

Sommaire

	INTRODUCTION GENERALE	1
I	GENERALITES SUR LES COLORANTS ET PIGMENTS.....	2
I.1	Historique	2
I.2	Rôle des colorants et pigments alimentaires	3
I.3	Définition des colorants et pigments	3
I.4	Importance des colorants et pigments alimentaires.....	4
II	LES DIFFERENTS TYPES DE COLORANTS ET PIGMENTS ALIMENTAIRES.....	4
II.1	Les colorants et pigments naturels	4
II.1.1	Définition.....	4
II.1.2	Source	4
II.1.3	Les caroténoïdes.....	4
II.1.3.1	Propriétés des caroténoïdes	6
II.1.3.1.1	Biodisponibilité pour la santé	6
II.1.3.1.2	Stabilité des caroténoïdes.....	7
II.1.3.1.3	Propriétés antioxydants	7
II.1.4	Les anthocyanes	8
II.1.4.1	Principales caractéristiques des anthocyanes	8
II.1.4.2	Biodisponibilité pour la santé	10
II.1.4.3	Stabilité et pouvoir antioxydant des anthocyanes	10
II.2	Les colorants de synthèse du rouge au jaune.....	11
II.2.1	Classification chimique des colorants de synthèse	11
II.2.1.1	Colorants azoïques.....	11
II.2.1.2	Les colorants anthraquinoniques.....	11
II.2.1.3	Les colorants indigoïdes.....	11
II.2.1.4	Les colorants xanthène.....	12
II.2.1.5	Les phtalocyanines.....	12
II.2.1.6	Les colorants nitrés et nitrosés.....	12
II.2.1.7	Les colorants triphénylméthanes	13
II.2.2	Colorant de synthèse à usage alimentaire	13
II.2.3	Structure chimique de quelques colorants azoïques du rouge au jaune à usage alimentaire.....	13
II.2.3.1	Jaune solide (ou Jaune acide R)	13

II.2.3.2	Tartrazine.....	13
II.2.3.3	Azorubine (ou Carmoisine ou encre Nacarat, rouge)	13
II.2.3.4.	Amarante (ou Bordeaux S).....	13
II.2.4	Toxicité et stabilité des colorants de synthèse.....	14
III	METHODE D'OBTENTION DES COLORANTS ET PIGMENTS	
	NATURELS	15
III.1	Techniques d'extractions.....	15
III.1.1	Méthodes conventionnelles.....	15
III.1.1.1	Macération.....	15
III.1.1.2	Extraction au soxhlet	15
III.1.2	Méthodes nouvelles	16
III.1.2.1	Extraction par ultrason	16
III.1.2.2	Extraction par micro-onde.....	17
III.1.3	Exemple d'extraction des composés poly phénoliques de la caroube : les caroténoïdes.....	17
III.1.3.1	Préparation des échantillons.....	17
III.1.3.2	Dosage	18
III.1.3.2.1	Préparation des extraits	18
III.1.3.2.2	Les composés phénoliques totaux	19
III.1.3.2.3	Les caroténoïdes	19
IV	MECANISME DE BIOSYNTHESES DES COLORANTS ET PIGMENTS	19
IV.1	Mécanisme d'obtention des colorants azoïques.....	19
IV.1.1	Diazotation des amines	19
IV.1.2	Copulation diazoïque	20
IV.2	Synthèse de quelques colorants azoïques	21
IV.2.1	Matériel	21
IV.2.2	Protocole opératoire.....	21
	RESULTATS ET DISCUSIONS.....	23
	CONCLUSION	25
	REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	26

Liste des Figures

<i>Figure1: isoprène et squelette carboné de caroténoïdes</i>	<i>5</i>
<i>Figure2: structure chimique de quelques carotènes et xanthophylle.....</i>	<i>6</i>
<i>Figure3: structure des principaux anthocyanes</i>	<i>8</i>
<i>Figure4: colorant azoïque</i>	<i>11</i>
<i>Figure5: structure d'un colorant anthraquinonique.....</i>	<i>11</i>
<i>Figure6: structure de l'Indigo.....</i>	<i>11</i>
<i>Figure7: structure de (a) : xanthène et (b) : la fluorescéine.....</i>	<i>12</i>
<i>Figure8: la phtalocyanine.....</i>	<i>12</i>
<i>Figure9: structure des colorants nitrés.....</i>	<i>12</i>
<i>Figure10: formule topologique du triphénylméthane.....</i>	<i>13</i>



Liste des Tableaux

<i>Tableau1: principaux groupes chromophores et autochromes.....</i>	<i>2</i>
<i>Tableau2: caractéristique des six principaux anthocyanidines en fonction de la substitution sur l'ion flavylum.....</i>	<i>9</i>
<i>Tableau3: structure de quelques colorants azoïques alimentaire.....</i>	<i>14</i>
<i>Tableau4: dérivés des colorants azoïques.....</i>	<i>22</i>

Liste des Schémas

<i>Schéma1: bioconversion du β-carotène en vitamine A.....</i>	<i>7</i>
<i>Schéma2: changement de structure et de couleur des anthocyanes en fonction du PH.....</i>	<i>9</i>
<i>Schéma3: oxydation des polyphénols.....</i>	<i>10</i>
<i>Schéma4: réduction du colorant azoïque rouge Congo en amine cancérrogène.....</i>	<i>14</i>
<i>Schéma5: les différentes étapes de la macération.....</i>	<i>15</i>
<i>Schéma6: extracteur au soxhlet.....</i>	<i>16</i>
<i>Schéma7: extracteur solvant par ultrason</i>	<i>17</i>
<i>Schéma8: extracteur solvant assistée par micro-onde.....</i>	<i>17</i>
<i>Schéma9: extraction de la gomme de caroube.....</i>	<i>18</i>
<i>Schéma10: mécanisme de la diazotation.....</i>	<i>20</i>
<i>Schéma11: mécanisme de copulation.....</i>	<i>20</i>

Liste des photos

<i>Photo1: exemple de colorant, le carmin.....</i>	<i>5</i>
<i>Photo2: la gomme de caroube.....</i>	<i>18</i>

ABREVIATION :

pH : potentiel d'hydrogène

UV : ultra-violet

ADN : acide désoxyribonucléique

NaOH : hydroxyde de sodium

HCl : acide chlorhydrique

NaNO₂ : nitrite de sodium

AlLiH₄ : tétrahydruroaluminate de lithium

INTRODUCTION GENERALE

La couleur d'un aliment est importante dans le choix de ce que l'on mange. Les colorants permettent de palier une perte de coloration, de colorer des aliments incolores et de renforcer une idée gustative spécifique. Les pigments et colorants ont servi à exprimer cette couleur que les hommes voyaient auparavant, mais ne pouvaient être reproduites par un manque de techniques et de moyens. Au cours des années, les techniques de création des colorants ont évolué selon les progrès technologiques. L'invention des colorants synthétiques a connu un très grand succès et même jusqu'à présent ils sont les premiers types de colorant utilisés dans l'alimentation alors qu'il s'agit bien de composés chimiques qui ont les propriétés de reprendre les mêmes effets physiques que les colorants naturels. Aujourd'hui, il existe un véritable boom pour les pigments d'origine végétale, d'une part car l'on identifie de nombreuses propriétés biologiques très intéressantes et d'autre part, des propriétés néfastes des colorants artificiels pour la santé. L'industrie agro-alimentaire essaye de remplacer intégralement les composés synthétiques par des composés naturels. De nos jours, l'alimentation connaît de nombreuses crises sur les sécurités et l'hygiène de ce que nous mangeons. Après plusieurs problèmes dans l'industrie de l'alimentation comme par exemple la tartrazine, nous pouvons nous demander s'il est possible de manger sans risques [W1].

C'est dans cette optique que nous nous intéressons aux colorants et pigments alimentaires qu'on retrouve dans tout. Dans ce travail après une revue bibliographique des différents colorants alimentaires du rouge au jaune naturels puis synthétiques, nous nous intéressons dans un premier temps à leurs aspects physico-chimiques. Ensuite, on abordera leurs techniques d'obtention et en fin leurs toxicités qui constituent un aspect essentiel pour les colorants alimentaires.

I GENERALITES

Depuis la découverte des premiers colorants en 1856, l'industrie des colorants synthétiques aujourd'hui compte plus de 10000 colorants. Il a été donc nécessaire d'avoir un système de classification. Celui-ci constitue l'index des couleurs. Dans ce système, chaque colorant commercialement disponible est classé selon son nom, ses caractéristiques essentielles telles que sa formule chimique, sa couleur et ses différentes nuances, sa résistance à la lumière, aux solvants, à la chaleur et à différents agents chimiques

Les matières colorantes se caractérisent par leur capacité à absorber les rayonnements lumineux dans le spectre du visible (de 380 à 750nm). La décomposition de la lumière blanche en lumière colorée par réflexion sur un corps ou par transmission ou diffusion résulte de l'absorption sélective d'énergie par certains groupes d'atomes appelés chromophore. Ces derniers sont des groupes non saturés présentant des électrons et ou des doublets libres d'électrons situés sur des hétéroatomes comme l'oxygène, l'azote. Les molécules de colorants possèdent aussi souvent des groupes dits autochrome. Le changement de couleur est produit par le doublet libre de l'autochrome [1]. On employait alors uniquement des colorants naturels, mais ces composés ont été presque totalement remplacés par des colorants de synthèse [2, 3]. Les principaux groupes chromophores et autochromes sont classés par intensité de couleur décroissante.

Tableau1 : principaux groupes chromophores et autochromes

Groupes chromophores	Groupes autochromes
Azo	Amine primaire
Nitro	Amine secondaire
Carbonyle	
Vinyle	Amine tertiaire
Nitra	Hydroxy
Thio carbonyle	Donneur d'électrons

I.1 Historique

Grâce à ses travaux de synthèse de la quinine pour combattre le paludisme, SIR WILLIAM PERKIN avait découvert accidentellement en 1856 le premier colorant artificiel qui est la mauvéine. Il l'appelait d'abord « violet allyltoluidin » puis pourpre d'aniline. Son épouse trouvant ce nouveau nom encore trop barbare préféra celui de la mauvéine qui fut

définitivement adopté. Le chimiste anglais William Perkin, âgé de 18 ans et assistant de August Von Hofmann au *royal collige of chemistry* s'amusa à oxyder les *N*-allyl-toluidine $C_{10}H_{13}N$ par l'ion dichromate ($Cr_2O_7^{2-}$) espérant obtenir la quinine $C_{20}H_{24}N_2O_2$. L'expérience fut un échec, elle donne une solution pourpre intense, qu'il nomme mauvéine ou pourpre d'aniline (la toluidine est un dérivé de l'aniline). La découverte de Perkin marquait la naissance de l'industrie organique [4]. Dès la fin du XIX^e, les colorants synthétiques ont intégré deux grands domaines, l'alimentation et la pharmacie [5]. Le premier colorant synthétique fut découvert par Serendipite pendant ses vacances de pâques le 23 mars 1856. Les industriels sont classés aujourd'hui selon un plan dérivé du « couleur index » en dix rubriques et six sous rubriques.

