### GLOSSAIRE

AB : Amine biogène Ac-Et : Acétate d'éthyle C.: citrus C : concentration CLHP : chromatographie liquide haute performance DMSO : Diméthyl sulphoxide DSR : déviation standard relative DUM : Médians dorsaux non appariés FD : Détection par fluorescence I : Intensité de fluorescence I<sub>0</sub> : Signal du solvant unique UICPA: Union Internationale de Chimie Pure et Appliquée LD: Limite de détection LQ: Limite de quantification MAO: Monoamine oxydase MeOH : Méthanol MS/MS : Spectroscopie de masse OA : Octopamine OAR : Récepteur octopamine OO : Ordonné à l'origine pH : Potentiel d'hydrogène PNMT : Phényléthanolamine-N- méthyl- transférase  $r^2$ : Coefficient de corrélation S : La pente de la droite TA : Tyramine TβH : Tyramine-β-hydroxylase UE : Union européenne UV: Ultraviolet V<sub>AJ</sub> : Variance d'ajustement V<sub>Ep</sub> : Variance d'erreur pure V<sub>ReG</sub>: Variance de régression V<sub>Res</sub> : Variance résiduelle

- $\lambda_{ex}$  : Longueur d'onde d'excitation
- $\lambda_{em}$  : Longueur d'onde d'émission
- $\sigma$ : L'ecart type du signal
- $\sigma_{I}$  = écart type du signal  $\overline{I}$  de l'octopamine (n = 6) mesuré pour la même concentration

### SOMMAIRE

DEDICACES	I
REMERCIEMENTS	II
GLOSSAIRE	. III
SOMMAIRE	V
LISTE DES FIGURES	VII
LISTE DES TABLEAUX	VIII
INTRODUCTION	1
I. GENERALITES SUR L'OCTOPAMINE	4
I-1. Présentation de l'octopamine	5
I-2. Synthèse et dégradation de l'octopamine	5
I-2-1. Synthèse chimique	5
I-2-2. Dégradation de l'octopamine	6
I-3. La présence de l'octopamine dans les aliments	8
I-4. Les fonctions de l'octopamine	9
I-4.1. Les fonctions physiologiques de l'octopamine	9
I-4.2 Les fonctions biologiques	. 10
I.5. La toxicité de l'octopamine	. 10
II. PARTIE EXPERIMENTALE	. 12
II.1. Instrumentation	. 13
II.2. Produits et solvants utilisés	. 13
II.3. Les propriétés physicochimiques de l'octopamine	. 13
II.4. Préparation des solutions	. 13
II.5. Méthode de mesure analytique	. 14
II.6. Méthode de calcul des limites de détection, de quantification et de la déviation stand	lard
relative	. 14
III RESULTATS ET DISCUSSION	. 15

III.1. Optimisation des paramètres analytiques	. 16
III.1.1. Spectres d'excitation et d'émission de l'octopamine en milieu organique	. 16
III.1.2. Effet du pH sur les spectres d'excitation et d'émission	. 16
II.1.3 Effet de solvant sur les spectres d'excitation, d'émission et sur l'intensité fluorescence	de . 17
III.2. Droites d'étalonnage de l'octopamine	. 19
III.3. Validation de la méthode de fluorescence	. 22
CONCLUSION	. 24
REFERENCES	. 26

#### LISTE DES FIGURES

Figure 1: schéma de formation de l'octopamine5
Figure 2: Mécanisme de Synthèse de l'octopamine6
Figure 3: Dégradation de l'octopamine7
Figure 4: Spectres d'excitation et d'émission de l'octopamine (0,42 µg.mL <sup>-1</sup> ) dans divers solvants
Figure 5: Effet du pH sur l'intensité de fluorescence de l'octopamine (0,42 µg.mL <sup>-1</sup> ) dans l'eau. 17
Figure 6: Spectres d'excitation et d'émission de l'octopamine (0,42 µg.mL <sup>-1</sup> ) dans l'eau à pH7 et
pH1017
Figure 7: Droites d'étalonnage de l'octopamine dans le MeOH et l'eau (pH7 et pH10) 20

#### LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1: Propriétés physico-chimiques de l'octopamine	. 13
Tableau 2:Effet de solvant sur les propriétés de fluorescence de l'octopamine	. 18
Tableau 3: Paramètres analytiques des droites d'étalonnage.	. 21
Tableau 4: Paramètres d'évaluation des fonctions linéaires de la méthode de fluorescence directe	e
par analyse de variance à un niveau de confiance de 5%	. 21
Tableau 5: Détermination de l'octopamine par les méthodes de la littérature obtenues dans	
diverses matrices alimentaires par CLHP	. 23

# INTRODUCTION

Pour croissantes la sécurisation alimentaire face aux exigences en matière d'approvisionnement alimentaire de nombreuses études se sont concentrées sur la présence d'amines biogènes (AB) dans les denrées alimentaires et leurs effets néfastes sur l'homme. Les AB sont formés principalement par décarboxylation microbienne d'acides aminés, par un processus de fermentation ou en raison d'une contamination microbienne et de mauvaises conditions d'hygiène ou de stockage. Leur contenu dans les aliments dépend de la teneur en protéines [1]. Des quantités élevées d'AB ne sont pas seulement des marqueurs chimiques pour les conditions d'hygiène des aliments et des boissons, mais peuvent également donner lieu à des composés nocifs et cancérigènes [2-4]. Cependant, l'agence américaine des produits alimentaires et médicamenteux et l'Union européenne (UE) n'ont jusqu'à présent établi des limites légales pour l'histamine dans les produits de la pêche. Ces organisations officielles n'ont pas reconnu la toxicité des autres AB. Comme l'histamine, d'autres AB tels que l'octopamine (OA) et la tyramine (TA) pourraient avoir des effets néfastes considérables sur la santé humaine. D'une part, l'OA et la TA peuvent augmenter la toxicité de l'histamine en bloquant les systèmes enzymatiques qui peuvent cataboliser l'histamine [4]. L'octopamine (OA), du nom de sa première découverte dans la salive de poulpe, est une amine biogène de base dans le système nerveux et connue comme un récepteur bêta 3-adrénergique naturel agoniste. La distribution et la teneur en octopamine jouent un rôle important dans divers phénomènes physiologiques et biologiques [5], tels que le développement de la vie [6], la sécrétion, le métabolisme [7], la mémoire et les sens [8]. En 2004, l'octopamine a été interdite dans toute compétition sportive [9], car ses propriétés stimulantes peuvent réduire l'immunité de l'organisme et endommager les organes sensoriels. Ces dernières années, l'octopamine, en tant qu'indicateur visible reflétant la qualité et la sécurité des aliments, a été largement utilisée pour surveiller la qualité des matières premières, des produits préliminaires et finis, ainsi que le processus de fermentation [10].

