

***Effets du lycopène sur certains paramètres structuraux et fonctionnels chez le rat en croissance***

**Présenté par : BENAKMOUM Amar**

Directeur de thèse : Mr AMMOUCHE Ali Professeur INA El Harrach  
Année Universitaire 2008/2009

Soutenu devant le jury composé de : Mr BELLAL M. Mouloud Professeur. INA El Harrach Président  
Mr GUERMOUCHE M. Hassane Professeur USTHB Examineur Mr BENAMARA Salem Professeur  
Boumerdes Examineur



# Table des matières

REMERCIEMENTS . .	6
Résumé . .	7
Abstract . .	8
ص خ لم . .	9
Liste des abréviations . .	10
Introduction générale . .	11
Partie 1 : Synthèse bibliographique . .	13
1. Généralité sur la tomate . .	13
1.1 Caractéristiques botaniques . .	13
1.2. Anatomie du fruit . .	13
1.3. Composition chimique de la tomate . .	14
1.4. La récolte . .	14
1.5. Variétés et sélection . .	14
1.6. Maturité du fruit de tomate . .	15
2. Production . .	15
3. Teneur en lycopène de la tomate . .	16
3.1. Le lycopène : caroténoïde important de la tomate . .	17
3.2. Chimie du lycopène . .	17
3.3. Stéréochimie du lycopène . .	18
3.4. Stabilité et analyse du lycopène . .	18
4. Les sources alimentaires de lycopène . .	19
4.1. Biodisponibilité du lycopène . .	19
4.2. Biosynthèse du lycopène . .	19
4.3. Digestion - Absorption du lycopène . .	20
5. Répartition du lycopène dans les tissus . .	21
6. Rôles biologiques du lycopène . .	22
6.1. Lutte contre le stress oxydatifs . .	23
6.2. Prévention contre maladies cardiovasculaires . .	24
6.3. La prévention du cancer . .	25
6.4. Action du lycopène sur les autres pathologies . .	26
Partie 2 : Optimisation des rendements d'extraction du lycopène des pelures de tomates lyophilisées. . .	27
1. Optimisation des extractions du lycopène . .	27
1.1. Introduction . .	27
1.2. Récupération de la matrice par épluchage . .	28
1.3. Structure de la matrice . .	28
1.4. Présentation de la matrice . .	30
1.5. Méthodes d'extraction . .	31
1.6. Quantification . .	33
2. Matériels et Méthodes . .	33
2.1. Préparation des échantillons . .	33

2.2. Matériels . . .	34
2.3. Méthodes . . .	34
3. Résultats et Discussion . . .	36
3.1. Rendements d'extraction du lycopène à partir des pelures de tomate lyophilisées . . .	37
3.2. Rendements d'extraction du lycopène à partir des pulpes de tomates lyophilisées . . .	39
3.3. Effet de la réhydratation sur les rendements d'extraction . . .	42
3.4.. Effets du traitement enzymatique sur les rendements d'extraction du lycopène . . .	43
3.5 Résultats des quantifications du lycopène par HPLC . . .	47
Partie 3 : Valorisation d'une huile végétale de basse qualité par enrichissement en purée et pelures de tomates lyophilisées. . .	48
1. Valorisation des pelures de tomates . . .	48
1.1. Introduction . . .	48
1.2. Processus d'oxydation . . .	49
1.3. Les études de contribution à l'enrichissement avec les pelures de tomates. . .	52
2. Matériels et Méthodes . . .	54
2.1. Échantillons utilisés . . .	54
2.2. Mesure de l'activité antioxydante . . .	55
3. Résultats et discussion . . .	57
3.1. Teneurs en caroténoïdes . . .	58
3.2. Mesure de l'activité antioxydante . . .	59
3.3. Profil Phénolique . . .	62
4. Conclusion . . .	63
Partie 4 : Effets du lycopène sur certains paramètres structuraux et fonctionnels chez le rat en croissance. . .	65
1. Effets nutritionnels du lycopène . . .	65
1.1. Introduction . . .	65
1.2. Oxydation et antioxydants . . .	65
1.3. Balance antioxydants et stress oxydant . . .	68
1.4. Approche scientifique des études sur l'activité biologique du lycopène . . .	68
1.5. Synthèses des travaux sur le rôle protecteur du lycopène . . .	69
1.6. Les formes bioactives du lycopène . . .	70
1.7. Perspectives des recherches sur le lycopène . . .	71
2. Matériels et méthodes . . .	72
2.1. Expérimentation animale . . .	72
2.2. Analyses et dosages sériques . . .	74
2.3. Extraction du lycopène dans le sérum . . .	76
2.4. Extraction du lycopène dans le foie . . .	77
2.5. Dosage des lipoperoxydation TBARS plasmatiques et hépatiques . . .	77
3. Résultats et discussion . . .	77

3.1 Croissance et gain de poids . .	78
3.2 Variation des lipides sériques . .	79
3.3. Variation des marqueurs hépatiques . .	80
3.4. Variation du TBARS sérique . .	82
3.5. Estimation du lycopène sérique . .	82
3.6. Evolution des activités enzymatiques dans le foie. . .	82
3.7. Evolution du TBARS hépatique . .	84
3.8. Discussion . .	84
<b>Conclusion générale . .</b>	<b>87</b>
<b>Références bibliographiques . .</b>	<b>89</b>
<b>Annexes . .</b>	<b>112</b>
Annexe 1 : Composition du régime Rationnelle (ONAB) . .	112
Annexe 2 : Chromatogramme du lycopène des pelures de tomates lyophilisées, quantifié par HPLC à 472 nm . .	112
Annexe 3 : Courbes d'étalonnage du lycopène par HPLC et par spectrophotométrie. . .	113
Annexe 4 : Chromatogramme HPLC de la concentration en lycopène sérique chez le rat dulot 3 (A) et du lot 4 (B). . .	114

## REMERCIEMENTS

Mes tous premiers remerciements, iront à mon directeur de thèse, **le professeur AMMOUCHE Ali** pour m'avoir proposé le sujet, pour l'autonomie qu'il m'a laissée, pour ses conseils, sa disponibilité et surtout sa patience...

A notre président de thèse

**Monsieur le Professeur Mouloud M. BELLAL**, Qui nous a fait l'honneur d'accepter la présidence de notre jury de thèse, Hommage respectueux.

A notre jury de thèse

**Monsieur le Professeur M.H GUERMOUCHE** de l'USTHB et de la faculté de Médecine d'Alger, Qui nous a fait l'honneur de participer à notre jury de thèse, Toute notre gratitude.

**Monsieur le Professeur Salem BENAMARA** de l'Université de Boumerdes ; Qui a accepter très aimablement, de donner son avis sur ce travail, Toute notre reconnaissance.

**A P. KEFALAS**, et toute l'équipe du laboratoire Produits Naturels de l'Institut d'Agronomie Méditerranéenne de Chania – Crète - Grèce. Qu'il trouve ici l'expression de notre profond respect.

Mes vives remerciements au Professeur **Damaso Hornero Mendes** et toute l'équipe du laboratoire Pigments et Colorants de l'Institut la Grasa – Seville, pour l'accueil, la disponibilité et l'assistance.

Au **Dr Abdelhak Monsouri** (INSERM Paris) et le **Dr Souhila Abbedou** (EP de Zurich), pour leur aide précieuse, et leurs conseils dans la réalisation de ce travail. Un grand merci.

Ce travail est le fruit de la collaboration de nombreuses personnes dont l'efficacité, et la disponibilité, ont rendu les conditions de travail moins pénibles.

Nouani Abdelouhab (UMBB), Haderbache Latifa (UMBB), Asma Belkadi (CRD Saidal), Amrane Djouab (UMBB), Karima Hidous (LRTA), Sofaine Zidani (LRTA), Nadia Ghezzal (Hopital Birtraria), Pr Mesbah Smail (Pasteur Sidi Fredj).

...Spéciale dédicace à celle qui a tout supporté durant la réalisation de ce travail, mon épouse SALIHA, ...et nos trois anges, Chiraz, Rafik et Rayan, je vous z'aime....

---

## Résumé

Le traitement préalable des pelures de tomates par des enzymes pectinases (viscozym) et des cellulases (celluclast) dans des conditions optimisées, favorise les rendements d'extraction du lycopène par une mixture de solvant composé d'hexane – ethanol –acétone. Les teneurs sont augmentés de 177,32% et de 166,2%, pour viscozym et celluclast respectivement, soit des teneurs de 1600,60 µg/g pour une concentration en enzyme de 0,1% et un temps d'incubation de 30 mn.

L'incorporation des pelures de tomates (présentent une teneur moyenne de 5,85 mg/100g en lycopène, et 2,90 mg/100 g de # carotène) dans une huile de basse qualité, a engendré son enrichissement en polyphénols (0.029 mg/g) avec une diffusivité élevée de lycopène dans l'huile. La teneur moyenne en lycopène est de 1,99 mg/100 g d'huile après son incorporation à 10%. Le # carotène à été déterminé avec une teneur de 1,07 mg/100g d'huile. Les essais de chemiluminescence et au DPPH, ont donné des résultats semblables avec une efficacité antioxydante accrue, mais au-delà d'un seuil il y a manifestation de l'activité pro-oxydante. Les résultats obtenus avec le test de rancimats, ne sont pas corrélés avec les deux essais précédents de l'activité antioxydante. L'analyse LC-MS des pelures de tomates a révélée la présence de flavonoïdes, tel la rutine, la quercétine, le chalconaringenin.

L'enrichissement d'un régime pour rats hyper-lipidique et hyper-cholestérolémique en pelures de tomates (avec une teneur de 43 mg/100g en lycopène) a induit une diminution significative, des marqueurs de peroxidation lipidique au niveau sérique et hépatique. Celui-ci, a augmenté l'activité des enzymes antioxydantes hépatiques de détoxification comme la GPX, GRD et la catalase. D'autre part, on notera le rétablissement des paramètres lipidique sérique ainsi que les lipoprotéine HDL et LDL. La concentration en lycopène dans le plasma (112 nmol/L), s'est avérée un marqueur efficace de la peroxydation lipidique, résultat d'un stress oxydant.

**Mots Clés :** Pelures de tomates, lycopène, extraction, activité antioxydante, TBARS, GPX.

## Abstract

The preliminary treatment of the tomato peels by enzymes pectinases (viscozym) and cellulases (celluclast) under optimized conditions, supports the outputs of extraction of lycopene by a solvent mixture made up of hexane – ethanol – acetone. The contents are increased by 177,32% and 166,2%, for viscozym and celluclast respectively, is contents of 1600,60 µg/g for a concentration of enzyme of 0,1% and a time of incubation of 30 mn.

The incorporation of the tomato peels (present an average content of 5,85 mg/100g of lycopene, and 2,90 mg/100 G of # carotene) in an oil of low quality, generated its enrichment out of polyphenols (0.029 mg/g) with a high lycopene diffusivity in oil. The average content lycopene is of 1,99 mg/100 G of oil after its incorporation with 10%. The # carot ene at summer déterminé with a content of 1,07 oil mg/100g. The tests of chemiluminescence and with the DPPH, gave similar results with an increased antioxydant effectiveness, but beyond a threshold there is manifestation of the pro-oxidizing activity. The results obtained with the test of rancimats, are not correlated with the two preceding tests of the antioxydant activity. Analysis LC-MS of the tomato peels revealed the presence of flavonoïdes, such rutin, quercetin, the chalconaringenin.

The enrichment of a mode for rats hyper-lipidic and hyper-cholesterolemic in tomato peels (with a content of 43 mg/100g of lycopene) induced a significant reduction, markers of lipidic peroxidation at the serum and hepatic level. This one, increased the activity of the hepatic antioxydant enzymes of detoxification like the GPX, GRD and the catalase In addition, one will note the serum re-establishment of the parameters lipidic as well as lipoprotéine HDL and LDL. The lycopene concentration in plasma (112 nmol/L), proved to be an effective marker of the lipidic peroxidation, result of an oxidizing stress.

**Key Words:** Tomato peel, lycopene, extraction, antioxydant activity, TBARS, GPX.



## ص خلم

في هذا العمل المعالجة الأولية لفترة الطماطم بالإنزيمات من نوع بكتيناز و سيلولاز في ظروف ملائمة، مع استعمال ثلاث محاليل عضوية بنسب مختلفة أدى إلى ارتفاع مردود استخلاص الليكوبين ب 177.32 بالمائة و 166.2 بالمائة ل الفيسكوزيم و سيلولاكلاست على التوالي، لتُحصل على نسبة 1600.6 مج/غ من الليكوبين بتركيز 0.1 بالمائة و 30 د نحضين. إن ادماج فترة الطماطم الجافة بزيت ذات جودة رديئة أدى إلى تخفيضها ب 5.85 مج من الليكوبين، 2.92 من البيتا كاروتين و 0.029 مج من الفينولات. تقييم مقاومة الزيت الغنية بالليكوبين للأكسدة أظهر توافق إيجابي بين DPPH و CHEMILUMINESCENCE واختبار RANCIMAT. التحليل ب LCMS أظهر احتواء فترة الطماطم على الفينولات، لاروتين، كورسيتين و سالكونارجينين. إن استعمال فترة الطماطم في حمية مشبعة بالدهون و الكوليسترول خاصة بالفئران أدى إلى انخفاض محسوس في الدهون الدموية و حمايتها من الأكسدة. تركيز الليكوبين في الدم 112 نانو مول/ل أدى إلى تفعيل نظام المضاد للتسمم (CAT,GRD,GPX)، و اختبار TBARS أكد وجود stress oxydatif.

**الكلمات الدالة:** فترة الطماطم ؛ الليكوبين؛ استخلاص، نشاط مضاد للأكسدة GPX, TBARS .

## Liste des abréviations

- AGPI Acides gras polyinsaturés
- ASR Analyse de surface de réponse
- ASAT Aspartate Aminotransferase
- ALAT Alanine Aminotransferase
- BHT Butylhydroxytoluène
- BHAB Butylhydroxyanisol
- CAT Catalase
- CL Chemiluminescence
- DPPH 1,1-diphényl-2-picrylhydrazyl
- ERO Espèces Réactives de l'Oxygène
- GRD Glutathion réductase
- GPX Glutathion peroxydase
- HDL Lipoprotéines de haute densité
- IHS Indice hépatosomatique
- SOD Superoxyde dismutase
- EAG Equivalant acide gallique
- GGPP géranyl géranyl pyrophosphate
- HPLC Chromatographie liquide à haute performance
- LDL Low-density lipoprotein (lipoprotéine basse densité)
- LIPP Isopentényl pyrophosphate
- LDH Lactate deshydrogénase
- MDA Malondialdéhyde
- MCV Maladies cardiovasculaires
- OMS Organisation Mondiale de la Santé
- PAL Phosphatase Alcaline
- SFE Fluide d'extraction supercritique
- TBARS Acide thiobarbiturique, substances réactives
- TEAC Antioxidant Capacity Trolox Equivalent
- TCA Acide trichloroacétique
- TROLOX Acide 6-hydroxy-2,5,7,8-tetraméthylchroman-2-carboxylique
- VLDL Lipoprotéines de très basse densité
- LCAT Lécithine Cholestérol Acyl Transférase
- PSA Prostate Specific Antigen

---

# Introduction générale

La mise en évidence d'un lien entre l'occurrence de certaines maladies et l'alimentation est un domaine de recherche qui retient beaucoup l'attention de la communauté scientifique. Certes, l'origine de la plupart des états pathologiques est multifactorielle, mais la possibilité d'influencer leur apparition et leur développement grâce à l'alimentation présente un grand intérêt [1].

Dans ce contexte, plusieurs études épidémiologiques ont démontré que la consommation de fruits et légumes contribue à diminuer le risque de maladies cardiovasculaires, de certains cancers et d'autres maladies chroniques [2]. Pour preuve, les conclusions officielles du sommet international des fruits et légumes, confirment leur rôle protecteur en terme de santé, et recommandent à l'OMS et à la FAO d'assurer, la promotion d'une consommation plus élevée de ces aliments à l'échelle mondiale [3]. L'utilité de certains nutriments semble aujourd'hui reconnue. Il s'agit, en particulier de vitamines et oligo-éléments ayant une activité antioxydante, permettant de contrecarrer les effets délétères des radicaux libres, à l'origine de diverses pathologies [4].

La tomate est le deuxième légume consommé dans le monde. Elle tient une place importante dans l'alimentation humaine [5], en étant la première source de lycopène, le troisième contribuant principal en vitamine C et la quatrième source de vitamine A. Le rôle du lycopène dans la santé chez l'homme a reçu un intérêt scientifique et public considérable au cours des dernières années. Ceci apparaît, également, dans les premiers résultats, du projet de recherche Européen, dont l'objectif, est de déterminer les avantages spécifiques du lycopène sur la santé ainsi que les autres nutriments actifs constituant la tomate et ses dérivés transformés, pour la prévention et/ou le traitement des maladies cardiovasculaires [6]. Dans la présente étude, nous nous sommes intéressés à la valorisation d'un sous-produit ou « déchet », issu de la transformation de la tomate en jus, soupes, sauces, ketchup et concentré de tomate. Ce sous-produit contient principalement des peaux ou pelures de tomates, qui constituent une excellente source de substances riches en nutriments, tels les caroténoïdes, fibres et surtout du lycopène [7]. Les pelures de tomates contiennent davantage d'antioxydants (composés phénoliques, vitamine C et lycopène) que la chair et les graines [8].

De ce fait, il nous a paru judicieux de valoriser ce sous-produit et d'en exploiter les éléments nutritifs, afin d'obtenir des bio produits avec une valeur ajoutée, et un impact positif sur l'environnement.

En effet, la gestion des déchets demeure une question majeure pour l'industrie alimentaire, secteur important de l'économie mondiale, et l'amélioration des performances économiques de la filière passe inévitablement par une meilleure valorisation de ses sous-produits [9] .

Par conséquent, le présent document est composé de cinq parties:

La partie 1, regroupe une synthèse bibliographique des principales connaissances sur la tomate, du point de vue agronomique et technologique ainsi l'impact bénéfique de sa consommation sur la santé.

La partie 2 est consacrée dans son ensemble à l'extraction du lycopène des matrices à valoriser, la forme de présentation des matrices, en vue d'optimiser les rendements. Premièrement, utiliser une mixture de solvants et un modèle mathématique comme support afin d'optimiser la composition du mélange de solvants à utiliser pour l'extraction. Deuxièmement, le prétraitement des pelures (peaux) lyophilisées par des enzymes (pectinases et cellulases) pour faciliter, l'évacuation du contenu cellulaire en vue d'une plus grande extrahibilité, tout en optimisant les conditions expérimentales (concentration en enzymes, temps et température d'incubation). Cette étude, a été réalisée au laboratoire des pigments et colorants naturels du département biotechnologies de l'Institut la *Grasa*, Séville, Espagne.

La partie 3 concernera les résultats des essais et tests d'une co-valorisation des huiles végétales de basse qualité par enrichissement en pelures de tomates lyophilisées en vue d'obtenir un aliment fonctionnel. Ce travail a fait l'objet d'une publication internationale dans la revue *Food Chemistry* (Benakmoum et *al*, 110 (3), 2008, pp 684-690). L'étude a été réalisée au laboratoire des Produits Naturels de l'Institut d'Agronomie Méditerranéenne de Chania, Crète, Grèce.

La partie 4 est consacrée aux essais *in vivo*. Les pelures de tomates lyophilisées ont été incorporées dans une diète athérogène riche en acides gras saturés qui constituera le régime des rats. Le but de cette étude est d'évaluer les effets des composés de la pelure, dont le lycopène, sur certains paramètres fonctionnels et structuraux. Cette partie a été réalisée avec le concours du CRD Saidal, Alger.

Enfin la partie 5 est consacrée à la discussion générale, sur les différents résultats obtenus suivi de conclusions et recommandations.

# Partie 1 : Synthèse bibliographique

## 1. Généralité sur la tomate

### 1.1 Caractéristiques botaniques

Le plant de tomate appartient à la famille des Solanacées, au genre *Lycopersicum* et à l'espèce *L. esculentum*. L'utilisation de critères morphologiques et/ou biologiques a longtemps été source de controverses autour de la systématique du genre auquel appartient la tomate. A l'origine, classée dans le genre *Solanum*, le genre *Lycopersicon* a finalement été défini pour regrouper différentes espèces de tomate. L'espèce de tomate cultivée, *Solanum lycopersicum* Mill. (ex *Lycopersicon esculentum*), est issue de la domestication de l'espèce sauvage. C'est une espèce diploïde avec  $2n = 24$  chromosomes, chez laquelle il existe de très nombreux mutants monogéniques dont certains sont très importants pour la sélection [10].

Le fruit de tomate se caractérise par une structure complexe associant différents tissus aux caractéristiques spécifiques, particulièrement à maturité. Les cavités loculaires (loges) sont délimitées par le péricarpe externe, le septum ou péricarpe radial et la columelle ou péricarpe interne (figure 1). Les graines portées par le placenta sont enveloppées dans le tissu loculaire (gel) qui occupe dans des proportions variables la loge. Au niveau du péricarpe externe, trois parties se distinguent : la peau où exocarpe protégée par une fine cuticule, le mésocarpe et l'endocarpe qui constituent la chair [11].

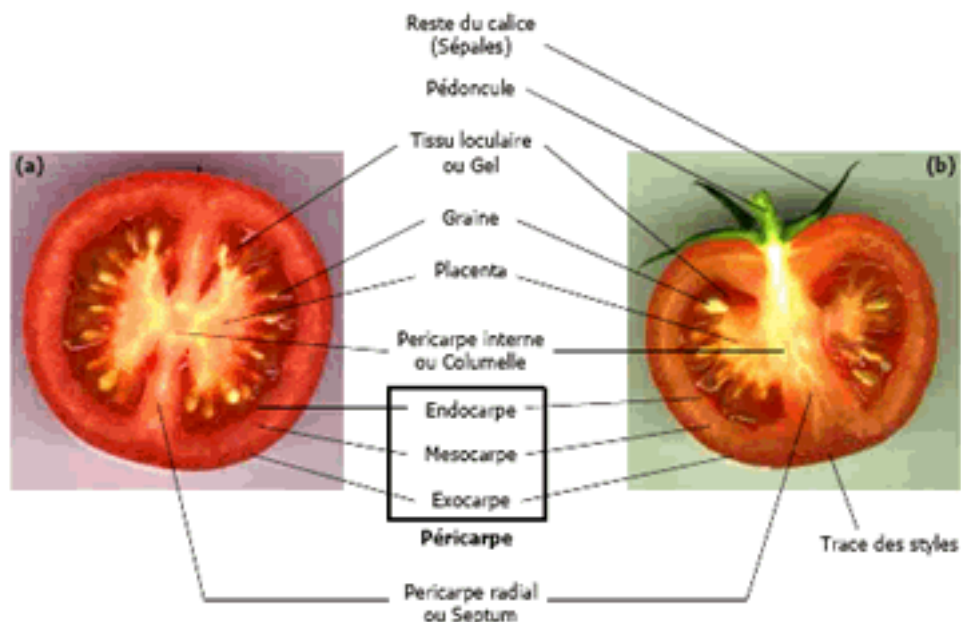


Figure 1 : Coupes transversale (a) et longitudinale (b) d'un fruit de tomate à maturité.

### 1.2 Anatomie du fruit

La tomate présente une structure hétérogène, où la nature et l'agencement des différents tissus sont autant de facteurs qui peuvent être déterminants pour la perception de la texture. À maturité, l'épaisseur de la peau, l'aspect gélifié des tissus locaux, l'espace occupé par les cavités locales, l'épaisseur du péricarpe et des parois locales pourront influencer les sensations associées à la fermeté ou la jutosité du fruit [12]. L'architecture tissulaire du péricarpe du fruit de tomate est organisée autour de trois entités: l'exocarpe recouvert d'une cuticule, le mésocarpe où se retrouvent les vaisseaux conducteurs et l'endocarpe. Chacune de ces structures se construit au cours du développement du fruit, et notamment pendant la phase d'expansion cellulaire qui permet au fruit d'atteindre sa taille finale [13].

### 1.3. Composition chimique de la tomate

---

La tomate comme la plupart des légumes, présente une bonne densité nutritionnelle avec : 95% d'eau, et 5% de matière sèche, comprenant 50% de sucres (fructose et glucose), 25% d'acides organiques (acides citrique et malique), 8% de minéraux, 2% d'acides aminés, de caroténoïdes et autres métabolites secondaires [14]. Elle contient aussi de nombreux minéraux et oligoéléments, dont le potassium (0,5 mg), le [magnésium](#) (1 mg) et près de 24 mg de zinc et de phosphore. La tomate fournit également 50 à 160 mg de vitamine C et 22,5 à 90 mg de vitamine E, c'est aussi une source de fibres (7g/100 Kcal) soit le quart des apports nutritionnels conseillés [15]. Parmi les phytoconstituants, on y trouve des polyphénols (acides ferulique, chlorogénique, et caféique), des flavonoïdes (la quercétine, le kaempferol, la rutine, et la naringénine), et des caroténoïdes, en particulier le lycopène. La tomate, présente une très basse densité énergétique, avec 22 Kcal/100g [16].

### 1.4. La récolte

---

Le cycle complet, de la graine, est variable selon les variétés, l'époque et les conditions de culture. Il est en moyenne de 3,5 à 4 mois (7 à 8 semaines de la graine à la fleur, 7 à 9 semaines de la fleur au fruit) [17]. La tomate est une plante héliophile, elle nécessite une hygrométrie moyenne, parfois un apport de CO<sub>2</sub> (sous serres) [18]. La tomate industrielle est généralement cultivée hors sols, dans des serres de plusieurs hectares et alimentée de manière artificielle par un mélange d'eau et d'engrais. Ceci permet d'étendre considérablement la période de production. La tomate est une plante de climat tempéré chaud, les températures idéales de croissance se situent entre 15 °C (la nuit) et 25°C (le jour). En bonne culture, on peut obtenir en moyenne 300 à 600 kg / 100 m<sup>2</sup> [19].

La culture de tomate nécessite quelques passages de produits chimiques, insecticides et fongicides, Mais tous ces produits doivent être homologués. La culture sous serre permet de développer depuis quelques années la lutte intégrée permettant de limiter voir éviter l'utilisation de pesticides [20].

### 1.5. Variétés et sélection

---

Il existe plus de 500 variétés de tomates, dont l'identification est généralement multicaractère qui prend en compte des aspects de productivité, d'adaptation aux conditions pédoclimatiques, de résistances au bio agresseur et enfin de qualité. La qualité est avant tout commerciale (aspect des produits, couleur ...), la qualité nutritionnelle du fruits de tomate n'est pas un critère de sélection direct [21]. Une norme internationale pour la tomate a été adoptée récemment par la commission "Codex Alimentarius" définissant

les règles de qualité pour la commercialisation de la tomate. Les normes internationales donnent en effet une interprétation commune de ce qui constitue un bon produit à l'usage des pays importateurs et exportateurs [22]. Les tomates destinées à la transformation, doivent répondre aux exigences de la technologie de transformation, avec une maturation appropriée, une résistance au transport et au stockage, elles doivent également présenter des teneurs élevées en solides solubles et en sucre, une acidité faible (pH < 4,5) et une saveur caractéristique. Il semblerait que les tomates issues d'une culture biologique soient meilleures pour la santé. Elles sont considérablement plus riches en deux flavonoïdes : la quercitine (79%) et le kaempferol (97%), comparativement à celles produites de manière conventionnelle [23].

## 1.6. Maturité du fruit de tomate

---

Les conditions de maturation et de conservation influent sur leur composition finale en microconstituants donc la qualité nutritionnelle des tomates. Les fruits ayant mûri à la lumière contiennent plus de lycopène et plus de vitamine C entre 18°C et 25°C (de 15 à 20%). La teneur en lycopène est significativement réduite à 32°C. Le  $\beta$ -carotène est lui moins sensible aux variations de température. La conservation à 12°C des tomates cueillies au stade orange ou rouge est donc préférable pour prolonger la synthèse du lycopène, qui est inhibée lors de la conservation à 4°C [24].

## 2. Production

La production mondiale de tomate est estimée à 120 millions de tonnes, dont 40 millions sont destinés à la transformation. La Chine à elle seule fournit 30% de la production mondiale,

suivi des USA, avec 10%. Les pays de la Méditerranée couvrent 30% de la production mondiale de tomate [25]. En Europe, la tomate constitue le deuxième plus grand secteur agricole, à la fois pour le marché du frais, mais aussi et surtout pour l'industrie de la transformation [26]. En Algérie (figure 2), la tomate industrielle est principalement cultivée dans les régions Est : Annaba, El Taref, Guelma, Skikda, avec plus de 60 % de la superficie agricole utile (SAU). Cette filière produisant principalement du double concentré de tomate, a contribué des années durant au développement socio-économique du pays, avec 17 usines implantées, représentant 80% de la production nationale. Après un développement économique efficient, et des investissements industriels importants (création de 120.000 postes d'emploi en amont et en aval du cycle d'exploitation) dans le domaine de la transformation et de la conserverie, avec couverture totale des besoins nationaux, la filière a connu une régression, cette dernière décennie qui s'est traduite par :

- Faible rendement de production à l'hectare (15 Tonnes/ha)
- Appauvrissement des sols et abondance de la culture de la tomate industrielle
- Déperdition des terres agricoles (un potentiel de 30.000 ha), faible utilisation des variétés hybrides à haut rendement
- Mise en faillite et fermeture de la moitié des unités de transformation avec la suppression de 30.000 emplois
- Recours à l'importation pour pallier les déficits (soit une facture annuelle moyenne de 100 Millions de dollars US).

L'Algérie recèle dans ce domaine une capacité de productivité importante, tant en production qu'en transformation. Elle bénéficie également de conditions climatiques privilégiées et de territoires à fort potentiel agronomiques. Des mesures urgentes et concrètes doivent être prises pour redynamiser le secteur, particulièrement par le soutien de l'État aux agriculteurs et industriels et l'arrêt des importations systématiques [27].

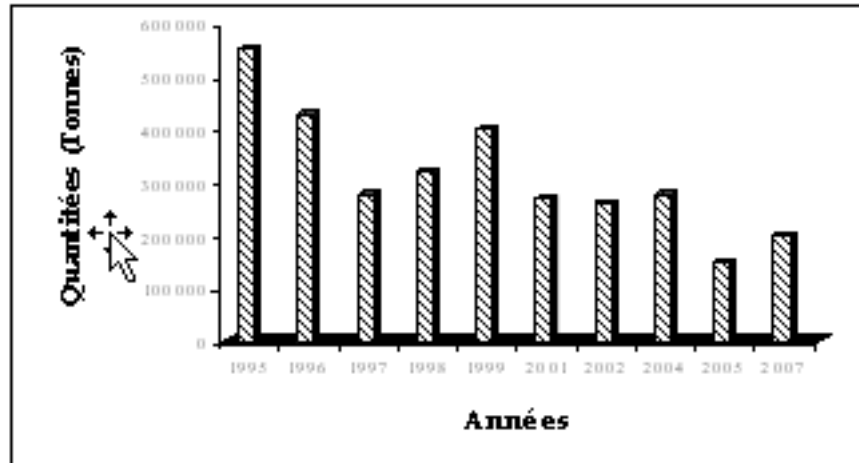


Figure 2 : Etat de la production tomate en Algérie [27]

### 3. Teneur en lycopène de la tomate

Les tomates et les produits à base de tomates sont les principales sources de lycopène (Tableau 1). La teneur en lycopène des tomates fraîches est extrêmement variable, selon des critères agronomiques. Elle varie de 1,9 à 6,8 mg/100 g, selon les variétés, et de 1,9 à 6,8 mg/100g en fonction des calendriers de récolte. Elle augmente considérablement avec la maturité du fruit [28]. Aussi, la durée et la température de conservation jouent un rôle, la conservation à 20°C étant optimale [29]. Les transformations technologiques, de la tomate modifient la teneur en lycopène essentiellement par un effet de concentration. On observe cela avec la sauce tomate (6,20 mg/100 g), le concentré de tomate (8 mg/100 g), le jus de tomate (de 5 à 11,6 mg/100 g) et le ketchup (de 9,9 à 13,4 mg/100 g). La cuisson de la tomate en jus, purée ou ketchup augmente la teneur en caroténoïdes de 100 à 600 %, elle entraîne par contre, une réduction de la teneur en vitamine C de 2 à 4 fois [30].