I.2 Rôle de la couleur et des pigments alimentaires

La couleur est l'une des qualités sensorielles premières et parmi les plus importantes pour nous aider à accepter ou rejeter des produits alimentaires particuliers. La couleur est relativement importante dans la perception alimentaire. Elle est aussi souvent associée à une saveur spécifique et à l'intensité de cette saveur. Parmi les motifs d'ajouts de colorants, on peut citer notamment :

- la compensation de la perte de couleur due à l'exposition à la lumière, à l'air et aux températures extrêmes, aux moisissures et aux conditions de stockage ;
- la compensation des variations naturelles ou saisonnières des matières premières alimentaires ou des effets du traitement et du stockage, afin de répondre aux attentes des consommateurs ;
- l'accentuation de certaines couleurs, qui sont naturelles mais plus pâles que celles que l'on associe habituellement à un produit alimentaire donné [6] ;
- pour des raisons commerciales.

I.3 Définition des colorants et pigments

Un colorant est une substance chimique colorée capable de transmettre sa coloration à d'autres corps. Ce sont des composés organiques insaturés et aromatiques [7]. Les premières matières colorantes étaient d'origines végétales ou même animales [8]. La coloration d'une molécule est due à la présence de groupements fonctionnels appelés groupements chromophores. Ces derniers absorbent certaines radiations composantes la lumière [9]. Un colorant est une espèce chimique solide ou liquide qui se dissout dans le milieu où elle est introduite (forme un mélange homogène) et modifie sa couleur. Les colorants ne doivent pas être confondus avec les pigments. Ces derniers modifient aussi la couleur des substances

auxquelles ils sont mélangés mais ils ne s'y dissolvent pas. Ils forment donc des mélanges hétérogènes et les plus souvent se dispersent sous forme de microparticule dans des liquides ou des solides [W2, W3]

I.4 Importance des colorants et pigments alimentaires

Les colorants et pigments apportent de la couleur et de l'originalité à l'aliment et le rendent plus attractif aux yeux des consommateurs. La chlorophylle, le lycopène et le bêta-carotène sont des colorants naturels parmi les colorants les plus rencontrés et les plus utilisés dans les industries agroalimentaires. A des doses réglementées, les colorants naturels sont bénéfiques pour la santé. Certains de ces colorants sont connus pour leurs activités anti oxydantes, antimutagènes, voire anti cancérogènes [W4].

II LES DIFFERENTS TYPES DE COLORANTS ET PIGMENTS ALIMENTAIRES

On distingue deux grandes familles de colorants : les naturels et ceux issus de la synthèse chimique.

II.1 Les colorants et pigments naturels

II.1.1 Définition

Les *colorants* et les pigments naturels, sont des substances qui ont la faculté de teindre les fibres végétales et animales. Le jaune est le colorant naturel le plus répandu comme le β -carotène.

II.1.2 Source

Les colorants naturels sont extraits des plantes, des fruits, des arbres, des lichens, des insectes ou des mollusques par des procédés simples comme le chauffage ou le broyage. Le marché des additifs alimentaires a une grande variété de colorants naturels tels que le paprika (E160) qui donne la couleur orange, la riboflavine (E101) la couleur jaune. Les colorants alimentaires naturels sont importants pour notre bien-être. Ils n'ont pas que des propriétés colorantes mais aussi des propriétés biochimiques. Ils donnent des précurseurs de vitamines telles que vitamine A, B1, B2, K1, K2 que nous ne pouvons pas synthétiser. Par conséquent, pour l'homme, ils peuvent aussi apporter une valeur en termes biologiques. Ils peuvent être classés selon leur origine.

D'origine végétale : les colorants naturels d'origine végétale peuvent être extraits des feuilles, des fleurs, des fruits, des graines, de l'écorce, du tronc ou de la racine des plantes.

D'origine animale : les colorants d'origine animale proviennent des insectes et des microorganismes. Les colorants provenant des insectes sont obtenus soit par excrétion, soit par des corps secs d'insectes. Des exemples de colorants d'origine d'insectes sont le carmin et

le pourpre tyrien. Le carmin est une couleur rouge vif extraite de l'insecte cochenille et le composé responsable de la couleur rouge est l'acide carminique.



Photo1: exemple de colorant naturel ; carmin (E120)

Les micro-organismes tels que les bactéries, les algues et les champignons produisent des pigments stables tels que les caroténoïdes, les flavonoïdes, les quinones, la riboflavine et la prodigiosine. Les pigments sont couramment utilisés comme aliments en raison de leurs activités biologiques telles que le cancer des fourmis et la plupart d'entre eux sont de bonnes sources de vitamines. La source de microbes des colorants met moins de temps à se multiplier et moins de solvant lors de l'extraction, d'où une baisse des coûts de production par rapport aux autres sources [W6, W7]

II.1.3 Caroténoïdes

Les caroténoïdes représentent une famille de pigments naturels largement répandus dans le monde vivant (végétaux, animaux, bactéries et champignons) [10]. Ce sont des molécules lipidiques appartenant à la famille des terpènes, comportant généralement 40 atomes de carbone, structurés en 8 unités isopréniques jointes de façon à ce que la séquence soit inversée au centre. L'organisme humain est incapable de les synthétiser, ils sont fournis par l'alimentation.

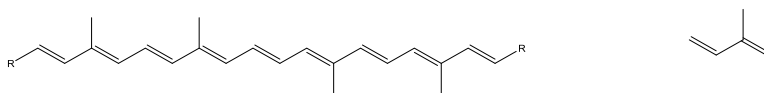
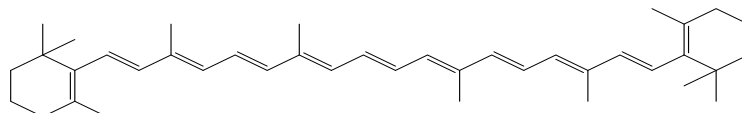


Figure1 : isoprène et squelette carboné de caroténoïdes

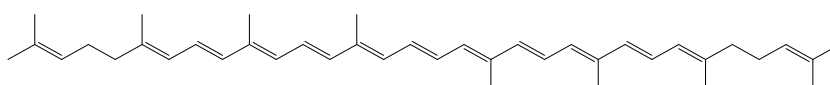
Les caroténoïdes se classent dans 2 groupes : les hydrocarbures caroténoïdes sont appelés carotènes et les dérivés contenant des fonctions oxygénées comme les groupes hydroxy, céto, époxy, méthoxy ou acide carboxylique sont appelés xanthophylles. En général, les caroténoïdes sont pratiquement liposolubles. La structure de base des caroténoïdes est linéaire et symétrique, mais une cyclisation d'une des extrémités ou des deux est possible. D'autres

transformations de la structure comme l'hydrogénation, la déshydrogénation ou l'oxydation sont responsables de leur altération pour la grande variété des caroténoïdes connus. Les doubles liaisons confèrent à la molécule un caractère chromophore et sont responsables de la coloration des caroténoïdes [11].

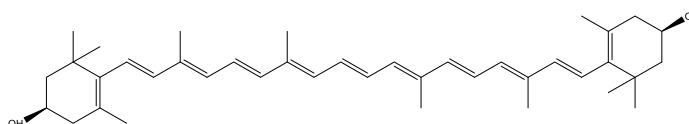
β -carotène (jaune)



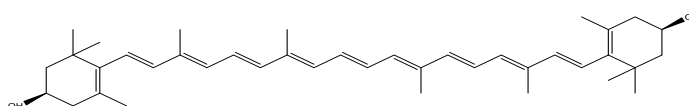
Lycopène (rouge)



Lutéine (jaune)



Zéaxanthine (jaune)



Astaxanthine (rouge violacé)

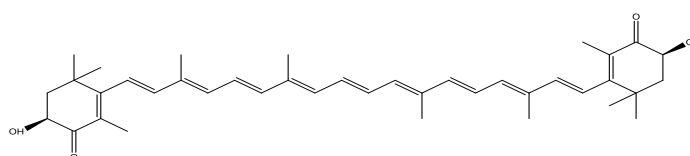


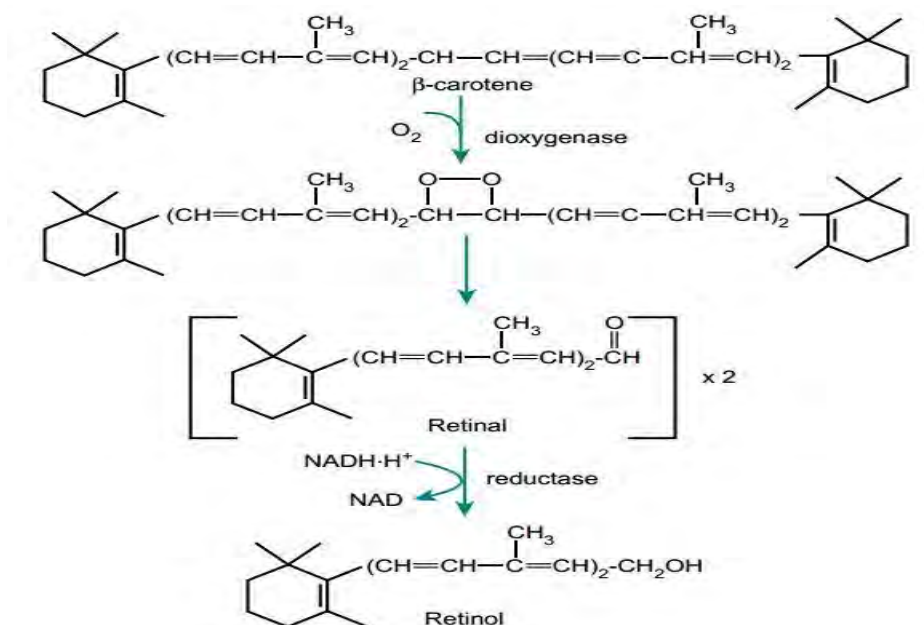
Figure2: structure chimique de quelques carotènes et xanthophylles

II.1.3.1 Propriétés des caroténoïdes

II.1.3.1.1 Biodisponibilité pour la santé

Le principal avantage pour la santé des caroténoïdes est leur fort potentiel antioxydant. De plus, les caroténoïdes spécifiques peuvent avoir des avantages supplémentaires tels que le β -carotène ayant la capacité d'agir comme une provitamine A. La lutéine et la zéaxanthine peuvent protéger l'œil des rayons UV et sont essentielles au développement du cerveau. D'autres caroténoïdes peuvent aider à prévenir les maladies cardiaques en bloquant la

formation de lipoprotéines de faible densité. Les caroténoïdes, en synergie avec d'autres micronutriments, interviendraient dans de nombreux processus biologiques permettant la



réduction de maladies, notamment les cancers dont les plus importants sont ceux des poumons, gorge, colorectal et de la prostate. En effet, des études *in vitro* ont montré que les caroténoïdes inhiberaient la prolifération de cellules cancéreuses [12,13].

