'effectuant d'une part en phase gazeuse parfaite et d'autre part en solution idéale, le rapport des constantes de vitesse en phase liquide k_l et en phase gazeuse k_g s'écrit :

$$k_l/k_g = \exp\left(\frac{\Delta G_g^* - \Delta G_l^*}{RT}\right) \quad (\text{exposant } * : \text{état de référence 1M})$$

$$\approx \left(\frac{R_1 T}{v_s}\right)^{\Delta v^\ddagger} \cdot \frac{p_{A,\text{sat}} \cdot p_{B,\text{sat}}}{p_{X^\ddagger,\text{sat}}}$$

avec v_s le volume molaire du solvant, $\Delta v^\ddagger$ les différences des coefficients stœchiométriques du complexe activé et des réactifs et $p_{A,\text{sat}}$, $p_{B,\text{sat}}$, $p_{X^\ddagger,\text{sat}}$ les pressions de vapeur saturante de A, B et $X^\ddagger$.

A l'aide de la relation de Clapeyron et de la règle de Trouton cette expression peut se mettre sous la forme suivante :

$$k_l/k_g \approx \left(\frac{R_1 T}{v_s} \exp(-11)\right)^{\Delta v^\ddagger} \cdot \exp\left(-11 \frac{T_{\text{eb(A)}} + T_{\text{eb(B)}} - T_{\text{eb}(X^\ddagger)}}{T}\right)$$

En appliquant cette relation à l'équilibre (2)(-2) on obtient :

$$k_{2l}/k_{2g} \approx \left(\frac{R_1 T \exp(-11)}{v_{\varphi\text{Cl}}}\right)^{-1} \cdot \exp\left(-11 \frac{T_{\text{eb(L)}} + T_{\text{eb(O}_2\text{)}} - T_{\text{eb}(X^\ddagger)}}{T}\right)$$

et

$$k_{2l}/k_{2g} \approx \exp\left(-11 \frac{T_{\text{eb(LO}_2\text{)}} - T_{\text{eb}(X^\ddagger)}}{T}\right)$$

Ainsi, il vient :

$$K_{2g}/K_{2l} = \frac{k_{2g}}{k_{2l}} \cdot \frac{k_{-2l}}{k_{-2g}} = \frac{R_1 T \exp(-11)}{v_{\varphi\text{Cl}}} \exp\left(-11 \frac{T_{\text{eb(LO}_2\text{)}} - T_{\text{eb(L)}} - T_{\text{eb(O}_2\text{)}}}{T}\right)$$

En prenant $v_{\varphi\text{Cl}} = 0,102 \text{ l.mol}^{-1}$, $T = 300 \text{ K}$, $T_{\text{eb(LO}_2\text{)}} \approx T_{\text{eb(L)}}$ et $T_{\text{eb(O}_2\text{)}} = 93 \text{ K}$, on calcule finalement :

$$K_{2g}/K_{2l} \approx 0,124$$

et

$$K_{2l} \approx 10^{-3,45} \exp(15900/RT) \text{ M}^{-1}$$

où K_{2l} représente la constante d'équilibre dans la phase liquide.

TABLEAU A.V.1

Valeurs des fonctions thermochimiques utilisées
(LH = linoléate d'éthyle)

	$\Delta H_{f,298}^{\circ}$ (kcal.mol ⁻¹)	S_{298}° (cal.mol ⁻¹ .K ⁻¹)	référence
LO ₂ H	- 158,3	249,3	*
LH	- 128,8	234,9	*
O ₂	0	49	(Stull, 1969)
LO ₂ .	- 121,4	250,0	*
L.	- 104,9	229,3	*

* : calculées par la méthode d'additivité de groupes (Benson, 1976)

BIBLIOGRAPHIE DES ANNEXES

- Battino, R. ; Retich, T.R. ; Touring, T. ; *J. Phys. Chem. Ref. Data* **1983**, 12, 163.
- Bawn, C.E.H. ; MELLISH, S.F. ; *Trans Faraday Soc.* **1951**, 47, 1216.
- Benson, S.W. ; *J. Am. Chem. Soc.* **1965**, 87, 972.
- Benson, S.W. ; *Thermochemical kinetics* ; Wiley Interscience, N.Y. ; **1976**.
- Boozer, C.E. ; Hammond, G.S. ; Hamilton, C.E. ; Sen, J.N. ; *J. Am. Chem. Soc.* **1955**, 77, 3233.
- Côme, G.M., Martin, R. ; *Techniques de l'ingénieur* **1981**, J1125.
- Cook, C.D. ; Norcross, B.E. ; *J. Am. Chem. Soc.* **1959**, 81, 1176.
- Craft, N.E. ; in *Methods in Enzymology* ; Lester Packer Ed., Academic Press, **1992**, vol. 213, p. 185-205.
- Edward, C.G. ; Lee, C.Y. ; *J. Food. Sci.* **1986**, 51, 528.
- Hammond, G.S. ; Sen, J.N. ; Boozer, C.E. ; *J. Am. Chem. Soc.* **1955**, 77, 3244.
- Isler, O. ; Lindlar, H. ; Montavon, M. ; Rüegg, R. ; Zeller, P. ; *Helv. Chem. Acta* **1956**, 39, 249.
- Korsek, S. ; Chenier, J.H.B. ; Howard, J.A. ; Ingold, K.U. ; *Can. J. Chem.* **1972**, 50, 2285.
- Niki, E. ; Kamiya, Y. ; Ohta, N. ; *Bull. Chem. Soc. Jpn* **1969**, 42, 3220.
- Niki, E. ; Kamiya, Y. ; Ohta, N. ; *Bull. Chem. Soc. Jpn* **1969**, 42, 3220.
- Pfander, H. ; in *Methods in Enzymology* ; Lester Packer Ed., Academic Press, **1992**, vol. 213, p. 3-13.
- Richard, C. ; Martin, R. ; Balesdent, D. ; *J. Chim. Phys.* **1971**, 68, 703.
- Rousseau-Richard, C. ; Richard, C. ; Martin, R. ; *J. Chim. Phys.* **1988**, 85, 168.
- Rousseau-Richard, C. ; Richard, C. ; Martin, R. ; *New J. Chem.* **1991**, 15, 283.
- Stull, D.R. ; Westrum, E.F. ; Sinke, G.C. ; *the chemical thermodynamics of organic compounds* ; Wiley, Londres ; **1969**.
- Van Hook, J.P. ; Tobolsky, A.V. ; *J. Am. Chem. Soc.* **1958**, 80, 779.
- Weiner, S.A. ; Mahoney, L.R. ; *J. Am. Chem. Soc.* **1972**, 94, 5029.
- Zechmeister, L. ; Le Rosen, L. ; Schroeder, W.A. ; Polgar, A. ; Pauling, A. ; *J. Am. Chem. Soc.* **1943**, 65, 1522.
- Zinsou, C. ; *Physiol. Veg.* **1971**, 9, 149.

FIGURES

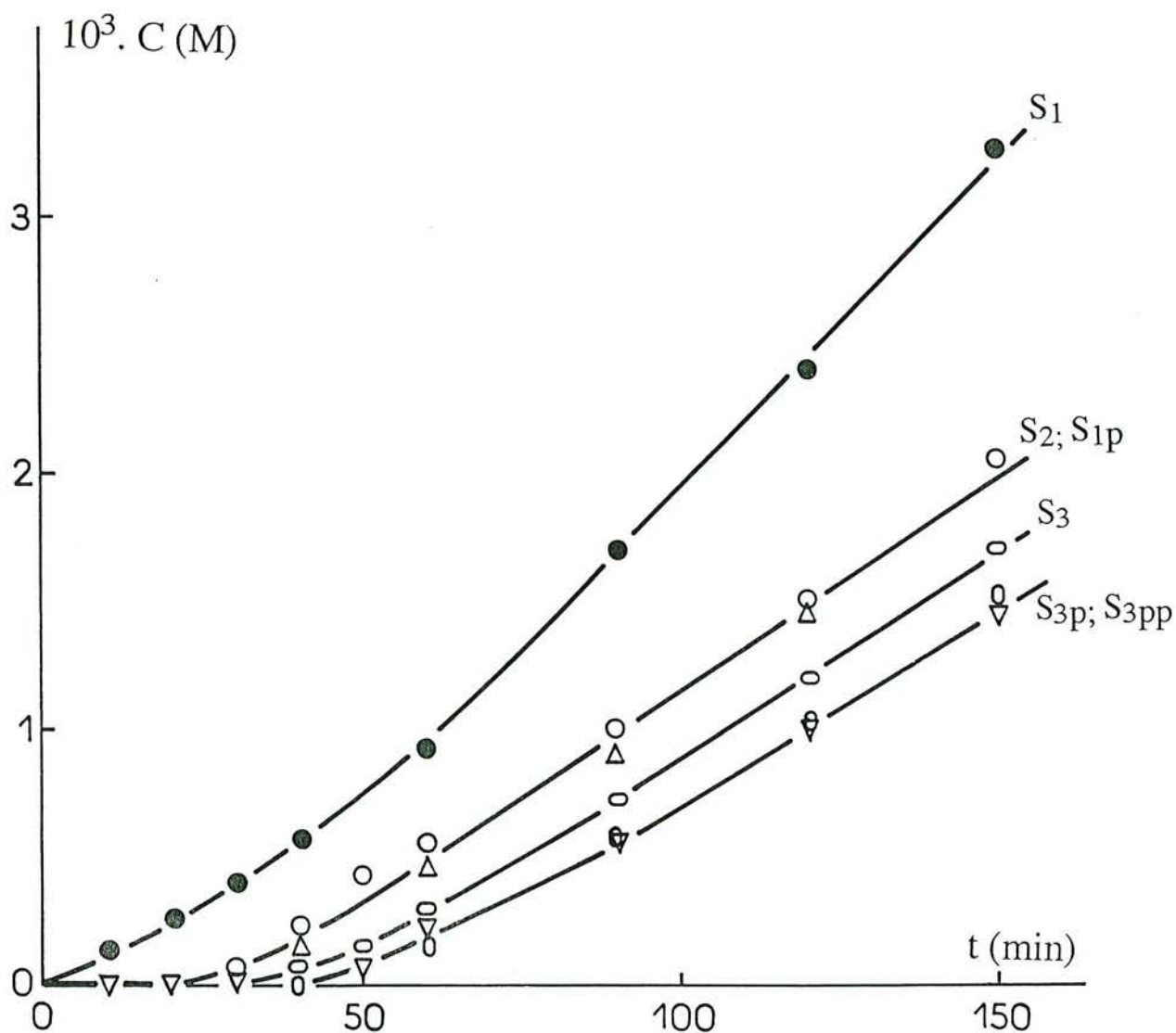


Figure I-1 - Oxydation auto-amorcée du β -carotène: influence des impuretés sur la consommation de β C au cours du temps.

$T = 50^\circ\text{C}$; $P_{\text{O}_2}^0 = 450 \text{ Torr}$; $(\beta\text{C})_0 = 5 \cdot 10^{-3} \text{ M}$.

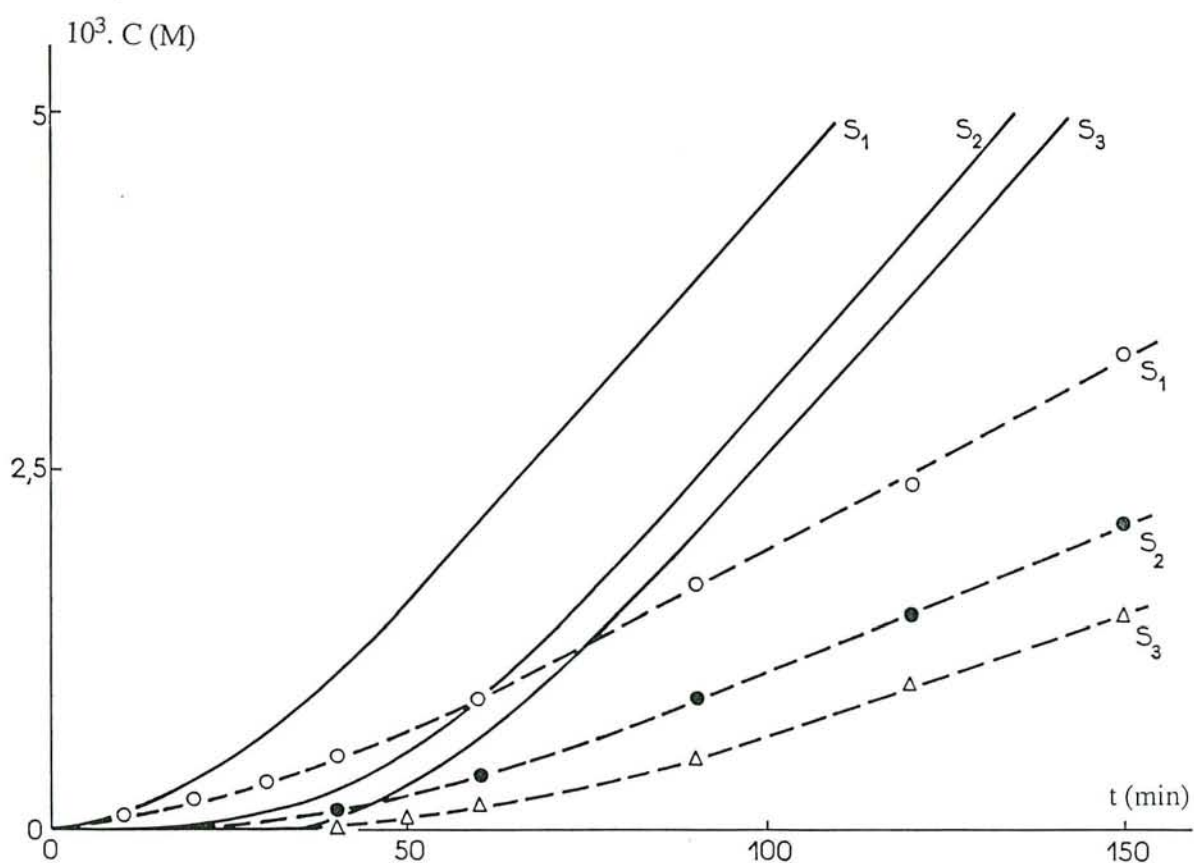


Figure I-2 - Oxydation auto-amorcée du β -carotène. Consommation des réactifs au cours du temps. $T = 50^\circ\text{C}$; $P_{\text{O}_2}^0 = 450 \text{ Torr}$; $(\beta\text{C})_0 = 5 \cdot 10^{-3} \text{ M}$.
 — : oxygène (mesure de pression) ;
 - - - : β -carotène (dosage chromatographique).

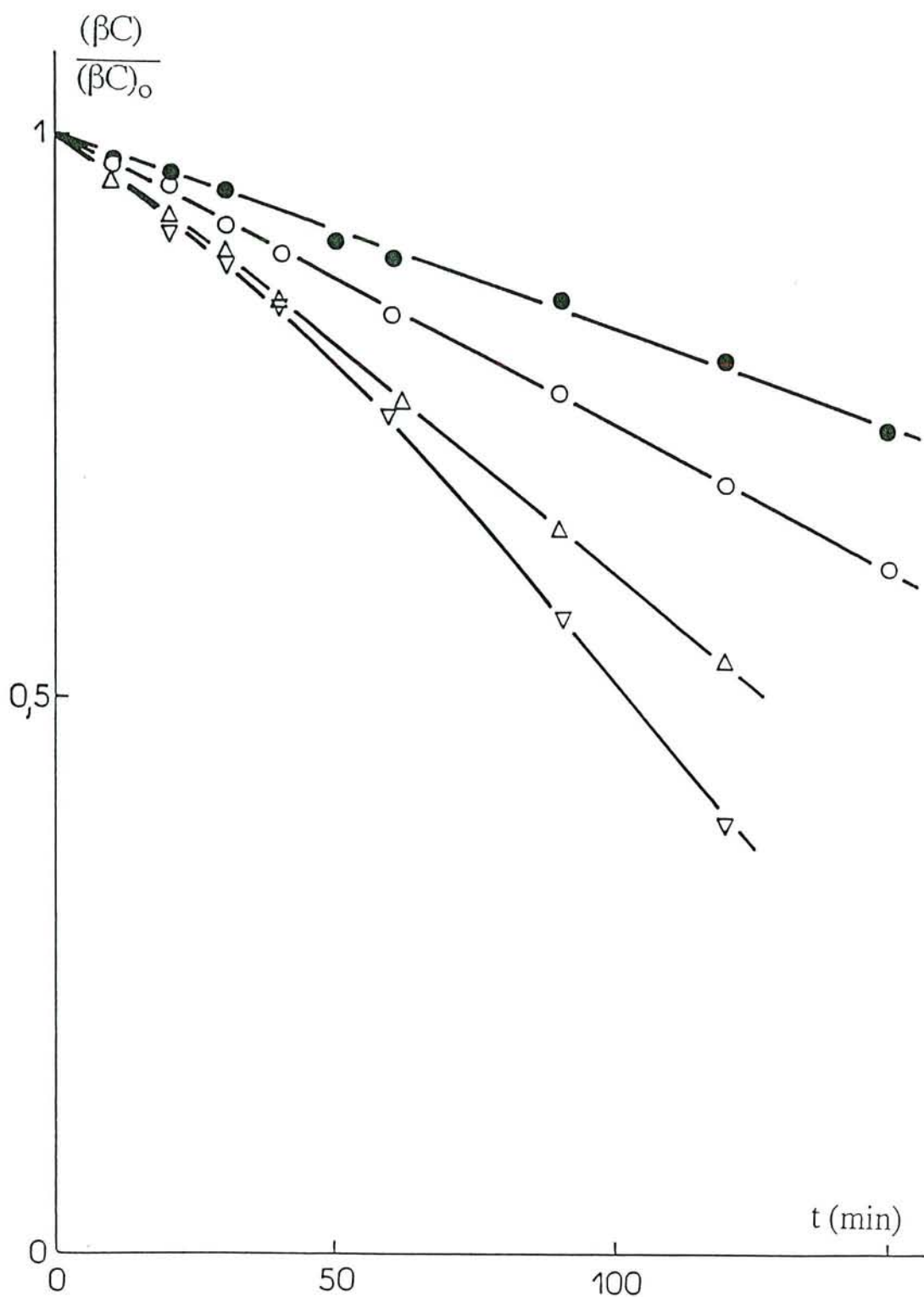


Figure I-3 -Oxydation auto-amorcée du β -carotène (S_1). Influence de $(\beta C)_0$ sur la consommation de βC au cours du temps. $T = 50^\circ\text{C}$; $P_{\text{O}_2}^0 = 450 \text{ Torr}$.
 ● : $(\beta C)_0 = 10^{-5} \text{ M}$; ○ : $(\beta C)_0 = 10^{-4} \text{ M}$; Δ : $(\beta C)_0 = 10^{-3} \text{ M}$; ▽ : $(\beta C)_0 = 10^{-2} \text{ M}$.

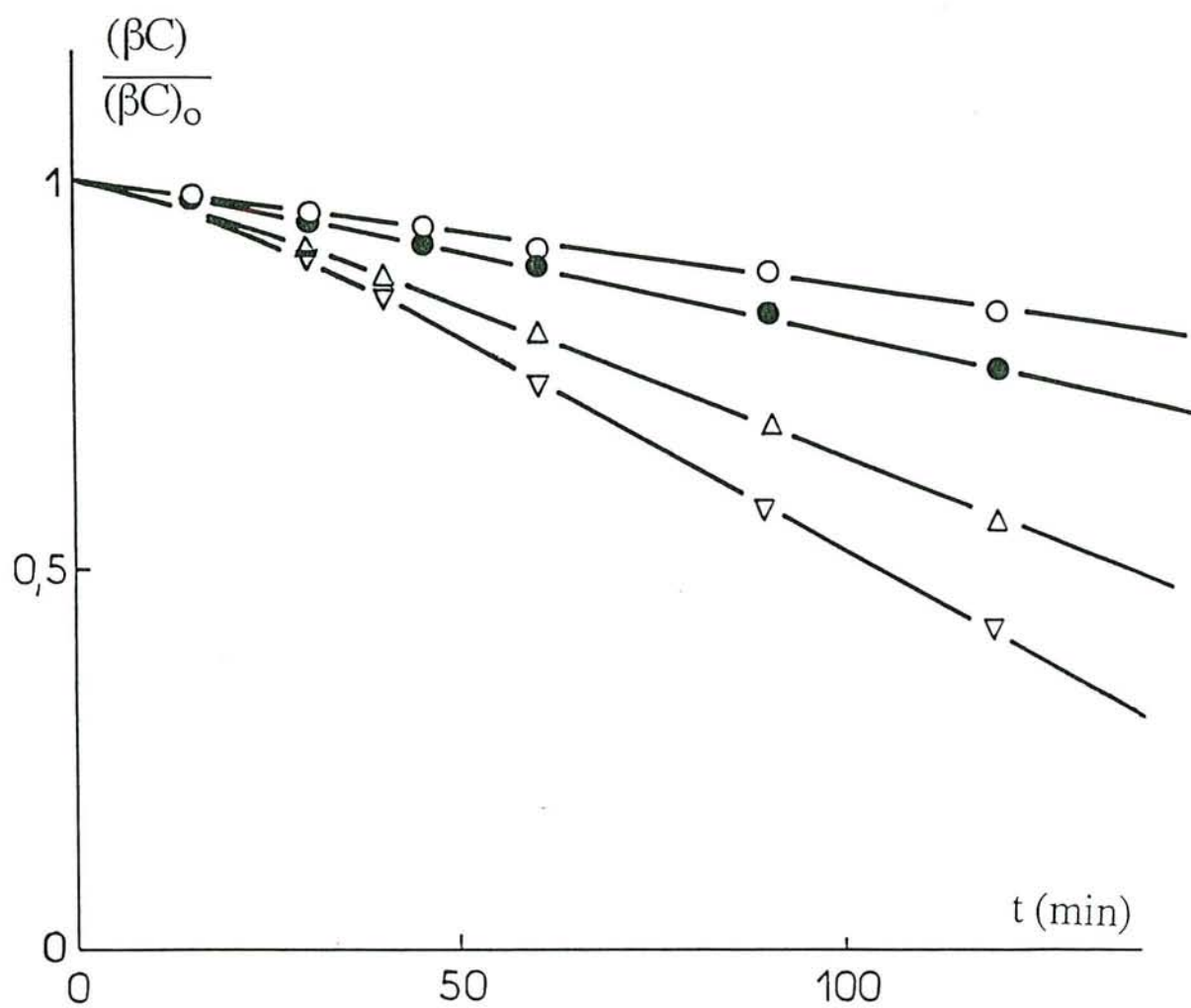


Figure I-4 Oxydation auto-amorcée du β -carotène.(S₁). Influence de $P_{O_2}^0$ sur la consommation de β C au cours du temps.

$\circ$: $P_{O_2}^0 = 85$ Torr ; $\bullet$: $P_{O_2}^0 = 150$ Torr ; Δ : $P_{O_2}^0 = 450$ Torr ;
 ∇ : $P_{O_2}^0 = 750$ Torr.

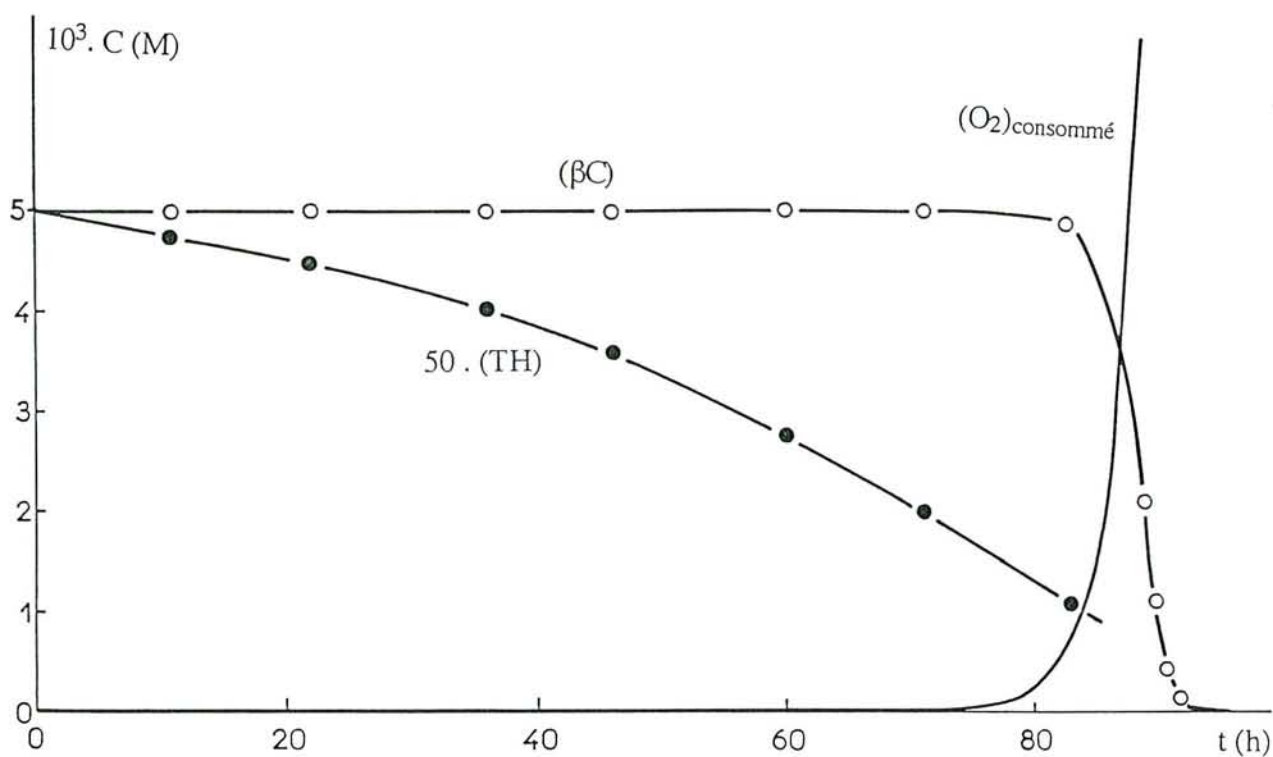


Figure I-5 - Oxydation auto-amorcée du β -carotène (S_3) en présence d' α -tocophérol.

Consommation des réactifs au cours du temps.

o : β -carotène (dosage chromatographique)

● : α -tocophérol (dosage chromatographique)

— : oxygène (mesure de pression)

$T = 50^\circ C$; $P_{O_2}^0 = 450 \text{ Torr}$; $(\beta C)_0 = 5 \cdot 10^{-3} \text{ M}$; $(TH)_0 = 10^{-4} \text{ M}$.

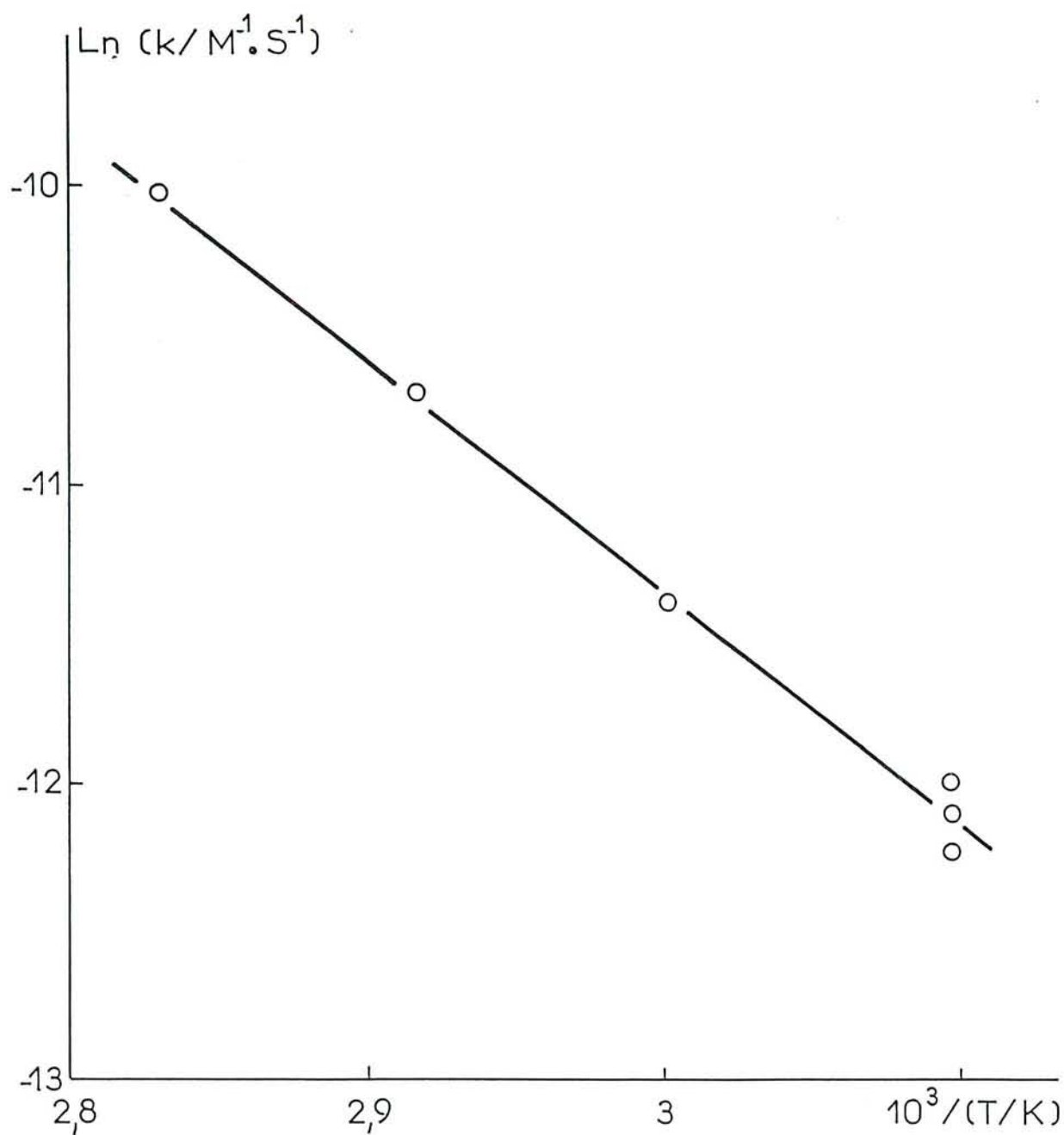


Figure I-6 - Oxydation auto-amorcée du β -carotène (S_3) en présence d' α -tocophérol. Influence de la température sur la vitesse d'amorçage. Représentation d'Arrhénius.
 $P_{\text{O}_2}^0 = 450 \text{ Torr}$; $(\beta\text{C})_0 = 5 \cdot 10^{-3} \text{ M}$; $(\text{TH})_0 = 10^{-4} \text{ M}$.

