



Introduction et contexte

La consommation de sucre est un problème important en Amérique du Nord où la prévalence de diabète diagnostiqué au Canada est de 6.8% (2008) et de 9.4% aux États-Unis (2015). Pour pouvoir remédier à ce problème, il est important de cibler la cause originelle. Celle-ci se relie à la digestibilité et l'absorption du glucose dans le tract intestinal. Une étude publiée en 2016 a démontré que l'acide gallique a des propriétés inhibitrices de l'enzyme α -amylase lorsque combinée à l'acarbose, une drogue antidiabétique. Une inhibition était plus importante lorsque l'acarbose était combinée avec l'acide gallique. Ici, l'acide gallique (AG) a une pertinence particulière tel qu'il est retrouvé naturellement dans plusieurs aliments consommés en Amérique du nord. Notre hypothèse est donc que l'acide gallique (AG) pourrait avoir l'effet de réduire la digestibilité des polysaccharide et que cet effet serait proportionnel à sa concentration. Cette étude aura pour but d'étudier l'effet de différentes concentrations d'acide gallique (0.3g/Kg, 1g/Kg et 3g/Kg) sur la digestibilité d'amidon de maïs lors de digestion in vitro. Les concentrations choisies reflètent celles retrouvées de façon naturelle dans les aliments consommés.

Méthodologie

Partie 1: Matériaux et réactifs

- KCl
- KH₂PO₄
- NaHCO₃
- NaCl
- MgCl₂(H₂O)₆
- (NH₄)₂CO₃
- NaOH
- HCl
- CaCl₂(H₂O)₂
- Farine de Maïs
- α -amylase
- pepsine
- Pancréatine
- amyloglucosidase

Partie 2: Formation de particules d'amidon

Deux types de particules ont été faites: celles avec et sans AG intégré. Un ratio d'eau et d'amidon de 80:20 a été utilisé. Le mélange a été chauffé au micro-onde, mélangé jusqu'à avoir une pâte légèrement translucide puis a été incorporé dans les seringues pour la formation de particules. Pour les particules avec de l'AG incorporé, ce dernier a été dilué aux concentrations voulues dans 100ml d'eau et cette solution a été utilisée pour le ratio solution : amidon de 80:20.

Partie 3: Mesure du contenu en eau des particules

Environ 0.6g de particules a été utilisé pour la mesure du pourcentage de contenu en eau. La *Mettler Toledo™ HE53 Halogen Moisture Analyzer* a été utilisé.

Partie 4 : Digestion in Vitro

Le protocole de digestion in vitro de M. Minekus (méthode standardisée) a été suivi. La mesure du taux de glucose a été répétée à temps 0, 1h et 2h à l'aide d'un glucomètre *Accuchek*. Un contrôle et 3 essais pour chaque condition a été effectuée pour assurer la capacité de répliquer l'expérience

Partie 5 :Analyse statistique

La masse réelle d'amidon dans les particules a été déterminée grâce au contenu en eau des particules. À partir de cela, nous avons déterminé le nombre de mole initial et final. La comparaison de ces nombres nous a permis de trouver le pourcentage d'amidon digéré. Une moyenne du pourcentage de digestion final ainsi que de la digestibilité à chaque temps a été calculée pour une comparaison graphique. La valeur p de chaque combinaison d'échantillon a été calculée pour évaluer si les différences étaient significatives ou non.

Résultats et discussion

Sur les trois répétitions, l'une a donné des valeurs aberrantes et n'a donc pas pu être incluse dans les résultats. Dans les figures, un pourcentage maximal de 20 a été utilisé pour pouvoir discerner les faibles tendances malgré que non significatives.