Schéma1: de bioconversion du β -carotène en vitamine A

II.1.3.1.2 Stabilité des caroténoïdes

La chaîne de polyène conjuguée qui caractérise les caroténoïdes rend également ces composés sensibles à la dégradation par un certain nombre d'agents tels que la chaleur, la lumière, l'oxygène, la présence de certaines enzymes, etc. L'isomérisation et l'oxydation, qui peuvent avoir lieu pendant le traitement et le stockage, entraînent une perte de couleur et d'activité biologique. Un temps de chauffage plus long entraîne un pourcentage plus élevé de dégradation. La perte de lycopène total et la concentration de *cis*-isomères étaient plus importantes par irradiation par la lumière que par traitement thermique, suggérant que l'irradiation à la lumière était plus destructrice que le chauffage en termes de dégradation du lycopène. Par rapport à l'effet de la température et de la lumière, la présence d'oxygène a été décrite comme plus destructive. [14].

II.1.3.1.3 Propriétés antioxydantes

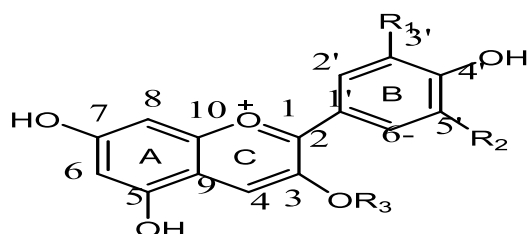
Les caroténoïdes, grâce à leur longue chaîne polyinsaturée sont de bons piègeurs de radicaux libres. Leur pouvoir réducteur (antioxydant) est par contre beaucoup moins évident puisqu'ils/* ne portent pas de groupement réducteur et ne sont pas des donneurs d'électrons. À

propos des caroténoïdes, le terme d'antioxydant ne paraît donc pas approprié, on devrait plutôt parler de pouvoir anti-radicalaire, ou mieux encore, de pouvoir anti-espèces activées [15, 16]. Les caroténoïdes sont particulièrement efficaces contre l'oxydation [17]. L'activité antioxydant dépend du nombre de doubles liaisons, de l'extrémité cyclique ou non et des substituants sur les cycles [18]. Les caroténoïdes n'agissent pas seulement sur l'oxygène mais aussi sur les radicaux NO_2 , thiol et sulfonyl [19]. En fonction des conditions expérimentales, les auteurs classent la réactivité des caroténoïdes dans l'ordre décroissant suivant : lycopène > β -carotène > zéaxanthine > échinénone, isozéaxanthine > astaxanthine, canthaxanthine [20]. La réaction des caroténoïdes avec les espèces réactives c'est-à-dire leur piégeage peuvent se produire par oxydation, réduction, abstraction et réactions d'addition.

II.1.4 Les anthocyanes

II.1.4.1 Principales caractéristiques des anthocyanes

Les anthocyanes sont caractérisés par le squelette C6-C3-C6. Ce sont des glucosides formés de l'association d'un aglycone appelé anthocyanidine et d'un sucre substitué en position 3. Ces derniers qui sont de type mono, di ou tri-saccharides peuvent être acylés par des acides aliphatiques (acide malonique, succinique, etc.) ou aromatiques (acide coumarique, ferulique, sinapique).



cyanidine $R_1 = \text{OH}$, $R_2 = \text{H}$
 malvidine $R_1 = R_2 = \text{OCH}_3$
 pélagodine $R_1 = R_2 = \text{H}$
 péonidine $R_1 = \text{OCH}_3$, $R_2 = \text{H}$
 pétunidine $R_1 = \text{OCH}_3$, $R_2 = \text{OH}$
 delphinidine $R_1 = R_2 = \text{OH}$
 $R_3 = \text{mono, di, trisaccharides}$

Figure 3 : structure des principaux anthocyanes

Les anthocyanidines, dérivés polyhydroxylés de l'ion flavylum (2-phenylbenzopyrylium) se différencient par le nombre et l'emplacement des groupements hydroxyles et méthoxyles. Il existe 31 anthocyanidines mais 90 % des anthocyanes ne proviennent que de 6 anthocyanidines. De nombreuses combinaisons sont possibles et près de 600 composés ont été dénombrés [21].

Tableau2 : caractéristiques des six principaux anthocyanidines en fonction de la substitution sur l'ion flavylum

	Substitution en 3'	Substitution en 5'	R1	R2	λ_{\max} (nm)	Couleur
Pélagonidine	H	H	H	H	516	Orange-rouge
Cyanidine	H	H	OH	H	530	Rouge
Delphinidine	OH	OH	OH	OH	541	Bleu-violet
Péonidine	OCH ₃	H	OCH ₃	H	528	Rose-rouge
Pétunidie	OCH ₃	OH	OH	OCH ₃	540	Bleu-pourpre
Malvidine	OCH ₃	OCH ₃	OCH ₃	OCH ₃	538	Pourpre

R3=glucose ; λ_{\max} mesuré dans le méthanol avec 0.01% HCl

La caractéristique la plus notable des anthocyanes ou anthocyanines est le changement de couleur qu'accompagnent les variations de pH de leur milieu. Lorsque le pH augmente, on opère des changements de structure et de pH résultant de réactions d'hydratation et de transfert de proton. De ce fait, pour un même type d'anthocyane, plusieurs formes et structures résonnantes peuvent coexister dans un milieu complexe. Cela s'explique par la conjugaison de l'ensemble des liaisons π des anneaux A et C [22]. Ces changements de couleur entraînent la limitation de leur utilisation comme colorant alimentaire rouge aux denrées ayant un pH inférieur à 5. En outre elles sont particulièrement sensibles aux traitements que ces denrées pourraient subir par la suite. Dans certaines conditions de pH et de température, les anthocyanes se dégradent en présence d'oxygène, d'ions métalliques, d'enzymes et de lumière [23].

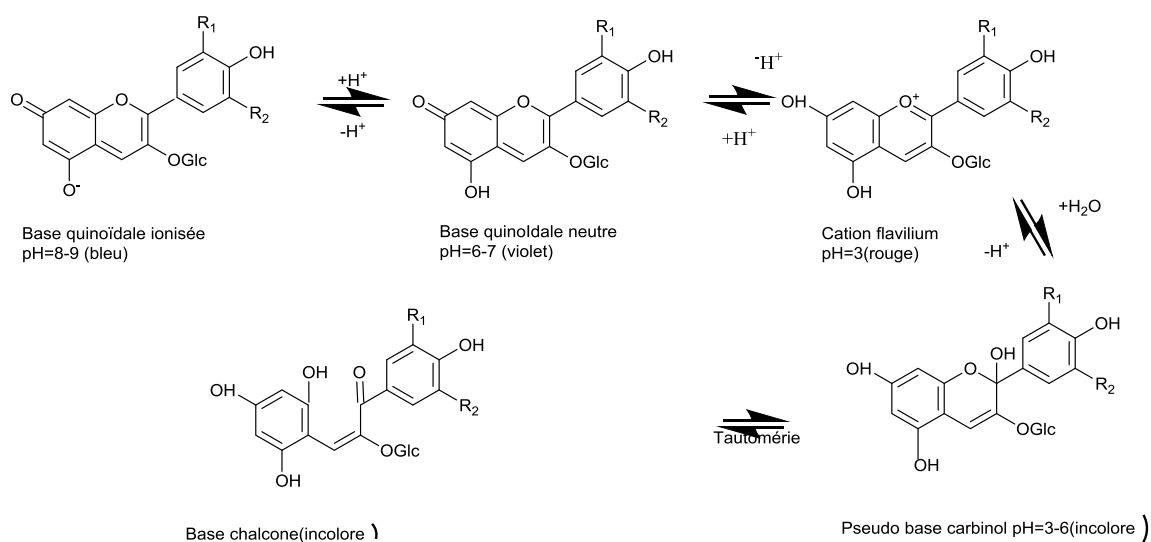


Schéma2: changement de structure et de couleur des anthocyanes en fonction du pH

II.1.4.2 Biodisponibilité pour la santé

Ils sont étudiés pour les effets positifs de leur consommation sur la santé. Ces effets sont généralement attribués à leur pouvoir antioxydant qui leur permettrait de protéger les tissus contre les dégâts causés par les radicaux libres. Ils peuvent ainsi avoir un effet préventif en réduisant les dommages que pourrait provoquer l'accumulation de radicaux libres. On associe leur consommation à l'amélioration de l'acuité visuelle. On leur reconnaît par leurs propriétés anti cancérigène, anti-inflammatoires et la capacité de réduire les risques d'être atteints par des maladies cardiovasculaires. On considérerait en revanche qu'ils pouvaient avoir un effet local en participant à la protection des muqueuses gastro-intestinales contre les effets des radicaux libres. Ils retardaient de ce fait la survenue de maladies qui y étaient associées telles que les cancers de l'estomac ou du côlon.

II.1.4.3 Stabilité et propriétés antioxydantes des anthocyanes

Les différences de structures entraînent une réactivité différente chez les anthocyanes d'où une stabilité majeure que l'on observe généralement chez les anthocyanes plus complexes. Les substitutions influent sur la stabilité des anthocyanes essentiellement par un phénomène appelé Co pigmentation. Il a lieu lorsque les substituants d'un anthocyane acylé ou des molécules présentes dans le milieu contribuent à produire un environnement hydrophobe protecteur autour du noyau flavylum. La diminution de l'activité de l'eau exerce un effet stabilisateur. La stabilité des anthocyanes est généralement bonne dans des produits secs ou à forte teneur en sucres tels que les sirops et confitures. La présence de sucre diminue la disponibilité de l'eau dont la présence est nécessaire à la dégradation des anthocyanes. La présence d'oxygène entraîne une dégradation des anthocyanes par un mécanisme qui peut être une oxydation chimique ou une réaction enzymatique en présence de polyphénol oxydase. Cette dernière est une enzyme endogène responsable du phénomène de brunissement des fruits. Elle oxyde les polyphénols en quinones et s'associent aux anthocyanes pour former des composés bruns. Un traitement thermique à 50°C permet de réduire significativement l'effet de cette enzyme. L'oxydation chimique se fait également par l'intermédiaire de quinones composées instables dont la formation est catalysée par des ions métalliques [24].

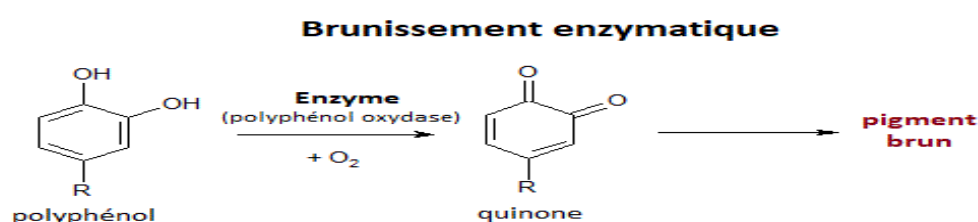


Schéma3 : Oxydation des polyphénols

II.2 Les colorants de synthèse du rouge au jaune

II.2.1 Classification chimique des colorants de synthèse

Les colorants de synthèse peuvent être classés selon différents critères. Dans cette partie, nous allons présenter un classement en se basant sur la structure chimique (la nature du groupement Chromophore).