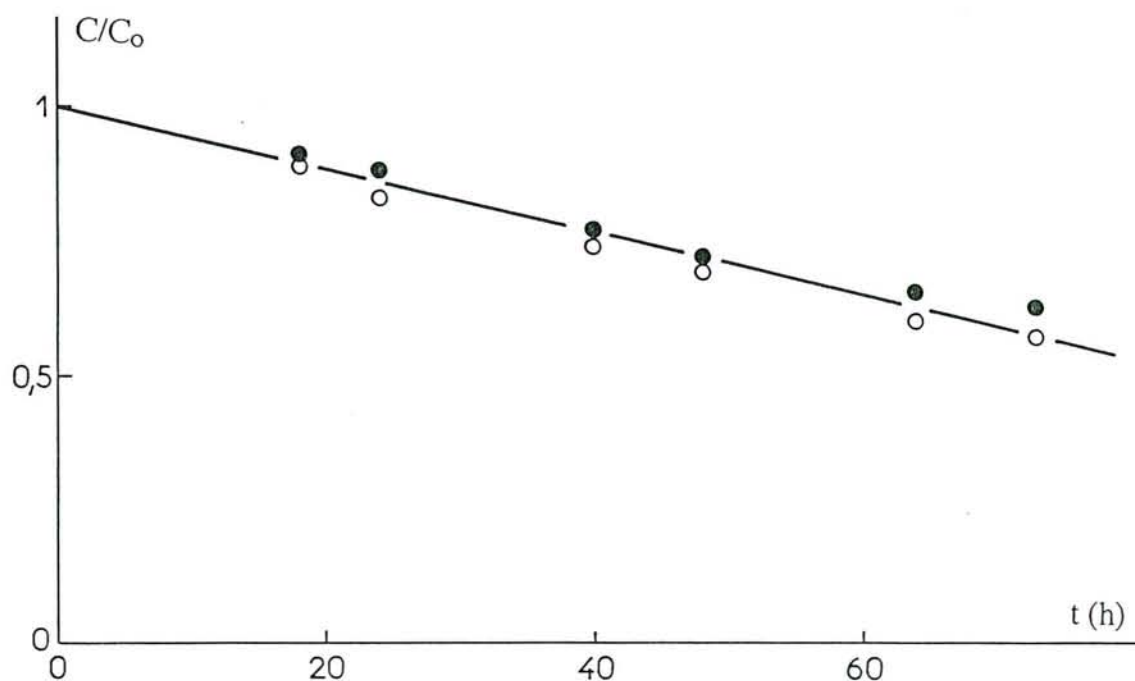


Figure I-7 - Oxydation auto-amorcée du β -carotène (S_3). Consommation des réactifs.
 $(\beta C)_0 = 10^{-4} \text{ M}$; $(TH)_0 = 10^{-4} \text{ M}$; $P_{O_2}^0 = 735 \text{ Torr.}$; $T = 70^\circ \text{C}$.
 ● : (βC) ; ○ : (TH).

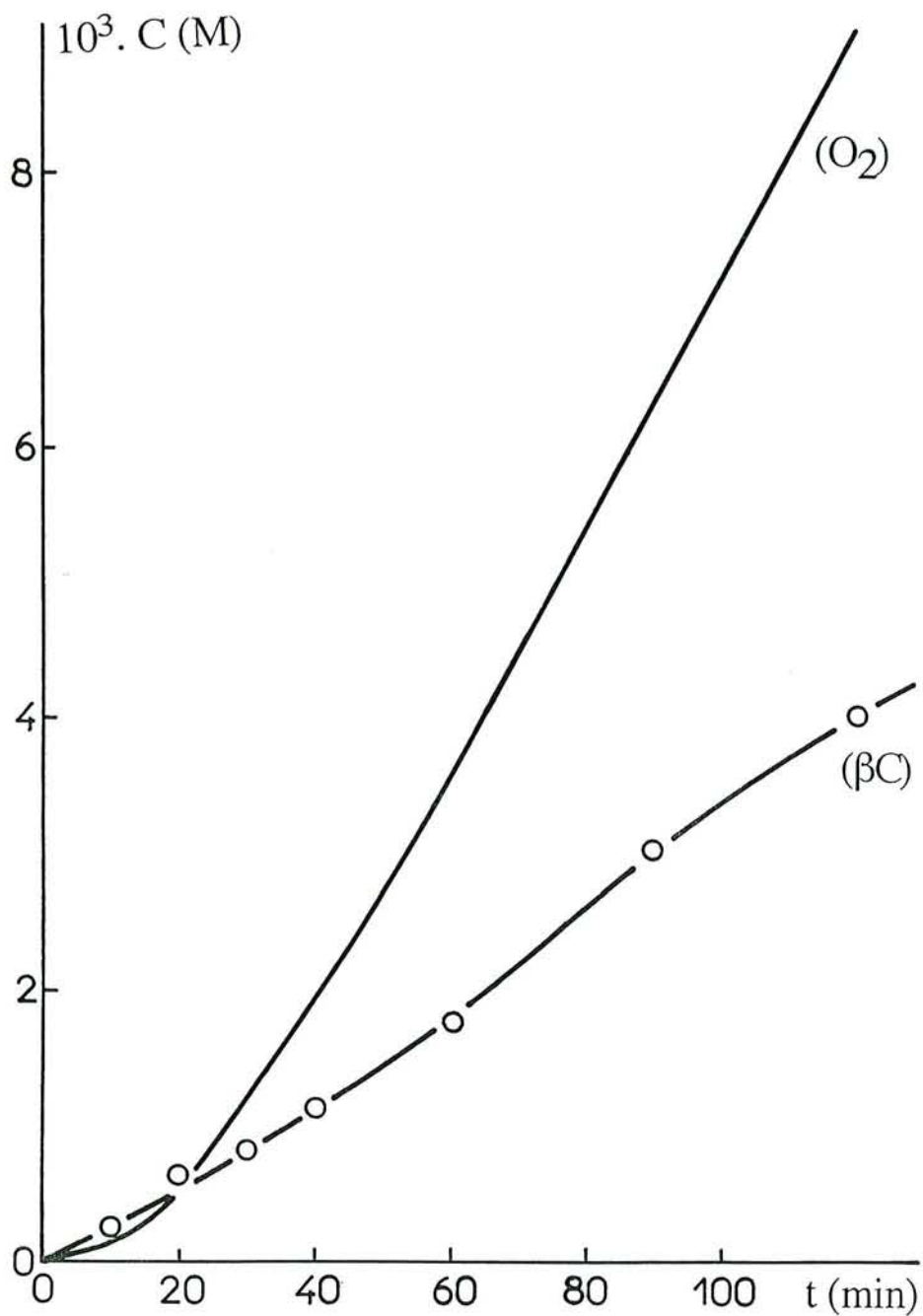


Figure I-8 - Oxydation induite par l'AIBN du β -carotène (échantillon S₁). Consommation des réactifs au cours du temps. o : β -carotène ; — : oxygène.

$T = 50^\circ\text{C}$; $P_{\text{O}_2}^0 = 450 \text{ Torr}$; $(\text{AIBN})_0 = 9 \cdot 10^{-3} \text{ M}$; $(\beta\text{C})_0 = 5 \cdot 10^{-3} \text{ M}$.

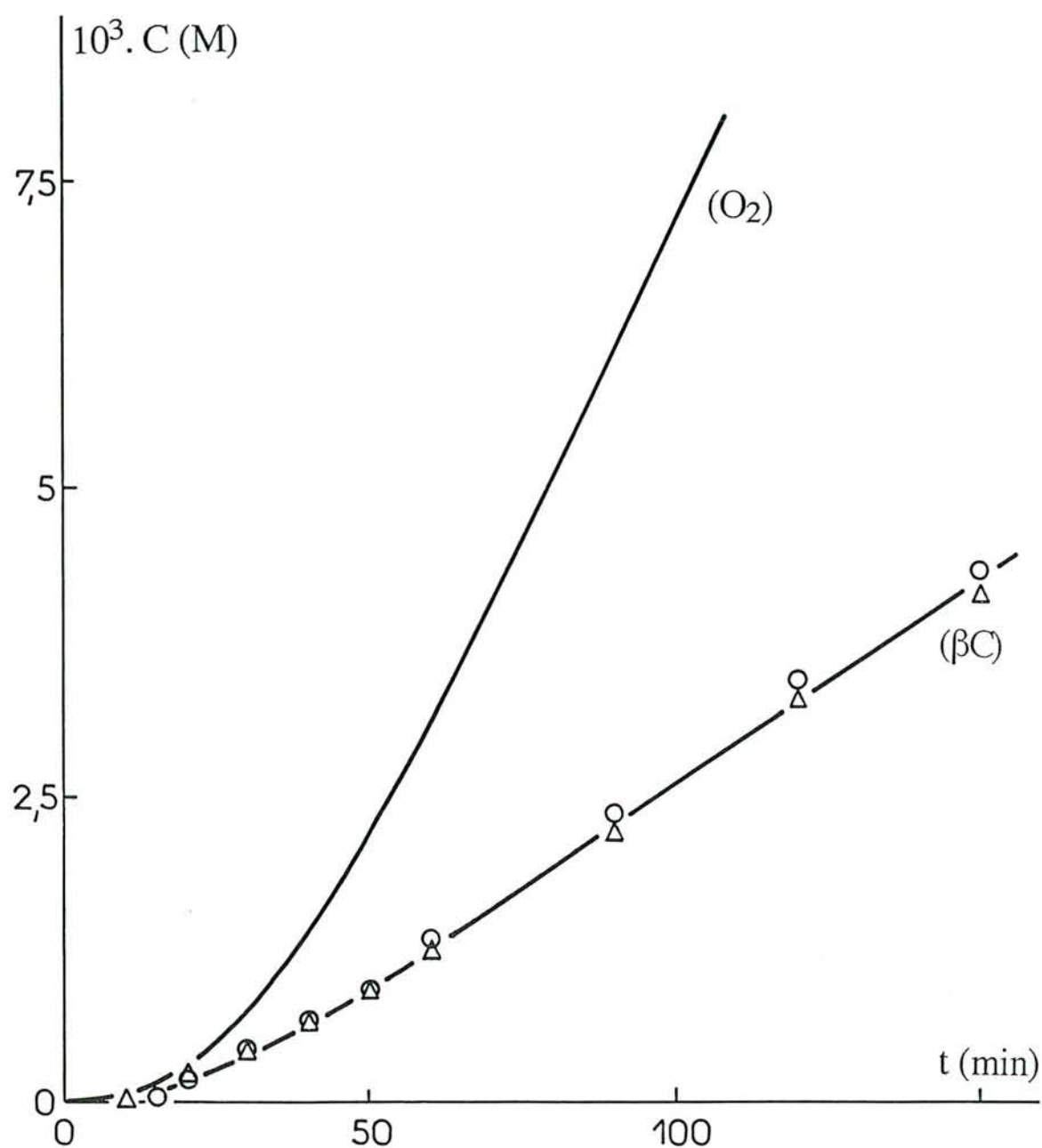


Figure I-9 - Oxydation induite par l'AIBN du β -carotène. Consommation des réactifs au cours du temps. $\bullet$: Echantillon S_{1p} ; Δ : Echantillon S_2 .

$T = 50^\circ C$; $P_{O_2}^0 = 450 \text{ Torr}$; $(AIBN)_0 = 9 \cdot 10^{-3} \text{ M}$; $(\beta C)_0 = 5 \cdot 10^{-3} \text{ M}$.

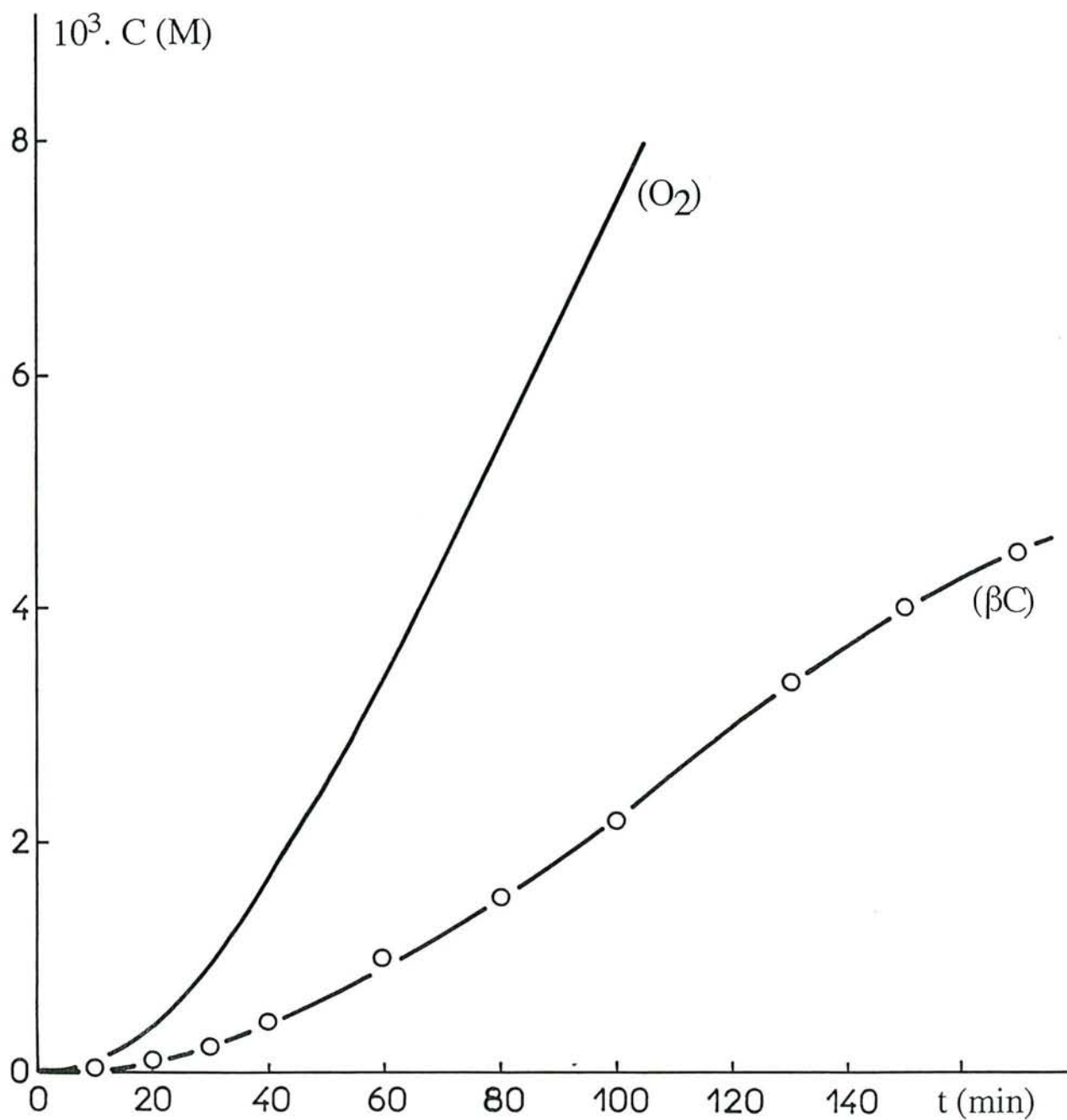


Figure I-10 - Oxydation induite par l'AIBN du β -carotène (échantillon S₃). Consommation des réactifs au cours du temps. o : β -carotène ; — : oxygène.

$T = 50^\circ C$; $P_{O_2}^0 = 450 \text{ Torr}$; $(AIBN)_0 = 9 \cdot 10^{-3} \text{ M}$; $(\beta C)_0 = 5 \cdot 10^{-3} \text{ M}$.

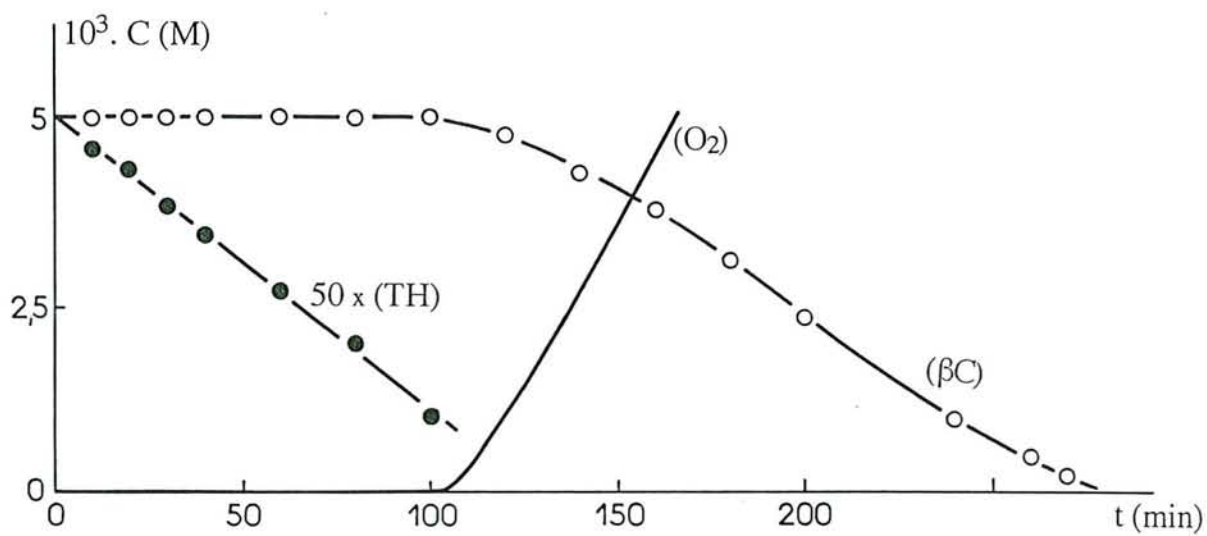


Figure I-11 -Oxydation induite par l'AIBN du β -carotène en présence d' α -tocophérol.

Consommation de réactifs au cours du temps.

$T = 50^\circ\text{C}$; $P_{O_2}^0 = 450 \text{ Torr}$; $(TH)_0 = 10^{-4} \text{ M}$; $(\beta C)_0 = 5 \cdot 10^{-3} \text{ M}$.

o : β -carotène : échantillon S_3 ; ● : α -tocophérol ; — : oxygène.

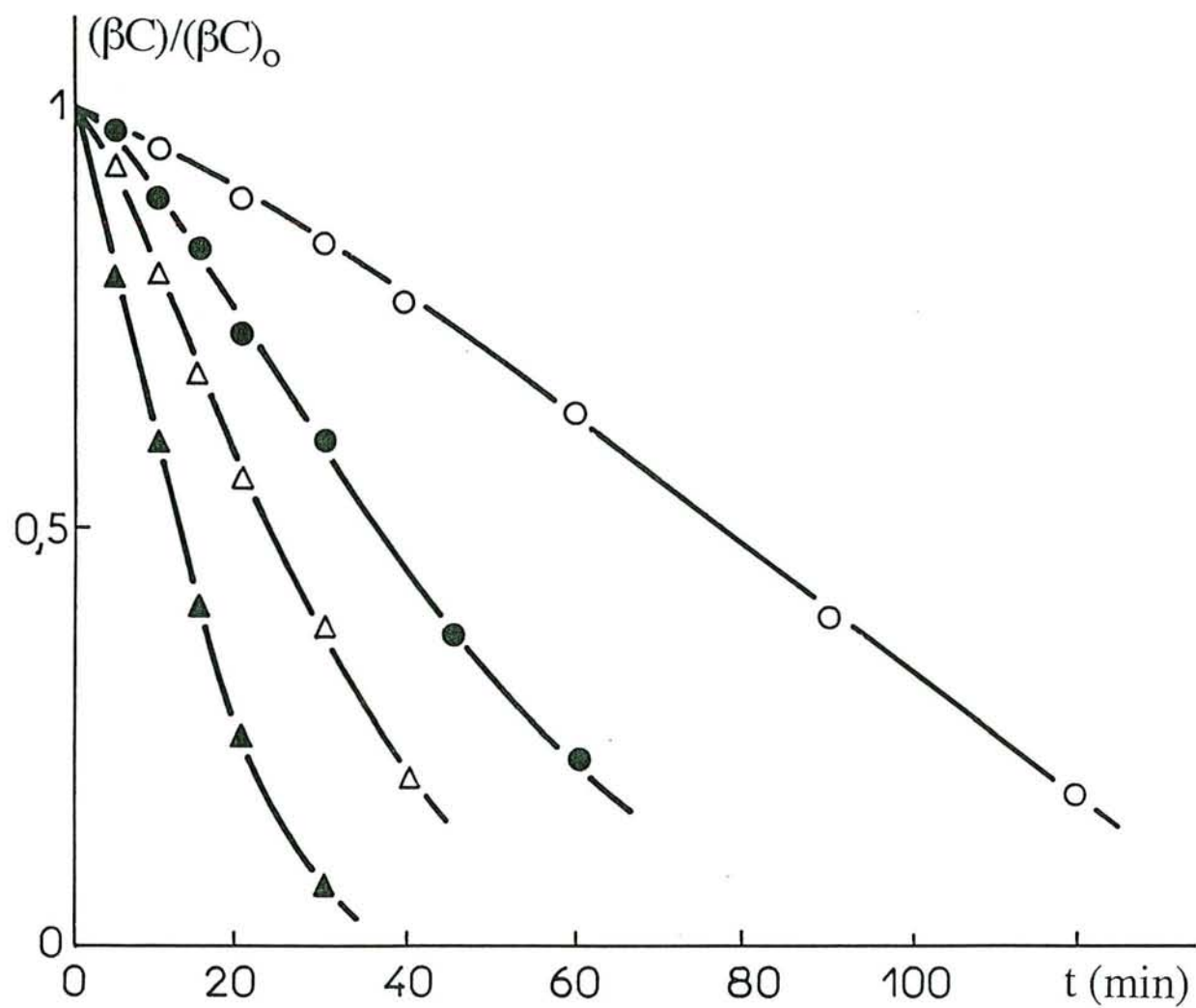


Figure I-12 -Oxydation induite par l'AIBN du β -carotène. Influence de $(\beta C)_0$ sur la consommation de βC : échantillon S_1 .

$T = 50^\circ\text{C}$; $P_{\text{O}_2}^0 = 450 \text{ Torr}$; $(\text{AIBN})_0 = 9.10^{-3} \text{ M}$.

$(\beta C)_0 = 5.10^{-3} \text{ M}$ (o) ; 10^{-3} M (●) ; $3,2.10^{-4} \text{ M}$ (Δ) ; 10^{-4} M ($\blacktriangle$) .

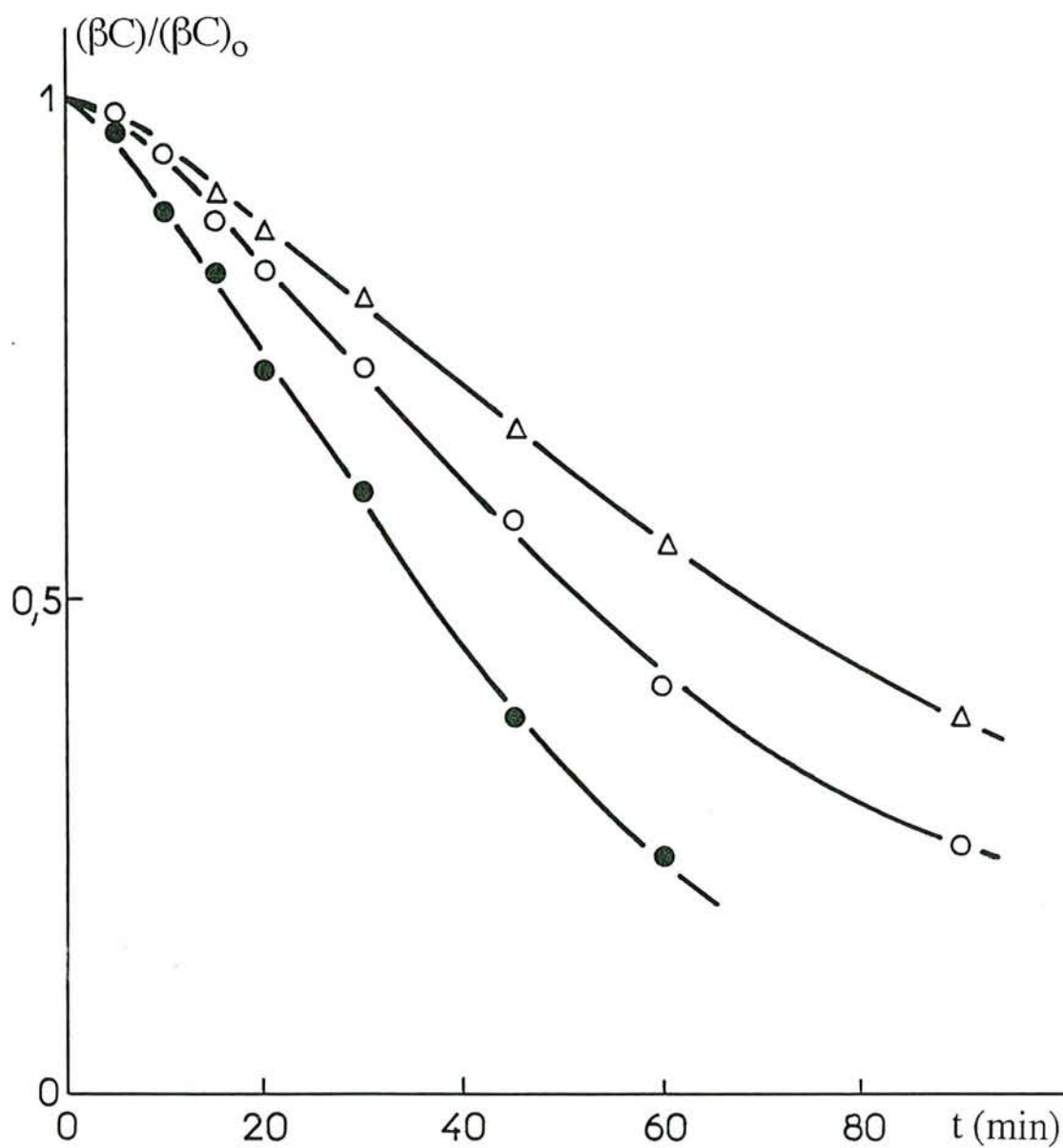


Figure I-13 -Oxydation induite par l'AIBN du β -carotène. Influence de $P_{O_2}^0$ sur la consommation de βC : échantillon S_1 .

$T = 50^\circ C$; $(AIBN)_0 = 9 \cdot 10^{-3} M$; $(\beta C)_0 = 10^{-3} M$.

$P_{O_2}^0 = 85 \text{ Torr } (\Delta)$; $200 \text{ Torr } (\circ)$; $450 \text{ Torr } (\bullet)$.

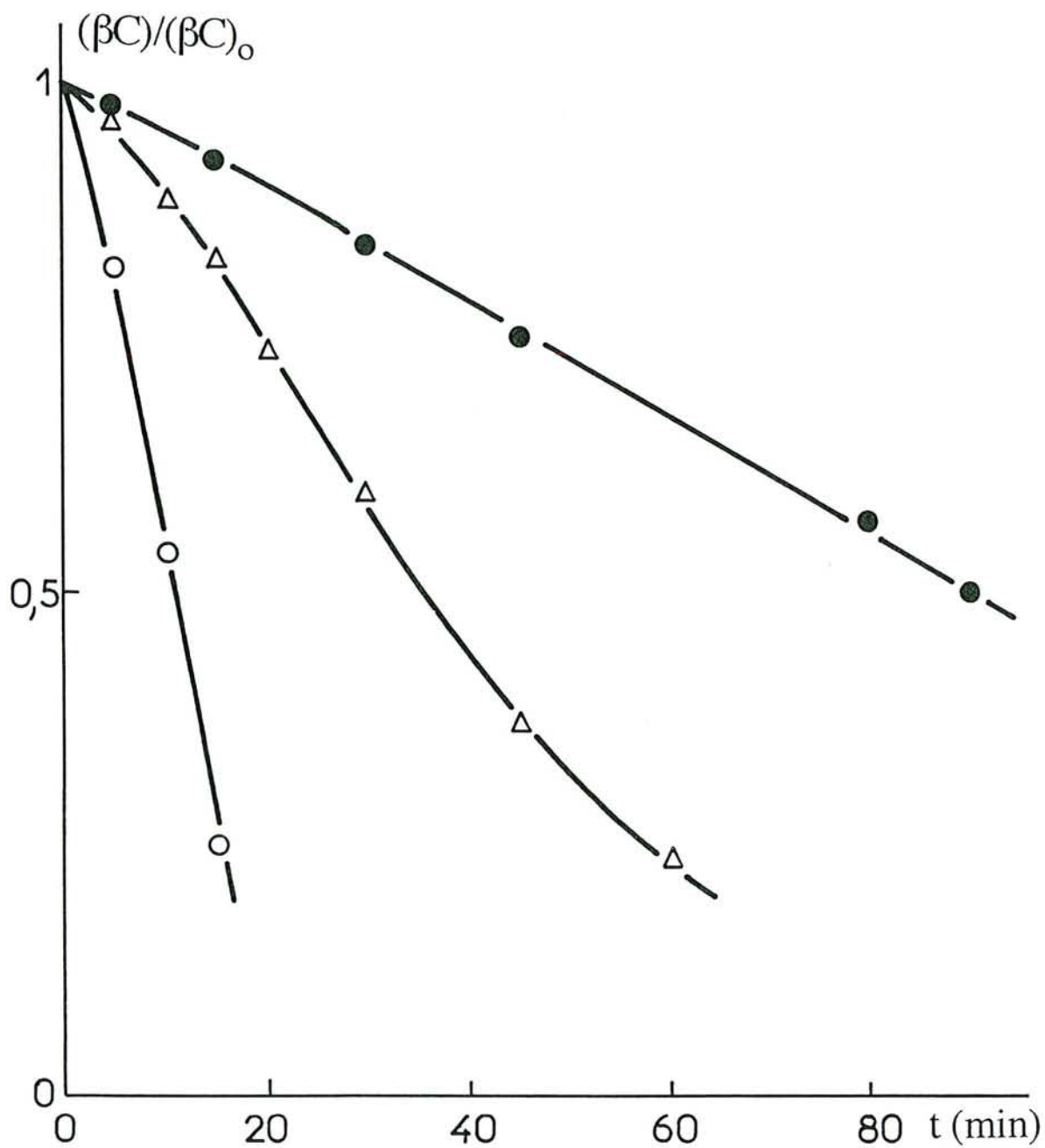


Figure I-14 - Oxydation induite par l'AIBN du β -carotène. Influence de $(\text{AIBN})_0$ sur la consommation de βC : échantillon S_1 .