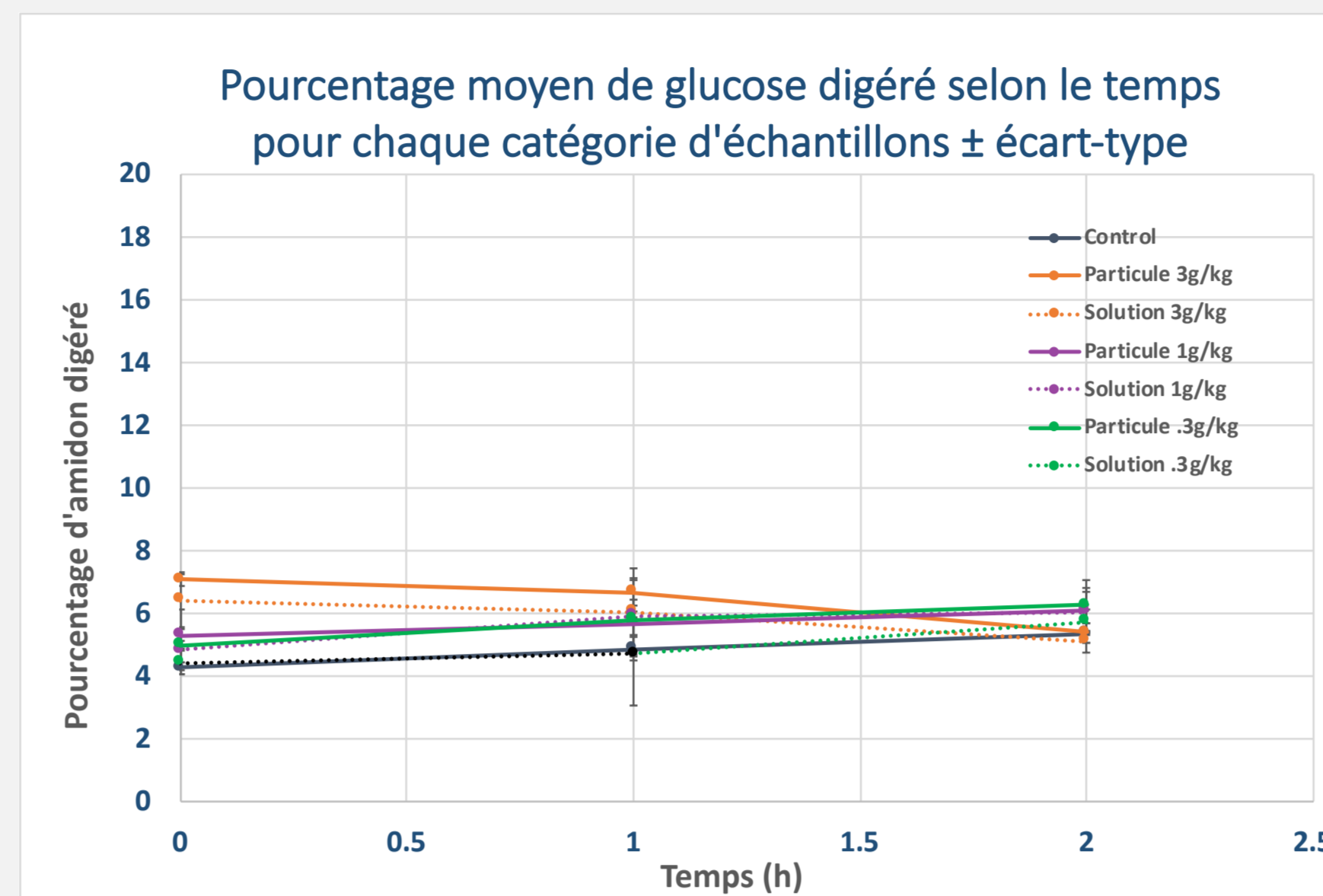


Figure 1 : Représentation des pourcentages moyens d'amidon digéré aux temps 0, 1 et 2 (en heures) ± écart-type. Les mesures de concentration de glucose ont été faites lors de la phase intestinale à l'aide d'un glucomètre et ont été convertis en un pourcentage d'amidon digéré par rapport au pourcentage initial théorique d'amidon.