II.2.1.1 Colorants azoïques

Les colorants azoïques sont caractérisés par la présence au sein de la molécule d'un groupement azoïque ($-N=N-$) reliant deux noyaux benzéniques. Cette catégorie de colorants est actuellement la plus répandue sur le plan de l'application puisqu'ils représentent plus de 50% de la production mondiale de matières colorantes. Un exemple de colorant azoïque est donné ci-dessous:

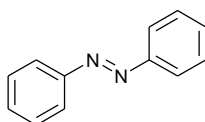


Figure4: colorant azoïque

II.2.1.2 Les colorants anthraquinoniques

Les colorants anthraquinoniques représentent après les colorants azoïques le plus important groupe de matières colorantes. Leur formule générale dérivée de l'anthracène montre que le chromophore est un noyau quinonique sur lequel peuvent s'attacher des groupes hydroxyles ou amino [25].

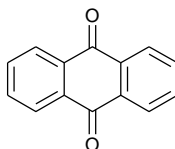


Figure5: Structure d'un colorant anthraquinonique.

II.2.1.3 Les colorants indigoïdes

Un colorant indigoïde est celui dont la coloration est une variante de l'indigo (bleu violet). Les colorants indigoïdes sont utilisés dans la teinture des textiles, comme additifs en produits pharmaceutiques, ainsi que dans les diagnostics des médecins. Le squelette suivant en est un exemple:

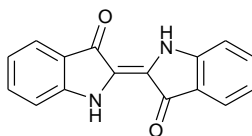


Figure6 : Structure de l'Indigo.

II.2.1.4 Les colorants xanthènes

Les colorants xanthènes sont dotés d'une intense fluorescence. Le composé le plus connu est la fluorescéine. Ces colorants sont utilisés comme marqueurs lors d'accidents maritimes ou de traceurs d'écoulement pour des rivières souterraines.

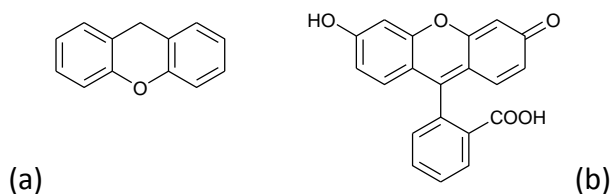


Figure7: Structure de (a) : xanthène et (b) : la fluorescéine.

II.2.1.5 Les phtalocyanines

Les phthalocyanines ont une structure complexe possédant un atome métallique central. Les colorants de ce type sont obtenus par réaction du dicyanobenzène en présence d'un halogénure métallique (Cu, Ni, Co, Pt, etc.) [26].

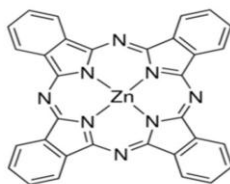
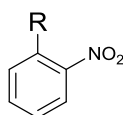


Figure8 : La phtalocyanine

II.2.1.6 Les colorants nitrés et nitrosés

Les colorants nitrés et nitrosés forment une classe de colorants très limitée en nombre et relativement ancienne. Ils sont caractérisés par leur prix modéré lié à la simplicité de la structure moléculaire présence d'un groupe nitro (-NO₂) en position ortho d'un groupement électro donneur comme les groupes hydroxyles ou aminés). La figure ci-dessous représente un colorant nitré et nitrosé [27].



avec R un groupement donneur. Exemple: OH

Figure9: Structure de colorants nitrés

II.2.1.7 Les colorants triphénylméthanés

Les colorants triphénylméthanés dérivent du triphénylméthane qui est un hydrocarbure possédant trois cycles phényle liés à un carbone central. Un exemple est présenté comme suit :

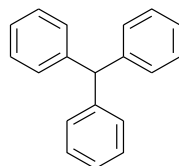


Figure10 : Formule topologique du triphénylméthane

II.2.2 Colorant de synthèse à usage alimentaire

Les colorants de synthèse destinés à l'alimentation doivent satisfaire à des critères très sévères de pureté et d'absence de toxicité. Ils sont en effet soumis à de nombreux tests sur de petits animaux avant d'être répertoriés comme colorants alimentaires. Cette réglementation varie beaucoup d'un pays à l'autre. Parmi ces 15 colorants de synthèse, neuf sont des composés azoïques: trois jaunes, un orangé, quatre rouges et un noir. Il vient ensuite six colorants appartenant à d'autres familles chimiques [28] :

II.2.3 Structure chimique de quelques colorants azoïques du rouge au jaune à usage alimentaire.

II.2.3.1 Jaune solide (ou Jaune acide R)

Ce colorant n'est pas généralement employé, mais il souille le jaune de collagène, contrairement au cytoplasme rouge.

II.2.3.2. Tartrazine (ou Jaune tartrique)

La tartrazine est souvent employée saturée dans le cellosolve (éthanol 2ethoxy) pour différencier d'autres colorants rouge acides tout en souillant le tissu dont le couleur a été jaune. La méthode de tartrazine du phloxine de Lendrum pour des granules de cellules de Paneth est un bon exemple. Elle est rarement utilisée pour d'autres buts bien qu'elle contraste très bien comme tache de fond avec des noyaux souillés par le rouge rapide nucléaire.

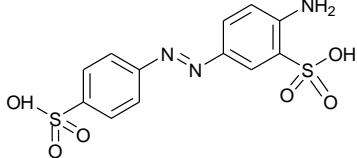
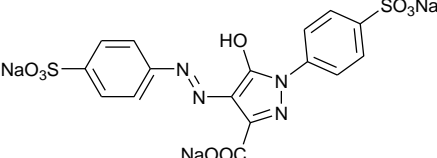
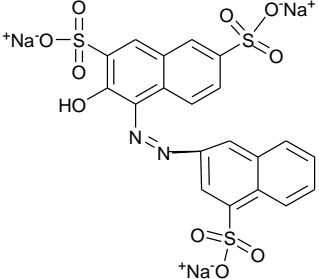
II.2.3.3 Azorubine (ou Carmoisine ou encre Nacarot, rouge)

Il est obtenu par copulation du diazo de l'acide naphthionique avec l'acide de NevileWinther. Ce colorant est à usage alimentaire quand il est purifié.

II.2.3.4. Amarante (ou Bordeaux S)

C'est un colorant azoïque synthétique rouge pourpre utilisé dans les produits alimentaires (E103) et dans la confection du rouge à lèvres.

Tableau3 : structure de quelques colorants azoïques

Structures			
Noms	Jaune solide	Tartrazine	Amarante

II.2.4 Toxicité et stabilité des colorants de synthèse

La toxicité des colorants vient principalement de leur structure chimique complexe. L'ignorance des utilisateurs de leurs effets nuisibles a conduit à la destruction progressive de la nature. Chaque type de ces polluants provoque une ou plusieurs maladies chez les espèces vivantes. Il a été démontré par de nombreuses études que les colorants aminés sont souvent aptes à provoquer des irritations de la peau et des dermites [29]. Les composés de la famille des triphénylméthanes sont des composés reconnus comme étant génotoxique pour les cellules bactériennes et mammifères [30]. Les colorants indigoïdes sont considérés très toxiques. La consommation de ses colorants peut être fatals car ils sont cancérogènes et peuvent produire et/ou développer une toxicité neuronale aiguë [31]. Les colorants xanthènes ont été démontrés pour être toxique à un large spectre d'insectes [32]. Les effets cancérigènes des composés azoïques s'expriment indirectement par leurs dérivés amines. La liaison azo est la portion la plus labile de ces molécules et peut facilement se rompre sous l'action enzymatique comme l'enzyme azo-réductase des organismes mammifères incluant l'homme pour se transformer en composé amino cancérigène [33].

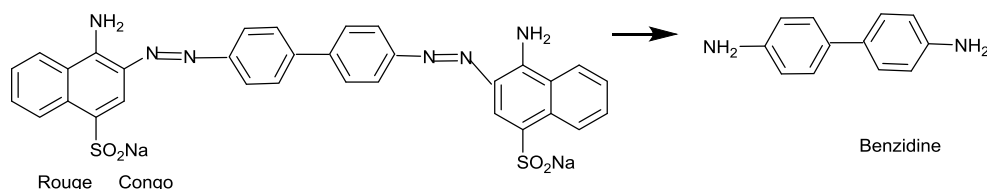


Schéma4: Réduction du colorant azoïque rouge Congo en amine cancérogène par bactérie gastro-intestinal.

III METHODE D'OBTENTION DES COLORANTS ET PIGMENTS NATURELS

III.1 Techniques d'extractions

Il existe deux méthodes d'extraction pour les colorants et pigments naturels à savoir :

- Méthodes conventionnelle : solide/liquide (macération, soxhlet)
- Méthodes nouvelles : extraction par ultrason et extraction par micro-onde

III.1.1 Méthodes conventionnelles

III.1.1.1 Macération

Elle consiste à laisser séjourner la matière végétale dans le solvant pour extraire les principes actifs, à température ambiante pour une durée déterminée. Elle est basée sur la solubilité des composés bioactifs dans un solvant d'extraction et elle est influencée par une série de facteur incluant la nature de la matière végétale, la concentration en solutés de l'échantillon, la nature du solvant, la durée d'extraction.

