

Contribution à la connaissance
de la radiolyse des Glucides :

ETUDE DE LA FORMATION
DE L'ALDEHYDE MALONIQUE
AU COURS DE L'IRRADIATION
GAMMA DU GLUCOSE

THESE DE 3^{me} CYCLE DE CHIMIE ORGANIQUE

1974

UNIVERSITE DE DROIT, D'ECONOMIE
ET DES SCIENCES AIX-MARSEILLE III

Faculté des Sciences et des Techniques
de Marseille, centre de Saint Jérôme.

COMMISSARIAT A L'ENERGIE ATOMIQUE
Centre d'Etudes Nucléaires de Cadarache

Département de Biologie
Service de Radio-Agronomie

THÈSE

présentée à la

FACULTÉ DES SCIENCES ET DES TECHNIQUES DE L'UNIVERSITÉ
DE DROIT, D'ÉCONOMIE, ET DES SCIENCES AIX-MARSEILLE III

par

Gérard ENRICO

pour obtenir le titre de Docteur de 3^e cycle
spécialité CHIMIE ORGANIQUE

Contribution à la connaissance de la radiolyse des glucides:

ÉTUDE DE LA FORMATION DE L'ALDÉHYDE MALONIQUE AU COURS
DE L'IRRADIATION γ DU GLUCOSE

soutenue le 7 juin 1974 devant la commission d'examen:

Monsieur le Professeur J. METZGER

Monsieur le Professeur D. GAGNAIRE

Monsieur le Professeur B. WAEGELL

Monsieur G. BERGER

Je tiens à remercier Monsieur P. GUERIN DE MONTGAREUIL de l'accueil qu'il m'a réservé dans son service, ainsi que Monsieur L. SAINT-LÉBE dans le groupe duquel il m'a été très agréable de travailler.

Mes remerciements vont également à Messieurs :

J. HETZGLR
D. GAGNAIRE
B. GAEGELL
G. BERGER

qui ont accepté de siéger au jury.

Je tiens à exprimer ma reconnaissance à Monsieur B. GAEGELL pour les innombrables conseils qu'il m'a prodigués et à Monsieur G. BERGER pour l'aimable attention qu'il a accordée à mon travail durant deux années.

Enfin, il m'est très agréable de rappeler que cette Thèse n'aurait jamais pu être présentée sans l'aide quotidienne et bienveillante de mes camarades de travail.

INTRODUCTION

La production accrue d'aliments et la nécessité d'une conservation en vue de leur distribution pose un problème aigu. Les méthodes traditionnelles (séchage, salaison, fumage, froid, marinade, stérilisation thermique, emploi d'antiseptiques) présentent des inconvénients : diminution des propriétés nutritives, altération des propriétés organoleptiques, utilisation massive d'additifs, chaîne de froid continue.

Les possibilités de désinfection, de stabilisation et de conservation des denrées offertes par les radiations ionisantes peuvent ouvrir la voie à des applications industrielles. L'irradiation présente notamment l'avantage de détruire les microorganismes sans élévation de température et à l'intérieur d'un emballage étanche, ce qui évite les recontaminations ultérieures. De nombreuses études ont déjà été entreprises sur les viandes [1], les oeufs [2], les céréales [3], les poissons [4] [5], les fruits [6], etc...

L'aliment irradié est cependant le siège de réactions chimiques pouvant, éventuellement, produire des composés toxiques. Il est donc nécessaire d'étudier l'innocuité du traitement.

Le groupe de radio-conservation des denrées Service de Radio-agronomie du Centre d'Etudes Nucléaires de Cadarache a pour objectif d'évaluer l'efficacité et l'innocuité de l'irradiation d'aliments pulvérulents pour lesquels la mise en oeuvre des procédés classiques de pasteurisation ou de stérilisation par la chaleur a des conséquences néfastes sur le goût, la couleur et surtout la structure. Les industriels ont donc tendance à utiliser des produits chimiques dont la gamme est très étendue (oxyde d'éthylène, oxyde de propylène, anhydride sulfureux, chlore etc...). La généralisation de l'emploi de telles substances a d'ailleurs conduit les instances nationales chargées de la santé publique à prendre des mesures restrictives [7].

Dans un premier temps, l'amidon de maïs a été retenu comme modèle d'aliment pulvérisé. C'est une denrée simple, très utilisée (stages, biscuits, bières, farines infantiles et pour enfants, excipients pharmaceutiques) et dont la stérilisation pose un problème suffisamment important pour que les industriels acceptent de s'associer aux travaux [1].

L'étude est abstrée selon trois voies différentes :

- essais physiopathologiques sur animaux supérieurs [9] ;
- expérimentation sur bactéries [10] ;
- recherche des produits de radiolyse [11, 14].

Par ailleurs, parmi les renseignements à fournir à l'appui d'une demande d'autorisation de commercialiser un aliment ayant subi un traitement nouveau, figurent les "marques distinctives de la denrée traitée" [15] qui doivent permettre de distinguer facilement et rapidement le produit traité de celui qui ne l'a pas été. Plusieurs auteurs ont proposé des solutions à ce problème général [16] : mesure de l'état paragrésique de l'atome [17 à 19], électrophorèse [20, 21], potentiels d'oxydoréduction [22], spectrophotométrie [23, 24], chromatographie [25], immunologie [26], étude des modifications de l'emballage ou des propriétés organoleptiques etc... Cependant leur mise en oeuvre est en général délicate ou longue, les résultats sont parfois subjectifs, ce qui rend difficile un contrôle régulier et systématique.

Les recherches du laboratoire ont montré que le dosage de l'aldéhyde malonique pouvait constituer un moyen simple et sûr pour déceler l'irradiation de l'amidon [26]. Ce test a d'ailleurs été appliqué avec succès dans le cas de l'irradiation du lait [27, 28], de la cellulose [29], des viandes [30, 31] et des oeufs [32]. Parmi les produits radioformés identifiés au laboratoire aldéhyde formique [11], peroxyde d'hydrogène [12], glucose, mannose, fructose, ribose, érythrose, arabinose, xylose [13], acide formique [14], l'aldéhyde malonique revêt ainsi une importance particulière. L'étude de sa formation au cours de l'irradiation de l'amidon de maïs a été entreprise [34]. Elle présentait d'autant plus d'intérêt que certains mécanismes de radiolyse du glucose avaient déjà été proposés [27, 28, 33].

Cependant, si l'amidon est un aliment simple, c'est un produit chimique complexe. Il s'agit d'un poly (anhydro α -D glucopyranoside 1-4 D glucopyranose), branché en 1-6, de poids moléculaire élevé mais mal défini et dont la longueur de chaîne et le nombre de branchement dépendent de la nature de la céréale, et dans le cas du maïs, de la variété, du degré de maturation du grain, du mode d'extraction etc... Il est apparu nécessaire d'étudier ce mécanisme d'abord sur le monomère, le glucose, puis d'extrapoler aux dimères (maltose, isomaltose, cellobiose), au trimère (maltotriose), puis enfin à l'amidon.

C'est le sujet du travail exposé ici.

PRINCIPES

I. - LES RADIATIONS IONISANTES

La réaction $^{14}\text{C} \rightarrow ^{14}\text{N}$, de période 5,3 ans correspond à l'émission de particules β d'énergie 0,305 MeV pratiquement absorbées par le gainage, et de photons γ d'énergie 1,55 et 1,17 MeV. Rappelons que ^{14}C de rebut émet dans tout l'espace $2 \times 3,7 \cdot 10^{10}$ photons d'une puissance totale de ^{14}C milliwatts. Les sources employées (12 000 et 2 000 Ci) au cours de nos essais correspondent donc à des puissances de rayonnement de 120 et 20 watts.

L'énergie est absorbée selon trois processus généralement décrits en termes de probabilité d'interaction d'un photon incident avec un atome. Leur importance relative varie avec l'énergie du photon et le numéro atomique Z des atomes composant le milieu irradié (fig. 1).

- 1 - L'effet photoélectrique correspond à l'absorption totale du photon incident par le nuage électronique de l'atome rencontré, provoquant l'éjection d'un électron animé alors d'une énergie égale à celle du photon diminuée de l'énergie de liaison de l'électron. Il est prépondérant dans les milieux à numéro atomique élevé, irradiés avec des photons de faible énergie ($E < 0,5$ MeV).
- 2 - L'effet Compton traduit l'émission d'un électron et d'un photon secondaire dans le cas où l'énergie de liaison électron-noyau est négligeable devant celle qui anime la particule incidente. Il est prédominant dans les milieux à numéro atomique faible irradiés avec des photons d'énergie intermédiaire.
- 3 - L'effet de Paire conduit enfin à la matérialisation du photon par création d'un électron et d'un positon :

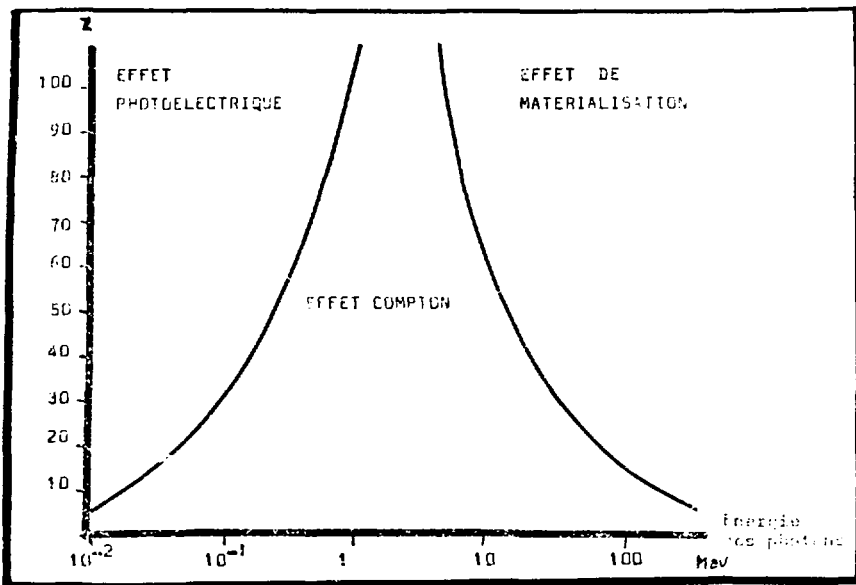


fig.1 - Représentation graphique des divers effets en fonction de l'énergie des photons incidents et du numéro atomique Z du milieu irradié



Cette conversion d'énergie en masse nécessite une énergie deux fois supérieure à celle associée à un électron ($mc^2 = 0,511$ MeV). Il n'est partiellement observé que dans les milieux à numéro atomique élevé irradiés avec des photons d'énergie supérieure à 10 MeV.

C'est l'effet Compton qui est prédominant au cours de l'irradiation des aliments, constitués essentiellement d'oxygène, d'azote, de carbone et d'hydrogène, composés à numéro atomique faible. Le rayonnement du ^{60}Co dont l'énergie 1,33 et 1,17 MeV est très nettement inférieure au seuil d'énergie d'activation voisin de 10 MeV, n'entraîne jamais de radioactivité induite. Son action consiste à arracher des électrons au milieu et à porter certains atomes dans des états excités. Lorsque l'énergie d'excitation dépasse certaines limites, il y a rupture des liaisons covalentes entre les atomes et formation de radicaux libres. Ceux-ci évoluent ensuite pour donner des produits stables qui sont les produits de radiolyse. C'est l'étude de cette dernière étape qui est entreprise ici dans le cas de l'aldéhyde malonique.

II. - UNITES, DOSIMETRIE

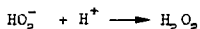
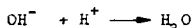
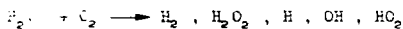
Tous les effets produits par les radiations ionisantes qui sont susceptibles d'être mesurés quantitativement peuvent être la base d'une méthode dosimétrique.

La mesure de l'ionisation de l'air a été utilisée pour la définition de l'énergie émise. Le roentgen est la quantité de rayons X ou γ telle que l'émission de particules qui lui est associée dans 0,001293 g d'air provoque le transport de 1 U.e.s. d'électricité de signe quelconque [35] ou la formation de $2,9 \cdot 10^9$ paires d'ions par cm^3 d'air sec.

Cependant, toute l'énergie traversant un milieu n'est pas absorbée, et, de plus, il n'est pas possible de mesurer l'ionisation produite dans un solide. Ainsi on a défini l'unité de radiation absorbée, le rad, qui correspond à la dissipation de 100 ergs ou $2,4 \cdot 10^{-6}$ calories dans un gramme de matière [36]. D'autres unités ont été créées (R.e.p., R.e.m.), elles sont fondées sur l'importance de l'effet produit dans le milieu récepteur, en biologie, cela correspond à l'effet destructeur. En annexe on présentera quelques exemples d'effets sur l'organisme afin

d'illustrer les moyens de protection indispensables lorsqu'on manipule des éléments radioactifs. Les principales unités seront rappelées sur un tableau. Nous utiliserons le rad comme unité de dose ainsi que ses multiples : krad = 10^3 rad, 1 Mrad = 10^6 rad. Une même dose pouvant être distribuée plus ou moins rapidement, la notion de débit de dose traduit l'énergie absorbée par unité de temps. Il est proportionnel à la puissance de la source utilisée et varie en fonction inverse du carré de la distance qui sépare la source de l'échantillon.

La mesure de l'énergie absorbée n'est pas effectuée calorimétriquement en raison des faibles quantités de chaleur dégagées, mais grâce à une réaction radiochimique particulière, la conversion de Fe^{++} en Fe^{+++} en milieu sulfurique [37 à 39]. Cette méthode est valable jusqu'à 20 krad. Les doses supérieures sont mesurées par extrapolation.



III. - DOSAGE DE L'ALDEHYDE MALONIQUE

La méthode faisant intervenir l'acide thiobarbiturique nous est apparue la plus satisfaisante.

L'aldéhyde malonique (AM) peut être dosé par colorimétrie [33] en utilisant sa propriété à réagir sur le malonylthiourée ou acide 2 thiobarbiturique (ATB) en milieu trichloracétique pour donner un complexe absorbant à 532 m.μ (fig. 2).

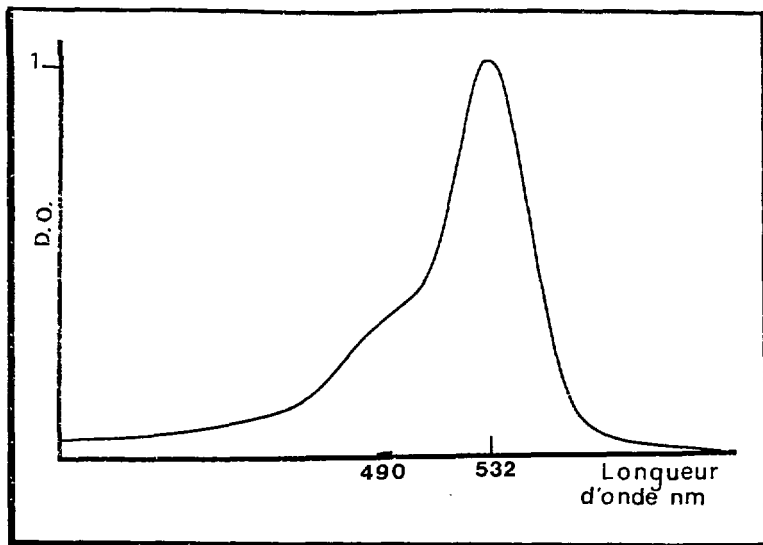
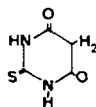
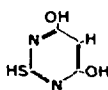
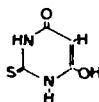
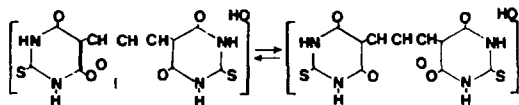


fig. 2 - Spectre d'absorption en lumière visible du complexe Aldéhyde malonique
Acide thiobarbiturique

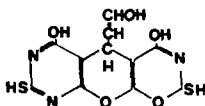
L'A.T.B. se présente sous trois formes tautomères :



Selon Percheron [40] l'aldéhyde malonique réagit sous sa forme énolique $\text{CHO} - \text{CH} = \text{CHOH}$ pour conduire au composé suivant [41] :



En revanche, Mesnard et Devaux [42] proposent une autre formule :



Nous ne nous sommes pas attaché à déterminer la structure exacte du complexe mais nous avons vérifié qu'il se formait effectivement, que l'on utilise l'aldéhyde malonique du commerce ou bien l'aldéhyde malonique de dégradation du glucose. Par ailleurs on a montré que deux molécules d'ATB réagissaient avec une molécule d'aldéhyde malonique, ce que nous avons vérifié par gravimétrie.