$T = 50^\circ\text{C}$; $P_{\text{O}_2}^0 = 450 \text{ Torr}$; $(\beta C)_0 = 10^{-3} \text{ M}$.

$(\text{AIBN})_0 = 9.10^{-4} \text{ M}$ ($\bullet$) ; 9.10^{-3} M (Δ) ; 9.10^{-2} M ($\circ$).

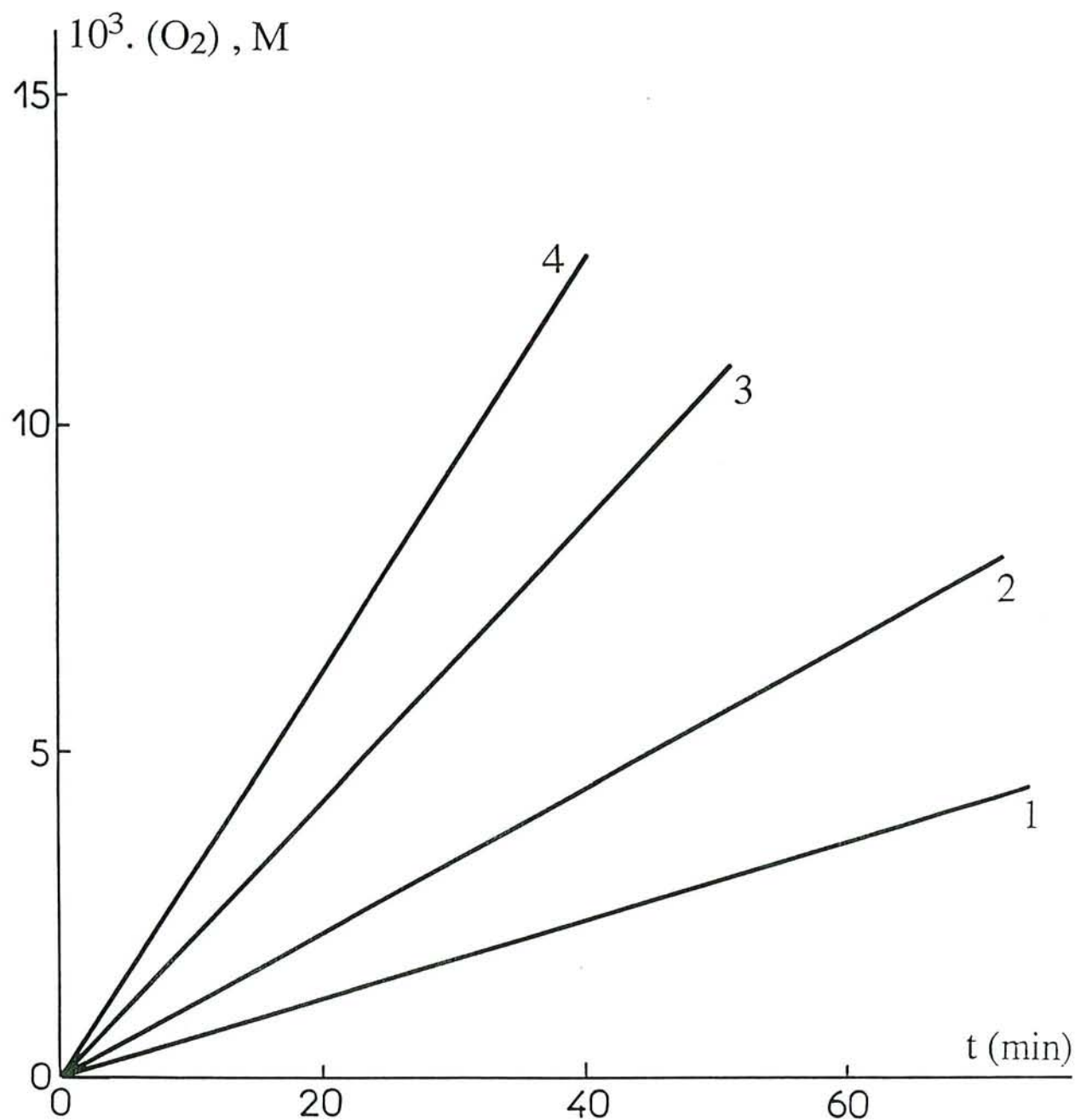


Figure II-1 - Oxydation induite par l'AIBN du linoléate d'éthyle. Influence de $(LH)_0$ sur la consommation d'oxygène au cours du temps.
 $T = 50^\circ C$; $P_{O_2}^0 = 50 \text{ Torr}$; $(AIBN)_0 = 9 \cdot 10^{-2} M$.
 $(LH)_0 = 0,1 M$ (1) ; $0,2 M$ (2) ; $0,4 M$ (3) ; $0,8 M$ (4).

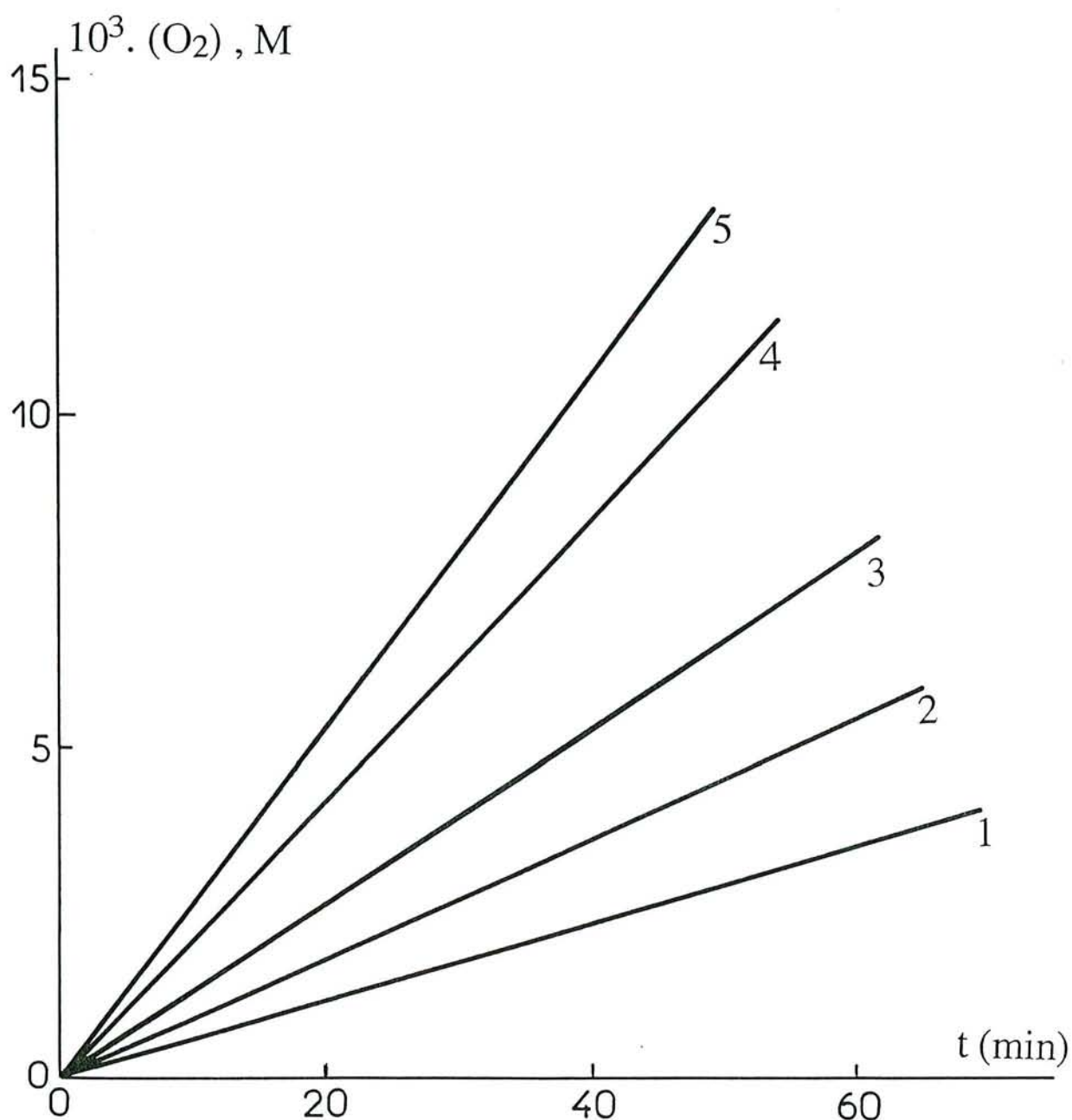


Figure II-2 - Oxydation induite par l'AIBN du linoléate d'éthyle. Influence de $(\text{AIBN})_0$ sur la consommation d'oxygène au cours du temps.

$T = 50^\circ\text{C}$; $P_{\text{O}_2}^0 = 50 \text{ Torr}$; $(\text{LH})_0 = 0,4 \text{ M}$. $(\text{AIBN})_0 = 9 \cdot 10^{-3} \text{ M}$ (1) ;
 $2 \cdot 10^{-2} \text{ M}$ (2) ; $4,5 \cdot 10^{-2} \text{ M}$ (3) ; $9 \cdot 10^{-2} \text{ M}$ (4) ; $18 \cdot 10^{-2} \text{ M}$ (5).

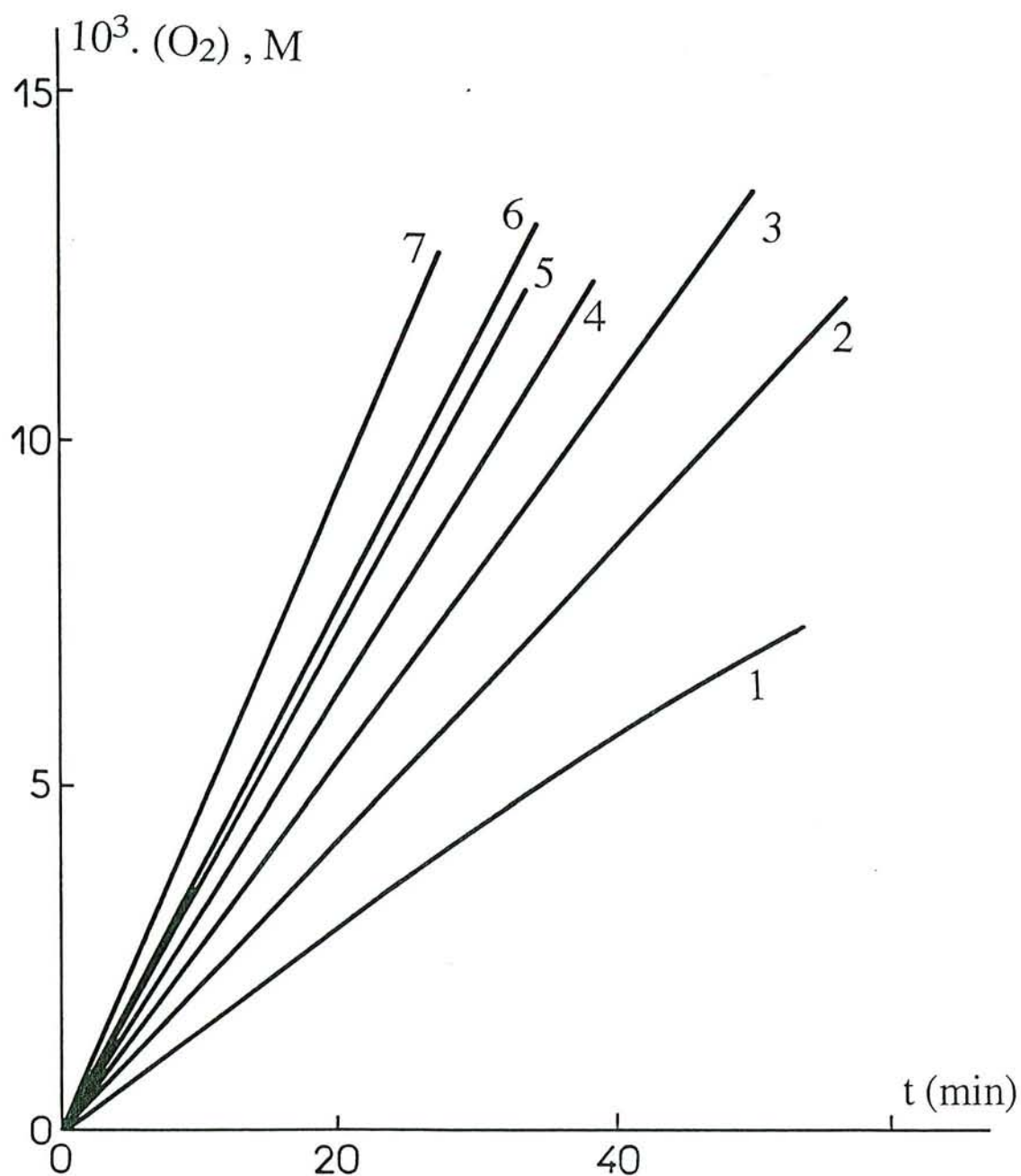


Figure II-3 -Oxydation induite par l'AIBN du linoléate d'éthyle. Influence de $P_{O_2}^0$ sur la consommation d'oxygène au cours du temps.

$T = 50^\circ\text{C}$; $(\text{LH})_0 = 0,4 \text{ M}$; $(\text{AIBN})_0 = 9 \cdot 10^{-2} \text{ M}$.

$P_{O_2}^0 = 35 \text{ Torr}$ (1) ; 50 Torr (2) ; 85 Torr (3) ; 150 Torr (4) ; 300 Torr (5) ; 450 Torr (6) ; 750 Torr (7).

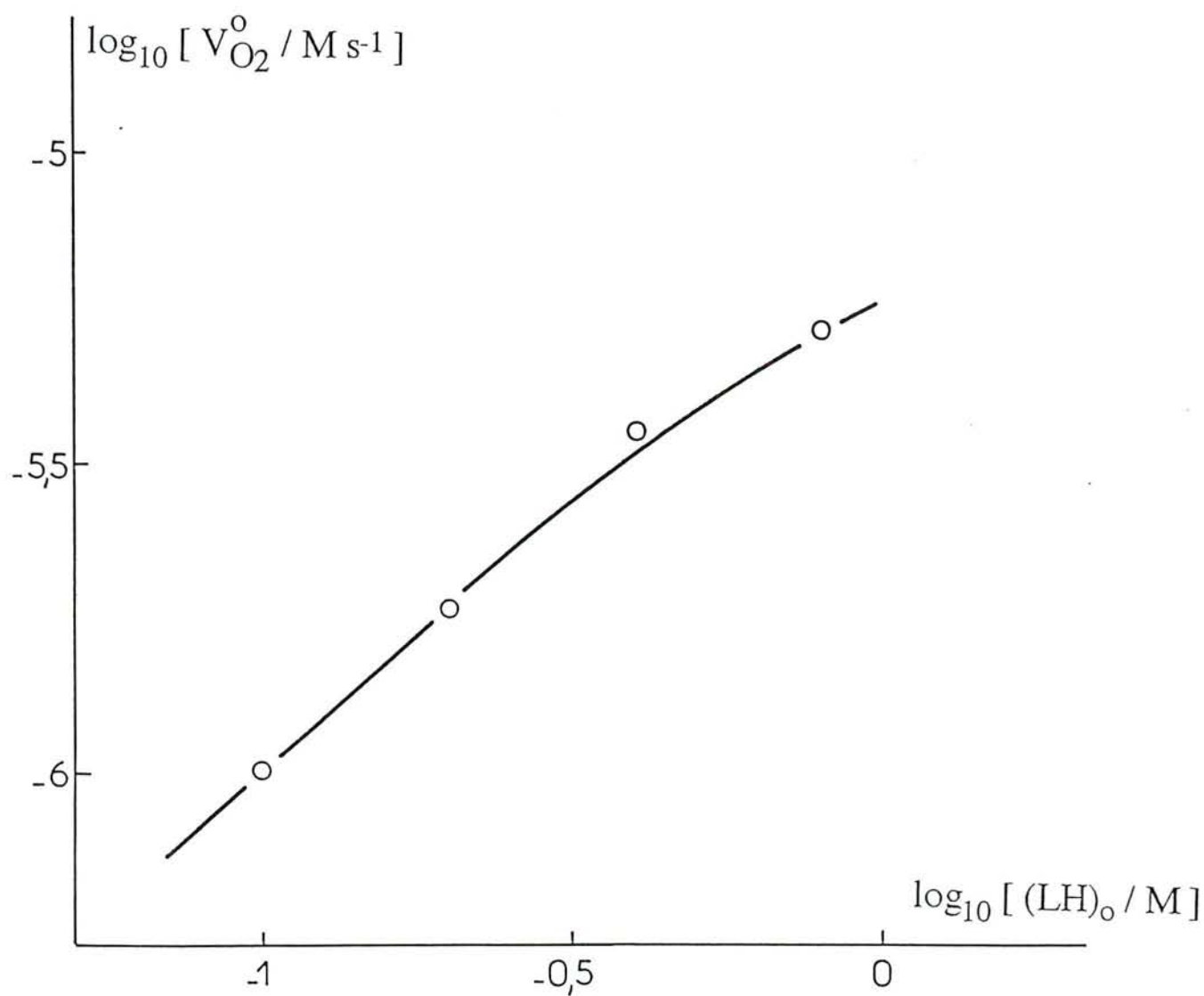


Figure II-4 - Oxydation induite par l'AIBN du linoléate d'éthyle. Influence de $(LH)_0$ sur $V_{O_2}^0$: Points expérimentaux et courbe calculées.
 $T = 50^\circ C$; $P_{O_2}^0 = 50 \text{ Torr}$; $(AIBN)_0 = 9 \cdot 10^{-2} \text{ M}$.

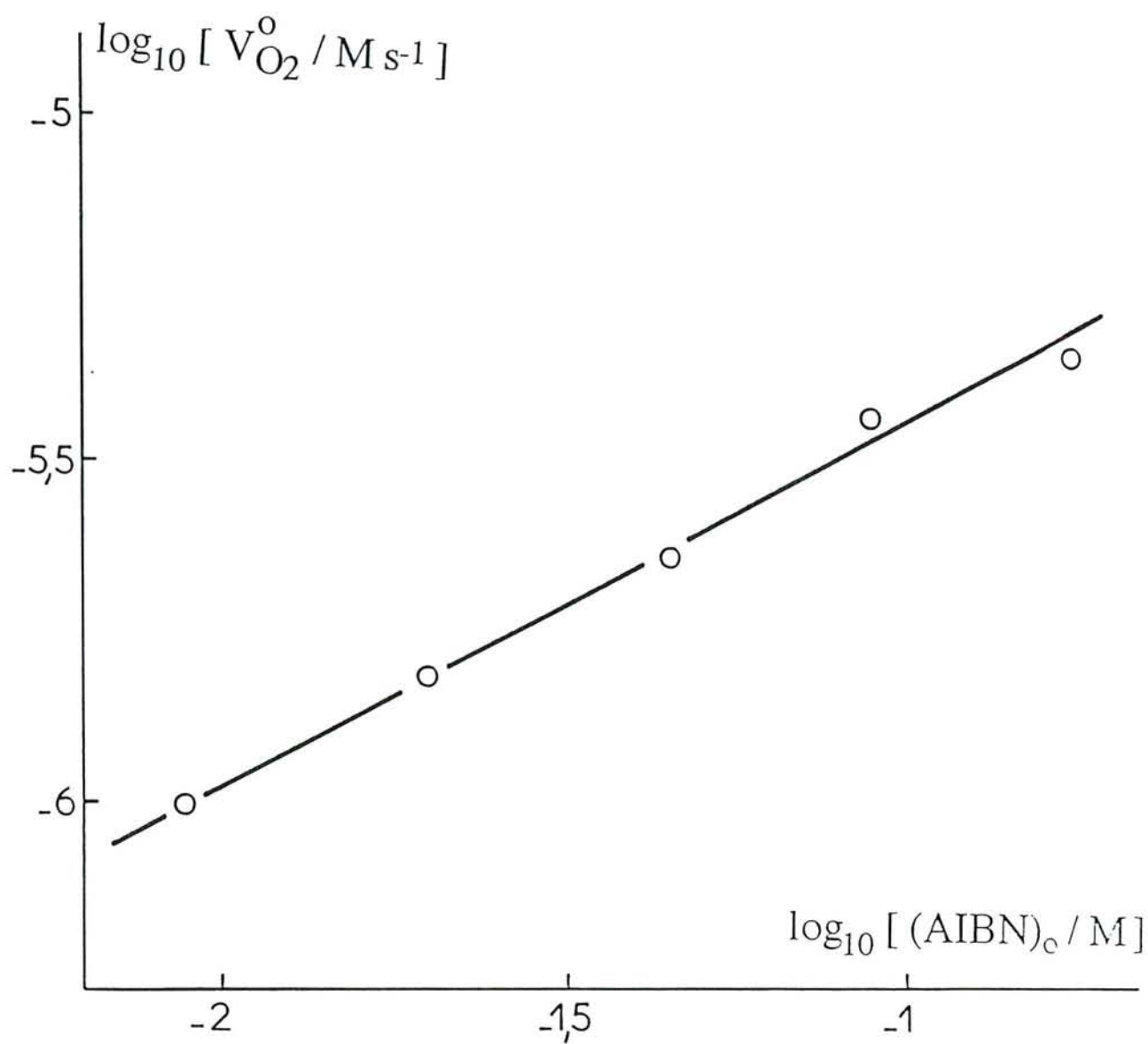


Figure II-5 - Oxydation induite par l'AIBN du linoléate d'éthyle. Influence de $(AIBN)_o$ sur $V_{O_2}^o$: Points expérimentaux et courbe calculées.
 $T = 50^\circ C$; $P_{O_2}^o = 50 \text{ Torr}$; $(LH)_o = 0,4 \text{ M}$.

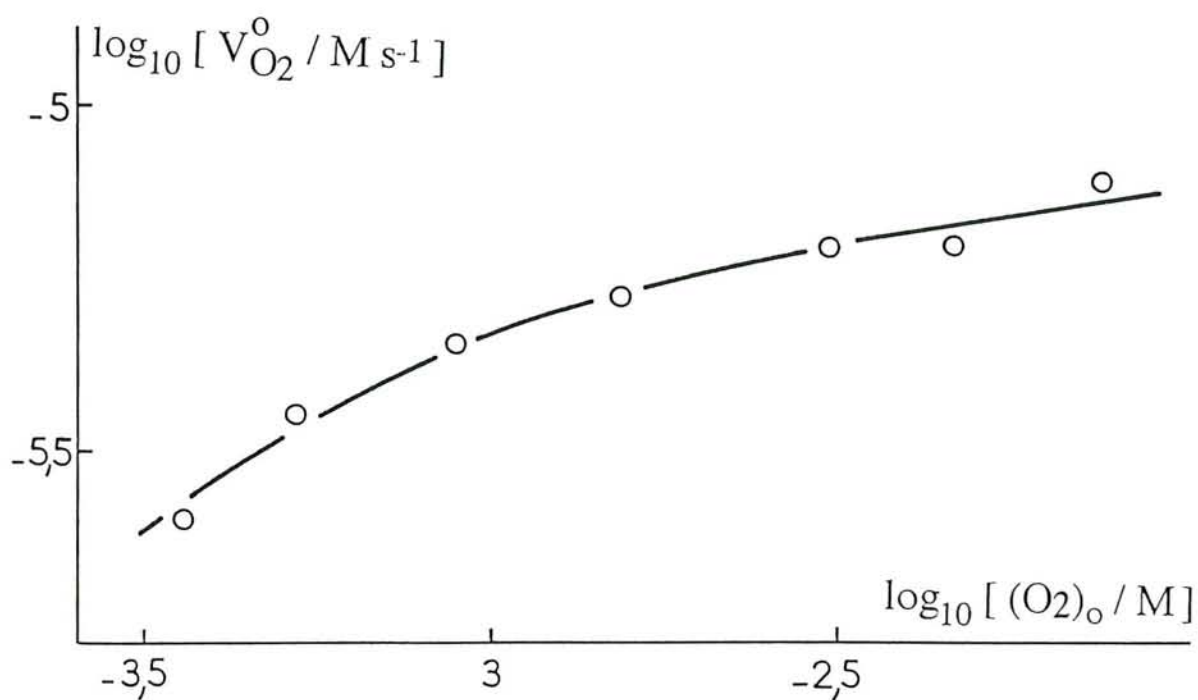


Figure II-6 - Oxydation induite par l'AIBN du linoléate d'éthyle. Influence de $P_{O_2}^0$ sur $V_{O_2}^0$: Points expérimentaux et courbe calculées.
 $T = 50^\circ\text{C}$; $(\text{LH})_0 = 0,4 \text{ M}$; $(\text{AIBN})_0 = 9 \cdot 10^{-2} \text{ M}$.

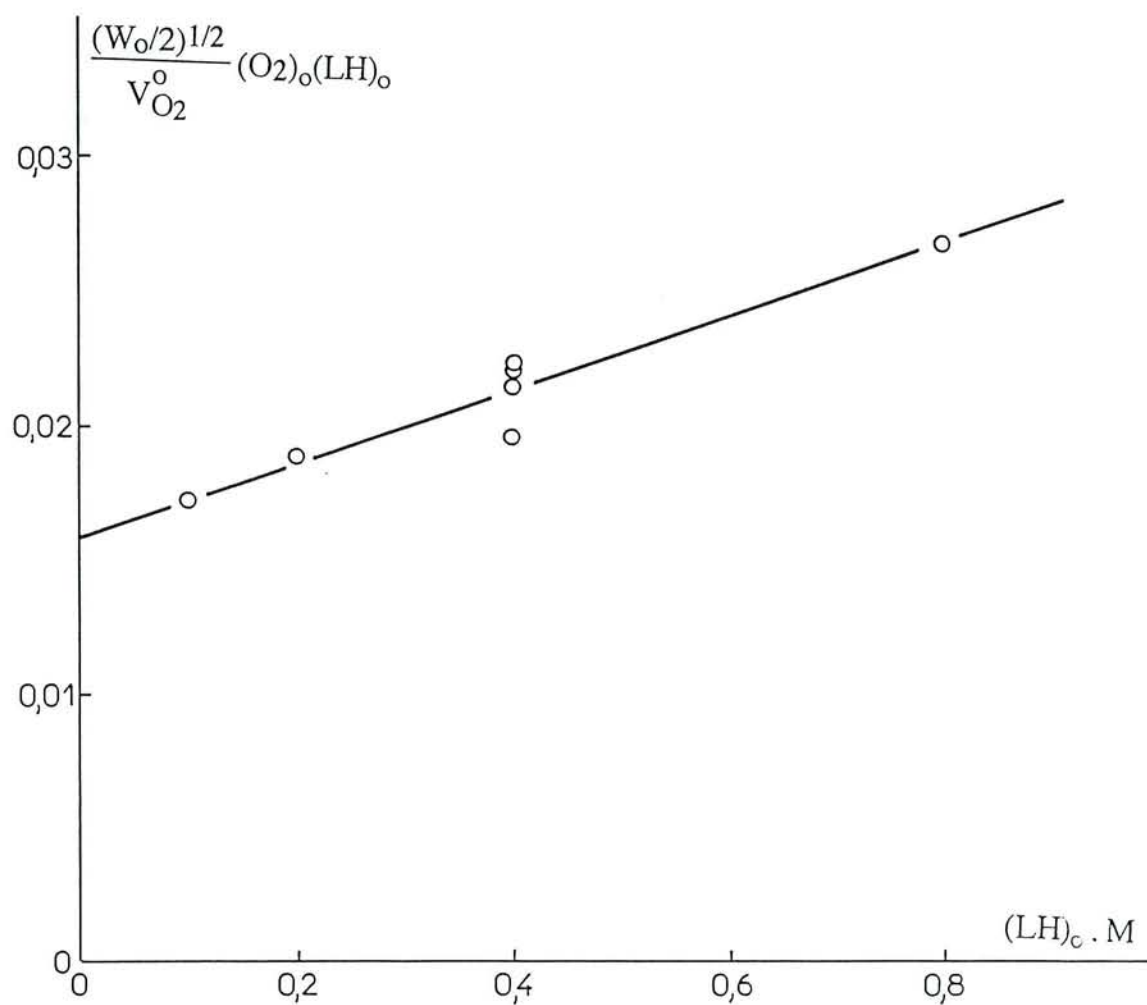


Figure II-7 - Oxydation induite par l'AIBN du linoléate d'éthyle. Influence de $(LH)_0$ sur le rapport $\frac{(W_0/2)^{1/2}}{V_{O_2}^0} (O_2)_0 (LH)_0$.

$T = 50^\circ C$; $(O_2)_0 = 5,2 \cdot 10^{-4} M$; $(AIBN)_0 = 9 \cdot 10^{-2} M$.