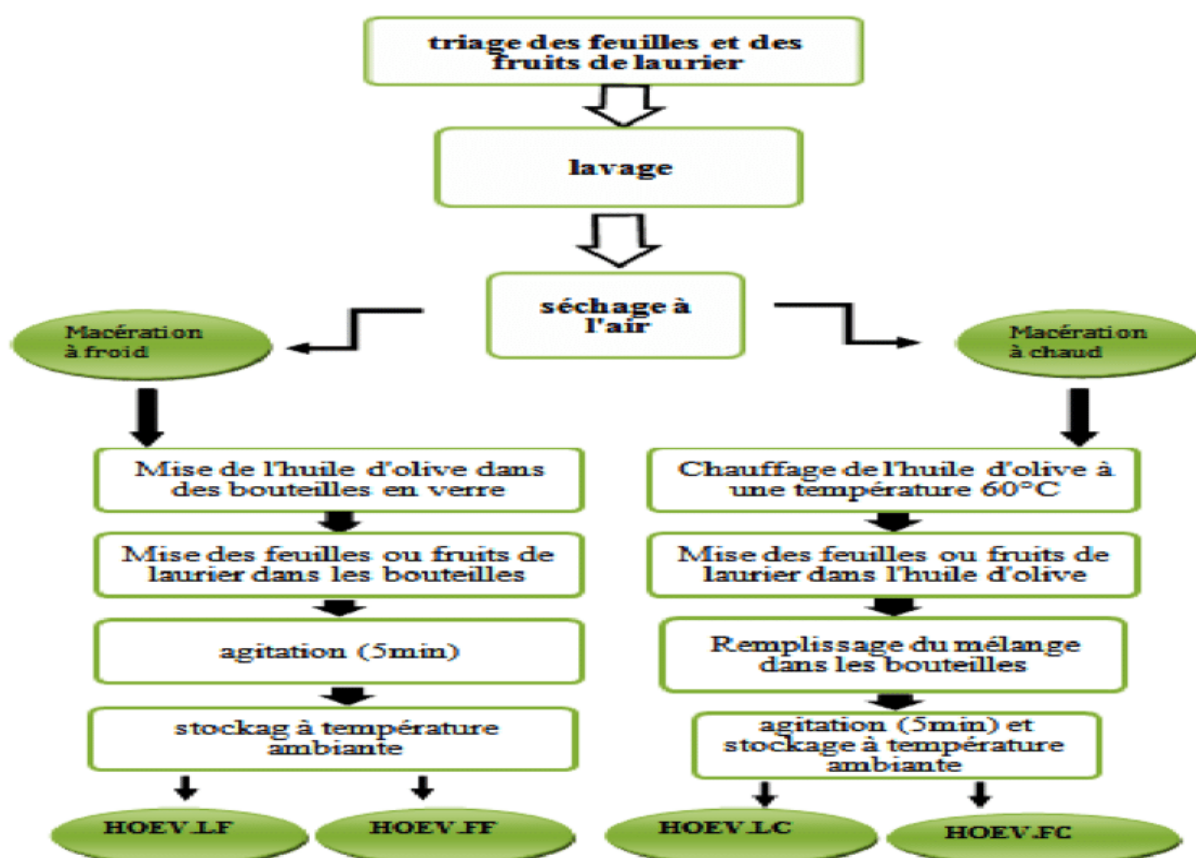


Schéma5: les différentes étapes de la macération

III.1.1.2 Extraction au soxhlet

Cette méthode permet une répétition cyclique d'extraction avec du solvant frais jusqu'à l'épuisement complet du soluté dans la matière première.

Elle évalue la performance d'autres méthodes d'extraction solide-liquide. L'extraction par Soxhlet est une technique générale et bien établie, et qui dépasse en performance les autres

techniques conventionnelles d'extraction, excepté dans le cas de l'extraction de composés thermolabiles. Dans un dispositif Soxhlet, la matière végétale est placée dans une cartouche poreuse, et remplie de solvant frais condensé à partir d'un ballon à distiller. Le siphonage consiste à aspirer la solution de la cartouche et la décharge de nouveau dans le ballon à distiller, portant les corps dissous extraits dans le liquide en bloc. Dans le ballon, le soluté est séparé du solvant par distillation. Le soluté reste dans le flacon et le solvant frais passe de nouveau dans le lit de solide. L'opération est répétée jusqu'à ce que l'extraction complète soit réalisée [34].

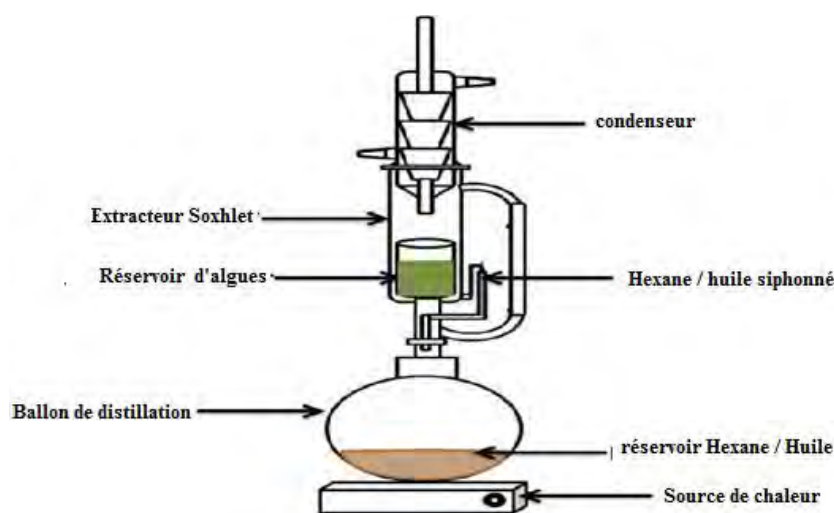


Schéma6: extracteur de soxhlet

III.1.2 Méthodes nouvelles

III.1.2.1 Extraction par ultrason

C'est une technique récente qui offre beaucoup de reproductibilité en un temps record. Elle est facile à mettre en œuvre et peu consommatrice de solvant et d'énergie, du fait que cette technologie permet son développement dans des conditions de pression atmosphérique et à température ambiante. Elle est réalisée grâce à un sonicateur ou un bain à ultrasons qui permet de transformer l'énergie électrique en vibrations mécaniques longitudinales le long d'un bac. Ces dernières permettent de détruire les cellules biologiques en suspension [35]. Le bac ou la sonde à ultrason sont les deux types d'équipements couramment utilisés dans les laboratoires. Lorsque les ultrasons se propagent à travers un liquide, les oscillations des molécules provoquent la formation des zones de compression et de dépression appelées raréfaction. Des bulles sont formées de cette différence de pression et la répétition de ces cycles va conduire à leur implosion. Ce phénomène est appelé cavitation. L'implosion de ces bulles va provoquer des jets de liquides qui vont percer les parois végétales et permettre ainsi la libération des molécules dans le milieu liquide [36].

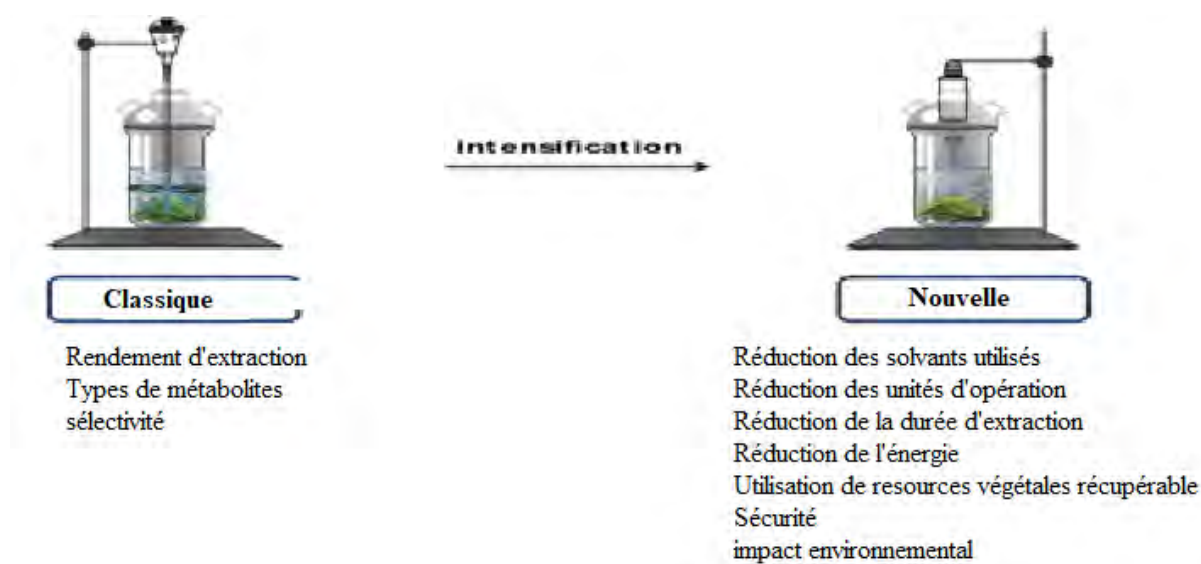


Schéma7: extracteur solvant par ultrason

III.1.2.2 Extraction par micro-onde

C'est une technique d'extraction par solvant assistée par micro-ondes. Elle consiste à irradier par micro-ondes la matière végétale, en présence d'un solvant absorbant ou non les micro-ondes. Le méthanol est un solvant absorbant permettant l'extraction de composés polaires et l'hexane est un solvant non absorbant pour l'extraction de composés apolaires. Le mélange est ensuite chauffé à de courte durée intercalé par des refroidissements à des températures inférieures à celle de l'ébullition [37].

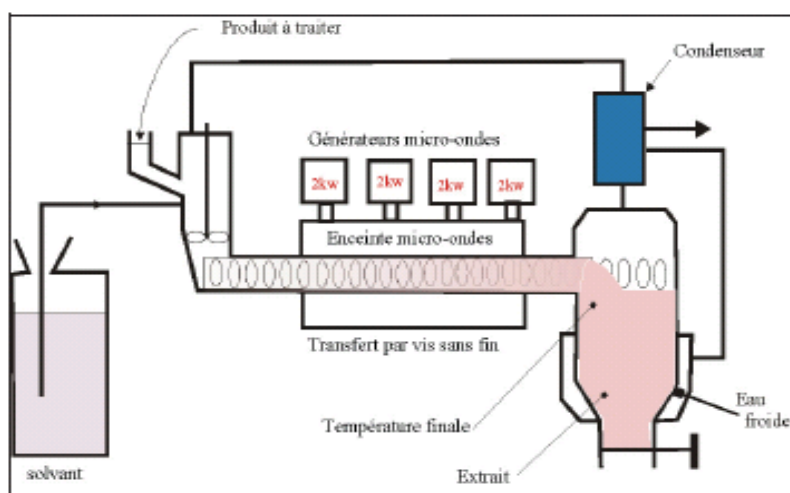


Schéma8: extracteur solvant assistée par micro-onde

III.1.3 Exemple d'extraction des composés poly phénoliques de la caroube : les caroténoïdes

III.1.3.1 Préparation des échantillons

On récolte cinq échantillons de manière aléatoire pendant la saison sèche. On prélève 2 Kg de chaque échantillon avec des critères bien établis comme des fruits sains, maturation

complète, taille et couleur uniforme, ne présentant aucune blessure ou infection. Les échantillons vont être sécher à l'étuve à 40°C puis broyé en poudre à l'aide d'un broyeur électrique .Ils seront ensuite tamisés en utilisant deux tamiseurs de granulométries différentes (500µm et 250 µm) ; les fractions dont le diamètre est inférieur à 250 µm ont été utilisé pour l'extraction.