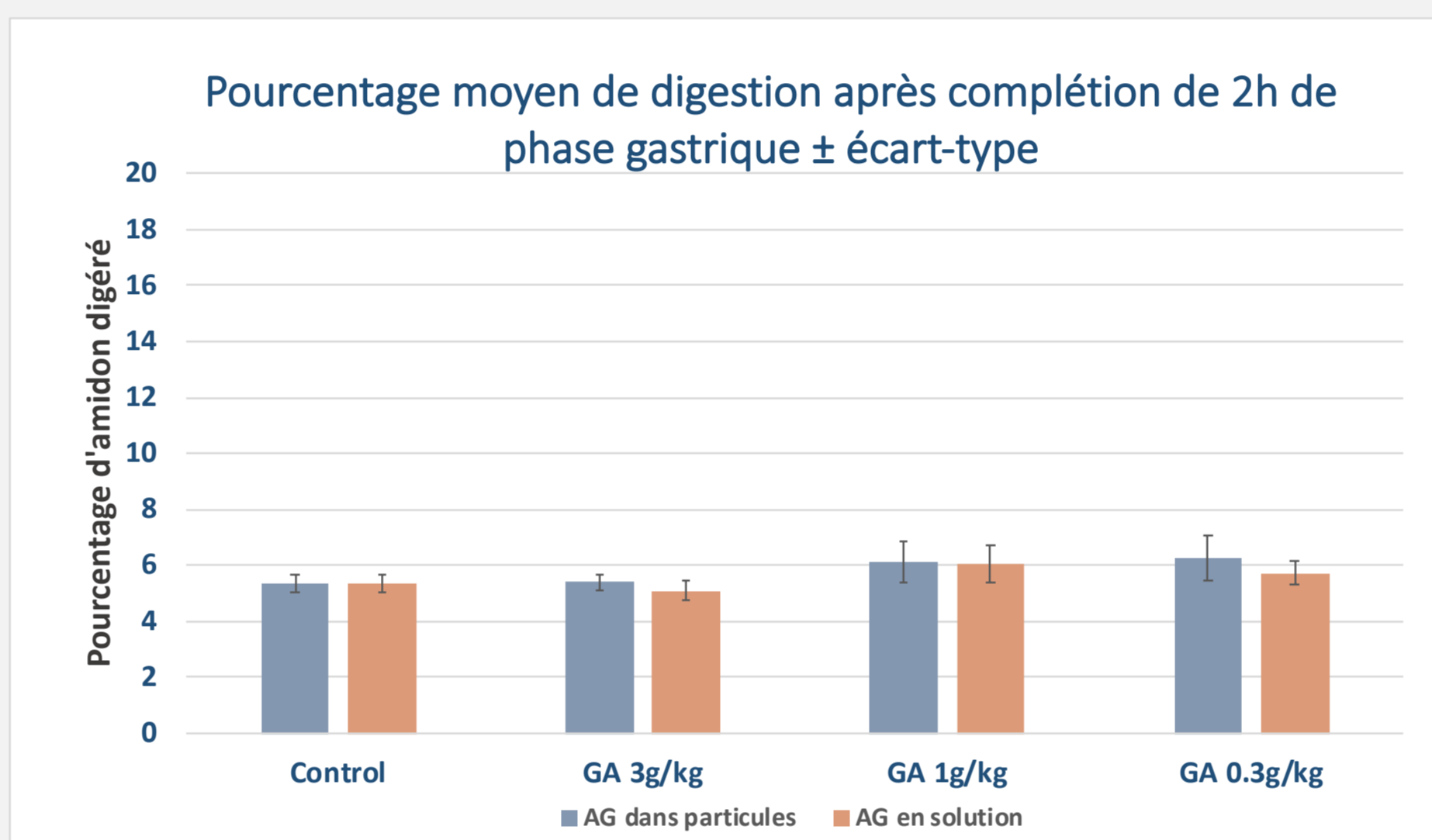


Figure 2 : Représentation des pourcentages moyens calculés d'amidon digéré selon la condition d'essais avec écart-types. Les essais comprennent le contrôle ainsi que les deux types de particules : les particules d'amidon avec AG et les particules d'amidon avec AG en solution.

	Control	0.3g/Kg Particule	0.3g/Kg Solution	1g/Kg Particule	1g/Kg Solution	3g/Kg Particule	3g/Kg Solution
Control	-	0.664	0.991	0.821	0.847	1	0.998
0.3g/Kg Particule	-	-	0.944	1	1	0.688	0.422
0.3g/Kg Solution	-	-	-	0.991	0.995	0.993	0.889
1g/Kg Particule	-	-	-	-	1	0.841	0.574
1g/Kg Solution	-	-	-	-	-	0.866	0.605
3g/Kg Particule	-	-	-	-	-	-	0.997

Tableau 1: Calcul de valeur p pour chaque combinaison de comparaison entre les différents échantillons. Cela évalue s'il y a ou non une différence significative entre différentes paires d'échantillons.