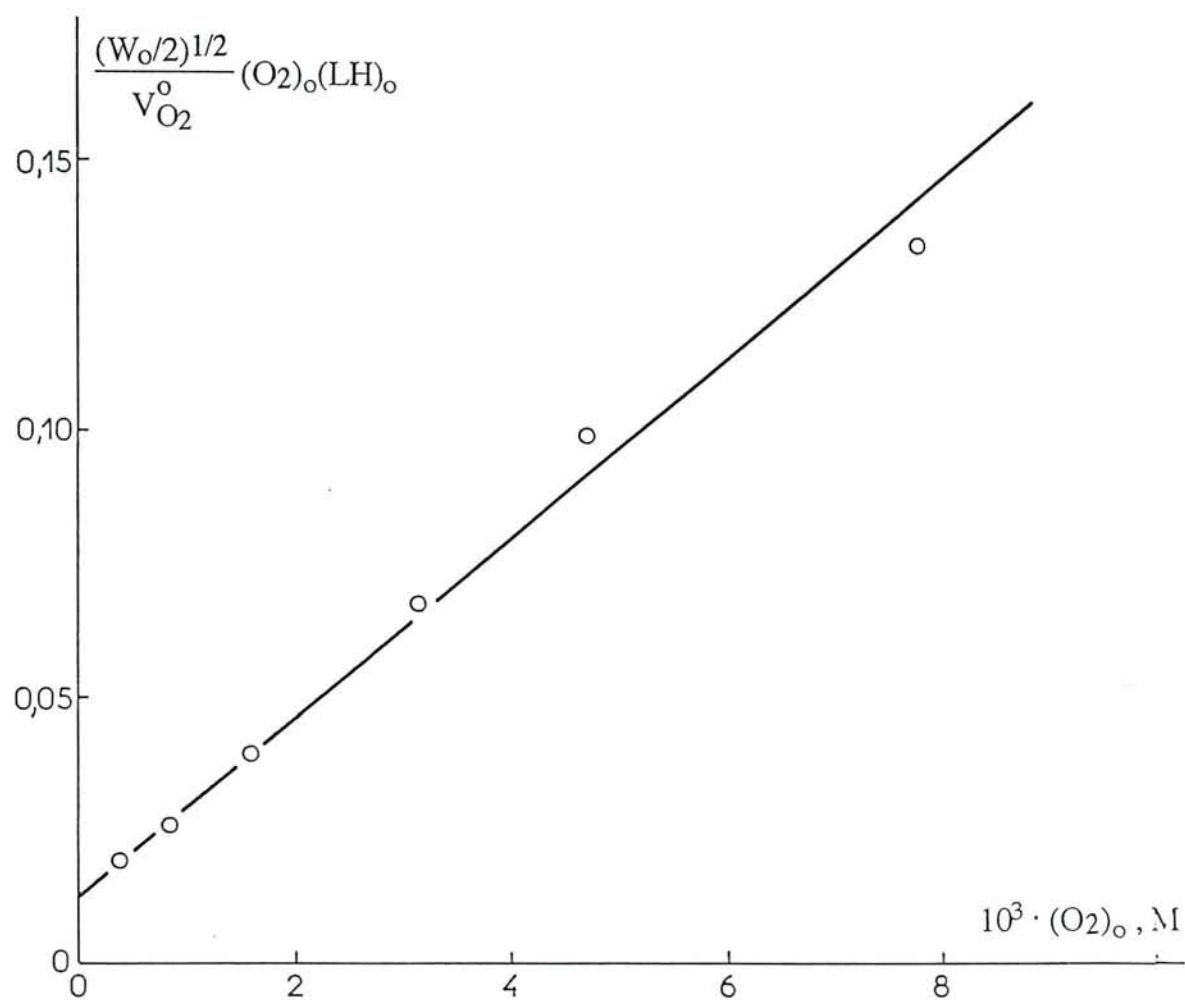


Figure II-8 - Oxydation induite par l'AIBN ($9 \cdot 10^{-2} M$) du linoléate d'éthyle ($0,4 M$) à $T = 50^\circ C$.
Influence de $(O_2)_0$ sur le rapport $\frac{(W_0/2)^{1/2}}{V_{O_2}^0} (O_2) (LH)$.

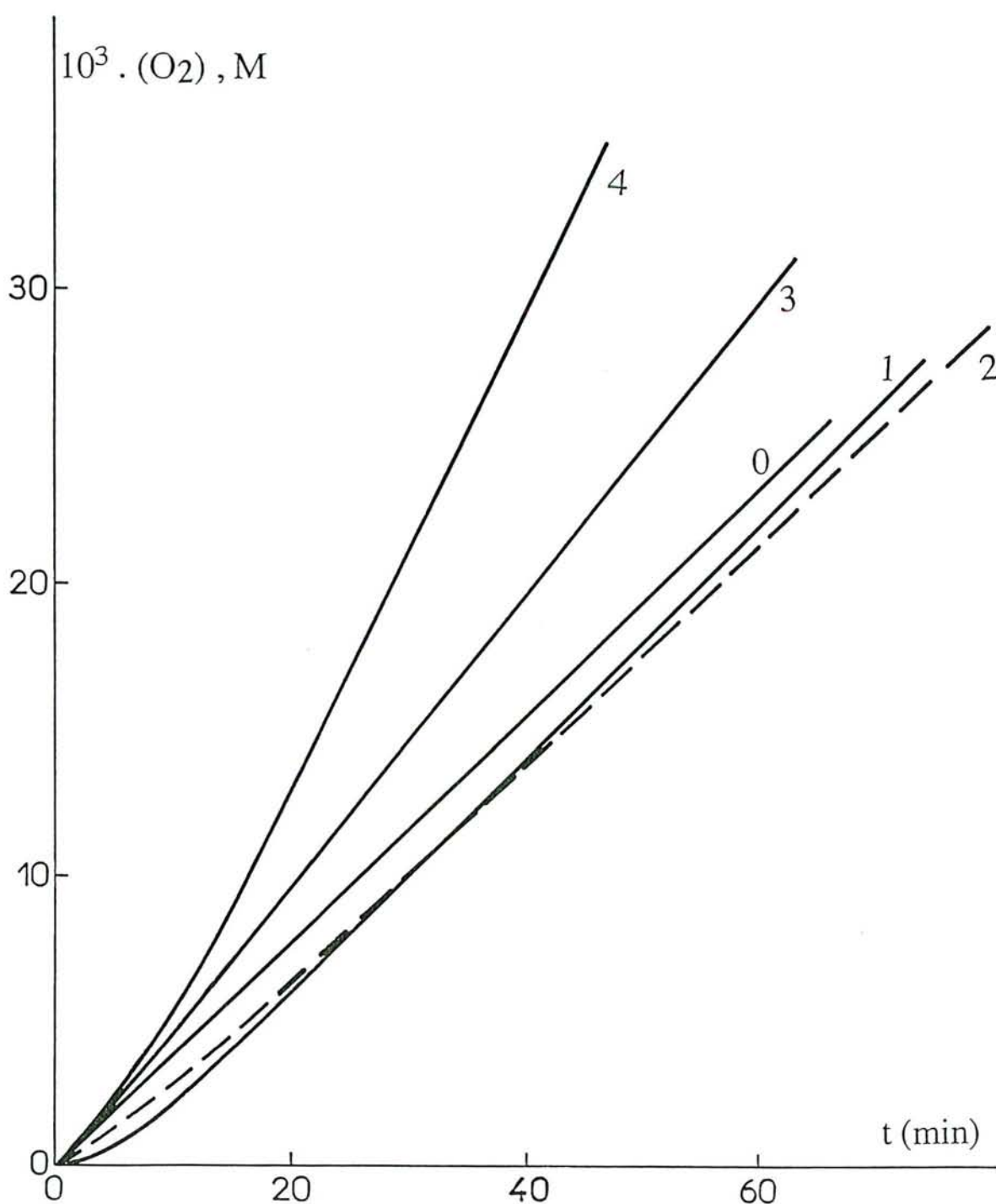


Figure III-1 - Influence de βC (échantillon S_1) sur l'oxygène consommé, lors de l'oxydation du linoléate d'éthyle (0,4 M) induite par l'AIBN ($9 \cdot 10^{-2} M$).
 $T = 50^\circ C$; $P_{O_2}^0 = 450 \text{ Torr}$;
 $(\beta C)_0 = 0$ et $5 \cdot 10^{-5} M$ (0); $5 \cdot 10^{-4} M$ (1); $5 \cdot 10^{-3} M$ (2); $10^{-2} M$ (3); $2 \cdot 10^{-2} M$ (4).

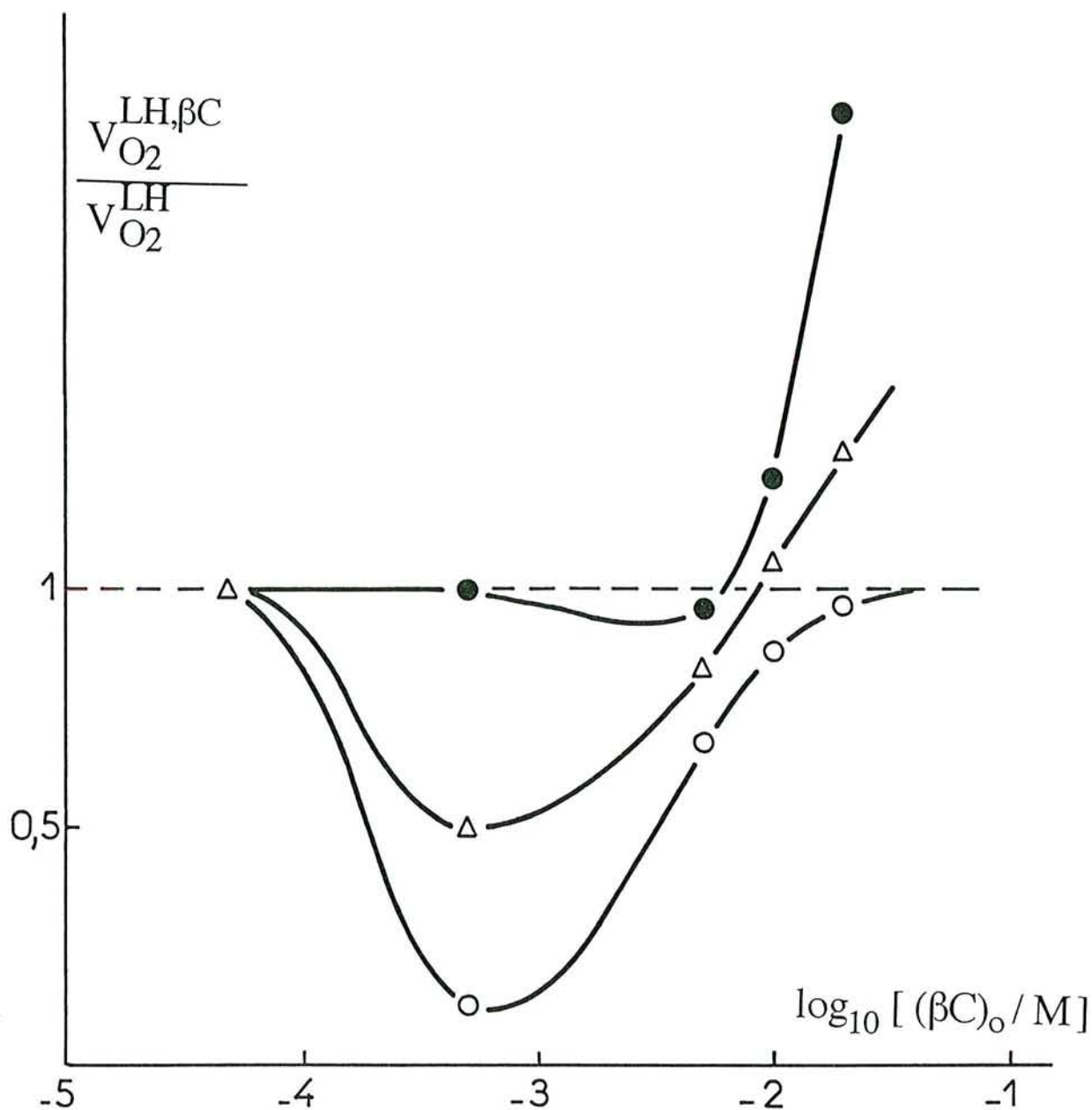


Figure III-2 -Oxydation induite par l'AIBN ($9 \cdot 10^{-2}$ M) du linoléate d'éthyle (0,4 M) en présence de βC (échantillon S_1) ; variations du rapport des vitesses de consommation de O_2 en présence et en l'absence de βC ($V_{O_2}^{LH,\beta C} / V_{O_2}^{LH}$) en fonction de $\log (\beta C)$ à différents temps de réaction.

$T = 50^\circ C$; $P_{O_2}^o = 450$ Torr ; o : $t = 0$; Δ : $t = 10$ mn ; $\bullet$: $t = 40$ mn.

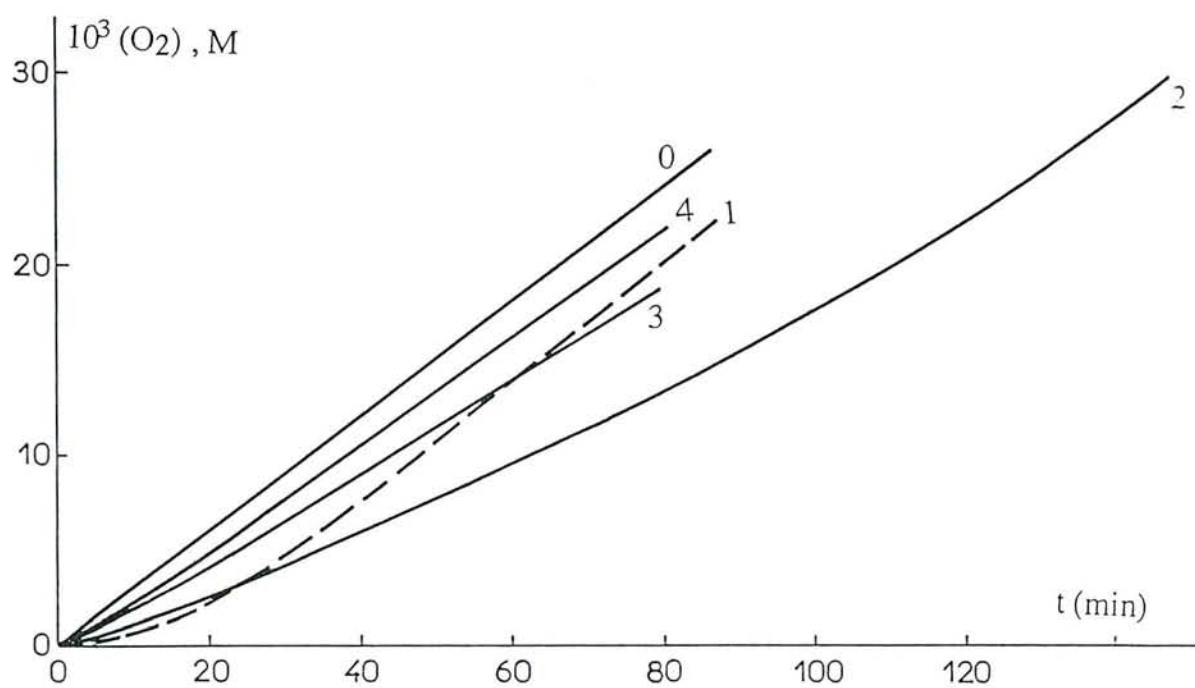


Figure III-3a - Influence de βC (échantillon S_1) sur l'oxygène consommé lors de l'oxydation du linoléate d'éthyle (0,4 M) induite par l'AIBN ($9 \cdot 10^{-2} \text{ M}$) à $T = 50^\circ\text{C}$.

$P_{\text{O}_2}^0 = 150 \text{ Torr}$;

$(\beta\text{C})_0 = 0, 5 \cdot 10^{-6} \text{ ou } 5 \cdot 10^{-5} \text{ M}$ (0) ; $5 \cdot 10^{-4} \text{ M}$ (1) ; $5 \cdot 10^{-3} \text{ M}$ (2) ; 10^{-2} M (3) ; $2 \cdot 10^{-2} \text{ M}$ (4).

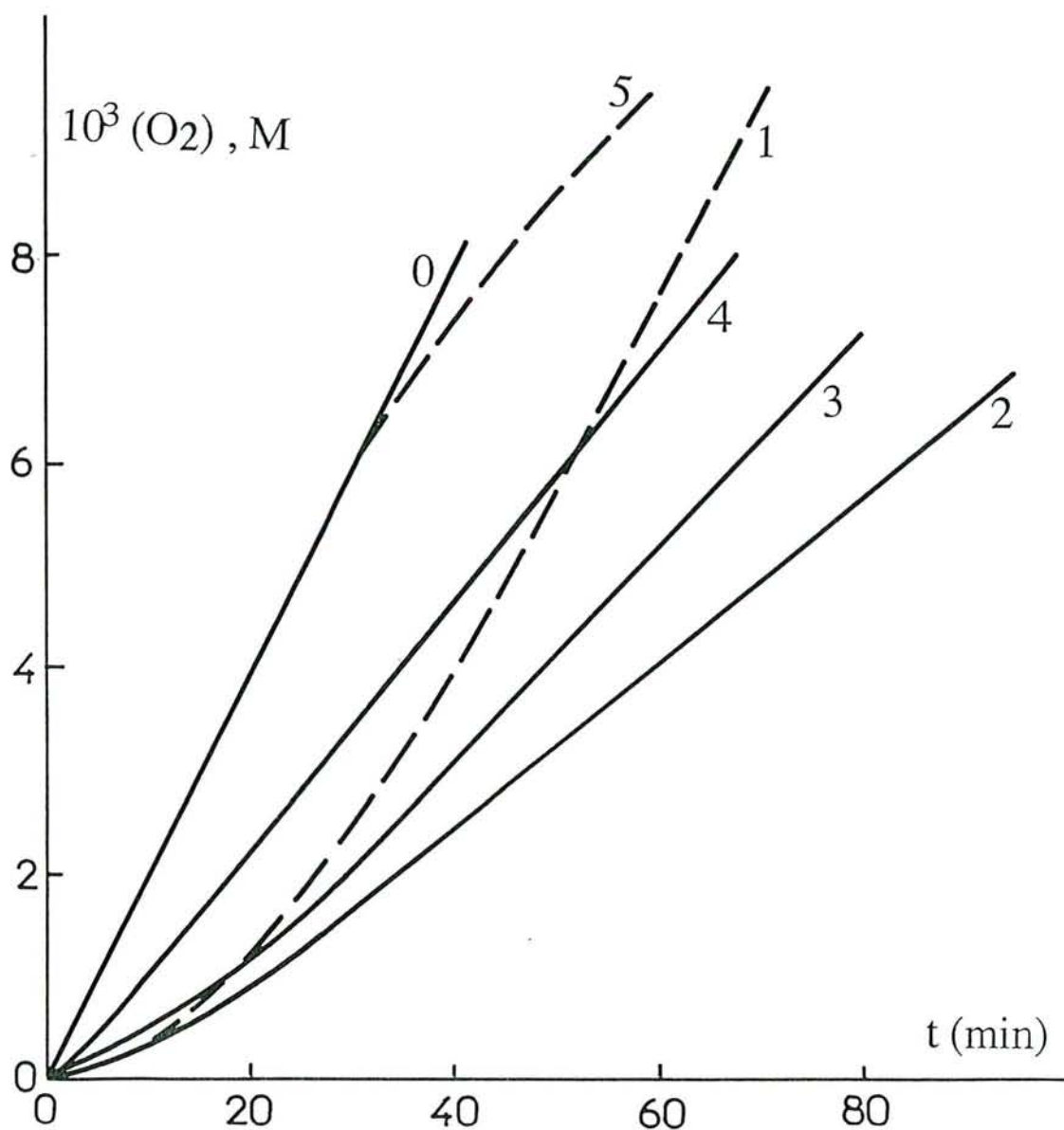


Figure III-3b - Influence de βC (échantillon S_1) sur l'oxygène consommé lors de l'oxydation du linoléate d'éthyle (0,4 M) induite par l'AIBN ($9 \cdot 10^{-2}$ M) à $T = 50^\circ C$.
 $P_{O_2}^0 = 50$ Torr ;
 $(\beta C)_0 = 0$ (0) ; $5 \cdot 10^{-4}$ M (1) ; $5 \cdot 10^{-3}$ M (2) ; 10^{-2} M (3) ; $2 \cdot 10^{-2}$ M (4) ;
 10^{-1} M (5).

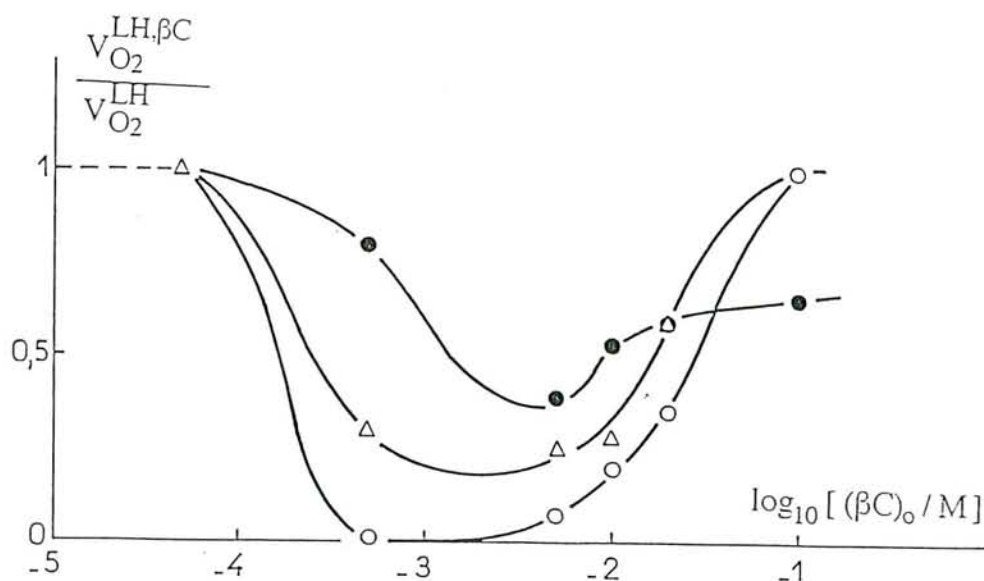
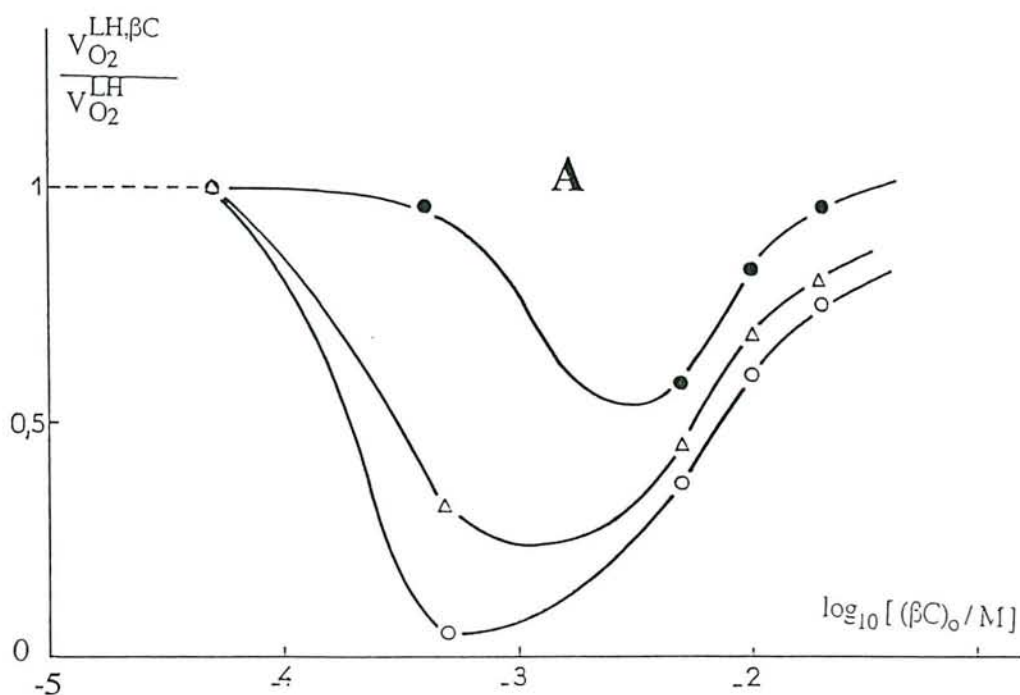


Figure III-4 -Oxydation induite par l'AIBN ($9 \cdot 10^{-2}$ M) du linoléate d'éthyle (0,4 M) en présence de βC (échantillon S_1) ; variations du rapport des vitesses de consommation de O_2 en présence et en l'absence de βC ($V_{O_2}^{LH,\beta C} / V_{O_2}^{LH}$) en fonction de $\log (\beta C)$ à différents temps de réaction. $T = 50^\circ C$. $\circ$: $t = 0$; Δ : $t = 10$ min ; $\bullet$: $t = 40$ min.
 $P_{O_2}^o = 150$ Torr (A) ; 50 Torr (B).

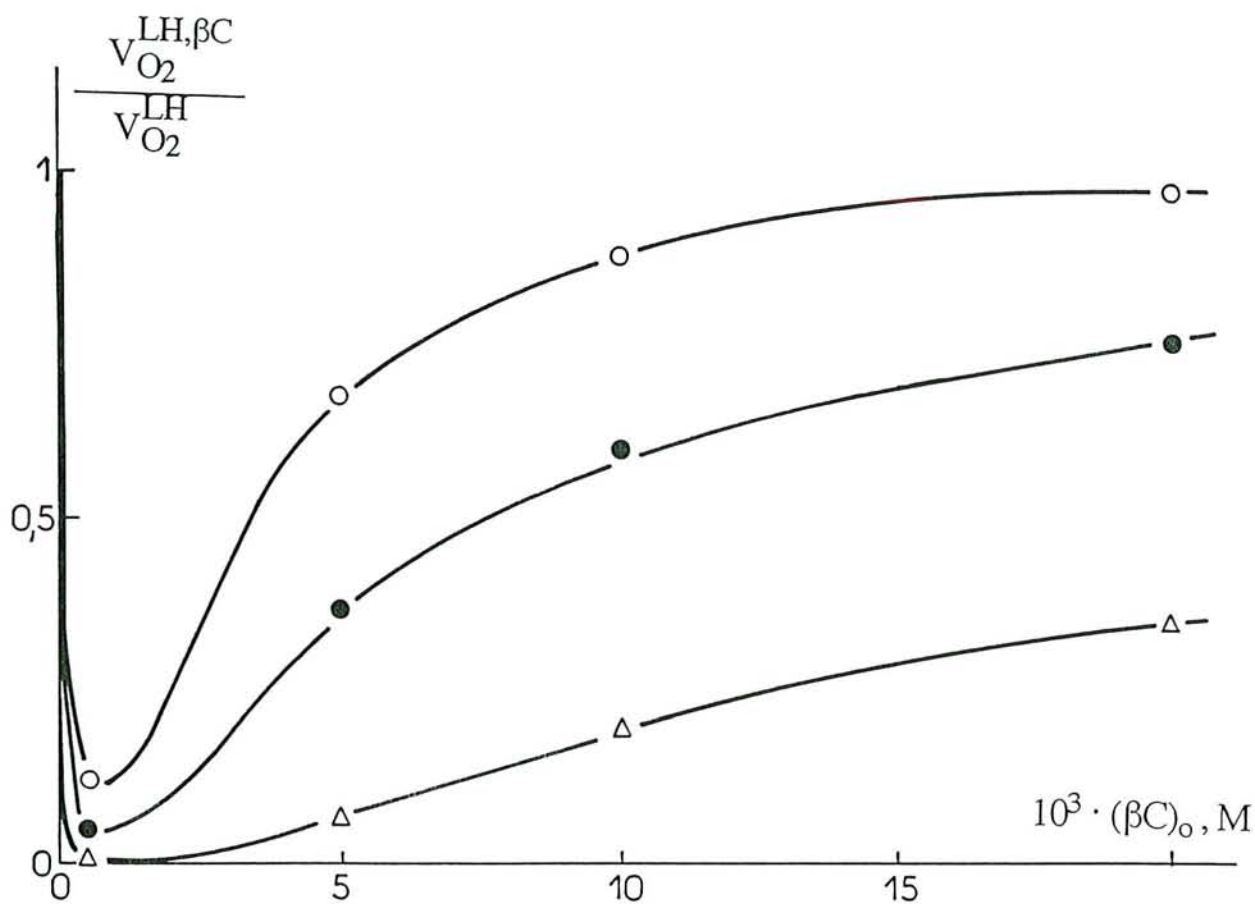


Figure III-5 - Oxydation induite par l'AIBN ($9 \cdot 10^{-2}$ M) du linoléate d'éthyle (0,4 M) en présence de βC (échantillon S₁) ; variations du rapport des vitesses de consommation de O_2 en présence et en l'absence de βC $(\frac{V_{O_2}^{LH, \beta C}}{V_{O_2}^{LH}})_0$ extrapolé à temps nul en fonction de $(\beta C)_0$. $T = 50^\circ C$.
 $P_{O_2}^0 = 50$ Torr (Δ); 150 Torr ($\bullet$); 450 Torr ($\circ$).

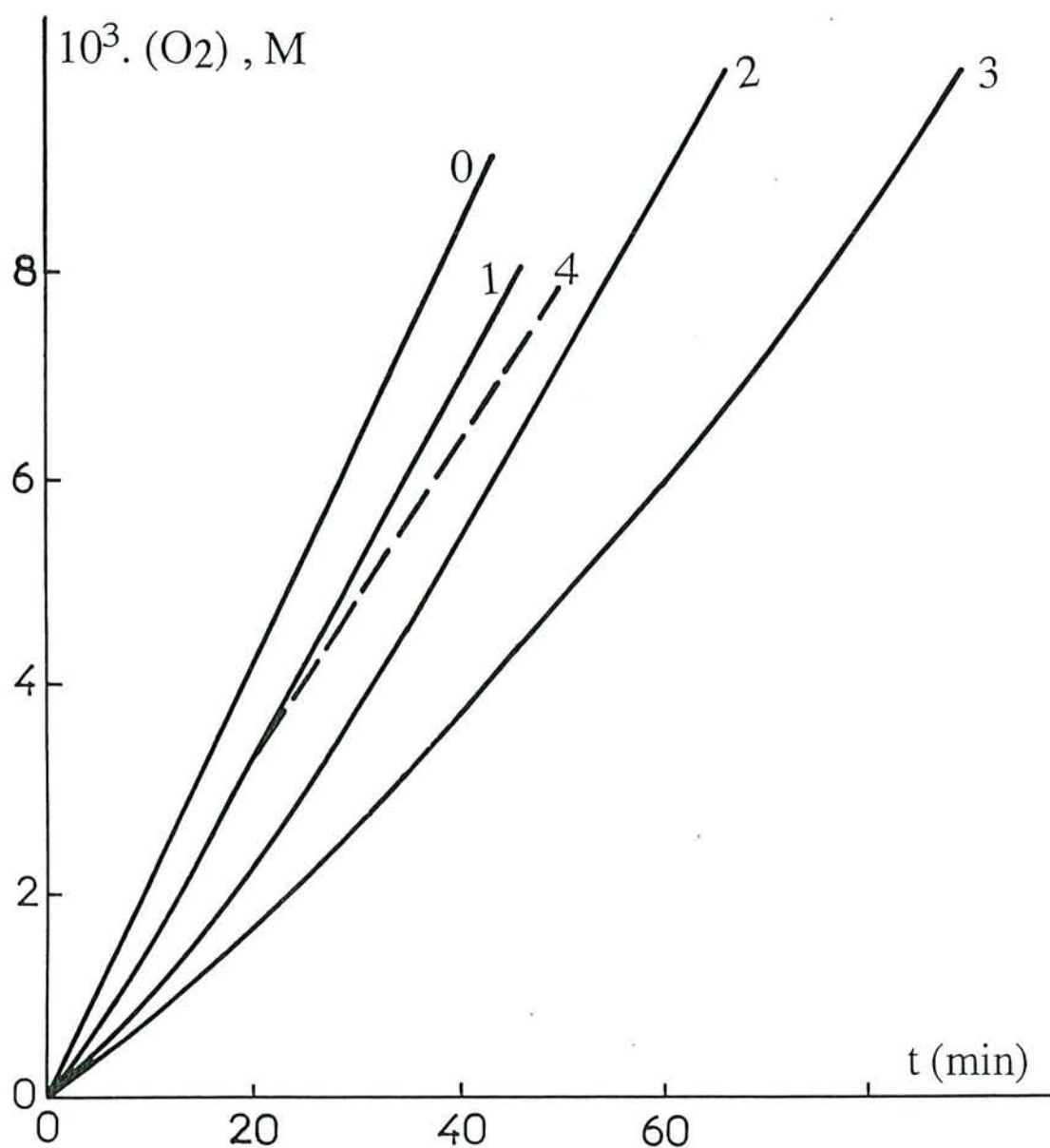


Figure III-6 - Influence de βC (échantillon S_0) sur l'oxygène consommé lors de l'oxydation du linoléate d'éthyle (0,4 M) induite par l'AIBN ($9 \cdot 10^{-2}$ M).
 $T = 50^\circ C$; $P_{O_2}^0 = 50$ Torr ; $(\beta C)_0 = 0$ (0); $5 \cdot 10^{-4}$ M (1); $5 \cdot 10^{-3}$ M (2); $2 \cdot 10^{-2}$ M (3); 10^{-1} M (4).