Photo2 : schéma d'une caroube

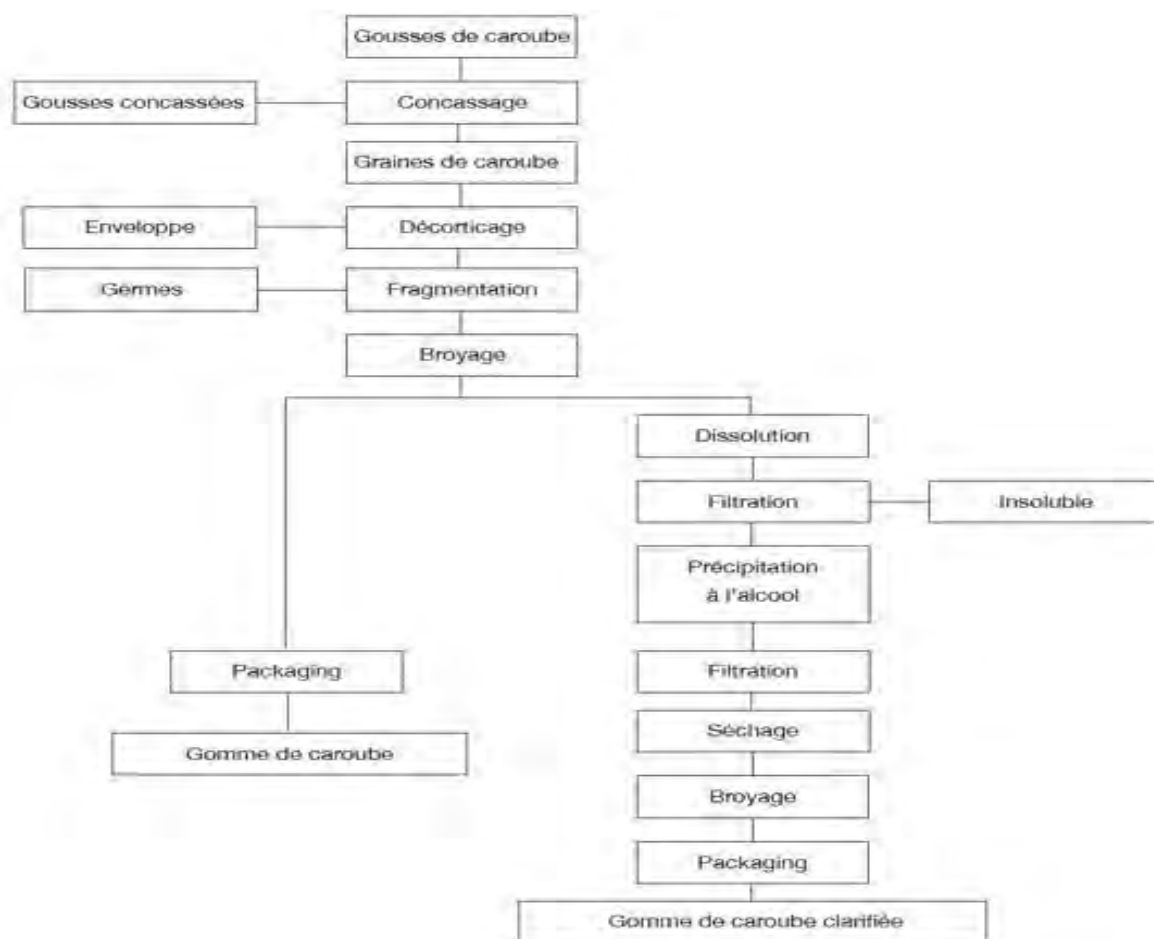


Schéma9: extraction de la gomme de caroube

III.1.3.2 Dosage

III.1.3.2.1 Préparation des extraits

Les composés phénoliques comme les caroténoïdes de la caroube sont extraits à quatre températures (25°C, 50°C, 75°C et 90°C), en utilisant comme solvants l'eau, l'acétone 30%, l'acétone 50% et l'acétone 70% (v/v). Une prise d'essai de la poudre (0,2g) est mise en

contact avec 40ml de solvant d'extraction. Le mélange est soumis à une agitation à différentes températures dans un bain marie à l'absence de lumière. Après deux heures, les mélanges sont centrifugés pendant 20 min puis filtrés. Les extraits obtenus sont conservés à -18°C.

III.1.3.2.2 Les composés phénoliques totaux

La teneur en composés phénoliques est déterminée par la méthode chromatographique [38]. Deux cent microlitres d'extrait de caroube sont mélangés avec 1ml du réactif de Folin-Ciocalteu. Après 3 min, 0,8 ml de la solution de carbonate de sodium (7,5%) sont ajoutés. Au bout de 30min d'incubation, l'absorbance est mesurée à 720nm. La concentration en composés phénoliques des extraits, exprimée en gramme de matière sèche, est déterminée en se référant à la courbe d'étalonnage obtenue en utilisant l'acide gallique

III.1.3.2.3 Les caroténoïdes

La teneur en caroténoïdes des extraits de la caroube est évaluée par la méthode chromatographique [39]. Une partie aliquote de chaque extrait a été ajoutée à un volume égal de chlorure d'aluminium (2 %). L'absorbance a été lue à 410 nm après 10min. Les résultats sont exprimés en gramme équivalent quercétine par 100g de matière sèche à partir de la courbe d'étalonnage.

IV Mécanisme de biosynthèse des colorants et pigments

IV.1 Mécanisme d'obtention des colorants azoïques

Il s'agit de colorants dans lesquels les systèmes aromatiques sont liés par l'intermédiaire d'un chromophore -N=N- appelé groupe azoïque. C'est la famille la plus importante tant sur le plan de l'application que sur celui de la multiplicité des structures étudiées. La méthode la plus courante de préparation des colorants azoïques comporte la diazotation d'une amine primaire aromatique suivie d'une réaction de copulation avec des amines aromatiques ou des phénols [40].

IV.1.1 Diazotation des amines

La diazotation correspond à l'action de l'acide nitreux sur les amines pour former les sels de diazonium. Les sels d'aryldiazonium sont généralement préparés par réaction d'une aniline avec de l'acide nitreux, qui est généré à partir d'un nitrite minéral. Le cation diazonium est ensuite obtenu grâce à l'attaque électrophile sur l'amine aromatique primaire qui conduit dans un premier temps à la N-nitrosoamine, puis par réarrangement interne acido-basique (milieu acide) conduit enfin au cation diazonium aromatique correspondant [41].

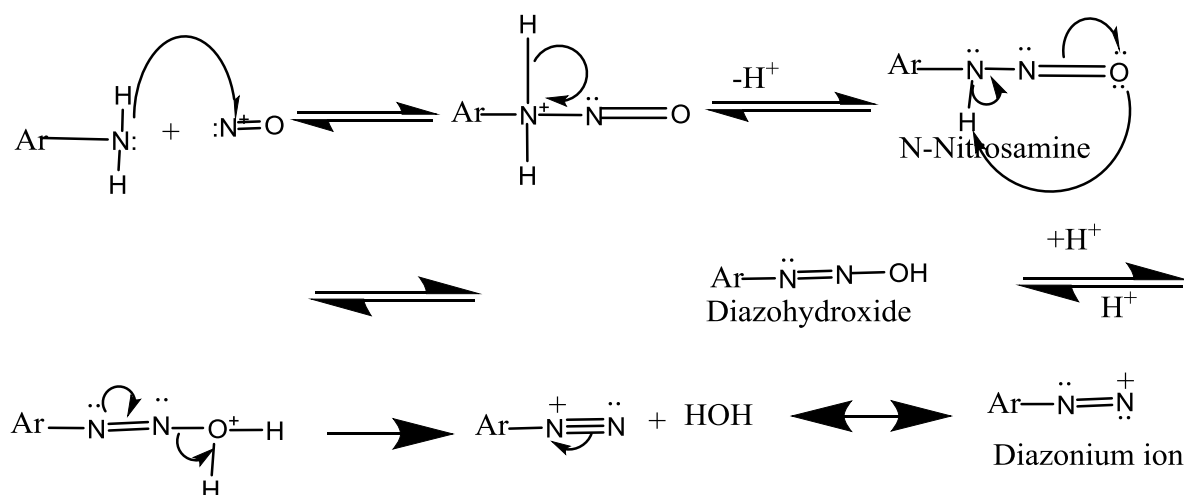


Schéma10: mécanisme de la diazotation

Elle se déroule à froid entre 0 et 5⁰ C dans un bain de glace

IV.1.2 Copulation diazoïque

C'est la réaction des sels de diazonium avec : les composés aromatiques hydroxylés et leurs éthers; les amines aromatiques ; les substances renfermant des groupes $-\text{CH}_2-$ actifs comme les β -dicétones et les acétoacétanilides ; les hydrocarbures comme les diènes conjugués, le styrène, le pentaméthylbenzène, [42].

La copulation est une substitution électrophile par le cation diazonium qui ne peut attaquer que des noyaux aromatiques activés (amines, phénols, éthers phénoliques, polyméthylbenzènes, etc.), à cause de sa faible électrophilie. La copulation avec les amines et les phénols est très dépendante du pH. Avec les amines elle se fait en milieu légèrement acide en conduisant, si la position para est libre, à des composés para aminoazoïques.

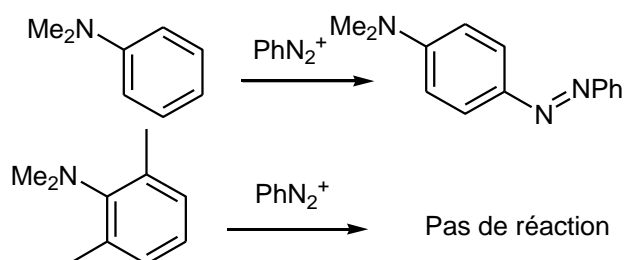


Schéma11 : mécanisme de copulation

Si la position para est occupée, il y a copulation en ortho mais il n'y aura pas de réaction lorsque les positions ortho sont occupées. Parmi les copulant aminés importants entrant dans la composition des matières colorantes, il existe d'autres copulations comme celle phénolique en milieu alcalin. Cependant il existe d'autres méthodes de formation de composés azoïques à savoir :

- ✓ La réduction des dérivés nitroaromatiques en milieu alcalin
- ✓ La Réduction des composés nitrés par AlLiH_4
- ✓ L'Oxydation des amines primaires par le permanganate de potassium, le bioxyde ou le tétra acétate de plomb
- ✓ La Condensation d'hydrazines et quinones
- ✓ La Condensation d'amines primaires de dérivés nitrosés
- ✓ L'oxydation des amines primaires aromatiques en composés azoïques qui est réalisée par le dioxyde de manganèse, mais aussi l'oxygène en milieu basique ou le tétra acétate de plomb [43].

IV.2 Synthèse de quelques colorants azoïques

Le composé de base des azoïques est l'aniline ou l'un de ses dérivés. L'orange II est un colorant azoïque rouge dont la préparation nécessite deux étapes : la diazotation et la copulation

IV.2.1 Matériel

Nous avons besoin dans la paillasse un ballon Bicol, un cristalliseur, un erlenmeyer, une pipette de 2ml-5ml-10ml, un bêcher, de l'eau distillée, un entonnoir, une éprouvette graduée (petite et grande), une pro pipette, du papier filtre, d'un thermomètre et un agitateur magnétique. Les réactifs utilisés sont les suivants : Nitrite de sodium NaNO_2 ($M=69\text{g/mol}$), Hydroxyde de sodium NaOH ($M=40\text{g/mol}$), Acide chlorhydrique concentré (HCl).

IV.2.2 Protocole opératoire

Le protocole ci-dessous nous permet d'avoir une bonne préparation des colorants. Il comprend généralement deux parties :

Diazotation : Cette réaction doit s'effectuer en dessous de 5°C . On va préparer un mélange réfrigérant de glace et de sel. On dissout 0.02 mole d'une amine aromatique dans une solution de 6 ml d'acide chlorhydrique concentré (12M) et 6 ml d'eau distillée, et laisser refroidir le mélange en dessous de 5°C sous agitation magnétique. Pendant ce temps on prépare une solution de nitrite de sodium en dissolvant 0.0214 mole de nitrite de sodium dans 8 ml d'eau glacée, puis verser lentement cette solution dans le mélange précédant. Une agitation modérée permet de produire la réaction de diazotation et former le sel diazonium.