Beaucoup de méthodes ont été utilisées pour analyser l'octopamine. Parmi ces méthodes, les méthodes chromatographiques sont principalement les plus développées pour la détermination qualitative et la quantification du composé [11-17]. Cependant, ces techniques sont souvent inappropriées lorsque la quantité d'octopamine à déterminer est très faible. De ce fait, des nouvelles méthodes plus sensibles, sélectives et moins coûteuses sont désirables.

Nous emploierons la méthode de fluorescence directe pour analyser l'octopamine, qui est naturellement fluorescente.

Ce mémoire comporte essentiellement trois parties :

Mémoire de Master II en CPAEA-FST UCAD-Coumba Faye





- La première partie est consacrée à l'étude bibliographique de l'octopamine dans laquelle, on rappelle les caractéristiques des amines biogènes ;
- ✓ Dans la deuxième partie, les produits et matériels utilisés y sont présentés ainsi que la méthodologie de travail;
- ✓ La troisième partie est consacrée à la présentation des résultats expérimentaux suivis de discussions.

## I. GENERALITES SUR L'OCTOPAMINE

#### I-1. Présentation de l'octopamine

L'octopamine (OA) est une amine biogène présente dans notre alimentation. Elle est issue de l'hydroxylation enzymatique de la tyramine (Fig. 1).



Figure 1: schéma de formation de l'octopamine.

La TA lui-même est le substrat d'une enzyme appelée tyramine- $\beta$ -hydroxylase (T $\beta$ H). Il convertit TA en OA par l'ajout d'un groupe hydroxyle en position  $\beta$ . En conséquence, cette enzyme est présente dans tous les neurones et cellules qui synthétisent l'OA. Comme une seule enzyme est nécessaire pour produire de l'OA ou de la TA, ils limitent la vitesse. A l'heure actuelle, on ne sait pas si les neurones utilisent à la fois TA et OA comme émetteurs ou si seulement les neurones contenant de la TA dépourvus de tyramine la tyramine- $\beta$ -hydroxylase libèrent TA. Une clarification améliorerait grandement notre compréhension des aspects fondamentaux de la modulation du système nerveux. Récemment, des études immunohistochimiques (méthode de localisation de protéines dans les cellules) utilisant un antisérum anti-TA spécifique ont identifié un ensemble de neurones larvaires qui contiennent de la TA mais pas de l'OA. Ces cellules pourraient être la principale source de libération de TA [18].

#### I-2. Synthèse et dégradation de l'octopamine

#### I-2-1. Synthèse chimique

L'octopamine, une monoamine biogénique, est synthétisée dans la plupart des invertébrés à partir de la tyramine par  $\beta$ -hydroxylation. L'enzyme correspondante de la drosophile, la tyramine- $\beta$ -hydroxylase, a été récemment clonée [19]. Elle montre l'homologie la plus élevée à la dopamine- $\beta$ -hydroxylase des vertébrés, ce qui pourrait refléter les similitudes des substrats. La tyramine est, par contre, généralement produite par décarboxylation de l'acide aminé tyrosine. Cette simple synthèse en deux étapes semble être la

plus abondante. Chez les criquets, une voie de sauvetage est également présente. L'administration de L-DOPA à des ganglions en culture du criquet migrateur *Locusta Migratori* a entraîné l'apparition de *m*-OA, l'isomère biologiquement actif de l'OA. La L-DOPA est décarboxylée par la DOPA-décarboxylase en dopamine, qui est déshydratée en tyramine. Comme pour la biosynthèse conventionnelle, la  $\beta$ -hydroxylation de la tyramine est la voie métabolique normale (Fig. 2) [20].



Figure 2: Mécanisme de Synthèse de l'octopamine.

#### I-2-2. Dégradation de l'octopamine

Contrairement à ce schéma simple, la dégradation enzymatique est plus complexe. L'inactivation de l'arthrose dans les tissus des invertébrés les plus internes est réalisée par les N-acétyl-transférases (Fig. 3) avec l'OA N-acétylée comme produit de dégradation le plus important de l'OA [21-24]. Il est en outre traité par des conjugases pour permettre l'élimination complète des métabolites de l'arthrose. Une autre façon d'inactiver l'OA est sa Nméthylation catalysée par la phényléthanolamine-N-méthyl-transférase (PNMT) [25]. Le produit est la synéphrine, qui n'est pas adaptée pour agir comme un produit de dégradation. Elle a une plus grande affinité pour les Récepteurs OA (OAR) que l'OA elle-même. La monoamine oxydase (MAO), qui est la principale enzyme de dégradation des amines biogènes chez les mammifères, n'a qu'une importance mineure pour l'élimination fonctionnelle de l'OA. Les activités de la MAO chez les insectes sont plus ou moins limitées aux *tubules malphigiens* [25]. L'activité MAO convertit l'amine en aldéhyde qui est davantage oxydé en l'acide carboxylique correspondant [25]. Une autre voie d'inactivation de l'OA est la  $\gamma$ -glutamylation de l'OA. Cette voie obscure a été observée dans les yeux et le cerveau du limule *Limulus polyphemus*. Il a été suggéré que le  $\gamma$ -glutamyl OA fonctionne comme un émetteur intercellulaire dans le système optique *Limulus* [26].



Figure 3: Dégradation de l'octopamine.

#### I-3. La présence de l'octopamine dans les aliments

La plupart des aliments sont riches en protéines. Ces dernières se transforment en acides aminés qui donnent les amines biogènes après décarboxylation ou hydroxylation dans les conditions biologiques favorables. Ainsi, l'octopamine peut se trouver et se développer dans différentes catégories d'aliments :

- Les boissons alcoolisées (vin et bière) : la concentration de l'OA est très faible [27-29] ;
- Les légumes (les épinards, les pommes de terre) contiennent des niveaux considérables de l'octopamine. Comme les fruits, les quantités de monoamine augmentent à mesure que les feuilles mûrissent [30];
- Les sauces de soja : présentent d'une petite quantité d'OA [31] ;
- Les sauces de poisson : l'OA est l'un des ingrédients bioactif de la sauce de poisson [32] ;
- Les fromages contiennent d'une grande quantité d'OA car ils sont fermentés et souvent conservés longtemps après leur fabrication [33] ;
- La viande présente d'une faible quantité d'OA [34] ;
- Les fruits : contiennent des quantités importantes d'octopamine.
  - La source végétale avec la plus forte concentration connue de l'octopamine est le citron (*Citrus limon*). Une analyse de diverses espèces de Citrus a démontré que le jus de citrons Meyer (*C. limon*) contenait la plus forte concentration de *p*-octopamine (16,3 mg.mL<sup>-1</sup>) [35]. Les jus d'autres espèces de la société, y compris l'orange sucrée (*C. Sinensis*), le pamplemousse (*C. Paradisi*), le pamplemousse (*C. Grandis*), la mandarine (*C. Reticulate*) et la clémentine (C. *Clementina*) ne contenaient pas de *p*-octopamine détectable. Il est intéressant de noter que les oranges douces, clémentines et mandarines de Marrs contiennent des quantités élevées (78 à 115 mg mL<sup>-1</sup>) de synéphrine, mais pas d'octopamine détectable [35].