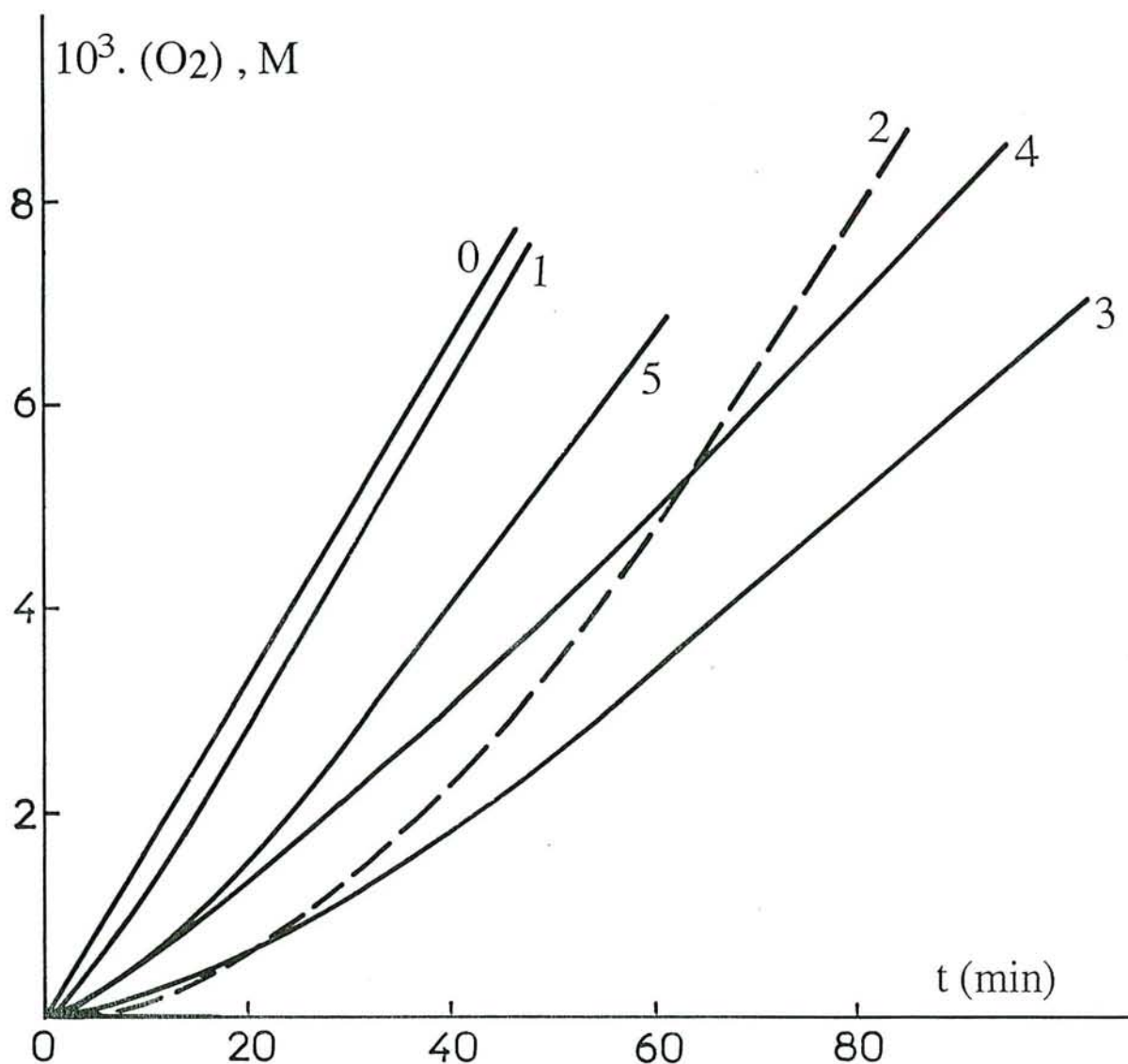


Figure III-7 - Influence de βC (échantillon S_{1p}) sur l'oxygène consommé lors de l'oxydation du linoléate d'éthyle (0,4 M) induite par l'AIBN ($9 \cdot 10^{-2}$ M).
 $T = 50^\circ C$; $P_{O_2}^0 = 50$ Torr ; $(\beta C)_0 = 0$ (0); 10^{-4} M (1); $5 \cdot 10^{-4}$ M (2); $5 \cdot 10^{-3}$ M (3); $2 \cdot 10^{-2}$ M (4); 10^{-1} M (5).

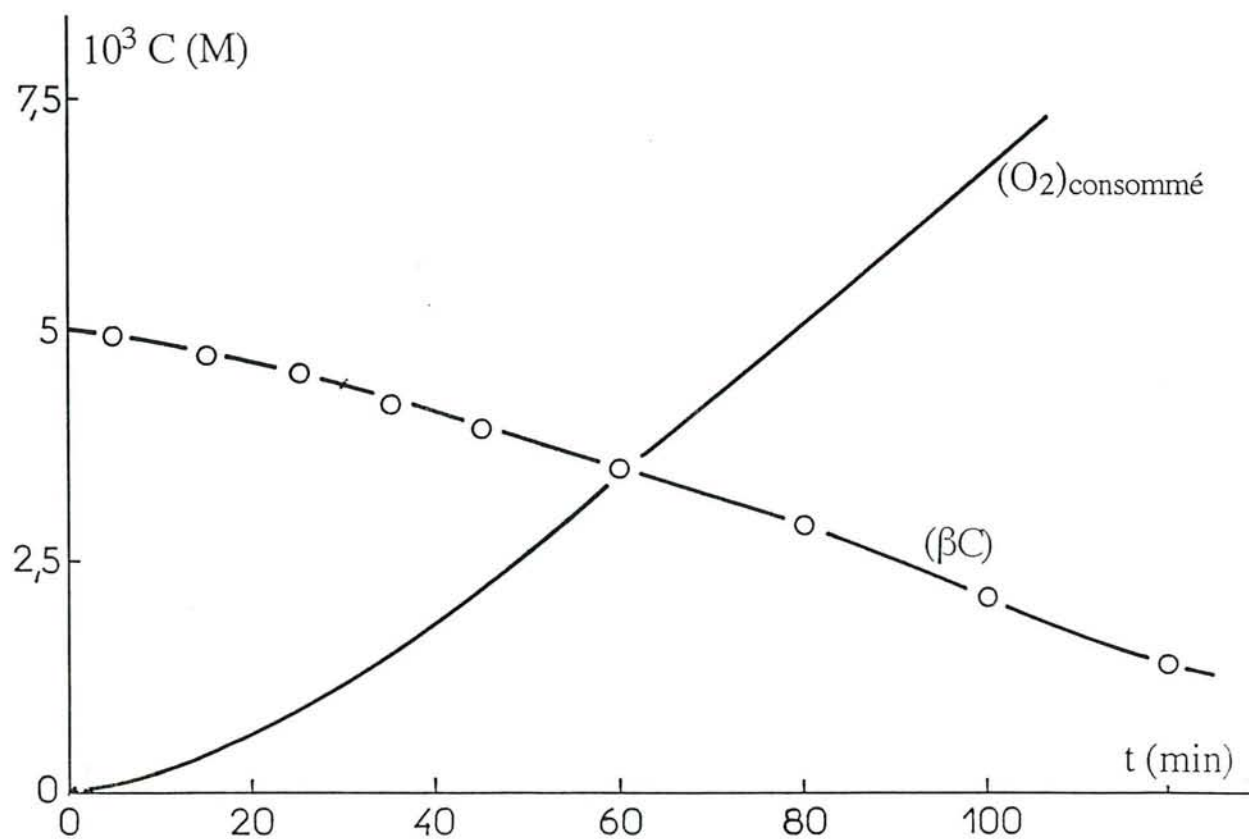


Figure III-8 - Oxydation induite par l'AIBN ($9 \cdot 10^{-2}$ M) du linoléate d'éthyle (0,4 M) en présence de β -carotène (échantillon S₃ : $5 \cdot 10^{-3}$ M).

Consommation de β C : — o —

Consommation d'oxygène : —

T = 50°C ; P_{O₂}^o = 50 Torr.

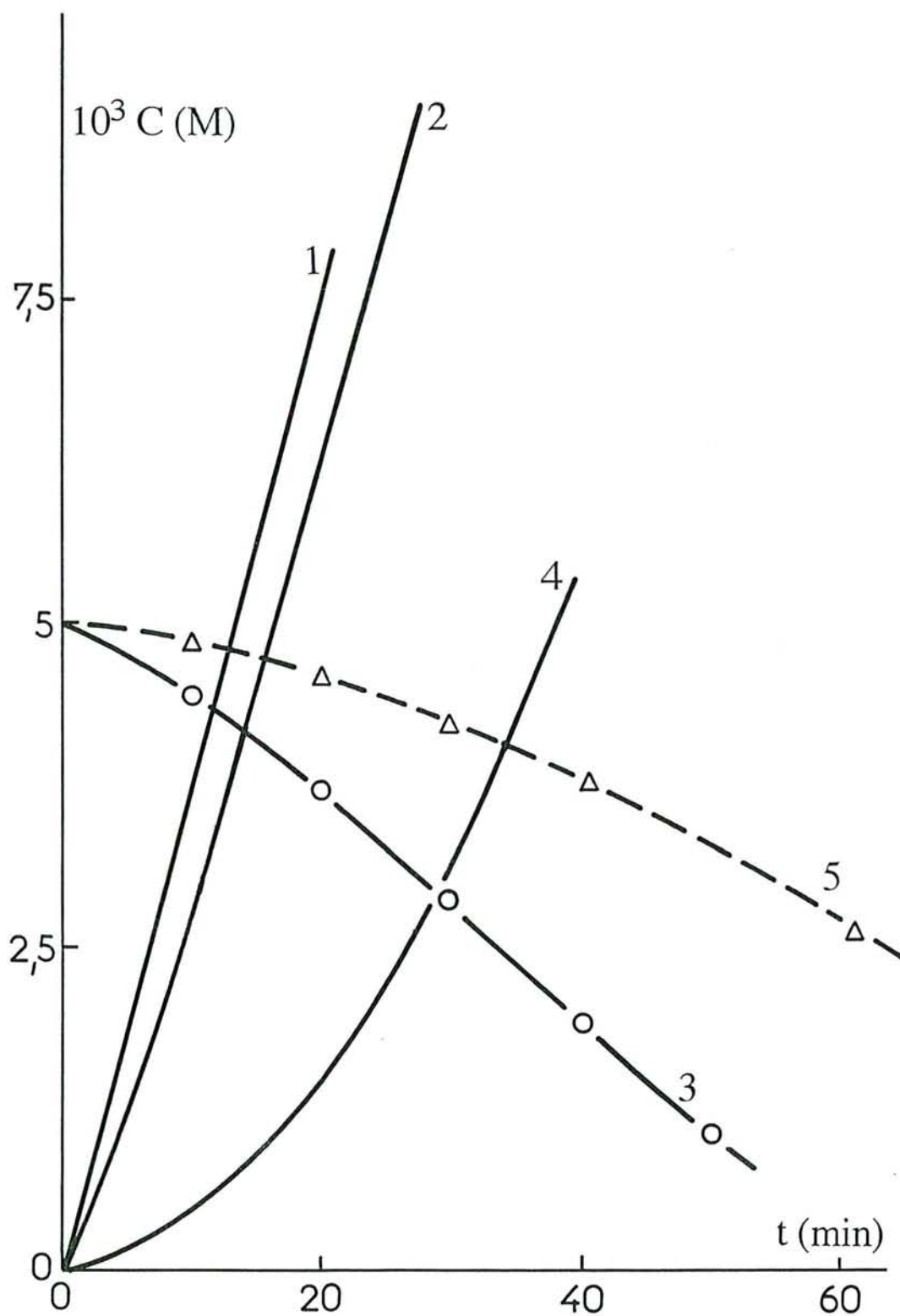


Figure III-9 - Oxydation induite par l'AIBN ($9 \cdot 10^{-2}$ M) du linoléate d'éthyle (0,4 M) en présence de β -carotène (échantillon S₃ ; $5 \cdot 10^{-3}$ M).

$T = 50^\circ\text{C}$; $P_{\text{O}_2}^0 = 450$ Torr.

1 : oxygène consommé par LH seul ; 2 : oxygène consommé par le mélange LH + β C ; 3 : β C consommé en présence de LH ; 4 : oxygène consommé par β C seul ; 5 : β C consommé en l'absence de LH.

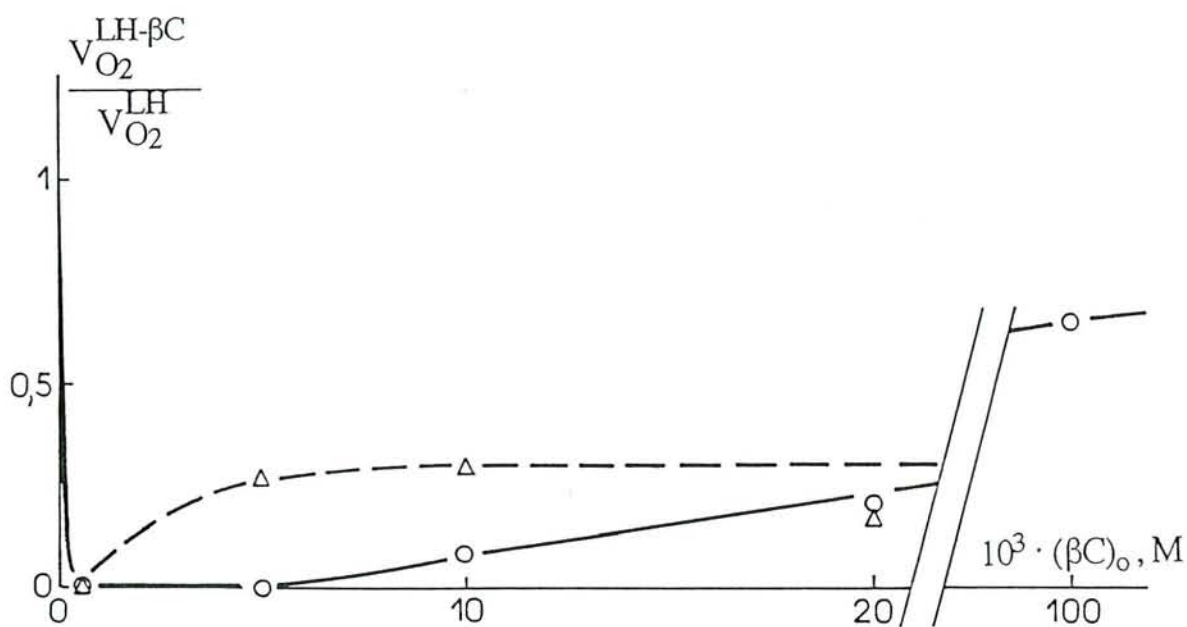


Figure III-10 - Oxydation induite par l'AIBN ($9 \cdot 10^{-2} \text{ M}$) du linoléate d'éthyle ($0,4 \text{ M}$) en présence de βC (échantillon S_1) ; variations du rapport, extrapolé à temps nul, des vitesses $(\frac{V_{O_2}^{LH-\beta C}}{V_{O_2}^{LH}})_0$ de consommation d'oxygène par le linoléate seul, en présence et en l'absence de βC , en fonction de $(\beta C)_0$.

$T = 50^\circ C$; $\Delta : P_{O_2}^0 = 450 \text{ Torr}$; $O : P_{O_2}^0 = 50 \text{ Torr}$.

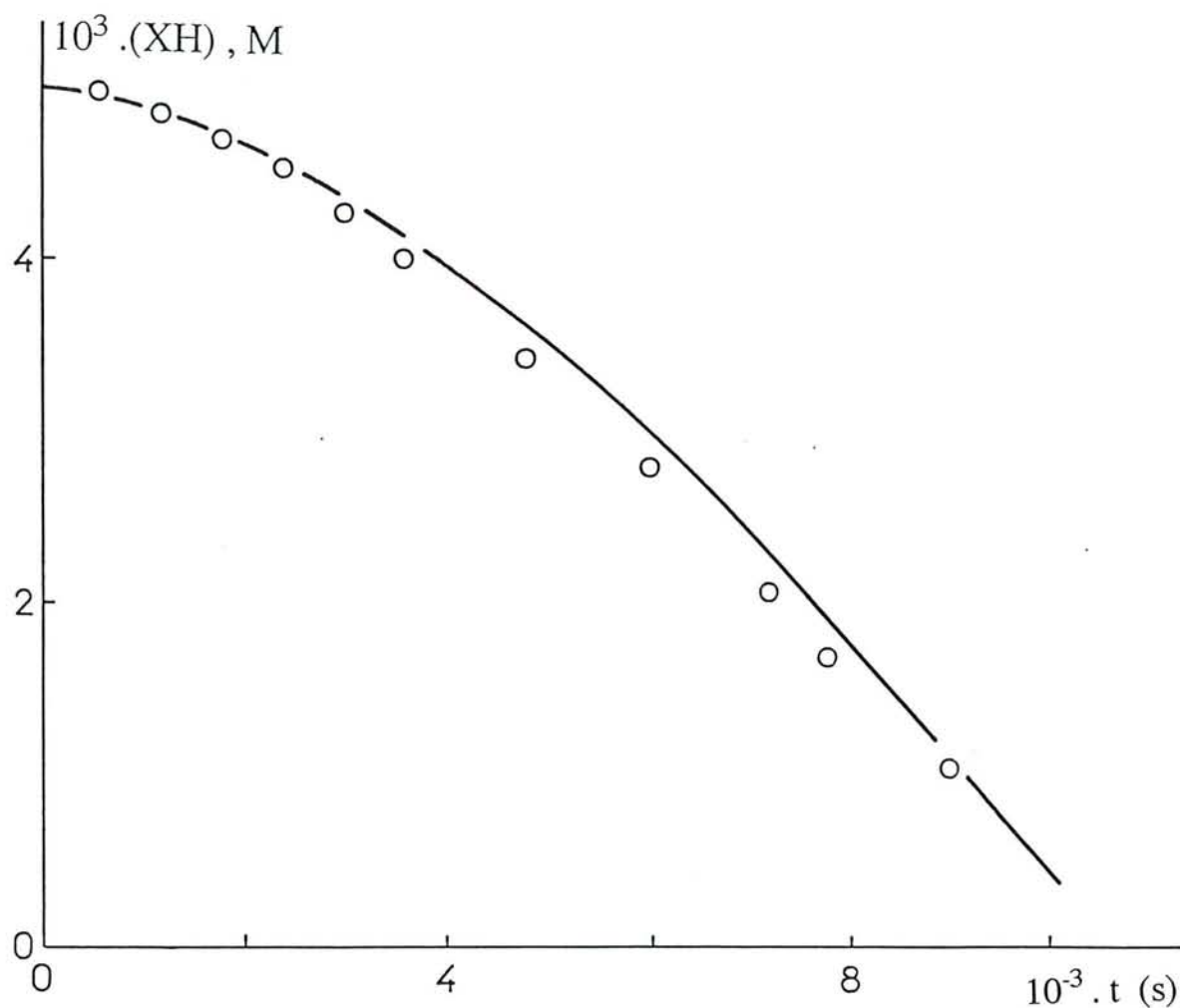


Figure III-11 - Oxydation induite du β -carotène. Points expérimentaux et courbes calculées de la consommation de β -carotène au cours du temps.

$(XH)_0 = 5 \cdot 10^{-3} \text{ M}$; $(AIBN)_0 = 9 \cdot 10^{-3} \text{ M}$; $P_{O_2}^0 = 450 \text{ Torr}$.

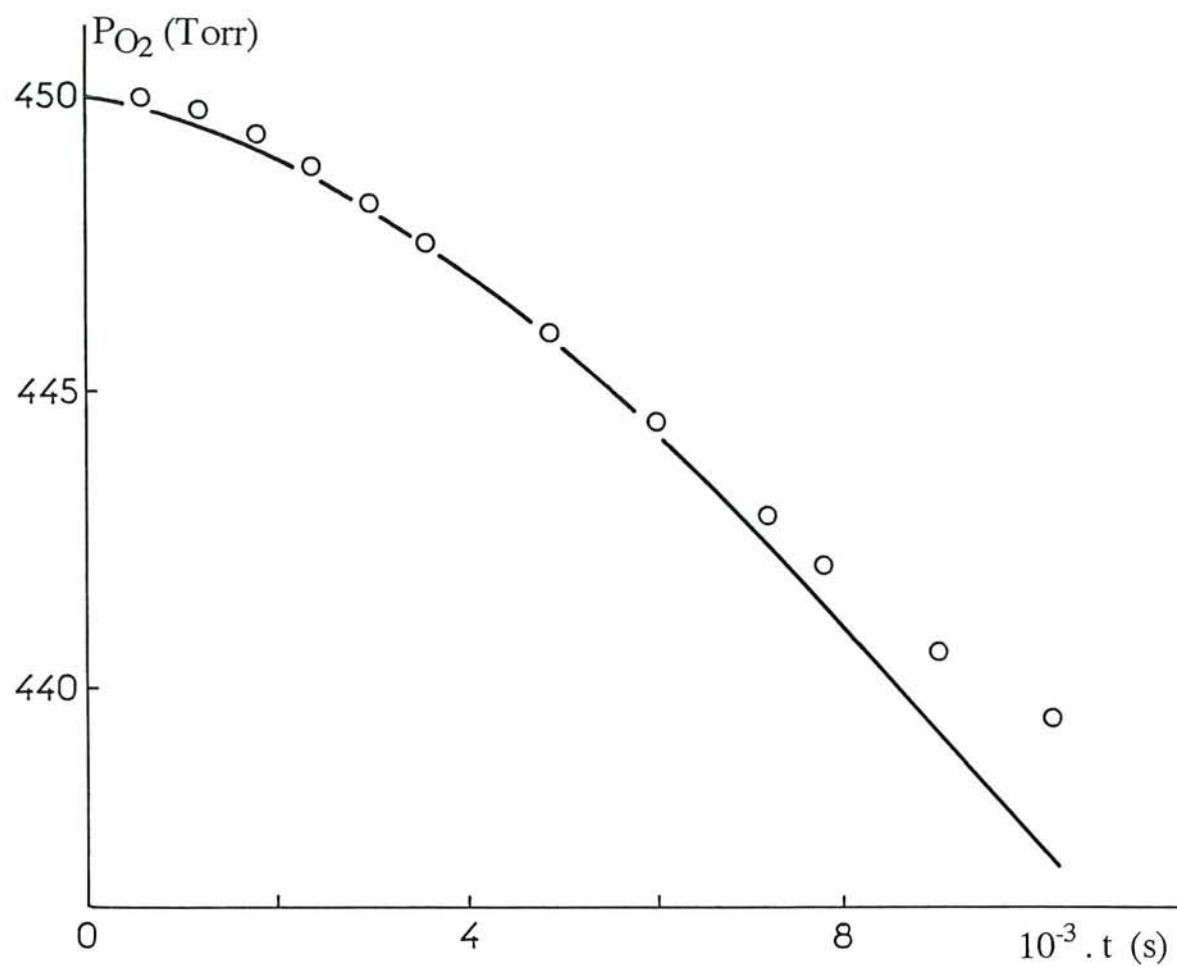


Figure III-12 - Oxydation induite du β -carotène. Points expérimentaux et courbes calculées de la consommation d'oxygène au cours du temps.

$(XH)_0 = 5 \cdot 10^{-3} \text{ M}$; $(AIBN)_0 = 9 \cdot 10^{-3} \text{ M}$; $P_{O_2}^0 = 450 \text{ Torr}$.

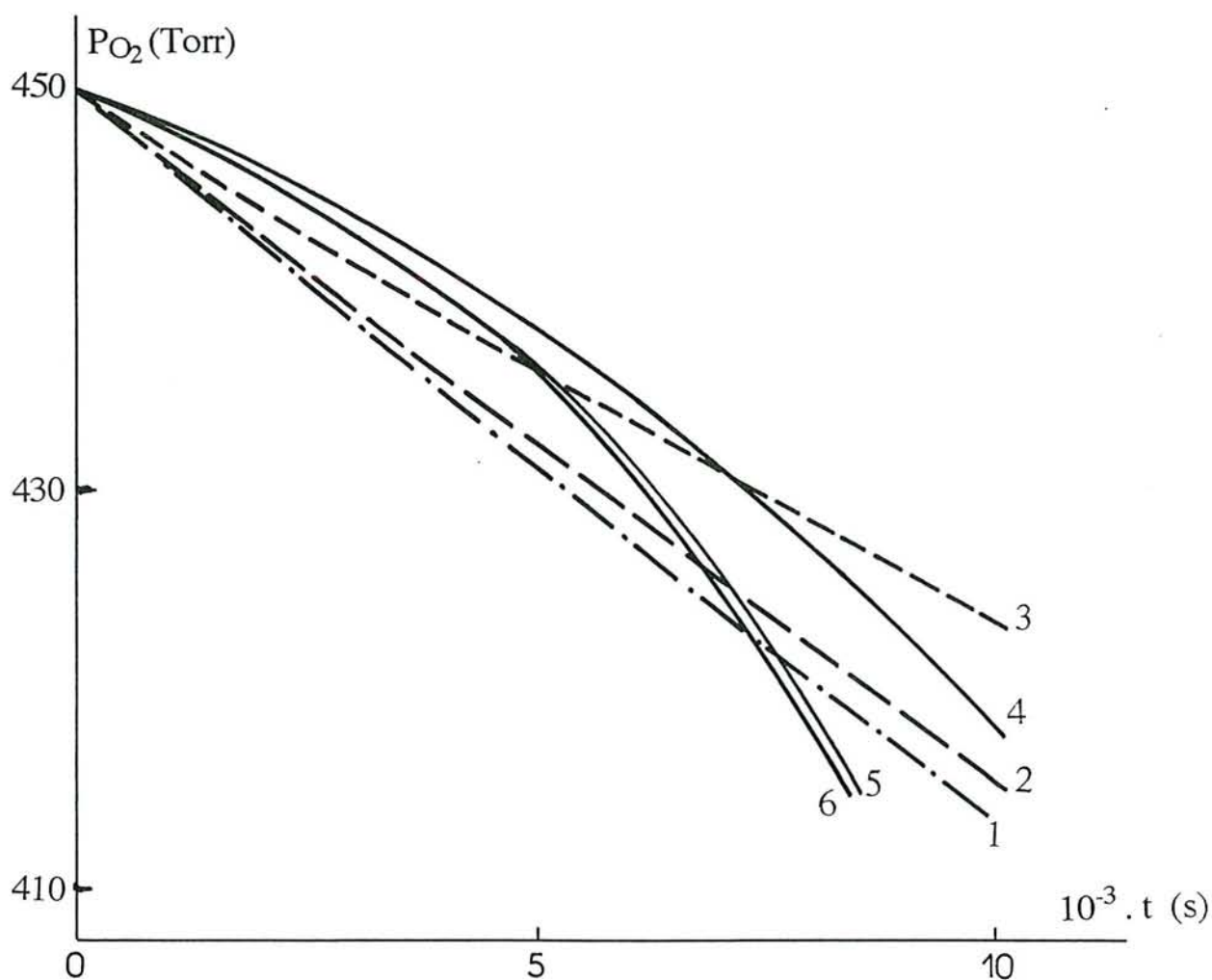


Figure III-13 - Oxydation induite du linoléate d'éthyle en présence de β -carotène. Courbes calculées de la consommation d'oxygène au cours du temps.

$(LH)_0 = 0,4 \text{ M}$; $(AIBN)_0 = 9 \cdot 10^{-2} \text{ M}$; $P_{O_2}^0 = 450 \text{ Torr}$; $(XH)_0 = 0$ (1) ;
 $5 \cdot 10^{-4} \text{ M}$ (2) ; $5 \cdot 10^{-3} \text{ M}$ (3) ; $5 \cdot 10^{-2} \text{ M}$ (4) ; $5 \cdot 10^{-1} \text{ M}$ (5) ; 5 M (6).