Copulation : Dans un ballon Bicol de 250 ml, on dissout 0.02 mol de naphthol dans 100 ml d'eau distillé et 16 ml d'hydroxyde de sodium (NaOH 10%). On ajoute ensuite goutte à goutte la solution de sel de diazonium. On laisse réagir pendant une heure sous agitation continue en maintenant la température entre $0-5^\circ\text{C}$ dans un bain de glace. Le changement de la couleur du mélange réactionnel est le premier indicateur qui nous permet de savoir que

notre sel de diazonium s'est transformé en dérivé azoïque. La fin de la réaction est repérée par la non évolution de la nuance de couleur du produit obtenu. Les produits résultants sont filtrés sous vide et lavés avec l'eau glacée puis laissés sécher et recristallisé dans l'acide acétique glaciale / hexane (v/v = 1/4). Les colorants synthétisés sont rassemblés ci-dessous.

Tableau4 : dérivés des colorants azoïques

Produits de départ	Colorant obtenu	Notation	P ^o C	Rendement
Aniline	1-phénylazo-2-naphtol	Azo I 1 C ₁₆ H ₁₂ N ₂ O	125	94-19
	4-phénylazo-2-nitroso-1naphtol	Azo II 1 C ₁₆ H ₁₁ N ₃ O ₂	120	97-70
	4-phénylazo-1-naphtol	Azo III 1 C ₁₆ H ₁₂ N ₂ O	195	99-35
Chloroaniline	4-(2-chlorophénylazo)-1naphtol	Azo I 2 C ₁₆ H ₁₁ N ₂ OCl	128	75-26
	4-(2-chlorophénylazo)-2nitroso-1-naphtol	Azo II 2 C ₁₆ H ₁₀ N ₃ O ₂ Cl	152	88-23
	4-(2-chlorophénylazo)-1naphtol	Azo III 2 C ₁₆ H ₁₁ N ₂ OCl	163	99-38
Fluoroaniline	1-(2-fluorophénylazo)-2naphtol	Azo I 3 C ₁₆ H ₁₁ N ₂ OF	130	95-32
	4-(2-fluorophénylazo)	Azo II 3	138	96-38
	4-(2-fluorophénylazo) 1naphtol	Azo III 3 C ₁₆ H ₁₁ N ₂ OF	140	99-26
Bromoaniline	1-(2-bromophénylazo)-2naphtol	Azo I 4 C ₁₆ H ₁₁ N ₂ OB	142	99-54
	4-(2-bromophénylazo)-2nitroso-1-naphtol	Azo II 4 C ₁₆ H ₁₀ N ₃ O ₂ Br	130	99-46
	4-(2-bromophénylazo)-1- naphtol	Azo III 4 C ₁₆ H ₁₁ N ₂ OBr	164	74-62
2-toluidine	1-(2-méthylphénylazo) 2-naphtol	Azo I 5 C ₁₇ H ₁₄ N ₂ O	100	59-23
	4-(2-méthylphénylazo) 1- naphtol	Azo II 5 C ₁₇ H ₁₄ N ₂ O	110	93-56
2aminothiophe nol	1-(2-thiophénylazo)-2naphtol	Azo I 6 C ₁₆ H ₁₂ N ₂ OS	106	75-59
	1-(3-carboxyphénylazo) 2-naphtol	Azo I 7 C ₁₇ H ₁₂ N ₂ O ₃	144	97-51

RESULTATS ET DISCUSSIONS

Pour l'extraction des caroténoïdes deux phases ont été utilisées ; une phase apolaire qui permet de récupérer les caroténoïdes et une phase polaire pour éliminer les molécules hydrophiles dont les polyphénols, particulièrement les flavonoïdes, car certains peuvent interférer dans le dosage des caroténoïdes. Les teneurs des composés analysés présentent généralement des différences significatives. Ces dernières constatées seraient dues à la variété et aux conditions de culture, notamment la lumière, la température et l'azote disponible. Leurs effets sur la santé, leur réglementation, leurs dangers étant souvent ignorés par les consommateurs. Parmi tous les aliments, rares sont ceux qui ne contiennent pas de colorants. En effet, certains sont responsables d'intolérances. Seul le rouge de la cochenille E124 provoque, dans quelques rares cas, des allergies. Il met ainsi en jeu le système immunologique contrairement à l'intolérance. Plus graves, d'autres sont mutagènes et génotoxiques ou encore provoquent des cancers de la thyroïde voire même des tumeurs des glandes surrénales et des reins chez les animaux. Ces derniers effets sont cependant rarissimes et ne surviennent que si l'on en ingère de fortes doses. Les colorants alimentaires que l'on peut considérer comme toxiques pour l'être humain et à éviter sont la Tartrazine E102 et l'Amarante E123 (interdit aux Etats-Unis et très réglementé en France). Ces colorants de synthèses sont entre autre suspectés de jouer un rôle dans le syndrome d'hyperactivité et pourraient contenir des substances cancérigènes.

Cependant les colorants naturels sont peu toxiques si leur dose admissible est respectée. Mais des cas comme les caroténoïdes sont responsables d'un retard de croissance chez l'enfant, aménorrhée femme, malformations, troubles cutanés, maux de tête, nausées et d'ictères.

Tous les colorants alimentaires ne sont pas dangereux pour la santé. C'est le cas du Lycopène E160d et du β -carotène E160a. Ces deux colorants appartiennent à une même famille, les caroténoïdes que l'on retrouve dans presque tous les fruits et légumes.

Le Lycopène est un antioxydant absorbé par l'organisme, il l'aide à protéger et à réparer les cellules endommagées. Les antioxydants ont démontré leur capacité à empêcher l'oxydation de l'ADN, laquelle serait à l'origine des cancers. Il préviendrait l'apparition de certains cancers de la prostate, du poumon, du sein, de l'appareil digestif, de maladies cardio-vasculaires ainsi que la dégénérescence maculaire.

Le rôle du β -carotène est similaire à celui de la vitamine A. Il est aussi appelé 'provitamine A'. Il doit en effet être digéré avant d'être transformé en vitamine. Dans les cellules de la paroi intestinale, le β -carotène est transformé en rétinol (proche de la vitamine A) et couvre ainsi les

besoins indispensables de l'organisme. Il joue lui aussi un rôle très important dans la prévention des cancers et il est recommandé dans le cas de vieillissement prématuré et de troubles de la vision. Il est présent dans les épinards, la betterave, les carottes, les abricots, les melons...

Ces substances que sont le Lycopène et le β -carotène ne font paradoxalement pas partie des éléments qualifiés de nutritifs par les autorités de la santé. Prises à fortes doses, elles peuvent être toxiques (surtout le rétinol) et il faudra attendre des études de plus grandes envergures pour définir véritablement leurs bienfaits directs sur la santé.

CONCLUSION

Nous avons vu que les colorants alimentaires occupent une place très importante dans l'alimentation depuis quelques décennies. Les colorants étaient d'abord d'origine naturelle et grâce au développement scientifique et technologique, ils ont pu être synthétisés d'autre colorant. La couleur de ces additifs est conférée par leur structure moléculaire qui peut varier en fonction de facteur tel que le pH.

Les colorants favorisent les ventes en apportant une meilleure apparence aux produits. Ils compensent également les variations saisonnières : par exemple, le beurre n'est jaune qu'en été alors qu'en hivers, il est jugé pâle par les industriels qui lui ajoutent un colorant jaune, le β -carotène.

Quelques rares colorants ont des effets positifs. Mais la plupart posent quelques inconvénients pour l'homme puisqu'ils peuvent être nocifs. C'est pourquoi il existe une réglementation les concernant.

Les scientifiques ont établi le fait que les colorants artificiels aient un effet néfaste sur la santé humaine. C'est pourquoi de nombreux pays en ont interdit la synthèse et l'importation. Ceci encourage l'utilisation de colorants naturels dans la majeure partie des produits. Par conséquent, les fabricants se concentrent davantage à la production de pigment et colorant naturel. En effet de nos jours, les colorants alimentaires sont pour la plupart synthétisés. Ces derniers sont fabriqués par l'industrie chimique mais existent à l'identique dans la nature. De ce fait le produit de la vie biologique naturel est perçu comme bon alors que le produit fabriqué par l'homme est perçu comme mauvais voire dangereux. En vérité ce n'est pas l'origine d'un produit qui détermine sa dangerosité mais sa structure moléculaire ainsi qu'éventuellement la manière de l'utiliser car il peut être dégradé, transformé lors de la préparation de l'aliment (cuisson, macération, addition d'un acide : jus de citron, vinaigre...). Certes la question des additifs est inséparable de celle de l'alimentation moderne mais il ne faut jamais qu'ils soient secrets pour le consommateur. Ce dernier doit savoir au moins ce qu'il consomme pour qu'il puisse les éviter s'il le veut et que l'épidémiologiste puisse relier le cas échéant un accident à sa cause. Donc les gouvernements doivent être capables en cas d'accident de retirer de la circulation un produit suspect même lorsqu'il a été déjà largement diffusé. D'après les résultats on peut classer les colorants naturels utilisés dans l'alimentation dans une posture un peu toxique, mais en comparant avec les autres colorants le naturel restera le colorant idéal, adéquat et bénéfique pour la santé de l'être humain.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- [1] **Sheng, H.L. et chi, M.L.**, « treatment of textile waste effluents by ozonation and Chemical coagulation, (1993), Wat. Vol, 27, N°12, P 1743-1748.
- [2] **Kang, S.F. Chang, H. M.**, « Coagulation of textile secondary effluents with fenton's Reagent ». Wat. Sci. Technol. , (1997), P 36, 215.
- [3] **AL-Degs, Y. Khraisheh, M.A.M., Allen, S.J. ET Ahmad, M.N.**, « Effect of carbon surface and the removal of reactive dyes from textile effluent », Wat. Res. (2000), Vol. 34, N°3, P 927,935.
- [4] **Sir William Henry Perkin, Extraits des Mémoires, (1856).**
- [5] **D.A moneret vautre B. aubert**, « Le risque de sensibilisation aux colorants Alimentaires et pharmaceutiques », (Juin 1977), Editions Masson, P 8 - 13, 110 -118.
- [6] **M. Flett, St. C. J.** *The application of infra-red spectroscopy to structural problems in the anthraquinone field*, Chem. Soc., (1948), P 1441
- [7] **Melle S.ATBA et N.BENKADDOUR**, « élimination d'un colorant par des algues marines modifiées » ; diplôme de Master, université de Mostaganem, (2012-2013), p41.
- [8] **F. ABDELMALK**, « plasma chimie des solutions aqueuses .Application à la dégradation de composés toxiques » ; thèse de doctorat, université de Mostaganem, (2003), p 217.
- [9] **H.ZEROUALI et H.BESSAHA**, « Elimination de deux colorants par une bentonite modifiée » ; mémoire de fin d'étude, université de Mostaganem, (2009), p79.
- [10] **Rodriguez-Amaya D.B.** Quantitative analysis, in vitro assessment of bioavailability and antioxidant activity of food carotenoids. J. Food Compo. Anal, (2010), 23 : p 726–740
- [11] **Reynaud E.** Synthèse organique d'apo-lycopénoïdes : étude des propriétés antioxydantes et complexantes. Thèse de l'Université d'Avignon et des Pays de Vaucluse, (2009), p183.
- [12] **Haddad, N. F., Teodoro, A. J., Leite de Oliveira, F. L., Soares, N., de Mattos, R. M., Hecht, F., Dezone, R. S., Vairo, L., Goldenberg, R. C., Gomes, F. C. A., de Carvalho, D. P., Gadelha, M. R., Nasciutti, L. E., & Miranda-Alves, L.** Lycopene and β -carotene induce growth inhibition and proapoptotic effects on ACTH-secreting pituitary adenoma cells. PLoS ONE, (2013), 8, p627-673.
(2014); p 1377–1386.
- [13] a/ **NGUYEN Thi Thu**, Éco-extraction et encapsulation de pigments caroténoïdes et anthocyanes à partir de plantes tropicales, thèse université de bourgogne, (2018), p159.
b/ **g, S. M.** Colorspore: new sources of naturel, gastric stable, food additives, colorants and novel functional foods. Small collaborative project. Technical Annex: proposal, (2008), n°207948: p7.
- [14] **Mata-Gómez L.C., Montañez J.C, Méndez-Zavala A., Aguilar C.N.** Biotechnological production of carotenoids by yeasts: an overview. Microb. Cell Fact. (2014), 13:12
- [15] **Di Mascio, P., Sundquist, A.R., Devasagayam, T.P.A., Sies, H.** Assay of lycopene and other carotenoids as singlet oxygen quencher. Methods Enzymol. (1992), 213: 429-432.
- [16] **Gerster, H.G.** The potential role of lycopene for human health. J. Am .Coll .Nutr, (1997), 16: 109-126?
- [17] **Mortensen, A., Skibsted, L.H., Evans, C., Everett, S.A.** Comparative mechanisms and rates of free radical scavenging by carotenoid antioxidants. FEBS Lett, (1997), 418: 91-97.
- [18] **Woodall A.A., Lee S.W.M., Weesie R.J., Jackson M.J., Britton G.** Oxidation of carotenoids by free radicals : relationships between structure and reactivity. Biochim. Biophys. Acta, (1997), 1336: 33-42
- [19] **Andersen.M., Jordheim M.** The anthocyanins. In: **Andersen Ø.M. & Markham K.R.**, eds., Flavonoids: chemistry, biochemistry and applications. Boca Raton, FL, USA: CRC Press, (2006), p140-141