Le produit de la réaction est un pigment rouge spécifique, son spectre visible, nous l'avons dit, présente un maximum d'absorption optique à 532 nm, ainsi qu'un épaulement à 490 nm. Dans les conditions utilisées, la réaction est complète avec 2 ml de réactif (fig. 3), après 30 minutes de chauffage à 60°C. Elle n'est pas, ou peu, perturbée par la présence de glucose en concentration molaire (fig. 4). La densité optique à 532 nm est proportionnelle à la concentration initiale d'aldéhyde malonique.

Dans une solution inconnue, la teneur est mesurée par comparaison avec une courbe de référence (fig. 5).

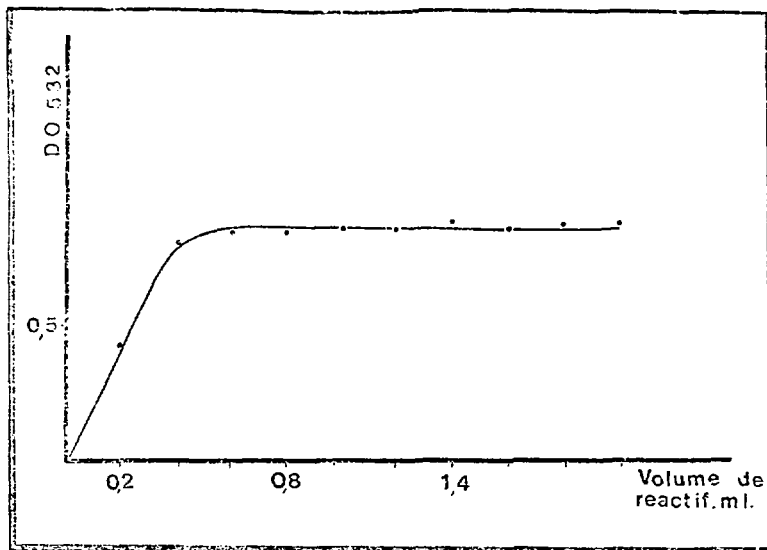


fig. 3 - Influence du volume de réactif (ml) nécessaire pour doser 2 ml d'une solution 10^{-6} d'aldéhyde malonique. Volume total constant (4 ml).

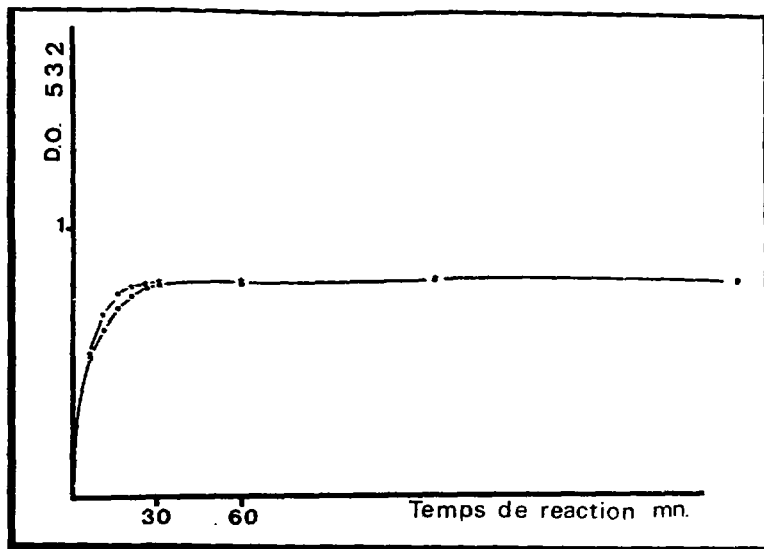


fig.4 - Influence du temps de chauffage à 60°C sur la réaction Aldéhyde malonique - acide thiobarbiturique
★ en l'absence de glucose
● en présence de glucose (molaire)

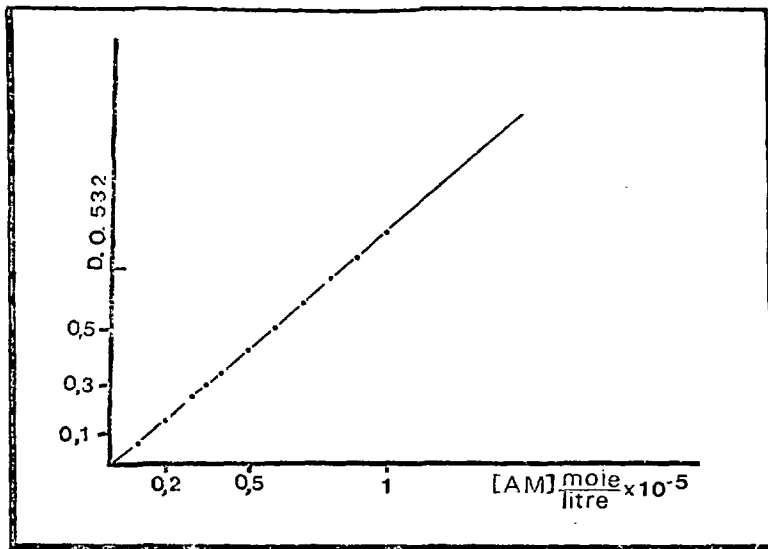


fig. 5 - Variations de la densité optique à 532 n.m. en fonction de la concentration initiale en aldéhyde malonique

Le coefficient d'extinction moléculaire, ϵ à 532 nm est très élevé ($5,6 \cdot 10^6 \text{ m}^{-1} \text{ cm}^{-1}$). Les quantités mesurées pourront être très faibles, ce qui est d'ailleurs le cas dans le glucose irradié (de l'ordre du $\mu\text{g/g}$).

IV. - ISOLEMENT ET PURIFICATION DU COMPLEXE

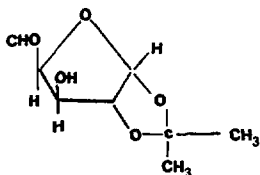
En raison des très faibles quantités d'aldéhyde malonique présentes dans le glucose irradié, cette étape dans notre travail a demandé une mise au point particulière.

L'aldéhyde malonique est séparé par évaporation sous pression réduite puis condensé dans un piège à azote liquide. Le complexe est ensuite formé par action de l'ATB, et est purifié soit par cristallisation soit par chromatographie sur colonne de cellulose. Les techniques opératoires sont décrites dans le dernier chapitre.

V. - INDICATEURS NUCLEAIRES

L'étude du mécanisme de radiolyse a été effectuée en utilisant l'isotope ^{14}C introduit sélectivement en position 1 ou en position 6. La fraction de molécule ainsi singularisée peut être mise en évidence dans l'aldéhyde malonique purifié. On pourra suivre ainsi le devenir des atomes de carbone du glucose.

Le glucose $^{14}\text{C}_1$ est préparé au laboratoire des radioéléments par action du cyanure de sodium $\text{Na}-^{14}\text{C}\equiv\text{N}$ sur le D arabinose, le glucose $^{14}\text{C}_6$ est obtenu à partir de cyanure de potassium $\text{K}-^{14}\text{C}\equiv\text{N}$ sur l'aldose 5, O (1-2) isopropylidène D xylofuranose :



Le ^{14}C est émetteur de rayons β , peu énergétiques facilement ralentis par la matière.

Deux techniques de comptage ont été utilisées :

- Pour les fortes activités spécifiques, de l'ordre de grandeur de celles obtenues avec le glucose irradié en solution, les échantillons, évaporés sur des coupelles en aluminium, ont été mesurés avec un appareil de type GM. La réponse du détecteur est alors proportionnelle à la quantité déposée, il n'y a pas l'auto-absorption appréciable et la méthode est satisfaisante.
- Pour les faibles activités spécifiques, la quantité de matière déposée doit être importante si l'on veut obtenir des valeurs significatives. L'absorption dans la source n'est plus négligeable, les rayons β peu pénétrants ne pouvant traverser cette quantité de matière, la réponse du détecteur n'est plus proportionnelle à la quantité déposée (fig. 6). Nous avons utilisé dans ce cas le comptage en scintillation liquide. Ici, l'énergie de radiation β n'est pas émise dans l'espace vers un détecteur mais transférée par ionisation à un solvant scintillateur primaire qui retourne à l'état fondamental en émettant un quantum de lumière excitant à son tour un solvant scintillateur secondaire. Les photons que produit ce dernier en revenant à son état fondamental, arrachent des électrons à une photocathode, créant une impulsion électrique qui est ensuite amplifiée. La présence d'un corps absorbant une grande partie des photons lumineux se traduit par une diminution considérable du rendement de comptage (fig. 7). C'est le cas du complexe de l'aldéhyde malonique avec l'ATB. Afin de supprimer cet effet de "quenching", on brûle les échantillons radioactifs dans un four sous courant d'oxygène. Le gaz carbonique $^{14}\text{CO}_2$ est piégé par la phényléthylamine et le carbamate incolore ainsi formé peut être traité directement en scintillation liquide.

Les activités spécifiques $A_s = \frac{^{14}\text{C}}{^{14}\text{C} + ^{12}\text{C}} \neq \frac{^{14}\text{C}}{^{12}\text{C}}$ sont exprimées dans les deux types d'expériences en nombre d'impulsions par mole et par dix minutes.

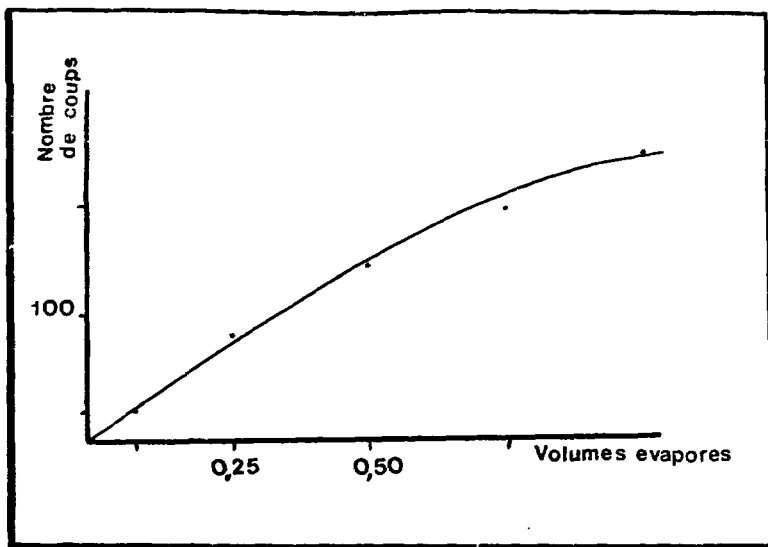


fig. 6 - Influence de la quantité d'une solution 10^{-5} M d'aldéhyde malonique évaporée sur le rendement de comptage d'un appareil G.M.

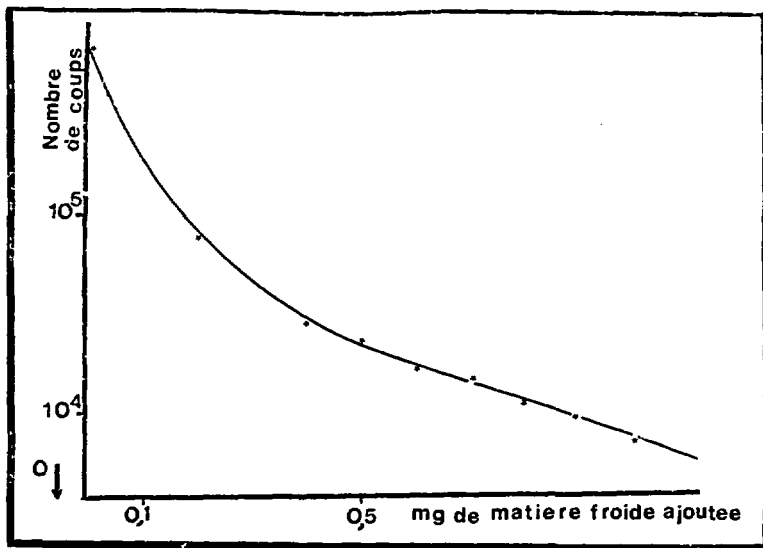


fig. 7 - Diminution du rendement de détection en scintillation liquide en fonction de la quantité de complexe coloré non radioactif ajouté à la solution.

Mais le fait d'introduire un marqueur radioactif dans la solution entraîne une radiolyse interne qui s'ajoute à celle provoquée par l'irradiation externe. Ceci nous amène donc à faire une correction pour la seule activité spécifique correspondant à la seule irradiation externe. Nous avons d'abord mesuré l'aldéhyde malonique provenant de l'auto-radiolyse sans source extérieure. Nous avons ensuite mesuré l'aldéhyde malonique total, la différence nous donne l'aldéhyde produit par la source externe seule. Ces activités spécifiques sont rapportées à la glucose le départ.

RESULTATS

1. - MISE EN EVIDENCE DE L'ALDEHYDE MALONIQUE DANS LE GLUCOSE IRRADIE. DEFINITION DES DEUX EFFETS DE RADIOLYSE

Le spectre en lumière visible, le spectre de masse (fig. 8). Le R.f de migration sur couche mince de silice des complexes obtenus à partir du glucose irradié et de l'aldéhyde malonique témoin, sont identiques.

En outre, de par sa forme énolique, l'aldéhyde malonique absorbe en lumière violette [52]. Le maximum d'absorption en milieu basique se situe à 267 nm (coefficient d'extinction moléculaire $2,7 \cdot 10^4 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$) et à 244 nm en milieu acide. Le spectre ultraviolet du glucose irradié présente les mêmes caractéristiques (fig. 9), alors que le glucose témoin n'absorbe pas dans cette région.

Ces résultats montrent que l'aldéhyde malonique est indiscutablement présent dans le glucose irradié. Pour les études quantitatives nous avons utilisé la mesure de l'absorption à 532 nm du complexe ATB, méthode simple et reproductible.

Les réactions de radiolyse peuvent être initiées de deux façons. Soit directement, par distribution de l'énergie à la molécule elle-même (c'est l'effet direct encore appelé primaire), soit indirectement par la formation à partir de l'eau de radicaux hautement réactifs qui agissent ensuite sur la molécule de soluté (c'est l'effet indirect encore appelé secondaire). La teneur en eau de l'amidon industriel étant relativement élevée (13 %), les deux effets doivent se superposer au cours de l'irradiation. C'est la raison pour laquelle nous avons étudié le mécanisme de formation de l'aldéhyde malonique dans le glucose irradié sec ou en solution.

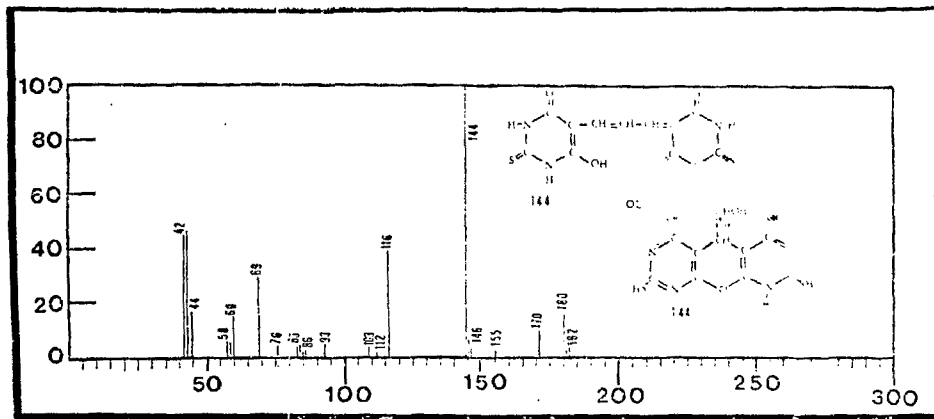


fig. 8 - Spectre de masse du complexe aldéhyde thionique, acide thiobarbiturique.
Spectromètre de masse LKB 9 000 S, entrée directe T° 210 - 500°C.