L'orange amère (*C. Aurantium*) est fréquemment mais désigné à tort comme une source commune de l'octopamine. En réalité, la *p*-octopamine est soit absente, soit présente à l'état de traces [36].

#### I-4. Les fonctions de l'octopamine

#### I-4.1. Les fonctions physiologiques de l'octopamine

L'OA est une amine biogène naturel et multifonctionnelle qui joue un rôle clé en tant que neurotransmetteurs, neurohormone et neuromodulateur dans les systèmes invertébrés, avec un rôle physiologique analogue à celui de la noradrénaline chez les vertébrés.

#### - Le rôle neurotransmetteur de l'octopamine

Les neurotransmetteurs sont des messagers chimiques qui transmettent le message entre deux cellules nerveuses. L'analyse conformationnelle et les spectres vibratoires des neurotransmetteurs peuvent donner un aperçu approfondi de leur comportement chez l'homme et l'animal. L'OA est l'une des amines biogènes les plus abondantes dans le système nerveux des invertébrés. Elle est synthétisée à partir de l'acide aminé tyrosine qui est le substrat des catécholamines dopamine, noradrénaline et adrénaline par décarboxylation pour donner de la tyramine qui est ensuite hydroxylée en octopamine [37]. L'OA joue un rôle dans la médiation de divers comportements, y compris le vol, le glaçage, le saut et l'agression, ainsi que le sommeil chez les insectes, les araignées et les crustacés. Chez les insectes, l'octopamine joue un rôle majeur dans l'apprentissage et la mémoire. Par exemple, l'OA peut se substituer au renforcement de l'appétit (récompense) utilisé dans le conditionnement olfactif chez les insectes. Le blocage de la signalisation octopaminergique abolit l'apprentissage de l'appétit, et l'activation optogénétique des neurones octopaminergiques déclenche l'apprentissage de l'appétit chez les larves de drosophile [38].

#### le rôle neurohormonal de l'octopamine

L'OA est une amine biogène multipotente qui agit également comme une neurohormone, en particulier chez les insectes. Dans la plupart, elle est considérée comme une hormone responsable du stress qui est libérée par les organes neurohémaux en période de stress pour permettre à l'animal de faire face à des situations exigeantes en énergie telles qu'un comportement de sursaut et un vol à long terme. Des facteurs de stress tels que la chaleur, le stress mécanique, la famine et une variété de produits chimiques différents entraînent une augmentation des concentrations d'OA chez les criquets, les blattes et l'abeille mellifère [25].

#### - le rôle neuromodulateur

Dans le système nerveux périphérique, l'OA module l'activité et le métabolisme énergétique des muscles de vol, des organes périphériques (tels que le corps gras, l'oviducte et les hémocytes) et presque tous les organes de sens. Des niveaux élevés d'OA, libérés par les neurones octopaminergiques DUM (médians dorsaux non appariés), ont un double effet sur

l'état énergétique de l'insecte. Premièrement, la libération de l'hormone adipocinétique des corps cardiaques est déclenchée par l'OA. Deuxièmement, l'OA a un effet direct sur le corps adipeux, conduisant à une libération d'acides gras dans l'hémolymphe, synergique avec l'effet adipocinétique de l'hormone adipocinétique [39].

#### I-4.2 Les fonctions biologiques

L'OA semble également jouer un rôle dans le système immunitaire des invertébrés, qui ressemble au système immunitaire inné chez l'homme, car sa concentration dans l'hémolymphe augmente lors d'un défi immunitaire [40]. Cela peut sembler contradictoire puisque les médiateurs de la réponse au stress peuvent être immunosuppresseurs [41]. Néanmoins, chez les vertébrés, une épreuve immunitaire conduit souvent à la libération de glucocorticoïdes et de noradrénaline [42].

Plusieurs études démontrent que l'OA est impliquée dans la reproduction de certains insectes tels que la drosophile (*Drosophila melanogaster*) et la locuste (*Locusta migratoria*). Par exemple, des drosophiles avec une mutation nulle « knock-out» pour le gène Tβh montrent une absence de l'enzyme Tβh responsable de la conversion de la tyramine en OA [19,43]. Cette mutation nulle occasionne par conséquent l'arrêt de la biosynthèse de l'OA et ces drosophiles mutantes « dépourvues d'OA » vivent jusqu'à l'âge adulte sans malformation morphologique externe majeure [19]. Par contre, ces femelles présentent un phénotype de stérilité dû à un blocage des ovocytes matures dans les ovaires [19]. Cette absence d'OA engendre une inhibition de l'expulsion des ovocytes potentiellement liée à une incapacité des muscles de l'oviducte à se contracter [43].

#### I.5. La toxicité de l'octopamine

Le rôle physiopathologique des traces amines, y compris l'octopamine, a été préconisé en association avec la dépression, la maladie de Parkinson, la migraine et d'autres troubles neurologiques [44]. Cependant, concernant le rôle et la fonction précise de l'octopamine, un changement métabolique peut se produire dans le métabolisme de la l-tyrosine en association avec divers troubles neurologiques. D'ailleurs, des taux élevés de la synthèse de l'octopamine et de la tyramine peuvent entrainer des migraines [45,46]. Il a été suggéré que les taux plasmatiques de l'octopamine pourraient servir de biomarqueur pour la maladie de Parkinson précoce [47]. En effet, des productions déficitaires de l'octopamine et de la tyramine ont été signalées dans les cas de dépression [48]. En outre, des diminutions significatives de l'excrétion urinaire de l'acide p-hydroxymandélique, le principal métabolite de l'octopamine, se produisent chez les patients déprimés par rapport aux sujets témoins. Par contre, des augmentations des concentrations plasmatiques dans des cas de maladie hépatique chronique et de coma hépatique [49] et d'encéphalopathie hépatique [50]. Les effets neuromodulateurs de l'octopamine ont également été mis en évidence dans des études animales. L'administration intracérébroventriculaire de l'octopamine chez le rat entraîne une diminution de l'activité locomotrice [51]. Il a également été démontré que l'infusion de l'octopamine dans le cerveau du rat entraînait une grave dépression de la fonction neurologique [52]. Des effets endocriniens ont également été rapportés: la tyramine, la β-phényléthylamine et l'octopamine peuvent chacune inhiber la sécrétion de prolactine dans les cellules hypophysaires inférieures cultivées in vitro et in vivo [53]; l'octopamine produit un effet analogue à l'insuline sur la prise de glucose dans les adipocytes, les muscles squelettiques et le myocarde [54,56]. En raison du potentiel risque de toxicité cardiovasculaire de l'octopamine, la Direction des produits de santé naturels (DPSN) a limité sa dose journalière à 30 mg/jour.