Tableau 1 : Teneur en lycopène dans les tomates et produits de tomates et quelques aliments (Teneurs Approximatives selon les analyses de différents laboratoires) [28]



Aliments	Mg/100g
Tomates fraîches	0,88 à 4,20
Tomates cuites	3,70
Sauce tomate	6,20
Concentré de tomate	5,4 à 150
Soupe de tomate	7,99
Poudre de tomate	11,20 à 12,60
Jus de tomate	5 à 11,60
Tomate séchée - à l'huile	46,50
Sauce pizza	12,70
Ketchup	9,90 à 13,40
Abricot	<0,01
Pastèque	2,30 à 7,20
Papaye	2 à 5,30
Guava	5,40

### 3.1. Le lycopène : caroténoïde important de la tomate

Les caroténoïdes sont des pigments lipophiles jaune orange- rouge d'origine végétale. Plus de 600 composés sont identifiés. Ils confèrent aux plantes, aliments végétaux, leur couleur rouge et orange qui apparaissent, lorsque la chlorophylle disparaît. Ils sont exclusivement synthétisés par les plantes, mais peuvent s'accumuler chez certains animaux [31].

Cinquante à soixante interviennent dans l'alimentation humaine et 30 à 40 ont été identifiés dans le sang et les tissus humains. Une cinquantaine ont une activité provitaminique A, au niveau hépatique. Les caroténoïdes peuvent être soit des composés hydrocarbonés tels que le  $\alpha$ -carotène et le lycopène, ou des composés oxygénés (xanthophylles) tels que la zeaxanthine et la lutéine. Les rôles des caroténoïdes sont très diversifiés, mais souvent complémentaires. La tomate fournit 9 des 40 caroténoïdes présents dans le sang et les tissus. Elle contient majoritairement du lycopène (de 5 à 71 mg/kg), du  $\alpha$ -carotène (de 4 à 17 mg/kg) et de la lutéine (de 0,5 à 2 mg/kg) [32].

### 3.2. Chimie du lycopène

Le lycopène est un tétraterpène constitué de 8 molécules [isoprènes](#) :  $C_{40}H_{56}$ . C'est un caroténoïde acyclique polyinsaturé, contenant 11 doubles liaisons conjuguées dans la partie centrale de la molécule, et 2 autres doubles liaisons non conjuguées (figure 3) [33]. Sa couleur est due aux [liaisons covalentes](#) carbone-carbone [conjuguées, qui provoquent](#) une réduction d'énergie nécessaire à un électron pour passer à un [niveau d'énergie](#) supérieur. Cette caractéristique chimique permet à la molécule d'absorber progressivement des [longueurs d'onde](#) de plus en plus grandes de la [lumière visible](#). C'est un pigment liposoluble rouge, qui doit son nom, au nom latin de la tomate, *Lycopersicon esculentum*. Le lycopène, a un poids moléculaire de 536,89 g/mol [34]. La structure insaturée du lycopène, en fait un puissant « extincteur » d'oxygène singulet. Contrairement, à d'autres caroténoïdes, la structure du lycopène ne contient pas de cycle bêta-ionone à chaque extrémité de la chaîne et ne produit pas d'activité provitamine A [35].

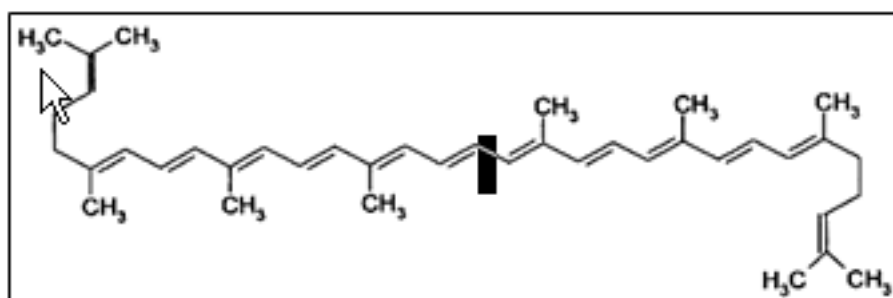


Figure 3 : Structure du lycopène

Le lycopène, pur se présente sous forme cristalline avec une couleur rouge à rouge orange son point de fusion est de 173°C sous vide. Il est insoluble dans l'eau à 20°C et même à 90°C, mais soluble dans les huiles végétales et les solvants organiques apolaires tels que l'éther de pétrole, l'hexane, le chloroforme et le benzène, il est peu soluble dans l'acétone et l'éthanol. Le spectre d'absorption du lycopène (3 mg/l dans l'hexane) présente trois maxima 444, 502, et 472 nm, cette dernière étant la longueur d'onde maximale. Le coefficient d'extinction moléculaire du lycopène  $E_{1\text{cm}}$  est de 3450 [36].

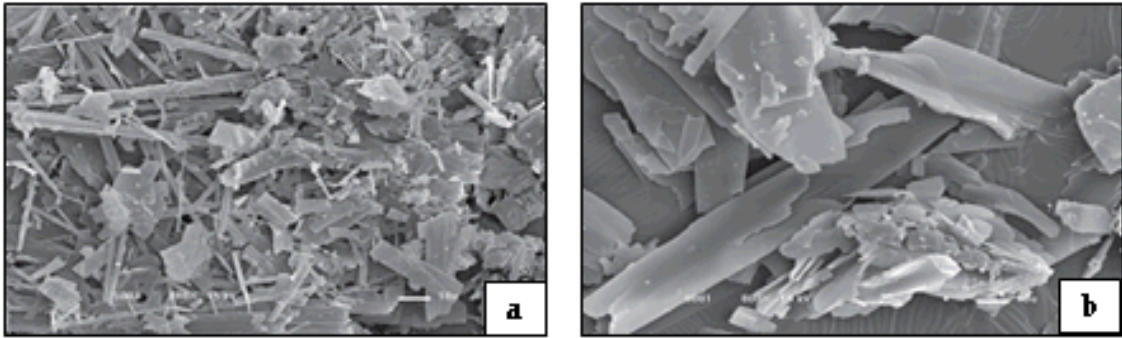
### 3.3. Stéréochimie du lycopène

À l'exception de la tomate cerise qui contient autant de formes *cis* que les formes *trans*, le lycopène dans le fruit de tomate se présente sous la configuration de type *trans* qui est la forme prédominante, comme il peut prendre la configuration *cis*, sous l'effet de la lumière (photodégradation) et de la chaleur (isomérisation) [37]. Dans le plasma humain, le lycopène est présent sous forme d'un mélange contenant 50 % de forme *cis* et 50 % de forme *trans* [38]. Le lycopène est stable lors d'entreposage et des traitements thermiques. De toutes les formes isomériques du lycopène, le 5-*cis* lycopène est la plus stable et compte le plus grand nombre de propriétés antioxydantes [39].

### 3.4. Stabilité et analyse du lycopène

Les procédés thermiques, tels la cuisson et le blanchiment représentent les principales causes de perte et de changement de la configuration du lycopène. Les isomères *cis* augmentent avec la température et le temps de transformation de l'aliment. La déshydratation et la fabrication de poudre de tomate rendent le taux de lycopène instable. Celui-ci demeure stable lors de la congélation et de la stérilisation [40]. Le lycopène est sensible à la lumière, à l'oxygène, aux températures élevées, aux acides, et aux ions métalliques comme le  $\text{Cu}^{2+}$  et le  $\text{Fe}^{3+}$  qui catalysent son oxydation [41]. Les méthodes généralement utilisées pour le dosage du lycopène extrait d'un milieu naturel sont basées sur la spectrophotométrie d'absorption dans le visible (Voir partie 2).

Dans le tissu de péricarpe des fruits mûrs des tomates, le lycopène est localisé dans les chromoplastes, sous forme de cristaux fins (figure 4), qui sont associés aux structures de la membrane [42]. La formation cristalline du lycopène est un facteur important influençant l'accessibilité du lycopène et, par conséquent, de sa disponibilité biologique.



**Figure 4 :** a ) Cristaux de lycopène naturel b) Cristaux de lycopène synthétique. Vue au microscope optique x 800 [40]

## 4. Les sources alimentaires de lycopène

A l'inverse d'autres caroténoïdes, on ne trouve du lycopène que dans un petit nombre de végétaux, principalement les fruits et les légumes de couleur rouge. La tomate et ses produits dérivés (jus, ketchup, sauces et pâtes) sont les sources de lycopène par excellence. Les autres sources alimentaires de lycopène sont la goyave rose, le pamplemousse rose, la papaye, l'abricot et la pastèque. En Occident, la tomate et les aliments à base de tomates fournissent plus de 85 % des besoins en lycopène [43].

### 4.1. Biodisponibilité du lycopène

De nombreux facteurs influencent la libération initiale des caroténoïdes de la matrice alimentaire et leur solubilisation dans les gouttelettes lipidiques au niveau de l'estomac et du duodénum. Les caroténoïdes sont en effet étroitement liés aux macromolécules dans la plupart des aliments (chloroplastes et chromoplastes des végétaux). Le lycopène est présent dans l'enveloppe cellulaire de la tomate, quand on la chauffe, on brise les parois de la cellule et le lycopène est libéré [44]. La dissociation des complexes protéines-caroténoïdes est ainsi favorisée par la dissolution ou dispersion d'agrégats cristallins de caroténoïdes [45].

La biodisponibilité du lycopène dépend de plusieurs facteurs. Il est mieux absorbé quand les aliments sont cuits et quand l'alimentation est riche en lipides (ingestion concomitante d'huile) [46]. Les formes *cis* (disponibles dans les produits transformés) ont une meilleure biodisponibilité que les formes *trans*, car plus solubles dans les sels biliaires et mieux incorporées dans les chylomicrons. Ainsi, la biodisponibilité du lycopène augmente par la transformation des tomates, comparativement aux tomates fraîches, celle-ci peut améliorer la l'absorption du lycopène en augmentant l'isomérisation, mais également en brisant les membranes cellulaires, rendant le lycopène plus accessible [47]. Chez l'Homme, l'absorption du lycopène provenant de source alimentaire est de l'ordre de 10 à 30% [48].

### 4.2. Biosynthèse du lycopène

Le lycopène est un caroténoïde synthétisé dans les plastes, par la voie de l'acide mévalonique. L'isopenténylpyrophosphate (IPP), par addition et isomérisation donne le diméthylallyl diphosphate, qui est le substrat actif nécessaire à la formation du géranylgeranyl pyrophosphate (GGPP) (C20), l'étape de condensation de deux molécules abouti au précurseur du premier caroténoïde, le phytoène (C40). Deux enzymes membranaires, la phytoène désaturase et la  $\beta$ -carotène désaturase convertissent le phytoène en lycopène via le  $\zeta$ -carotène [49]. La phytoène synthétase catalyse la réaction, en donnant un composé intermédiaire instable, le préphytoène pyrophosphate, celui-ci peut être le 15-*cis* ou les all-*trans*, selon la stéréochimie [50]. Une série de désaturations permet la création de doubles liaisons conjuguées qui forment le chromophore [51]. Le lycopène pourrait être oxydé en lycopène 5,6 époxyde (figure 5) et la fonction époxyde serait alors hydrolysée en présence d'acides, où réduite par un système métabolique. Ces deux métabolites du lycopène sont présents dans les produits à base de tomates, mais à des concentrations qui ne permettent pas d'expliquer les taux de 5,6-dihydroxy-5,6-dihydrolycopène observés dans le plasma [52].

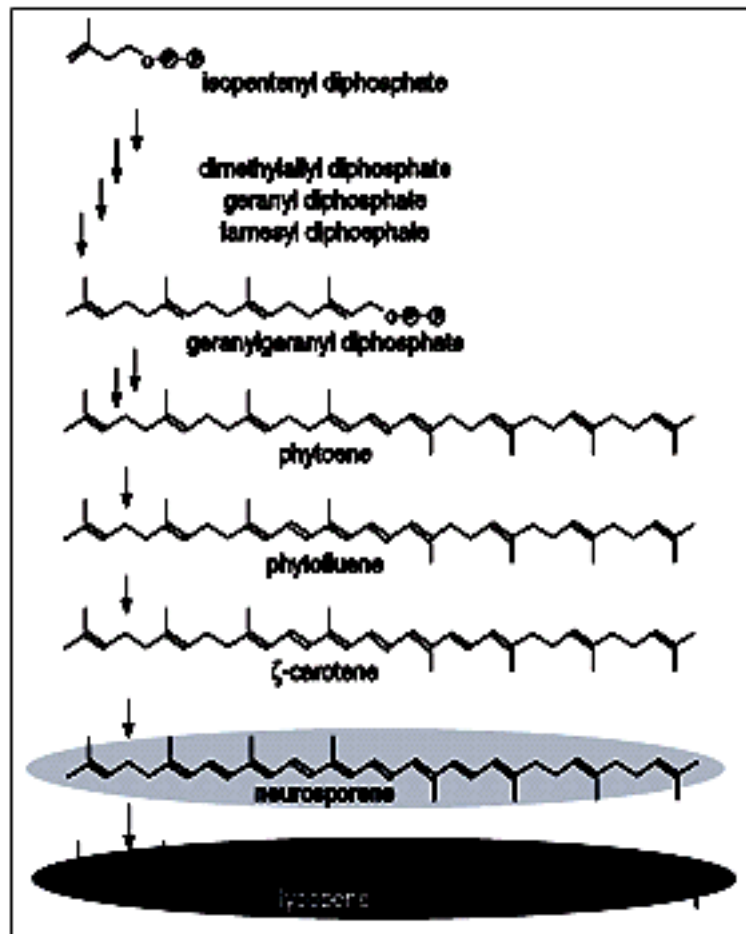


Figure 5 : Diagrammes de la chaîne de biosynthèse du lycopène [49].

### 4.3. Digestion - Absorption du lycopène

Le lycopène est dissous dans les gouttelettes de lipides issues des aliments, dans l'estomac et le duodénum. Les lipides alimentaires, jouent un rôle important dans la dissolution

des substances caroténoïdes et leur absorption subséquente, car, l'ingestion simultanée de lipides stimule le flux biliaire, et la sécrétion des enzymes pancréatiques, permettant la formation des micelles. L'isomère *cis* présente une meilleure biodisponibilité que le *trans*, probablement parce qu'il est plus facilement solubilisé par les sels biliaires et ainsi plus facilement incorporé aux chylomicrons [53]. Après la formation de la micelle et la solubilisation du lycopène, ce dernier passe dans les cellules de la muqueuse intestinale par diffusion passive où il sera incorporé aux chylomicrons (figure 6). Un pourcentage élevé de l'isomère *cis* est présent dans les tissus comparativement à l'isomère *trans* qui est moins absorbé [54]. La capacité des micelles mixtes à incorporer les caroténoïdes varie en fonction de leur structure et de la composition lipidique des micelles, notamment en acides gras polyinsaturés [55]. Les fibres alimentaires diminuent la biodisponibilité du lycopène, contrairement à la présence de  $\alpha$ -carotène qui est favorisée [56]. Plus de 50 caroténoïdes sont présents dans notre alimentation et sont susceptibles d'être dégradés dans l'estomac et dans l'intestin ou d'être absorbés, métabolisés et utilisés par l'organisme [57].

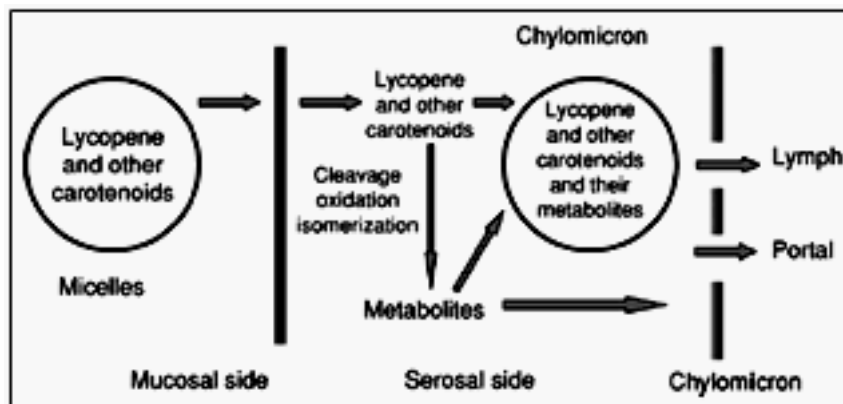


Figure 6 : Localisation de l'absorption du lycopène [53]

Les mécanismes d'absorption et du métabolisme du lycopène, demeurent encore incomplètement élucidés, en raison de l'existence d'une grande variabilité interspécies.

De nombreux travaux, en cours, s'attachent à définir les mécanismes d'absorption compétitive entre caroténoïdes ou entre caroténoïdes et autres molécules lipidiques comme la vitamine E [58]. Une fois dans la circulation, le lycopène est véhiculé par les lipoprotéines : VLDL et chylomicrons d'abord, HDL et LDL ensuite (les LDL en contiennent le plus). Il se répartit dans l'organisme, en particulier dans le tissu adipeux où il est stocké à des taux élevés, dans la prostate, le liquide séminal, les testicules les surrénales, les seins et le foie [59].

## 5. Répartition du lycopène dans les tissus

Le lycopène est distribué partout dans le corps humain dès son absorption, les taux les plus élevés sont observés dans les testicules. Le tableau 2, montre les concentrations de lycopène dans différents tissus chez l'humain. Quelques données disponibles démontrent que le lycopène, tout comme d'autres substances caroténoïdes, n'est pas distribué également dans les tissus, ce qui laisse supposer la présence de mécanismes par lesquels certaines substances caroténoïdes peuvent exercer un effet biologique exclusif [60]. Le

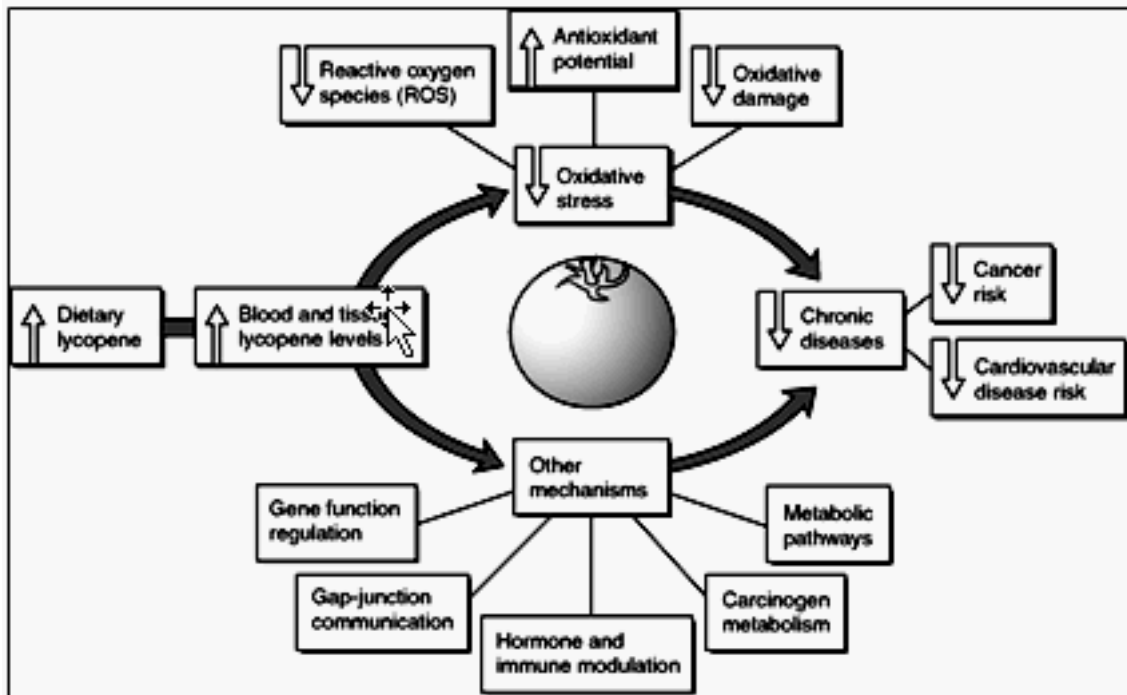
lycopène se retrouve en plus grande quantité dans la prostate, étant donné sa richesse en récepteurs de lipoprotéines que d'autres tissus [61].

Tableau 2 : Répartition du lycopène dans les organes [61]

Tissus	Concentration en lycopène en nmol/g de poids
Testicules	4,34 à 21,36
Glandes surrénales	1,90 à 21,60
Foie	1,28 à 5,72
Prostate	0,80
Seins	0,78
Pancréas	0,70
Poumon	0,22 à 0,57
Rein	0,15 à 0,62
Colon	0,31
Peau	0,42
Ovaires	0,30
estomac	0,20

## 6. Rôles biologiques du lycopène

En raison de sa nature hautement insaturée, la molécule de lycopène avec ses propriétés antioxydantes a occupé l'intérêt des chercheurs quant à son rôle biologique. Les radicaux oxygénés libres et les processus oxydatifs sont impliqués dans la physiopathologie de plusieurs maladies chroniques. Le lycopène serait l'un des antioxydants les plus puissants parmi toutes les substances caroténoïdes, lui conférant ainsi un rôle potentiel dans la prévention des cancers et de l'athérosclérose, en diminuant les dommages causés par l'oxydation tant au niveau des lipides et des lipoprotéines (athérosclérose), des protéines (vieillessement et diabète) et de l'ADN (cancérogenèse) (figure7). Les propriétés antioxydantes du lycopène sont en réalité des propriétés antiradicalaires, il neutralise l'oxygène singulet (forme active de l'oxygène), et piègent les radicaux peroxydes (radicaux libres de l'oxygène) [62]. Il intervient dans la communication cellulaire, ce qui, avec ses effets antiradicalaires, expliquent sans doute en partie, son rôle protecteur possible dans la survenue de certains cancers, en particulier le cancer de la prostate [63]. Le lycopène améliore également les communications intercellulaires directes par gap-jonctions. L'interaction avec d'autres antioxydants comme la vitamine E (  $\alpha$ -tocophérol) prône l'effet de synergie [64]. Toutefois, d'autres études démontrent maintenant que le lycopène peut aussi conférer son effet protecteur, par d'autres mécanismes. Ceux-ci comprennent la régulation de l'expression génique, la communication par jonction lacunaire, la modulation hormonale et immunitaire, le métabolisme carcinogène, les voies métaboliques comprenant les enzymes de métabolisme, ainsi que les voies cycliques cellulaires et la prolifération [65].



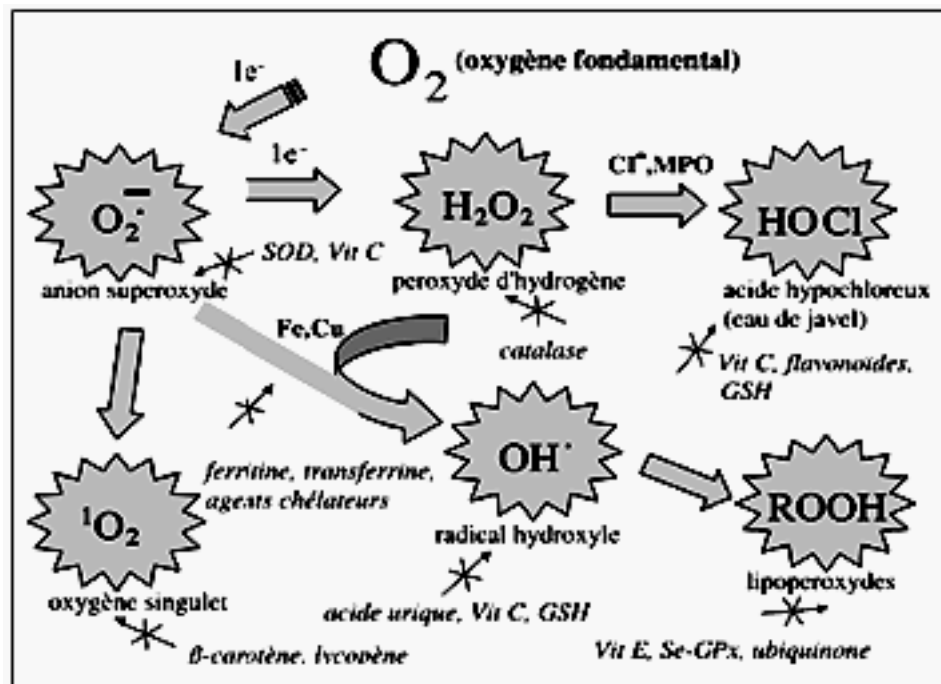
*Figure 7 : Mécanismes proposés pour le rôle du lycopène dans les maladies chroniques [64].*

## 6.1. Lutte contre le stress oxydatifs

Notre organisme est soumis en permanence à un stress oxydant, résultant d'un déséquilibre entre les systèmes de défenses antioxydants et la production de radicaux libres. Le stress oxydant a des effets délétères sur les tissus et induit une augmentation du risque de cancers, de maladies cardio-vasculaires, d'ostéoporose et de maladies inflammatoires [66] .

Le lycopène apporté par l'alimentation, contribue à limiter ce stress oxydant et probablement à atténuer et/ou prévenir le développement de ces pathologies [67]. Plusieurs effets biologiques imputés aux substances caroténoïdes se rapportent à leurs capacités à protéger contre les dommages oxydatifs [68]. Le transfert de l'énergie d'excitation de l'ion d'oxygène vers la molécule de lycopène produit une molécule d'oxygène plus stable et une molécule de lycopène en état d'excitation qui dissipera son excédent d'énergie au niveau des doubles liaisons conjuguées sous forme de chaleur [69]. Les mécanismes de défense, contre l'oxydation, sont génétiquement programmés, comme la production d'enzymes superoxyde dismutase et glutathionperoxydase (figure 8). Par contre, d'autres mécanismes proviennent de composés alimentaires comme la vitamine C, la vitamine E et le sélénium et probablement de substances caroténoïdes, améliorent certains marqueurs du stress oxydatif [70]. Le lycopène étant hautement hydrophobe, et principalement situé dans les membranes, son action à contrer les radicaux libres, est probablement limitée à cet endroit [71].





**Figure 8 :** Régulation de la production d'espèces réactives de l'oxygène (ERO) par le système de défense antioxydant [66].

La communauté scientifique s'accorde sur le fait que le stress oxydant est impliqué dans l'étiologie de l'athérosclérose, et que celui-ci entraîne l'oxydation des lipides et des protéines dans la paroi vasculaire. Des études épidémiologiques soutiennent l'hypothèse que les caroténoïdes (y compris le lycopène) pourraient protéger les cellules du stress oxydant. Les effets bénéfiques sur la santé qu'apportent les tomates et les produits dérivés ont été examinés depuis des années, mais les explications scientifiques de ces effets, ainsi que l'interaction du lycopène avec d'autres ingrédients de la tomate, n'ont pas été entièrement élucidées [72].

## 6.2. Prévention contre maladies cardiovasculaires

Plusieurs études d'observation ont été réalisées avec les caroténoïdes et/ou avec le lycopène. Elles ont été réalisées avec deux types de marqueurs, les apports alimentaires d'une part et les concentrations plasmatiques d'autre part. Ces études montrent que des apports élevés en lycopène et/ou des teneurs plasmatiques élevées en lycopène, sont associées à une réduction d'environ 20 à 30 % du risque cardiovasculaire, persistant après ajustement sur les facteurs confondants [73]. Il faut rester prudent, dans l'expression des données suggérant que le lycopène diminue ce risque, car aucune étude d'intervention n'a été réalisée.

Les mécanismes invoqués (figure 9), sont liés aux effets du lycopène sur l'oxydation des LDL dont on pense (arguments expérimentaux, cliniques et épidémiologiques), qu'elle est impliquée dans l'athérogénèse. Toutefois, il n'y a pas de preuve définitive du rôle des nutriments à effet antioxydant dans la prévention du risque cardiovasculaire [74]. Le lycopène pourrait également agir comme hypocholestérolémiant en inhibant l'activité de l'hydroxy-3-méthyl glutaryl coenzyme A réductase (HMGCoA) [75]. Les antioxydants pourraient réduire la progression de l'athérosclérose en inhibant les dommages causés par



le processus d'oxydation. La relation entre le bilan d'antioxydant dans les tissus, et les infarctus aigus du myocarde a été évaluée dans une étude multicentrique cas/témoins [76]. Un taux de lycopène sanguin faible, a également été associé à une augmentation du risque de mortalité par maladie cardiovasculaire [77]. Le lycopène a aussi démontré qu'il pouvait faire diminuer de manière significative les taux de LDL oxydés, lesquels sont considérés comme un facteur de risque de coronaropathie [78]. Il demeure tout de même beaucoup de points, mal compris concernant la biodisponibilité, le métabolisme et les mécanismes moléculaires impliqués dans les activités biologiques du lycopène. Des données récentes ont suggéré que les fonctions biologiques du lycopène ne seraient pas dues à la molécule elle-même, mais à la formation des métabolites de lycopène. Aussi, le lycopène pourrait moduler l'expression génétique par un mécanisme non relié à ses propriétés redox [79].

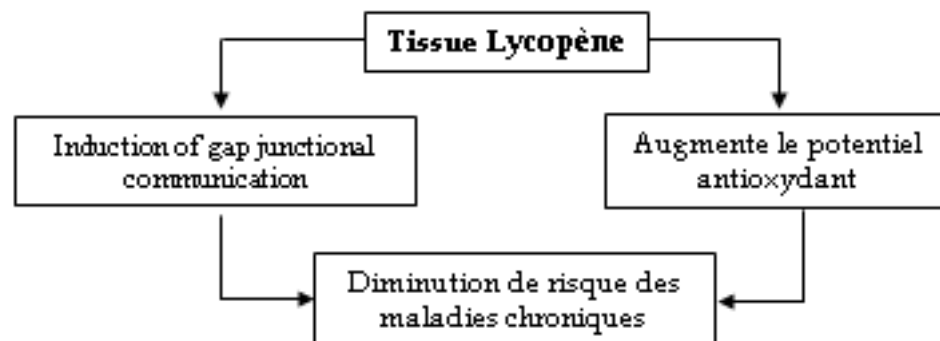


Figure 9 : Processus cellulaire du lycopène

### 6.3. La prévention du cancer

Bien que le cancer en général et le cancer de la prostate en particulier aient été au centre de la plupart de la recherche effectuée jusqu'à maintenant sur le lycopène, des études ont montré une incidence plus faible du cancer de la prostate chez des populations consommant de grandes quantités de tomates et de produits à base de tomates [80]. L'estimation de l'apport en lycopène par les produits de la tomate est inversement proportionnelle au risque de cancer de la prostate, une réduction de près de 35 % du risque de ce cancer est observée avec une consommation de 10 portions et plus par semaine de produits de la tomate [81]. Le lycopène a montré une diminution des taux de PSA et de progression du cancer de la prostate chez des patients au diagnostic récent qui recevaient 15 mg de lycopène chaque jour pendant les trois semaines précédant une prostatectomie radicale. Ces observations émettent tout de même la possibilité que le lycopène participe non seulement à la prévention de cancers, mais qu'il joue un rôle dans le traitement de la maladie [82]. Dans une étude *in vitro*, le lycopène était plus puissant que les  $\alpha$ - et  $\beta$ -carotènes à inhiber le développement de cellules cancéreuses. Il possède un pouvoir antiprolifératif sur les cellules cancéreuses en général [83], et sur les lignées tumorales prostatiques notamment [84].

En effet, le lycopène, peut agir au niveau cellulaire en régulant le cycle cellulaire, en activant les enzymes. L'enrichissement en lycopène augmenterait les communications intercellulaires des cellules fibroblastiques d'embryons de souris [85]. Il a été suggéré que la diète méditerranéenne, riche en fruits et légumes, notamment en tomates, soit responsable de la faible incidence de cancer dans cette région [86]. Le lycopène régule aussi des gènes intervenant dans la cancérogenèse [87]. Selon une autre étude, le lycopène serait efficace contre l'hypertrophie bénigne de la prostate (HBP). Celle-ci est la première à montrer un effet clinique du lycopène sur le grossissement de la prostate. Les scientifiques restent tout

de même partagés sur le rôle exact du lycopène dans la prévention du cancer de la prostate [88]. Cependant, des études récentes d'intervention ont démontré un effet supérieur sur le cancer de la prostate de la tomate par rapport au lycopène chez l'animal et chez l'homme [89].