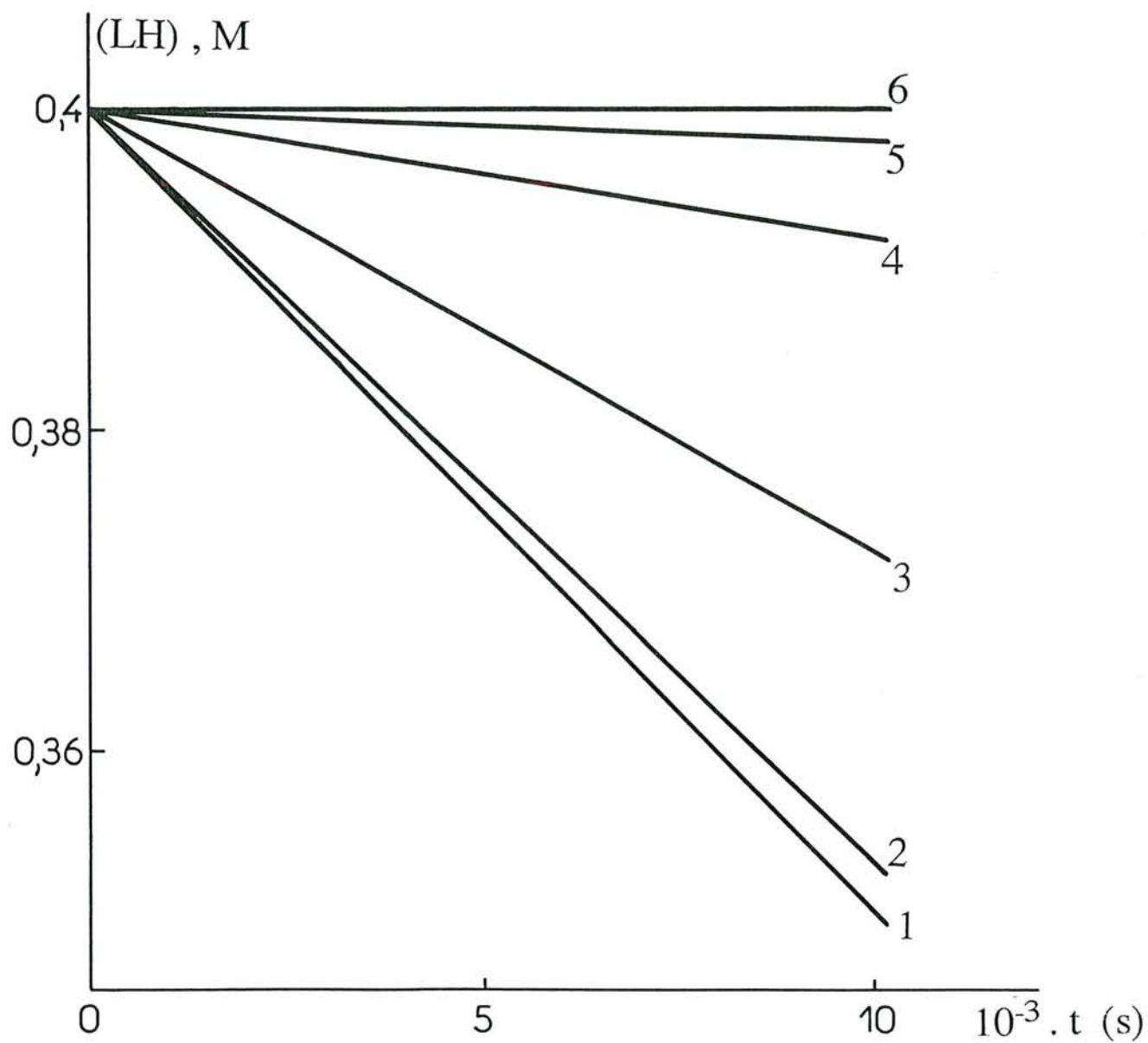


Figure III-14 - Oxydation induite du linoléate d'éthyle en présence de β -carotène. Courbes calculées de la consommation du linoléate d'éthyle (LH) au cours du temps.

$(LH)_0 = 0,4 \text{ M}$; $(AIBN)_0 = 9 \cdot 10^{-2} \text{ M}$; $P_{O_2}^0 = 450 \text{ Torr}$; $(XH)_0 = 0$ (1) ;
 $5 \cdot 10^{-4} \text{ M}$ (2) ; $5 \cdot 10^{-3} \text{ M}$ (3) ; $5 \cdot 10^{-2} \text{ M}$ (4) ; $5 \cdot 10^{-1} \text{ M}$ (5) ; 5 M (6).

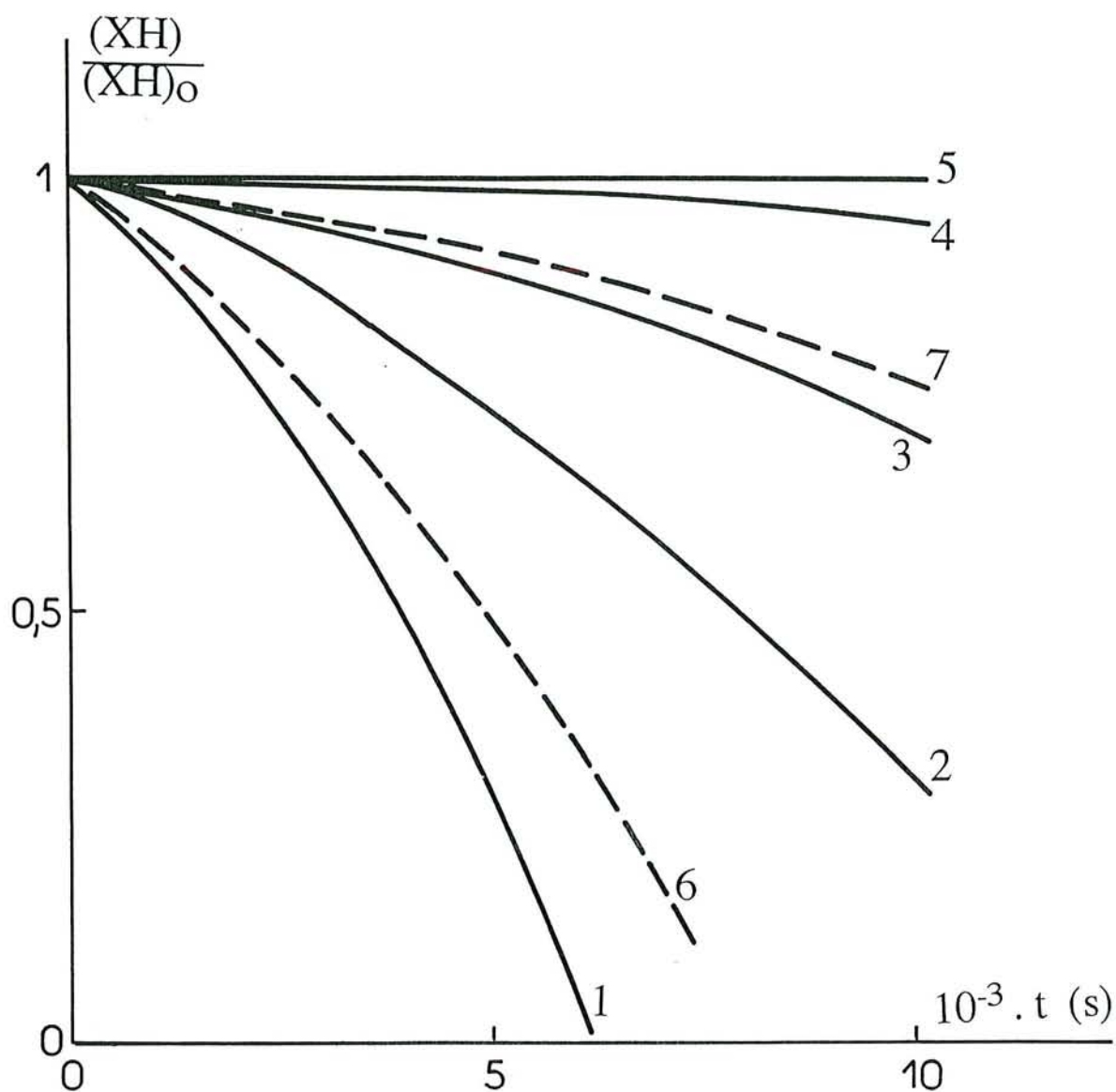


Figure III-15 - Oxydation induite du linoléate d'éthyle en présence de β -carotène. Courbes calculées de la consommation du β -carotène au cours du temps.

$(LH)_0 = 0,4 \text{ M}$; $(AIBN)_0 = 9.10^{-2} \text{ M}$.

$P_{O_2}^0 = 450 \text{ Torr}$ (—) : $(XH)_0 = 5.10^{-4} \text{ M}$ (1) ; 5.10^{-3} M (2) ; 5.10^{-2} M (3) ; 5.10^{-1} M (4) ; 5 M (5).

$P_{O_2}^0 = 50 \text{ Torr}$ (- - - -) : $(XH)_0 = 5.10^{-4} \text{ M}$ (6) ; 5.10^{-3} M (7).

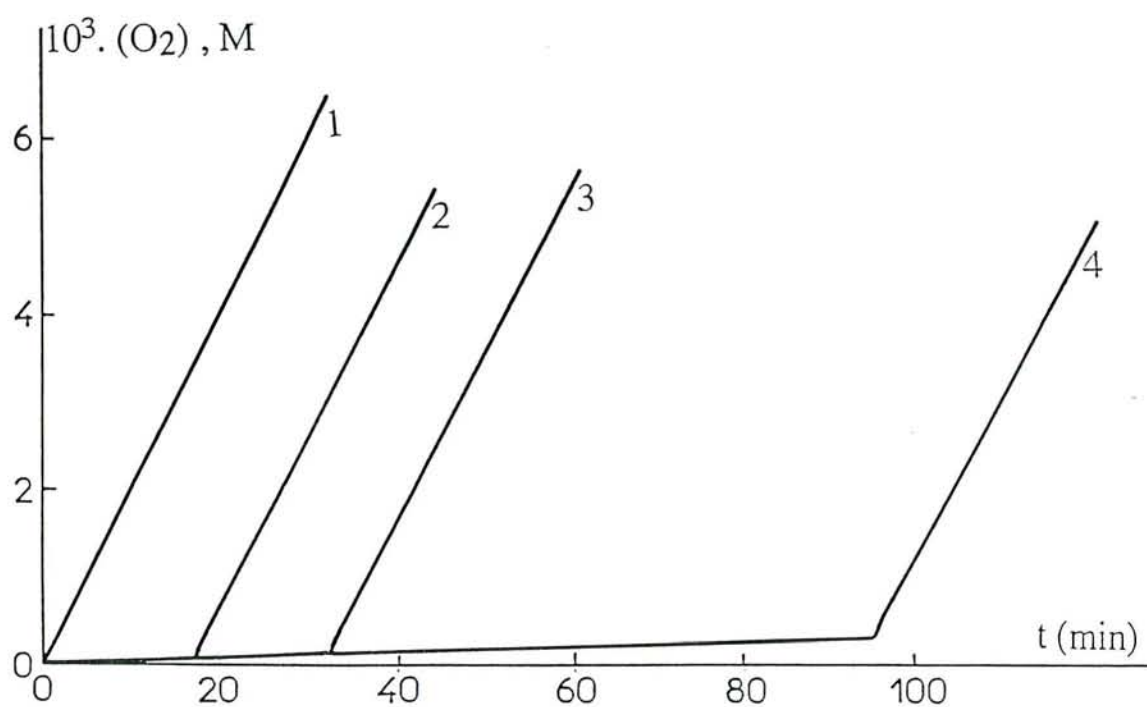


Figure IV-1 - Influence de l' α -tocophérol (TH) sur l'oxygène consommé lors de l'oxydation du linoléate d'éthyle (0,4 M) induite par l'AIBN ($9 \cdot 10^{-2}$ M).

$T = 50^\circ\text{C}$; $P_{\text{O}_2}^0 = 50 \text{ Torr}$.

$(\text{TH})_0 = 0$ (1); 10^{-4} M (2); $2 \cdot 10^{-4}$ M (3); $5 \cdot 10^{-4}$ M (4).

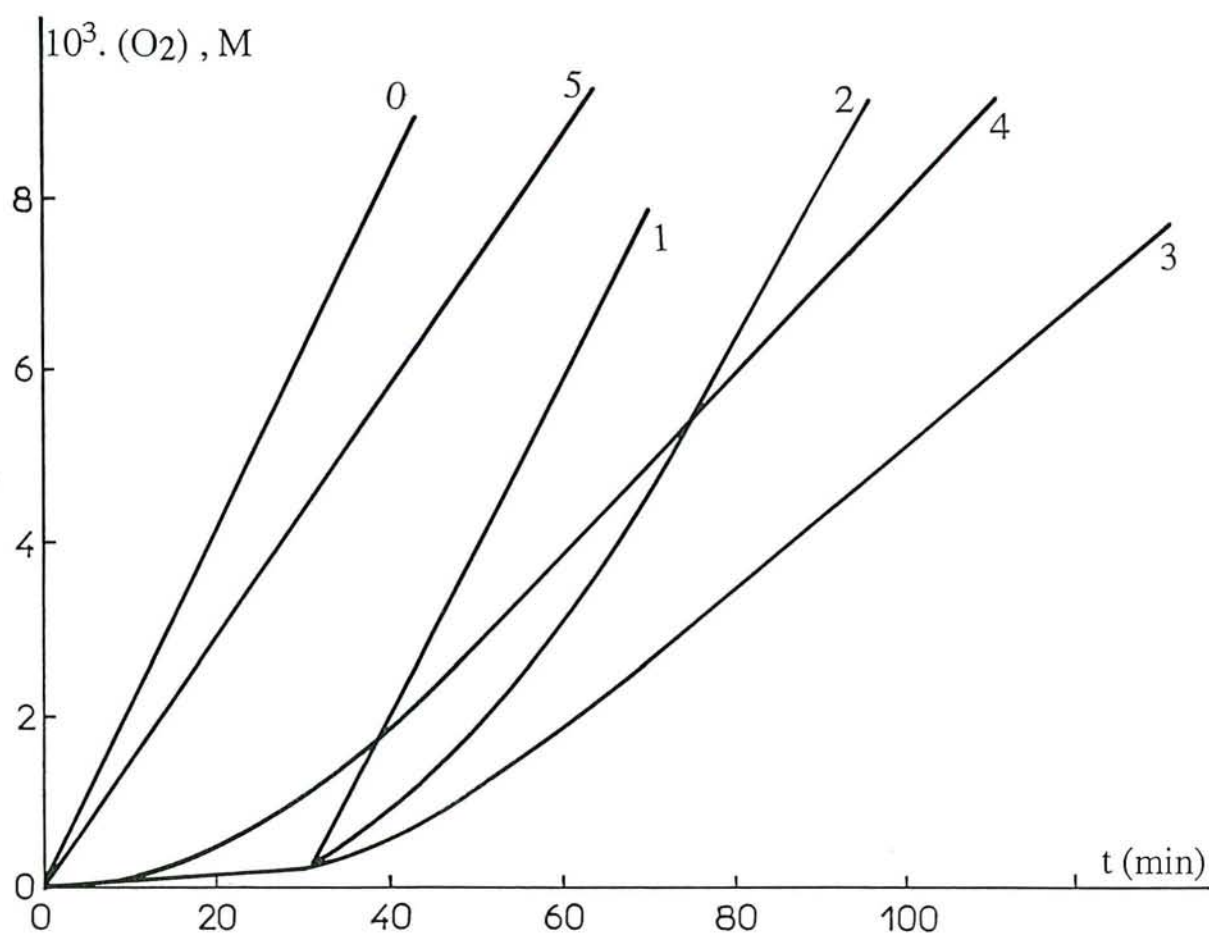


Figure IV-2 - Influence du mélange TH-βC sur l'oxygène consommé lors de l'oxydation du linoléate d'éthyle (0,4 M) induite par l'AIBN ($9 \cdot 10^{-2}$ M) : influence de la concentration initiale de l'échantillon S₁ du β-carotène.

$T = 50^{\circ}\text{C}$; $P_{\text{O}_2}^{\circ} = 50$ Torr. $(\text{TH})_0 = 0$ et $(\beta\text{C})_0 = 0$ (0).

$(\text{TH})_0 = 2 \cdot 10^{-4}$ M et $(\beta\text{C})_0 = 0$ (1); $5 \cdot 10^{-4}$ M (2); $5 \cdot 10^{-3}$ M (3) ; $2 \cdot 10^{-2}$ M (4); 10^{-1} M (5).

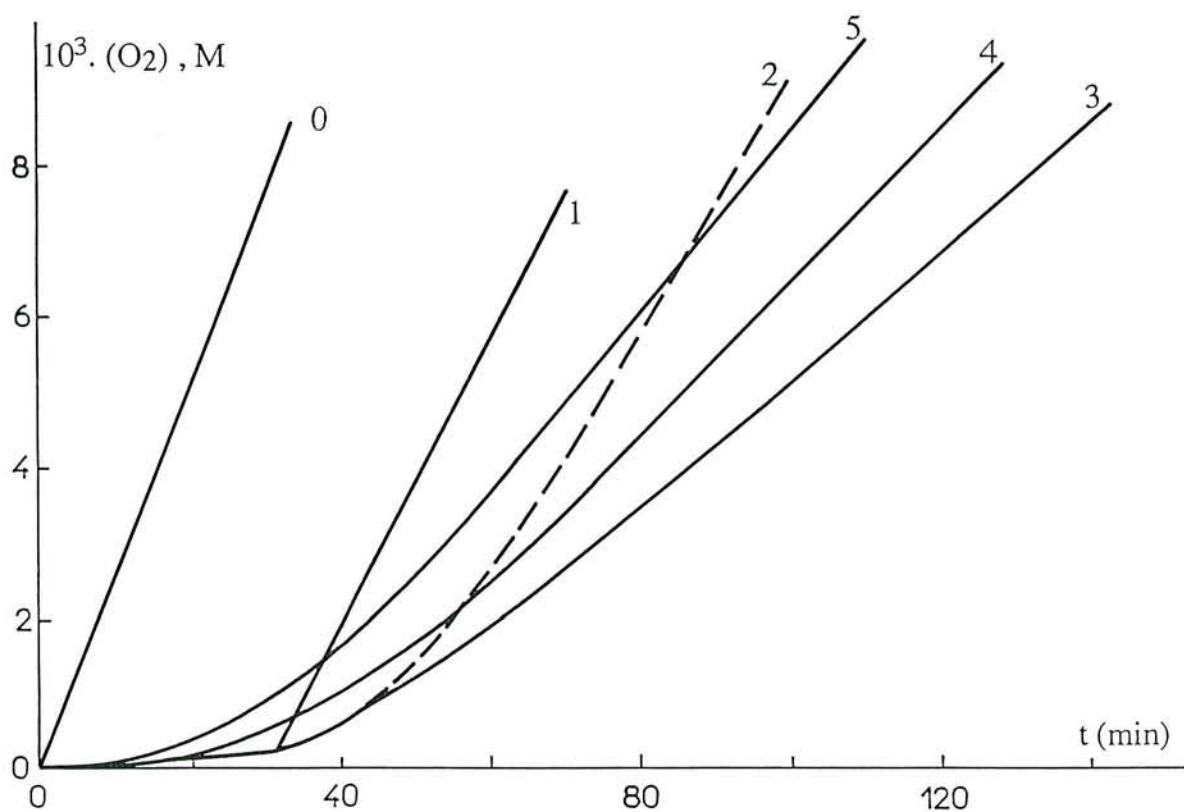


Figure IV-3 - Influence du mélange TH- β C sur l'oxygène consommé lors de l'oxydation du linoléate d'éthyle (0,4 M) induite par l'AIBN ($9 \cdot 10^{-2}$ M) : influence de la concentration initiale de l'échantillon S_{1p} de β -carotène.

$T = 50^\circ\text{C}$; $P_{\text{O}_2}^0 = 50$ Torr. $(\text{TH})_0 = 0$ et $(\beta\text{C})_0 = 0$ (0)

$(\text{TH})_0 = 2 \cdot 10^{-4}$ M et $(\beta\text{C})_0 = 0$ (1); $5 \cdot 10^{-4}$ M (2); $5 \cdot 10^{-3}$ M (3); $2 \cdot 10^{-2}$ M (4); 10^{-1} M (5).

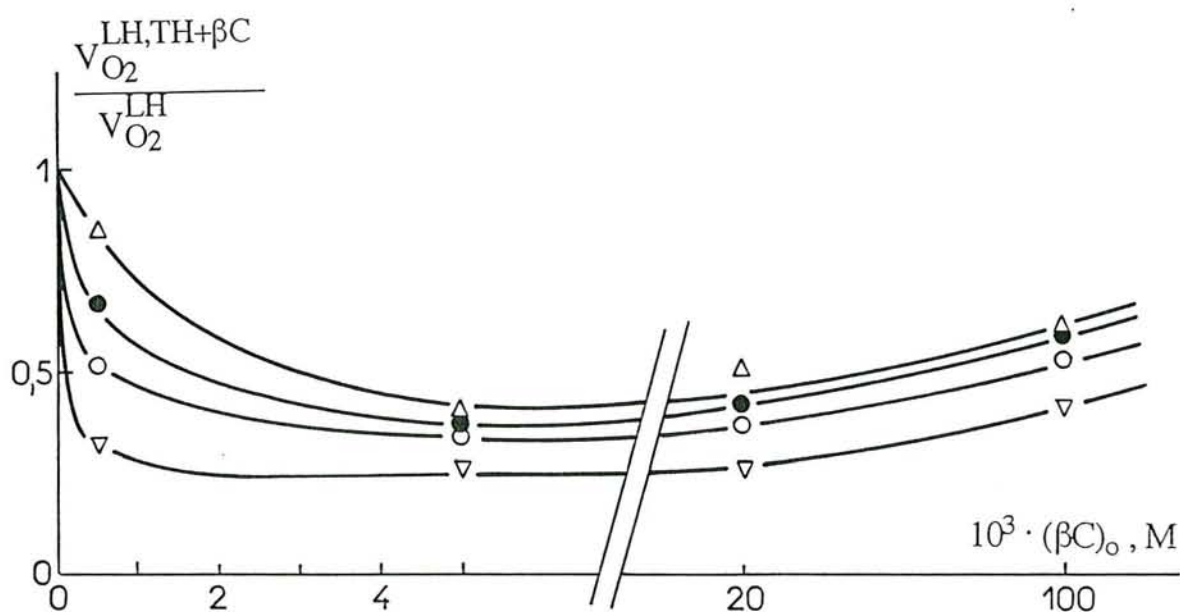


Figure IV-4 -Oxydation induite par l'AIBN ($9 \cdot 10^{-2}$ M) du linoléate d'éthyle (0,4 M) en présence du mélange TH- β C ; variations du rapport des vitesses de consommation d'oxygène en présence et en l'absence de TH+ β C en fonction de la concentration initiale de β C à différents temps de réaction.

$T = 50^\circ\text{C}$; $P_{\text{O}_2}^0 = 50$ Torr ; $(\text{TH})_0 = 2 \cdot 10^{-4}$ M.

∇ : $t = 40$ min ; $\circ$: $t = 50$ min ; $\bullet$: $t = 60$ min ; Δ : $t = 80$ min.

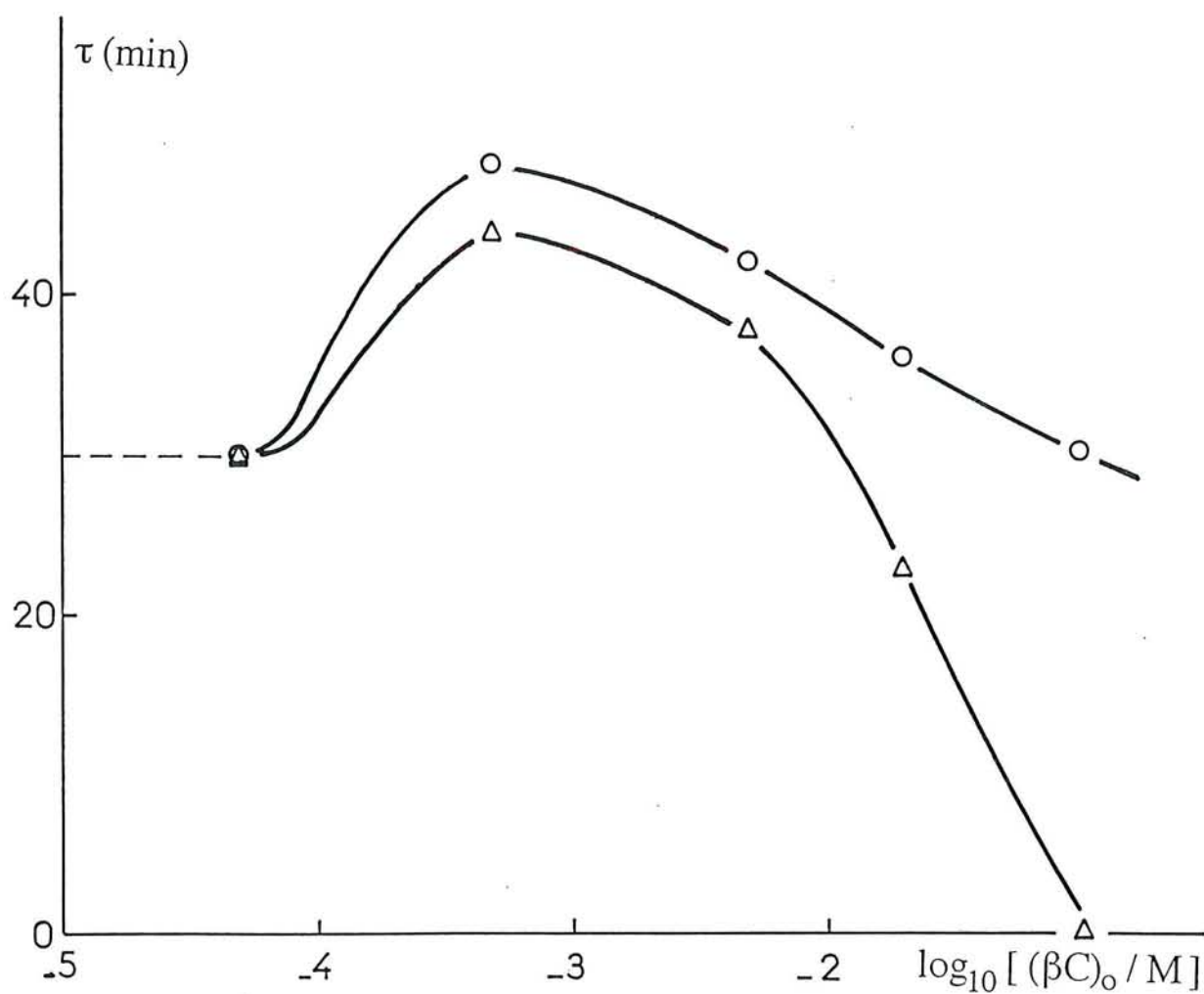


Figure IV-5 - Oxydation induite par l'AIBN ($9 \cdot 10^{-2}$ M) du linoléate d'éthyle (0,4 M) en présence du mélange TH- β C ; variations de la période d'inhibition (τ) en fonction de $\log (\beta C)_0$. $T = 50^\circ\text{C}$; $P_{\text{O}_2}^0 = 50$ Torr ; $(\text{TH})_0 = 2 \cdot 10^{-4}$ M.
O : échantillon S_{1p} ; Δ : échantillon S_1 .

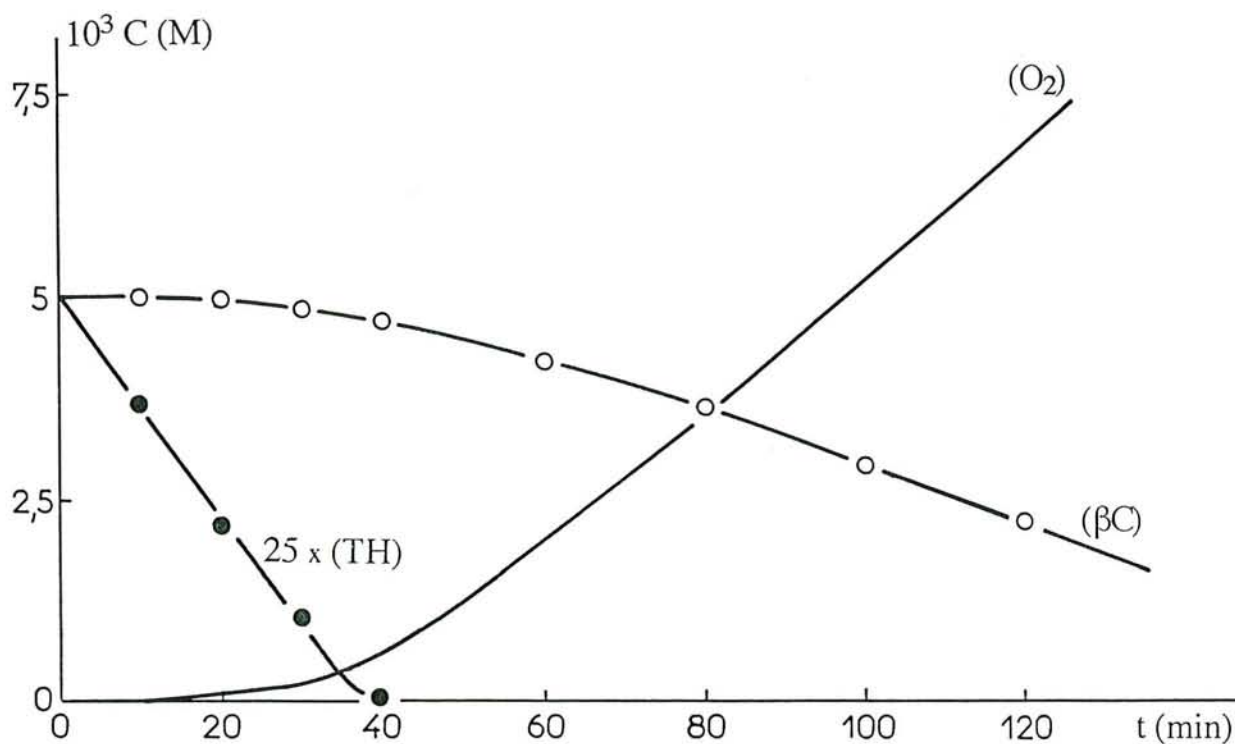


Figure IV-6 -Oxydation induite par l'AIBN (9.10^{-2} M) du linoléate d'éthyle (0,4 M) en présence du mélange TH-βC.

$T = 50^{\circ}\text{C}$; $P_{\text{O}_2}^0 = 50$ Torr ; $(\beta\text{C})_0 = 5.10^{-3}$ M ; $(\text{TH})_0 = 2.10^{-4}$ M.

o : βC consommé (échantillon S_{1p}) ; ● : TH consommé ;

— : consommation d'oxygène.