## II. PARTIE EXPERIMENTALE

#### **II.1. Instrumentation**

Toutes les mesures spectrales ont été effectuées à température ambiante avec un spectrophotomètre de fluorescence modèle Varian Cary Eclipse, interfacé avec un ordinateur et contrôlé par le logiciel LCwin. Des cuvettes de fluorescence en quartz avec une longueur de trajet de 1 cm (Labo Moderne, France) ont été utilisées pour les mesures, et une micropipette Pipetman allant de 20 à 1000  $\mu$ L (Gilson, France) a été utilisée pour les dilutions.

#### II.2. Produits et solvants utilisés

L'octopamine de qualité analytique (98% m/m) a été acheté chez Cluzeau Info Labo (Sainte-Foy-la-Grande, France). Des solvants de qualité spectroscopique, comprenant le DMSO, le méthanol et l'acétate d'éthyle (Ac-Et), ont été obtenus auprès de Sigma Aldrich (Taufkirchen, Allemagne). Des solutions tampons borate de différentes valeurs de pH (4, 7 et 10) ont été achetées chez Cluzeau Info Labo.

#### II.3. Les propriétés physicochimiques de l'octopamine

Propriétés physic	co-chimiques
Formule brute	C <sub>8</sub> H <sub>11</sub> NO <sub>2</sub>
Masse molaire	189.64g/mol
Solubilité	Dans l'eau
Pureté	98%
Nom IUPAC	4-(2-amino-1-
	hydroxyéthyl
	phénol

Tableau 1: Propriétés physico-chimiques de l'octopamine

#### II.4. Préparation des solutions

Les solutions mères de l'octopamine  $(10^{-3} \text{ mol } \text{L}^{-1})$  ont été préparées dans l'eau distillée (pH=7) après pesage du produit solide sur une balance. Toutes les solutions étaient mises à l'abri de la lumière et conservées dans le réfrigérateur à 6°C afin d'éviter d'éventuelles transformations photochimiques.

#### II.5. Méthode de mesure analytique

Une quantité de la solution d'octopamine diluée a été mis dans la cuvette en quartz et les spectres de fluorescence ont été enregistrés. Toutes les mesures analytiques ont été effectuées dans les mêmes conditions de sensibilité (largeur des fentes = 10 nm/10 nm, excitation/émission et vitesse de balayage (600 nm/min)). L'intensité de fluorescence a été suivie aux longueurs d'onde maximales d'excitation ( $\lambda_{ex}$ ) et d'émission ( $\lambda_{em}$ ) fixes de l'octopamine en mesurant le signal de hauteur du spectre. Toutes les mesures de fluorescence ont été corrigées pour le solvant (fond) avec le signal de l'espace approprié. Les droites d'étalonnage, I = f(C), ont été établies à la longueur d'onde d'émission maximale de l'octopamine. La procédure de mesure répétitive a été employée c'est-à-dire, qu'après chaque mesure du signal de fluorescence, nous versons le contenu de la cuve que nous lavons puis rinçons bien, avant de passer à la mesure de la concentration suivante.

## II.6. Méthode de calcul des limites de détection, de quantification et de la déviation standard relative

Les formules suivantes ont permis de calculer la limite de détection (LD), de quantification (LQ) et de la déviation standard relative (DSR).

Après représentation de la fonction  $I_F = SC$ , on obtient les formules ci-après :

$$LD = (\frac{3\sigma}{S})$$
 (1)  $LQ = (\frac{10\sigma}{S})$  (2)  $DSR = (\frac{\sigma_I}{I}) x100$  (3)

I = l'intensité de fluorescence en fonction de la concentration d'octopamine (droite d'étalonnage); S = la pente de la droite d'étalonnage; C = la concentration de l'octopamine;  $\sigma = 1$ 'écart type du signal I<sub>0</sub> (signal du solvant unique);  $\sigma_I =$  écart type du signal  $\overline{I}$  de l'octopamine (n = 6) mesuré pour la même concentration.

# III RESULTATS ET DISCUSSION

#### III.1. Optimisation des paramètres analytiques

L'octopamine étant naturellement fluorescente dans les différents milieux étudiés. Afin de choisir un milieu optimisé pour la détermination de la fluorescence de l'amine biogène, nous avons décidé d'étudier l'influence du solvant organique et de l'effet du pH en milieu aqueux et nous avons développé une procédure analytique quantitative pour valider la détermination spectrofluorimétrique de l'octopamine.

#### III.1.1. Spectres d'excitation et d'émission de l'octopamine en milieu organique

Dans un premier temps, les spectres d'excitation et d'émission de l'octopamine ont été mesurés dans l'acétate d'éthyle (Ac-Et), le méthanol (MeOH) et le DMSO (Fig. 4).



Figure 4: Spectres d'excitation et d'émission de l'octopamine (0,42 µg. mL<sup>-1</sup>) dans divers solvants.

#### III.1.2. Effet du pH sur les spectres d'excitation et d'émission

Le pH est un facteur qui affecte fortement le signal de fluorescence des composés organiques en milieu aqueux [56, 57]. L'influence du pH sur l'intensité de fluorescence de l'octopamine a été étudiée dans l'eau (Fig. 5).



**Figure 5**: Effet du pH sur l'intensité de fluorescence de l'octopamine (0,42 µg.mL<sup>-1</sup>) dans l'eau.

Nous avons constaté une extinction de fluorescence en milieu acide  $pH \le 4$ . A pH > 4, le signal augmente progressivement et atteint une valeur maximale à pH 7. Au-delà des valeurs de pH > 7, il y a une faible diminution du signal qui reste constant jusqu'à pH = 13. Sur la figure 6, nous avons comparé les spectres d'excitation et d'émission de l'octopamine à pH7 et pH10.



**Figure 6**: Spectres d'excitation et d'émission de l'octopamine  $(0,42 \ \mu g.mL^{-1})$  dans l'eau à pH7 et pH10.

### III.1.3 Effet de solvant sur les spectres d'excitation, d'émission et sur l'intensité de fluorescence

L'effet de solvant sur les spectres d'excitation et d'émission est d'une importance particulière. Le changement d'un solvant entraine la variation de la polarité du milieu environnant. Les spectres d'excitation et d'émission de l'octopamine ont été étudiés dans trois solvants organiques de polarités différentes et dans l'eau à pH 7 et 10. Les caractéristiques spectrales de fluorescence de l'octopamine sont présentées dans le tableau 2. L'intensité de fluorescence a été normalisée par rapport au DMSO qui présente le plus faible signal de fluorescence.