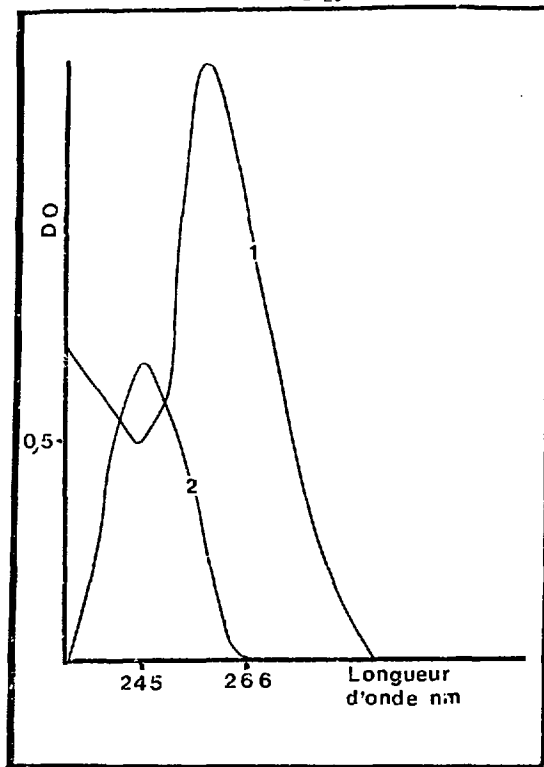


fig. 9 - Spectre U.V. du glucose irradié
1 - tracé en milieu acide
2 - tracé en milieu basique

II. - ETUDE DE L'EFFET PRIMAIRE

Le glucose a été irradié aux conditions indiquées dans une atmosphère d'air, à la température ambiante (20°C).

a - Influence de la dose et du débit de dose

1. Rendement

a - Influence de la dose et du débit de dose

La quantité d'aldéhyde malonique produite est proportionnelle à la dose d'irradiation indépendante du débit de dose dans le domaine étudié (voir tableau) :

Débit de dose krad/heure	30	400
Rendement optique 0,24 m.m	0,80	0,90

Il se forme $0,9 \cdot 10^{-6}$ moles d'aldéhyde malonique par mole de glucose et par mégarad.

b - Influence de la nature du gaz

Le rendement radiolytique en aldéhyde malonique est indépendant de la nature de l'atmosphère dans laquelle se trouve le glucose en cours d'irradiation. En particulier, la présence d'oxygène n'est pas nécessaire à la réaction.

c - Influence de la température

On n'observe pas de variations d'importance notable dans le rendement de la réaction de radiolyse en fonction de la température d'irradiation dans le domaine 0°C - 100°C. En revanche, au-dessous de 0°C la teneur en aldéhyde malonique est plus faible, comme elle l'est d'ailleurs pour la majeure partie des produits de radiolyse de l'amidon. Il est probable que dans ces conditions les radicaux libres formés à partir de la molécule de glucose se recombinaient rapidement.



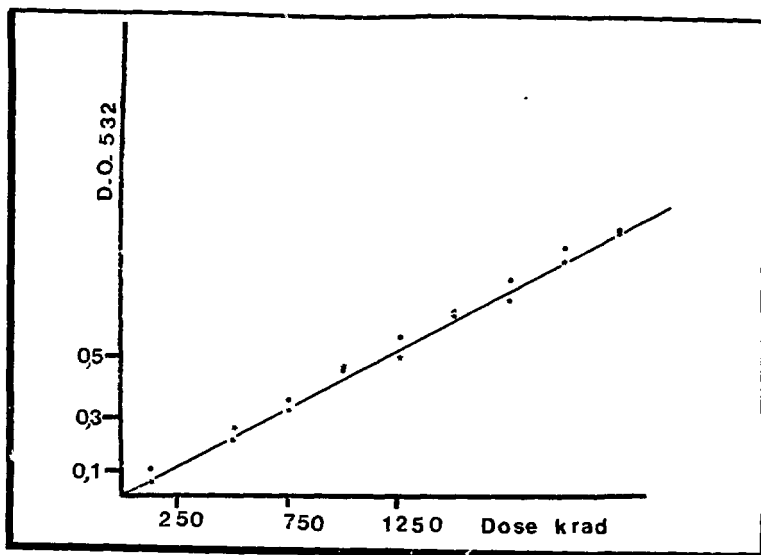


fig. 10 - Influence de la dose d'irradiation sur la formation d'aldéhyde malonique.

★ Première série de mesures

● Deuxième série de mesures

Après irradiation, le glucose est dissous en concentration molaire dans de l'eau distillée.

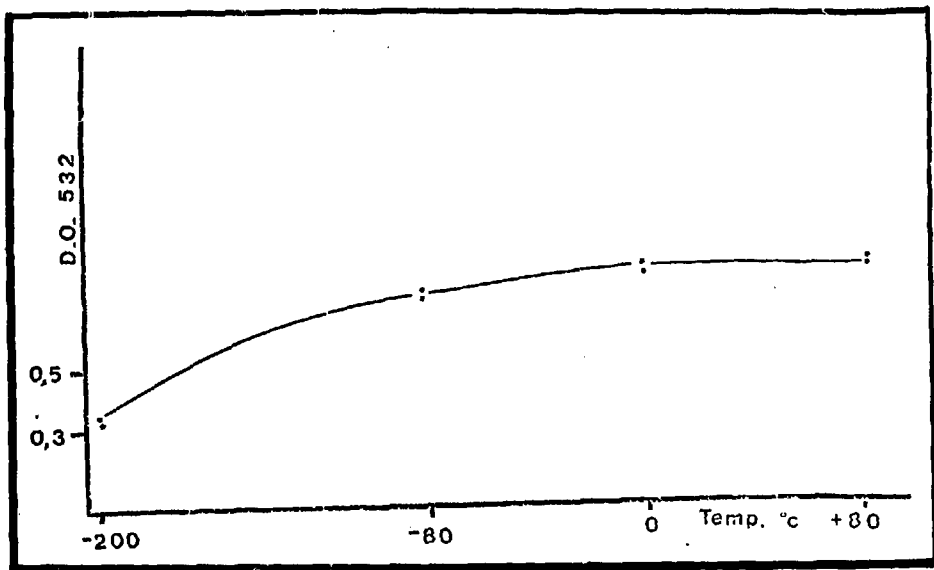


fig.11 - Influence de la température d'irradiation sur la quantité d'aldéhyde malonique radioformée
 ● Première série de mesures
 * Deuxième série de mesures

de l'ATP, les résultats obtenus après réaction avec l'ATP sont les suivants : le produit est chauffé à 80°C pendant 20 mn après l'ajout de l'ATP, les résultats sont de l'apparition d'un produit de poids moléculaire complexe et dont le poids moléculaire est de 400 nm, par la suite, le produit est chauffé à 100°C pendant 20 mn. Ce produit provient de la réaction de l'ATP avec le produit obtenu. Le produit obtenu est de poids moléculaire stable et différent de celui obtenu par la suite. Le produit obtenu est de poids moléculaire stable et différent de celui obtenu par la suite.

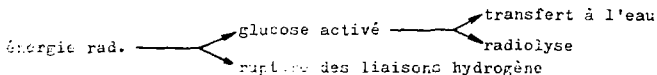
Effet protecteur de l'humidité

Les variations de la quantité d'hydrogène radioformés, en fonction de la teneur en eau de glucose, sont comparables à celles de l'acide [56]. Elles peuvent refléter la superposition de deux effets antagonistes de l'eau :

1 - Effet protecteur de l'humidité

Les variations de la quantité d'hydrogène radioformés, en fonction de la teneur en eau de glucose, sont comparables à celles de l'acide [56]. Elles peuvent refléter la superposition de deux effets antagonistes de l'eau :

— l'effet protecteur, prépondérant aux faibles humidités, attribuable à l'établissement de liaisons hydrogène entre les hydroxyles du glucose et ceux de l'eau. Ces liaisons permettraient d'une part le transfert d'énergie des molécules activées à l'eau [54], d'autre part une partie de l'énergie reçue serait absorbée par leur rupture :



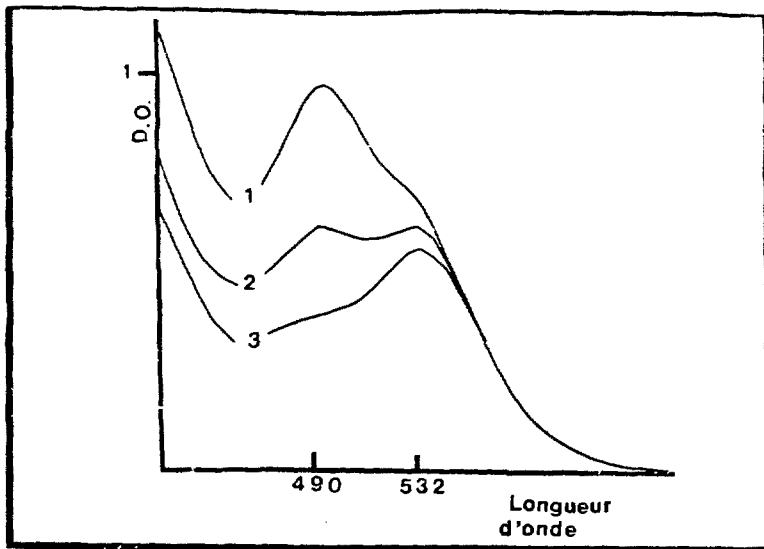


fig.12 - Influence de deux mois de conservation de glucose irradié sur le spectre en lumière visible, après réaction avec l'ATB.
1 - Température de conservation + 30°C
2 - Température de conservation 0°C
3 - Température de conservation - 40°C

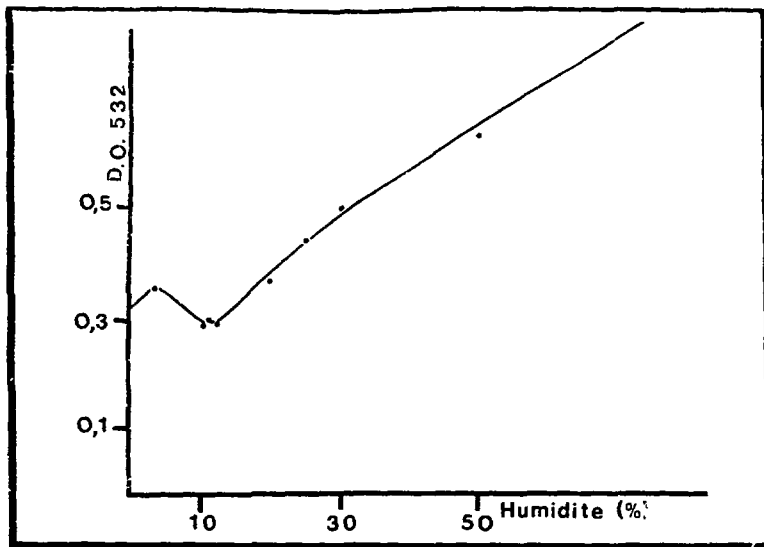
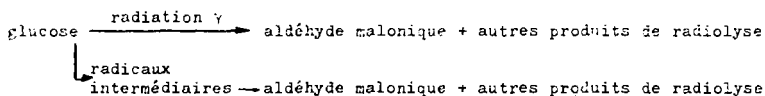


fig.13 - Influence de l'humidité du glucose sur la quantité d'aldéhyde malonique radioformée

Les radicaux de l'eau pourraient également participer à l'effet protecteur en donnant par recombinaison le glucose de départ ou en modifiant l'évolution des radicaux mis en jeu dans la formation de l'aldéhyde. Cet aspect sera étudié ultérieurement avec le rôle des OH.

- Un effet activateur, prépondérant aux teneurs en eau élevées, correspondant à ce que l'on désigne par effet secondaire et attribuable aux radicaux de l'eau hautement réactifs.



f - Influence des pièges à radicaux libres

L'addition de K Br supprime les radicaux OH. de l'eau formés en cours d'irradiation. La teneur en aldéhyde malonique est alors constante pour des teneurs en eau comprises entre 0 et 75 %.

g - Influence de la structure cristalline du glucose

La structure cristalline du glucose irradié, contrairement à ce qui a été observé avec l'acidité radioformée [53], n'a pas d'influence sur la quantité d'aldéhyde obtenue. On peut penser que les différences observées entre les formes anomères du glucose ou entre les divers sucres isomères, lorsqu'on effectue les irradiations à l'état solide, sont effectivement dues à la stéréochimie relative des groupements hydroxyle.

h - Influence de la configuration anomérique du glucose (fig. 14)

A l'état solide, le glucose β conduit à un rendement radiolytique 1,6 fois supérieur à celui du glucose commercial qui est constitué principalement de forme α comme nous l'avons vérifié par chromatographie en phase gazeuse des dérivés triméthylsilylés.

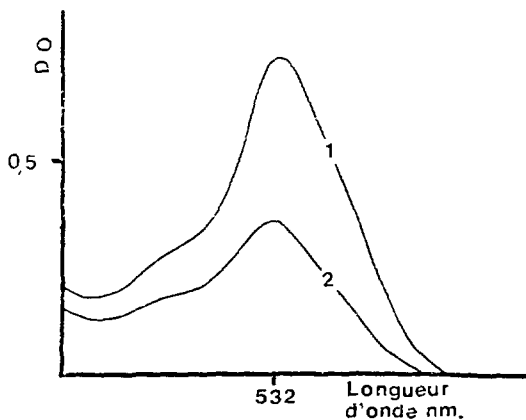
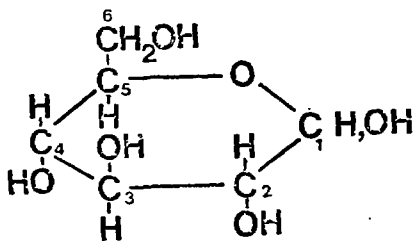
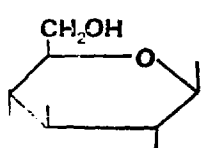


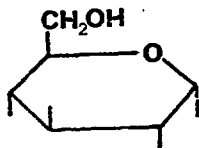
Fig. 4 - Influence de la configuration anomérique du glucose irradié (dose 1 Mrad) sur la quantité d'aldéhyde malonique radioformé.
1 - glucose β
2 - glucose α



D-GLUCOSE



anomère α



anomère β

Marquages isotopiques

Ces expériences nous ont conduit à travailler dans des conditions qui ne sont pas rigoureusement anhydres puisque les composés marqués sont livrés en solution aqueuse. Mais avec 10 % d'humidité on a toujours l'apparence physique d'une poudre et la figure 13 nous montre que le rôle de ces 10 % est faible sur les proportions d'aldéhyde malonique radioformé.

Une solution de glucose marqué (C_1 ou C_6) est incorporée de façon la plus homogène possible à du glucose froid anhydre, la teneur en eau finale est de 10 %, le mélange est ensuite irradié à 10 Mrad. Après dissolution, distillation sous vide et purification par chromatographie du complexe avec l'ATB, les concentrations en aldéhyde malonique sont mesurées en moles/litre par colorimétrie (D.O. du complexe ATB) en se référant à une courbe étalon, les activités déterminées par scintillation sont exprimées en coups par 10 mm² ml de solution (après déduction du bruit de fond).

— L'activité spécifique As (malon) = $\frac{\text{nb coups}}{\text{nb de moles}}$ des échantillons est pratiquement constante au cours des trois dernières opérations. le complexe est donc suffisamment purifié.

— On détermine également l'activité spécifique As (glu) du glucose.

— Le rapport $\left[\frac{\text{As (malon)}}{\text{As (glu)}} \right]_A = A$ devrait représenter la fraction d'aldéhyde malonique provenant de l'extrémité du glucose marqué (1 ou 6)

Cependant, nous l'avons vu, le glucose est le siège d'une radiolyse i terme par les particules de l'isotope radioactif. De l'aldéhyde malonique marqué est susceptible d'être produit en quantités d'autant plus importantes que le stockage avant irradiation a été plus long. Il ne perturbe pas de façon appréciable la densité optique à 532 n.m. (le glucose marqué est en quantité négligeable) mais augmente l'activité et par suite l'activité spécifique.

Afin de calculer le terme correctif, du glucose marqué est ajouté à du glucose froid déjà irradié dans les mêmes proportions et les mêmes conditions que précédemment. L'aldéhyde malonique radioformé non marqué est utilisé ici comme entraîneur, et on mesure l'activité spécifique du complexe purifié que l'on rapporte toujours à celle du glucose pour tenir compte des fluctuations de marquage :

$$\left[\frac{\text{As (malon)}}{\text{As (glu)}} \right]_B = B$$

— C'est en fait la différence A - B qui représente la fraction d'aldéhyde malonique formé par irradiation, provenant de l'extrémité étudiée de la molécule de glucose.

Les résultats sont rapportés dans les tableaux 1 et 2.

On peut en conclure que lorsque le glucose est irradié à l'état solide, à la teneur en eau de 10 %, semblable à celle de l'amidon industriel, 2/3 de l'aldéhyde malonique sont issus de l'extrémité alcoolique et 1/3, de l'extrémité aldéhydrique. Aux erreurs d'expérience près, la somme des fractions corrigées est égale à 1.

