

Rapport d'analyses

Test KRL™ : Etude du potentiel antioxydant global des produits confiés

Numéro de dossier: C2311001/RD

Bénéficiaire: QWELL

Principe du test KRL™

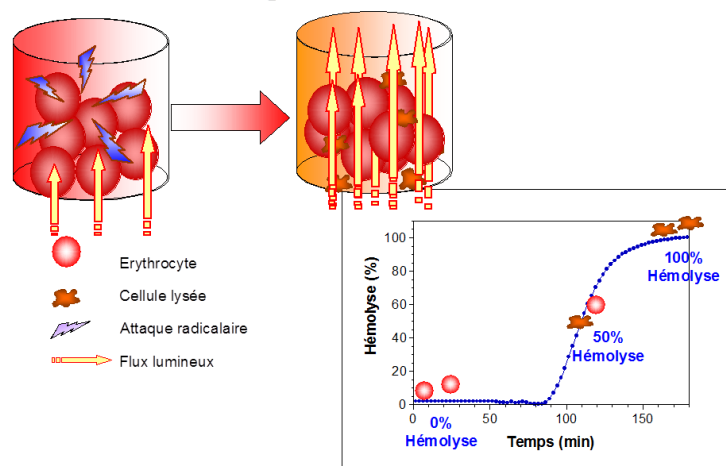
Notre test KRL permet l'évaluation dynamique de la résistance globale du sang soumis à une attaque radicalaire. Les défenses antioxydantes intra- et extra-cellulaires contribuent au maintien de l'intégrité membranaire et des fonctions cellulaires jusqu'à la lyse des cellules sanguines. Ce test biologique permet donc une mesure dynamique du potentiel global de défense antioxydante d'un individu ou d'un animal.

A l'aide de ce test en utilisant un sang témoin, nous pouvons également déterminer in vitro, dans des conditions biologiques, la capacité "antioxydante" ou l'action "prooxydante" de différents composés. Ainsi, en ajoutant au milieu un composé à action antioxydante nous augmentons le potentiel global de défense du sang témoin contre l'agression radicalaire. Au contraire en ajoutant un composé à action prooxydante nous diminuons le potentiel de défense du sang témoin. L'hémolyse du sang témoin induite par l'attaque radicalaire en présence ou non du produit est exprimée par le temps au bout duquel 50% des cellules sanguines sont lysées ($T_{1/2}$ en minutes). L'efficacité antioxydante des produits est alors exprimée en pourcentage de la résistance globale du sang témoin à l'oxydation (% $T_{1/2}$ du sang témoin). Les résultats sont standardisés en équivalents Trolox® (analogue hydrosoluble de la vitamine E) et en équivalents Acide gallique (acide phénolique).

Performances :

Limite de détection : 2.5%

Limite de quantification : 5% (variation mesurable et significative du temps de demi-hémolyse).



Test KRL : hémolyse induite par une attaque radicalaire
Détermination du temps au bout duquel 50% des hématies sont lysées
(temps de demi-hémolyse marqueur du potentiel global de défenses antioxydantes).

✉ Kirial International - 3 rue des Mardors- 21560 COUTERNON

☎ +33 (0)3 80 32 01 10 (19) - Email : michelprost.spiral@wanadoo.fr

RCS Dijon : 2000 B 891 – SIRET : 429 923 618 00012

Echantillons

La société QWELL a confié à la société Kirial International (Laboratoires Spiral) l'étude du pouvoir antioxydant de 6 boissons au collagène identifiées comme suit :

- | | | | |
|-------------|--------------------------|---------------|--------------|
| • Qwell N°1 | Qwell saveur pêche | Lot 217621:03 | Exp 22/12/23 |
| • Qwell N°2 | Qwell saveur pêche | Lot 29/05/23 | Exp 29/11/24 |
| • Qwell N°3 | Qwell saveur pastèque | Lot 217314:46 | Exp 22/12/23 |
| • Qwell N°4 | Qwell saveur pastèque | Lot 30/05/23 | Exp 30/11/24 |
| • Qwell N°5 | Qwell saveur pomme verte | Lot 30/05/23 | Exp 30/11/24 |
| • Qwell N°6 | Qwell saveur citron vert | Lot 29/05/23 | Exp 29/11/24 |

Méthode

Pouvoir antioxydant global des produits à différentes concentrations :

Nous avons travaillé dans une gamme de concentrations de 0 à 100 g par litre de milieu réactionnel sur les produits confiés.