Molécule	Solvant	$\lambda_{ex /}\lambda_{em}(nm)^{a}$	$I_f{}^b$
	МеОН	234; 277/302	3,03
Octopamine	Eau (pH7)	225; 273/300	2,21
	Eau (pH10)	222; 274/300	1,98
	Ac-Et	277/300	1,27
	DMSO	280/306	1,00

**Tableau 2**: Effet de solvant sur les propriétés de fluorescence de l'octopamine.

<sup>a</sup> Longueur d'onde d'excitation et d'émission maximales; <sup>b</sup> Intensité de fluorescence normalisée par rapport au DMSO (I<sub>f</sub> = 1,00).

Dans le méthanol et l'eau (pH7 et pH10), les spectres d'excitation présentent deux bandes, la première dans la zone 222-234 nm et la deuxième est située dans la zone 273-277 nm (Fig. 4 et 6). Cependant, seule la deuxième bande est observée dans Ac-Et et le DMSO (Fig. 4 et 6). Cette différence de comportement entre les deux solvants (Ac-Et et le DMSO) et les solvants protiques (MeOH et eau) peut être due à la formation de liaisons d'hydrogènes entre le soluté et les solvants protiques [58]. Dans l'eau à pH  $\leq$  4, l'octopamine ne présente pas de fluorescence.

Dans tous les solvants étudiés, les spectres d'émission montrent une seule bande dans la gamme 300-306 (Fig. 4 et 6). La bande d'émission présente des variations avec l'augmentation de la polarité du solvant, le déplacement bathochromique étant de 6 nm dans le DMSO et de 2 nm dans le MeOH, ce déplacement bathochromique observé avec une polarité croissante du solvant indique que les transitions impliquées sont de nature  $\pi$ - $\pi$ \*. En outre, ce déplacement bathochromique est causé par une différence considérable entre les distributions de charge de l'état fondamental et excité résultant en une forte interaction avec le DMSO à l'état excité [58, 59]. De plus, le déplacement bathochromique dans le DMSO s'explique par le fait qu'il est un solvant dipolaire aprotique capable de stabiliser l'état excité grâce à l'interaction entre les orbitales de soufre 3d et les groupes acides riches en électrons [59]. L'intensité de fluorescence est beaucoup plus élevée dans les solvants protiques (MeOH et eau) et plus faible dans le DMSO. Cela peut être expliqué par une faible interaction entre le soluté et les solvants polaires protiques, par contre la faible valeur du signal de fluorescence observée dans le DMSO est due à une forte interaction solvant-soluté [59]. Du point de vue analytique, afin d'optimiser la sensibilité de la méthode de fluorescence directe pour la détermination de l'octopamine, nous avons décidé de dresser les droites d'étalonnage dans le MeOH et l'eau (pH7 et pH10) qui présentent des valeurs d'intensités plus élevées.

#### III.2. Droites d'étalonnage de l'octopamine

Nous avons dressé les courbes d'étalonnage de l'octopamine dans la plage linéaire comprise entre 0,006-0,7 dans le MeOH, 0,009-1 dans l'eau pH7 et 0,015-1,4 dans l'eau pH10 (Fig. 7).





Figure 7: Droites d'étalonnage de l'octopamine dans le MeOH et l'eau (pH7 et pH10).

Des graphiques linéaires de l'intensité de fluorescence en fonction de la concentration de l'octopamine ( $I_F = f(C)$ ) ont été obtenus et les paramètres analytiques ont été déterminés et présentés dans le tableau 3. Une pente de 1413,09 UA mL.µg<sup>-1</sup> a été obtenue dans MeOH, contre une pente de 915,27 UA mL.µg<sup>-1</sup> dans l'eau à pH7 et 680 UA mL.µg<sup>-1</sup> à pH10, ce qui montre que la méthode de fluorescence directe est plus sensible dans le MeOH que dans l'eau.

Solvant	MeOH	Eau pH7	Eau pH10
Domaine de linéarité (µg.mL <sup>-1</sup> )	0,006-0,7	0,009-1	0,015-1,4
Pente (UA mL.µg <sup>-1</sup> )	1413,09	915,27	680
Ordonné à l'origine (OO)	2,17	16.95	22,11
Déviation standard d'OO	4,71	9,98	8,18
Valeur de $p$ ( $t$ test)	0,29	0,12	0,23
Limite de détection (LD, ng.mL <sup>-1</sup> )	1,3	2	3,8
Limite de quantification (LQ, ng.mL <sup>-1</sup> )	4,2	6,5	12,6
Coefficient de corrélation (r <sup>2</sup> )	0,999	0,998	0,998
DSR(%)	1,06	1,72	1,16

Tableau 3: Paramètres analytiques des droites d'étalonnage.

Le test *t* a été utilisé pour montrer que les intersections des courbes d'étalonnage n'étaient pas significativement différentes de zéro (valeur p > 5%) (Tableau 3). Cependant, la linéarité des courbes d'étalonnage a été évaluée par une analyse de variance. Dans tous les solvants présentés, la variance de régression (V<sub>REG</sub>) est supérieure à la variance résiduelle (V<sub>RES</sub>) (valeur  $p \le 5\%$ ), ce qui indique une régression significative (tableau 4). De plus, aucune différence significative n'a été trouvée lorsque la variance d'ajustement (V<sub>AJ</sub>) et la variance d'erreur pure (V<sub>EP</sub>) ont été comparées (valeur  $p \ge 5\%$ ), ce qui indique une bonne qualité du modèle linéaire.

directe par	analyse de	variance à	un niveau	de confiance de	5%
Solvant	Variance	MeOH	Eau pH7	Eau pH10	
ANOVA 1	V <sub>REG</sub>	$2,06 \times 10^5$	1,94x10 <sup>5</sup>	$1,47 \times 10^5$	
	V <sub>RES</sub>	$2,18 \times 10^2$	$1,82 \times 10^2$	$1,37 \times 10^2$	
	Valeur de <i>p</i>	0,00	0,00	0,00	
ANOVA 2	$V_{AJ}$	$4,00 \times 10^2$	$2,44 \times 10^2$	$2,20x10^2$	
	$V_{EP}$	$2,34x10^2$	$1,65 \times 10^2$	$1,04  ext{ x} 10^2$	
	Valeur de <i>p</i>	0,22	0,51	0,17	

**Tableau 4:** Paramètres d'évaluation des fonctions linéaires de la méthode de fluorescence directe par analyse de variance à un niveau de confiance de 5%.