Dans l'état actuel des connaissances, le rôle des anti-oxydants dans la protection contre les cancers constitue une piste de recherche intéressante et ne peut aboutir à des recommandations pratiques, en dehors de celles qui visent à augmenter les aliments sources de ces micronutriments, notamment les fruits et légumes [90].

### 6.4. Action du lycopène sur les autres pathologies

---

Après le cancer et la coronaropathie, des études se penchent maintenant sur le rôle du lycopène dans d'autres maladies humaines. Des études, menées sur l'action du lycopène dans la prévention de l'ostéoporose, ont démontré que le lycopène stimule la prolifération et le marqueur de formation des os, l'activité phosphatase alcaline des ostéoblastes et qu'il réduisait l'activité de résorption des os et la formation d'ostéoclastes multinucléés [91]. Ces résultats, portent à croire que le lycopène cause une réduction des marqueurs du stress oxydant et des taux de renouvellement des cellules osseuses chez des femmes post ménopausiques [92].

La consommation de lycopène, chez des sujets légèrement hypertensifs a résulté en une réduction significative de la tension artérielle systolique et diastolique [93]. Un autre important trouble de la santé chez l'humain, est l'infertilité masculine. Le sperme humain, qui contient des taux élevés d'acides gras insaturés dans la membrane cellulaire, présente un risque élevé de dommages oxydatifs, lesquels mènent à une fonction anormale. Des hommes infertiles ayant reçu 8 mg de lycopène par jour sous forme de gélule, ont connu une amélioration significative de la qualité du sperme, incluant un accroissement de la densité, de la concentration fonctionnelle et de la mobilité [94]. Après avoir traité ces hommes par le lycopène pendant 12 mois, on a rapporté un taux de grossesse de 36% chez leurs partenaires.

L'emphysème est un trouble de santé humaine important qui est associé, entre autres facteurs, avec l'habitude de fumer. Le lycopène provenant de jus de tomates a conféré, à des souris, un effet protecteur significatif contre les troubles alvéolaires causés par la fumée. Ce qui laisse présager, d'un effet protecteur contre l'asthme et l'emphysème [95].

Dans une étude clinique, le traitement de patientes souffrant de prééclampsie, le traitement à l'aide d'un supplément de lycopène, a réduit de façon significative l'incidence de prééclampsie, la tension artérielle diastolique et le retard de croissance intra-utérin [96].

Bien que, la majorité des preuves qui soutiennent le rôle du lycopène dans les maladies humaines reposent sur des études épidémiologiques, plusieurs études sur le terrain chez l'humain sont actuellement en cours. En considérant les observations tirées de ces études, il est raisonnable de conclure que le lycopène est un phytonutriment bénéfique aux propriétés antioxydantes puissantes, qui joue un rôle important dans la prévention de bon nombre de maladies chroniques. Des données, révèlent que l'apport alimentaire en lycopène de la majorité des humains est très inférieur à ce qui est actuellement considéré comme un taux recommandé, soit 5 à 7 mg chaque jour [97].

Par conséquent, les prochaines études devraient se pencher sur la biodisponibilité, le métabolisme, les mécanismes d'action et l'innocuité du lycopène pour qu'il devienne un agent phytochimique, participant à la prévention de maladies chez l'humain.

# Partie 2 : Optimisation des rendements d'extraction du lycopène des pelures de tomates lyophilisées.

## 1. Optimisation des extractions du lycopène

### 1.1. Introduction

---

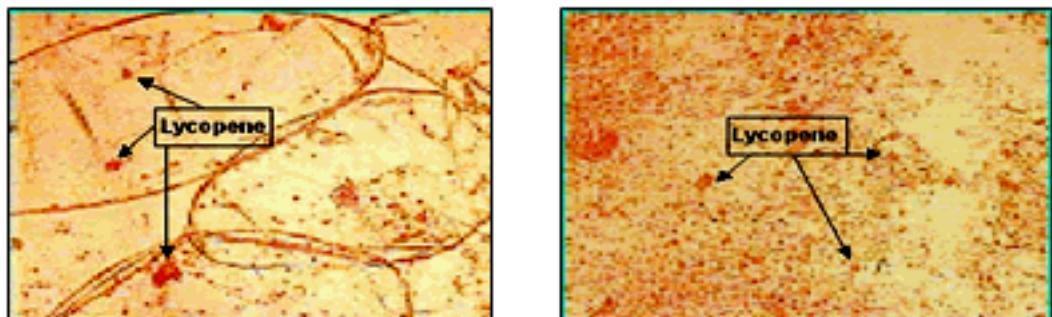
La tomate est l'une des plus importantes récoltes agricoles au monde. C'est le deuxième légume consommé après la pomme de terre. La consommation alimentaire de la tomate et de ses dérivés, contenant du lycopène, est associée, dans de nombreuses études, à un risque réduit de maladies cardiovasculaires[1]. L'industrie de transformation des tomates génère des résidus de biomasse sous forme de peaux, graines et matière fibreuse. Ceux-ci peuvent être la source de pollution environnementale, en tant que substrat pour les insectes et de prolifération microbienne [2].

Des quantités importantes de sous-produits des tomates transformés en jus, concentré, pâtes et ketchup, sont rejetées dans la nature, alors que les biotechnologies courantes permettent leur recyclage, afin d'obtenir des bioproduits avec une valeur ajoutée. Ces sous-produits ou coproduits constituent, un vrai problème de gestion pour les industriels, tant par leurs compositions, que par leur impact sur l'environnement. Il s'agit de millions de tonnes, qui nécessitent une approche de valorisation innovante pour en tirer un meilleur profit [3]. L'utilisation des sous-produits de transformation industrielle de la tomate est restreinte à la production de compléments de fibres dans l'alimentation de bétail ou source d'énergie [4]. Un regain d'intérêt s'est manifesté chez les industriels afin d'optimiser l'exploitation du végétal. Ainsi, ces sous-produits sont orientés en tant que matière première pour l'extraction de phytonutriments tel que le lycopène, dont les effets et applications bénéfiques sur la santé sont bien reconnus[5]. En effet, l'autorité Américaine *Food and Drug Administration* (FDA) a approuvé l'utilisation du lycopène comme colorant alimentaire naturel inoffensif, et a autorisé l'allégation de son effet bénéfique, dans la prévention de certains cancers [6].

Les pelures de tomate, représentant près de 35% des résidus, constituent une source non négligeable de polyphénols, d'acide ascorbique et de caroténoïdes (dont 85 % est constitué par lycopène). La fraction insoluble dans l'eau des pelures ou peaux contient 75% du lycopène total[7]. En effet, les pelures de tomates contribueraient en moyenne avec 53% en polyphénols totaux, 60% en lycopène et 45% en vitamine C. Ce qui représente, près de 60% de l'activité antioxydante totale de la tomate [8]. Tous ces composés s'accumulent majoritairement dans la peau et les couches cellulaires de l'hexocarpe. Ainsi, les pelures de tomates présentent des teneurs en lycopène, cinq fois plus que la pulpe [9]. Cette molécule, offre de grandes possibilités d'incorporation dans les produits alimentaires comme colorants (diluer dans l'huile), dans les produits cosmétiques, sous forme de cire pour des applications dans les soins de la peau, et dans l'industrie pharmaceutiques, sous forme de capsule pour des préparations thérapeutiques [10].

## 1.2. Récupération de la matrice par épluchage

La disponibilité du lycopène, est fonction de l'état des matrices (figure 1). Dans notre cas, les pelures de tomates destinées à la valorisation doivent être isolées dans les meilleures conditions. La vapeur d'eau, additionnée à une lessive de soude, est souvent employée pour l'épluchage des tomates. C'est une opération qui a pour but la séparation des peaux du reste de la pulpe [11]. Beaucoup de variantes, utilisent la vapeur d'eau par jet pendant quelques secondes, puis pulvérisations à l'eau froide, de manière à séparer la pelure par un simple déplacement. Cette opération se rencontre souvent lors de la production des coulis de tomates en conserves. Il existe aussi le prétraitement avec de l'acide sorbique [12]. Un traitement avec de l'acide octanoïque à 0.15% pendant 30 seconde à une température de 65°C est souvent préféré à un bain caustique, tout en réduisant au minimum les pertes de pelures dans les déchets à récupérer [13]. La pelure peut être également séparée par une technique de flottaison sédimentation, pour faciliter une meilleure extraction du colorant [14].

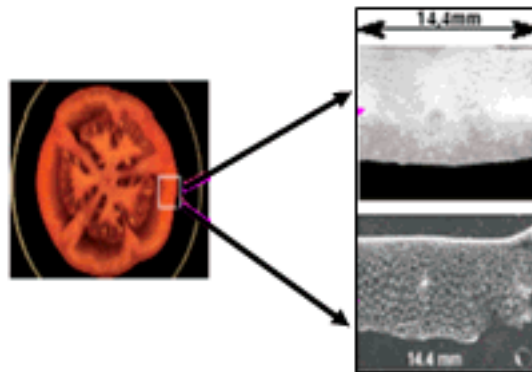


*Figure 1 : Microphotographie de caroténoïdes dans une tomate crue (a), et dans le jus de tomate (b).*

## 1.3. Structure de la matrice

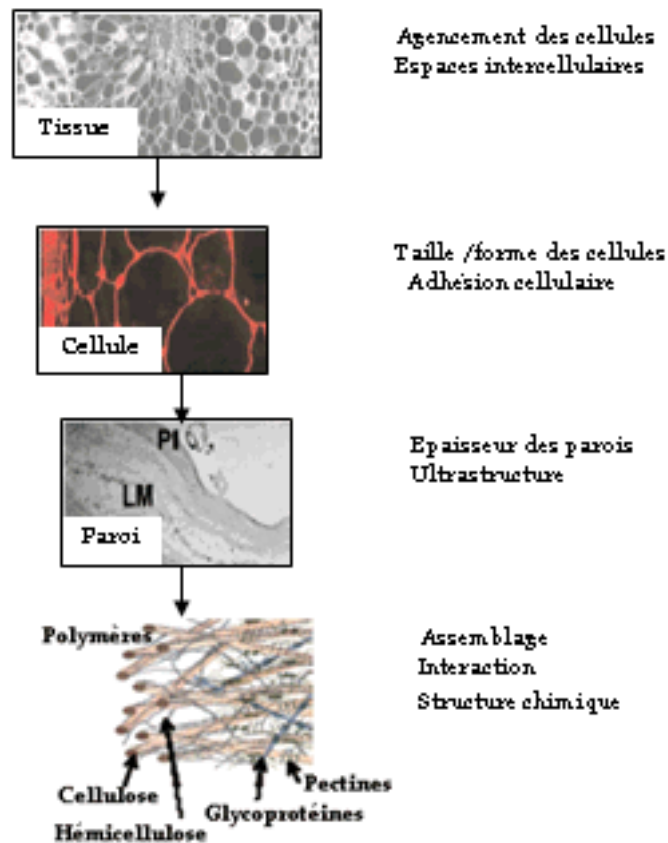
La peau de tomate se compose de quatre couches de cellules sous une cuticule mince (figure 2). Dans toutes les parois des cellules végétales, les polysaccharides sont les constituants prédominants, avec une répartition de 30% de cellulose, 30% d'hémicellulose, 35% de pectine, et 5% de protéine. Aux étapes de maturation plus tardives, la lignine peut également être trouvée en grande quantité [15]. La chair du fruit, composée du mésocarpe et de l'endocarpe, est majoritairement constituée de cellules parenchymateuses possédant une large vacuole [16]. L'exocarpe est constitué de couches de petites cellules épidermiques recouvertes d'une couche cuticulaire, les parois de chacune des cellules sont séparées par une couche riche en pectine (lamelle moyenne). La pectine se désagrège par action d'endopolygalacturonase, permettant la séparation des cellules. Les tissus vasculaires (phloème et xylème) sont constitués de cellules allongées lignifiées, ils sont présents dans des parois locales et de la columelle [17].

La maturation du fruit de tomate est caractérisée par une accumulation massive des caroténoïdes (principalement le lycopène) lorsque les chloroplastes changent en des chromoplastes. Le saccharose et les hexoses accélèrent la cinétique de l'accumulation de caroténoïde dans les disques de périsperme de fruit de tomate. Cet effet résulte d'une combinaison métabolique de la voie de biosynthétique des caroténoïdes [18].



**Figure 2 :** *Microstructure du péricarpe de la tomate*

Le ramollissement du fruit est associé aux modifications de la composition des hémicelluloses de la paroi cellulaire et des pectines de la lamelle moyenne [19]. La paroi cellulaire, est un assemblage complexe de macromolécules constitutives avec trois réseaux; un réseau hémicellulose-cellulose (rigide), un réseau de polysaccharides matriciels (pectines) et un réseau de protéines structurales (figure 3). Les variations texturales seront très dépendantes des propriétés de l'épiderme [20]. L'aspect peau gênante, difficile à avaler du fruit de tomate est fortement conditionné par l'épaisseur de l'exocarpe [21]. Les personnes allergiques au latex peuvent démontrer une hypersensibilité à la tomate. Celle-ci pourrait être incriminée dans le syndrome d'allergie orale (démangeaisons et sensation de brûlure) [22]. Des travaux réalisés sur l'extrait de pelure de tomate, ont montré une forte inhibition sur le dégagement de l'histamine. La présence de la substance naréginine chlorogénique (la chalcone de narigenine) dans l'extrait pourrait empêcher les réactions d'allergies [23]. Plusieurs protéines semblent être impliquées dans l'allergie des peaux de tomates.



*Figure 3 : Les différentes échelles des parois impliquées dans la structure des pelures de tomates.*

#### 1.4. Présentation de la matrice

Les pelures de tomates sont récupérées avec des teneurs en eau élevées (près de 80%), ce qui ne facilite pas leur conservation et leur exploitation, devenant susceptible à la détérioration. Il est donc nécessaire, de procéder à la réduction du contenu d'eau à un niveau qui permettra leur stockage sur une longue période. Les techniques de séchage traditionnel ou industriel sont suggérées pour une exploitation efficace des sous-produits. La réduction de la teneur en eau induit la réduction substantielle du poids et du volume, en réduisant les coûts d'emballage, de stockage et de transport [24]. Le séchage industriel peut être réalisé par l'air chaud, comme on peut utiliser des dessiccateurs solaires pour le séchage des pelures dans des conditions de respect de l'environnement [25,26]. Des connaissances dans la conception, la simulation et l'optimisation du séchage sont requises pour l'obtention d'un produit de qualité. Ce processus dépendra de la technique de séchage adoptée et des paramètres telles que l'humidité, la taille des segments, la température, la vitesse et l'efficacité du système de séchage [27]. L'exemple du séchage par atomisation, caractérisera un produit de haute densité et une grande solubilité, la poudre de tomate, obtenue est appréciée, car elle offre beaucoup d'avantages d'utilisation. Plus la teneur en eau est faible, plus la densité de la masse et la solubilité sont élevées, meilleure sera considérée le produit [28]. Le séchage des pelures de tomate peut causer des dommages de type oxydatif qui se traduit par des pertes marquées en vitamine C et une augmentation du contenu du HMF, avec comme résultat, les changements indésirables de la couleur

et de l'aspect [29 , 30]. Cependant, des précautions sont à prendre pour éviter, les biodégradations dues principalement à l'isomérisation [31 , 32]. Une isomérisation très marquée, peut mener à une réduction de la bioactivité du lycopène, de ce fait, l'évaluation réelle de la qualité des pelures déshydratées dépendra non seulement de la teneur totale en lycopène mais aussi de la distribution en ses isomères (conversion des *trans* isomères en *cis* isomères) [33]. Un séchage partiel des pelures de tomate maintiendrait des niveaux élevés des composés antioxydants [34]. Le séchage par lyophilisation offre les meilleures caractéristiques du produit séché en préservant tous les composés biologiques de la matrice garantissant une meilleure qualité [35]. Par ailleurs, l'utilisation d'un modèle de simulation est un outil intéressant pour la prévision de l'exécution des systèmes de séchage [36].

#### **1.4.1. Prétraitements de la matrice**

Les opérations de séchage peuvent être améliorées par des prétraitements des pelures par des solutés binaires, tels le saccharose et le chlorure de calcium, en vue d'une déshydratation osmotique pour prévenir l'altération de la texture. La couleur peut être préservée en utilisant la solution de l'amidon modifié comme une couche comestible, afin de prévenir les réactions d'oxydation du lycopène [37]. La déshydratation osmotique peut être une méthode de choix pour réduire au minimum les altérations des composants nutritionnels [38]. Le calcium préserve la structure des parois cellulaires, par interaction avec l'acide pectique dans la paroi cellulaire pour former le pectate de calcium, qui permet de maintenir la fermeté du produit après différents traitements [39].

### **1.5. Méthodes d'extraction**

---

Les méthodes conventionnelles d'extraction du lycopène emploient des solvants organiques purs tels que le dichlorométhane, l'éthanol, l'acétone, l'hexane, le benzène et le chloroforme [40]. L'éther de pétrole était également employé pour l'extraction de lycopène [41]. Le plus souvent, les extractions sont effectuées par un mélange de solvants polaire-polaire ou polaire-apolaire dans différents rapports [42]. Malgré leur usage fréquent, ces méthodes présentent des inconvénients intrinsèques, à savoir, le long temps d'analyse, l'occurrence des erreurs potentielles dues à l'oxydation ou à d'autres pertes rencontrées pendant l'extraction elle-même [43]. La mixture hexane-acétone-éthanol est souvent employée [44]. Par ailleurs les extraits de lycopène obtenus avec la mixture l'hexane/acétone où hexane/éthanol, présentent une plus grande stabilité, que ceux obtenus avec d'autres solvants, tels que le chloroforme ou le dichlorométhane [45]. Les solvants tels que le diéthyl éther et le tétrahydrofurane peuvent contenir des peroxydes qui réagissent avec caroténoïdes [46]. Bien que fiables, ces analyses conventionnelles du lycopène exigent l'utilisation d'importantes quantités de solvants organiques volatils pour chaque échantillon. Pour l'usage courant, ceci se transforme par multiplication en de grands volumes de déchets dangereux qui sont coûteux et qui doivent être éliminés sous les directives environnementales strictes. Ces mêmes techniques, ont été modifiées et améliorées dans l'objectif de réduire (jusqu'à 80%) les volumes de solvants organiques utilisés. Celles-ci donnent statistiquement des résultats identiques avec des procédures conventionnelles d'extraction de ce type [47]. L'instabilité du lycopène pendant les processus d'extraction, de manipulation, et de l'élimination des solvants organiques fait que l'extraction demeure une tâche extrêmement sensible [48].

Des techniques d'extraction qui tiennent compte de la fiabilité des résultats, sans impact néfaste sur l'environnement ont été développées. Il s'agit de l'extraction liquide supercritique



(SFE) [49]. Dans ce cas, des huiles végétales sont employées comme stabilisateurs, ou co-solvants [50]. L'emploi de cette technique, évite la contamination des échantillons, les pertes, et réduit au minimum les réactions de dégradations (isomérisation et oxydation), en donnant des extraits de grande pureté. Des travaux ont décrit un processus d'extraction de lycopène basé sur l'utilisation du gaz de CO<sub>2</sub> en phase supercritique, avec un rendement de plus de 60%, des résidus de tomate [51]. L'avantage thermodynamique, d'utiliser le fluide supercritique, est sa facilité de séparation des corps dissous extraits, en modifiant simplement les conditions de pression et de température. Les fluides supercritiques se caractérisent par des masses de transfert supérieur, comparé aux solvants organiques [52]. Il existe tout de même, une convenance de l'extraction liquide supercritique comme alternative à l'extraction conventionnelle de solide-liquide [53]. La SFE exige également des co-solvants polaires (éthanol à 5%), pour faciliter l'extraction du lycopène. Les rendements d'extraction de l'ordre de 54% sont obtenus. Les co-solvants, miscibles avec de l'eau (par exemple, acétone et méthanol) sont employés avec des rendements d'extraction plus élevés que l'éthanol; d'autres sont non-miscibles avec de l'eau (par exemple, hexane et dichlorométhane) donnent de faibles rendements d'extraction [54]. Dans le cas du lycopène, lorsque les rendements d'extraction sont inférieurs à 50%, la technique ne trouve pas d'application industrielle, même si l'efficacité peut être améliorée en augmentant la température d'extraction, mais cela se fera au détriment de la stabilité de lycopène [55]. Malgré tous ses avantages, la technique du SFE reste tout de même coûteuse et non rentable [56]. La plupart, des solvants utilisés dans les différents types d'extraction (solvants non polaires qui ont une efficacité élevée d'extraction) sont considérés comme toxiques. Cependant, l'usage de solvants organiques tels que l'acétate d'éthyle et l'hexane, est approuvé pour des applications alimentaires dans beaucoup de pays [57].

### 1.5.1. Méthode basées sur l'indice de couleur

La détermination directe par la mesure de la couleur et d'autres propriétés optiques d'un homogénat de tomates ou produit de tomates, pourrait être une alternative intéressante, par l'utilisation d'un colorimètre de réflectance ou l'intensité de couleur de la tomate devrait correspondre au contenu du lycopène total [58]. Cette méthode photothermique appropriée aux mesures quantitatives directes, précises et fortement reproductibles reste au stade expérimental. La précision intrinsèque de la méthode et sa répétitivité, présente un intérêt car elle n'exige pas de traitement préparatoire de l'échantillon, les risques de contaminations, les réactions d'isomérisation et d'oxydation sont limités ou complètement évités [59]. La spectrophotométrie basée sur la mesure de la réflectance diffusée, est capable de fournir en peu de temps la concentration en lycopène [60].

### 1.5.2. Traitement enzymatique des matrices avant extraction

Dans un souci d'optimiser les rendements d'extraction du lycopène dans les matrices végétales, des prétraitements des tissus sont réalisés par l'usage d'enzymes hydrolytiques (cellulases et pectinases), qui dégradent les parois cellulaires, en vue de rendre plus disponible le contenu intracellulaire [61]. La solubilisation marquée des pectines, se produit pendant la maturation de la tomate. Par conséquent les pectines de lamelle moyenne se désagrègent, en faisant intervenir, la pectinéméthylestérase et la polygalacturonase qui décomposent les chaînes de pectine dans le tissu de tomate [62]. Les prétraitements par des enzymes agissant sur la structure des parois cellulaires ont été utilisés sur un certain nombre de végétaux, telles les carottes, patates douces et peaux d'orange [63].



## 1.6. Quantification

La quantification des teneurs en lycopène, est très importante pour l'expression de la valeur nutritionnelle et, est essentielle pour la détermination du potentiel effet bénéfique des tomates. La teneur en lycopène des tomates, varie considérablement en fonction de la variété (facteurs génétiques), de la maturité, et des conditions agronomiques et environnementales [64]. Bien que la quantification du lycopène dans des produits de tomate puisse être considérée comme une opération analytique relativement simple, il y a plusieurs problèmes, en particulier concernant la phase d'extraction, car les caroténoïdes sont partiellement cristallisés, fortement liés aux protéines et enfermés dans les structures de chloroplaste. Plusieurs mesures conservatoires sont nécessaires pour obtenir des données fiables [65,66]. La quantification des teneurs en lycopène peut être mesurée, soit par spectrophotométrie (figure 4), ou par HPLC, de même que par l'indice de couleur, mais dans tous les cas, un bon taux de l'extraction, des échantillons est essentiel, pour la fiabilité et l'exactitude des résultats. La spectrophotométrie, est intéressante pour l'usage d'un nombre important d'échantillons, et donne également des résultats reproductibles. L'avantage de l'HPLC, c'est la séparation/identification des caroténoïdes individuels aussi bien que leur quantification. Celle-ci exige une pureté des réactifs, des phases mobiles et des étalons [67]. Des corrélations élevées ( $R^2 = 0.99$ ) ont été trouvées entre les concentrations du lycopène obtenu par la spectrophotométrie et par HPLC [68]. Souvent les travaux s'étalent à optimiser les taux d'extraction et les teneurs en lycopène par étude comparatives en les deux méthodes.

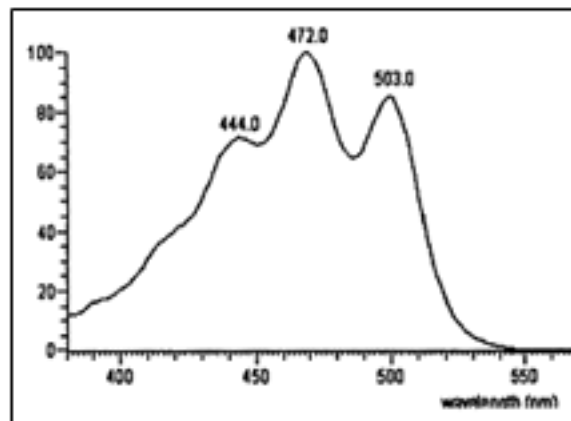


Figure 4 : Spectre UV du lycopène pure

## 2. Matériels et Méthodes

### 2.1. Préparation des échantillons

Les tomates fraîches (de la variété Damous) nous ont été fournies, par un agriculteur de la région de Zemmouri (Boumerdes) durant la période Mai Juin Juillet, Les tomates ont été nettoyées, et aussitôt passées sous jet d'eau chaude (80° C) pendant 10mn, puis sous jet d'eau froide, afin ramollir et faciliter le détachement des peaux (pelures). Après épluchage manuel (d'autres variantes utilisent la vapeur d'eau ou un épluchage chimique

par addition de lessive de soude), les peaux sont séparées de la pulpe et des graines, pour être emballées dans des sachets alimentaires et placées au congélateur (-18° C). Par la suite nous avons procédé à la lyophilisation des échantillons de peau (pelures) et pulpe de tomates dans un lyophilisateur (type Croyodos avec une pression du vide de 0.33 mbar et une température de - 49°C), munis de fioles et plaques. Les peaux et pulpes ainsi lyophilisées, sont immédiatement broyées dans un mixeur et stockées dans des boîtes aseptiques à 4°C. Avant de procéder à l'extraction du lycopène, nous avons effectué des analyses physicochimiques sur les échantillons de pelure et de pulpe de tomate : Humidité, Brix, pH, et Indice de couleur, dont les résultats sont rapportés dans le Tableau 1.

## 2.2. Matériels

---

Viscozyme : *Aspergillus aculeatus* – Activité : 100FBG/g. Celluclast : *Trichoderma reesi*, activité : 700 EGU/g. Ultraflo : *Humicola isolens* Activité : 45 FBG/g, Novozymes – Denmark. Les solvants utilisés, hexane et acétone absolue (scharlau chimie SA- Espagne) - Ethanol absolu (sps Technokroma – Espagne). Agitateur vortex Genius 3IKA Germany, Centrifugeuse Eppendorf 5804 R Germany, Spectrophotomètre Beckman DU-64.

## 2.3. Méthodes

---

- **pH et acidité titrable** : 10 g échantillons ont été mélangés avec 20 ml d'eau distillée dans un ultra homogénéisateur. Le mélange a été chauffé à 100° C, puis 20 ml de l'eau déionisée ont été ajoutés, le mélange résultant, a été refroidi à 20° C. Le pH a été mesuré à cette température à l'aide d'un pH mètre (Microph 2000, Crison, Barcelone, Espagne). Par la suite, la même solution a été titrée avec 0,1 N NaOH à pH 8,1, et les résultats ont été exprimés en pourcentage de l'acide citrique (g d'acide citrique par 100 g de poids frais).
- **Détermination du résidu sec soluble (°Brix)** : Les solides solubles de la pelure de tomate lyophilisée ont été déterminés en utilisant un réfractomètre numérique (Atago, Tokyo, Japon) à 20 ° C, et les résultats ont été rapportés en degrés Brix.
- **Humidité** : Séchage au four à 105°C ± 2 °C, jusqu'à poids constant AOAC (1990).
- **Indice de couleur** : Trois lectures directes sont prises sur les échantillons de pelures et pulpes lyophilisées dans un chroma mètre à réfractance (CM- 2025 Minolta Japon) utilisant le système CIE Lab. Les échantillons sont soigneusement placés dans des boîtes pétri, couvertes de verre optique, l'angle de vue est réglé à 25,4 millimètre, avec une source lumineuse D 65 avec un angle d'observation de 10 degrés. Avec, L\* = source lumineuse, a\* = indice de saturation (rouge), b\* = indice de saturation (jaune), les résultats ont été exprimés comme angle  $h = \tan^{-1} (a^*/b^*)$  et saturation  $C = (a^* + b^*)^{1/2}$ .

### 2.3.1. Optimisation des extractions par l'exploitation d'un modèle mathématique

Un modèle statistique expérimental a été utilisé pour optimiser l'extraction par solvants des matrices de pelures et de pulpes ; il est basé sur la comparaison cubique du 2ème degré impliquant les trois solvants de la mixture d'extraction (hexane – acétone - éthanol). Le logiciel, exploité nous a défini 10 mixtures possibles représentées dans le tableau 2.

Les proportions de chaque solvant de la mixture varie de 0 (absence totale de solvant) à 1 (présence d'un seul solvant) et devant satisfaire les conditions suivantes :

$$0 \leq X_i \leq 1$$

$$\sum_{i=1}^{q-1} X_1 + X_2 + \dots + X_q$$

La réponse Y, de chaque type de solvant est donnée par le modèle de régression PLS (partial least squares projection to latent structure).

$$Y = \sum_{i=1}^3 b_i X_i + \sum_{i=1}^2 \sum_{j=i+1}^3 b_{ij} X_i X_j + b_{123} X_1 X_2 X_3 + \varepsilon$$

Où :  $X_1, X_2, X_3$  représente les trois solvants utilisés dans la mixture  
 $\varepsilon$  : erreur du model

### 2.3.2. Teneur en lycopène :

0.1g d'échantillon (pelure et pulpe lyophilisée) ont été pesés et introduits dans un tube à essai, auquel on a ajouté 10 ml de mixture (hexane- acétone- éthanol) dans les différentes proportions indiquées sur le tableau 2. Les tubes sont agités au vortex pendant 10 mn, pour ensuite subir une centrifugation à 5000 t/mn pendant 15 mn à 4°C. 1ml de la phase organique est extrait, et dilué dans 10 ml d'hexane. L'absorbance, est mesurée à 472 nm, utilisant un coefficient d'extinction de l'hexane (3450), dans un spectrophotomètre Hewlett Packard 8453.

Le calcul des concentrations de lycopène ( $\mu\text{g/g}$ ), se fait par la formule suivante :

$$C(\mu\text{g/g}) = \frac{\text{Abs}_{472} \cdot F_d \cdot 10^6 \cdot V}{3450 \cdot 100 \cdot P}$$

Fd: facteur de dilution, V: volume de solvant d'extraction, 3450 : Coefficient d'extinction lycopène dans l'hexane, P : poids de la prise d'essai.

### 2.3.3. Influence de la réhumidification sur les rendements d'extraction

Afin d'évaluer, l'effet de la réhydratation des pelures et pulpe de tomates lyophilisées, sur les rendements d'extraction, nous avons procédé à l'ajout de 1ml d'eau bidistillée, dans les échantillons, et procédé de la même manière, aux extractions par des mixtures de solvants pris au hasard. Les résultats sont donnés dans la figure10.

### 2.3.4 Traitement enzymatique en vue d'augmenter les rendements d'extraction.

Trois enzymes (viscozyme – celluclast – ultraflo) nous ont été fournis, par le laboratoire des pigments et colorants de l'Institut la Grasa (Seville), afin d'effectuer des prétraitements sur les pelures de tomates lyophilisées, dont le but d'augmenter les rendements d'extraction. Ce sont des pectinases et des cellulases, qui agiraient sur les parois cellulaires afin de faciliter

le dégagement des substances intracellulaires et permettre une meilleure extraction. A cet effet, des solutions tompon ont été préparées, solutions d'acétate de sodium (0.2 M) à pH = 4.5, pour viscozym et celluclast et à pH = 5 pour ultraflo. Les incubations ont été réalisées à 50°C dans un bain marie thermostaté (Unitronic Selecta) pendant 120 mn, avec un pas de 30 mn. Les différentes solutions d'enzymes ont été préparé à partir de la solution mère, et des dilutions ont été effectuées, pour disposer des concentrations à 0.1 %, 0.2%, 0.3% et 0.4% pour chaque type d'enzymes.