Standardisation :

Gamme de 0 à 500 $\mu\text{mol/L}$ de Trolox[®] (analogue hydrosoluble de la vitamine E, PM 250.29 g/mol) nous permettant de standardiser la capacité antioxydante globale des produits (cf annexe 1).

Gamme de 0 à 200 $\mu\text{mol/L}$ d'Acide Gallique (acide phénolique, PM 170.12 g/mol) nous permettant également de standardiser la capacité antioxydante globale des produits (cf annexe 1).

Validation :

Nous avons étudié l'effet direct des produits sur le sang témoin en l'absence d'attaque radicalaire et nous avons vérifié que le blanc utilisé ne présentait aucune interférence.

Résultats d'analyses

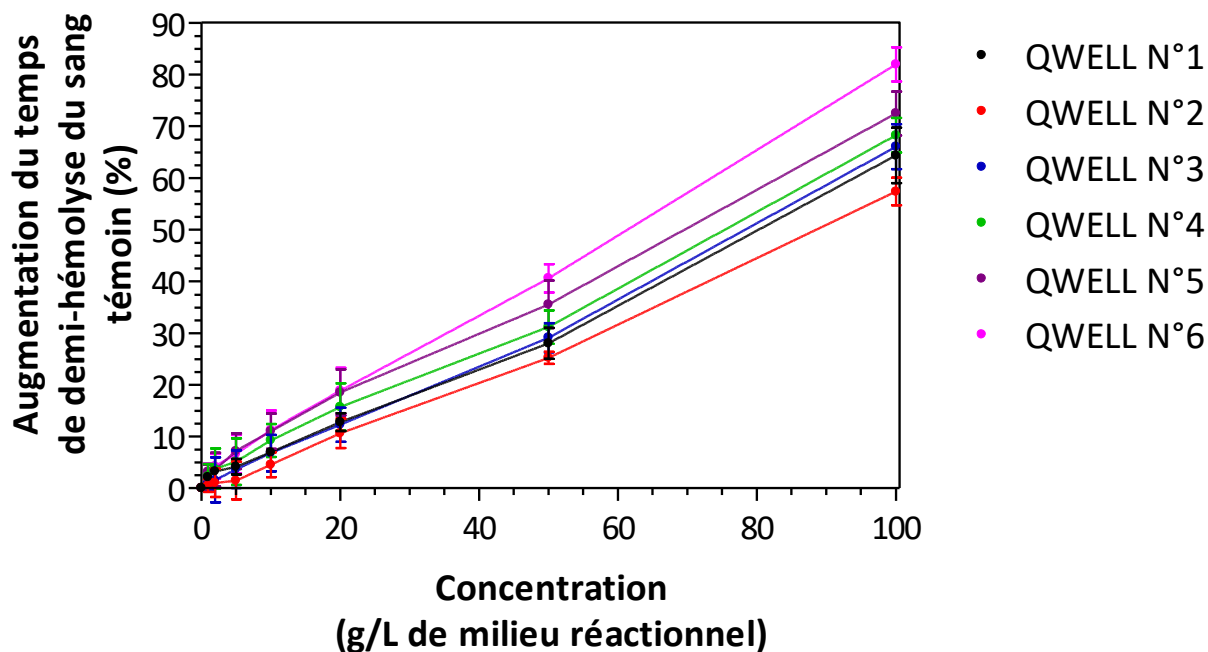
Les résultats des analyses en triplicata de la variation de la résistance d'un sang témoin à une attaque par des radicaux libres (% de variation du temps de demi-hémolyse) en fonction des concentrations en produit sont exposés ci-dessous.