Le tableau 1 indique qu'il n'y avait aucune différence significative entre les résultats (valeurs p >> 0.05). Cela est également observé dans les figures 1 et 2 où les écart-types se chevauchent. Cependant, nous pouvons discerner une tendance possible où la digestibilité pour l'AG en solution est légèrement plus faible que celle de l'AG dans les particules. Nous observons aussi dans la figure 1 que les deux concentrations de 3g/kg résultent en une diminution de digestibilité plutôt qu'une augmentation ce qui suggère des interactions qui pourraient mobiliser les molécules de glucose de sorte à ce qu'ils ne puissent pas être lus par le glucomètre. Malgré cela, le manque de différence significative va à l'encontre de nos prédictions et indique que l'AG ne permet pas de ralentir la digestion de l'amidon. Cela va également à l'encontre de la littérature qui souligne l'effet inhibiteur de l' α -amylase. Il faut par contre noter que dans l'étude de G. Oboh, l'effet inhibiteur optimal de l' α -amylase se produit dans le cas de mélange de 75% d'acarbose et 25% d'AG. L'inhibition supérieure pourrait donc plutôt provenir d'interactions de l'AG qui améliore l'action de l'acarbose plutôt que de l'inhibition directe de l' α -amylase par l'AG. Dans l'expérience de K. Kumar et J. B. Chauhan, on retrouve un cas similaire où on évalue l'effet de la combinaison de différents acides phénoliques parmi lesquelles l'AG se trouve.

Discussion (suite)

Ceci est pertinent en terme du fait que l'AG ne sera pas ingéré de façon individuelle durant une alimentation quotidienne mais est peu indicatif en terme de l'effet individuel de l'AG. Finalement K. Roll, a publié une étude en 2002 où l'AG offre la troisième meilleure inhibition de l' α -amylase parmi d'autres acide phénoliques testés. Il utilise par contre une concentration de 0.28mmol/g de protéines. En comparaison, nous avons utilisés des concentrations de 3g/kg ce qui équivaut à 0.018mmol/g de particules d'amidon ce qui est plus de 15 fois plus petit que la concentration utilisée dans leur expérience. À de très hautes concentrations, l'AG pourrait donc bel et bien inhiber l' α -amylase mais cela est peu représentatif des concentrations phénoliques retrouvées naturellement dans l'alimentation. Un autre point à considérer est que nous avons utilisé des particules d'amidon plutôt que d'évaluer l'inhibition via une méthode protéique. Cette dernière ne prend pas compte de la matrice alimentaire et des condition digestives qui peuvent interagir avec l'AG, entre autre les niveau de pH différents qui affectent le niveau d'oxydation et affectent ainsi les interactions AG-protéines. À partir de cela, nous pouvons noter que la faible tendance où l'AG en solution offre une plus faible digestibilité que l'AG intégré dans les particules serait amplifiée à de plus hautes concentrations et serait un indicatif de l'importance de la matrice qui dans ce cas emprisonne l'AG de sorte à le rendre non disponible pour l'inhibition de l' α -amylase.

Conclusion

Nous pouvons donc conclure que les concentrations physiologiques d'AG ne semblent pas être suffisamment élevées pour que ce dernier puisse avoir une fonction inhibitrice de l' α -amylase qui est observable. Des études subséquentes doivent être effectuées pour déterminer le seuil de concentration qui offre un effet inhibiteur suffisant pour donner des différences significatives au contrôle et pour évaluer l'influence de la présence de produits conjugués à l'AG.

Références et remerciements

Chapter 1: Diabetes in Canada: Facts and figures from a public health perspective – Burden - Canada.ca. (n.d.). Retrieved March 6, 2018, from <https://www.canada.ca/en/public-health/services/chronic-diseases/reports-publications/diabetes/diabetes-canada-facts-figures-a-public-health-perspective/chapter-1.html>

Statistics About Diabetes: American Diabetes Association®. (2017). Retrieved March 6, 2018, from <http://www.diabetes.org/diabetes-basics/statistics/>

Oboh, G., Babatunde, O., Damilola, M., & Adeniyi, S. (2016). ScienceDirect Influence of gallic acid on α -amylase and α -glucosidase inhibitory properties of acarbose, 4, 2–9. <https://doi.org/10.1016/j.jfda.2016.03.003>

Roll, K. (2002). Inhibitory Effects of Plant Phenols on the Activity of Selected Enzymes, 3566–3571. <https://doi.org/10.1021/jf011714b>

Kumar, H. N. K. (2017). Phytochemical Screening ,Antioxidant and Alpha amylase Inhibitory Activity of Phyllanthus acidus, 3(3), 546–551.

Je tiens à remercier Dr. Bordenave pour cette opportunité ainsi que pour le temps qu'il a accordé pour me guider et m'enseigner tout au long de ce projet. Je remercie également Corrine Dobson pour son aide lors de complications et Grace Northrop pour sa merveilleuse entraide lorsque des difficultés se sont présentées.

Claudine Henoud
cheno054@uottawa.ca