Après incubation et traitement enzymatique des pelures, les tubes à essais sont débarrassés des solutions enzymatiques, et nous procédons à l'extraction du lycopène par la mixture optimale, comme réalisé précédemment. Des essais témoin (blanc), sont effectués en opérant avec la même méthode, mais en absence d'enzymes. Toutes les extractions ont été réalisées avec 3 essais pour chaque échantillon.

### 2.3.5. Quantification du lycopène des pelures lyophilisées par HPLC

La méthode d'extraction du lycopène, à partir des pelures de tomates lyophilisées a été inspirée des travaux de Calvo *et al* [69], avec quelques modifications.

On pèse 1g de pelure de tomates lyophilisée dans une fiole conique, on ajoute 60ml de KOH méthalonique à 10%. La solution, est bien mélangée (agitateur magnétique) à l'obscurité à 40 °C pendant 2 heures. Après saponification l'échantillon, est transvasé dans une ampoule à décanter, pour des lavages (60ml d'eau distillée, 30ml d'éther de pétrole et 3ml de méthanol), la phase récupérée dans l'éther de pétrole, est stockée à 4 °C. La phase aqueuse, subit un autre lavage (30ml d'éther de pétrole + 3ml de méthanol). L'extraction du lycopène de la phase aqueuse se poursuit jusqu'à ce que le solvant devienne incolore. Toutes les phases sont récupérées pour un dernier lavage à l'eau distillée. La phase supérieure de l'éther de pétrole contient le lycopène, et la phase inférieure de l'eau contient des résidus alcalins. Une filtration est effectuée, puis une évaporation sous vide à 30°C. Le résidu sec, est repris dans 1 ml de la phase mobile, et 20µl seront injectée. Pour la préparation de la gamme d'étalonnage, on a mélangé la solution standard de lycopène à doser dans l'éthanol à la concentration 1/2, 1/4, 1/8, 1/16 (v/v). Le blanc a été également réalisé avec de l'eau. La préparation de la phase mobile a été réalisée au moment de l'emploi. Elle consiste en un mélange de (Acétonitrile, Dichlorométhane, Méthanol : 70/20/10 : V/V/V).

Conditions d'injection :

- Colonne Nucleodur C18, Détecteur JASCO UV 2075 plus, Débit 1ml/mn, Pompe JASCO P4- 980, Température de la colonne 20 °C.

## 3. Résultats et Discussion

Tableau 1 : Indices physico chimiques des échantillons de pelures et pulpe lyophilisées

Echantillon	Humidité (%)	pH	°Brix (%)	Couleur				
				L <sup>*</sup>	a <sup>*</sup>	b <sup>*</sup>	a <sup>*</sup> /b <sup>*</sup>	H
Pelure TL	3,2	4.01	47,24	42.13	6,82	7,56	0,90	0,45
Pulpe TL	3,5	3.98	45,06	40,17	12.65	9.36	1.23.	0.38

Selon les résultats du tableau 1, montre quelques indices physicochimiques de la pelure et de la pulpe de tomate lyophilisée. On notera une humidité minimale avec 3,2 %, obtenue par lyophilisation. Comparativement à d'autres techniques de déshydratation, la matrice présente une bonne stabilité. La lyophilisation offre également l'avantage d'une asepsie lors des essais d'incorporation. En ce qui concerne l'indice de couleur, le rapport ( $a/b$ ) enregistré est souvent et fortement corrélés avec la teneur en lycopène, et la prise des mesures de la rougeur du fruit se fait sur les peaux de tomate [70]. La valeur moyenne de couleur rouge ( $a^*$ ) des pelures de tomate lyophilisées est semblable aux valeurs obtenues pour des tomates fraîche en étape de maturité [71]. Le deuxième composant chromatique ( $b^*$ ) présente une valeur positive, (mesure de la couleur jaune). La valeur moyenne du rapport d' $a^*/b^*$  est très proche de celle retrouvée dans une étude, qui indique que les pelures ont été extraits d'une tomate rouge de bonne maturité [48]. Les indices de couleur, tels que le rapport  $a^*/b^*$ , et l'indice de saturation  $C^*$ , augmentent significativement lors de l'étape de maturation, contrairement à l'indice de Hue qui au plus faible de sa valeur lors de la maturation du fruit [72].

### 3.1. Rendements d'extraction du lycopène à partir des pelures de tomate lyophilisées

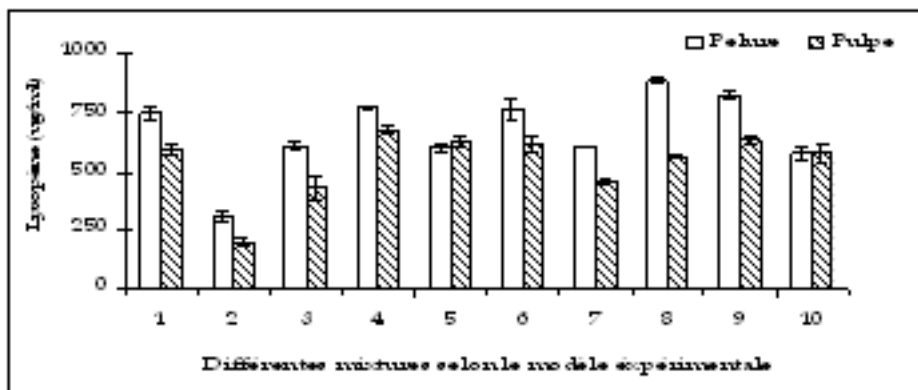


Figure 5 : Rendements d'extraction du lycopène dans la pulpe et pelures de tomate.

Les résultats rapportés sur la figure 5, expriment les teneurs en lycopène extrait selon 10 mixtures proposées par le modèle expérimental dans les pelures, et pulpe de tomates lyophilisées en fonction de la composition des mixtures de solvants utilisés.

Tableau 2 : Teneur en lycopène (µg/g) extrait des pelures selon les différentes mixtures

Mixture	Bloc	Pelure
(0H+0.5E+0.5A)	1	750,795
(0H+1E+0A)	2	312,680
(0H+0E+1A)	3	612,840
(0.17H+0.17E+0.67A)	4	770,720
(0.17H+0.67E+0.17A)	5	603,180
(0.33H+0.33E+0.33A)	6	768,460
(0.5H+0.5E+0A)	7	608,740
(0.5H+0E+0.5A)	8	889,690
(0.67H+0.17E+0.17A)	9	824,860
(1H+0E+0A)	10	577,135

Selon le tableau 2, nous constatons, que le rendement d'extraction dans la mixture 8 (50% H + 50%A) donne la teneur la plus élevée en lycopène soit 889,69 µg/g, contrairement à la mixture 2 (100% E) qui donne la plus faible teneur en lycopène avec 312,68µg/g, soit une baisse de 64,85%. Les mixtures 9, 4, 6, et 1, donnent des rendements d'extraction, appréciables eues égard à la présence des proportions d'acétone dans la mixture. Les niveaux de proportions d'éthanol dans les différentes mixtures influencent négativement les rendements d'extraction. En comparant les teneurs d'extraction de chaque solvant individuellement, mixture 2, 3 et 10, nous constatons que l'acétone, s'avère le plus efficace que l'hexane et l'éthanol. Les proportions d'hexane dans la mixture influencent positivement les rendements d'extraction dans toutes les mixtures.

### 3.1.1 Estimations statistiques du model pour la pelure de tomate lyophilisée

Le logiciel Minitab, nous permet d'optimiser les réponses pour identifier les paramètres variables d'entrée qui optimisent une réponse unique où un ensemble de réponses, Les variables d'entrée sont, l'acétone, hexane et éthanol, les rendements d'extraction en lycopène dans les différentes mixtures, sont les variables de réponse.

Tableau 3 : les réponses prévues pour les proportions de la mixture

Solvant	Borne inférieur	Borne supérieur	Réponses prévues
Acétone	0,00	1,00	0,5151
hexane	0,00	1,00	0,4849
éthanol	0,00	1,00	0,0000

Le logiciel, calcule la désirabilité individuelle (d) pour chaque réponse prévue. Les valeurs de désirabilité individuelles sont ensuite regroupées dans la désirabilité composite (D). Ces valeurs désirables permettent d'évaluer la proximité des réponses prévues par rapport aux exigences de notre cible. La désirabilité est mesurée d'après une échelle allant de 0 à 1.

Les réponses prévues pour chaque solvant sont les suivantes : Acétone = 0,5151 ; hexane =

0,4849 et Ethanol = 0,0006. Avec une désirabilité individuelle de 0,98750. L'objectif était d'optimiser l'extraction, sa valeur prévue est de 892,658 (µg/g).

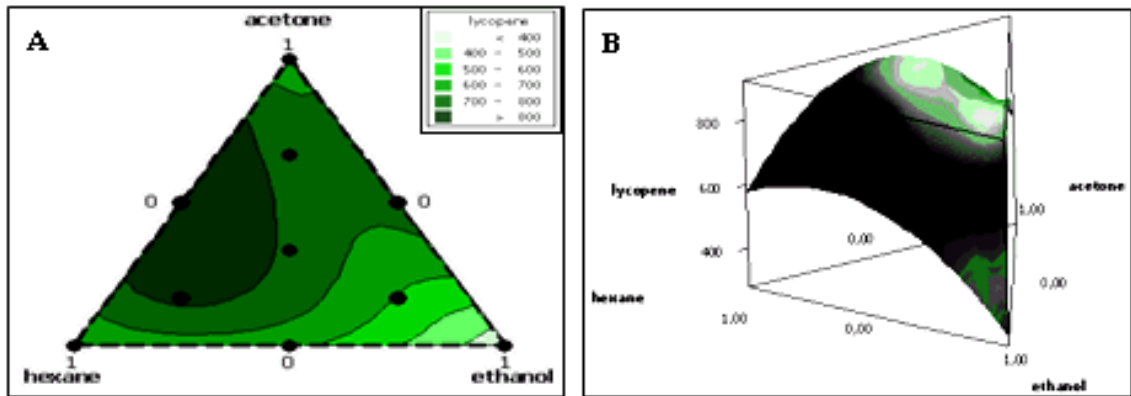


Figure 6 : (A) Graphique de contour des mélanges de solvants, (B) : Diagramme de surface des mélanges de solvants.

Le graphique de contour (figure 6 A), permet d'explorer la relation entre les trois solvants dans un graphique unique et d'établir les valeurs de réponse et les conditions d'exploitation souhaitables. Pour l'extraction de lycopène, le graphique de contour montre que les valeurs de l'extraction les plus élevées (> 800 µg/g) correspondent à la fois à une proportion en acétone et hexane importantes (> à 50 %), et à des proportions en éthanol faibles. Les valeurs de l'extraction les plus faibles (< 400 µg/g) correspondent aux mélanges où la proportion d'éthanol est plus importante comparativement à des faibles proportions d'acétone et d'hexane. Le diagramme de surface (figure 6 B) nous aide à visualiser la surface de réponse, pour établir des valeurs désirables pour la réponse, les proportions des mélanges et les conditions ambiantes. Il exprime, les rapports existant entre une variable de réponse et trois composantes, sur la base d'une équation du modèle. Dans le but d'optimiser les rendements d'extractions, il faut choisir les proportions de composantes dans le coin supérieur gauche de l'espace du plan. Le mélange qui produit l'extraction la plus élevée est au sommet (figure 7) constitué de : (Acétone = 51,51%, hexane = 48,49 % et éthanol = 0,00%). Avec un rendement de 892,6583 (µg/g).

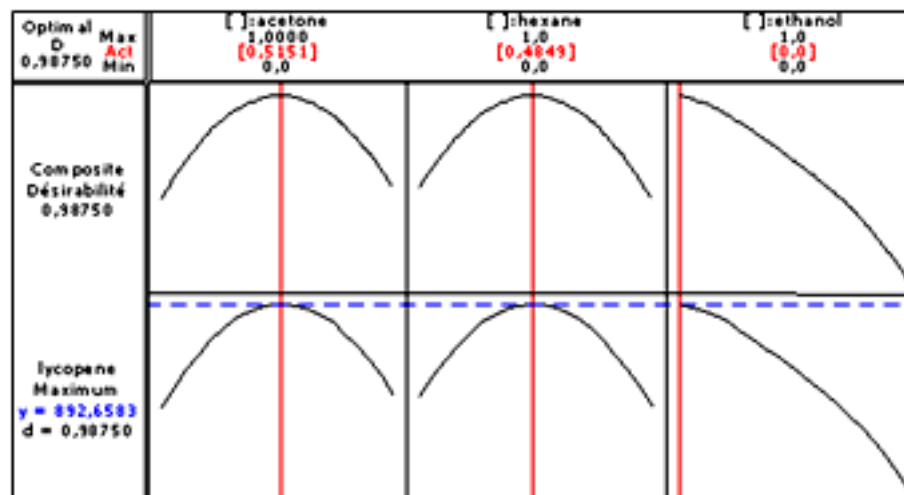


Figure 7 : Diagramme d'optimisation de l'extraction de lycopène.

### 3.2. Rendements d'extraction du lycopène à partir des pulpes de tomates lyophilisées

Les résultats rapportés dans le tableau 4, donnent, les teneurs en lycopène extrait selon les 10 mixtures proposées par le modèle expérimental à partir des pulpes de tomates lyophilisées en fonction de la composition des mixtures de solvants utilisés.

Tableau 4 : Teneurs en lycopène ( $\mu\text{g/g}$ ) extrait des pulpes avec les différentes mixtures

Mixture	Bloc	Pulpe
(0H+0.5E+0.5A)	1	594,749
(0H+1E+0A)	2	202,948
(0H+0E+1A)	3	433,849
(0.17H+0.17E+0.67A)	4	681,686
(0.17H+0.67E+0.17A)	5	629,098
(0.33H+0.33E+0.33A)	6	615,169
(0.5H+0.5E+0A)	7	458,688
(0.5H+0E+0.5A)	8	568,047
(0.67H+0.17E+0.17A)	9	636,273
(1H+0E+0A)	10	581,600

Dans le cas des pulpes de tomates lyophilisées, on notera, que les teneurs en lycopène, varient en fonction des mixtures, aussi, les rendements sont relativement proches, mais en moindre quantité, que ceux obtenue à partir des pelures lyophilisées, soit une baisse de 23,37% (ceci renforce la thèse de la présence, plus importante de lycopène dans les pelures que dans la pulpe, ce qui justifie notre intérêt à les valoriser). Dans ce cas, la mixture 4 (0.17H+0.17E+0.67A), donne le rendement d'extraction le plus élevé avec 681,69  $\mu\text{g/g}$  de lycopène. Nous remarquons, la présence d'une importante proportion d'éthanol dans la mixture, comparativement aux résultats obtenus avec les pelures. Le rendement d'extraction le plus bas a été obtenu, comme dans le cas des pelures, avec la mixture 2 (0H +1E+0A), soit 202,95  $\mu\text{g/g}$ . Le reste des mixtures a donné des rendements appréciables eu égard à la présence des 3 solvants composant la mixture, même à des moindres proportions.

### 3.2.1 Estimations statistiques du model pour la pulpe de tomate lyophilisée

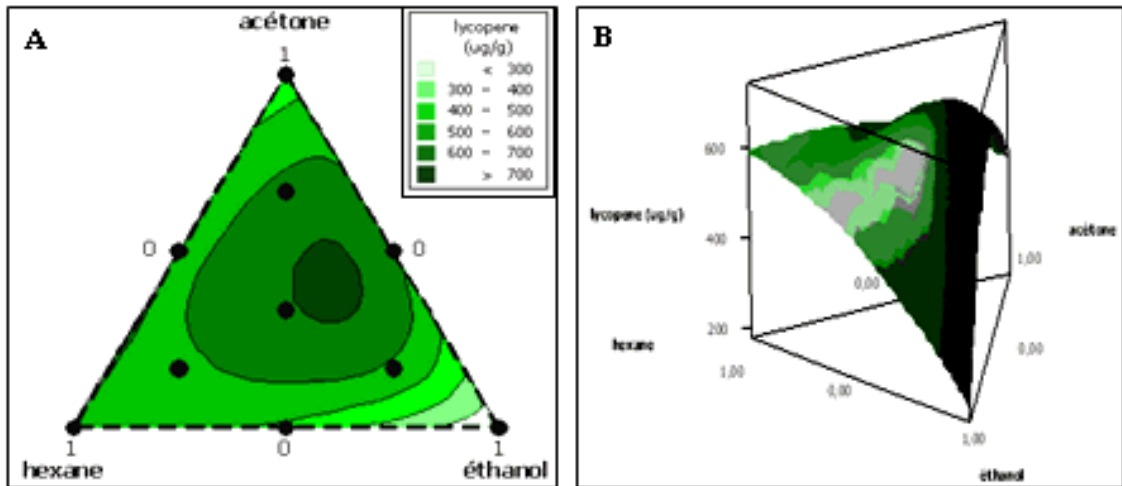
Tableau 5 : Réponses prévues pour les proportions de chaque solvant dans la mixture.

Solvant	Borne inférieure	Borne supérieure	désirabilité composite
Acétone	0,00	1,00	0,4126
Hexane	0,00	1,00	0,1919
Ethanol	0,00	1,00	0,3955

Les réponses prévues pour chaque solvant sont les suivantes : Acétone = 0,4126, hexane = 0,1919 et éthanol = 0,3955. L'objectif était de maximiser l'extraction, sa valeur prévue est de 717,4884 ( $\mu\text{g/g}$ ), avec une désirabilité individuelle de 1.

Dans le cas de la pulpe de tomate, on remarque que le comportement des mixtures de solvants est différent, comparativement à la pelure où on note une augmentation significative de la proportion d'éthanol dans la mixture, donnant des rendements d'extraction les plus élevés. Les valeurs de l'extraction les plus élevées ( $> 700 \mu\text{g/g}$ ) correspondent à des proportions élevées en acétone et éthanol, et à des faibles proportions d'hexane. Les valeurs de l'extraction les plus faibles ( $< 300 \mu\text{g/g}$ ) correspondent aux mélanges où les proportions d'hexane dans la mixture sont importantes.

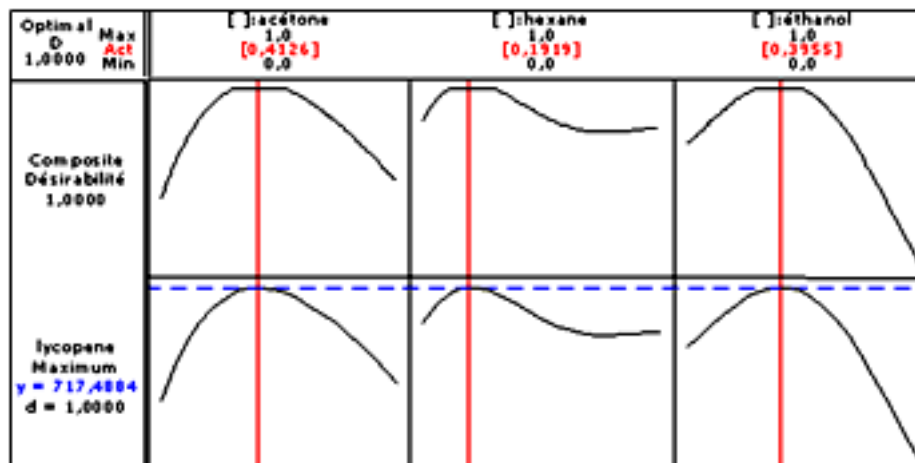




**Figure 8 :** (A) Diagramme de surface des mélanges de solvants. (B) Graphique de contour des mélanges de solvants.

Le graphique de contour (**figure 8A**), montre que les valeurs de l'extraction les plus élevées ( $> 700 \mu\text{g/g}$ ) correspondent à la fois à une proportion en acétone et d'éthanol importantes ( $> 50 \%$ ), et à des proportions d'hexane plutôt faibles. Les valeurs de l'extraction les plus faibles ( $< 300 \mu\text{g/g}$ ) correspondent aux mélanges où la proportion d'hexane est plus importante comparativement à des faibles proportions d'acétone et d'éthanol.

Le diagramme de surface (figure 8B), donne la surface de réponse, pour établir des valeurs désirables pour la réponse, les proportions des mélanges et les conditions ambiantes. Ce sont les rapports existant entre une variable de réponse et trois composantes sur la base d'une équation de modèle. Comme précédemment, le choix des proportions de composant se fait dans le coin supérieur gauche de l'espace du plan. Le mélange qui donne le rendement d'extraction le plus élevé est au sommet (**figure 9**), constitué de : (Acétone = 41,26%, hexane = 19,19% et éthanol = 39,55%). Avec un rendement de 717,4884 ( $\mu\text{g/g}$ ).



**Figure 9 :** Diagramme d'optimisation de l'extraction de lycopène.

En comparant les résultats obtenus, nous confirmons que les rendements d'extraction sont plus importants, dans la pelure de tomate lyophilisée que dans la pulpe, ce que plusieurs auteurs ont déjà affirmé [73,74]. Il demeure tout de même des interrogations

concernant la différence des mixtures qui ont donné les rendements les plus élevés, la mixture 8 dans le cas des pelures, et la mixture 4 dans le cas des pulpes, ceci est en contradiction avec les résultats obtenus, dans une étude similaire où la même mixture a donné les plus hauts rendements d'extraction dans toute la matrice traitée [75]. Par contre, c'est la même mixture 2, qui a donnée les plus bas rendements d'extraction dans le cas des pelures et des pulpes de tomates.

Le lycopène a été extrait à partir des pelures de tomate lyophilisées suivant 10 combinaisons choisies dans les rapports des solvants dans la mixture par rapport aux nombres d'extractions, confirme également, l'hypothèse que les taux d'extraction du lycopène dans toutes les mixtures donnés par le model expérimental, sont en fonction des proportions de chaque solvant organique constituant la mixture, bien que le composant majeur est l'acétone et à moindre degré l'hexane, l'importance de l'éthanol, est omniprésente. Ceci suggère, qu'il existe une interaction synergétique entre les trois composants de la mixture, donc les trois, sont essentiels pour optimiser les processus d'extraction. Aussi, la variable d'extraction a eu un impact sur le rétablissement de lycopène [76].

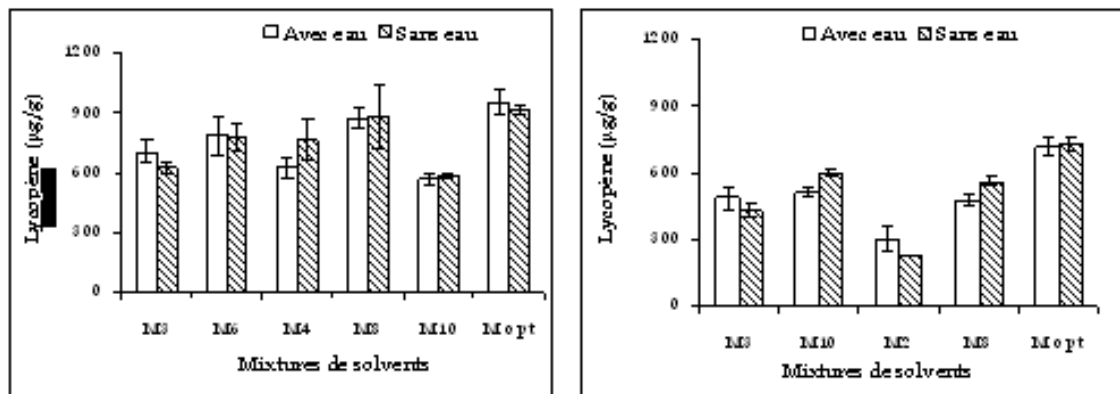
En ce qui concerne les teneurs en lycopène dans les matrices, nos résultats ne peuvent être comparés qu'à deux travaux sur les peaux déshydratées, soit 14,3 mg/100 g [77]. D'autres études d'extraction du lycopène à partir de la peau de tomate utilisant quatre variables indépendantes, (type de solvant, volumes de solvants, nombre d'extractions, et différentes températures) ont obtenu des rendements de 255 µg/g à 985 µg/g. Des teneurs en lycopène entre 694 µg/g et 1410 µg/g ont été obtenues avec la même mixture, mais avec un rapport 2:1:1 [78].

Les essais d'extraction, réalisés par les mixtures optimales, proposées par le model mathématique, nous ont permis d'extraire le lycopène des pelures et pulpes de tomates lyophilisées avec un rendement maximal, soit, 918,16 µg/g et de 734,868 µg/g pour la pelure et la pulpe respectivement, soit des augmentations substantielles de 103% et 107%.

Bien que l'éthanol présente un effet négatif dans toutes les mixtures d'extraction, en réduisant les rendements d'extraction, on peut considérer, qu'il a un effet influençant [79], Contrairement à une étude, où il a été trouvé un effet négatif de l'acétone sur l'extraction du lycopène dans la purée de tomate [80]. L'exclusion de l'éthanol de la mixture de solvants pourrait éliminer l'effet positif sur les l'efficacité des rendements d'extraction. L'addition, d'une petite fraction d'éthanol dans la mixture, a réduit l'effet négatif et a augmenter plutôt l'effet positif, cela s'est vérifié dans le rendement d'extraction de la mixture optimale. En ce qui concerne l'influence du type de solvant, l'hexane est le seul composant du mélange qui augmente les rendements, donc l'acétone et l'éthanol doivent jouer un rôle auxiliaire dans la mixture d'extraction. Une explication possible, est que deux composés polaires, dus à leur faible masse molaire, il y a donc plus de liaison hydrogène qui pourraient expliquer le gonflement du tissu végétal, de ce fait facilitant la pénétration du solvant [81]. Il demeure cependant que la réglementation, doit régir l'utilisation des solvants organiques comme moyen d'extraction du lycopène. Dans les applications industrielles nous devons tenir compte des effets sur les consommateurs et de l'impact sur l'environnement.

### 3.3. Effet de la réhydratation sur les rendements d'extraction

---



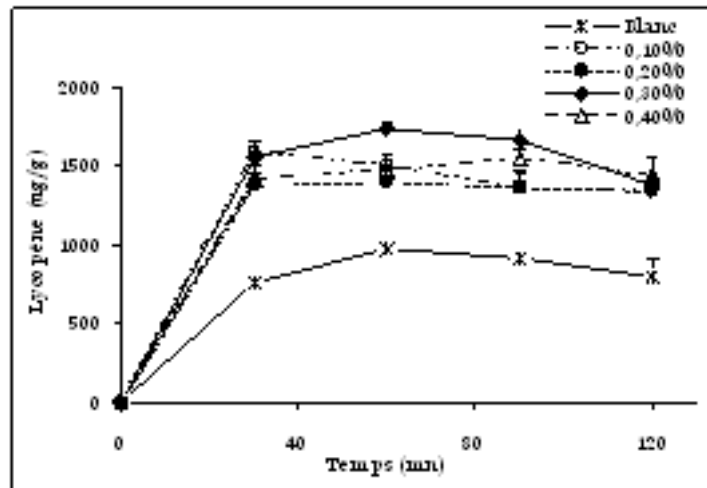
**Figure 10 :** (A) Effet de l'hydratation sur le taux d'extraction du lycopène de la pelure de tomate. (B) Effet de l'hydratation sur le taux d'extraction du lycopène de la pulpe de tomate.

Afin de vérifier l'influence de la réhydratation des matrices lyophilisées, nous avons réalisé des essais d'extraction du lycopène dans les pelures (figure 10 A) et dans les pulpes (figure 10 B), avec des mixtures prises au hasard, et avec ce que nous avons considéré comme mixture optimale (donnée par le model mathématique). Les résultats obtenus démontrent qu'il n'existe pas de règle stricte, mais que la réhydratation a été favorable avec des rendements d'extraction significativement, plus élevés dans la majorité des essais. L'interaction de l'eau avec les phases polaires et non polaires des constituants de la mixture de solvant ont réagis, selon l'affinité des composés majeurs de la mixture.

### 3.4.. Effets du traitement enzymatique sur les rendements d'extraction du lycopène

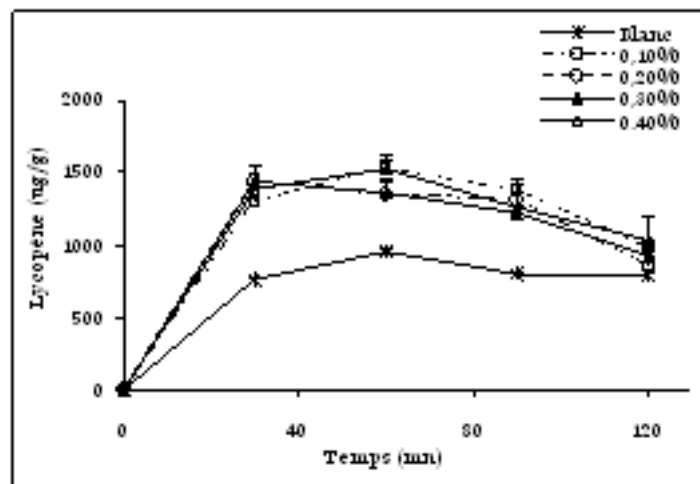
En vue d'augmenter les rendements d'extraction du lycopène des pelures de tomates lyophilisées, nous avons utilisé des enzymes hydrolytiques, deux types de cellulases et un type de pectinase, où les conditions de traitement ont été optimisées, en ce qui concerne la concentration des enzymes, et du temps d'incubation. Les résultats sont rapportés dans les figures 11, 12, et 13.

Concernant la figure 11, celle-ci montre que les rendements d'extraction après traitement par viscozym (pectinase) sont de 1600,60 µg /g pour une concentration de 0.1% et un temps d'incubation de 30 minutes soit une augmentation de (177.32%) par rapport à l'extraction avec la mixture de solvant optimum.



**Figure 11** : Rendements d'extraction du lycopène après traitement par Viscozym

Bien que le plus haut rendement d'extraction 1732,88  $\mu\text{g/g}$  ait été obtenu avec une concentration de 0,3% et un temps d'incubation plus long de 60 minutes ; soit une augmentation de (188,70%). Au delà de 60 minutes d'incubation nous constatons une diminution du rendement d'extraction à 90 et à 120 minutes.



**Figure 12** : Rendements d'extraction du lycopène après traitement par Celluclast

La figure 12, présente les rendements d'extraction après traitement par Celluclast (Cellulase). Dans ce cas, des rendements sont significativement élevés, et les valeurs sont assez proches pour la concentration de 0,1 % et un temps d'incubation de 60 minutes 1526,50  $\mu\text{g/g}$  soit une augmentation de (166,2%) et de même, avec une concentration de 0,2 % et un temps d'incubation de 30 minutes soit 1445,50  $\mu\text{g/g}$  représentant, une augmentation de (157,4%).

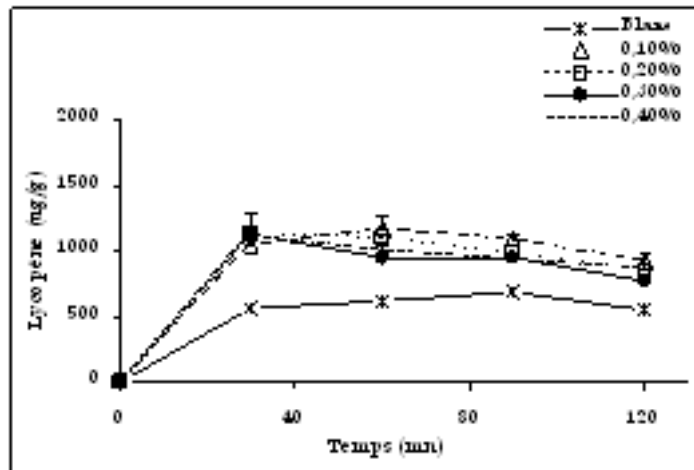


Figure 13 : Rendements d'extraction du lycopène après traitement par Ultraflo.

Pour le traitement avec Ultraflo (figure 13), les résultats d'extraction donnent des teneurs faiblement élevées, qui dénotent la faible action ou l'inefficacité de l'enzyme à faciliter le dégagement cellulaire sous pression des parois. Le seuil des 1120,50 µg/g n'a pas été dépassé, malgré l'augmentation des concentrations à 0,2% ; 0,3% et 0,4%, ce qui représente une augmentation moyenne de (122%), pour les temps d'incubation de 30 et 60 mn.