Page 21

V<sub>RE</sub>

 $_G$ : Variance de régression ;  $V_{RES}$  : Variance résiduelle  $V_{AJ}$  : Variance d'ajustement ;  $V_{EP}$  : Variance d'erreur pure.

Les valeurs des cœfficients de corrélation (r<sup>2</sup>) sont très proches de l'unité, ce qui confirme une bonne linéarité des courbes analytiques. La reproductibilité des mesures, évaluée avec des solutions d'octopamine fraîchement préparées, est satisfaisante, comme l'indique les faibles valeurs de la déviation standard relative (DSR) comprise entre 1,06 et 1,72% (tableau 3). Les Limites de détections (LDs) varient significativement avec le solvant, allant de 1,3 à 3,8 ng.mL<sup>-1</sup> et les limites de quantification (LQs) sont comprises entre 4,2 et 12,6 ng.mL<sup>-1</sup> (tableau 3). Ces faibles valeurs de LDs obtenues, démontre la sensibilité de la méthode de fluorescence directe.

#### III.3. Validation de la méthode de fluorescence

Nos résultats obtenus par la méthode de fluorescence directe présentent plusieurs avantages analytiques en termes de rapidité, de sensibilité, de sélectivité, de reproductibilité et de coût, par rapport aux autres méthodes décrites dans la littérature (tableau 5). Il convient de noter que les valeurs LDs obtenues par notre méthode, sont bien inférieures ou proche de celles trouvées par plusieurs auteurs (tableau 5). Les méthodes d'analyse et de quantification de l'octopamine trouvées dans la littérature sont, pour la plupart, basées sur les techniques chromatographiques (CLHP). La CLHP, couplée à divers systèmes de détection, a largement été utilisée pour la détermination de l'octopamine dans différentes matrices alimentaires. Elle est souvent couplée à des techniques de détection telles que la fluorescence, la spectrophotométrie, la spectrométrie de masse etc (tableau 5).

Méthode	Matrice	LD (ng.mL <sup>-1</sup> )	$LQ (ng.mL^{-1})$	Réf.
CLHP	Orange amère	690	2090	[11]
CLHP-MS/MS	Urine	1,7	5,8	[12]
CLHP/UV	Fruits	100	900	[13]
CLHP/UV	Orange amère	1,2	3,4	[14]
CLHP/FD	Orange amère	3,5	10,5	[14]
CLHP	Citron	5	9,8	[15]
CLHP	Fruits	0,92-4,6	3,07-14,6	[16]

**Tableau 5:** Détermination de l'octopamine par les méthodes de la littérature obtenues dans diverses matrices alimentaires par CLHP.

On peut également noter que les méthodes chromatographiques nécessitent des appareils coûteux et beaucoup de solvants organiques. Ces différentes observations montrent que la méthode de fluorescence directe est simple, sensible, sélective, reproductible et peu coûteuse par rapport à certaines méthodes trouvées dans la littérature (tableau 5). L'intérêt principal de notre méthode est qu'elle serait adaptée à l'analyse de l'octopamine dans les fruits.

## CONCLUSION

L'octopamine dans sa généralité est une amine biogène présente dans les aliments et de façon fréquente dans les invertébrés. Cette amine biogène joue des rôles très importantes dans l'organisme à de faibles concentrations. Cependant à de fortes concentrations, les effets pathologiques apparaissent sous forme de migraine, la dépression, la maladie de parkinson etc.

Ainsi ces effets toxicologiques, nous ont poussés à mettre en exergue dans ce travail, une méthode simple, rapide et sensible basée sur la fluorescence directe pour l'analyse de l'octopamine dans les aliments. Les résultats obtenus montrent que la méthode est très prometteuse.

En effet les caractéristiques spectrales de fluorescence de l'octopamine enregistrées dans les différents milieux tels que l'eau, le méthanol, l'acétate d'éthyle et le DMSO sont aisément déterminées. L'optimisation des conditions analytiques a montré qu'il fallait travailler avec un pH égal à 7 et 10.

Nous avons évalué ainsi les performances analytiques à partir de l'établissement des droites d'étalonnages dans l'eau à (pH 7 et 10) et dans le méthanol. La bonne qualité du modèle linéaire des courbes d'étalonnage (précision) est validée par une calcule de variance. Les faibles limites de détections obtenues montrent que la méthode de fluorescence directe est très sensible et la déviation standard relative est inférieur à 5% atteste la reproductibilité de la méthode d'analyse.

Ainsi, l'application de notre méthode a considérablement augmenté les performances analytiques et la rapidité comparée à celle trouvée dans la littérature pour l'analyse de l'octopamine.

Toutefois, pour la validation de notre méthode d'analyse de l'octopamine, nous nous proposons de l'appliquer à certains échantillons tels que les fruits, les légumes.

Rapport-gratuit.com

#### REFERENCES

[1] F. Wantke, F. Hemmer, T. Haglmuller, M. Gotz, R. Jarisch, Histamine in wine. *Int. Arch. Allergy Immun.* 110 (1996) 397.

[2] T. Hernández-Jover, M. Izquierdo-Pulido, MT. Veciana-Nogués, A. Mariné-Font, MC.
 Vidal-Carou, Biogenic Amine and Polyamine Contents in Meat and Meat Products. *J. Agric. Food Chem.* 45 (1997) 2098-2102.

[3] IA. Bulushi, S. Poole, HC. Deeth, GA. Dykes, Biogenic Amines in Fish: Roles in Intoxication, Spoilage, and Nitrosamine Formation-A Review. *Crit. Rev. Food Sci.* 49 (2009) 369-377.

[4] NT. Funes, JB. Fuste, MLL. Moratalla, MTV. Nogués, MCV. Carou, Biologically active amines in fermented and non-fermented commercial soybean products from the Spanish market. *Food Chem.* 173 (2015) 1119-1124.

[5] KY. Cheng, MA. Frye, Neuromodulation of insect motion vision. J. Compar. Physiol. A 206 (2020) 125-137.

[6] M. Selcho, D. Pauls, Linking physiological processes and feeding behaviors by octopamine. *Curr. Opin. Insect Sci.* 36 (2019) 125-130.

[7] M. Ameri, DJ. Kemp, KL. Barry, ME. Herberstein, Predator chemical cues decrease attack time and increase metabolic rate in an orb-web spider. *J. Exp. Biol.* 222 (2019) 1-8.

[8] T. Stolz, M. Diesner, S. Neupert, ME. Hess, E. Delgado-Betancourt, HJ. Pflueger, J. Schmidt, Descending octopaminergic neurons modulate sensory-evoked activity of thoracic motor neurons in stick insects. *J. Neurophysiol.* 122 (2019) 2388-2413.