Tableau n° 1

Glucose $^{14}\text{C}_6$

	<u>Témoin</u>					<u>Irradié</u>					
Chromatographie N°	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	
Concentration de l'éluat	3,65	4,8		4,2	2,37	8,6	15,5	6	8,1	15	$\times 10^{-4}$ m/ml
1er comptage corrigé	597	596		542	258	3114	5668	2336	3152	4930	coups/10 mn.
2ème comptage corrigé	599	495		543	223	3014	5658	2259	2758	5243	coups/10 mn
Activité spécifique 1	16	12,4		12	11,1	36,2	36,5	38,9	38,9	32,8	$\times 10^{11}$ coups/10 mn/m
Activité spécifique 2	16,1	10,3		12	9,4	35,0	36,5	37,6	34,0	34,9	$\times 10^{11}$ coups/10 mn/m
Rendement total	60	33		7	ε	53	20	10		ε	ε

Tableau 1. (suite)

<u>Témoin</u>		
Erreur de correction	900
Nombre de coups/10 mn pour 0,1 de glucose de départ	11 200
Activité spécifique en coups/mole/10 mn. du glucose de départ	27,10 ⁸
Activité spécifique moyenne de l'aldéhyde malonique purifié (coups/mole/10 mn) 17,10 ⁸
Proportion $\frac{As\ malon}{As\ glu}$	43,00%

Proportion corrigée:

$$\left(\frac{As\ malon}{As\ glu} \right)_1 - \left(\frac{As\ malon}{As\ glu} \right)_2$$

Tableau 1

<u>Témoins</u>		<u>Expérimental</u>
Terme de correction	782	760
Nombre de coups/10 mn pour 0,1 cc de glucose de départ	9 600	14 000
Activité spécifique en coups/mole/10 mn du glucose de départ	$21 \cdot 10^9$	$30 \cdot 10^9$
Activité spécifique moyenne de l'aldéhyde malonique purifié (coups/mole/10 mn) $4,5 \cdot 10^9$		$16,9 \cdot 10^9$
Proportion $\frac{\text{As malon}}{\text{As glu}}$	21,4 %	53 %

Proportion corrigée

$$\left(\frac{\text{As malon}}{\text{As glu}} \right)_1 - \left(\frac{\text{As malon}}{\text{As glu}} \right)_2 = 33,6 \%$$

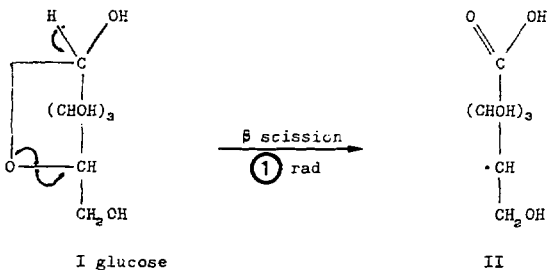
La molécule d'aldéhyde malonique contient donc toujours soit le carbone 1 du glucose (dans 1/3 des cas) soit le carbone 6 (dans 2/3 des cas), ce qui exclut l'éventualité de formation à partir des atomes 2,3,4 ou 5,4,5, d'ailleurs peu probable car elle nécessite deux ruptures de la chaîne carbonée.

3 - Propositions de mécanismes

L'énergie de la radiation va, entre autre, exciter la molécule jusqu'à la rupture. La réaction commencera par la scission de la liaison la plus faible. Nous discuterons plus loin les facteurs conformationnels qui peuvent orienter cette coupure initiale. On peut proposer deux mécanismes, compte tenu de la double origine de l'aldéhyde malonique.

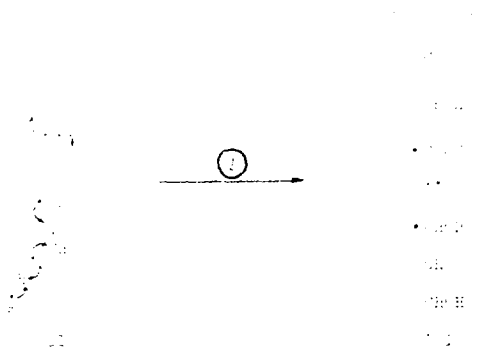
a - Formation à partir de l'extrémité alcoolique

La rupture initiale de la liaison hémiacétalique peut être envisagée comme une β scission consécutive au départ d'un radical H. du carbone 1; cette étape, endothermique, nécessite environ 93 kcal.

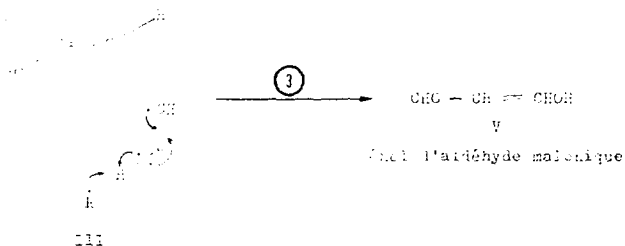


La rupture de la liaison $C_3 - C_4$ (83 kcal) et le départ d'un H. du carbone 6 (99 kcal) nécessaires à la formation de l'aldéhyde malonique peuvent être suivis de l'établissement d'une double liaison $C=C$ (-64 kcal). Un des radicaux (III) obtenus est un glycol allylique. On pourra considérer un radical comme une espèce déficiente en électron, donc stabilisée par l'oxygène.

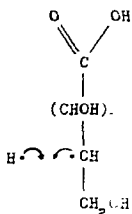
III → (II) → (I) → (IV) → (V) → (VI)



Le cycle III est susceptible de réagir à l'égard de l'aldéhyde
 et de la formation d'une double liaison C=C.
 Le cycle sera lement environ 20 kcal.



remarque : l'existence de radical intermédiaire (II) semble être confir-
 mée par la mise en évidence, au laboratoire [53] l'acide 5
 téroxyglucuronique (VI) :



II

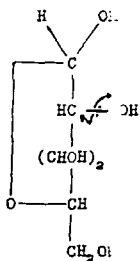


Acide ...

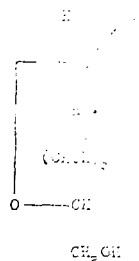
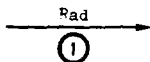
b - Formation à partir de l'extrémité aldéhydique

Le départ d'un hydroxyle .OH nécessite une énergie plus élevée que celle de la rupture de la liaison C - O hémiaméricale.

L'attaque en C₂ est susceptible de conduire à l'aldéhyde selon le processus suivant, compétitif du précédent.

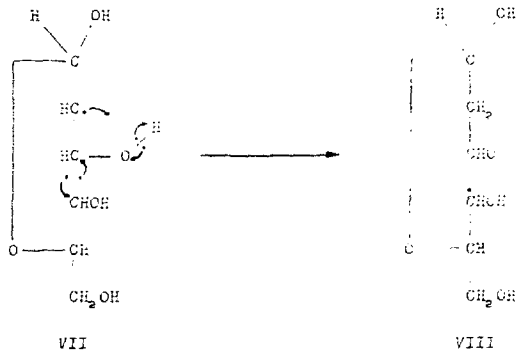


I

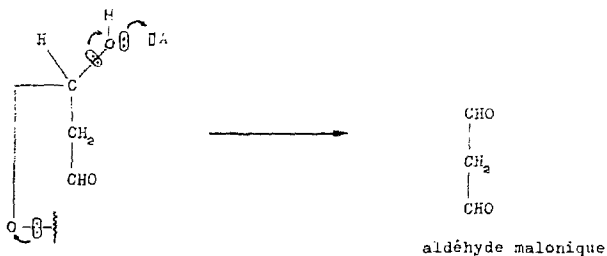


VII

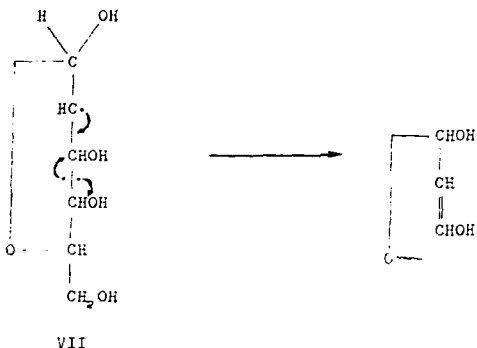
Après coupure C₃ - C₄ et réarrangement (4 kcal) :



L'aldéhyde malonique est obtenu par hydrogène de l'hémiacétal lors du dosage en milieu acide :



Remarque : On peut envisager aussi d'aboutir à la forme énolique de l'acétal d'aldéhyde malonique, cependant l'énergie nécessaire est supérieure (19 kcal).

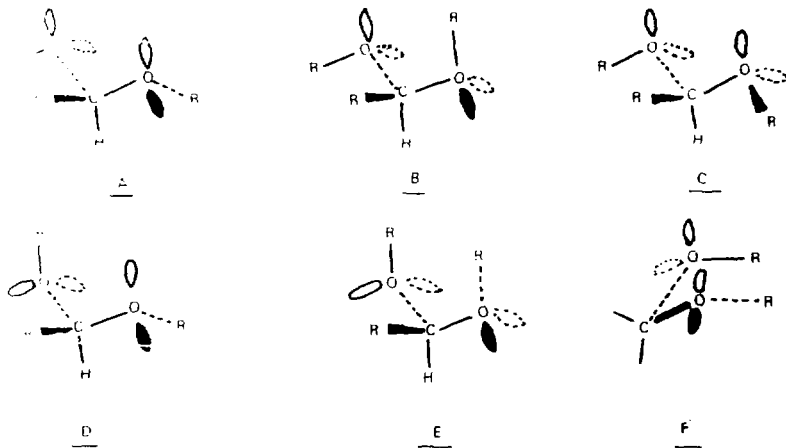


4 - Discussion.

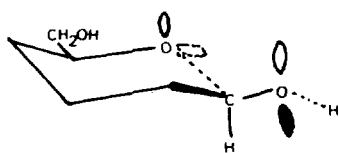
Examinons à présent comment ces hypothèses s'accordent avec les variations observées de rendement radiolytique en fonction des conditions d'irradiation et des caractéristiques du glucose :

- La présence d'oxygène n'est pas nécessaire pour l'explication des deux mécanismes, elle n'a pas, non plus, d'influence sur la quantité d'aldéhyde malonique radioformée.
- La constance du rendement radiolytique en fonction du débit de dose, découle de l'observation précédente, les phénomènes de diffusion gazeuse (O₂ par exemple) n'intervenant pas.
- Il est difficile de relier les variations en fonction de la température d'irradiation aux hypothèses énoncées. Si certaines étapes sont endothermiques, d'autres produisent de l'énergie et le bilan global doit être sensiblement nul puisque la concentration d'aldéhyde malonique reste la même entre 0°C et 80°C. Or, les mécanismes a et b sont endothermiques. Il n'a pas été tenu compte des énergies de résonance qui peuvent stabiliser certains radicaux (allylique en particulier); ni du facteur entropique. De plus, le couplage avec d'autres réactions se faisant sur l'autre moitié de la molécule est susceptible d'apporter une partie de l'énergie nécessaire.

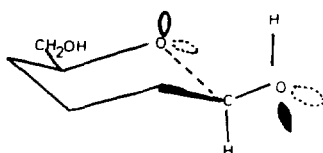
- L'effet prêté tout de l'eau, observé pour les faibles teneurs en sucre impur, en partie, comme on l'a exposé plus haut, à la permanence des radicaux initiaux avec ceux de l'eau. H. et OH, conduisant au glucose, d'alloxyglucose, acide chlorique, d'alloxyde, etc... qui il est supprimé en présence de KBr. L'effet secondaire qui apparaît seulement pour des teneurs en sucre élevées, est annulé également par addition de ce sel, et sera à considérer.
- En ce qui concerne les travaux de P. Leclercq [55] sur les conformations d'un acétal, certaines sont réactives avec l'ozone. La liaison C-O dans ces acétals prend les orbitales libres des oxygènes, sont antiparallèles ou transantiparallèles avec la direction d-H. L'application de cette règle au glucose sous sa forme pyranose prévoit une plus grande facilité d'ouverture à la liaison hémiacétalique par l'ozonolysation dans l'anomère B que dans l'anomère a. Ce dernier conduit en effet à un rendement 10 fois moins important.



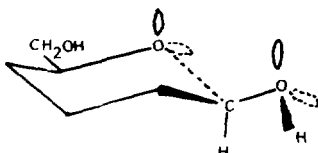
A, C, F sont réactives, B, D, E sont inertes [55]. Incorporées dans un cycle à 6 centres, A, B, C conduisent aux trois conformations d'un composé anomère β dont 2 sont réactives, D et E correspondent à une forme α non réactive, d'autre part, E ne peut représenter un cycle pyranose.



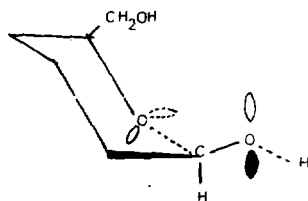
A



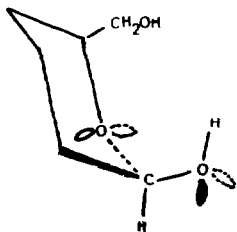
B



C



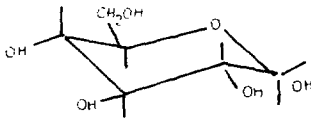
D



E

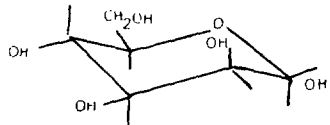
L'hypothèse d'une attaque sur le carbone en position 2 dans le mécanisme b est confirmée par la quantité d'aldéhyde malonique radioformée dans le glucose, le galactose et le mannose. En effet, la configuration anomérique de ces trois sucres est identique (forme α largement prédominante) et on peut penser que la participation au premier mécanisme est semblable. La position de l'hydroxyde en 2, imposée par l'encombrement de CH_2OH est équatoriale pour le glucose et le galactose et axiale pour le mannose, position généralement plus labile. Expérimentalement le mannose conduit à une quantité d'aldéhyde malonique supérieure à celle du glucose et du galactose.

Ecrivons les conformations préférées :



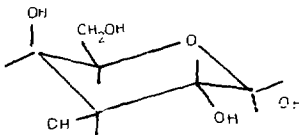
α Glucose

OH en 2 équatorial



α Mannose

OH en 2 axial



α Galactose

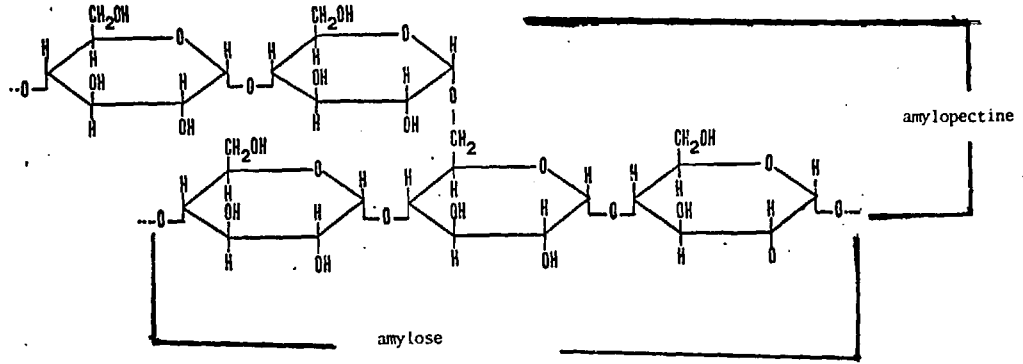
OH en 2 équatorial

5 - Extrapolation aux polymères

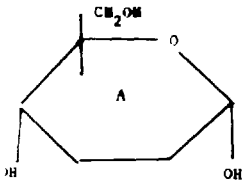
Les rendements radiolytiques, rapportés comme l'unité d'énergie le rad, à 1 gramme de matière irradiée, de deux polymères, le maltose et le maltotriose, sont intermédiaires entre ceux des formes α et β du glucose.

Or la conformation de la liaison glycosidique est α dans les deux polymères, celle du résidu réducteur est principalement β (vérifiée pour le maltose par chromatographie gazeuse des dérivés triméthyl silylés). Il semblerait donc que tous les groupements anhydroglucose sont sensibles à l'effet primaire, qu'ils soient initialement libres ou inclus dans une chaîne glucosidique. D'ailleurs, d'une part les mécanismes proposés plus haut ne mettent pas en jeu le carbone 4, d'autre part, la différence de position de l'hydroxyle en 4 dans le glucose et le galactose est sans influence. On doit donc tendre pour l'amylose au même rendement que le glucose β .