### 3.4.1. Effet de temps d'incubation

Une augmentation des rendements d'extraction a été observée avec le prolongement du temps d'incubation, particulièrement à 30 et 60 mn par viscozym et celluclast. Après 60 minutes, les rendements d'extraction ont tous connu une baisse. Il y a donc un optimum dans lesquels les enzymes activent, puis on constate une diminution des rendements en raison de la dénaturation de l'enzyme. La température étant étroitement liée au temps d'incubation, celle-ci affecte significativement l'activité enzymatique. 60 minutes ont été le temps d'incubation qui s'est avéré optimum pour dégrader la paroi cellulaire (pectine et la cellulose). Le temps d'incubation a eu comme conséquence une réduction progressive des rendements. Ceci suggère que la dégradation enzymatique de la paroi cellulaire, a engendré la libération rapide de toute la quantité de lycopène contenue dans les parois cellulaires et des structures protectrices du chromoplaste. En raison de leur réactivité élevée, les molécules de lycopène peuvent subir la dégradation oxydante rapide. Ainsi, il y a formation de plusieurs composés secondaires, dont les spectres sont décalés à des longueurs d'onde plus courtes comparées à celles du lycopène [82].

### 3.4.2. Effets de la concentration en enzyme

Les concentrations de 0,1 % et 0,3 %, ont donné les rendements d'extraction les plus élevés pour viscozym soit, 1600,60 µg/g et 1732,88 µg/g. Pour ce qui est de celluclast, les teneurs les plus élevées ont été obtenues avec une concentration de 0,1% (1526,5 µg/g) et avec 0,4% (1533,5 µg/g). On peut donc, affirmer qu'une concentration de l'enzyme de 0,1% est suffisante pour optimiser les rendements d'extraction.

### 3.4.3. Effets de la température et du pH d'incubation

La température, affecte également l'activité enzymatique avec un optimum, au-dessus duquel l'enzyme est dénaturée. Par conséquent, la température de 50°C a été considérée comme la température d'incubation optimale.

### 3.4.4. Conclusion

Le traitement enzymatique des pelures de tomate lyophilisées, a facilité l'extraction du lycopène, dans les conditions optimisées. Cela s'est traduit par une augmentation du rendement de lycopène de 177,32% et 188,70% dans les échantillons traités par une pectinase (viscozym), et de 166,2% dans le cas du traitement par une cellulase (celluclast). Ultraflo (cellulase), n'a pas donné les rendements escomptés. La pectinase (viscozym) à 0.1%, s'est avérée très efficace comparativement à la cellulase (celluclast), dans le même ordre de concentration. De même, qu'un temps d'incubation de 30 mn s'est avéré optimal pour que viscozym, dégrade la paroi cellulaire. Alors que celluclast a nécessité un temps d'incubation plus long de 60 mn. Au delà de 60 mn d'incubation, nous constatons une diminution des teneurs en lycopène, due principalement à l'oxydation du lycopène.

Les préparations enzymatiques peuvent hydrolyser et dégrader les constituants de la paroi cellulaire, améliorant ainsi le dégagement intracellulaire. La cellulose, l'hémicellulose et la pectine peuvent être hydrolysées et dégradées grâce à la cellulase, la bêta-glucosidase, et les pectinases, elles interviennent sur les liaisons beta-1-4 [83]. Les interactions des liaisons hydrogène peuvent être cassées par la cellulase, de même que les hydroxyles phénoliques (flavonoïdes), qui forment avec la cellulose, hémicellulose et la pectine un complexe du aux liaisons hydrogène [84]. La cellulase et la pectinase ont été utilisées pour l'extraction du lycopène des tissus de tomate, l'extraction des caroténoïdes des piments (poivron Lannuum.) [85]. En outre, les quantités de lycopène extraites au moyen de la pectinase étaient beaucoup plus élevées que celles obtenues avec la cellulase à différentes concentrations et temps d'incubation. La raison possible, est que la pectinase comporte les activités de la pectinestérase, polygalacturonase et de pectine lyase. Les effets synergiques de ces activités peuvent avoir comme conséquence une plus grande dégradation du « mur » cellulaire des pelures de tomates lyophilisées, ceci, induit un plus grands rendements d'extraction de lycopène. Par conséquent, la pectinase a été considérée comme plus efficace pour l'extraction du lycopène.

Les pelures de tomates sont des matrices végétales fortement structurées, contenant beaucoup de composants, tels les polysaccharides, cellulose, hémicelluloses et pectines. Cependant, il est important de savoir que la composition en polysaccharide des différents tissus des pelures de tomate est dépendante de la variété de fruits et l'étape de maturation.

Ils peuvent contenir, des teneurs de lycopène, beaucoup plus élevées, cependant, les techniques d'extractions disponibles, ne permettent pas la récupération de tous les caroténoïdes. Dans le cas du traitement par le CO<sub>2</sub> supercritique, par exemple, seulement entre 50 et 60% de lycopène total a été extrait (à une température de 60°C et une pression de 30 MPa) dans les peaux de tomate [86]. Les faibles rendements d'extraction, peuvent être attribués aux difficultés qu'éprouvent les molécules des solvants organique à pénétrer en contact avec le tissu des pelures de tomate afin de solubiliser le lycopène, qui est profondément incorporé dans les structures de membrane des chromoplastes [87].

Deux idées principales peuvent être dégagées de cette étude : premièrement les rendements d'extraction du lycopène des pelures de tomate peuvent être considérablement augmentés, en utilisant une mixture de solvant afin de réduire les quantités au minimum. Le support d'un model expérimental est nécessaire pour l'industriel afin d'établir des

prévisions organisationnel dans le cas d'une application industrielle, par le choix approprié des conditions d'extraction. On pourrait également penser à l'utilisation des huiles de faible qualité comme cosolvant. Deuxièmement, d'un point de vue industriel, l'utilisation des enzymes peut être très avantageuse, dans l'économie des solvants, et d'énergie avec des rendements d'extraction optimisée, sachant que le coût des enzymes est acceptable dans un processus à grande échelle (de l'ordre de centaines de grammes par tonne de matière première). Nous suggérons donc, la combinaison pectinase - cellulase dans des proportions qui interagiraient, efficacement dans la dégradation de toutes les couches résistante de la paroi cellulaire. En outre, comparé à l'extraction supercritique, le traitement enzymatique présente des coûts beaucoup plus faibles.

Aussi, Le mode de présentation des pelures de tomates, pour en extraire le lycopène, peut être soit le séchage (la lyophilisation serait très coûteuse), ou bien l'utilisation directe des pelures de tomates partiellement séchées.

### **3.5 Résultats des quantifications du lycopène par HPLC**

---

Le Chromatogramme du lycopène à 472 nm (annexe 2) donne la teneur en lycopène dans les pelures de tomate estimée à 43.6 mg/100g. Cette concentration obtenue dans des pelures de tomates lyophilisées, est la plus élevée des variétés de tomates utilisées dans le cadre de cette recherche. En effet, il nous a été impossible de travailler avec les mêmes échantillons de pelure dans toutes les expérimentations. A titre comparatif, les concentrations en lycopène des pelures utilisées dans la partie 3 et 4 étaient beaucoup plus faibles. Ceci explique en partie, l'effet des variétés, des conditions de culture et aussi de saisons, sur les teneurs en lycopène des tomates.

Des teneurs de 1, 98 mg /100g sont retrouvé dans des pelures (peaux) de variétés commune de tomates [42]. Des extractions du lycopène à partir des pelures de tomates, ont révélé des taux de 2.55 à 9,85 mg /100g selon la méthode de spectrophotométrie [10]. Dans les même conditions, une étude a obtenue 14,1 mg/100g de lycopène dans les pelures de tomates et 6, 94 mg/100g dans les pulpe de tomates [15].

# Partie 3 : Valorisation d'une huile végétale de basse qualité par enrichissement en purée et pelures de tomates lyophilisées.

## 1. Valorisation des pelures de tomates

### 1.1. Introduction

---

L'aliment est caractérisé par ses propriétés nutritionnelles, capacité à couvrir, chez l'homme, les besoins de base en énergie d'une part et en nutriments. Aujourd'hui, les propriétés fonctionnelles, définies comme la capacité de l'aliment à intervenir sur le fonctionnement physiologique de l'organisme, sont aussi recherchées [1].

La fonctionnalité d'un aliment apparaît donc comme, sa capacité à intervenir sur les fonctions de l'organisme, pour en moduler l'activité. Les observations scientifiques et nutritionnelles, relatives à l'action positive des aliments sur la santé et le bien-être des individus ne cessent de se multiplier, tant vis-à-vis des substances potentiellement actives que des cibles explorées [2]. Chaque aliment contient des molécules, qui ont des effets plus ou moins importants sur l'organisme, souvent observés mais rarement prouvés scientifiquement [3].

Les antioxydants, constituent les micronutriments apportés principalement par les fruits et les légumes. Ils contribueraient à prévenir les dommages oxydatifs cellulaires à l'origine du vieillissement et certaines pathologies tels que cancers et maladies cardiovasculaires [4]. Ainsi, Les propriétés antioxydantes des caroténoïdes, et principalement le lycopène ont inspiré des efforts intensifs de la recherche dans le domaine technologique, pour la protection des aliments contre la détérioration oxydante [5].

La démonstration de la capacité du lycopène alimentaire à diminuer le risque pour un certain nombre de maladies, a ouvert de nouvelles opportunités pour l'enrichissement des aliments dans l'objectif de les rendre fonctionnels. Récemment, il y a eu une attention particulière, à la spécificité et aux teneurs en antioxydants des tomates. En effet, plusieurs études épidémiologiques suggèrent, l'association de cet aliment avec des effets positifs sur la santé, en particulier la prévention du cancer de la prostate [6]. Les tomates sont largement consommées crues ou transformées, elles peuvent apporter à l'organisme une variété d'antioxydants [7]. C'est en grande partie sous forme de caroténoïdes [8], et de composés phénoliques [9]. Cependant, quand des tomates sont transformées en produits tels le ketchup, le salsa et les sauces, jusqu'à 40% de leur le poids sont rejetés sous forme de déchets [10]. Les pelures de tomates, constituent la partie la plus importante de ces « déchets », contiennent des niveaux élevés de lycopène [11]. Par ailleurs, la majorité des flavonoïdes des tomates sont retrouvés dans les pelures [12]. Plusieurs travaux ont confirmé que la pelure de tomate contenait des niveaux 2,5 fois plus élevés de lycopène,



comparativement à la pulpe, avec des teneurs significativement élevées en composés phénoliques et acide ascorbique [13]. Une analyse des différentes fractions composant les déchets de tomates (pelures et graines) a montré que la fraction des pelures (peaux) a des niveaux sensiblement plus élevés en composés phénoliques totaux, flavonoïdes totaux, lycopenes et acide ascorbique. L'activité antioxydante était également plus élevée dans ces mêmes fractions [14]. Beaucoup de facteurs ont contribué au cours des dernières années au développement des technologies de traitement, recyclage et valorisation des déchets, dans un double objectif, de rentabiliser le produit industriel par une plus valeur, et de répondre aux exigences de protection de l'environnement [15].

## 1.2. Processus d'oxydation

Lorsqu'ils sont extraits de leur milieu naturel, tous les lipides subissent au cours de leur conservation, des altérations de type oxydatif. Aussi, maîtriser l'oxydation est indispensable pour gérer l'évolution des systèmes biologiques dans leur complexité, en particulier dans le cas des aliments dont la dégradation peut avoir des conséquences sur la sécurité des consommateurs. Les mécanismes d'oxydation des composés insaturés biologiques (acides gras, caroténoïdes, polyphénols...) sont souvent des réactions radicalaires avec l'oxygène moléculaire [16,17] et présentent trois phases principales (figure 1).

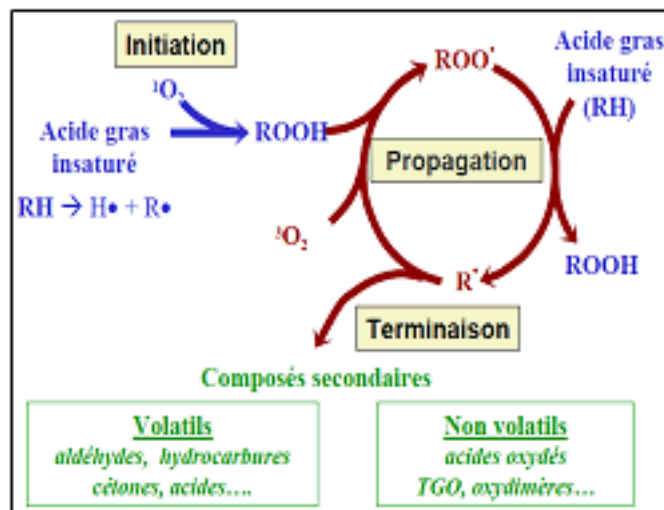


Figure 1 : Schéma simplifié de l'oxydation des acides gras

- La phase de déclenchement où se forme un premier radical libre. L'arrachement du proton est facilité tant par la chaleur (agitation moléculaire) que les rayonnements ou les catalyseurs (métaux tels que Cu, Fe, Co, Mn, Ni...).
- La phase de propagation où l'oxygène fixé donne un radical peroxyde qui réagit avec une autre molécule et conduit à un néoradical libre et un hydroperoxyde. Les hydroperoxydes instables se scindent en composés plus courts [18] .
- La phase de terminaison, où se recombinent différents radicaux formés, et apparition de nouvelles espèces moléculaires anarchiques. La chaîne de propagation peut s'arrêter par la formation de polymères ou au contact avec un autre radical. Les molécules créées n'ont plus de fonction biologique.

Globalement, ce processus conduit à des hydrocarbures, des aldéhydes, des cétones, des acides, des esters, des peracides, des peroxydes, mais aussi à des produits de

polymérisation. Sous tous ces effets, l'aliment accuse une perte de qualité nutritionnelle et organoleptique (rancissement, changement de couleur...) [19,20] . Pour limiter l'oxydation, l'industrie agroalimentaire peut baisser le taux d'oxygène (immersion, vide, atmosphère sous azote), ralentir les réactions par réfrigération ou congélation, détruire les enzymes d'oxydation (polyphénol oxydases), et user d'antioxydants inhibant l'oxydation induite par l'oxygène moléculaire. En limitant les risques de radicaux libres, la présence d'antioxydants, combinée à d'autres techniques, est indispensable à la stabilité des produits [21] .

L'impact de l'oxydation des lipides est triple :

- impact nutritionnel et organoleptique : dégradation des vitamines liposolubles et des acides gras essentiels ; développement de saveurs anormales, changement de couleur etc.
- impact sanitaire : les composés secondaires d'oxydation montrent des effets cytotoxiques et mutagènes (cas du malondialdéhyde, par exemple, qui réagit avec l'ADN) ou encore des effets cancérigènes, mutagènes et athérogènes (cas des monomères cycliques et oxystérols).
- impact économique : perte de la valeur marchande suite à l'oxydation qui déprécie la qualité du produit. C'est le cas, par exemple, des huiles d'olive vierges dont le prix est fonction de la qualité.

### 1.2.1. Les méthodes de mesure de l'oxydation

Si les mécanismes de l'oxydation sont bien décryptés, et admis par tous, il n'en est pas de même pour les méthodes de mesure de l'oxydation, ou du pouvoir antioxydant des principes actifs. La mesure de l'oxydation d'un corps gras, en temps réel se fait par la mesure de l'indice de peroxydes (nombre de µg d'oxygène actif du peroxyde contenu dans 1 gr de corps gras susceptible d'oxyder l'iodure de potassium avec libération d'iode). Cette méthode (AFNOR, AOCS, UICPA), est sensible pour apprécier les premières étapes de la détérioration oxydative d'une huile. En ce qui concerne les composés secondaires d'oxydation, de nombreux indices chimiques permettent de doser les aldéhydes (indices de paranisidine, test TBA, indice de carbonyle) mais avec une sensibilité d'application réduite. Le Test de Swift ou AOM (*Active Oxygen Method*) (normalisée AOCS). Ce test consiste à faire passer un courant d'air purifié dans un échantillon d'huile à 97,8 °C. A des intervalles réguliers, et on détermine le temps nécessaire à un indice de peroxyde de 100 meq d'oxygène actif/kg.

Dans le test de Swift modifié (Afnor), le flux de gaz barbote dans une solution de rouge crésol, qui vire au jaune au contact de produits volatils libérés. Le test au Rancimat est une version automatique du test de Swift, qui permet de déterminer le temps de résistance d'un échantillon, à l'oxydation par une mesure conductimétrique. Le Rancimat offre l'avantage de suivre plusieurs échantillons en parallèle, avec des durées d'analyse réduites. Cependant, de part les conditions drastiques d'oxydation (120°C, bullage intensif d'air), ce test est peu représentatif des conditions normales de stockage [22]. Les résultats doivent être utilisés en vue de comparer, les stabilités oxydatives des matières grasses entre elles.

### 1.2.2. Rôles et principaux types d'antioxydants alimentaires

L'antioxydant alimentaire idéal, est facilement incorporable, efficace à faible dose, et non toxique, n'entraîne ni coloration, ni odeur, ni saveur indésirable. Résistant aux processus technologiques, il est stable dans le produit fini. Il doit être apte à ralentir, retarder ou prévenir

les processus d'oxydation [23] . Les antioxydants sont en fait des agents de prévention ou de terminaison capables d'éviter ou de piéger les radicaux libres. L'action préventive bloque l'initiation en complexant les catalyseurs, en réagissant avec l'oxygène ou en déviant de l'aliment des effets de lumière ou des rayonnements.

En tant qu'agents de terminaison (piégeage de radicaux), les antioxydants transforment les radicaux en composés plus stables et bloquent la phase de propagation. Un tel effet résulte d'une structure de donneurs d'Hydrogène, souvent aromatique, comme le cas des dérivés des phénols (tocophérols, polyphénols, flavonoïdes...) [24] . Certains d'entre eux ( $\beta$ -carotène, lycopène...) sont utilisés comme colorants. D'autres composés phénoliques de synthèse comme le BHT, le BHA, sont autorisés dans certains aliments [25] .

La préférence pour des antioxydants naturels pose le problème de leur efficacité. Si la complexité de l'aliment final ingéré est ignorée, il peut en découler de graves problèmes toxicologiques dus aux synergies ou aux produits dérivés [26] . Aussi, les antioxydants, tout comme n'importe quel autre constituant alimentaire, présente un danger potentiel, lorsqu'ils sont consommés en excès, d'où la nécessité d'imposer une réglementation [27] .

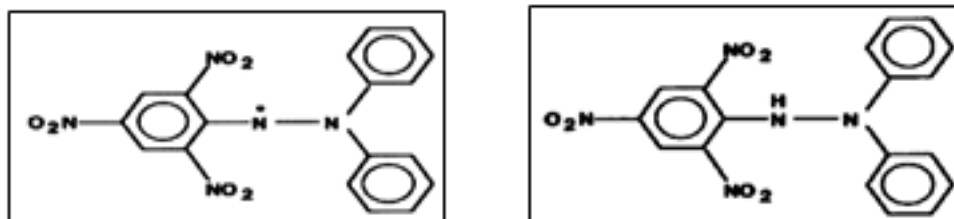
### 1.2.3. Évaluation de l'aptitude antioxydante

La capacité d'un composé, à piéger les radicaux libres et de ralentir ou inhiber, aussi bien les phases d'initiation que de propagation, implique la création de radicaux. Dans la méthode TEAC (*Trolox equivalent antioxidant capacity*), l'activité antioxydante totale d'une molécule est déduite de sa capacité à inhiber le radical ABTS<sup>•+</sup>, obtenu à partir de l'ABTS comparativement à un antioxydant de référence, le Trolox. D'autres méthodes sont également utilisées comme la méthode ORAC (*oxygen radical absorbance capacity*) [28] et la méthode utilisant le radical stable DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle) (figure 2) [29].

Les méthodes comparant le piégeage d'un additif, avec celui d'un antioxydant de référence, le Trolox, sont applicables à des produits variés quelle que soit l'hydrophilie ou l'hydrophobie du milieu. L'efficacité des antioxydants (traduite en rapport d'inhibition, IR) correspond à :

$$IR (\%) = [(a-b) / (a-c)] \times 100$$

*a, b, c* sont les concentrations en dérivés oxydés respectivement, sans antioxydant et en présence de l'antioxydant à tester après incubation.



1: Diphenylpicrylhydrazyl (radical libre)

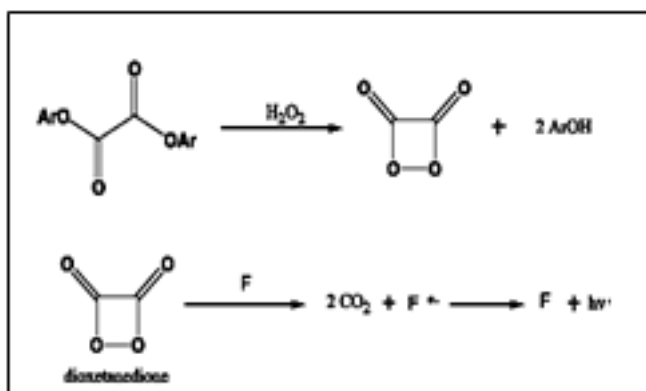
2 Diphenylpicrylhydrazine (nonradical)

Figure 2 : Mécanisme de la réaction au DPPH

Ces dernières années, la chemiluminescence (CL) est devenue un outil analytique puissant et sensible à la détection sélective d'une grande variété d'espèces chimiques.

De nombreux travaux ont été édités sur l'utilité de l'analyse par CL en chimie analytique, dans la recherche pharmaceutique et dans le contrôle de qualité. C'est une méthode simple,

et relativement peu coûteuse, tout en fournissant une sensibilité très élevée comparée à d'autres méthodes analytiques. Le mécanisme de la réaction exige une voie chimique, ayant pour effet l'état d'excitation de la molécule du produit, celle-ci doit être capable d'émettre de l'énergie comme lumière (CL direct) ou transférer son énergie à une autre molécule qui offre les mêmes possibilités (CL sensibilisé). La chemiluminescence de Peroxyoxalate (POCL) implique l'oxydation du peroxyde d'hydrogène et d'un d'oxalate en présence d'un fluorophore (activateur). La réaction produit une luminescence chimiquement par échange d'électron tout en dégageant une grande énergie. Il se forme un complexe avec le fluorophore 9,10-diphenylanthracène qui donne un électron à l'intermédiaire. Par la suite, l'électron est transféré de nouveau au fluorophore, qui s'excite en libérant une lumière caractéristique (figure 3).



**Figure 3 :** Mécanisme de la réaction de la chimiluminescence

La Chimiluminescence est employée pour la détermination d'un nombre d'espèces comme le peroxyde d'hydrogène, et fluorescent composés (par exemple, hydrocarbures aromatiques polycycliques) mais les applications incluent également des essais biologiques d'enzymes et l'activité des antioxydants. En raison de son environnement non polaire, la CL a été développée en vue d'évaluer principalement l'activité des antioxydants hydrophobes. La reproductibilité de l'intensité de la CL, a été examinée (CL de I et du temps a exigé jusqu'à obtention du plateau) séquentiellement après analyse d'un ensemble de plusieurs échantillons (antioxydants) à des concentrations différentes [30].

### 1.3. Les études de contribution à l'enrichissement avec les pelures de tomates.

Les premiers essais d'utilisation des déchets de tomates, et plus précisément les pelures à l'état humide, ont eu lieu sur l'aliment des ovins par ensilage, dans l'objectif de l'enrichir en caroténoïdes [31,32]. Par la suite, cela s'est étendu à l'aliment de volaille en vue d'élever sa teneur en fibres. Ceci, a eu pour effet, le renforcement de la pigmentation jaune de la chair de poulet, qui est généralement souhaitable, et le transfert de quantités discernables de lycopène dans les œufs, et leur renforcement en lutéine [33, 34].

Les incorporations de lycopène issus des dérivés de tomates, ou de lycopène pur, ont par la suite apparu dans certains aliments et plus particulièrement dans les huiles végétales afin de stabiliser et de favoriser leur résistance lors du stockage. À cet effet, de nombreux travaux ont été réalisés sur la stabilité de l'huile d'olive vierge enrichie en lycopène pur, en vue de d'introduire sur le marché en tant qu'aliment fonctionnel. Il a été établi, que toute la fraction polaire des différents phénols de l'huile d'olive vierge a réagi en

synergie avec le lycopène (le hydroxytyrosol et l'acide caféique) en présentant des facteurs de protection supérieure que le BHT [35]. Plus récemment, des résultats similaires sur la stabilité des huiles végétales raffinées ont été obtenus par addition de lycopène aux sous-produits d'extraction de l'huile d'olive [36,37]. Nous citerons également l'effet protecteur du lycopène sur la stabilité de l'huile de soja, qui s'est traduit par une résistance à l'oxydation, lors des traitements thermiques [38]. Par ailleurs, et afin de préserver les fonctions antioxydantes du lycopène et de faciliter son usage comme ingrédient des préparations d'aliments fonctionnels, des systèmes d'émulsions d'huile - eau ont été élaborés comme agent tensioactif (cationique, anionique, et non ionique) avec l'huile de maïs. Ainsi, de nouvelles technologies se sont développées, pour stabiliser le composant bioactif, et les ingrédients demeurent actifs, une fois que l'émulsion est dispersée dans l'aliment à base d'eau [39].

Les travaux d'incorporation et d'enrichissement ont suscité un vif intérêt des industriels, dans l'optique de recycler les pelures, dans la production des sauces tomate, en augmentant le contenu du lycopène de 50%, sans aucun changement sensoriel. La question de biodisponibilité des pelures, après absorption, comparativement à la pulpe s'est posée à un moment avec acuité. Les pelures finement écrasées et homogénéisées dans la sauce tomate ont été assimilées de la même manière que la pulpe de tomate [40]. Dans une autre étude, les caractéristiques organoleptiques des sauces tomates telles la viscosité et la couleur du produit fini ont été améliorées, après enrichissement par les pelures. Ceci a eu également un impact positif du point de vue technologique et économique (réduction des épaississants) [41]. Des résultats probants ont été obtenus dans une étude d'amélioration des propriétés sensorielles, et de la texture des saucisses sèches (produit à base de viande enrichi en lycopène) suite à l'incorporation des pelures de tomates à des proportions de 0.26 à 0.58 mg de lycopène/100 g de saucisse [42]. Des extraits de poivron et de pelures de tomate ont été ajoutés aux pâtés de boeuf afin de substituer les antioxydants conventionnels comme le BHT et le BHA. Ceux-ci ont exercé un effet antioxydant significatif. Les sous-produits de tomates ont même retardé la détérioration des viandes à des degrés variables, de sorte que la durée de conservation des pâtés de boeuf traités a été étendue à 8 et 12 jours. Ainsi, le stockage de la viande peut être prolongé en limitant la décoloration, l'oxydation des lipides et la croissance microbienne [43].

D'autres applications, de l'introduction du lycopène, dans les préparations alimentaires se sont développées, pour s'étendre à la photoprotection des vitamines du lait, base de certains aliments lactés [44].

Les pelures de tomates, ont également trouvé usage dans les biotechnologies, pour extraire un mélange de polysaccharides (constituée principalement de glucose et de xylose), qui, une fois purifié, trouve des applications multiples dans la fabrication des films biodégradables (agriculture) où comme agent épaississant (produits alimentaires) [45].

En ce qui concerne les débouchés du lycopène dans l'industrie pharmaceutique et cosmétique, nous citerons, les applications en tant qu'ingrédients dans des produits de santé, avec l'émergence des aliments fonctionnels, suppléments alimentaires, nutraceutiques. La demande sans cesse croissante, sur les produits cosmétiques à base d'ingrédients et colorant naturel, ouvre de nouvelles perspectives aux produits de beauté « anti-âge » et de dermatologie pour la protection de la peau contre le rayonnement solaire [46,47]. La recherche dans le domaine de la biotechnologie s'est renforcée par l'utilisation du lycopène fongique en vue d'une application en médecine [48].

Les résidus de biomasse, peuvent présenter un problème important à l'environnement, lors du stockage, la formation du méthane, peut être induite, par voie de fermentation

anaérobie. Dans ce contexte une étude récente, suggère, l'utilisation du résidu de biomasse de l'industrie de transformation des tomates, en tant que source d'énergie par pyrolyse, comme alternative aux énergies fossiles [49].

## 2. Matériels et Méthodes

### 2.1. Échantillons utilisés

---

La purée de tomate type pasta (boite tétra pack de 500 g), l'huile d'olive de basse qualité (huile constituée d'un mélange d'huiles raffinées et de l'huile d'olive vierge de couleur jaune), l'huile d'olive extra vierge, et l'huile de Tournesol (100%), ont été achetées auprès d'un commerce de la ville de Chania, Grèce. Les pelures de tomates lyophilisées, ont été préparées au laboratoire de recherche de technologie alimentaire de Boumerdes, Algérie.

#### 2.1.1. Préparation des échantillons d'huiles

Les échantillons d'huiles ont été préparés selon le tableau suivant :

Tableau 1 : Préparation des échantillons d'huile

Echantillons	E 1	E 2	E 3	E4
Poids des huiles	20 g	20 g	20 g	20 g
Poids de Tomate incorporée	1 g	2.2 g	5 g	8.6 g
Concentration	5 %	10 %	20 %	30 %
Poids de pelure incorporée	0.5 g	1 g	2.2 g	
Concentration	2.5 %	5%	10 %	

Les échantillons ainsi préparés sont homogénéisés dans le cyclone IQ<sup>2</sup> Virtis blender (1000tr/nm pendant 5mn). On procède par la suite à une centrifugation à 6000 tr/mn pendant 15 mn (HERAEUS Megafuge 1.0 R centrifuge, Allemagne). Les huiles sont ensuite stockées à 4°C.

#### 2.1.2. Indices chimiques déterminés :

**Indice de peroxyde** : ISO 3960-1977 (E)

L'indice de peroxyde (m eq O<sub>2</sub>/Kg oil) est déterminé pour les huiles fraîches et sur les quatre échantillons d'huile enrichie en tomate.

**Acidité** : selon EC régulation 2568/91, Annexe II.

#### 2.1.3. Détermination des Polyphénols totaux

Les concentrations en polyphénols de nos échantillons d'huiles ont été déterminées selon la méthode de Folin Ciocalteu.

· Extraction :

25 g d'huile sont introduits, dans une ampoule à décanter de 250 ml, avec 30 ml de mélange méthanol-eau (60/40), suivis d'une agitation de 2 mn. La phase aqueuse est récupérée



dans une autre ampoule à décantier de 250 ml. Cette opération est répétée deux fois. 50 ml d'hexane sont ensuite introduits dans l'ampoule (dernier lavage), on agite et on laisse au repos; La contraction de la phase aqueuse, se fait au Rotavapor à 45°C. Les phénols sont récupérés ensuite dans 5 ml d'éthanol.

Dosage :

Dans un tube Eppendorf de 1,5 ml, on introduit 790 µl d'eau distillée et 10 µl de l'échantillon ainsi que 50 µl de solution de Folin Ciocalteu (Merck), le mélange est passé au vortex. Après 1 mn, on ajoute 150 µl de solution aqueuse de carbonate de sodium à 20%. Le mélange est agité au vortex et déposé à température ambiante à l'abri de la lumière pendant 1h30mn. La lecture de l'absorbance se fait à 750 nm. Le blanc est obtenu avec une solution de méthanol.

#### **2.1.4. Extraction des caroténoïdes**

La technique d'extraction des caroténoïdes sur les tomates fraîches et sur les pelures de tomates s'est fait selon, Rodriguez-Amaya, *et al* [50].