[9] M. Thevis, A. Koch, G. Sigmund, A. Thomas, W. Schanzer, Analysis of octopamine in human doping control samples. *Biomed. Chromatogr.* 26 (2012) 610-615.

[10] MC. Roman, JM. Betz, J. Hildreth, Determination of synephrine in bitter orange raw materials, extracts, and dietary supplements by liquid chromatography with ultraviolet detection: single-laboratory validation. *J. AOAC Int.* 90 (2007) 68-81.

[11] C. Viana, GM. Zemolin, FO. Lima, LM. De Carvalho, CBG. Bottoli, RP. Limberger, High-performance liquid chromatographic analysis of biogenic amines in pharmaceutical products containing Citrus aurantium. *Food Addit. Contam. A* 30 (2013) 634-642.

[12] F. Gosetti, E. Mazzucco, MC. Gennaro, E. Marengo, Simultaneous determination of sixteen underivatized biogenic amines in human urine by HPLC-MS/MS. *Anal. Bioanal. Chem.* 405 (2-3) (2012) 907-916.

[13] F. Pellati, S. Benvenuti, M. Melegari, F. Firenzuoli, Determination of adrenergic agonists from extracts and herbal products of Citrus aurantium L. var. amara by LC. *J. Pharm. Biomed. Anal.* 29 (2002) 1113-1119.

[14] K. Putzbach, CA. Rimmer, KE. Sharpless, LC. Sander, Determination of Bitter Orange alkaloids in dietary supplements standard reference materials by liquid chromatography with ultraviolet absorbance and fluorescence detection. *J. Chromatogr. A* 1156 (1-2) (2007) 304-311.

[15] RM. Uckoo, GK. Jayaprakasha, SD. Nelson, BS. Patil, Rapid simultaneous determination of amines and organic acids in citrus using high-performance liquid chromatography. *Talanta* 83 (3) (2011) 948-954.

[16] F. Pellati, S. Benvenuti, Fast high-performance liquid chromatography analysis of phenethylamine alkaloids in Citrus natural products on a pentafluorophenylpropyl stationary phase. *J. Chromatogr. A* 1165 (1-2) (2007) 58-66.

[17] AHW. Koh, RC. Williams, AEAHW. Lohning, HPLC-UV-QDa analysis of Citrus aurantium-labelled pre-workout supplements suggest only a minority contain the plant extract. *J. Pharm. Biomed. Anal.* 193 (2021) 113-746.

[18] Y. Nagaya, M. Kutsukake, SI. Chigusa, A. Komatsu, A trace amine, tyramine, functions as a neuromodulator in Drosophila melanogaster. *Neurosci. Lett.* 329 (2002) 324–28

[19] M. Monastirioti, JCE Linn, and K. White, Characterization of Drosophila b-hydroxylase gene and isolation of mutant flies lacking octopamine. *J. Neurosci.* 16 (1996) 3900-3911.

[20] RJ. Walker, and GA. Kerkut, The first family (adrenaline, noradrenaline, dopamine, octopamine, tyramine, phenylethanolamine and phenylethylamine). *Comp. Biochem. Physiol.* 61C (1978) 261-266.

[21] LRC. Kempton, RE. Isaac, JB. Pillmoor, RJ. Willis, Octopamine N-acetyltransferase activity from the cattle tick, Boophilus microplus. *Insect Biochem. Mol. Biol.* 22 (1992) 777-783.

[22] S. Hayashi, LL. Murdock, E. Florey, Octopamine metabolism in invertebrates (Locusta, Astacus, Helix): evidence for N-acetylation in arthropod tissues. *Comp. Biochem. Physiol.* 58C (1977) 183-191.

[23] RE. Isaac, R. Muimo, AN. MacGregor, N-Acetylation of serotonin, octopamine and dopamine by adult Brugia pahangi. *Mol. Biochem. Parasitol.* 43 (1990) 193-198.

[24] JM. Wierenga, RM. Hollingworth, Octopamine uptake and metabolism in the insect nervous system. *J. Neurochem.* 54 (1990) 479-489.

[25] T. Roeder. Octopamine in invertebrates. Prog. Neurobiol. 59 (1999) 533 -561.

[26] BA. Battelle, SC. Edwards, I. Kass, HM. Maresch, SK. Pierce, and AC. Wishart, Identification and function of octopamine and tyramine conjugates in the Limulus visual system. *J. Neurochem.* 51 (1988) 1240-1251.

[27] KJ. Huang, CY. Wei, WL Liu, WZ. Xie, JF. Zhang, W. Wang, Ultrasound-assisted dispersive liquid–liquid microextraction combined with high-performance liquid chromatography-fluorescence detection for sensitive determination of biogenic amines in rice wine samples. *J. Chromatogr. A* 1216 (38) (2009) 6636-6641.

[28] L. Hlabangana, S. Hernández-Cassou, J. Saurina, Determination of biogenic amines in wines by ion-pair liquid chromatography and post-column derivatization with 1, 2-naphthoquinone-4-sulphonate. *J. Chromatogr. A* 1130 (1) (2006) 130-136.

[29] KJ. Huang, CX. Jin, SL. Song, CY. Wei, YM. Liu, J. Li, Development of an ionic liquidbased ultrasonic-assisted liquid–liquid microextraction method for sensitive determination of biogenic amines: Application to the analysis of octopamine, tyramine and phenethylamine in beer samples. *J. Chromatogr. B* 879 (2011) 579-584.

[30] T. Lavizzari, MTV. Nogués, SB. Cid, AM. Font, MC. Carou, Improved method for the determination of biogenic amines and polyamines in vegetable products by ion-pair high-performance liquid chromatography. *J. Chromatogr. A* 129 (1) (2006) 67-72.

[31] J. Kirschbaum, K. Rebscher, H. Brückner, Liquid chromatographic determination of biogenic amines in fermented foods after derivatization with 3, 5-dinitrobenzoyl chloride.*J. Chromatogr. A* 881 (1-2) (2000) 517-530.

[32] YH. Qu, Studies on the Octopamine Extraction from Fish Sauce. Adv. Mat .Res. 803 (2013) 35-38

[33] HK. Mayer, G. Fiechter, E. Fischer, A new ultra-pressure liquid chromatography method for the determination of biogenic amines in cheese. *J. Chromatogr. A* 1217(19) (2010) 3251-3257.

[34] TH. Jover, MI. Pulido, MTV. Nogués, MCV. Carou, Ion-Pair High-Performance Liquid Chromatographic Determination of Biogenic Amines in Meat and Meat Products. *J. Agric. Food Chem.* 44 (9) (1996) 2710-2715.