Pouvoir antioxydant des boissons confiées													
Augmentation du temps de demi-hémolyse du sang témoin (%)													
Conc* (g/L)	QWELL N°1		QWELL N°2		QWELL N°3		QWELL N°4		QWELL N°5		QWELL N°6		
	Moy	SD	Moy	SD	Moy	SD	Moy	SD	Moy	SD	Moy	SD	
0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
1	2,14	0,60	0,51	1,29	0,88	1,24	2,30	2,36	3,18	1,34	2,43	2,41	2,41
2	3,26	0,71	1,02	2,76	1,57	4,41	3,75	3,96	3,60	3,27	4,26	2,39	2,39
5	4,14	1,50	1,45	3,67	3,63	3,66	5,13	4,48	7,19	3,46	6,60	3,68	3,68
10	6,95	0,38	4,55	2,42	6,80	3,51	9,24	3,21	11,01	3,39	11,22	3,84	3,84
20	12,77	1,71	10,62	2,87	12,28	3,29	15,70	4,57	18,51	4,47	18,84	4,48	4,48
50	28,01	3,03	25,20	1,19	29,10	2,78	31,19	3,23	35,53	4,60	40,59	2,74	2,74
100	64,34	5,35	57,36	2,67	66,01	4,35	68,23	3,35	72,47	4,23	81,94	3,29	3,29

* : Concentration en g de produit par litre de milieu réactionnel.
Les résultats obtenus sont exprimés par la moyenne (Moy) ± la déviation standard (SD) de N = 3 analyses.

Les courbes doses-réponses d'augmentation de la résistance du sang témoin à l'oxydation induite par les produits sont représentées ci-dessous.

Test KRL
Pouvoir antioxydant des produits qui
nous ont été confiés
(Analyses du 07/11/23)



TESTS DE VALIDATION :

pH

Absence d'effet hémolytique intrinsèque de l'échantillon

Absence d'interférence du blanc

Les produits ne présentent pas d'action hémolytique en l'absence d'attaque radicalaire dans la gamme de concentrations étudiées de 0 à 100 g/L.

✉ Kirial International - 3 rue des Mardors- 21560 COUTERNON

☎ +33 (0)3 80 32 01 10 (19) - Email : michelprost.spiral@wanadoo.fr

RCS Dijon : 2000 B 891 – SIRET : 429 923 618 00012

Les résultats standardisés en équivalents mg de Trolox® et d'acide gallique/g de produit à une concentration de 100 g/L de milieu réactionnel sont exposés ci-dessous.

Pouvoir antioxydant des boissons confiées													
Equivalents mg de Trolox et mg d'acide gallique/g de produit													
Conc*	QWELL N°1		QWELL N°2		QWELL N°3		QWELL N°4		QWELL N°5		QWELL N°6		
	Moy	SD	Moy	SD	Moy	SD	Moy	SD	Moy	SD	Moy	SD	
100 g/L													
Eq. mg Trolox/g	0,28	0,02	0,25	0,01	0,28	0,02	0,29	0,02	0,31	0,02	0,35	0,02	
Eq. mg ac. Gallique/g	0,12	0,01	0,11	0,01	0,13	0,01	0,13	0,01	0,14	0,01	0,16	0,01	

* : Concentration en g de produit par litre de milieu réactionnel. Les résultats obtenus sont exprimés par la moyenne (Moy) ± la déviation standard (SD) de N = 3 analyses à une concentration de 100 g/L. Eq. Equivalents