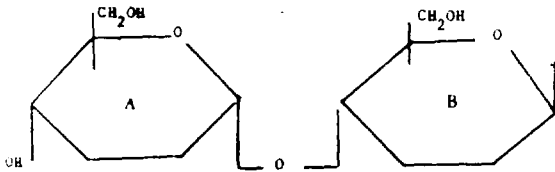
tableau 3



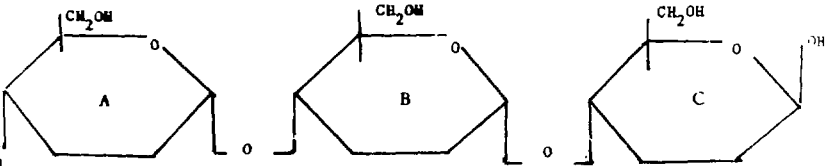
Types de polymérisations de l'amidon



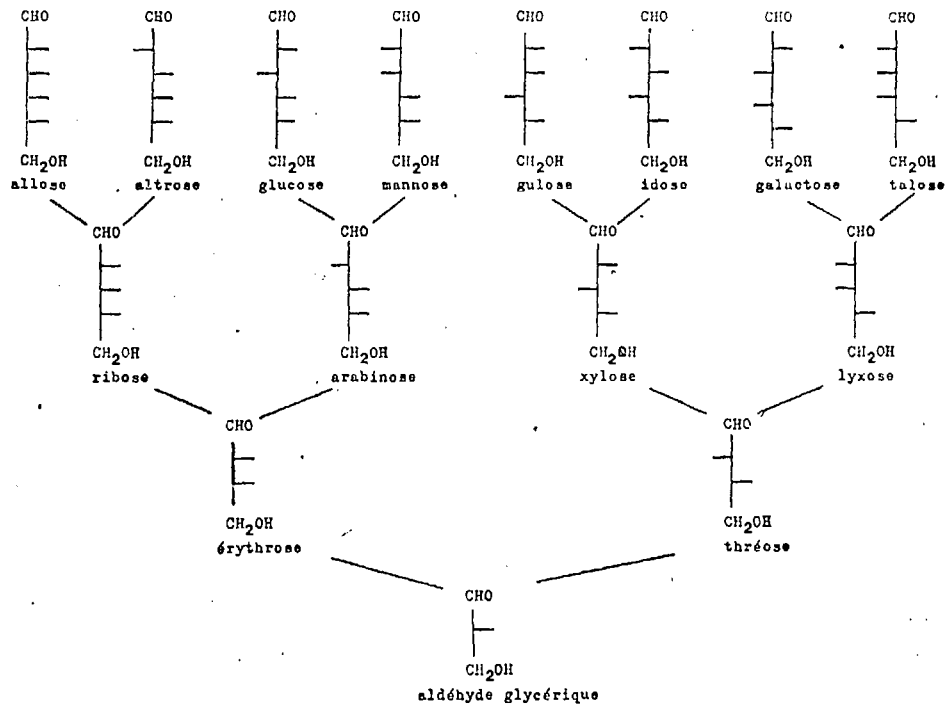
Glucose 1 résidu



Maltose 2 résidus



Maltotriose 3 résidus



. Configuration des ALDOSES.

III. - ETUDE DE L'EFFET SECONDAIRE

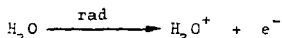
L'étude de la formation d'aldéhyde malonique à partir de solutions de glucose a été motivée par le fait que dans l'amidon industriel, nous l'avons dit, une quantité non négligeable d'eau est vraisemblablement responsable, comme dans le glucose hydraté, d'une partie de cette production. D'autre part, un mécanisme avait été proposé par Scheraga [fig. 28] et il était intéressant de vérifier ses hypothèses.

Le glucose est irradié, sauf spécification contraire, en solution aqueuse à la concentration de 10^{-2} M, à température ordinaire, en présence d'air et à la dose de 0.5 Mrad.

Les quantités d'aldéhyde malonique formées sont alors beaucoup plus importantes que celles observées lorsque le glucose est irradié à l'état sec. Cette différence est due à l'attaque des molécules de solution par les radicaux radioformés de l'eau (effet secondaire).

1 - La radiolyse de l'eau

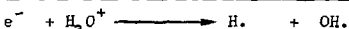
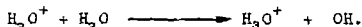
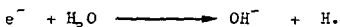
Le mécanisme de formation des radicaux libres de l'eau est encore incertain. Toutes les théories partent cependant de la représentation suivante de l'ionisation :



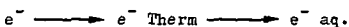
Ces deux espèces peuvent se recombiner et provoquer la coupure de la liaison O - H



ou réagir sur l'eau [55 à 57]

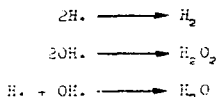


Enfin, les électrons peuvent être rapidement hydratés (10^{-11} sec) [58]

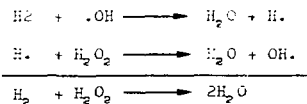


Les espèces initiales, résultant de l'ionisation de l'eau, sont donc H. , OH. , e⁻aq.

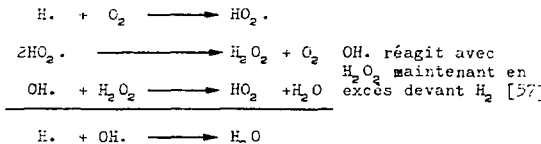
Dans un second temps, elles peuvent engendrer des espèces moléculaires stables :



Lors d'irradiation d'eau pure, l'hydrogène moléculaire et le peroxyde d'hydrogène participent rapidement à une réaction en chaîne [59 à 60] :

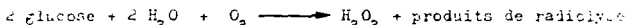
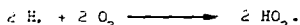


En présence d'oxygène dissous, de nouvelles espèces transitoires sont formées.



L'eau pure ou saturée d'oxygène, irradiée, conduit à des intermédiaires qui, en se recombinant, restituent plus ou moins rapidement l'eau de départ.

Lorsqu'une partie des radicaux OH. est utilisée pour réagir avec un soluté, par exemple le glucose, il y a accumulation de peroxyde d'hydrogène.



La présence de peroxyde d'hydrogène dans les solutions de glucose ou dans l'amidon humide (3 %) irradié a été en effet montrée par colorimétrie [58]. Il ne provient pas du glucose lui-même puisque l'on trouve pas par irradiation à l'état sec [59] [60].

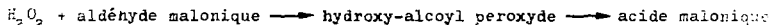
2 - Influence des conditions d'irradiation et des caractéristiques du glucose

a - Influence de la dose et de la concentration

Lors des irradiations du glucose sec, nous avons noté que la quantité d'aldéhyde malonique variait linéairement avec, d'une part, la dose d'irradiation et la quantité de produit irradié, d'autre part.

Les caractéristiques de l'effet secondaire sont sensiblement différentes (fig. 15 et 16) :

- Ainsi la concentration d'aldéhyde malonique croît avec la dose et tend vers une limite. Aux fortes doses d'irradiation et aux faibles concentrations de glucose, on observe, de plus une décroissance. Ceci peut être imputé à la radiolyse de l'aldéhyde malonique ou à sa destruction par réaction secondaire avec un autre produit de radiolyse, par exemple :



En outre, la formation d'aldéhyde malonique est indépendante de la teneur initiale en glucose, dans un certain domaine de concentration. On peut adopter, pour expliquer ces variations une hypothèse voisine de celle de ALTMANN [61].

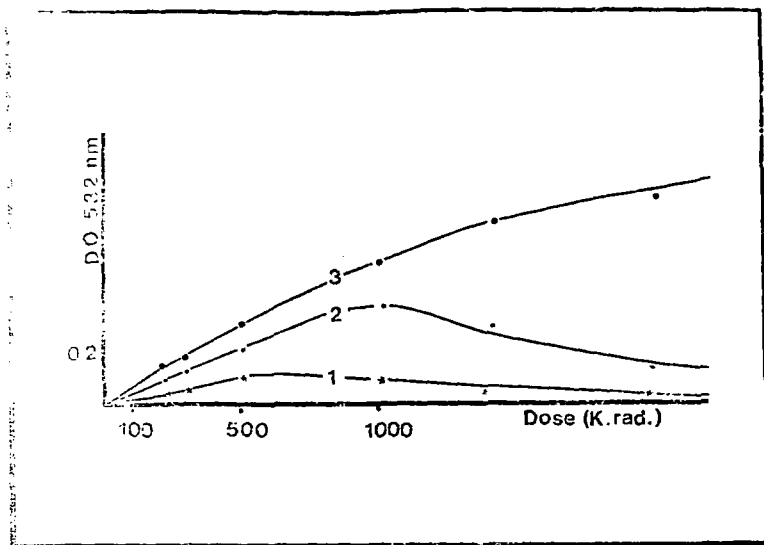


Fig. 15 - Influence de la dose d'irradiation sur la formation d'aldéhyde malonique à partir de solutions de glucose

- 1 - concentration initiale du glucose $\frac{M}{15625}$
 - 2 - concentration initiale du glucose $\frac{M}{625}$
 - 3 - concentration initiale du glucose $\frac{M}{25}$
-

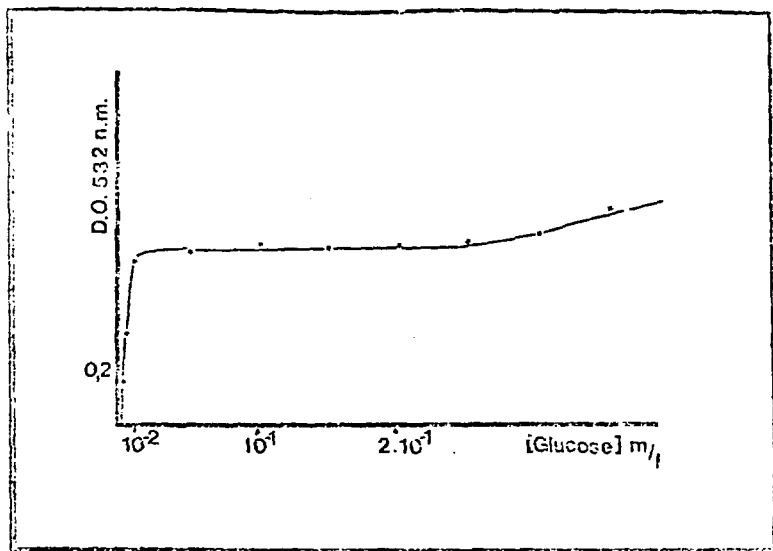
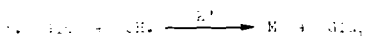
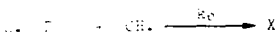


fig.16 - Influence de la concentration initiale en glucose sur la variation de la quantité d'aldéhyde malonique radioformée (solution eau distillée, dose 0,5 Mrad)

trois réactions du radical OH. sont postulées.



M représente l'ensemble des produits de radiolyse, dont l'hydrogène moléculaire.

X désigne tout composé formé par le radical OH, H₂O₂, impurités, ... réagissant avec OH et absorbant la lumière.

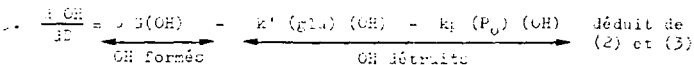
Glu représente le glucose au temps t.

Glu₀ " " " " " temps t₀

Glu₁ peut, par exemple, être le glucose oxydé.

(3) englobe toutes les réactions qui s'ensuivent avec le radical OH, même celles qui s'absorbent par la formation de produits à radicaux (la réaction 3 n'est qu'une partie de l'ensemble 3).

$$4. \text{ si } D \text{ est la dose d'irradiation, } \frac{dM}{dt} = k [\text{OH}]^2 + \dots$$



α est un facteur de conversion, G le rendement de formation des radicaux OH. Glu₀ et P₀ les valeurs initiales du glucose et de P.

Tous les radicaux disparaissent en 10⁻¹⁰ sec. Donc,

$$6. \frac{d[\text{OH}]}{dt} \neq 0 \quad \text{et} \quad \alpha G(\text{OH}) = \text{OH} (k' [\text{glu}_0] + k_p [\text{P}_0])$$

$$7. [\text{OH}] = \frac{\alpha G(\text{OH})}{k' [\text{glu}_0] + k_p [\text{P}_0]}$$

en remplaçant dans 4 :

$$8. \frac{dM}{dD} = \frac{k \alpha G(\text{OH})}{k' [\text{glu}_0] + k_p [\text{P}_0]} (\text{glu}) \quad \text{on pose } K = \frac{k \alpha [G(\text{OH})]}{k' [\text{glu}_0] + k_p [\text{P}_0]}$$

$$9. \frac{dM}{dD} = K (\text{glu}) = K (\text{glu}_0 - M)$$

$$10. \frac{dM}{(glu_0 - M)} = K dD \quad \begin{array}{l} dM = -d(glu_0 - M) \\ \text{car } glu_0 = \text{constante} \end{array}$$

$$11. \frac{d(glu_0 - M)}{(glu_0 - M)} = -K dD$$

$$12. glu_0 - M = C e^{-KD}$$

pour $D=0, M=0, C=glu_0$

$$13. (glu_0 - M) = glu_0 (e^{-KD})$$

$$14. M = glu_0 (1 - e^{-KD})$$

la représentation de cette fonction est donnée figure 15.

La quantité de produits radioformés, donc d'aldéhyde malonique, croît avec la dose puis tend vers une limite.

Les résultats expérimentaux sont plus complexes, et aux fortes doses nous l'avons vu, l'aldéhyde malonique est lui-même détruit.

— Un calcul semblable permet d'expliquer l'indépendance vis-à-vis de la concentration initiale de glucose :

par définition, on peut écrire :

$$15. GM = \frac{1}{\alpha} \times \left(\frac{dM}{dD} \right)_0 = \frac{1}{\alpha} \times \frac{k \cdot (G(OH))}{k' glu_0 + k_p P_0} (glu_0)$$

d'après 8

$$16. GM = \frac{k G(OH)}{k' glu_0 + k_p P_0} glu_0 \quad \begin{array}{l} GM = \text{rendement de} \\ \text{formation de M.} \end{array}$$

$$17. \frac{1}{GM} = \frac{k}{k' G(OH)} + \frac{k_p P_0}{k glu_0 G(OH)}$$

Lorsque $glu_0 \gg P_0$, GM est indépendant de la concentration en glucose.

C'est le phénomène important, traduit par la courbe théorique figure 18 et observé expérimentalement figure 16.

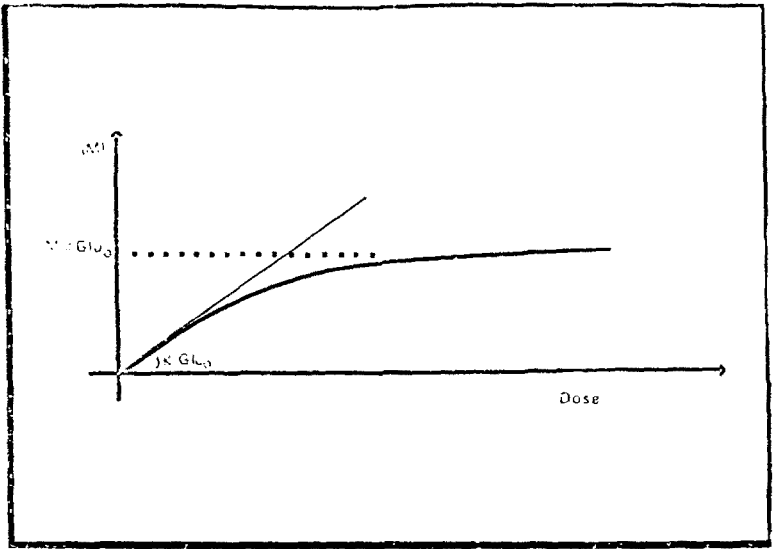


fig. 17 - Représentation graphique de $M = Glu_0 (1 - e^{-KD})$

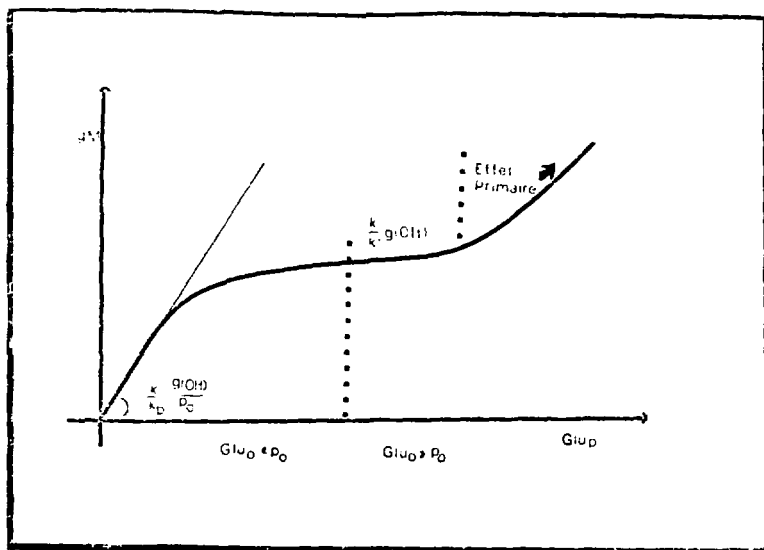


fig. 18 - Représentation graphique de

$$\frac{1}{gM} = \frac{k'}{k} \frac{1}{g(OH)} + \frac{k_p}{k} \frac{P_0}{glu_0 \cdot g(OH)}$$

(en fonction de la concentration en glucose)

Il faut enfin noter que le rapport aldéhyde malonique radioformé / mole de glucose irradié, décroît considérablement quand la concentration en glucose augmente. Il est, nous l'avons vu, très faible en milieu sec (fig. 19).