10g de tomates fraîches (5g pour les pelures de tomate lyophilisées) sont pesés, pour être, macérés dans un mortier avec de l'acétone (répéter l'opération au moins trois fois). On filtre le contenu, et on récupère les filtrats dans une ampoule à décantier. Pour minimiser les pertes, on lave le résidu du filtre avec de l'acétone contenant du BHT à 0.1%. La phase organique ainsi obtenue, est lavée à l'eau (4 lavages), jusqu'à disparition de la couleur, déshydraté au sulfate de sodium et concentrée au rotavapor (T°C < à 30°C). Le résidu est transvasé dans une fiole conique, avec 25 ml de KOH méthalonique à 10%, plus 25 ml d'éther de pétrole à 0.1% de BHT. La solution obtenue est déposée sur un agitateur à l'abri de la lumière (couvrir au papier Aluminium) et laisser toute la nuit. Après saponification, l'échantillon, subira des lavages successifs (50 ml éther de pétrole à 0,1% BHT + 50 ml de KOH méthalonique à 10%) avec agitation pour faciliter l'apparition des phases, puis décantation (après 3 lavages successifs), et des lavages à l'eau + méthanol (100 ml) jusqu'à neutralisation du pH. La phase organique ainsi récupérée est disposée dans le rotavapor (T<30°C) pour y subir une concentration. La fraction est reprise dans 2 ml d'acétone (pour HPLC) dans des tubes eppendorf et stockée à - 20°C.

Détermination et calculs

Des dilutions sont réalisées pour les analyses au spectrophotomètre. Les absorbances sont lues respectivement, à 663, 645, 505 et 453 nm. Le blanc est obtenu avec une solution d'acétone. Les lectures se font 3 fois pour chaque échantillon. Les concentrations en lycopène et β carotènes sont données par l'équation [51] .

$$\text{Lycopène (mg/100 ml d'extrait)} = - 0,0458 \times A_{663} + 0,204 \times A_{645} + 0,372 \times A_{505} - 0,0806 \times A_{453}$$

$$\beta \text{ Carotènes ( mg / 100 ml d'extrait)} = 0.216 \times A_{663} - 1.22 \times A_{645} - 0.304 \times A_{505} + 0.452 \times A_{453}$$

Le Lycopène et le β carotène sont exprimés en mg / Kg d'extrait sec.

## **2.2. Mesure de l'activité antioxydante**

---

### **2.2.1. Méthode au DPPH**

Une solution de DPPH est préparée pour les besoins des essais, (22 mg de DPPH dans 100 ml de solution d'acétate d'éthyle). Trois dilutions sont effectuées pour chaque échantillon, prendre ensuite 100 µl de l'échantillon auquel on ajoute 900 µl de DPPH. L'absorbance est déterminée à 515 et 580 nm, chaque 15 mn jusqu'à l'obtention du plateau ; Il est important de disposer les solutions à l'abri de la lumière avant chaque lecture. L'étalonnage du spectrophotomètre est obtenu par une solution d'acétate d'éthyle. L'absorbance du radical DPPH sans antioxydant (essai à blanc) est mesurée régulièrement. La concentration initiale moyenne du DPPH est calculée par la courbe d'étalonnage établie à cet effet selon l'équation :

$$A_{515} = 27.153 C_{\text{DPPH}} (\text{mg/ml}) + 0.0002 r^2 = 0.9983$$

Pour toutes les concentrations des échantillons testés, le pourcentage de DPPH restant dans la phase stable est calculé selon l'équation :

$$\% \text{ DPPH}_{\text{rest}} = [(DPPH)_T / (DPPH)_{T=0}] \times 100.$$

**T** : temps de recherche du plateau.

Ces valeurs sont extrapolées en [g/antioxydant/Kg DPPH] pour obtenir la quantité de l'échantillon nécessaire pour diminuer la concentration du DPPH initial de 50% (valeur **EC 50**). Le processus de décoloration a été enregistré après la minute 5 de réaction à 517 nm et comparé au blanc [52].

### 2.2.2. Méthode d'évaluation au peroxyde d'hydrogène de l'activité scavenger

- Réactifs

Acetonitrile (MeCN) et ethyl acetate (EtOAc) sont de haute pureté analytique, β-carotène, 9,10-diphenylanthracene (9,10-DPA), imidazole, peroxyde d'hydrogène (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), bis (2,3,6-trichlorophenyl) oxalate (TCPO), butylated hydroxytoluene (BHT), et quercétine sont de Sigma (St. Louis, MO).

- Technique

Les échantillons doivent subir 3 dilutions différentes, selon la technique établie par Arnous *et al* [53], avec quelques modifications.

1.8 ml (9,10-Dimethylantracene (9:1-DMA) [0.5mM dans l'acétate d'ethyl (EtOAc) : Acetonitrile (MeCN) (9 :1) est mixer avec 0.2 ml de solution d'imidazole (4.5 mM dans EtOAc :MeCN (9:1) et 0.025 ml H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (2.25 Mm in MeCN). C'est la mixture A. Dans une cuvette (1cm), on introduit 0.2 ml de la solution bis (2,3,6-trichlorophenyl) oxalate (TCPO) (0.45 Mm dans MeCN) et 0.05 ml de l'échantillon à analyser, la mixture A est immédiatement ajoutée et agiter 5 secondes. L'intensité chemiluminescence (CL) est continuellement suivie par lecture de l'absorbance jusqu'à l'obtention du plateau. L'échantillon de référence est testé par addition de 0.05 ml de solvant en remplacement de la solution contenant l'antioxydant. (Blanc). En extrapolant  $I_0$  /I en fonction de la concentration et on obtient l'équation du type suivant ;

$$I_0 / I = a \times C \pm b$$

$I_0$  : intensité ICL sans antioxydant ajouté,  $I$  : intensité ICL après ajout d'antioxydant.

a et b sont les graduants respectifs.



Si on considère que  $I_0 / I = 2$ , il est possible de calculer la quantité d'antioxydant de chaque échantillon qui induit la réduction de la ICL de 50% (**IC<sub>50</sub>**), L'activité scavenger du peroxyde d'hydrogène (**SA<sub>HP</sub>**) est défini comme :

$$SA_{HP} = I / IC_{50}$$

### **2.2.3. Test de Rancimat**

On pèse 3 g d'huile (Batterie pour 4 échantillons plus 2 témoins), dans les fioles de l'appareil (Rancimat type 679 Metrohm Suisse). Introduire 70 ml d'eau distillée, dans chaque cuve. Placer les électrodes aux endroits indiqués, et programmer l'équipement selon la méthode choisie. Pour nos essais, la température est réglé à 120°C, avec un débit d'air de 20 l/h, et un rang de conductivité de 50 µs/cm, le temps de réaction a été estimé à 20 heures.

## **3. Résultats et discussion**

L'acidité, la teneur en peroxyde et la teneur totale de phénols des huiles utilisées sont données dans le tableau 2.

L'incorporation de la purée de tomate et de pelures de tomate dans l'huile de basse qualité, et l'huile d'olive vierge n'ont pas laissé apparaître des changements de l'acidité et de l'indice de peroxyde. Notons tout de même, l'augmentation significative de l'indice de peroxyde de l'huile de tournesol, après l'addition de la purée de la tomate à 5%.

L'incorporation de la purée de tomate a par contre, induit une diminution significative, qui a atteint les 50% de la teneur initiale en polyphénols de l'huile d'olive vierge après l'incorporation de 30% de purée de tomate. Dans le même sens, l'huile raffinée de basse qualité a enregistré une diminution peu marquée dans le même rapport. Contrairement, dans le cas de l'huile de tournesol, un enrichissement significatif en polyphénols avec l'addition de purée de tomate a été constaté. Le même constat est fait pour l'huile de basse qualité lorsque enrichie en pelures de tomate. Les diminutions observées, pourraient être attribuées à la dissolution des polyphénols dans la phase aqueuse de la purée de tomate pendant la centrifugation causant un éventuel lessivage.

	Caractéristiques	Acidité (% acide oléique/Kg huile)	Indice de peroxyde (meq O <sub>2</sub> /Kg)	Polyphénols totaux EAC (mg/g huile)
Huile d'olive raffinée	0 % tomate	0.46 ± 0.08 a	6.76 ± 0.35 a	0.023 ± 0.001 a
	5 % purée de tomate	0.38 ± 0.08 a	7.00 ± 0.50 a	0.023 ± 0.001 a
	10 % purée de tomate	0.45 ± 0.05 a	7.03 ± 0.40 a	0.020 ± 0.001 b
	20 % purée de tomate	0.44 ± 0.07 a	7.17 ± 0.25 a	0.020 ± 0.001 b
	30 % purée de tomate	0.45 ± 0.05 a	7.62 ± 0.41 a	0.020 ± 0.001 b
	5 % pelure de tomate	0.39 ± 0.09 a	7.45 ± 0.18 a	0.029 ± 0.001 b
	10 % pelure de tomate	0.38 ± 0.04 a	7.44 ± 0.24 a	0.029 ± 0.001 b
Huile d'olive vierge	0 % tomate	0.32 ± 0.03 a	12.24 ± 0.25 a	0.142 ± 0.002 a
	5 % purée de tomate	0.40 ± 0.02 a	11.43 ± 0.40 a	0.107 ± 0.002 b
	10 % purée de tomate	0.39 ± 0.04 a	11.33 ± 0.33 a	0.106 ± 0.001 b
	20 % purée de tomate	0.33 ± 0.03 a	11.38 ± 0.38 a	0.094 ± 0.003 c
	30 % purée de tomate	0.36 ± 0.04 a	11.48 ± 0.40 a	0.072 ± 0.001 d
Huile de tournesol	0 % tomate	0.07 ± 0.03 a	2.39 ± 0.40 a	0.003 ± 0.000 a
	5 % purée de tomate	0.14 ± 0.04 b	4.30 ± 0.50 a	0.004 ± 0.000 a
	10 % purée de tomate	0.08 ± 0.04 b	4.37 ± 0.45 a	0.005 ± 0.000 b
	20 % purée de tomate	0.12 ± 0.03 b	4.50 ± 0.40 a	0.010 ± 0.000 c
	30 % purée de tomate	0.44 ± 0.41 b	4.58 ± 0.40 a	0.010 ± 0.000 c

**Tableau 2 :** Acidité, Indice de peroxyde et teneur totale de phénols d'huiles avant et après traitement avec la purée ou la pelure de tomate.

En ce qui concerne l'huile de tournesol, où la concentration phénolique est négligeable, l'enrichissement en purée de tomate a augmenté légèrement la teneur en polyphénols. Par conséquent, l'incorporation des pelures de tomate contrairement à la purée, surmonte ce problème dans le cas où l'objectif recherché est l'augmentation des teneurs en polyphénols.

### 3.1. Teneurs en caroténoïdes

La teneur en caroténoïdes des huiles supplémentées, tend à augmenter de manière significative, proportionnellement aux taux d'incorporation de purée et de pelures de tomate. Nous avons observé une diffusivité plus élevée de lycopène dans l'huile d'olive vierge enrichie à 5% de purée de la tomate, comparativement aux deux autres types d'huiles. Mais cette différence disparaissait au fur et à mesure que les pourcentages d'enrichissement augmentent (Figures 4 et 5). Cependant, l'efficacité des pelures de tomate apparaît de manière plus importante avec, comme exemple, une teneur moyenne en lycopène de 1,99 mg/100 g d'huile après son incorporation à 10%. Ceci correspond approximativement, au même contenu de lycopène de la purée de tomate incorporée à 20%, soit 1,84 mg/100g d'huile retrouvé dans l'échantillon d'huile de basse qualité. En outre, une teneur de 1,07 mg/100g d'huile de  $\beta$  carotène a été obtenue dans l'huile de basse qualité supplémentée à 10% de pelure de tomate, ce qui représente une teneur de 1,8 fois plus de  $\beta$  carotène dans la même huile supplémentée à 30% de purée de tomate.

Les pelures de tomate présentent une teneur moyenne de 5,85 mg/100g en lycopène, tandis que dans la purée de tomate la teneur moyenne en lycopène est de **2,91 mg /100 g**.

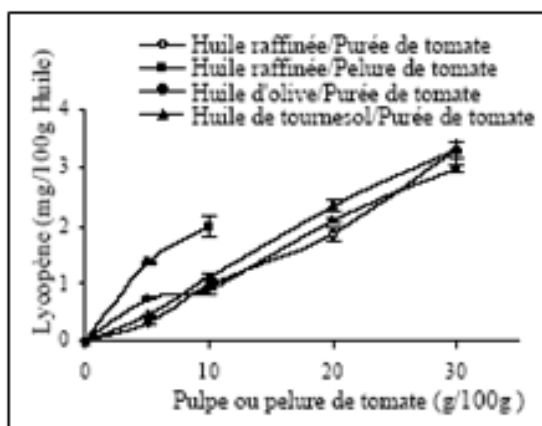


Figure 4: Teneurs en lycopène des différentes huiles enrichies en purée ou pelures de tomate.

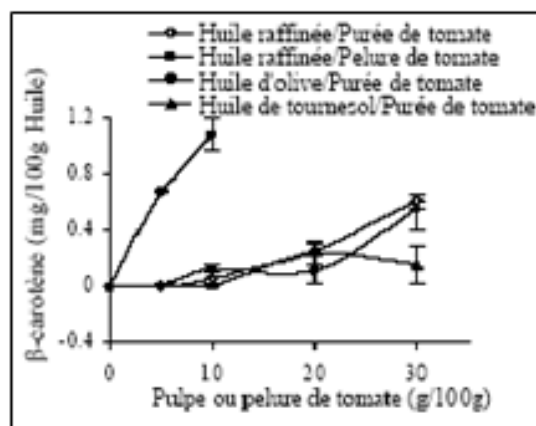


Figure 5: Teneurs en  $\beta$ -Carotène des différentes huiles enrichies en de purée ou pelures de tomate.

Pour la concentration en  $\beta$  carotène, celle-ci est de 2,90 mg/100 g et de 0.15 mg/100g dans les pelures et purée de tomates respectivement. Ces résultats corroborent, avec ceux obtenus dans les travaux ayant mis en évidence, que les teneurs en lycopène sont beaucoup plus importantes dans les pelures (peaux) que dans le reste des parties du fruit de tomate et que celui-ci se situe dans la fraction de fibre de la pulpe [54, 55].

La différence non-significative de la solubilité des caroténoïdes dans les différents types d'huiles est due à leur similitude dans la composition en acides gras. Des données sur le profil d'acide gras d'huiles utilisées (norme de codex 210-1999, 2001; Norme de codex 33-1981, 2001) notent des différences qui concernent l'acide palmitique (7,5 – 20,0% pour l'huile d'olive vierge, contre 5,0 – 8,0% pour l'huile de tournesol), l'acide oléique (55,0 – 83,0% pour l'huile d'olive vierge contre 13,0 – 40,0% pour l'huile de tournesol) et l'acide linoléique (3,5 – 21,0% pour l'huile d'olive vierge contre 40 – 74% pour l'huile de tournesol). Néanmoins dans des travaux antérieurs, la solubilité du lycopène et  $\beta$  carotène était montrée qu'elle dépend de la longueur de la chaîne des acides gras composant le triglycéride. Par conséquent, la solubilité de ces deux caroténoïdes augmente avec les acides gras à chaînes courtes. Par contre, le degré d'insaturation des acides gras n'a pas d'effet sur la solubilité des caroténoïdes [56].

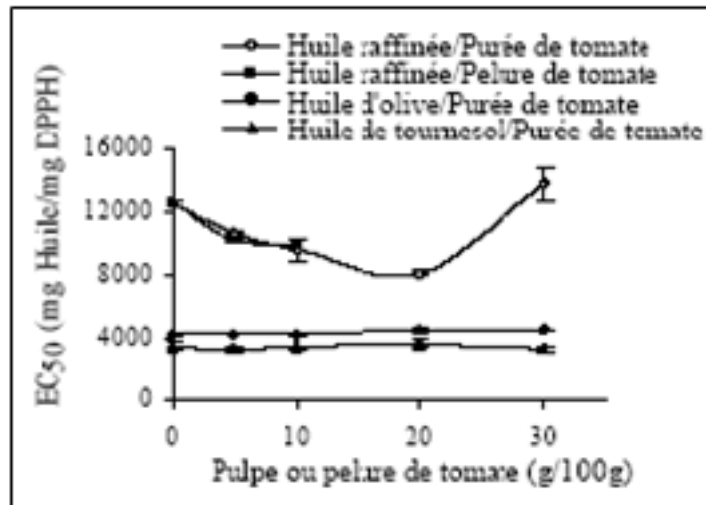
## 3.2. Mesure de l'activité antioxydante

### 3.2.1. Essais au DPPH

L'huile de tournesol a montré la meilleure activité antiradicalaire, exprimée en  $EC_{50}$  équivalent à 3557,6 mg huile/mg DPPH contre 4279,0 mg huile/mg DPPH et 12601,1 mg huile/mg DPPH pour l'huile d'olive vierge et pour l'huile raffinée, respectivement (figure 6). Ceci peut être expliqué par l'enrichissement de l'huile de tournesol commerciale en tocophérol. L'incorporation de purée de tomate dans l'huile de basse qualité a augmenté l'efficacité de son activité antioxydante à un taux d'incorporation de 20%. Au-delà de ce taux, nous observons une baisse de l'activité antioxydante comme cela apparaît dans l'échantillon à 30%.

Les pelures de tomate incorporées, ont montré des résultats semblables, sans pour autant diminuer l'efficacité de l'activité antioxydante, en raison de l'enrichissement des

huiles en polyphénols. Dans le cas de l'huile d'olive vierge, l'efficacité antioxydante a diminué à partir de 5% d'incorporation de purée de tomate. Néanmoins la différence était négligeable jusqu'au taux de 20% de purée de tomate.



**Figure 6** : L'EC50 de différentes huiles à de diverses additions de purée ou de pelure de tomate.

Les huiles de tournesol enrichies n'ont pas montré de différence significative, vraisemblablement à cause de leur enrichissement en  $\alpha$ -tocophérol. La diminution de l'activité antioxydante qui s'est manifestée au fur et à mesure de l'augmentation des taux d'incorporation de purée de tomate pourrait s'expliquer, soit par perte en polyphénols ou bien à l'apparition d'une activité pro-oxydante des caroténoïdes au-delà d'un certain seuil de concentration. En effet, il a été établi, que la lutéine, le lycopène et le  $\beta$ -carotène augmentent la formation d'hydroperoxyde des triglycérides autoxydés, et qu'une combinaison des caroténoïdes et du tocophérol empêcherait le développement de cette activité pro-oxydante [57, 58]. Dans d'autres recherches, il a été montré que l'activité antioxydante des caroténoïdes dans les solutions organiques est liée à la concentration en oxygène, à la structure chimique des caroténoïdes et à la présence d'autres antioxydants (par exemple les polyphénols et les tocophérols). Beaucoup de travaux ont mis en évidence, que les caroténoïdes ont maintenu la stabilité des huiles face aux phénomènes d'oxydation [59,60]. Dans ce contexte, il a été reporté que l'addition du lycopène pur à 0,5% et 1% dans de l'huile d'olive vierge a fourni une protection contre l'oxydation pendant le stockage, tout en préservant les composés phénoliques et l' $\alpha$ -tocophérol [61,62]. Cependant, d'autres travaux ont prouvé que le  $\beta$ -carotène agissait en tant que pro-oxydant pendant l'oxydation de lipides sous l'effet de la lumière [63] et même en absence de lumière [64].

Les composés phénoliques représentent une autre classe de composés antioxydants actifs dans la tomate [65]. Les polyphénols, agissent en synergie avec le lycopène [66]. La capacité antioxydante d'extraits de tomate a été sensiblement liée aux teneurs en acides féruliques et cafféiques, mais pas à la quercétine et à l'acide chlorogénique [67]. Dans d'autres travaux les structures rapportées pour être prédominantes en extraits de tomate étaient la rutine, la quercétine, le chalconaringénine et son produit de dégradation, la naringénine [68]. Cependant, il a été montré qu'une chalcone flavonoïde (chalconaringénine) et une flavanone (naringénine), dépourvus de groupement prenyl, agissaient en tant que pro-oxydant en favorisant l'oxydation des LDL [69]. Vraisemblablement, la manifestation du comportement antioxydant ou pro-oxydant dans

cette étude est le résultat de divers rapports parmi les caroténoïdes eux-mêmes et d'autres composés impliqués. Cette hypothèse, pourrait constituer une piste d'investigations.

### 3.2.2. Essais de chemiluminescence

L'essai de chemiluminescence au peroxyoxalate a donné des résultats semblables à l'analyse au DPPH (figure 7). Avant tout enrichissement, l'huile de tournesol a montré l'activité la plus élevée avec un IC<sub>50</sub> de 430,4 mg huile/ml suivie de l'huile d'olive vierge avec 453,9mg huile/ml et puis par l'huile raffinée de basse qualité avec 552,2mg huile/ml .

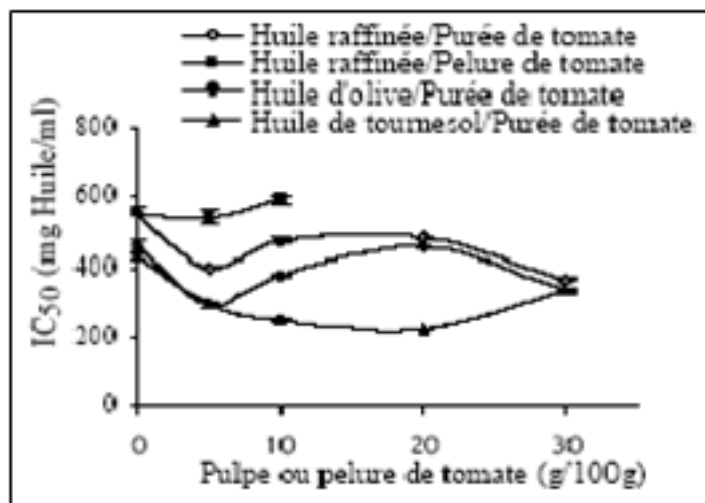


Figure 7 : IC<sub>50</sub> de différentes huiles à différents taux d'incorporation en purée ou pelure de tomate.

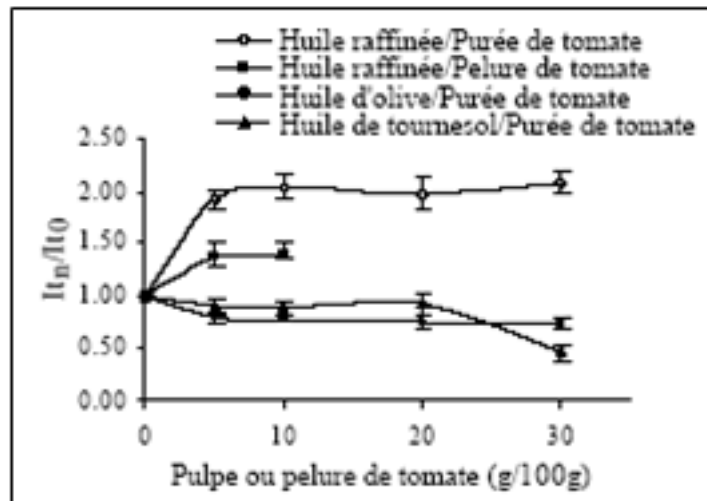
L'incorporation de purée de tomate à 5% a accru l'efficacité antioxydante, mais à des concentrations plus élevées l'efficacité a diminué. Le même effet a été observé par l'incorporation de la peau de tomate à 5%, avec l'huile d'olive vierge à 20% de purée de tomate et avec l'huile de tournesol après l'addition de 30% de purée de tomate.

La manifestation de l'activité pro-oxydante dans le cas de l'huile de tournesol commerciale a été probablement retardée par la présence de  $\alpha$ -tocophérol.

### 3.2.3. Résultats du test de Rancimat

La stabilité oxydante est un paramètre important dans l'évaluation de la qualité des huiles, car elle donne une information fiable de leur susceptibilité à la dégradation et des principales causes de leur changement. Une stabilité plus ou moins élevée de l'huile, signifie la conservation ou pas des paramètres dynamiques du produit [70]. La stabilité examinée par le rancimat, nous renseigne sur l'état réel des mixtures, suggérant de manière fiable l'indication sur le meilleur mélange. Les temps d'induction de différentes huiles utilisées dans cette expérience étaient de 1,7, 9,4 et 1,7 heures à 120 °C pour l'huile raffinée de basse qualité, l'huile d'olive vierge et l'huile de tournesol, respectivement.

Nous constatons que l'huile de basse qualité, présente un temps d'induction deux fois plus élevé (2,1 fois) avec l'incorporation de purée de tomate à 30% et de 1,4 fois plus élevé avec les pelures de tomate à 10%. Néanmoins, le temps d'induction a diminué à 6,9 et 0,8 heures pour l'huile d'olive vierge et l'huile de tournesol, respectivement, correspondant à 0,7 et 0,4 fois à l'induction initiale (figure 8).



**Figure 8** : Temps d'induction des huiles à différents taux d'incorporation en purée et pelures de tomate.

Les résultats obtenus avec le test de rancimat, ne sont pas corrélés avec les deux essais précédents de l'activité antioxydante. La différence des mécanismes impliqués pourrait être à l'origine de cet état de fait. Néanmoins, en raison de l'importance du test de rancimat sur le plan technologique, nous le considérons comme le plus indicatif. Aussi, nous suggérons une incorporation optimale à 10% de pelures de tomates dans l'huile de basse qualité afin d'augmenter sa qualité alimentaire et sa stabilité.

### 3.3. Profil Phénolique

Les résultats de l'analyse de LC-MS des pelures de tomates et purée de tomates sont indiqués dans les tableaux 3 et 4. Les valeurs trouvées corroborent les travaux précédents, où les flavonoïdes les plus prédominantes sont la rutine [71], la quercétine [72], le chalconaringénin. Ce dernier, étant instable, il se convertit facilement en naringénine [73]. Dans nos préparations d'huiles, seulement la rutine et la naringénine ont été récupérées comme flavonoïdes provenant de la purée et de la pelure de tomate ; la rutine étant détectée en traces (tableau 3). Il a été rapporté, que le chalconaringénin et la naringénine sont deux flavonoïdes pro-oxydants ; ce qui peut expliquer partiellement le changement d'états oxydatifs des préparations d'huiles [74].

Tableau 3 : Chromatogramme LC-MS pour la purée de tomate

**Partie 3 : Valorisation d'une huile végétale de basse qualité par enrichissement en purée et pelures de tomates lyophilisées.**

Temps de Retention (min)	[M+H] <sup>+</sup> (m/z)	Fragment ion (m/z) at 12 eV	Fragment ion (m/z) at 40 eV	λ max (nm)	Identification
13.78	743	743	611, 465, 303	254, 354	Rutoside-tartrate
15.03	611	611	465, 303	256, 354	Rutine
19.12	273	273	273	240, 290	Naringenine
25.11	182	182	182, 167	280	2-(4-Hydroxy-3-methoxyphenyl) acide acétique
25.72	343	172	172	238, 282	Trihydroxybenzoic acide
26.79	277	171, 277, 294, 299	171, 299	250, 272	Ester de l'acide gallique
27.99	219	219, 236, 241	-	238, 280	8-Acetyl-7-hydroxy-4-methylcoumarin

**Tableau 4 : Chromatogramme LC-MS pour la pelure de tomates**

Temps de Retention (min)	[M+H] <sup>+</sup> (m/z)	Fragment ion (m/z) at 12 eV	Fragment ion (m/z) at 40 eV	λ max (nm)	Identification
6.01	287	231	163	240, 284	40-4-5-Hydroxy-20-methoxychalcone
14.98	611	611	303, 276	256, 352	Rutine
19.01	273	273	147, 153	238, 290	Naringenine

## 4. Conclusion

Dans cette étude, nous avons suggéré une approche pour la valorisation d'un sous-produit de la tomate par l'extraction des caroténoïdes dans des huiles végétales et particulièrement une huile de faible qualité. L'incorporation de purée ou de pelures de tomate n'a pas provoqué une augmentation de l'acidité et de l'indice de peroxyde, hormis dans l'huile de tournesol où nous avons noté une augmentation significative de l'Indice de Peroxyde. Les teneurs en lycopène et en β-carotène étaient semblables dans tous les types d'huiles après incorporation de purée de tomate indépendamment du taux d'enrichissement.

Cependant, L'enrichissement de l'huile de basse qualité par les pelures de tomate a été largement plus efficace dans l'augmentation de la teneur en lycopène et en β-carotène en comparaison à la purée de tomate. D'ailleurs, l'incorporation de purée de tomate a induit le lessivage des composés phénoliques, alors que la peau de tomate a permis de surmonter ce problème et augmenter de manière significative toute la teneur en phénols de l'huile de basse qualité.

En conclusion, les résultats de cette étude prouvent que l'incorporation de la peau de tomate, considérée comme un « déchet » ou sous produit de l'industrie de transformation de la tomate, est un des moyens efficaces d'extraire les caroténoïdes et les composés

phénoliques dans un substrat gras, pour augmenter leur disponibilité biologique, et permettre de ce fait d'améliorer les huiles de basse qualité.



# Partie 4 : Effets du lycopène sur certains paramètres structuraux et fonctionnels chez le rat en croissance.

## 1. Effets nutritionnels du lycopène

### 1.1. Introduction

---

Pour échapper aux graves séquelles du stress oxydant, il y a nécessité de maintenir l'équilibre entre oxydants et antioxydants, afin de préserver les performances physiologiques optimales de l'organisme. Les antioxydants alimentaires comprennent des vitamines (A, C et E), certains oligoéléments (sélénium, zinc), mais également des éléments bioactifs qui ne sont ni des vitamines ni des minéraux et qui se trouvent naturellement dans les aliments issus du règne végétal appelés phytonutriments. Ces métabolites secondaires sont fortement impliqués en prophylaxie de plusieurs cancers et pathologies chroniques [1].

Les composés antioxydants font actuellement l'objet de nombreuses études, car en plus d'un intérêt certain, dans la conservation des denrées comestibles pour l'industrie alimentaire. Ils pourraient s'avérer utile dans la prévention ou le traitement de nombreuses maladies [2]. En effet, il est établi, le rôle néfaste de processus oxydatif incontrôlé et de réaction de type radicalaire dans la genèse, l'entretien ou les séquelles d'un nombre croissant de maladies, généralement liées au vieillissement, que leur mécanisme soit bien connu (athérosclérose), ou encore à l'étude (maladie neurodégénératives)[3].

### 1.2. Oxydation et antioxydants

---

La plupart des réactions oxydatives que l'oxygène est susceptible de provoquer dans l'organisme humain, sont extrêmement lentes. Il est donc peu toxique par lui-même. Mais sous l'action de radiations ionisantes, de rayons UV, de métaux de transition ou au cours de réactions enzymatiques, plusieurs espèces beaucoup plus réactives sont produites[4].

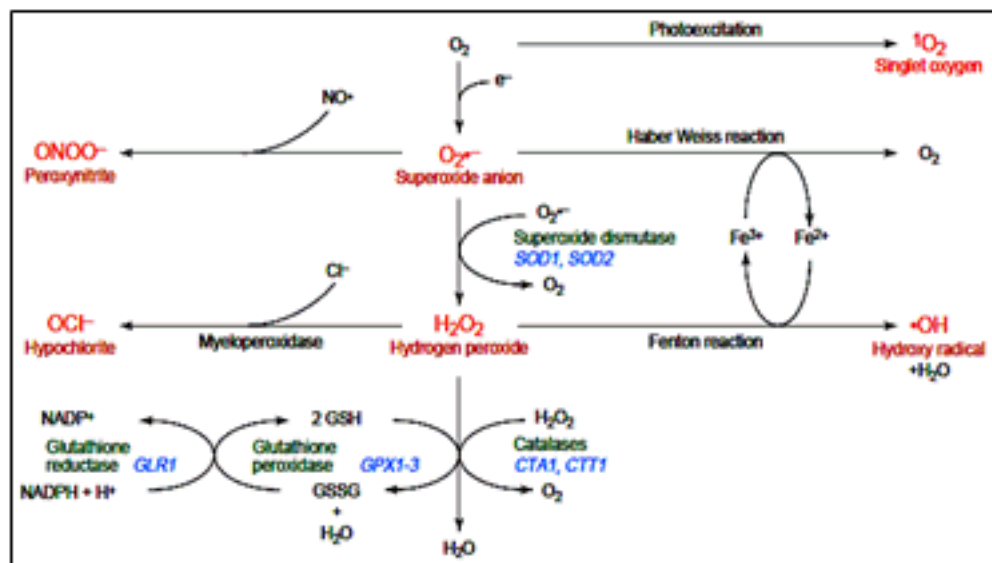
L'appellation « espèces réactives de l'oxygène » (ERO), inclut les radicaux libres de l'oxygène proprement dit, mais certains dérivés oxygénés réactifs non radicalaires donc la toxicité est importante [5]. Les ERO sont produits physiologiquement, à cause d'imperfections au niveau de la gestion de l'oxygène dans des processus comme la respiration mitochondriale. Les réactions de détoxification mettent en jeu les cytochromes P450 ou des oxydases. La production des ERO et de radicaux libres est donc normale. Elle joue un rôle, et ne devient problématique que si elle est excessive ou survient au mauvais endroit [6]. On considère que si aucune pathologie n'est directement et uniquement causée par les ERO, la production de radicaux libres peut favoriser l'agrégation de diverses maladies[7].