- [20] **Heim K.E., Tagliaferro A.R. & Bobilya D.J.**, Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity relation, *The Journal of nutritional biochemistry*, (2002), p572-584.
- [21] **Ribéreau-Gayon P., Pontallier P. & Glories Y.**, Some interpretations of colour changes in young red wines during their conservation. *J. Sci. Food Agric.*, (1983), 34,505-516.
- [22] **Cheikh Beye, Lat Souk Tounkara, Mamadou Amadou Seck, Philippe Thonart & Patrick Fickers**, «Opportunités pour la valorisation des végétaux riches en anthocyanes comme sources de colorants alimentaires (synthèse bibliographique)», *BASE [En ligne]*, (2015), volume19, numéro 4, 392-401.
- [23] **DEPA (Danish Environmental Protection Agency)**. Survey of azo-colorants in Denmark), Toxicity and fate of azodyes, *International Journal of Innovation and Applied Studies*, (2000), 1373-1377.
- [24] **Moncada S, Palmer R M, Higgs E A**. Nitric oxide: physiology, pathophysiology, and pharmacology, *Pharmacol. Rev.* (1991), 43, pp.109-142.
- [25] **Bouazza F**. Elimination des polluants organiques par des argiles naturelles et modifiées, Diplôme de Magister, Université Abou Bekr Belkaid-Tlemcen, Algérie (2012), 143p.
- [26] **BOUGUERIA HASSIBA**, Essais de synthèse et de caractérisation de substances tinctoriales, (2007), 131p.
- [27] **Desoille H, Scherrer J, Truhauter R**. Précis de médecine du travail, 5ème Ed. Masson, (1987) pp.838-845.
- [28] **Combes R D, Haveland-Smith R B**. A review of the genotoxicity of food, drug and cosmetic colours and other azo, triphenylmethane and xanthene dyes, *Mutation Research/Reviews in Genetic Toxicology*, (1982),98, pp.101-243.
- [29] a/ **Jenkins C L**. Textile dyes are potential hazards, *Arch. Environ. Health*, (1978),40, pp.7-12.
b/**Broome J R, Callahan M F, Heitz J R**. Xanthene dye-sensitized photooxidation in the black imported fire ant, *solenopsis richteri*, *Environ. Entomol.* , (1975),4, pp.883-886
- [30] **Smail Khadidja**, Élimination d'un polluant par un hydroxyde double lamellaire en solution aqueuse, (2017-2018), 68p.
- [31] **MPelleP Chetioui Souheyla**, Structures et propriétés physico - chimiques de substances colorantes de synthèse, (2010), 155p.
- [32] **Spigno, G., Tramelli, L., Faveri, D. M**. Effects of extraction time, temperature and solvent on concentration and antioxidant activity of grape marc phenolics. *Journal of Food Engineering*, (2007), 81,200-208.
- [33] **Luque-Garcia, J. L., Luque de Castro, M.D**. Ultrasound-assisted Soxhlet extraction: An expeditive approach for solid sample treatment-Application to the extraction of total fat from oleaginous seeds. *Journal of Chromatography A*, (2004), 1034: 237-242.
- [34] **Soria, A.C., Villamiel, M**. Effect of ultrasound on the technological properties and bioactivity of food: A review. *Trends Food Sci. Technol*, (2010), 21, 323-331.
- Dolatowski, Z. J., Stadnik, J., Stasiak, D.**, et others. Applications of ultrasound in food technology. *Acta Sci. Pol., Technol. Aliment*, (2007); 6(3), 89-99.
- [35] **Ya-qin, M., Xing-qian, Y., Zhong-xiang, F., Jian-chu, C., Gui-hua, X., Dong-hong L**. Phenolic Compounds and Antioxidant activity of extracts from ultrasonic treatment of Satsuma Mandarin (*Citrus unshiu* Marc.) Peels. *J. Agric. Food Chem*, (2008); 56 (14), 5682-5690
- [36] **Mandal, V., Mohan, Y., & Hemalatha, S**. Microwave assisted extraction—an innovative and promising extraction tool for medicinal plant research. *Pharmacognosy*, (2007) Reviews, 1(1), 7-18.

- [37] **Goli A.H., Barzeger M., and sahari M.A.** Antioxidant activity and total phenolic compound of pistachio (*Pistachia Vera*) hull extracts .Food Chemistry. **(2005)**, 92: 521-525.
- [38] **Bahorun T., Luximon-Ramma A., Crozier A and Aruoma O.** Total phenol, flavonoid, proanthocyanidin and vitamin C levels and antioxidant activities of Mauritian vegetables. Journal of the Science of Food and Agriculture. **(2004)**, 84:1553– 1561.
- [39] **K.Maclaren**, « The Colour Science of Dyes and Pigments », Adam Hilger Ltd., Boston, **(1985)**, pp .182.
- [40] **P. Grecias**, « Chimie Organique : cours et exercices d’application », Technique et documentaire, (2004), 3ème édition, 697pp.
- [41] **Griffiths J.**, « Colour and Constitution of Organic Molecules », Academic Press, New York, **(1976)**, p.878-879.
- [42] **a/Abrahat E.N.**, « Dyes and Their Intermediates », **Eward Arnold Ed., 1977**.p. 85.
b/ M. Hedayatullah, « Les Colorants Synthétiques », **(1976)**, P.U.F, pp.64-66.
- [43] **Ullmann’s**, « Encyclopedia of Industrial Chemistry », completely rev Ed. **(1996)**, vol.A3, pp.248-249.

WEBOGRAPHIE

- [W1] <http://tpefglescolorantsalimentaire.e-monsite.com/pages/introduction.html>
- [W2] <https://www.aquaportail.com/definition-3149-colorant-naturel.html>
- [W3] <http://membres.lycos.fr/pmdcolorants/historique%20des%20colrants.htm>
- [W4] <https://www.aquaportail.com/definition-3149-colorant-naturel.html>
- [W5] <http://membres.lycos.fr/pmdcolorants/historique%20des%20colrants.htm>
- [W6] <http://membres.lycos.fr/pmdcolorants/historique%20des%20colrants.htm>

Résumé :

Les colorants sont définis comme étant des composés chimiques colorés, naturels ou synthétiques, en générale organiques qui ont la propriété de colorer durablement le support sur lequel ils sont appliqués dans certaines conditions. On utilise ces composés pour colorer diverses matières telles que les produits alimentaires. Les propriétés colorantes des composés organiques dépendent de leur structure. Tout colorant est généralement considéré comme composé organique insaturé et aromatique, en présence de groupes chimiques appelés chromophores qui produit la couleur intrinsèque. La première partie de notre étude est une recherche accès successivement sur : la généralité sur les colorants, leur classification et application, leur propriétés chimiques. En deuxième partie, on décrira les méthodes d'extraction comme la macération, l'extraction assistée par ultrason, l'extraction aux micro-ondes aboutissant à l'obtention de colorant naturel tel que les caroténoïdes et une voie de synthèse qui nous a conduits à l'obtention de quelques colorants azoïques, axée sur la méthode de diazotation, suivie par une copulation diazoïque avec l'identification des groupements majeurs de ces dérivés. En dernier lieu nous avons abordé les résultats et discussions sur l'effet de la température, de la pression mais aussi des solvants sur les méthodes d'extraction et de synthèse ; l'effet des colorants sur la santé humaine.

Mots clés : colorants alimentaire, jaune au rouge, extraction, aromatique, diazotation, copulation

Abstract

Dyes are defined as colored chemical compounds, natural or synthetic, in general organic which have the property of lastingly coloring the support on which they are applied under certain conditions. These compounds are used to color various materials such as food products. The coloring properties of organic compounds depend on their structure. Any color is generally considered as an unsaturated and aromatic organic compound, in the presence of chemical groups called chromophores which produce the intrinsic color. The first part of our study is a research access successively on: the generality on the dyes, their classification and application, their chemical properties. In the second part, we will describe the extraction methods such as maceration, extraction assisted by ultrasound, microwave extraction resulting in the obtaining of natural dye such as carotenoids and a synthetic route which led us obtaining a few azo dyes, focusing on the diazotization method, followed by a diazo coupling with the identification of the major groups of these derivatives. Finally we discussed the results and discussions on the effect of temperature, pressure but also solvents on extraction and synthesis methods; the effect of dyes on human health.

Keywords: food coloring, yellow to red, extraction, aromatic, diazotization, coupling