1 - Influence de la structure du suc lixivé.

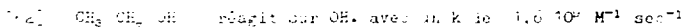
Il s'agit de l'effet de l'oxydation des sucres intervenant lors de la formation de l'aldéhyde malonique.

- Influence du glucose

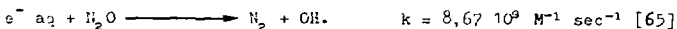
Le glucose agit comme un radical-captant en quantité d'aldéhyde malonique radioformé (fig. 20).

2 - Radicaux libres

Parmi les molécules qui réagissent très rapidement avec les radicaux libres, certains présentent plus particulièrement OH.



Leur addition avant irradiation diminue la quantité d'aldéhyde malonique (fig. 21). En revanche, l'effet est inversé après saturation des solutions par le protoxyde d'azote N_2O qui induit la formation des radicaux OH. à partir des électrons aqueux (fig. 22) :



L'espèce réactive de l'eau, responsable de la formation de l'AM est donc bien le radical OH.

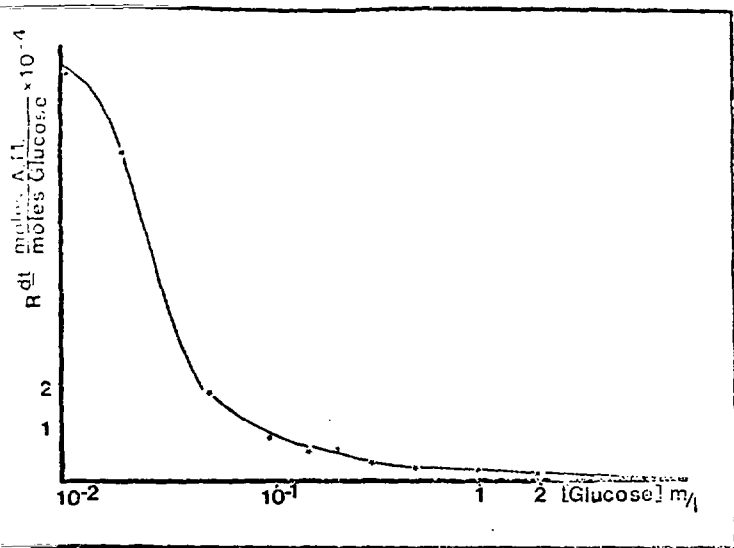


fig. 19 - Influence de la concentration en glucose sur le nombre de moles d'AM radioformées, par molécule de glucose.

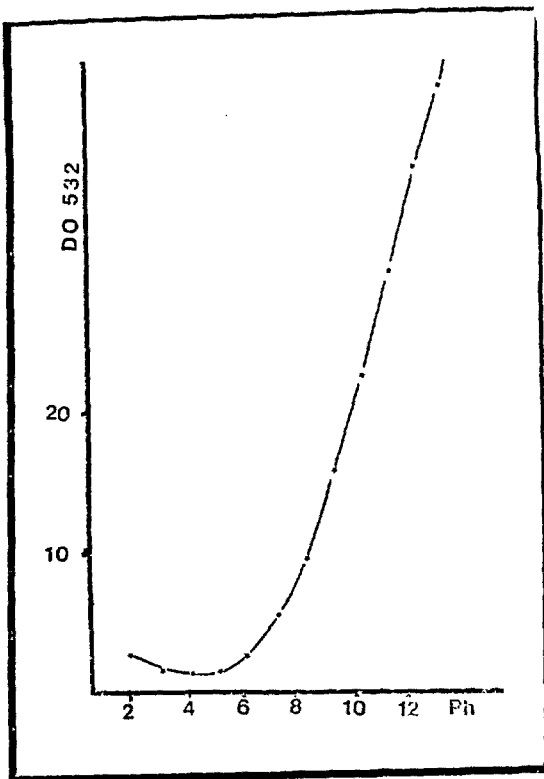


fig. 20 - Influence du pH d'irradiation sur la formation d'aldéhyde malonique - (solution molaire de glucose, dose 2 Mrad).

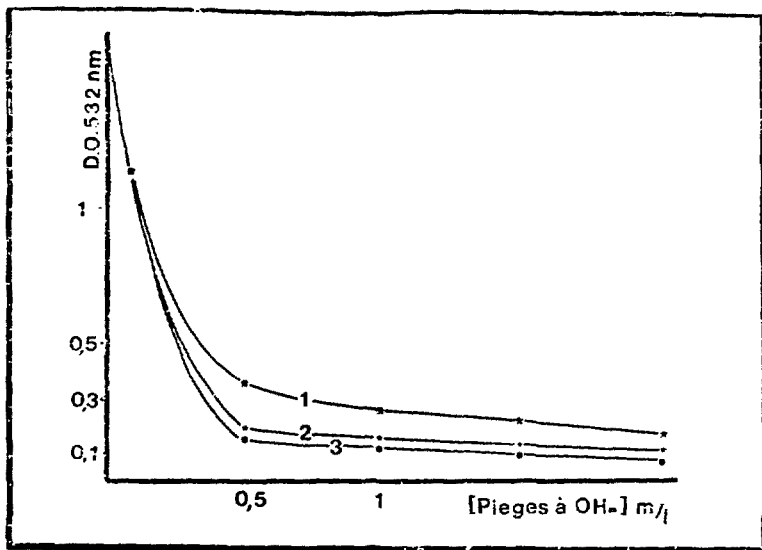


fig. 21 - Influence de la concentration de divers pièges à radicaux libres sur la formation d'aldéhyde malonique au cours de l'irradiation γ du glucose en solution saline.

1 - $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$

2 - $(\text{CH}_3)_2\text{CHOH}$

3 - K Br

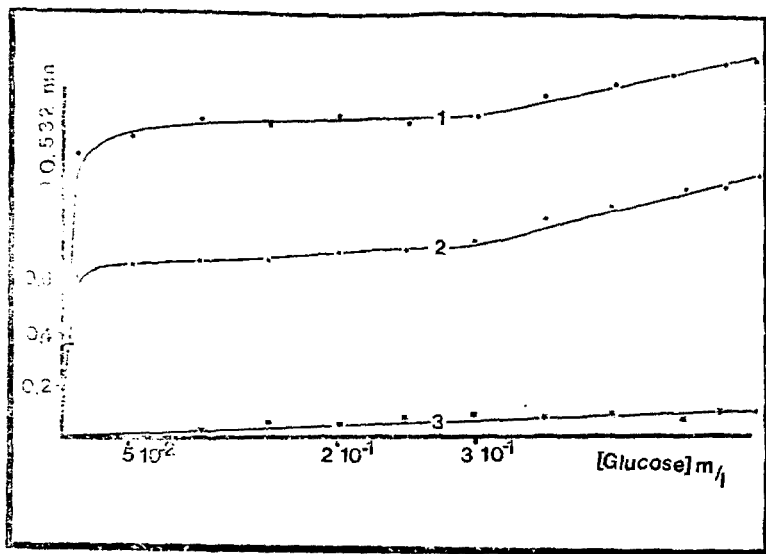


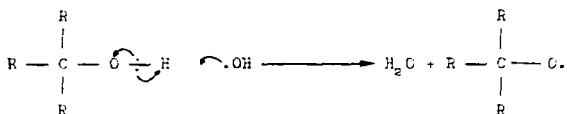
fig. 22 - Evolution de l'aldéhyde malonique radioformée en fonction de la concentration de glucose, en présence de :

— 1 - H₂O

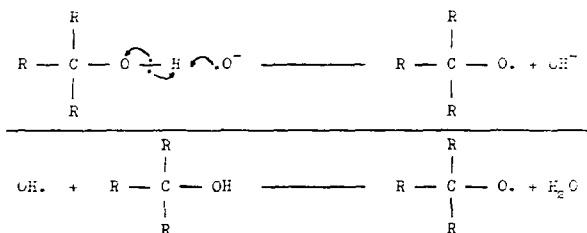
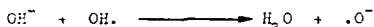
— 2 - Témoïn eau distillée

— 3 - CH₃ CH₂ OH

Remarque : Le radical OH. est connu pour être un puissant oxydant. La réaction avec KMnO_4 est par exemple la seule où il se comporte comme un réducteur. D'une manière générale, il n'est pas susceptible d'arracher un hydrogène.



En milieu basique, il est décomposé, et le radical O^- qui possède des propriétés semblables :



5 - Marquages isotopiques

A une solution $5 \cdot 10^{-2}$ M de glucose pH^{11} saturée d'oxygène est ajoutée une faible quantité de ce sucre marqué au ^{14}C en position C_1 ou C_6 .

Après irradiation (5 Mrad, 130 krad/h) l'aldéhyde malonique est séparé comme précédemment. Les purifications du complexe avec l'AlE sont effectuées par cristallisations successives dans l'eau et par chromatographie de partage sur colonne de cellulose. L'activité spécifique étant constante au cours de 5 opérations, on estime que le complexe est suffisamment purifié.

Glucose marqué en position 1

	1° cristal.	2° cristal.	3° cristal.	4° cristal.	Séluat chromatographique
Alid. mal. (moles)	$5 \cdot 10^{-5}$	$4,5 \cdot 10^{-5}$	$1,9 \cdot 10^{-5}$	$1,5 \cdot 10^{-5}$	$0,08 \cdot 10^{-5}$
Activité totale (coups/10 minutes)	$10 \cdot 10^6$	$42,1 \cdot 10^6$	$3,4 \cdot 10^6$	$39,0 \cdot 10^6$	$1,875 \cdot 10^6$
Activité spécifique 10 ml. M	$2,0 \cdot 10^{11}$	$1,9 \cdot 10^{11}$	$1,94 \cdot 10^{11}$	$2,5 \cdot 10^{11}$	$2,3 \cdot 10^{11}$
Rendement Alid total	74,2 %	90,5 %	72 %	57,1 %	0,19 %

Glucose marqué en position 6

	1° cristal.	2° cristal.	3° cristal.	4° cristal.	Séluat chromatographique
Alid. mal. (moles)	$1,188 \cdot 10^{-5}$	$1,12 \cdot 10^{-5}$	$0,55 \cdot 10^{-5}$	$0,187 \cdot 10^{-5}$	$0,055 \cdot 10^{-5}$
Activité totale (coups/10 minutes)	$4,9 \cdot 10^6$	$3,5 \cdot 10^6$	$2 \cdot 10^6$	$8,125 \cdot 10^6$	$2,10 \cdot 10^6$
Activité spécifique	$3,7 \cdot 10^{10}$	$3,4 \cdot 10^{10}$	$4 \cdot 10^{10}$	$4 \cdot 10^{10}$	$3,36 \cdot 10^{10}$
Rendement	34,6 %	30,5 %	19,5 %	5,4 %	1,54 %

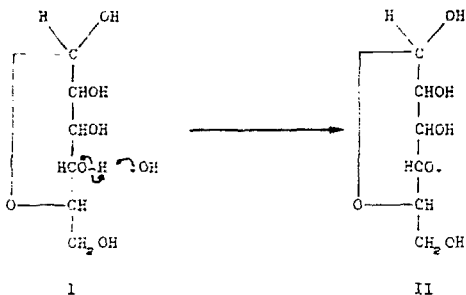
La radiolyse interne est ici négligeable devant celle produite par le rayonnement β car la quantité d'aldéhyde malonique formée par irradiation γ est très supérieure à celle du glucose sec.

Les rapports $\frac{\text{Alid. mal.}}{\text{Alid. total}}$, représentant la fraction d'aldéhyde malonique contenant le carbone marqué, sont respectivement de 78,5 et 10 % pour les extrémités aldéhydrique et alcoolique.

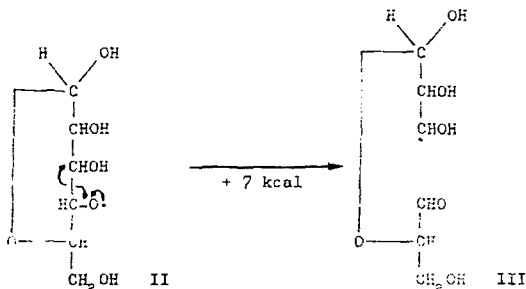
4 - Propositions de mécanismes

Des mécanismes voisins de ceux proposés pour la radiolyse en milieu solide peuvent être appliqués à celle en solution, en tenant compte du fait que l'agent actif est le radical $\cdot\text{OH}$ de l'eau.

On peut concevoir que l'attaque du radical OH. conduise à un arrachement de H. sur l'hydroxyde du carbone 4.

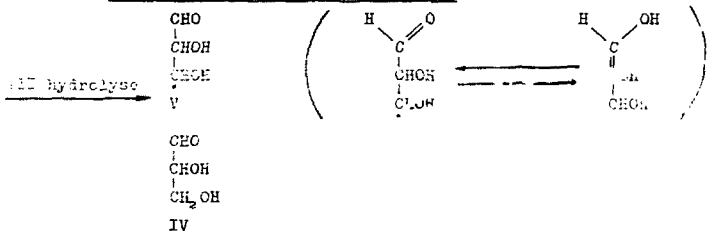


Le réarrangement du radical II aboutit, après rupture de la liaison C - C au composé III.

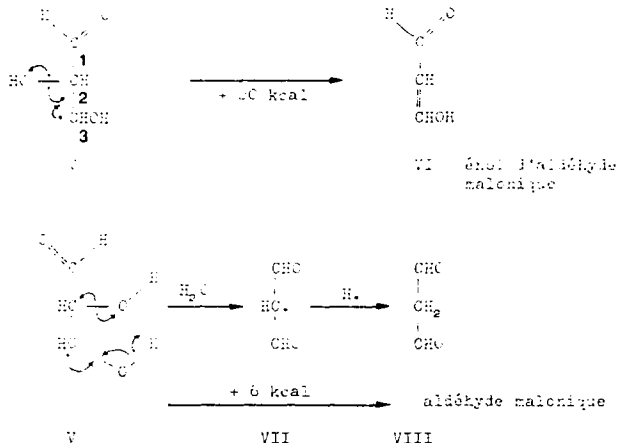


Le composé III peut ensuite évoluer dans deux voies différentes.

a - Hydrolyse de la liaison acétalique



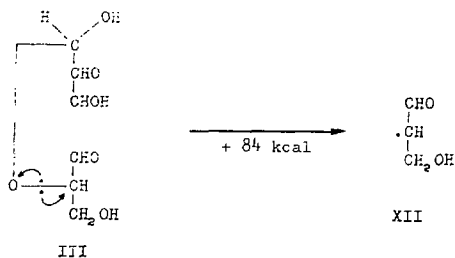
Pour aboutir à l'analyse radicalique il est ensuite nécessaire de rompre le départ d'un OH. par le carbone 2 du radical V, cette opération pourrait se faire soit directement soit par l'intermédiaire d'une tétrahydrate et d'un départ de H.



Dans nos conditions expérimentales 80 % de l'aldéhyde malonique sont ainsi formés à partir de l'extrémité aldéhydique.

b - Coupure homolytique de la liaison acétallique

Le radical III pourrait aussi conduire après coupure homolytique de la liaison C - O hémiacétallique semblable à celle postulée en milieu solide, à la forme énolique de l'aldéhyde malonique.





Le mécanisme serait responsable de la formation à partir de l'extrémité alcoolique du glucose de seulement 10 % de l'aldéhyde malonique total. On peut en effet penser qu'en milieu liquide, et en particulier aux pH extrêmes, l'hydrolyse est plus facile que la coupure homolytique.