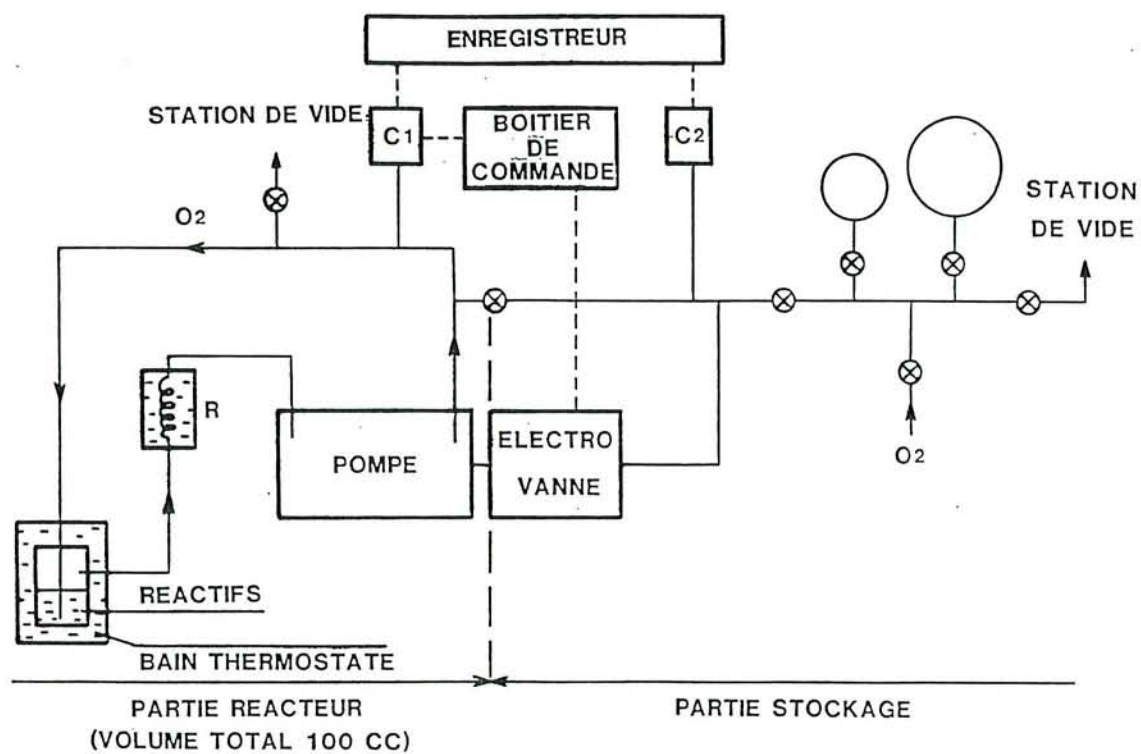


Figure A.I.1 - Schéma du dispositif expérimental.
 C₁ et C₂ : capteurs électroniques de pression.
 R : réfrigérant

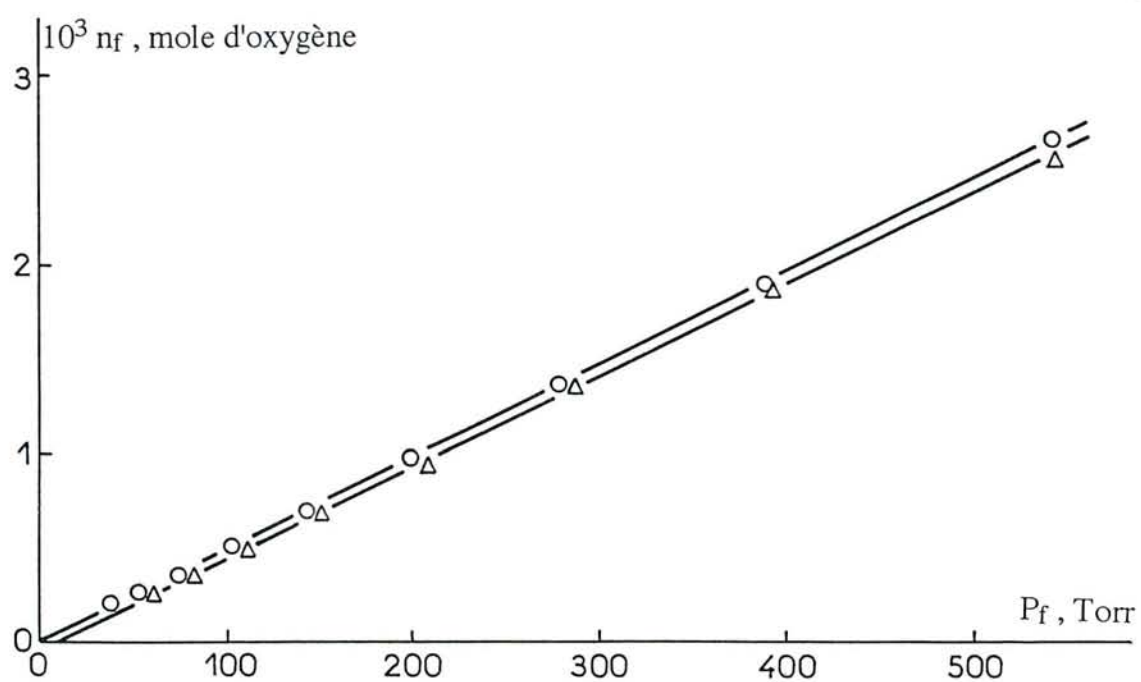


Figure A.I.2 - Conversion de la pression en nombre de moles d'oxygène. Effet de solvant sur la variation du nombre de moles en fonction de la pression d'oxygène : o : dans l'heptanol ; Δ : dans le chlorobenzène.

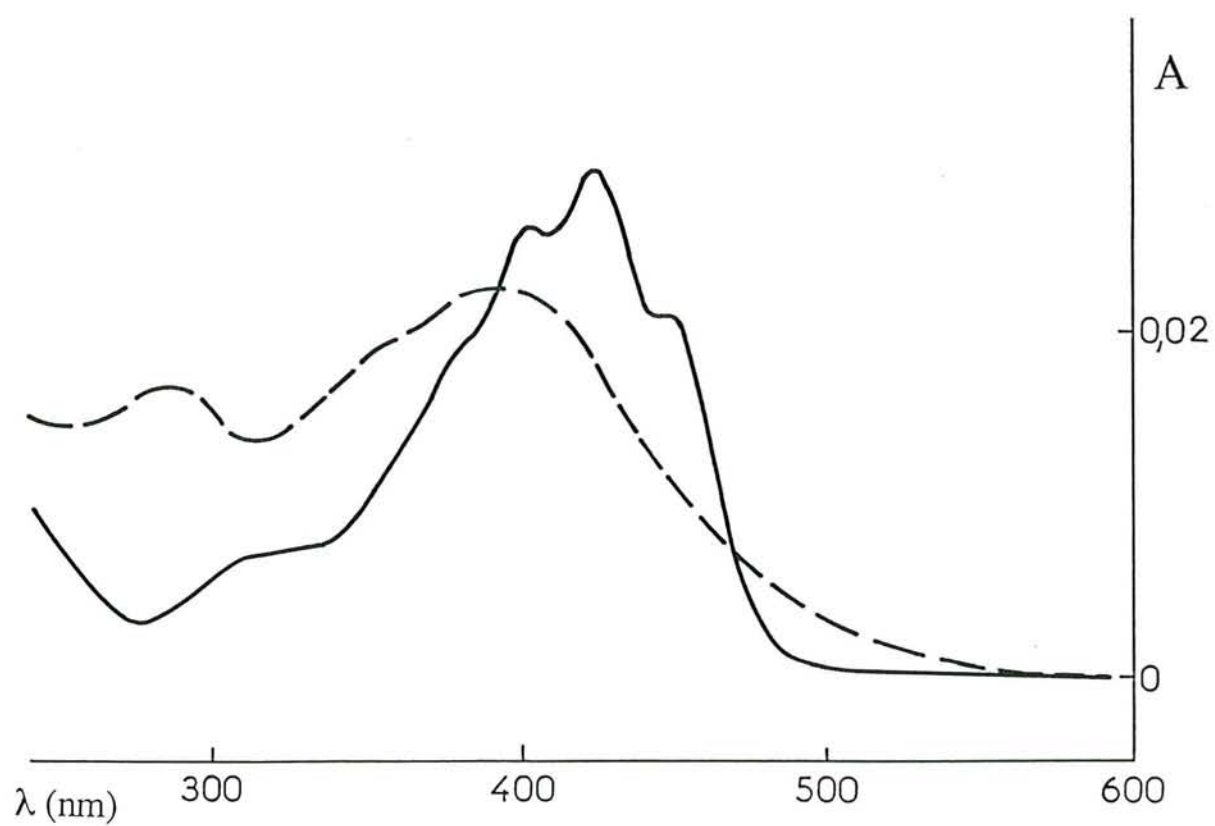


Figure A.I.3 - Spectre d'absorption U.V-visible des produits PR1 (- - - -) et PR2 (—) dans le méthanol.

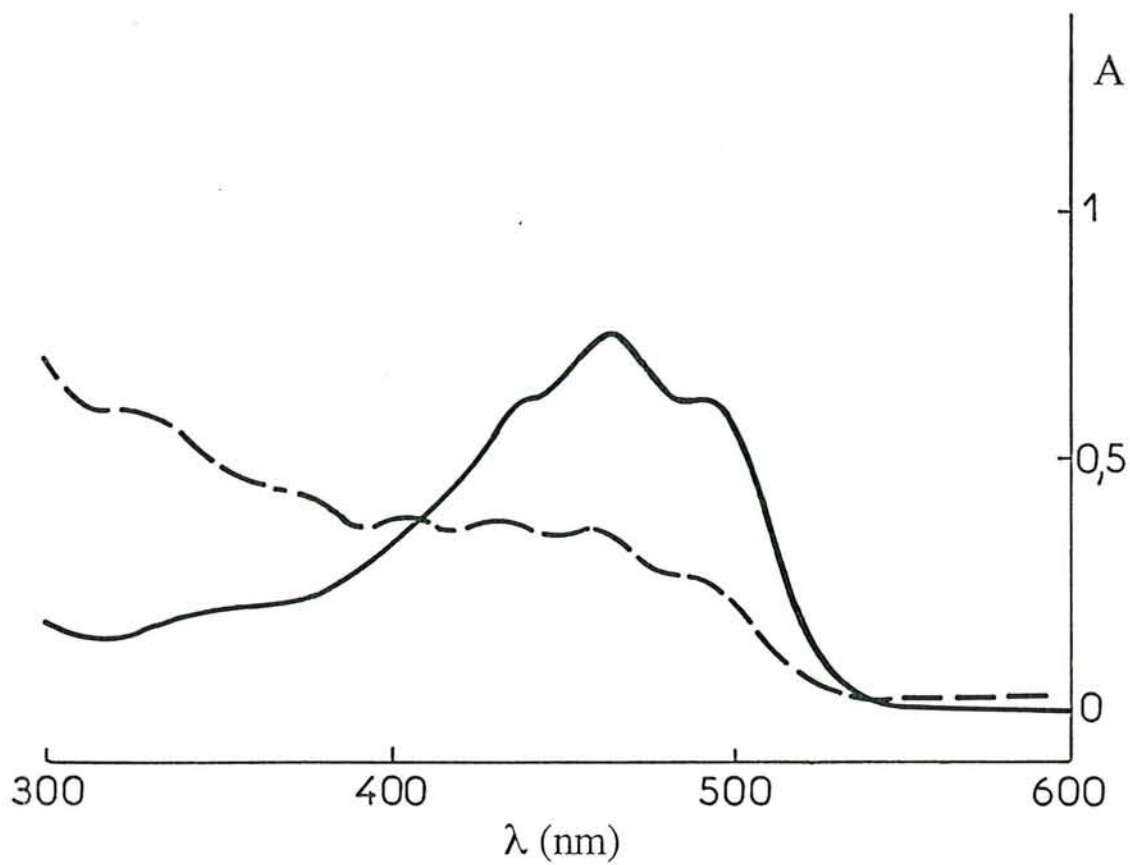


Figure A.I.4 - Spectre d'absorption U.V-visible du β -carotène des échantillons S₂ et S₀ dans le chlorobenzène.
 — : S₂ : $5 \cdot 10^{-5}$ M ; - - - - : S₀ : $5 \cdot 10^{-4}$ M.

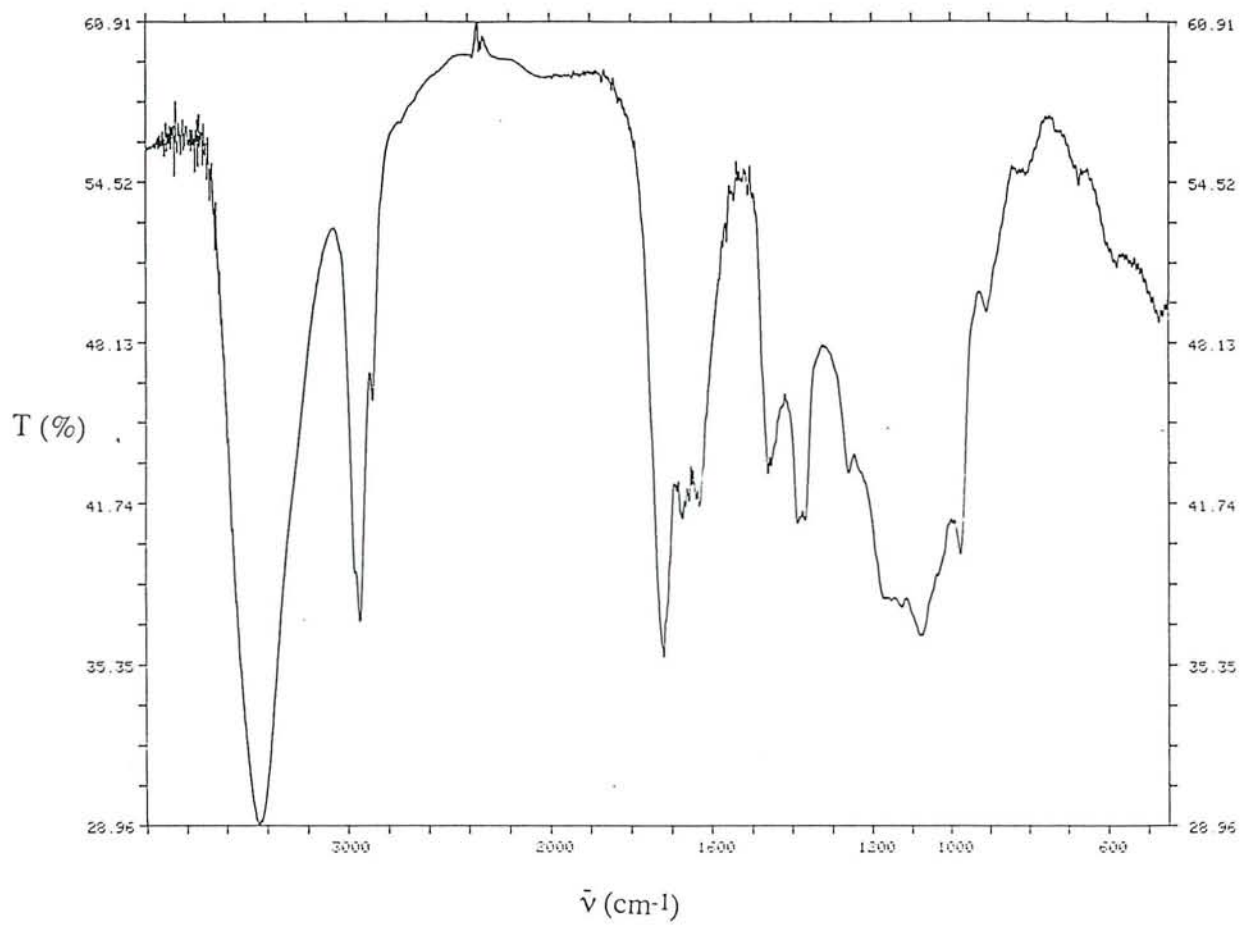


Figure A.I.5 - Spectre d'absorption infra-rouge du β -carotène S_0 .

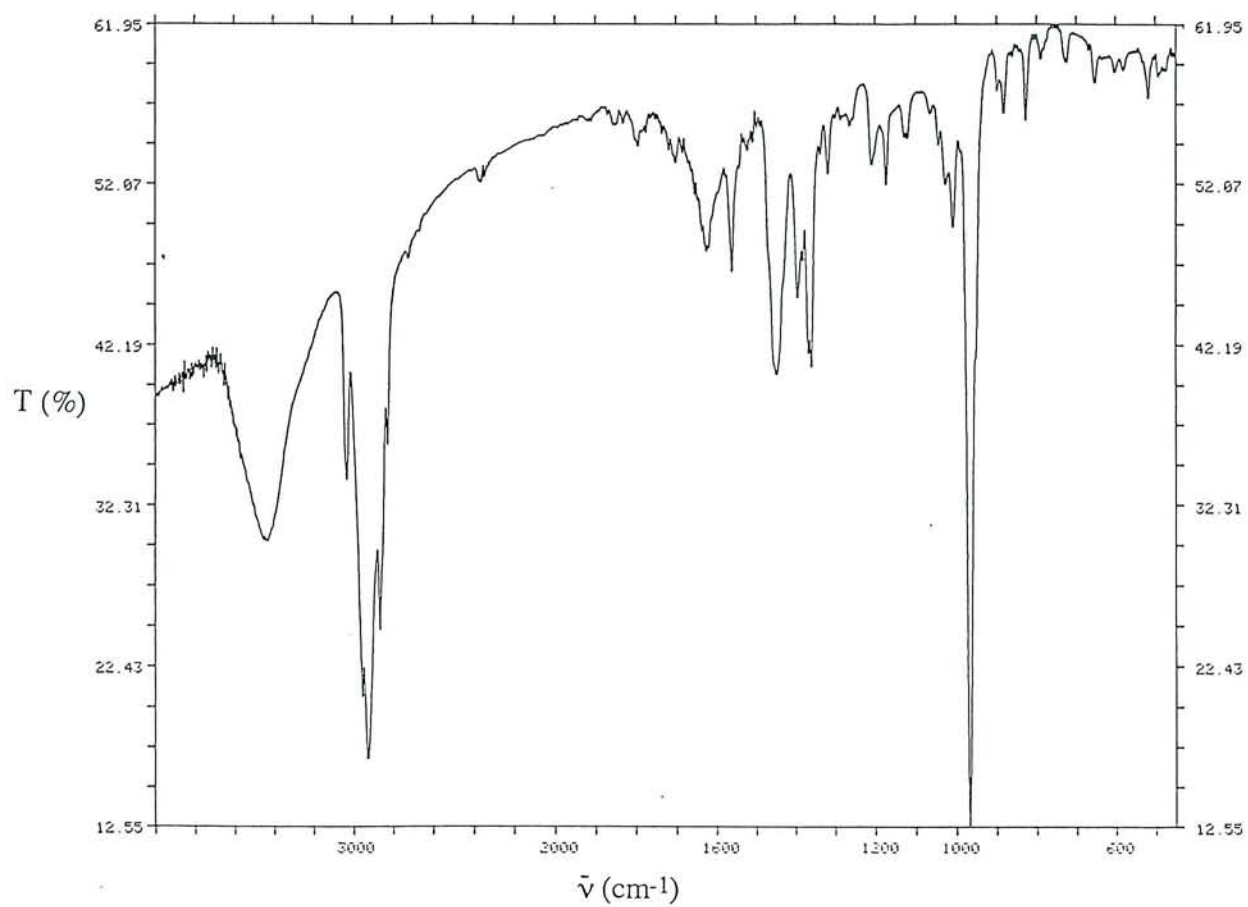


Figure A.I.6 - Spectre d'absorption infra-rouge du β -carotène S₂.

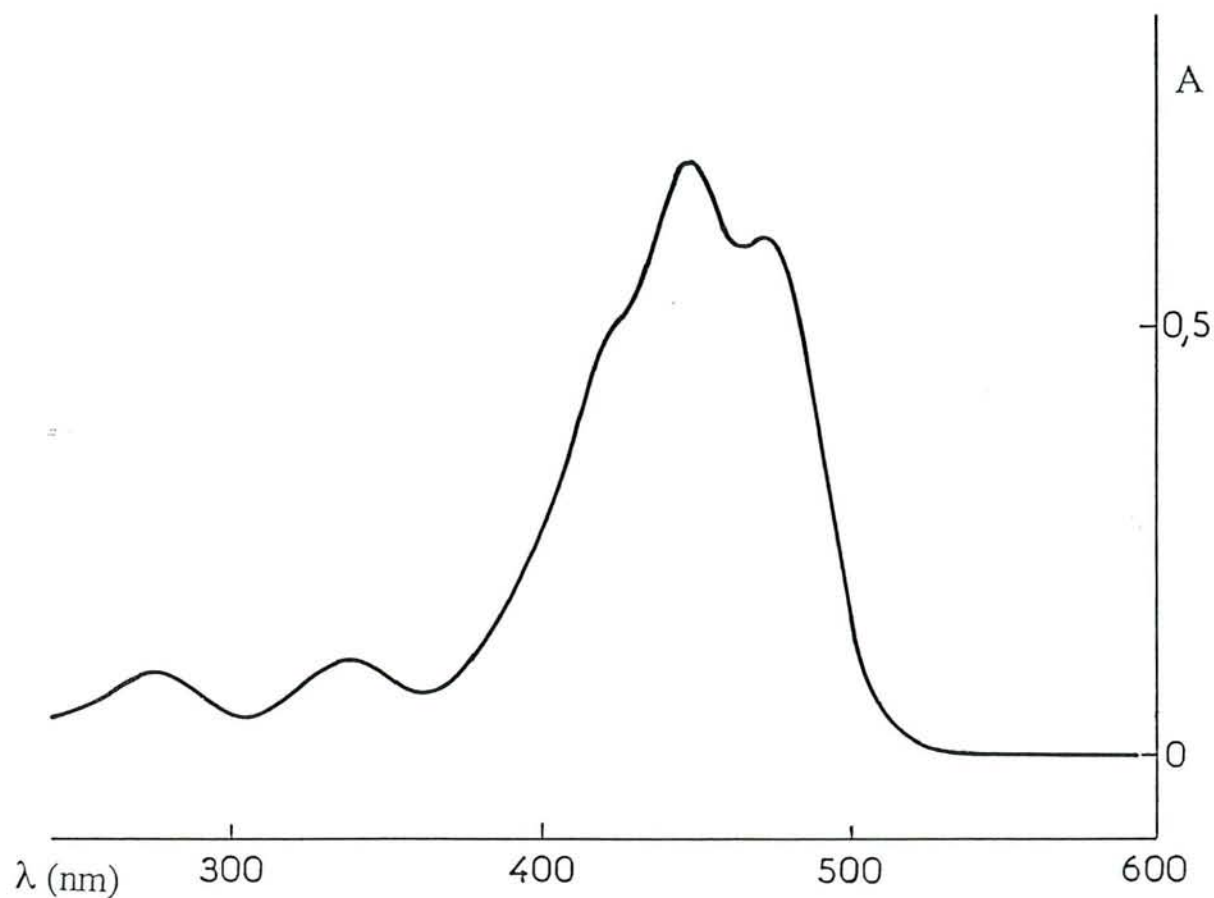


Figure A.I.7 - Spectre d'absorption U.V-visible, dans le méthanol, du β -carotène en présence d' α -tocophérol après 40 heures à $T = 50^{\circ}\text{C}$ et $P_{\text{O}_2}^0 = 750 \text{ Torr}$.

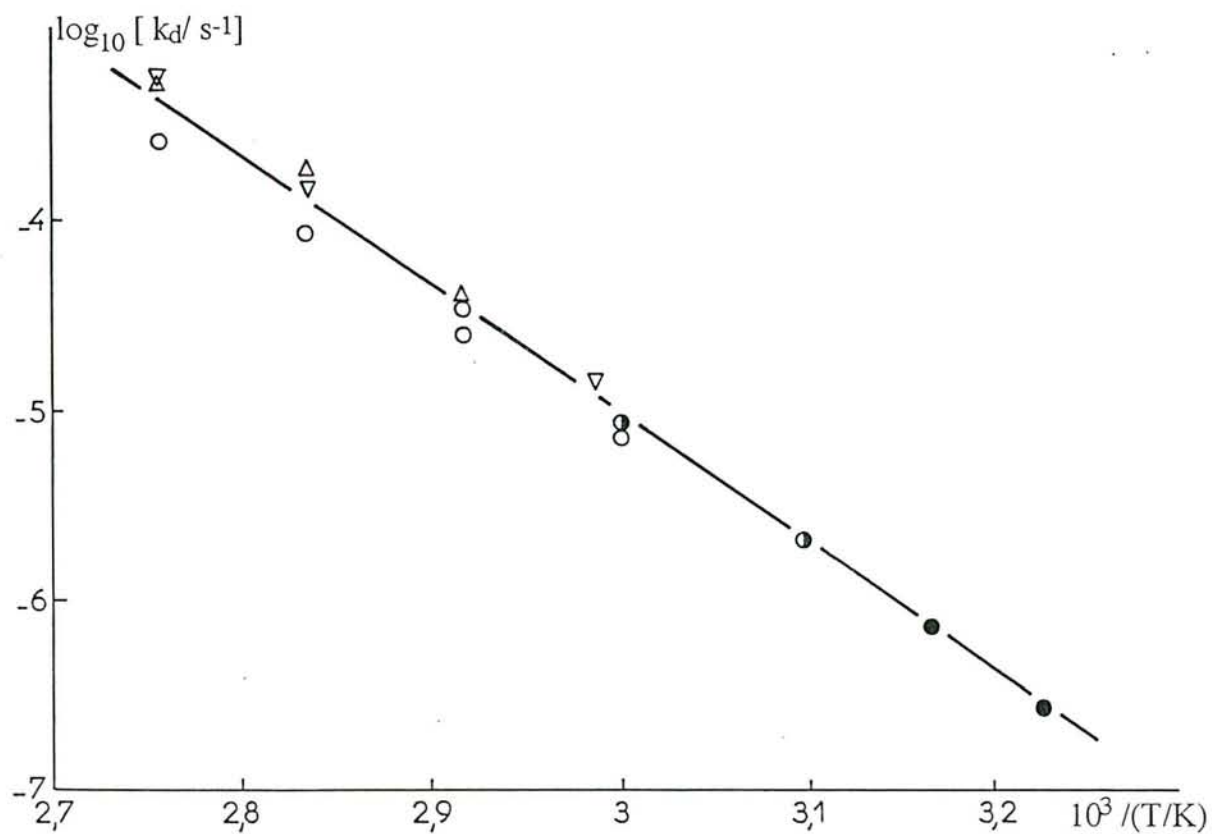


Figure A.II.1 - Influence de la température sur la décomposition de l'AIBN ($9 \cdot 10^{-2}$ M) sous atmosphère d'hélium dans trois solvants :

- $\bullet$: mesure spectroscopique dans le benzène (Van Hook, 1958)
- ∇ : mesure spectroscopique dans l'heptanol-1
- Δ : mesure manométrique dans l'heptanol-1
- o : mesure manométrique dans le chlorobenzène

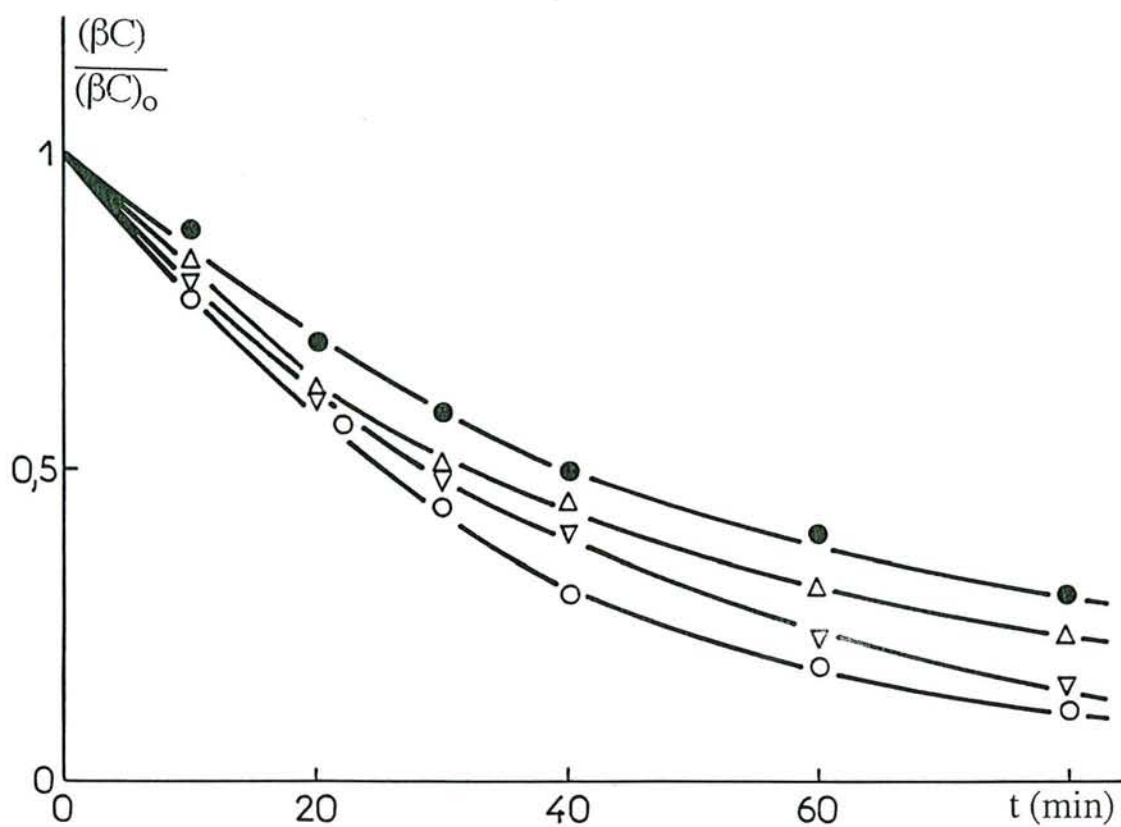


Figure A.III.1 - Auto-oxydation du β -carotène (S_0). Influence de la concentration initiale $(\beta C)_0$ sur la consommation de βC .

$T = 50^\circ\text{C}$; $P_{\text{O}_2}^0 = 450 \text{ Torr}$; solvant : chlorobenzène.

$(\beta C)_0 = 10^{-4} \text{ M}$ (●) ; 10^{-3} M (Δ) ; 5.10^{-3} M (∇) ; 2.10^{-2} M (○).