#### 1.2.1. Principaux radicaux libres rencontrés en biologie

---

Un radical est une molécule ou un fragment moléculaire qui contient un électron (ou plus) non apparié. De par sa structure particulière, il a tendance à attirer les électrons d'autres atomes et molécules pour gagner en stabilité. Les principaux radicaux libres (figure 1), sont :

L'ion superoxyde ( $O_2^{\cdot-}$ ) est un dérivé très réactif de l'oxygène, il n'est pas très toxique pour l'organisme, mais il est à l'origine de cascades de réactions conduisant à la production de molécules très nocives. Le radical libre hydroxyle ( $OH^{\cdot}$ ) est très réactif, c'est un dérivé de l'ion superoxyde. L'oxygène singulet :  $^1O_2$ , C'est une forme très énergétique de grande réactivité qui peut oxyder de nombreuses molécules. Le radical peroxyde:  $H_2O_2$ , est capable d'initier ou de propager des dommages oxydatifs [8].



**Figure 1 :** Principaux espèces réactives de l'oxygène, et mécanismes de leurs réactions

### 1.2.2. Action néfaste des ERO dans les tissus biologiques

Les dérivés de l'oxygène produits étant hautement réactifs, ils sont susceptibles de jouer un rôle d'oxydants ou d'initiateurs de réaction radicalaires vis-à-vis de nombreuses molécules.

Ils peuvent aussi entraîner le dysfonctionnement ou l'inactivation des protéines et de système enzymatique, altérer la structure des cellules, de leur organite ou des acides nucléiques (figure 2) [9]. Les radicaux libres peuvent induire des effets mutagènes ou l'arrêt des réplifications de l'ADN. Ils agissent en provoquant des altérations de bases, des pontages ADN protéines ou des ruptures de brins. Les radicaux libres sont également responsables d'inactivation enzymatique, d'une fragmentation des macromolécules (collagène, protéoglycannes, acide hyaluronique), de formation de dimères ou d'agrégats protéiniques dans les membranes cytoplasmiques[10]. Les lipides, sont une cible privilégiée des radicaux libres qui provoquent l'oxydation des acides gras polyinsaturés (AGPI) des phospholipides membranaires. Le phénomène d'auto-oxydation où peroxydation lipidique consiste en l'attaque par un radical libre, d'origine exogène ou endogène, de dérivés lipidiques[11].

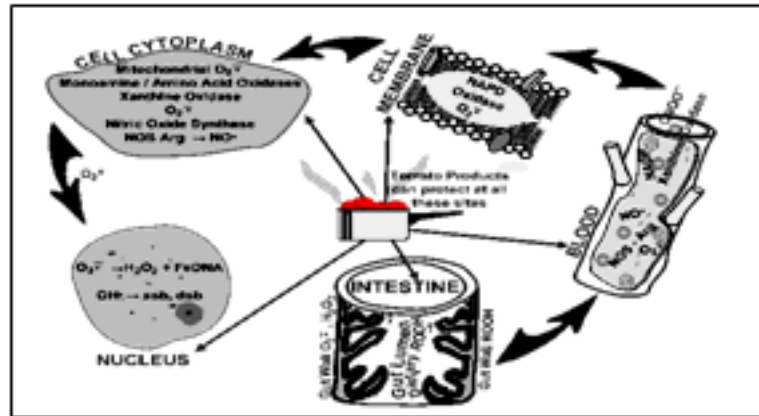


Figure 2 : Site de production et de distribution des ERO dans l'organisme

### 1.2.3 Mécanisme physiologique de l'inactivation des ERO

L'organisme est capable, dans une certaine mesure, de limiter les dommages dus aux radicaux libres, grâce à des mécanismes de défense développés au cours de l'évolution.

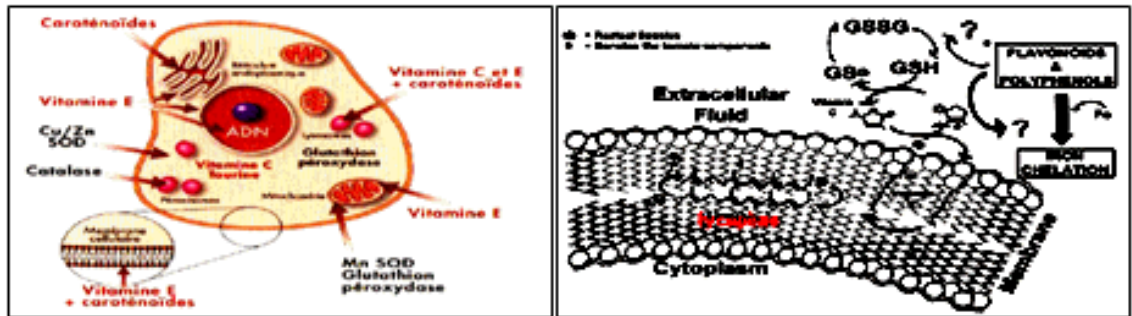
Certains enzymes ont un rôle de détoxification des ERO. La superoxyde dismutase (SOD) convertit le radical anion superoxyde en d'hydrogène, moins toxique [12]. Ce dernier est soit dismuté en oxygène et eau grâce à la catalase, soit transformé en eau, lors de la réaction couplée à l'oxydation du glutathion (GSH), catalysée par la glutathion peroxydase (GPX). Le glutathion oxydé peut être réduit par la glutathion réductase (GRD) qui a pour coenzyme le NADPH [13].

### 1.2.4. Moyens de défense exogènes

- Les caroténoïdes : ils sont très nombreux et représentent la principale source alimentaire de rétinol. En plus de leur activité de provitamine A, les caroténoïdes sont capables d'inactiver l'oxygène singulet et les radicaux libres. L'effet antioxydant du  $\beta$ -carotène serait dû à une interaction entre le radical et le système de doubles liaisons conjuguées de la chaîne insaturée du piègeur [14]. Le  $\beta$ -carotène est particulièrement réactif vis-à-vis des lipoperoxydes : le radical peroxyde se fixerait sur un carbone de la chaîne polyinsaturée et serait stabilisé par résonance. L'effet antioxydant des caroténoïdes serait dépendant de la pression d'oxygène. Différents systèmes *in vitro* ont confirmé le rôle protecteur de ces molécules [15].
- La vitamine E ou l' $\alpha$ -tocophérol : Sa structure lui permet de capter les radicaux libres, dans les zones lipophiles des membranes cellulaires (figure 3 B), grâce à sa chaîne phytyle, dans les zones hydrophiles, à la surface des membranes plasmiques, grâce à son hydroxyle phénolique. L' $\alpha$ -tocophérol réagit avec les radicaux oxygénés lipidiques en empêchant leur propagation. L' $\alpha$ -tocophérol est également un puissant inhibiteur de la formation des nitrosamides, en captant l'acide nitreux. Ainsi transformé, il ne peut plus réagir avec les fonctions amides des molécules pour donner des nitrosamides [16].
- La vitamine C : l'action de la vitamine C est très controversée quant à son effet protecteur ou activateur face à la toxicité de l'oxygène. Selon le pH et la présence de métaux de transition, la vitamine C peut prendre une forme réduite ou oxydée. Le passage de l'une à l'autre se fait par l'intermédiaire d'un radical libre, le radical ascorbyle, et en présence de glutathion/glutathion-réductase. La vitamine C forme

donc un couple redox, avec une forme intermédiaire radicalaire capable de capter l'oxygène singulet et certaines espèces radicalaires. C'est ainsi qu'elle protégerait la peau de la toxicité induite par les rayonnements

UV mais, à forte concentration, la vitamine C peut se comporter comme un pro-oxydant générateur de radicaux libres[17].



**Figure 3 :** (A) Système de défense de la cellule avec (B) Régénération biologique des radicaux libres les sites d'action des nutriments antioxydants (en rouge) et des enzymes antioxydantes (en noir).

### 1.3. Balance antioxydants et stress oxydant

Le stress oxydatif est un terme général, utilisé pour décrire une situation de dommages causés, par les radicaux libres. Dans l'ensemble de nos tissus sains, les défenses antioxydantes sont capables de faire face et détruire les radicaux produits en excès. On dit que la balance antioxydants/prooxydants est en équilibre. Mais dans certaines situations, en raison d'une surproduction radicalaire (tabac, alcool, pollution) ou d'une diminution des capacités antioxydantes (insuffisance d'apports des micronutriments antioxydants, inactivation enzymatique) un déséquilibre entre production de radicaux libres et système de défense est à l'origine d'un état redox altéré de la cellule appelé stress oxydatif [18].

Le stress oxydatif dû aux radicaux libres entraîne des dégâts tissulaires essentiellement par l'oxydation des protéines, de l'ADN, et des lipides. L'oxydation des lipoprotéines est probablement l'un des nombreux indices de stress oxydatif, récemment les plus étudiés. Il est maintenant bien établi que l'athérosclérose, un composant majeur de la pathogenèse des maladies cardiovasculaires, est due à l'association d'une hyperlipidémie et à l'oxydation des lipoprotéines [19]. L'effet d'une intervention diététique ou d'un apport de supplément sur les trois indices majeurs du stress oxydatif (c'est-à-dire les dégâts sur l'ADN, les protéines et les lipides) reste controversé [20]. Alors que certaines études ont montré un effet protecteur par l'adjonction d'antioxydants (nutritionnels ou pharmacologiques), d'autres études ont échoué dans l'observation d'une influence significative [21].

### 1.4. Approche scientifique des études sur l'activité biologique du lycopène

Les difficultés rencontrées dans les études *in vitro* sont inhérentes à la nature de la substance du lycopène. Il est très insoluble en milieu aqueux et dans de nombreux solvants organiques, formant rapidement des agrégats. Il est vital, que le lycopène puisse être introduit dans les cellules en culture. Plusieurs méthodes ont été proposées pour introduire le lycopène ou ses

isomères-*cis* aux cellules en culture. Les résultats indiquent que le moyen le plus efficace est l'inclusion du lycopène (ou de ses isomères) en micelles [22].

Dans le cas des études *in vivo*, les études épidémiologiques ont des significations et des valeurs différentes selon leur nature. Les études d'observation comprennent les études écologiques de comparaison de populations en termes d'incidence de maladie et d'apports alimentaires : Il s'agit le plus souvent de statistiques de morbi-mortalité [23]. Ces études ont une simple valeur d'orientation. Ils peuvent permettre par exemple de mettre en évidence une association entre un aliment (ou une alimentation) et un risque de pathologie, parfois entre un nutriment ou une concentration plasmatique et un risque de pathologie, mais ceux-ci peuvent n'être que des marqueurs[24]. En ce qui concerne les études cas-temoins et les études prospectives, elles sont aussi des études d'observation mais elles concernent les données cumulées d'individus tant en termes de pathologie que de nutrition. Les études prospectives sont plus performantes, mais leur réalisation demeure plus lourde et plus coûteuse, aussi, les études d'intervention sont encore plus pertinentes et décisives, car il y a un tirage au sort (randomisation) pour un changement alimentaire ou la prescription d'un nutriment ou d'un complément alimentaire[25].

## 1.5. Synthèses des travaux sur le rôle protecteur du lycopène

---

Les caroténoïdes sont des antioxydants qui captent et neutralisent l'oxygène singulet et radicaux peroxy par transfert direct de l'énergie entre ces molécules [26]. Cette énergie peut être absorbée dans le milieu sous forme de chaleur ou par autodestruction de la molécule de caroténoïde elle-même. Pour se faire, leurs concentrations et leurs orientations, doivent être appropriées et spécifiques à l'endroit des radicaux libres où ils sont produits [27]. Plusieurs études épidémiologiques ont suggéré, qu'une consommation accrue de lycopène via les produits de tomates, engendre une élévation des taux sériques en lycopène. Celle-ci est inversement liée à l'incidence des maladies cardiovasculaires et cancer de prostate [28].

Les études cliniques élaborées pour évaluer l'impact de consommation de lycopène ou de tomate sur le risque de la progression du cancer de la prostate, ont révélé une amélioration des réponses de l'antigène (PSA) avec stabilisation de la maladie [29]. Contrairement à une étude, qui n'a révélé aucun effet du lycopène sur l'apoptosis induite dans des cellules cancéreuses, chez l'humain [30]. En revanche, dans un modèle d'emphysème de souris le lycopène a diminué le taux d'apoptosis [31]. Deux autres études, chez l'animal, suggèrent que le lycopène empêche la progression du cycle des cellules, dans un modèle oral de cancer et un autre modèle sous-cutané de cancer de la prostate chez les souris [32]. Il y a donc, peu d'évidence *in vivo* pour soutenir une élévation de communication par jonction suite à une consommation de lycopène, où que celui-ci puisse changer le cycle de progression des cellules cancéreuses [33]. Ce qu'il faut noter par contre, c'est que certains travaux, ont révélé une diminution significative de risque de cancer de prostate, après ingestion de produits transformés de la tomate, et non pas des tomates crues [34].

Les études chez l'animal, révèlent qu'un régime avec 10% de poudre de la tomate, a induit une diminution de la tumeur chez le rat. La poudre de tomate s'est révélée plus efficace que le lycopène [35]. Dans une autre étude, l'introduction du lycopène par gavage chez les souris n'a généré aucun changement, dans le cancer de la prostate. Cependant, la combinaison lycopène vitamine E a diminué de manière significative la croissance de tumeur [36]. Nous devons tout de même rester très prudents, quant à l'interprétation des

résultats, car les données animales sont plus difficiles à interpréter en raison du modèle, de l'espèce, et des types d'administration.

En ce qui concerne l'effet antioxydant du lycopène, il y a un certain nombre d'études *in vivo* qui démontrent un retard du temps de latence de l'oxydation de LDL, chimiquement induite dans le sang obtenu des sujets humains alimentés par les produits et extraits de tomate [37]. Une supplémentation en lycopène, à des taux de 10, 15, et 30 mg, n'a pas eu d'effet sur la peroxydation des lipides du sérum ni une protection des LDL encore moins sur le marqueur MDA. Il s'avère donc, qu'une interaction avec d'autres composés de la tomate peut se produire. Par exemple, la combinaison synergique du lycopène, autres caroténoïdes et les polyphénols de tomate, qui semble améliorer le statut antioxydant [38]. Beaucoup d'extraits de lycopène, utilisés dans les études (souvent de tomates), qui peuvent contenir d'autres composés, ont été comparés à l'utilisation du lycopène pur. Le lycopène donné en supplément chez des femmes post ménopausées n'a pas empêché les dommages dans l'ADN, même s'il a diminué les dommages des lymphocytes [39].

Il y a accord presque universel que le lycopène est un excellent antioxydant *in vitro*, particulièrement face à l'oxygène singulet, et peut être la meilleure molécule diététique à cet égard. Il demeure tout de même une question relative à la concentration optimale qui peut réellement avoir un impact sur l'incidence des pathologies étudiées. On sait que les caroténoïdes, même s'ils sont présents à forte concentration dans plusieurs aliments, ils ne sont pas tous absorbés et ne s'accumulent qu'à des concentrations faibles (entre 0.01 et 0.05 micro molaire/dL) dans le sang et les tissus [40]. Ceci apparaît dans une étude, où il a été trouvé 11,6 molécules de  $\alpha$  tocophérol par molécule de LDL, mais seulement 0,9 et 0,5 molécules de lycopène, et de  $\beta$  carotène, respectivement [41]. Il semble donc, peu probable qu'une molécule de lycopène dans la particule de LDL aurait un impact sur l'oxydation de LDL [42]. Bien que le lycopène soit le caroténoïde majeur (80%) dans le sérum et les différents tissus chez l'homme [43], il n'en demeure pas moins que la concentration en tocophérol est bien plus importante que la concentration en lycopène dans la prostate humaine [44].

Un autre mécanisme d'action du lycopène, celui d'induire et de favoriser l'action des enzymes de détoxification. Les conclusions des différentes études sont partagées entre des résultats qui suggèrent que le lycopène favorise l'activité des enzymes hépatiques de la phase II chez le rat [45], et d'autres conclusions sur l'inexistence d'un effet du lycopène sur les enzymes de détoxification [46]. Entre autres, le fait de la diminution de l'absorption des autres caroténoïdes, suite au métabolisme préférentiel, il ne faudrait pas perdre de vue l'effet pro-oxydant à forte dose [47].

Il a été également suggéré, que le lycopène puisse empêcher l'athérosclérose, en diminuant l'expression des molécules d'adhérence à la surface de cellules et dans l'intima. Ici, également, il y a peu d'évidence pour affirmer que le lycopène limite l'athérosclérose [48]. Aussi, sur l'effet hypocholestérolémiant du lycopène, seule une étude humaine a révélée une diminution du taux de cholestérol sérique en présence de lycopène [49], une autre étude n'indiquait aucun effet sur les LDL et HDL cholestérol du sérum [50]. En conclusion, il y a peu d'évidence *in vivo* pour affirmer que le lycopène diminue les risques de maladie cardiovasculaire en améliorant le profil du cholestérol dans le sérum. Il ne faudrait pas perdre de vue, l'effet dose, car il y a risque de saturation des mécanismes absorbants. Cet état de fait, peut avoir une implication pour les épreuves cliniques.

### 1.6. Les formes bioactives du lycopène

---



Bien que 90% du lycopène dans les sources diététiques soit trouvé dans la forme tout *trans*, les tissus humains (en particulier foie, tissu adipeux, testicules et prostate) contiennent principalement les isomères *cis* du lycopène. De même que le 5, 13, et 9 *cis* lycopène non détectés dans les produits de transformation de la tomate (purée et jus), étaient prédominants dans le sérum [51]. Douze isomères *cis* du lycopène, représentent entre 70 à 80% de la concentration totale des isomères *cis* lycopène [52].

Les études physicochimiques, suggèrent que les formes *cis* isomères du lycopène sont efficacement incorporées dans les micelles après digestion dans la lumière intestinale et passage dans les chylomicrons par l'anthérocyte. Ils sont également préférentiellement incorporés par le foie dans les lipoprotéines de très à basse densité (VLDL) et transportés dans le sang [53]. Des travaux ont mis en évidence, que l'isomérisation *trans* en *cis* lycopène a été favorisée par l'acidité du suc gastrique. Ainsi, le pH peut influencer l'isomérisation dans la matrice alimentaire ce qui faciliterait leur biodisponibilité biologique [54]. D'ailleurs les processus technologiques de transformation (concentration, pasteurisation etc.), accentuent la libération du lycopène de la matrice alimentaire tout en augmentant la biodisponibilité des formes *cis* lycopène, contrairement aux tomates crues [55]. Cependant certains composés, tels les fibres et les stérols, peuvent interférer le métabolisme et l'incorporation du lycopène dans les micelles en abaissant ses taux d'absorption [56]. Les graisses diététiques ont été montrées pour favoriser l'absorption de lycopène, principalement en stimulant le suc biliaire pour la formation des micelles. La consommation des produits de tomate, avec l'huile d'olive ou de tournesol a été montrée pour induire une plus grande biodisponibilité du lycopène, bien que l'activité antioxydante du plasma se soit améliorée, avec la consommation d'huile d'olive, suggérant ainsi, l'effet favorable des acides gras monoinsaturés (acide oléique pourrait faciliter la formation des chylomicrons) sur l'absorption de lycopène et son mécanisme antioxydant [57].

## **1.7. Perspectives des recherches sur le lycopène**

---

Les objectifs principaux des essais *in vitro* se sont focalisés sur l'évaluation des mécanismes actifs dans l'absorption du lycopène, son transfert dans le plasma et son rôle protecteur contre le développement des plaques athérosclérotiques. Aujourd'hui, Les lignes d'investigation dans la partie *in vitro* devront se concentrer sur la culture des cellules, l'oxydation des LDL isolés, la synthèse et l'isolation des isomères de lycopène et leurs métabolites respectifs et, l'analyse des métabolites du lycopène pour étudier leur activité biologique dans les divers types de cellules. Dans l'absorption intestinale du lycopène, plusieurs transporteurs membranaires ont été identifiés auxquels on attribue la responsabilité de l'absorption des lipides et des caroténoïdes dans les entérocytes humains. L'incorporation du  $\beta$ -carotène dans les entérocytes par des transporteurs membranaires spécifiques a déjà été démontrée, mais le mécanisme pour le lycopène reste à élucider. Récemment, les études, ont indiqué que l'absorption du lycopène à partir de l'intestin humain dépend peut-être de plusieurs transporteurs spécifiques. L'oxydation des LDL est l'un des événements initiaux de l'athérosclérose. Elle pourrait se dérouler dans la circulation, ou dans l'espace sous-intimal de l'artère. Les LDL sont responsables du transfert du cholestérol vers les tissus et contiennent plusieurs antioxydants solubles dans les lipides comme la vitamine E, le  $\beta$ -carotène, et les isomères *trans* et *cis* du lycopène. La molécule du lycopène possède une longue structure ouverte à 40 carbones, et pendant l'oxydation, la longue chaîne polyène, peut être clivée ou isomérisée par déshydrogénation/hydratation, produisant des isomères *cis*. Les isomères *cis* du lycopène sont localisés dans les LDL et dans certains tissus du corps. Leur nature chimique et leurs propriétés antioxydantes n'ont

pas été pleinement examinées. Leur isolation et leur distribution pourraient apporter plus d'information sur le rôle des isomères-*cis* dans leur rôle d'antioxydants. Le mécanisme de dégradation du lycopène est très complexe et comprend la formation de divers composés : isomères *cis*, époxydes, etc. Le lycopène est chimiquement modifié pour produire des chaînes plus courtes de composés qui conservent leur action biologique. Toutefois, les radicaux libres et les espèces réactives peuvent provoquer le clivage chimique (et éventuellement l'isomérisation) du lycopène. Les métabolites qui en résultent, avec les dérivés d'oxydation du cholestérol, pourraient influencer l'activité des cellules vasculaires et des monocytes dans l'espace sous-intimal de l'artère.

## 2. Matériels et méthodes

### 2.1. Expérimentation animale

---

Afin d'évaluer l'effet nutritionnel des pelures de tomates lyophilisées (sources de lycopène), sur les paramètres lipidiques sérique (CHOL, TG, HDL, LDL), l'activité antioxydante des enzymes hépatiques (GPX, GRD, CAT), et les niveaux des TBARS et du lycopène dans le sérum et dans le foie. Nous avons incorporé, des pelures de tomates lyophilisées à un taux de 12%, dans un régime alimentaire standard pour rat. Aussi, nous devons proposer, un mécanisme et moyen de créer un stress oxydatif chez les animaux (rats). Après avoir, consulter les travaux les plus récents, nous avons opté pour la supplémentation des régimes alimentaires par du cholestérol à 1% [58], et en huile de noix de coco raffinée (riche en acide gras saturés). La période de traitement s'est étalée sur 8 semaines.

#### 2.1.1 Matériels biologiques

##### 2.1.1.1 Animaux et régimes alimentaires:

L'expérimentation animale porte sur un échantillon de 24 rats mâles albinos de souche Wistar. Ces animaux forment une population relativement homogène puisqu'ils proviennent du laboratoire de pharmacologie CRD-SAIDAL (Alger). Nous avons choisi des rats blancs (*Ratus norvegicus*, souche Wistar) de sexe mâle originaires de la firme IFFA-CREDO (France) et produits par l'Unité de Recherche en Médicaments et Techniques Pharmaceutiques (URMTP). Nous avons choisi exclusivement des rats mâles pour exclure toute variation métabolique d'origine hormonale. L'élevage de ces animaux a été réalisé dans un local d'espace moyen (L = 6 m, l = 3,15 m, h = 2,20 m) dont la construction des murs et du sol facilite le nettoyage et la désinfection.

Tableau 1 : Paramètres du milieu ambiant de l'animalerie (U.R.M.T.P-SAIDAL)

Température	Ventilation	Humidité	Eclairage	Bruit
22°C régulée par climatiseur	Fenêtre (2.05m x2.6m) ventilation	55% ± 10%	12h/ 24h Naturel et artificiel	Allées et venues limitées dans l'animalerie

##### 2.1.1.2. Conditions d'élevage



Après sevrage (03 semaines et une semaine d'adaptation), les rats sont séparés en 4 lots expérimentaux à raison de 6 rats chacun. Les animaux sont placés ensemble dans des cages en polypropylène (32cmx20cmx13cm), à une température de 24° C avec une humidité de 50%. Les animaux sont nourris à partir d'un régime préparé à cet effet. La nourriture ainsi que l'eau sont données *ad-libitum*.

### **2.1.1.3. Répartition des lots**

L'expérimentation que nous avons menée porte sur vingt quatre (24) rats âgés de quatre (04) semaines dont le poids varie de 80 à 90 gr. Ces rats sont répartis en quatre lots de 6 rats chacun.

### **2.1.1.4. Déroulement de l'expérimentation**

Les animaux, reçoivent les régimes respectifs durant la période d'expérimentation. Les pesées se font, chaque semaine, et le premier sacrifice et prélèvements de sang, se font à la 4<sup>ème</sup> semaine, le deuxième sacrifice se fait à la fin de l'expérimentation, c'est-à-dire la 8<sup>ème</sup> semaine.

### **2.1.1.5. Traitements administrés**

Les rats du premier lot (**Lot 1**) ont été considérés comme témoins, reçoivent, 85% d'aliment ONAB + 15% l'huile de tournesol.

Les rats du deuxième lot (**Lot 2**), reçoivent, l'aliment 84% d'aliment ONAB + 15% d'une huile composée de (70% huile de coco + 30% huile de Tournesol) + 1% Cholestérol.

Les rats du troisième lot (**Lot 3**), reçoivent, 72% d'aliment ONAB + 15% d'une huile composée de (70% huile de coco + 30% huile de Tournesol + 1% Cholestérol + 12% de pelure de tomate lyophilisée.

Les rats du quatrième lot (**Lot 4**) reçoivent, 72% d'aliment ONAB + 15% d'une huile composée de (70% huile de coco + 30% huile de Tournesol + 1% Cholestérol + 12% de pulpe de tomate lyophilisée.

**Tableau 2 : Traitements administrés aux rats suivant les lots et nombre de rats sacrifiés périodiquement par lot.**

N° du lot	1	2	3	4
Supplémentation	Régime Stand + Huile T.Sol 15%	Régime stand +(70%H.Coco +30% T.Soll) +1% Chol	Régime stand + (70%H.Coco+30% T.Sol) +1% Chol + 15% pelures Tom	Régime stand + (70%H.Coco +30% T.Sol) +1% Chol + 15 % pulpe tom
Sacrifice 1 (30j)	3/6	3/6	3/6	3/6
Sacrifice 2 (60j)	3/6	3/6	3/6	3/6

### **2.1.1.6. Composition du régime standard (granules ONAB)**

La composition du régime standard qui a servi à l'alimentation des rats est donnée dans l'annexe 1. Le cholestérol (à 96% produit Alfa Aesar GMBH Allemagne), nous a été fourni par le DTA Boumerdes, l'huile de noix de coco raffinée, nous a été fournie par Sofamar Alger.

### 2.1.1.7. Prélèvements sanguins

Le prélèvement sanguin s'effectue après mise à jeun des animaux et anesthésiés par inhalation (à l'éther). La technique de prélèvement se fait par ponction du sinus rétro-orbitale en utilisant des micro-hématocrites. On recueille le sang dans des tubes secs. Le sérum est obtenu par centrifugation à 3500 tr / min pendant 15 mn, puis récupéré à l'aide d'une micro-pipette dans des tubes secs eppendorf et conservé à -20°C. Les foies sont prélevés rapidement, lavés dans une solution glacée de NaCl 9‰, pesés et congelés à -70°C jusqu'à leur analyse.

## 2.2. Analyses et dosages sériques

---

### 2.2.1. Mesures pondérales:

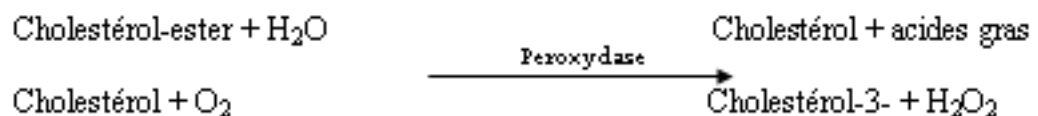
**a. Courbe de croissance :** Une courbe de croissance est établie à partir des poids moyens de rats des différents lots pris chaque semaine et avant chaque prélèvement.

**b. Gain de poids :** Le gain de poids est défini comme étant la différence entre le poids final et initial (avant et après traitement) du rat.

**c. Indice hépato-somatique (IHS) :** L'indice hépato-somatique est calculé à partir du rapport entre le poids du foie et celui du corps, multiplié par cent.

### 2.2.2 Dosage du cholestérol sérique:

Le dosage du cholestérol sérique est réalisé selon la méthode CHOD-PAP :



### 2.2.3. Dosage des triglycérides sériques:

Les triglycérides sériques ont été déterminés selon la méthode dont le principe est le suivant:



### 2.2.4. Dosage des HDL et des LDL sériques

Les chylomicrons et les VLDL précipitent par addition d'acide phosphotungstique et de chlorure de magnésium. Le surnageant obtenu après centrifugation contient les HDL qui seront dosés par le réactif de cholestérol, le liquicolor. La micro méthode, utilise 200µl de sérum qui est centrifugé à 4000tr/mn pendant 10 mn, L'absorbance est lue à 500nm. Le cholestérol standard est à 50 mg/dl.

Le calcul des LDL, se fait selon :  $\text{LDL-C} = \text{TC} - \text{HDL-C} - \text{TG} / 5$ .

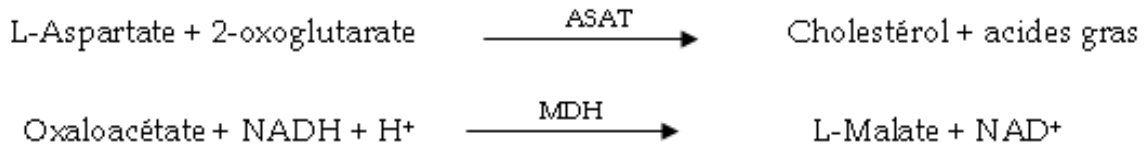
### 2.2.5. Dosage des marqueurs hépatiques

Le plasma récupéré a été acheminé au laboratoire d'analyse (Hôpital de de Bertraria Alger) pour y effectuer les dosages. Les analyses ont été effectuées sur un analyseur de type «Cobas integra400 plus». C'est un analyseur sélectif et continu, conçu pour fonctionner sur un plan de travail. Il fonctionne avec trois systèmes de mesure séparés. Le calcul des

résultats est réalisé automatiquement par l'analyseur et le facteur de conversion est: 01 U/l x 0,0167 = 01 µkat/l

### 2.2.5.1. Dosage de l'activité enzymatique de l'ASAT

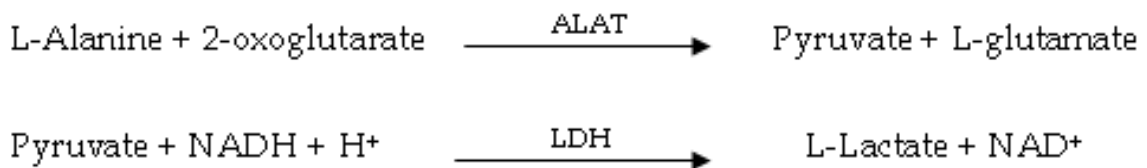
L'ASAT, catalyse le transfert du groupement amine entre le L-aspartate et le 2-oxoglutarate pour former de l'oxaloacétate et du L-glutamate. L'oxaloacétate réagit ensuite avec le NADH, en présence de malate-déshydrogénase (MDH), pour former du NAD. Le phosphate de pyridoxal agit comme un coenzyme dans la réaction de transfert d'amines. Il garantit une activation enzymatique complète.