Discussion

- Les variations de la concentration en aldéhyde malonique observées en fonction de la dose d'irradiation et de la concentration en glucose sont compatibles avec tout mode d'action indirecte.
- Les effets de l'alcool, du bromure de potassium et du protoxyde d'azote confirment l'attaque initiale des radicaux OH.
- L'influence de l'oxygène est nulle et ce gaz n'est pas impliqué dans l'explication des mécanismes.
- Il est difficile de comparer les rendements radiolytiques du glucose, du mannose et du galactose, les pourcentages relatifs des formes α et β étant différents en solution dans l'eau.
- En milieu basique, la stabilisation de la forme énolique de l'aldéhyde malonique peut expliquer le rôle favorisant d'une élévation de pH.

En conclusion, les mécanismes proposés ici sont assez différents de ceux décrits par Scherz. Nos résultats expérimentaux ont montré en effet que dans les conditions d'irradiation utilisées (solution diluée, pH élevé), l'aldéhyde malonique provenait, contrairement à l'hypothèse de cet auteur, principalement de l'extrémité aldéhydique du glucose.

6 - Extrapolation aux polymères supérieurs (fig. 25)

La comparaison des rendements du glucose, du maltose et du maltotriose met en évidence le rôle du carbone 4.

Lorsque celui-ci est impliqué dans la liaison glycosidique il n'y a plus possibilité d'attaque par les radicaux OH₂ de l'eau comme il est postulé dans les mécanismes décrits plus haut.

Seuls les cycles A, correspondant à l'extrémité non réductrice d'une chaîne linéaire conduiraient à l'aldéhyde malonique (une hydrolyse de la liaison glycosidique serait nécessaire). Une fraction des radicaux OH₂ de l'eau participerait sur les cycles B, C à d'autres réactions et serait en conséquence inutilisable à la production d'aldéhyde malonique qui décroîtrait en fonction de la longueur de la chaîne.

Une extrapolation à l'amylose conduit à admettre que l'effet secondaire serait donc négligeable. Ceci est en accord avec les résultats obtenus sur l'amidon irradié à l'état solide pour lequel les concentrations d'aldéhyde malonique n'augmentent pas aux fortes humidités, contrairement à ce que l'on pourrait attendre de l'effet secondaire.

Dans l'isomaltose, les carbones 4 des deux cycles sont libres et rien n'empêche qu'après hydrolyse ils participent tous deux à la formation d'aldéhyde malonique, c'est ce qu'on observe en effet expérimentalement.

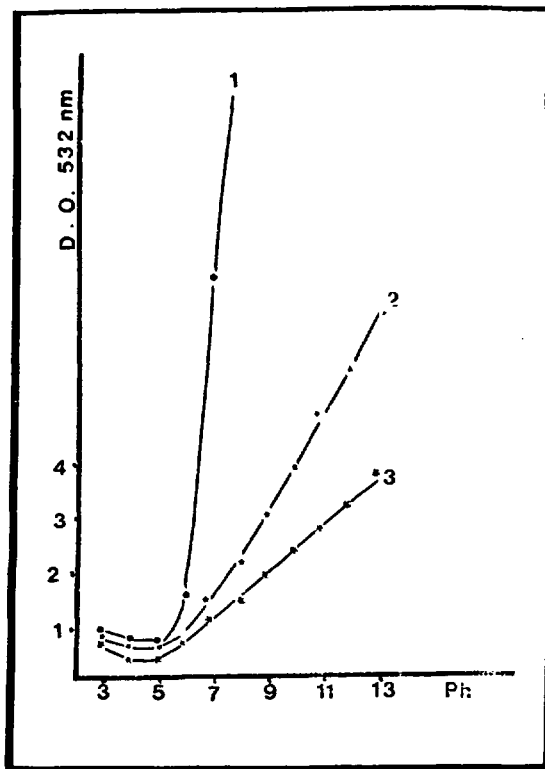


fig. 23 - Irradiation du glucose et de ses polymères en milieu liquide, à différents pH.

- 1 - glucose
- 2 - maltose
- 3 - maltotriose.

PRINCIPALES METHODES OPERATOIRES

RADIOMETRIE :

La radioactivité est mesurée avec un spectromètre Jobin et Devouille Mark 4 par la comptation de la densité optique d'une solution de large intervalle de dilution :

H_2CO_3	0,100 ml
H ₂ O	0,500 g
$FeCl_3$	0,500 mg
H_2O Q.S.P.	100 ml à 20°C

Dans le cas de ^{14}C de (jusqu'à) 10 grains

DOSSAGE DE L'ALDEHYDE MALONIQUE :

A la solution d'aldéhyde malonique à doser est ajouté un volume égal du réactif suivant préparé fraîchement :

Acide 2 thiobarbiturique	0,72 g
Acide trichloracétique	15 g
H_2O Q.S.P.	100 ml à 20°C

Après chauffage à 60°C pendant 60 mn, le mélange est refroidi et la densité optique à 532 nm est lue à l'aide d'un spectrophotomètre Optica CF4 R.

EVAPORATION DE L'ALDEHYDE MALONIQUE :

L'aldéhyde malonique est séparé, ainsi que tous les produits de radiolyse volatils, par évaporation sous vide à 50°C et piégeage à -196°C (fig. 26).

La solution est préalablement acidifiée par 2 ml HCL.

CRISTALLISATION DU COMPLEXE :

Le complexe ATB-AM précipite sous forme de paillettes d'éclaircissement après acidification (HCl à 2 ml) et refroidissement des solutions aqueuses. Il est ensuite filtré sur verre fritté N°4 (Coulter).

CHROMATOGRAPHIE :

Préparation de la cellulose : la cellulose longue fibre (Waters) est lavée à l'eau et les fines particules sont éliminées par lavage avec le tamisageant après 5 ml de décantation.

Élution : les solutions de complexe sont appliquées à des colonnes de taille appropriée aux quantités à purifier. Un lavage à l'eau élimine l'ATB, le TCA en excès et divers produits de radiolyse. Le complexe est ensuite élué par un mélange eau - acétone (1/1).

COMPTAGES :

- Par compteurs type GEIGER, MÜLLER : les solutions (C, C₂) sont évaporées à l'aide d'un évaporateur sur des coupelles d'aluminium. Ces dernières sont introduites dans l'appareil et le comptage est automatique.
- Par scintillation liquide : Après oxydation dans un four à catalyseur, le CO₂ marqué est recueilli dans 20 ml du mélange suivant (fig. 24).

Pour un litre :

220 ml d'alcool méthylique	(solvant)
330 ml de phényl-éthyl-amine	(fixateur de CO ₂)
400 ml de toluène	(scintillateur primaire)
7 g de Butyl PBD	(scintillateur secondaire)
50 ml d'eau	(solvant)

L'activité est mesurée par scintillateur liquide.

PREPARATION D'ALDEHYDE MALONIQUE POUR ETUDE EN LUMIERE U.V. :

L'aldéhyde malonique témoin est préparé par hydrolyse acide du bis-diméthylacétal du commerce (10 ml de solution molaire d'acétal, 2 ml HCl concentré, chauffage à 30°C pendant 60 mn) (fig. 24 - 25).

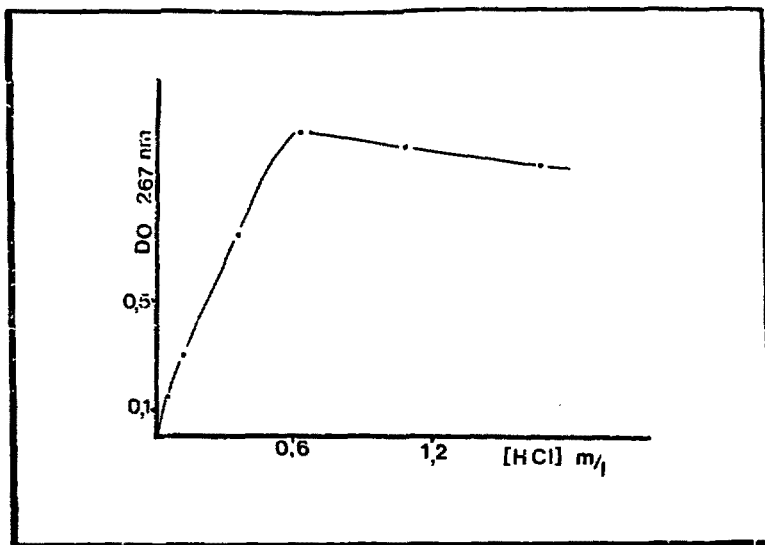


fig. 24 - Influence de la concentration en acide sur l'hydrolyse du bis-diméthyl acétal de l'aldéhyde malonique.
(L'aldéhyde malonique est mesuré ici par densité optique à 267 nm).

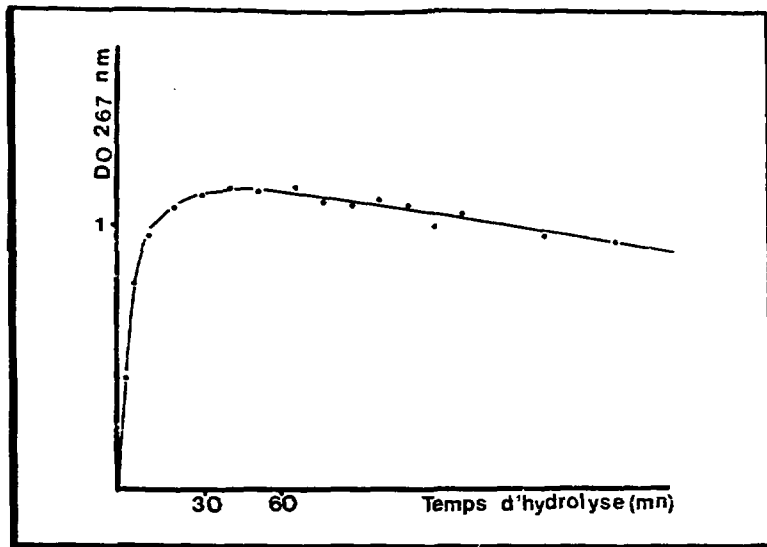


fig. 25 - Influence du temps de chauffage à 60°C sur la formation d'aldéhyde malonique par hydrolyse acide du bis-diméthyl-acétal.
(L'aldéhyde malonique est mesuré ici par densité optique à 267 nm).

CHANGEMENTS DE PHASES EN MILIEU LIQUIDE :

On fait passer les solutions de KBr dans un ballon à fond plat, on chauffe à l'ébullition pendant 15 minutes, on refroidit à l'eau glacée, on agite et on laisse déposer.

PREPARATION D'UNE SOLUTION LIQUIDE :

On fait passer les solutions de KBr dans un ballon à fond plat, on chauffe à l'ébullition pendant 15 minutes, on refroidit à l'eau glacée, on agite et on laisse déposer.

On fait passer les solutions de KBr dans un ballon à fond plat, on chauffe à l'ébullition pendant 15 minutes, on refroidit à l'eau glacée, on agite et on laisse déposer.

RELAISON ENTRE LES PHASES LIQUIDES DIFFERENTES :

On fait passer les solutions de KBr dans un ballon à fond plat, on chauffe à l'ébullition pendant 15 minutes, on refroidit à l'eau glacée, on agite et on laisse déposer.

Pour les humidités supérieures on ajoute de l'eau en fines gouttelettes, on agite et on laisse déposer.

On fait passer les solutions de KBr dans un ballon à fond plat, on chauffe à l'ébullition pendant 15 minutes, on refroidit à l'eau glacée, on agite et on laisse déposer.

ADDITION DE KBr :

Elle est effectuée par :

- lyophilisation d'un mélange de solutions de glucose et de KBr de même concentration;
- mélange à sec puis pour poids des deux poudres.

DIFFERENTES FORMES CRISTALLINES DE GLUCOSE :

- Glucose du commerce (Prolabo) anhydre ou monohydrate.
- Sirop de glucose évaporé sous vide (20 mm Hg, 30°C) à l'aide d'un rotavapor Büchi, ou dans un dessiccateur en présence de P_2O_5 .
- Glucose lyophilisé à l'aide d'un appareil Sogev type Sublima.

CHROMATOGRAPHIES GLC

Préparation des dérivés triméthylsilylés. Le sucre (0,5 mg) est dissous dans 1 ml de N, N diméthyl formamide qui a pour propriété, nous l'avons vérifié, de conserver la configuration anomérique. La silylation est réalisée par 1 ml de N, O- bis-triméthyl-silyl-trifluoro-acétamide (1 % de triméthyl chlorosilane). Le dérivé obtenu est susceptible d'être chromatographié en phase gazeuse.

Chromatographie. La chromatographie est effectuée sur colonne SE 30 (2 m, 1/8 de pouce) par élution isotherme (colonne 200°C, injecteur 250°C, détecteur 250°C) à l'aide d'un chromatographe F 30 Perkin Elmer.

pH D'IRRADIATION

Les pH moyens sont fixés par des tampons phosphate 0,5 M et les pH extrêmes sont obtenus par addition de soude ou d'acide chlorhydrique.

NOTA : Le pH varie très peu (< 1 pH) en cours d'irradiation dans ces conditions.

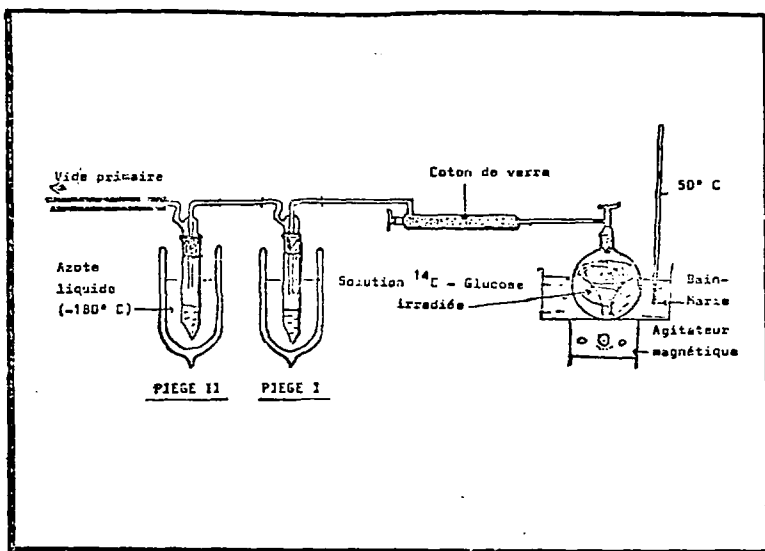


fig.26 - Méthode d'extraction sous pression réduite des dérivés volatils, schéma de principe

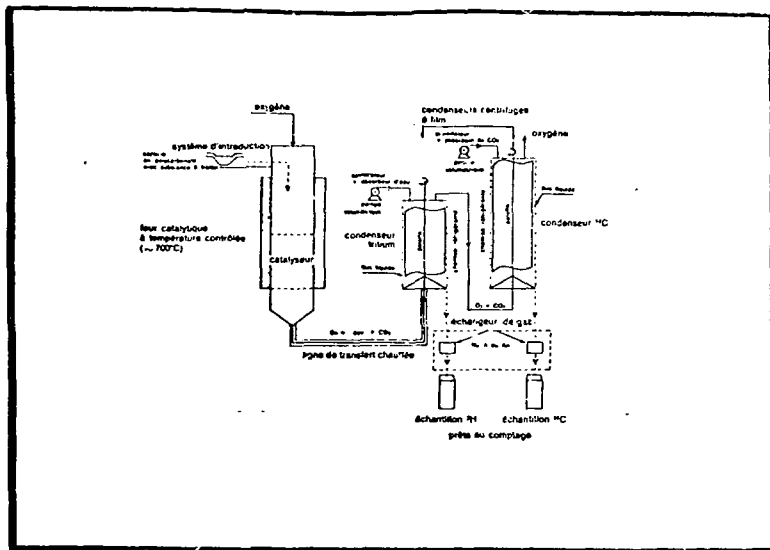


fig.28 - Méthode d'oxydation des composés marqués (intertechnique S.A.III, schéma de principe)

CONCLUSION

Au cours de ce travail, nous avons vu que l'aldéhyde malonique pouvait être formé directement par irradiation du glucose sec, ou par l'intermédiaire des radicaux de l'eau lorsque cette dernière était présente.

Les mécanismes réactionnels que nous avons proposés ne sont sans doute pas la traduction exacte de la réalité, mais ont l'avantage d'être en accord avec les résultats expérimentaux.