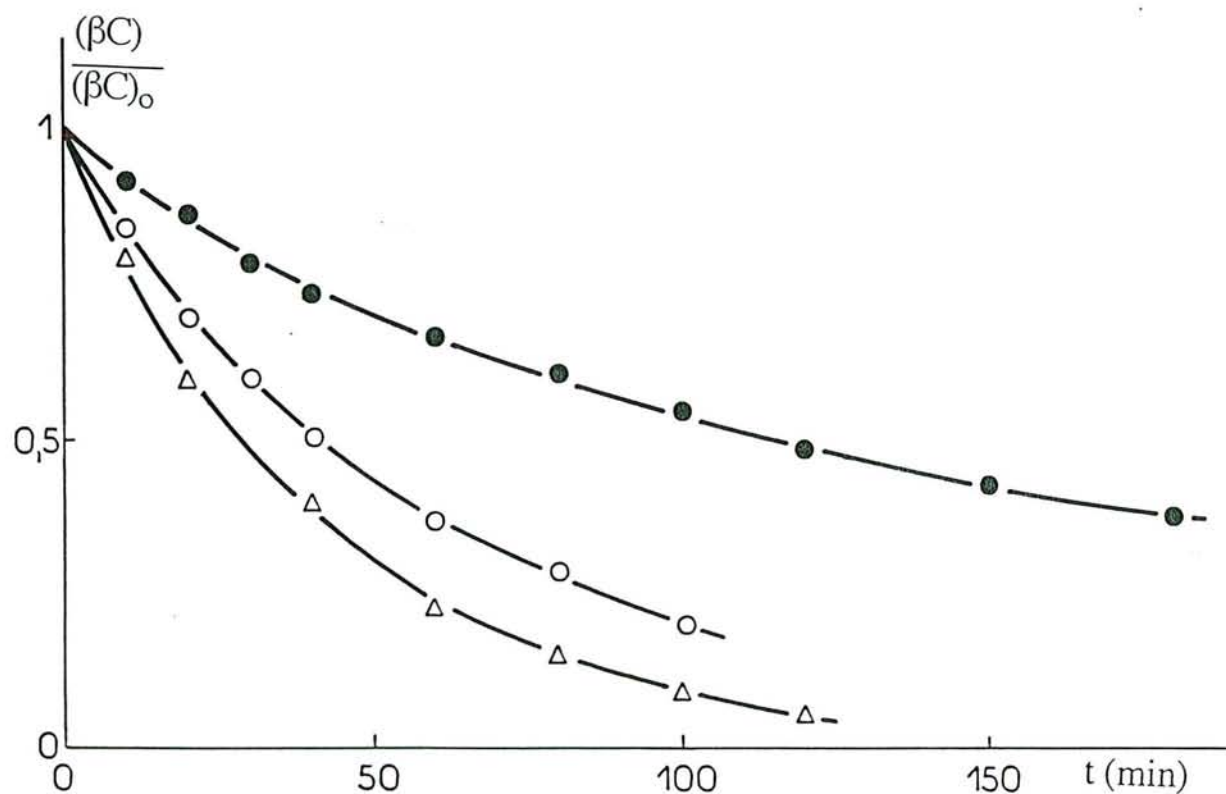


Figure A.III.2 - Auto-oxydation du β -carotène (S_0). Influence de la pression initiale d'oxygène $P_{O_2}^0$ sur la consommation de βC .
 $T = 50^\circ C$; $(\beta C)_0 = 5 \cdot 10^{-3} M$; solvant : chlorobenzène.
 $P_{O_2}^0 = 50 \text{ Torr}$ (●) ; 200 Torr (○) ; 450 Torr (Δ).

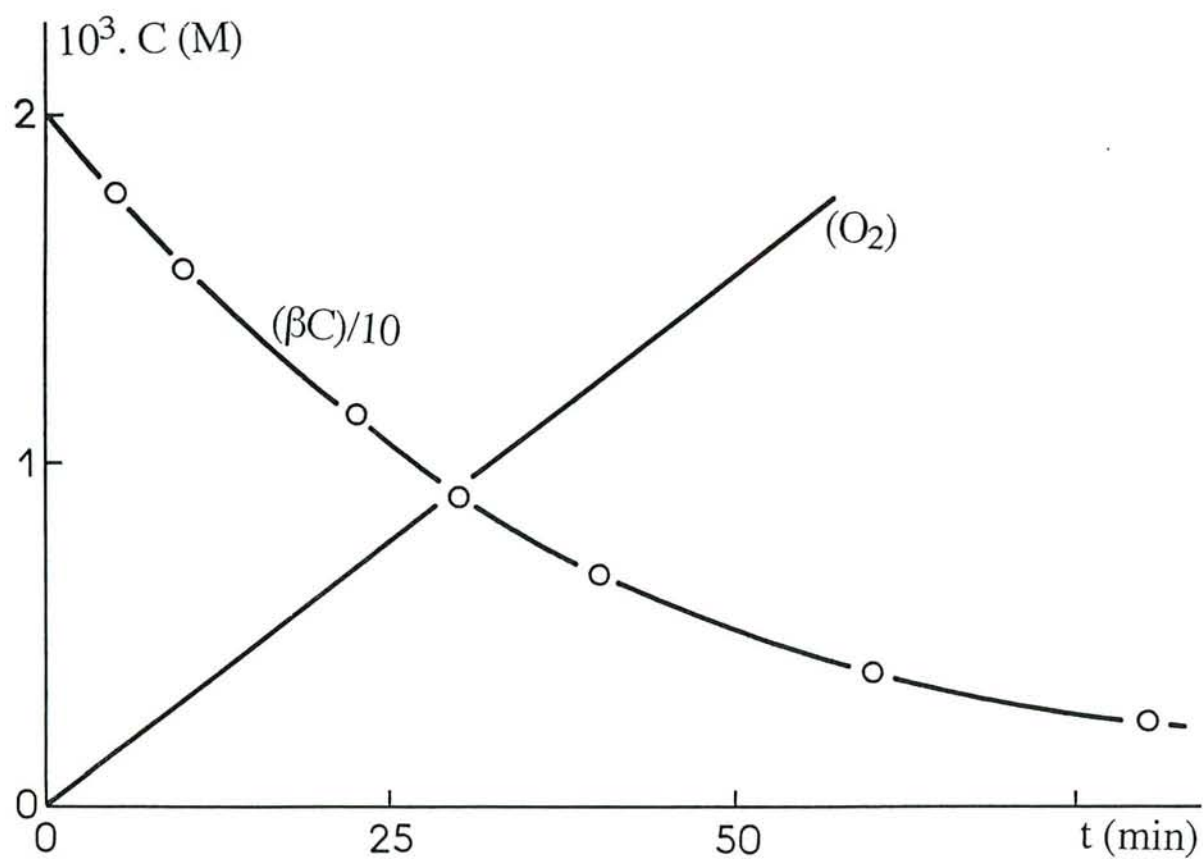


Figure A.III.3 - Auto-oxydation du β -carotène (S_0).

$T = 50^\circ\text{C}$; $P_{O_2}^0 = 450 \text{ Torr}$; $(\beta C)_0 = 2 \cdot 10^{-2} \text{ M}$; solvant : chlorobenzène.

— o — : consommation de βC ; — : oxygène consommé.

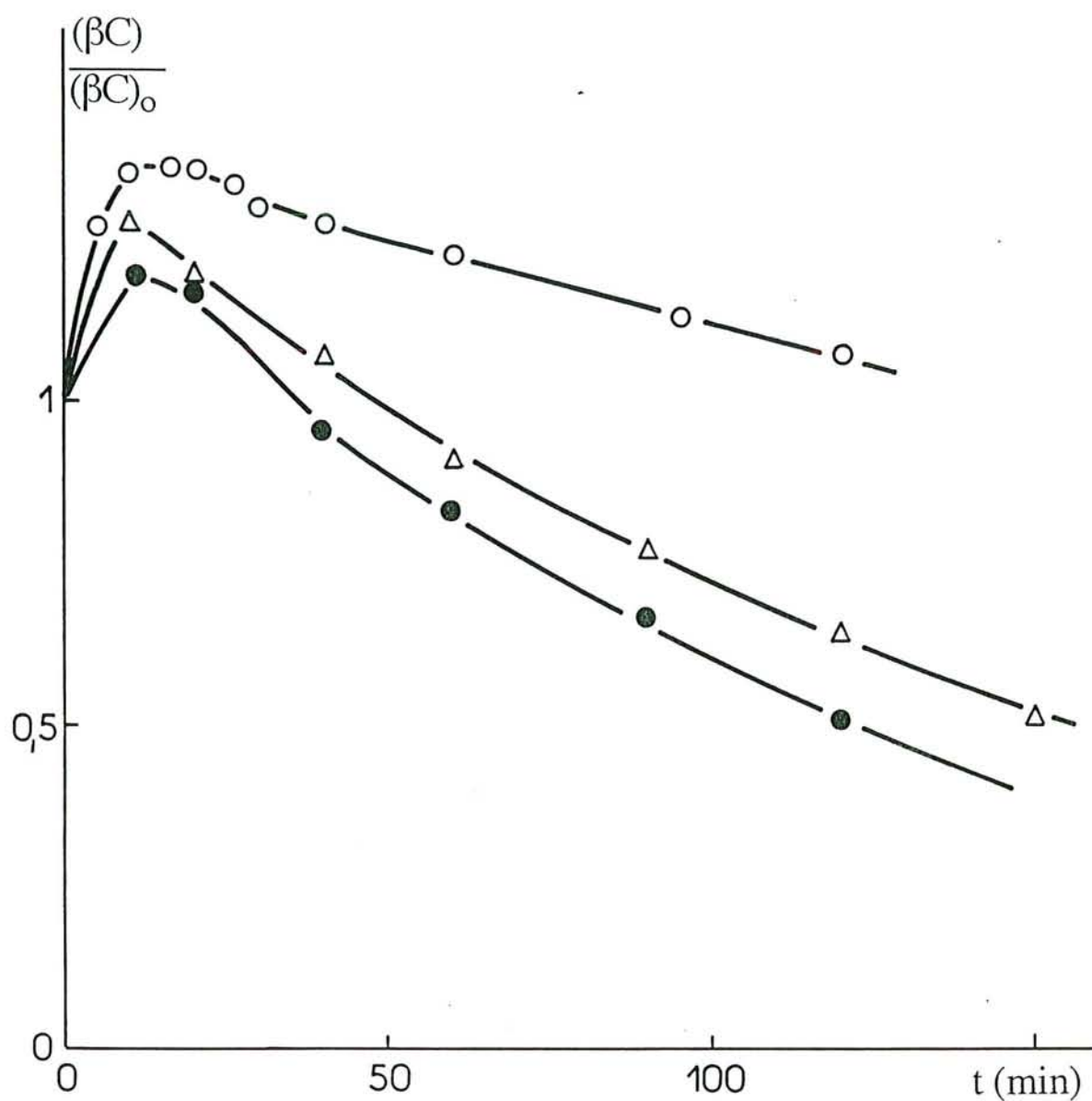


Figure A.III.4 - Auto-oxydation du β -carotène (S_0). Influence de la concentration initiale $(\beta C)_0$ sur la consommation de βC .

$T = 50^\circ\text{C}$; $P_{O_2}^0 = 450 \text{ Torr}$; solvant : heptanol.

$(\beta C)_0 = 5.10^{-4} \text{ M}$ (o) ; $2,5.10^{-3} \text{ M}$ (Δ) ; 5.10^{-3} M ($\bullet$).

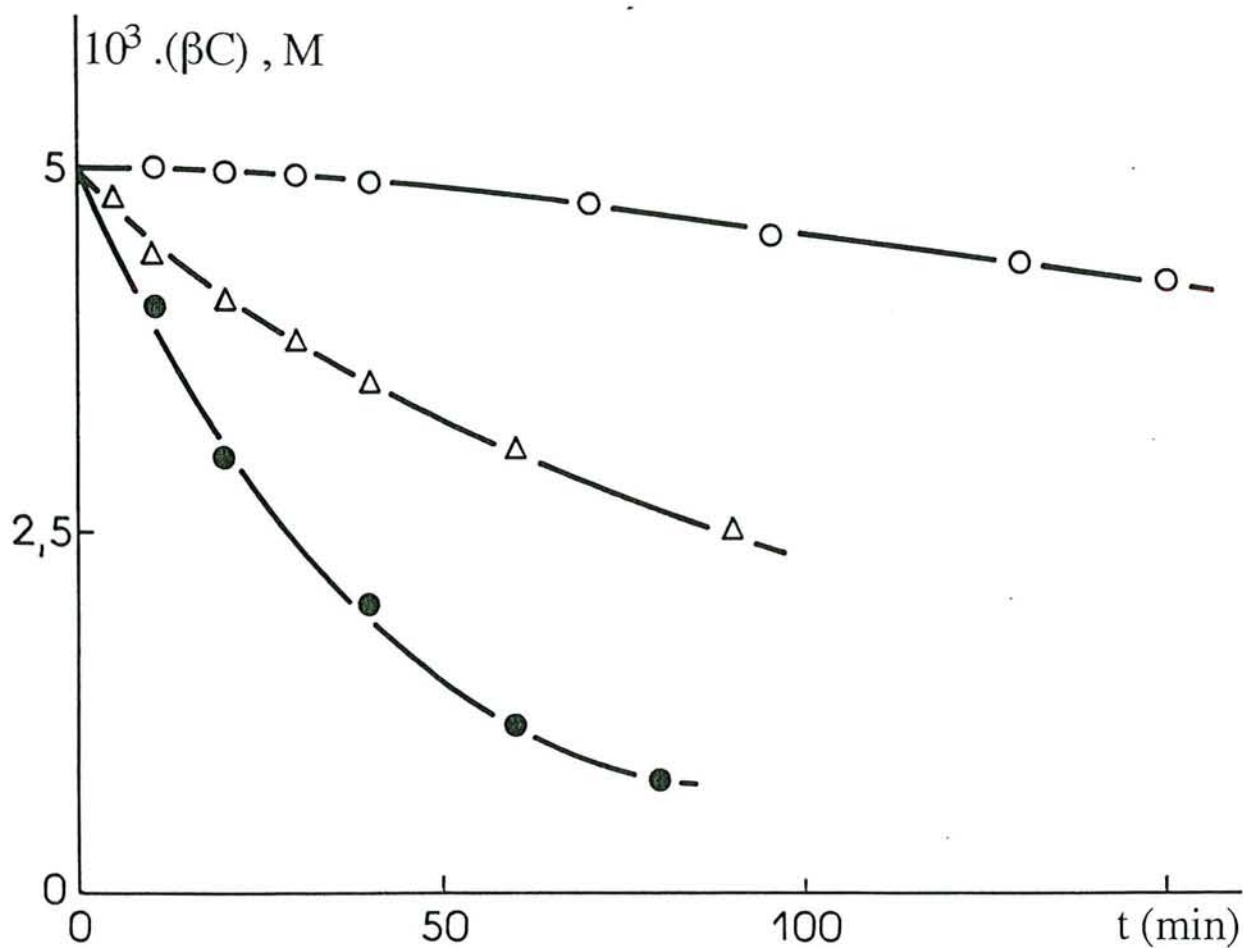


Figure A.III.5 - Auto-oxydation du β -carotène (S_0) en présence d' α -tocophérol. Influence de $(TH)_0$ sur la consommation de βC .

$T = 50^\circ C$; $P_{O_2}^0 = 450 \text{ Torr}$; $(\beta C)_0 = 5 \cdot 10^{-3} \text{ M}$; solvant : chlorobenzène.
 $(TH)_0 = 0$ (●) ; 10^{-5} M (Δ) ; 10^{-3} M (o) .

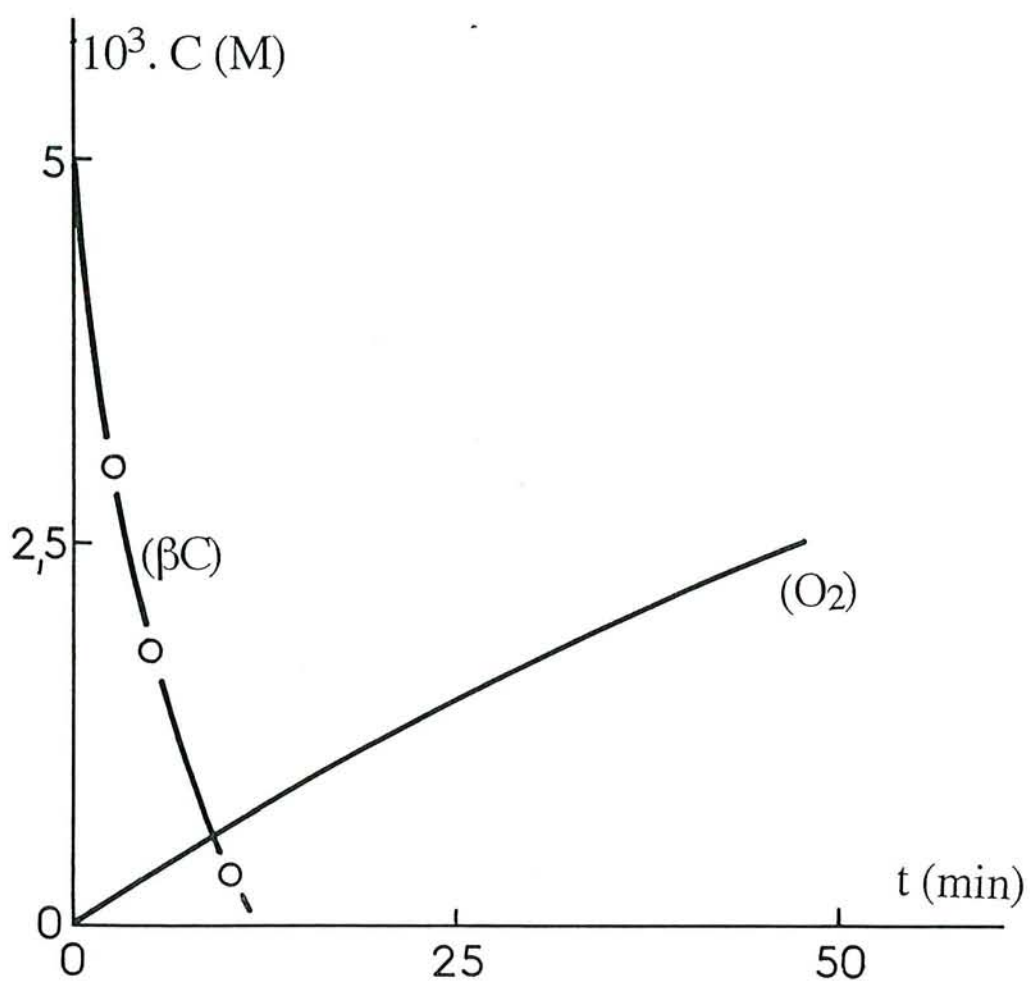


Figure A.III.6 - Oxydation du β -carotène (S_0) induite par l'AIBN.

$T = 50^\circ\text{C}$; $P_{\text{O}_2}^0 = 450 \text{ Torr}$; $(\text{AIBN})_0 = 9 \cdot 10^{-2} \text{ M}$; $(\beta\text{C})_0 = 5 \cdot 10^{-3} \text{ M}$;
solvant : chlorobenzène.

— o — : consommation de βC ; — : oxygène consommé.

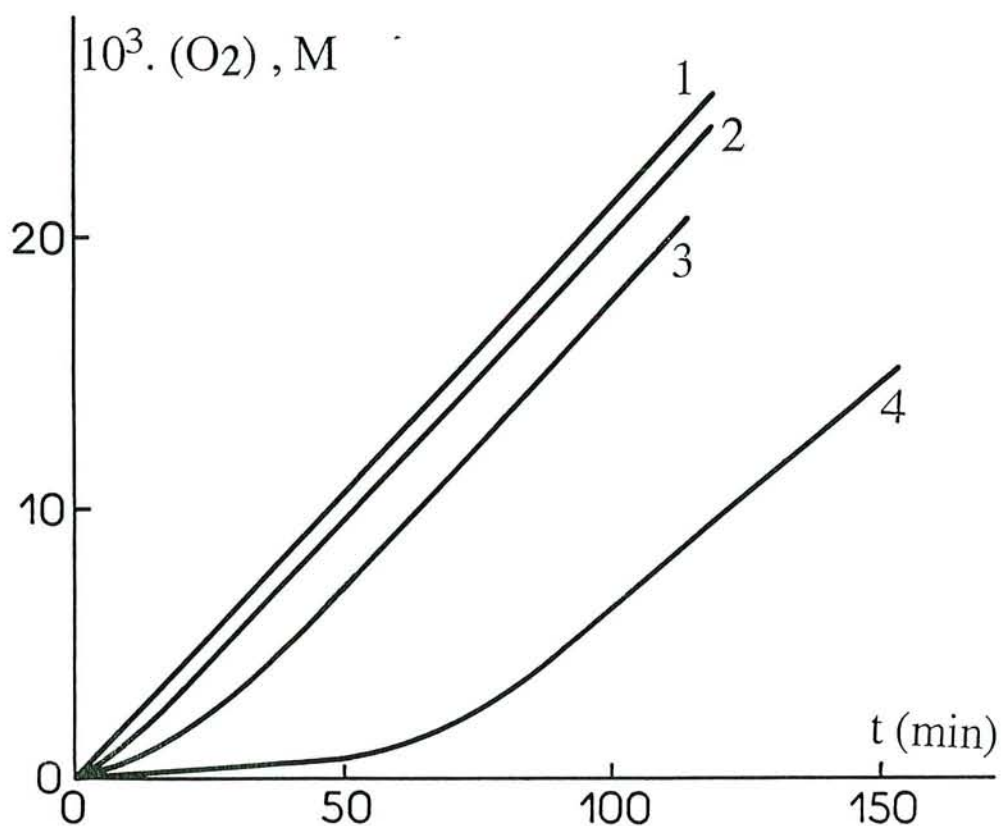


Figure A.IV.1 - Consommation d'oxygène lors de l'oxydation induite par l'AIBN ($9 \cdot 10^{-2}$ M) du linoléate d'éthyle (0,4 M) en présence de BHT. Influence de la concentration initiale de BHT. $T = 50^{\circ}\text{C}$; $P_{\text{O}_2}^0 = 450$ Torr .
 $(\text{BHT})_0 = 0$ (1); $5 \cdot 10^{-5}$ M (2) ; 10^{-4} M (3) ; $5 \cdot 10^{-4}$ M (4).

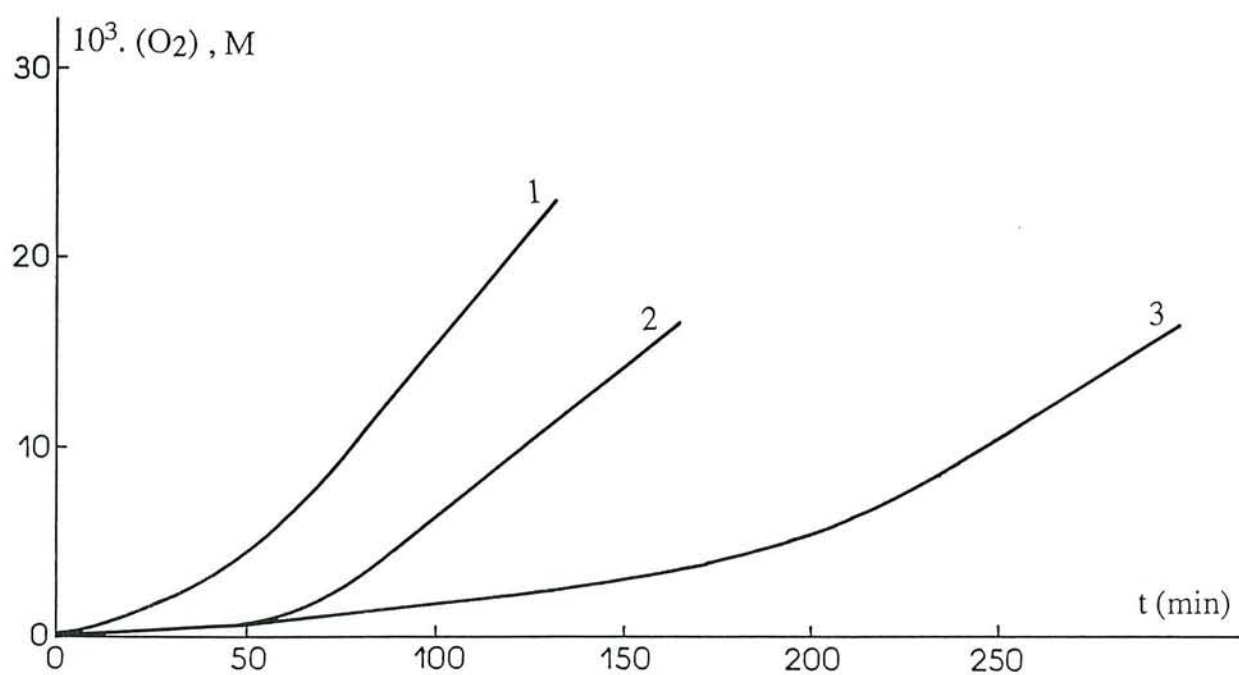


Figure A.IV.2 - Courbe de consommation d'oxygène lors de l'oxydation induite par l'AIBN de linoléate d'éthyle (0,4 M) en présence de BHT ($5 \cdot 10^{-4}$ M). Influence de la concentration initiale d' AIBN. $T = 50^\circ\text{C}$; $P_{\text{O}_2}^0 = 50$ Torr.
 $(\text{AIBN})_0 = 18 \cdot 10^{-2}$ M (1); $9 \cdot 10^{-2}$ M (2); $4,5 \cdot 10^{-2}$ M (3).

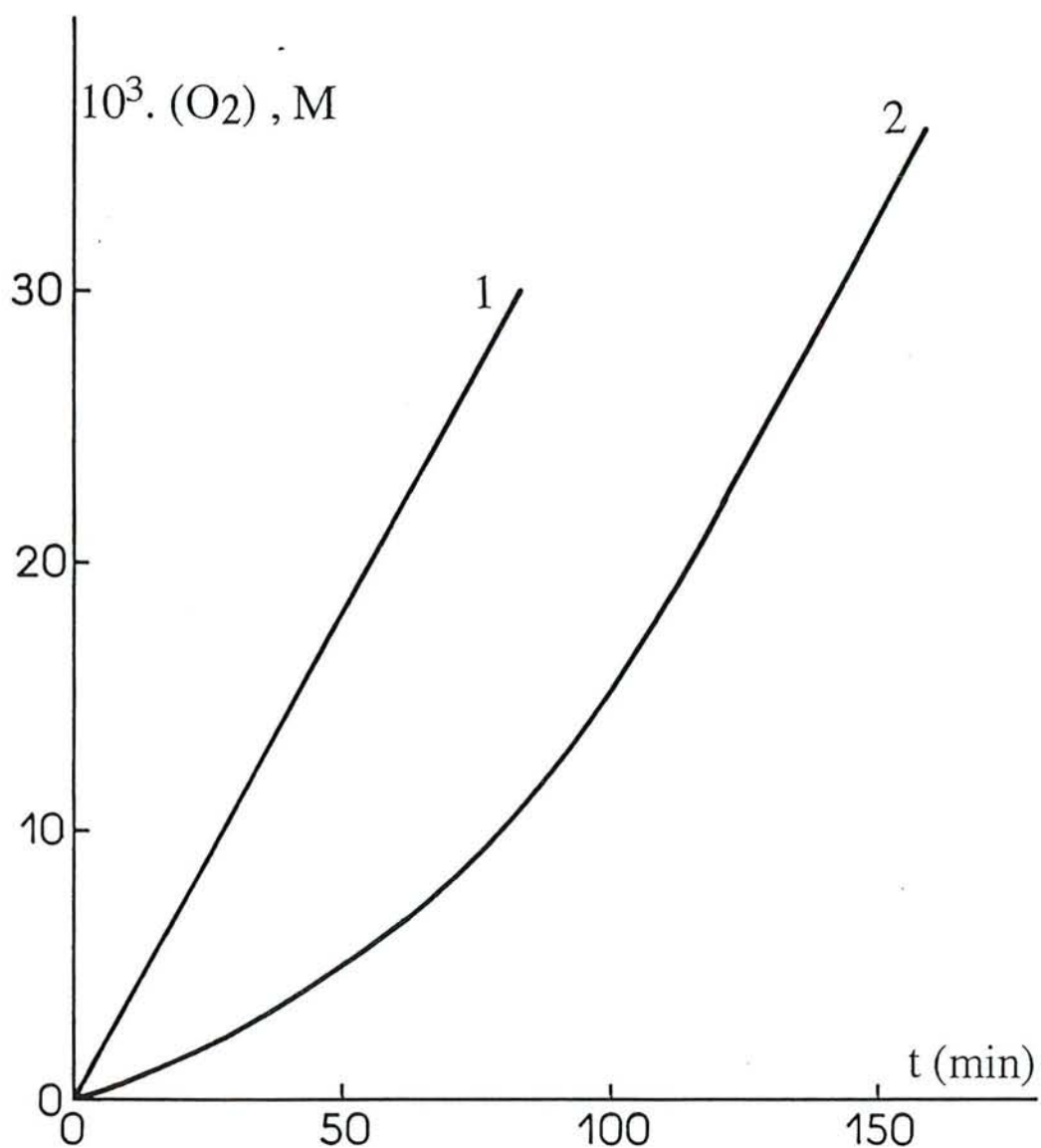


Figure A.IV.3 - Courbes de consommation d'oxygène lors de l'oxydation induite par l'AIBN ($9 \cdot 10^{-2} M$) de linoléate d'éthyle ($0,4 M$) en présence de BHT. Influence de la pression initiale d'oxygène. $T = 50^\circ C$.

1 : $(BHT)_0 = 0$; $P_{O_2}^0 = 450 \text{ Torr}$;

2 : $(BHT)_0 = 5 \cdot 10^{-4} M$; $450 \leq P_{O_2}^0 \leq 740 \text{ Torr}$.

Nom : EL OUALJA

Prénom : Hafid

DOCTORAT de l'UNIVERSITE HENRI POINCARÉ, NANCY-I

en CINÉTIQUE CHIMIQUE

VU, APPROUVÉ ET PERMIS D'IMPRIMER

Nancy, le 14 DEC. 1994 - 14 12 1994

Le Président de l'Université



RESUME

L'objet de ce travail était d'élucider le mécanisme d'oxydation thermique du β -carotène tout trans par l'oxygène moléculaire, en phase liquide, ainsi que l'influence qu'il exerce, seul ou en mélange avec l' α -tocophérol, sur l'oxydation thermique du linoléate d'éthyle. La cinétique d'oxydation du β -carotène en présence ou en l'absence d'AIBN (azobis-isobutyronitrile) se révèle très sensible à la présence des impuretés : plus le β -carotène est pur, plus lente est son oxydation. L'auto-oxydation du β -carotène tout trans est une réaction radicalaire en chaînes complètement inhibée par l' α -tocophérol. On montre que cette réaction est amorcée par l'isomérisation thermique trans-cis du β -carotène qui s'effectue par l'intermédiaire d'un biradical labile susceptible de réagir avec une molécule d'oxygène. En présence ou en l'absence d'AIBN et à chaque instant de la réaction, la vitesse de consommation de l'oxygène est environ trois fois plus importante que celle de β -carotène. Par conséquent, le β -carotène est un agent antioxygène très efficace.

On montre ensuite que le β -carotène exerce un effet inhibiteur sur l'oxydation induite du linoléate d'éthyle. L'inhibition de la consommation globale d'oxygène est d'autant plus nette que l'avancement réactionnel, la concentration d'oxygène et la teneur en β -carotène sont plus faibles. La simulation informatique de la réaction au cours du temps rend compte de façon satisfaisante des phénomènes.

Enfin nous avons examiné l'influence du mélange α -tocophérol/ β -carotène sur l'oxydation induite du linoléate d'éthyle. Celle-ci commence après la disparition totale des deux inhibiteurs : l' α -tocophérol disparaît d'abord, puis le β -carotène. L'effet inhibiteur du mélange α -tocophérol/ β -carotène correspond à la somme des effets inhibiteurs des deux espèces prises séparément.

Mots clefs : cinétique, oxydation, inhibition, antioxydants, β -carotène, α -tocophérol, linoléate d'éthyle.