Résumé

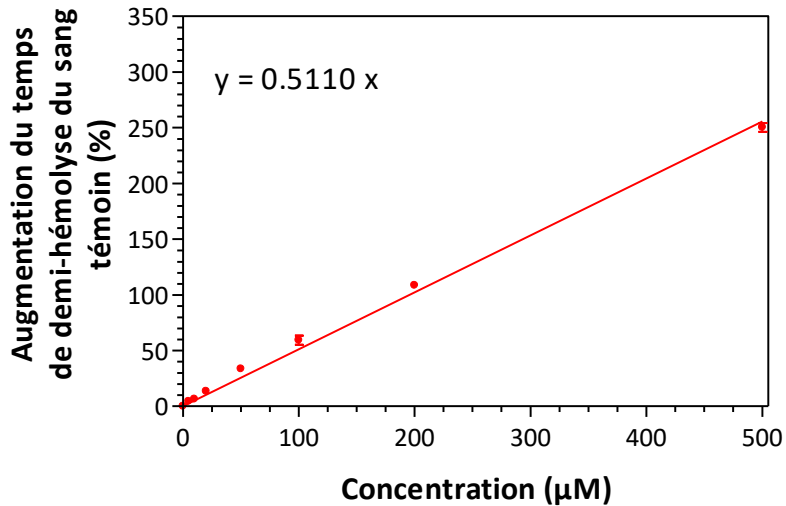
Nos résultats indiquent que les 6 boissons qui nous ont été confiées augmentent la résistance du sang témoin à une attaque radicalaire de façon dose dépendante dans une gamme de concentrations de 0 à 100 g/L de milieu réactionnel¹ (Cf courbes doses-réponses et pourcentages d'augmentation du temps de demi-hémolyse du sang témoin exposés ci-dessus sous forme de tableau).

Les résultats de comparaison du pouvoir antioxydant des 6 boissons, exprimés en équivalents mg de Trolox® et mg d'acide gallique par gramme de produit à une concentration de 100 g/L contenant 1 g/L de collagène, sont exposés dans le tableau ci-dessus et sous forme d'histogrammes en [annexe 2](#).

Annexe 1 : Pouvoir antioxydant des standards

TEST KRL

Efficacité antioxydante du Trolox

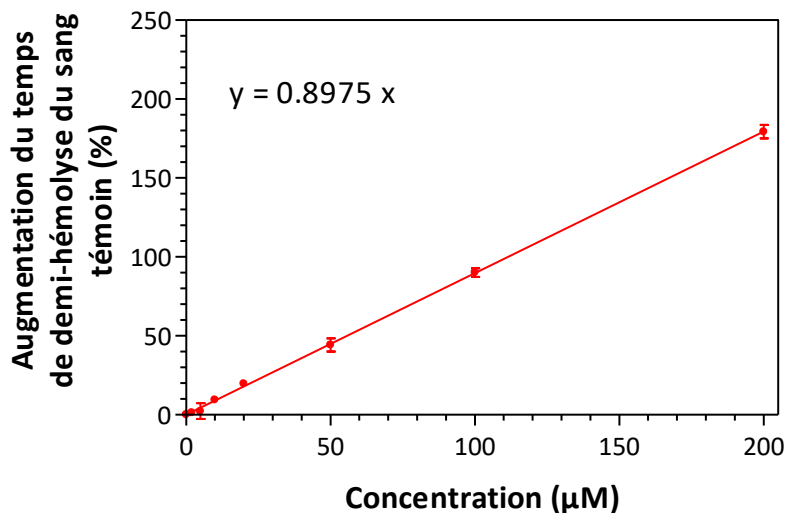


• Trolox

Conc (µM)	Trolox		
	Y	SD	N
0	0.00	0.000	3
5	4.49	0.720	3
10	6.59	1.060	3
20	13.63	1.130	3
50	33.56	2.910	3
100	59.24	4.070	3
200	108.65	1.160	3
500	250.33	3.910	3

TEST KRL

Efficacité antioxydante de l'acide gallique



• Acide gallique

Conc (µM)	Acide Gallique		
	Y	SD	N
0	0.00	0.000	3
2	1.38	1.050	3
5	2.22	5.080	3
10	9.43	1.080	3
20	19.69	1.070	3
50	44.33	4.190	3
100	90.11	2.790	3
200	179.32	4.240	3

Annexe 2 : Pouvoir antioxydant des produits