- L'effet direct conduit à une production d'aldéhyde malonique proportionnelle à la dose, indépendante du débit de dose, de la température dans un vaste domaine, de la présence d'oxygène et de l'état cristallin du glucose. En revanche, la teneur en eau et la forme anomérique du glucose jouent un rôle important. Par marquage isotopique on a pu montrer que les deux extrémités de la molécule du glucose participent à la formation de l'aldéhyde malonique. L'extrapolation aux polymères linéaires (maltose, maltotriose) met en évidence l'indépendance du rendement de radiolyse vis-à-vis de la liaison α 1 - 4 et permet de penser qu'il tend vers celui du glucose dans l'amylose.
- L'effet indirect est lié à l'action des radicaux OH. de l'eau. Il se manifeste lorsque le glucose est irradié à l'état suffisamment hydraté ou en solution. Dans ce dernier cas, et en accord avec la théorie générale, la concentration d'aldéhyde malonique est indépendante de la concentration en glucose dans une large mesure et ne varie pas proportionnellement à la dose. L'oxygène est sans influence notable, mais on observe une forte activation aux pH élevés. L'utilisation de ^{14}C a permis d'attribuer à l'extrémité aldéhydrique du glucose l'origine de la plus grande partie de l'aldéhyde malonique. La polymérisation du glucose, par liaison α 1 - 4 entraîne une diminution du rendement radiolytique. Ainsi l'effet indirect serait négligeable dans l'amylose.

Il serait intéressant pour continuer ce travail d'extrapoler aux polymères plus élevés en utilisant divers polyholosides obtenus après hydrolyse ménagée de l'amidon, par chromatographie sur biogel par exemple.

Quoiqu'il en soit on a pu mettre en évidence à propos de la formation d'aldéhyde malonique des différences de comportement du glucose vis-à-vis du rayonnement ionisant, selon qu'il est libre ou incorporé dans une chaîne glycosidique. Ceci incline à la prudence dans l'extrapolation au polymère des résultats trouvés sur un monomère.

ANNEXE

Nous rappelons ici les unités utilisées en radioactivité et nous indiquons leurs équivalents biologiques, généralement fondés sur les effets que produisent les radiations ionisantes dans l'organisme.

On trouvera les mesures pratiques fort bien décrites dans la thèse de Monsieur Jean MORRE, déjà cité.

UNITE D'ACTIVITE

Le curie (Ci) : Le curie caractérise la source émettrice.

La masse de radioélément pour une activité de 1 curie est très variable.

- 5 tonnes d'uranium 238
- 0,9 mg de cobalt 60
- 4,3 microgrammes d'or 198 .

C'était d'abord l'activité de 1 gramme de radium. Officiellement c'est la quantité de tout radioélément dans lequel le nombre de désintégrations est de :

$$3,7 \times 10^{10} \text{ par seconde.}$$

L'activité massique ou spécifique est l'activité par unité de masse d'une substance considérée. Elle s'exprime en curie/gramme ou en ses sous-multiples.

UNITE D'EXPOSITION OU DE DOSE EMISE

Le roentgen (R) : Il caractérise un faisceau de rayons X par ionisation provoquée dans l'air.

On mesure ici la charge électrique transportée.

- 1 R = $2,083 \times 10^9$ paires d'ions par cm^3 d'air.
- 1 R = $1,6 \times 10^{12}$ paires d'ions par gramme d'air.
- 1 R = 1 Ues cm^3 d'air = 770 Ues / gramme d'air.
- 1 R = 677×10^5 MeV/ cm^3 d'air standard.
- 1 R = 0,838 rad.
- 1 R = $5,24 \times 10^7$ MeV/g d'air = $5,24 \times 10^{13}$ eV/g d'air.
- 1 R = 0,107 erg/ cm^3 d'air = 86,9 erg/g d'air.
- 1 R = 93 erg/g d'eau ou de tissus vivants.

UNITE DE DOSE ABSORBEE

Le rad : Internationalement (1953), c'est l'unité de dose absorbée.

Elle est fonction des caractéristiques du champ de radiations au point considéré et de la composition élémentaire de la matière en ce point.

Elle est égale à une énergie divisée par une masse.

Indépendamment du temps passé à céder l'énergie :

$$\begin{aligned} 1 \text{ rad} &= 100 \text{ erg/g de matière quelconque irradiée.} \\ &= 0,1 \text{ joule par kilogramme.} \end{aligned}$$

La valeur du rad est sensiblement égale à l'énergie absorbée par de l'eau (ou des tissus mous irradiés) par un faisceau de rayons X tel que l'exposition soit de 1 roentgen.

On peut se servir du rad avec des rayons X, gamma, neutrons, électrons, protons, ...

Remarques : A une exposition de 1 roentgen correspond une dose absorbée de :

- 0,869 rad dans l'air
- 0,98 rad dans les tissus mous
- 0,87 à 0,97 rad dans l'eau pour des rayonnements d'énergie comprise entre 10 keV et 3 MeV.

Si une chambre d'ionisation a donné pour des photons d'énergie inférieure à 3 MeV, à un certain endroit, dans l'air, une exposition de 1 roentgen, le corps humain à la même place recevrait 0,96 rad.

MESURES BIOLOGIQUES

Le L.E.T. (Linear Energy Transfert) : 1 keV/micron, décrit l'énergie dépensée dans les tissus en fonction de la longueur du parcours.

L'E.B.R. (Efficacité Biologique Relative) = 1 rayon X de 250 keV, d'ionisation spécifique de 100 paires d'ions par micron d'eau ou de tissus. C'est une ionisation spécifique.

Le R.E.M. (Radiological Equivalent Man) = effet biologique dû à l'absorption de 1 roentgen de rayons X ou gamma.

Un rem = 1 rad X E.B.R.

$$= \frac{83}{\text{E.B.R.}} \text{ erg/g de tissus.}$$

Mesure indispensable à l'étude de certains paramètres, telles la radiosensibilité, c'est l'unité pratique utilisée pour les valeurs de radioprotection.

Si l'on connaît la dose absorbée, on peut passer à la notion d'équivalent de dose en pondérant la valeur trouvée par un facteur exprimant le risque relatif correspondant à la qualité du rayonnement.

C'est le facteur de qualité FQ relié à la densité des phénomènes élémentaires d'ionisation et d'excitation au voisinage du parcours de la particule chargée.

$$\text{REM} = \text{RAD} \times \text{FQ}$$

Le rem correspond au risque encouru par un organisme humain ayant reçu une dose de 1 rad de rayons X ou gamma.

PRINCIPALES VALEURS DE FQ

<u>Rayonnements</u>	<u>FQ</u>
X, gamma	1
Bêta ⁻ , bêta ⁺ , électrons d'énergie maximale > 0,03 MeV ...	1
Bêta ⁻ , bêta ⁺ , électrons d'énergie maximale < 0,03 MeV ...	1,7
Neutrons thermiques	3
Particules infinies naturelles, protons de faible énergie, neutrons rapides	20
Noyaux lourds de recul, fragment de fission	20

Une personne soumise pendant un an à un flux de neutrons thermiques de 700 N/cm²/sec. recevrait un équivalent de dose de 5 rem, laquelle est la dose annuelle maximale admissible fixée pour la catégorie de travailleurs dits "directement affectés à des travaux sous rayonnements".

Le rem est l'effet biologique de 1,2 g de radium 226 à un mètre pour les tissus exposés pendant une heure.

Outre la quantité d'énergie cédée à la matière irradiée, il faut tenir compte aussi du temps nécessaire pour délivrer cette énergie.

Une même dose provoque des effets moins graves si elle est étalée dans le temps. Si le temps est suffisamment long, une dose même importante n'arrive jamais à provoquer des effets dits : "seuils".

Les normes de sécurité (ou) doses maximales admissibles sont respectées si l'on calcule à l'avance le temps de travail maximal en présence du rayonnement.

En prenant l'heure comme unité de temps, on aura :

- débit d'exposition = en R/h
- débit de dose absorbée = en rad/h
- débit d'équivalent de dose = en rem/h

*
* * *

EFFETS SUR L'ORGANISME, DEFINITIONS DES DOSES

Dose Maximum Admissible : c'est la dose totale de radiation reçue par un individu et jugée incapable de causer des troubles appréciables au cours de l'existence. Elle varie s'il s'agit de la sécurité individuelle, d'une petite, ou d'une large fraction de la population.

Concentration Maximum Admissible : Elle représente la concentration de chaque radioélément dans l'eau et dans l'air qui, après obtention d'un état d'équilibre dans le corps de l'individu qui l'a ingérée, ne donne pas une irradiation corporelle totale dépassant une valeur de 0,3 rem par semaine dans l'organe critique (organe le plus sensible à ce radioélément).

Officiellement, la CMA d'un radionucléide est l'activité volumique de ce radionucléide dans l'air inhalé ou dans l'eau de boisson qui, pour une inhalation ou une ingestion exclusive et continue, entraîne l'équivalent de dose maximal admissible au niveau de l'organe critique lorsque l'équilibre est atteint ou après cinquante ans dans le cas de radionucléides à période effective longue.

L'équivalent de dose est défini pour les besoins de la protection.

C'est le produit de la dose absorbée par le facteur de qualité, le facteur de distribution de dose et d'autres facteurs adéquats.

UNIVERSITE LE DROIT, L'ECONOMIE

ET DES SCIENCES

(AIX - MARSEILLE III)

SENALE DE SAINT-JEROME

V. L. Lewis d'I. rier

le 25 Jan 1974

Le Vice-Président de l'Université,

Université de Droit, d'Économie
et des Sciences
AIX - MARSEILLE III
FACULTÉ des SCIENCES et TECHNIQUES 36
SAINT-JÉROME
Rue Henri Poincaré
13397 MARSEILLE CEDEX 4

M. DUSSARDIER

BIBLIOGRAPHIE

- [1] HANSEN P.I.,
Food irradiation, Karlsruhe 411 (1966).
- [2] THORNTLEY M.J.,
Food irradiation, Karlsruhe 427 (1966).
- [3] SAINT-LEBE L., PELLEGRIN P., GUILBOI A.,
Food irradiation, Karlsruhe 433 (1966).
- [4] SLAVIN J.W., RONSIVALLI L.J., CONNORS T.S.,
Food irradiation, Karlsruhe 549 (1966).
- [5] SCHONBRON W., KINKEL H.S., HAFFERL W.,
Food irradiation, Karlsruhe 571 (1966).
- [6] SOMMER M.F., MAXIE E.C.,
Food irradiation, Karlsruhe 576 (1966).
- [7] TRUHAUT R.,
Ann. Hyg. L. Fr. Med. Nat. 5, 1, 33 (1969).
- [8] SAINT-LEBE L., BERGER G.,
Conférence internationale sur l'utilisation de l'énergie nucléaire
à des fins pacifiques -
IV^e Congrès Genève (1971).
- [9] SAINT-LEBE L., BERGER G., MUCCHIELLI A., COQUET,
Food irradiation. Proc. Symp. IAEA FAO Bombay (1972).
- [10] MUCCHIELLI A.,
Thèse Marseille (1972).
- [11] BERGER G., SAINT-LEBE L.,
C.R. Acad. Sc. Paris 272, 1455 (1971).
- [12] BERGER G., SAINT-LEBE L.,
C.R. Acad. Sc. Paris 271, 552 (1970).
- [13] BERGER G., AGNEL S.P., SAINT-LEBE L.,
Die Starke, 6, 203 (1973).
- [14] DAUPHIN J.F., ATHANASSIADIS H., BERGER G., SAINT-LEBE L.,
Die Starke, 1, 14 (1974).
- [15] Les bases techniques de la réglementation des aliments irradiés,
rapport d'un Comité mixte IAEA / FAO / OMS d'experts,
Rome 21-28 avril 1974.

- [16] LA FONTAINE A., BUGYAKI L.,
Euratom - 2402 F (1965).
- [17] TERNBERG S.L., COMMONER B.,
J. Am. Med. Ass. 183, 339 (1965).
- [18] LUCK H., DEFFNER C.U., KOHN R.,
Radikalbildung Feite Seifen Anstrichmittel. 66 (1964).
- [19] BRADSNAW W.M., TRUBY F.K.,
OT., U.S. Dept. of Commerce, Special Order, 131 (1957).
- [20] DESCHEIDER A.R., MEAUV R.,
Conférence du 15 août 1964 à la Sté d'Experts Chimiques de France.
- [21] CAPUTO A.,
G. di Biochimica 5, 528 (1956).
- [22] TETSUJURO O., YAZOKICHI O.,
Nippon Nôgei Kagaku Kaischi 34, 208 (1960).
- [23] TUCHEERER T.H.,
Atom Praxis. 8, F 12 (1962).
- [24] TUCHEERER T.H.,
Rebe und Weir. 13, 71 (1963).
- [25] LEONCE C.H.,
Symposium of Ionising Rad on Immuns Process (1962).
- [26] BERGER G., SAINT-LEBE L.,
Die Starke 8, 205 (1969).
- [27] WERTHEIM G.H., PROCTOR B.E.,
J. Dairy Sci. 39, 391 (1956).
- [28] SCHERZ H.,
Chem. Mikrobiol Technol. Lebensm. 1, 103 (1971).
- [29] HUO-PING-PAN, PROCTOR B.E., GOLDLITH J.A.,
Text Research, 29, 425 (1959).
- [30] SMITH H.L., TINSLEY I.S.,
Bubl. E.C. Food Tech. 14, 317 (1960).
- [31] THIEULIN G., MORRE J., RICHOU L.,
Ann. Al. Nut. 17 B, 385 (1963).
- [32] MORRE J., JANIN-CAUFMENT F.,
Bull. Acad. Vet XLV 3 (1972).
- [33] MORRE J.,
Thèse Paris.
- [34] BERGER G., SAINT-LEBE L.,
C.R. Acad. Sci. Paris 268 (1969).

- [35] Congress of Radiology CHICAGO 1937.
- [36] International Commission of Radiological Units (1953).
- [37] Peaceful Uses of Atomic Energy, Geneva, 1955 179 (1956).
- [38] FRICKE H., PETERSEN B.W.,
Strahlentherapie 26, 329 (1927).
- [39] FRICKE H., MORSE S.,
Phil. Mag (7) 7, 129 (1929).
- [40] PERCHERON
Bill. Soc. Ch. de Fr. 256 (1965).
- [41] SINNHUBER
Food Research 23, 626 (1958).
- [42] MESNARD, DEVAUX
Chim. Anal. 44, 287 (1962).
- [43] JENNINGS W.G., DUNKLEY W.L., REIBER H.G.,
Food Research 20, 13 (1955).
- [44] YU T.C., SINNHUBER R.O.,
Food Technology 11, 104 (1957).
- [45] KLAMERTH O.L., KOCSIS F.S.,
Int. J. of Rad. Biol. 14, 293 (1968).
- [46] SINNHUBER R.O., YU T.C.,
Food Technology 12, 9 (1958).
- [47] SASLAW L.D., WARAWDEKAR U.S.,
Rad. Research 24, 375 (1965).
- [48] UPADHYA H.D., BREWBAKER S.I.,
Current Science 41, 25 (1972).
- [49] TAUFEL H.C.K., ZIMMERMANN R.,
Feite Seifen Austrichmittel 3, 226 (1961).
- [50] WARREN L.,
J.B.C. 234, 1481 (1959).
- [51] SCHMIDT H.,
Feite Seifen Austrichmittel 10, 881 (1959).
- [52] MASHIO S.,
Nippon Kogaku Zasshi 81, 434 (1960).
- [53] RIGOUARD A.,
Thèse Marseille (1974).
- [54] PHILLIPS G.O., BUGH P.J.,
J. Chem. Soc. A 370 (1966).

- [55] DESLONGS-CHAMPS P., MOREAU C., FRINEL D., ATLANI P.,
Canadian Journal of Chemicoogy 50, 3402 (1972).
- [56] DRAGANIC Z.D., DRAGANIC I.G.,
J. Phy. Chem. 76, n° 19 (1972).
- [57] SCHWAZ H.A.,
J. Phys. Chem. 66 255 (1962).
- [58] BERGER G., SAINT-LEBE L.,
C.R. Acad. Sc. Paris (272) 1455 (1971).
- [59] MOODY G.S., PHILLIPS G.O.,
J. Chem. Ind. 1248 (1959).
- [60] LOFROTH G.,
Acta Chem. Scand. 21, 1997 (1967).
- [61] ALTMANN K.T., GERBER G.B., OKADA S.,
Radiation Chemistry Acad. Press New-York 31 (1970).
- [62] BAXENDALE J.H., KHAN A.A.,
Int. J. Rad. Phys. Chem. 1, 11 (1969).
- [63] THOMAS J.K.,
Trans. Faraday Soc. 61, 702 (1965).
- [64] MATHESON M.S., MULAC W.A., WEEKS S.L., RABANI J.,
J. Phys. Chem. 70, 2092 (1966).
- [65] GORDON S., HURT E.D.,
Dis. Faraday Soc. 36, 193 (1963).



Imprimé
par le Bureau de Documentation
C.E.N./CADARAC:1E