[35] RM. Uckoo, GK. Jayaprakasha, SD. Nelson, BS. Patil, Rapid simultaneous determination of amines and organic acids in citrus using high-performance liquid chromatography. *Talanta* 83 (3) (2011) 948-954.

[36] F. Pellati, S. Benvenuti. Fast high-performance liquid chromatography analysis of phenethylamine alkaloids in Citrus natural products on a pentafluorophenylpropyl stationary phase. *J. Chromatogr. A* 1165 (2007) 58-66.

[37] HJ. Pflüger, PA. Stevenson, Arthropod. Struct. Dev. 34 (2005) 379-396.

[38] H. Aonuma, M. Kaneda, D. Hatakeyama, T. Watanabe, K. Lukowiak, E. Ito. *Neurobiol. Learn. Me.* 141 (2017) 189-198.

[39] H. Verlinden, R. Vleugels, E. Marchal, L. Badisco, HJ. Pflu<sup>¨</sup>ger, W. Blenau, JV. Broeck *J. Insect. Physiol.* 56 (2010) 854-867.

[40] SA. Adamo, Why should an immune response activate the stress response? Insights from the insects (the cricket Gryllus texensis). Brain *Behav. Immun.* 24 (2010) 194-200.

[41] JI. Webster, L. Tonelli, EM. Sternberg, Neuroendocrine regulation of immunity. *Annu. Rev. Immunol.* 20 (2002) 125-163.

[42] EM. Sternberg, Neural regulation of innate immunity: a coordinated nonspecific host response to pathogens. *Nat. Rev. Immunol.* 6 (2006) 318-328.

[43] M. Monastirioti, Distinct octopamine cell population residing in the CNS abdominal ganglion controls ovulation in *Drosophila melanogaster*. *Dev. Biol.* 264 (2003) 38-49.

[44] R. Zucchi, G. Chiellini, TS. Scanlan, DK. Grandy, Traceamine-associated receptors and their ligands. *Br. J. Pharmacol.* 149 (2006) 967-978

[45] G. D'Andrea, A. D'Arrigo, MD. Carbonare, A. Leon, Pathogenesis of migraine: role of neuromodulators, Headache 52 (2012a) 1155-1163.

[46] G. D'Andrea, D. D'Amico, G. Bussone, A. Bolner, M. Aguggia, M. G. Saracco, F.
Perini, The role of tyrosine metabolism in the pathogenesis of chronic migraine. *Cephalalgia* 33 (2013) 932-937

[47] G. D'Andrea, G. Nordera, G. Pizzolato, A.Bolner, D. Colavito, A. Leon. Trace amin metabolism in Parkinson's disease: low circulating levels of octopa-mine in early disease stages. *Neuro. Sci. Lett.* 469 (2012b) 348-351.

[48] M. Sandler, CRJ. Ruthven, BL. Goodwin, GP, Reynolds, VAR. Rao, A. Coppen. Deficit production of tyramine and octopamine in cases of depression. *Nat.* 278 (1979) 357-358.

[49] H. Hortnagl, H. Lochs, G. Kleinberger, JM. Hackl, AF. Hammerle, H. Binder, F, Wewalka. Plasma catechol-amines in hepatic coma and liver cirrhosis: role of octopamine. *Klin .Wochenschr.* 59 (1981) 1159-1164.

[50] DD. Mousseau, RF. Butterworth Trace amines in hepatic encephalopathy. *Prog. Brain. Res.* 106 (1995) 277-284.

[51] J. Delacour, C. Guenaire, Octopamine and locomotor activity of rats. *Psycho. Pharmacol.* 80 (1983) 50-52.

[52] WT. Chance, AP. Bernardini, JH. James, LL. Edward, K. Minnema JE. Ficher. Behavioral depression after intraventricular infusion of octopamine in rats. *Am. J. Surg.* 150 (1985) 577-584.

[53] D. Becu-Villalobos, SM. Thyssen, EB. Rey, V. Lux-Lantos, C. Libertun, Octopamine and phenylethylamine inhibit prolactin secretion both in vivo and in vitro. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 199 (1992) 230-235.

[54] V. Visentin, N. Morin, E. Fontana, D. Prevot, J. Boucher, I. Castan Dual action of octopamine on glucose transport into adipocytes: inhibition via beta3-adrenoceptor activation and stimulation via oxidation by amine oxidase. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 299 (2001) 96-104.

[55] N. Morin, V. Visentin, D. Calise, L. Marti, A. Zorzano, X. Testar Tyramine stimulates glucose uptake in insulin-sensitive tissues in vitro and in vivo via its oxidation by amine oxidase. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 303 (2002) 1238-1247.

[56] DD. Thiaré, A. Khonté, D. Sarr, C. Diop, MD. Gaye-Seye, A. Coly, F. Delattre, A. Tine, JJ. Aaron, Solvolysis kinetic study and direct spectrofluorimetric analysis of the fungicide benomyl in natural waters. *Maced. J. Chem. Chem. Engin.* 33 (2014) 237-248.

[57] A. Coly, JJ. Aaron, Simultaneous determination of sulfonylurea herbicides synthetic binary mixtures by a partial least square method combined with micellar-enhanced photochemically-induced fluorescence: application to tap water analysis. *Maced. J. Chem. Chem. Engin.* 28 (2009) 33-40.

[58] DD. Thiaré, A. Khonté, A. Diop, L. Cissé, A. Coly, A. Tine, F. Delattre, Determination of ground and excited state dipole moments of amino-benzimidazole by solvatochromic shift methods and theoretical calculations. *J. Mol. Liq.* 211 (2015) 640-646.

[59] V. Madhura, MV. Kulkarni, S. Badami, J. Yenagi, J. Tonannavar, Effect of nitro groups on the photo physical properties of benzimidazolone: A solvatochromic study. *Spectrochim. Acta.* A 84 (2011) 137-143.

Titre : Développement d'une méthode de fluorescence directe pour l'analyse de l'octopamine dans les aliments

#### Résumé:

Ce travail a été mené dans le but de contribuer à la détermination des amines biogènes dans les matrices alimentaires (fruits et légumes). Nous avons entrepris une étude sur l'octopamine par la fluorescence directe. L'influence des facteurs pouvant affecter le signal de fluorescence a été étudiée. Les coefficients de corrélation obtenus à partir des droites d'étalonnage sont proches de l'unité. Les limites de détection (LD), et les limites de quantification (LQ) sont très basses, ce qui montre la sensibilité de la méthode. La déviation standard relative (DSR) inférieur à 5% atteste la reproductibilité de la méthode développée.

Mot clés : Fluorescence ; Amine biogène ; Octopamine, Fruits, Légumes.