La vitesse initiale de formation du NADH est directement proportionnelle à l'activité catalytique de l'ASAT. Elle est mesurée par la diminution de l'absorbance à 340 nm. Le calcul des résultats est réalisé automatiquement par l'analyseur et le facteur de conversion est: 01 U/l x 0,0167 = 01 µkat/l [59].

### 2.2.5.2. Dosage de l'activité de l'ALAT

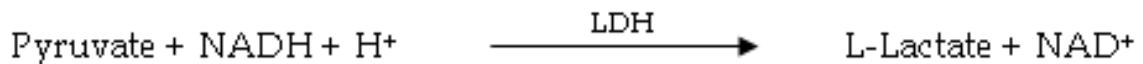
L'ALAT catalyse la réaction entre l'alanine et le 2-oxoglutarate. Le pyruvate formé est réduit par le NADH, dans une réaction catalysée par la lactate-déshydrogénase (LDH) pour former du L-lactate et du NAD<sup>+</sup>.



La vitesse initiale de formation du NADH est directement proportionnelle à l'activité catalytique de l'ALAT. Elle est déterminée par la diminution de l'absorbance à 340 nm [59].

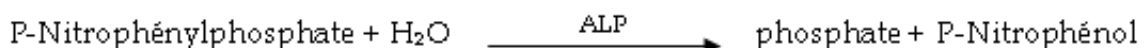
### 2.2.5.3. Dosage de l'activité de la LDH

La LDH catalyse la réaction entre le pyruvate et le NADH pour former le L-lactate et le NAD<sup>+</sup>.



### 2.2.5.4. Dosage de l'activité enzymatique de la PAL

En présence d'ions Mg<sup>++</sup> et Zn<sup>++</sup>, le p-nitrophénylphosphate est scindé par les phosphatases alcalines en phosphate et p-nitrophénol.



La concentration en p-nitrophénol libérée est proportionnelle à l'activité de la phosphatase alcaline. Elle est mesurée par l'augmentation de l'absorbance à 409 nm [60].

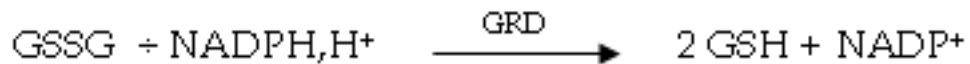
### 2.2.5.5. Dosage de la glutathion peroxydase.

L'activité de la GPX (EC 1.111.19), est évaluée en présence de Glutathion comme réducteur, selon la méthode [61], cette réaction est couplée à la réduction par la GRD du GSSG formé en présence du NADPH.



La disparition du NADPH est suivie, par lecture de la DO à 340 nm. L'activité est exprimée en n mol de NADPH consommé par minute et par mg de protéines (qui correspond à la quantité d'hydroperoxydes réduit), le substrat utilisé est l'eau oxygénée (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> à 6.6 mmol, mais il est nécessaire d'ajuster le milieu réactionnel à une concentration de 20 mmol avec l'azide de sodium, pour inhiber l'activité de la catalase, la réaction non enzymatique est importante avec le H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Ce qui impose également de ne pas dépasser une concentration finale de GSH de 0.5 mmol. Les homogénats (foie 1g /10 ml), sont réalisés dans du tampon Tris - HCl 50 mmol, 0.1 mmol EDTA, pH 7.6, à l'aide d'un broyeur homogénéiseur de Patter; 100 µl d'échantillon sont mis en suspension dans une solution A contenant 13 mg de NADPH, 34 mg de GSH et 100 U de GRD pour 100 ml de tampon, on incube à 37 °C pendant 3 minutes pour activer l'enzyme, puis on ajoute 50 µl de substrat H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> à 6.6 mmol, on agite et on enregistre l'absorption à 340 nm pendant un temps supérieur ou égal à 2 mn .

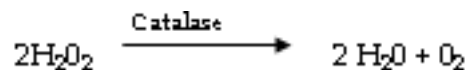
### 2.2.5.6. Dosage de la glutathion réductase



L'activité de la Glutathion réductase (EC 1.6.4.2) est évaluée selon la méthode de [62], en mesurant la disparition du NADPH à 339 nm, elle est exprimée en nmol de NADPH oxydé par mn et par mg de protéines. 100 µl d'échantillon obtenu après broyage de tissus dans du tampon phosphate à 0.12 mol, pH 7.6, sont mis en suspension avec 2.6 ml de tampon phosphate à 0.12 mol, pH 7.6 à 37 °C, et de 100 µl d'une solution de EDTA à 15 mmol et 100 µl d'une solution GSSG à 65.3 mmol. On attend 5 mn puis on ajoute 50 µl d'une solution de NADPH à 9.6 mmol et fait une lecture de l'absorbance à 339 nm pendant un temps de 3 mn.

### 2.2.5.7. Dosage de la Catalase (CAT) dans le foie

L'activité de la catalase (EC. 1.11.1.6) est mesurée en suivant la décomposition du peroxyde d'hydrogène, qui absorbe à 240 nm [63].



Les résultats sont exprimés en nmol de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> réduit / mn/ mg de protéines.

---

## 2.3. Extraction du lycopène dans le sérum

Pour extraire le lycopène du sérum, nous avons mélangé 250 µl de sérum avec 250 µl d'éthanol absolu, ensuite nous avons additionné 150 µl de la solution d'étalon interne. Les

---

tubes ont été passés au vortex pendant 30 secondes, ensuite nous avons ajouté 1 ml d'une solution d'hexane (concentration de 0.1g de BHT pour 100 ml d'hexane). Le mélange ainsi obtenu est passé au vortex pendant 2 mn à une vitesse rapide suivi d'une centrifugation, à 4000 tr/mn, à température ambiante, pendant 10mn. Nous avons ensuite prélevé la phase hexanique pour évaporer à sec sous azote. Le résidu sec a été repris dans 150 ml dans la phase mobile et dissoute par agitation au vortex pendant 30 s.

La préparation de la phase mobile a été réalisée au moment de l'emploi. Elle consiste en un mélange d'acétonitrile/Méthanol/dichlorométhane au rapport de 70/20/10 (v/v/v). La détection du lycopène se fait à 472 nm.

## **2.4. Extraction du lycopène dans le foie**

---

Pour réaliser le dosage du lycopène dans le foie, nous avons homogénéisé un (01) gramme de foie dans un tube en verre renfermant 8 ml d'acétone contenant 0.25% de BHT (2.6-di-terte-butyl-4-méthylphénol). Nous avons ensuite passé le mélange au vortex pendant 2mn puis l'avons laissé dans la glace pendant 25mn. L'échantillon a été ensuite repris et centrifugé à 13000g (4°C) pendant 10 mn pour enfin recueillir le surnageant. Une seconde extraction a été réalisée à partir du reste de l'échantillon et les deux phases ainsi obtenues ont été évaporées à 30°C. L'échantillon évaporé a été repris dans 2 ml d'éthanol - eau (1 :1 v/v) pour subir deux nouvelles extractions, comme décrit précédemment, en utilisant de l'hexane (4ml et 2ml, au lieu de l'acétone). Après évaporation de la phase organique obtenue, nous avons re-dissous le résidu dans un volume final de 1 ml d'hexane - dichlorométhane (1 :1, v/v). La solution obtenue a été injectée dans le chromatographe liquide à haute pression (HPLC) pour analyse. La phase mobile est constituée d'un mélange méthanol—acétonitrile (70:30 v/v), le lycopène est détecté à une longueur d'onde de 471nm.

### **Appareillage et conditions opératoires:**

Colonne Nucleodur C18, Détecteur JASCO UV 2075 plus, Débit 1ml/mn, Pompe JASCO P4- 980, Température de la colonne 20 °C.

## **2.5. Dosage des lipoperoxydation TBARS plasmatiques et hépatiques**

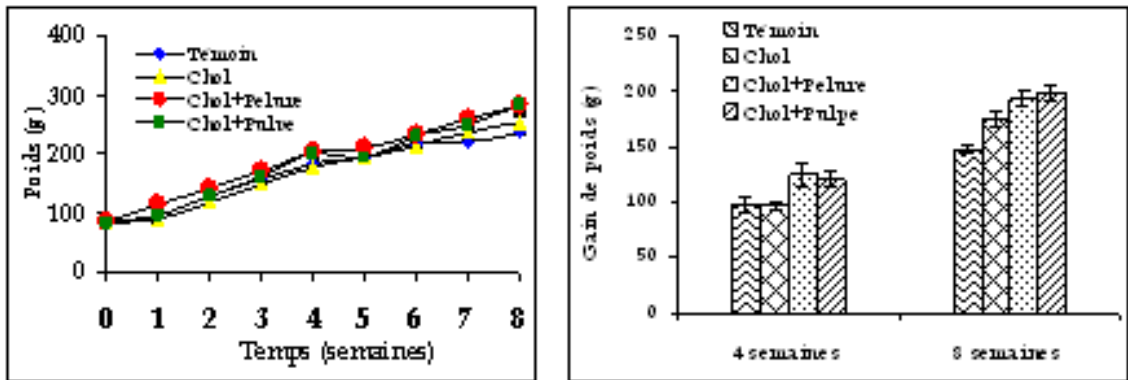
---

Le protocole expérimental du dosage du TBARS sérique a été inspiré de la méthode de Draper et al [64]. La Peroxydation lipidique (MDA) a été mesuré par l'acide thiobarbiturique (TBA-MDA) et rapporté, comme substances réactives au TBA (Acide 2- Thiobarbiturique 4.6-Dihydroxypyrimidine 2-thiol ; Pureté : 98% ;  $C_4H_4N_2O_2S$  ; FW : 144.1 ; Produit : Sigma USA). 1 ml d'échantillon biologique est combiné avec 2.0 ml de 1:1 TCA/TBA (30% acide TCA et 0.67% TBA) en présence de BHT à 0.25%. Après incubation pendant 45 mn dans un bain marie bouillant, La phase est extraite avec le n butanol après refroidissement. Les phases ainsi récupérées sont centrifugées (2000 tr/min pour 10 min à 4°C), et la concentration TBARS a été déterminée par spectrophotométrie à 532 nm. Les MDA, formé après dégradation des acides gras polyinsaturés, serviront d'indicateur grâce au complexe rose. Les résultats sont calculés en utilisant un coefficient de l'extinction de 1.56 et a rapporté comme mol/L dans le cas du plasma, et en mol/g dans des tissus hépatiques.

## **3. Résultats et discussion**

---

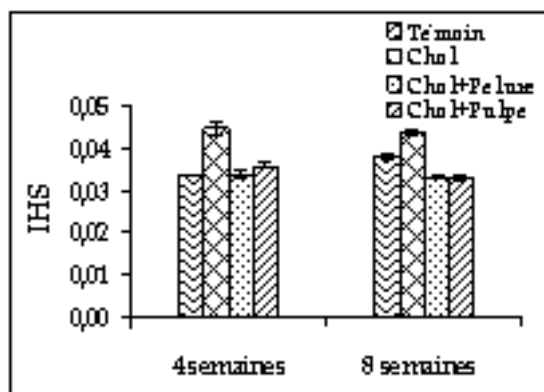
### 3.1 Croissance et gain de poids



**Figure 4 :** Evolution pondérale (A) et gain de poids (B) des différents lots en fonction de la durée de traitement.

La figure 4, montre l'évolution pondérale des quatre lots expérimentaux, nous constatons qu'il n'existe pas de variations significatives tout au long de la durée de traitement. Les poids corporels des rats des 4 lots ont évolué de la même manière, les régimes étaient consommés par tous les groupes. Les rats ont gagné du poids, durant toute l'expérimentation. Il n'y avait aucune différence significative dans l'efficacité du régime.

Nous avons constaté par contre une réduction de la prise alimentaire, durant la 3<sup>ème</sup> semaine de traitement, due probablement à des perturbations digestives.



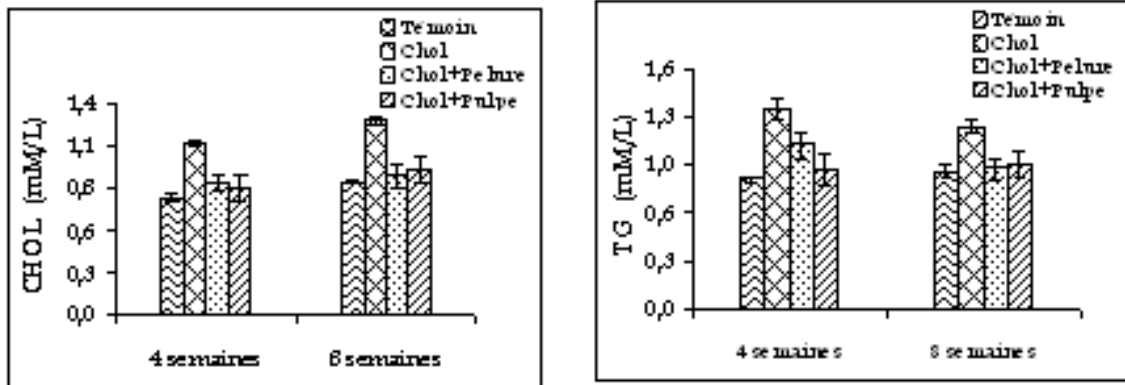
**Figure 5 :** IHS des différents lots en fonction de la durée de traitement.

Les gains de poids (figure 4B) ont évolué significativement chez les 4 lots particulièrement à la fin de la 4<sup>ème</sup> semaine, soit des augmentations de 52%, 51%, 57% et 59%, pour les lots 1, 2, 3 et 4 respectivement. Les gains de poids ont marqué une régression à la fin du traitement, soit 21% pour le lot 1, 32% pour le lot 2, 28% pour le lot 3, et 29% pour le lot 4. Nous remarquons l'évolution similaire chez les lots 3 et 4. Nous n'avons pas observé de réduction de croissance, même après ingestion d'un régime enrichi en cholestérol. Ceci résulterait d'une absence de toxicité induite par la présence des esters oxydés.

En ce qui concerne l'IHS (figure 5), nous observons un IHS élevé chez les rats du lot 2 comparativement aux autres lots, particulièrement à la 4<sup>ème</sup> semaine de traitement, Il y a lieu de noter, la stabilité de l'IHS, des lots 2 et 3 et même un rétablissement à la 8<sup>ème</sup> semaine, comparativement au lot témoin (lot 1). Nous pouvons considérer, que les

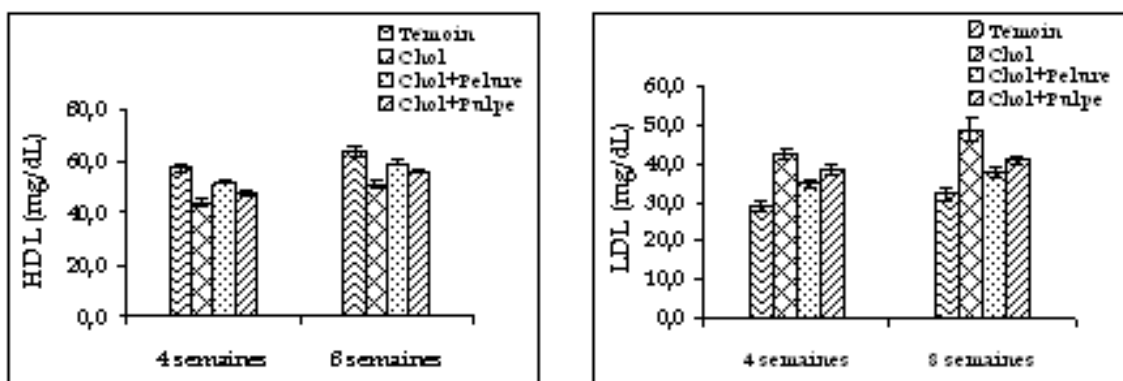
rats du lot 2, témoignent d'une hypertrophie du foie, mais sans toutefois pouvoir avancer une explication. Une étude histologique aurait probablement apporté quelques éléments de réponse.

### 3.2 Variation des lipides sériques



**Figure 6 :** Variation du cholestérol (A) et des triglycérides sérique en fonction de la durée de traitement.

L'effet des régimes ingérés s'est traduit par l'augmentation des concentrations du cholestérol (figure 6 A) particulièrement à la 4eme semaine. Les taux enregistrés par les rats des lots 2, et 4 sont significativement élevés soit une augmentation de 11% et 12,5% respectivement, en comparaison des taux enregistrés chez les rats du lot 2, soit 6%. En comparant les taux de cholestérol des lots 2 et 4, on peut affirmer que la supplémentation n'a pas d'effet sur les taux de cholestérol. L'augmentation de la cholestérolémie est due à une baisse de clairance, l'effet du lycopène (à partir des pelures) est apparent dans la stabilité des concentrations chez les rats du lot 3. Une diminution des taux de cholestérol sérique serait due à une réduction de la biosynthèse du cholestérol hépatique, résultant de la diminution de l'activité de la LCAT, suite à la réduction de la biosynthèse des VLDL [65]. Aussi est désigné sous le nom d'hyperlipidémie toute augmentation dans le sang, d'une fraction des lipides circulants à l'état physiologique, que ce soit les triglycérides, les esters de cholestérol et plus accessoirement les phospholipides. Par ailleurs, le lycopène, examiné sur les triglycérides autoxydés, a révélé un effet prooxydant des hydroperoxydes [66].

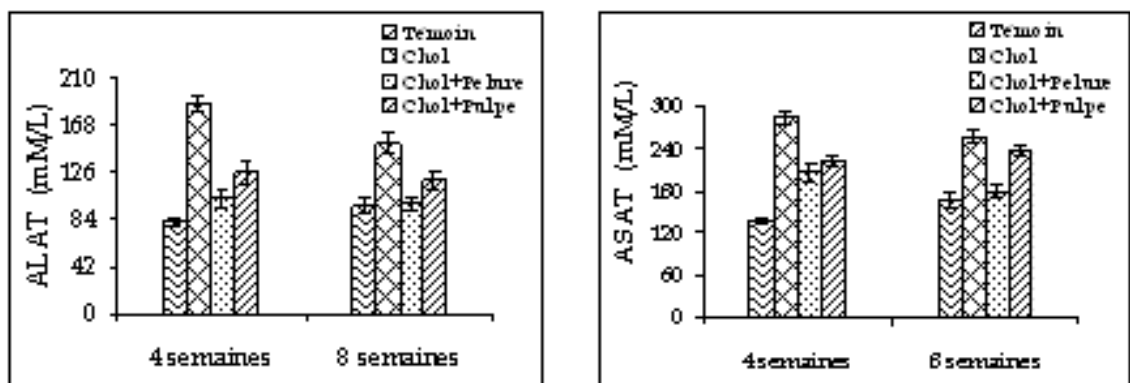


**Figure 7 :** Variation des lipoprotéines sérique HDL (A) et LDL (B) en fonction de la durée de traitement.

Les taux des HDL (figure 7A) enregistrés par les rat du lot 2, sont relativement faibles comparativement à ceux du lot témoin (lot 1) soit une baisse de 20%, et de 14% par rapport au lot 3. En ce qui concerne les taux de LDL (figure 7B), on note que les rats du lot 2 présentent des concentrations de LDL élevés comparativement aux lots 1, 3, et 4 et d'autant plus accentué à la fin du traitement soit 34%, 23%, et 16% respectivement. Il est connu que, le taux des HDL-C sériques est étroitement et inversement corrélé au risque cardiovasculaire, l'Apo AI représente la fraction protectrice des HDL-C n'apporte pas un effet protecteur absolu. Le facteur déterminant reste le rapport LDL/HDL [67]. En outre le risque est augmenté si l'indice d'athérogénécité : Chol T/HDL est supérieur à 4,5. De même que dans le cas d'une hypo-alpha-lipoprotéïnémie, il est impératif de normaliser le taux des triglycérides s'ils sont élevés [68]. En mesurant les différentes activités impliquées dans la voie métabolique du transport inverse du cholestérol, il apparaît que les hypertriglycédémies, induisent une diminution des HDL [69]. Aussi, l'augmentation des taux de LDL, peut résulter d'un défaut de catabolisme, en raison d'une anomalie des récepteurs LDL, ou alors suite à la mutation de l'Apo B, caractérisée par des hypercholestérolémies. Le lycopène peut contribuer au règlement du métabolisme de cholestérol dans des cultures de cellules macrophage, en augmentant l'activité des récepteurs LDL [70].

### 3.3. Variation des marqueurs hépatiques

Le bilan des marqueurs hépatique permet, de rechercher une éventuelle anomalie de la fonction hépatique, Parmi les différents types de dysfonctionnement du foie, on distingue différents syndromes dont les principaux sont l'insuffisance hépatocellulaire, la cytololyse, la cholestase et l'inflammation.



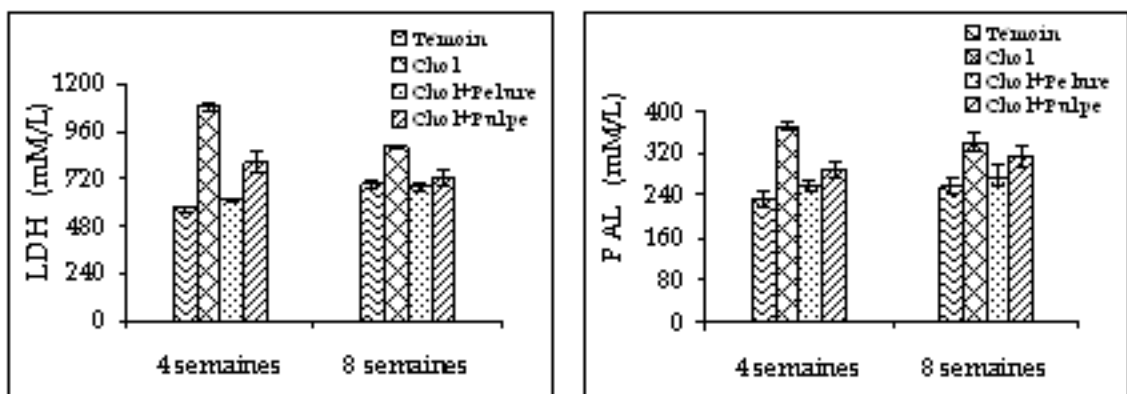
**Figure 8 :** Variation de l'ALAT (A) et de l'ASAT (B) en fonction de la durée de traitement.

La figure 8 A, montre des taux élevés de l'ALAT chez les rats du lot 2, comparés à ceux du lot 1, 3 et 4. Les augmentations varient de 36% à 37%, cela apparaît de manière plus accentuée lors de la 8<sup>ème</sup> semaine (+8%). En fin de traitement les écarts sont plus importants, 56%, 45%, et 32%, comparativement au lot 2. L'ALAT est une enzyme confinée dans le cytoplasme et les concentrations les plus élevées se retrouvent au niveau du foie. Lorsque les tissus sont lésés, avec une augmentation de la perméabilité membranaire et de la nécrose cellulaire, ils libèrent leurs enzymes dans le sang [71]. En pathologie, l'augmentation des transaminases glutamiques pyruvates est un signe d'une cytololyse hépatique. Une « intoxication » pourrait avoir provoqué l'augmentation de l'activité enzymatique de l'ALAT chez les rats du lot 2.



Les concentrations de l'ASAT (figure 8B), présentent une augmentation de 51%, comparé au lot 1 à la 4<sup>eme</sup> semaine et de 35% à la 8<sup>eme</sup> semaine (-10%). Ces taux sont de 27% et de 30%, plus élevés que chez les rats du lot 3, entre la 4<sup>eme</sup> et 8<sup>eme</sup> semaine. L'enzyme ASAT, se retrouve dans le cytoplasme et les mitochondries de nombreux tissus, tels le foie le myocarde, et les globules rouges.

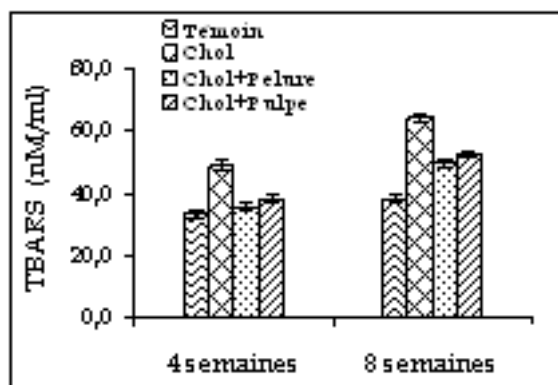
L'ASAT et l'ALAT, sont deux marqueurs constituant des indicateurs fiables des lésions hépatocellulaires de l'inflammation. L'augmentation de ces taux chez les rats du lot 2, peut s'expliquer par la peroxydation lipidique des membranes plasmiques, provoquant leur libération dans la circulation sanguine. Cet état de fait, est le signe d'une altération ou d'une souffrance cellulaire [72]. Le régime hypercholestérolémiant ingéré par les rats du lot 1, inhiberait sans doute l'action de l'ATP intercellulaire, et perturbe le fonctionnement de ces pompes ioniques, ainsi le volume augmente et la cellule gonfle [73].



**Figure 9 : Variations des LDH (A) et des PAL (B) en fonction de la durée de traitement.**

La concentration en LDH (figure 9 A), est significativement élevée chez les rats du lot 2, soit 48%, 44% et 26% par rapport au lot 1, lot 2 et lot 3 respectivement, dès la 4<sup>eme</sup> semaine de traitement. A la fin du traitement, on note une baisse des taux de LDH, représentant 23%. La spécificité de la LDH, est faible, mais peut augmenter par la détermination des isoenzymes. Les valeurs de la phosphatase alcaline (figure 9 B), varient de 8%, chez les rats du lot 2, entre la 4<sup>eme</sup> et la 8<sup>eme</sup> semaine. La PAL, est un marqueur de la toxicité, et exprime une éventuelle défaillance biliaire, ses taux augmentent, dans le cas de dommages subis par le foie. L'effet du lycopène (lot 3 et lot 4) sur les activités enzymatiques de l'ASAT, ALAT, LDH et PAL, laisse apparaître une réduction conséquente des activités, et plus particulièrement chez les rat du lot 3, ce qui laisse supposer que le régime enrichi en pelures a mieux résisté aux « agressions » en rétablissant, les taux des activités enzymatiques proche de celles du témoin (lot 1). Ce qui suggère que le lycopène, atténue la peroxydation lipidique au niveau des hépatocytes, en plus d'une modulation du cytochrome P450 responsable du métabolisme des xénobiotiques dans le foie. Le pourcentage de protection induit par l'ingestion du lycopène paraît assez élevé pour protéger les membranes hépatocellulaires en réduisant l'activité enzymatique [74]. La détoxification est une partie capitale du métabolisme, et le foie joue un rôle clé dans ce processus, il décompose les produits indésirables par voie enzymatique, grâce aux enzymes de la phase 1 (fonctionnalisation), convertissant les formes intermédiaires, qui seront des cibles faciles pour les systèmes enzymatique de la phase 2 (conjugaison) [75].

### 3.4. Variation du TBARS sérique



**Figure 10** : Variation du TBARS sérique en fonction de la durée de traitement.

Les valeurs du TBARS sérique (figure 10) exprimé en MDA, donne le taux le plus élevé et de manière marqué, chez les rats du lot 2, avec 46%, 30%, et 25%, comparativement aux lots 1, 3, et 4 respectivement. Ces niveaux, demeurent significativement élevés, et traduisent un stress oxydant avéré. Dans le plasma, les *cis*-isomères du lycopène sont prédominants ; le 13 *cis* lycopène, est la forme la plus active. Par conséquent, il y a intérêt, à identifier les isomères géométriques du lycopène. La formation du malonaldéhyde (MDA) est un marqueur présumé pour la peroxydation des lipides induite par un stress oxydant.

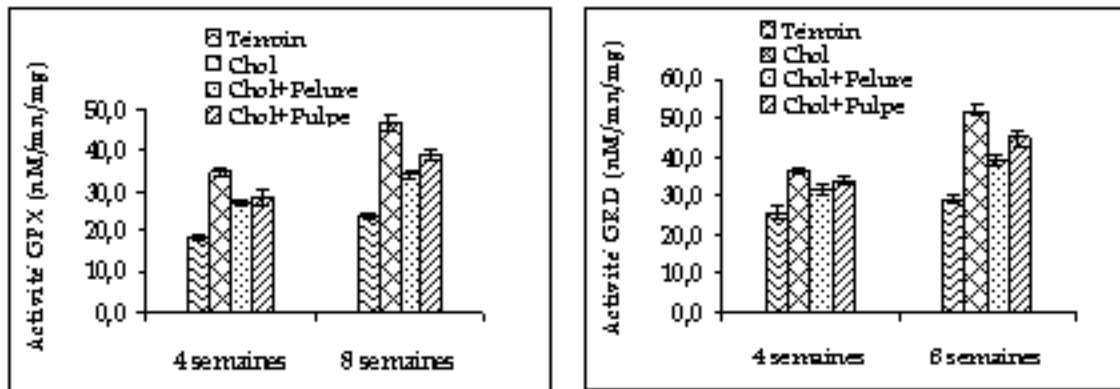
### 3.5. Estimation du lycopène sérique

Les niveaux de lycopène dans le plasma, quantifié par HPLC donnent les chromatogrammes A et B (Annexe 4), que nous avons déterminés, uniquement chez les rats des lots 3 et 4, présentent des concentrations relativement élevés soit 112 nmol/L, et 88 nmol/L, pour le lot 3 et le lot 4 respectivement. Compte tenu, des conditions opératoire (méthode isochratique, l'instabilité de la pression lors des manipulations et la qualité de l'étalon pur), nous estimons que ces valeurs ne sont pas très précises.

Cependant ces taux, prouvent la biodisponibilité du lycopène ingéré, sous la forme de pelures et pulpe de tomates incluse dans les régimes hyperlipidémiques. Les taux moyens de lycopène dans le plasma trouvés dans plusieurs travaux, varient de 118 nmol/L [76] à 536 nmol/L [77].

Des interrogations demeurent quant à l'absence (non détecté) du lycopène ou d'autres types de caroténoïdes dans le plasma des rats des lots 1 et 2. Aussi, Comment, expliquer, que le lycopène ingéré, sous la forme de pelures et de pulpe lyophilisées dans un régime hypercholestérolémiant soit mieux absorbé ?

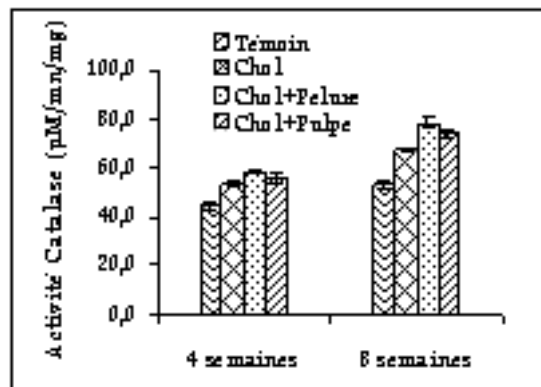
### 3.6. Evolution des activités enzymatiques dans le foie.



**Figure 11 :** Variations de l'activité enzymatique de la GPX (A) et de la GRD (B) en fonction de la durée de traitement.

L'activité de la GPX (figure 11 A), chez les rats du lot 2 a diminué de 44%, 20% et 14% comparativement aux lots 1, 3, et 4 respectivement. Il en est de même pour la GRD, où les rats du lot 2, accusent une diminution de 37%, 12% et 9%, comparativement aux lots 1, 3, et 4 respectivement. Le système enzymatique de défense antioxydant a considérablement changé chez les rats du lot 2, avec l'induction d'un stress oxydant des structures cellulaires hépatiques et une élévation de la concentration de produits oxydants. En revanche, les rats du lot 3, présentent une réaction enzymatique modérée et favorable par leur système de défense. L'interaction entre les enzymes de désintoxication et les caroténoïdes, semble exister, mais davantage de recherche est justifiée, pour définir les systèmes enzymatiques précis impliqués.

La diminution des activités de la GPX, et de la GRD, peut être due à leur utilisation par la production augmentée des ERO. La surproduction des ERO, peut mener à la cytotoxicité. Durant la période de traitement, la CAT ne semble pas assurer la détoxification des peroxydes lipidiques (figure 12), la CAT intervient peut-être, mais elle est limitée au compartiment des peroxysomes. L'évolution de l'activité GRD est moins marquée (figure 11-B), elle présente la même variation que la GPX, et ceci est vraisemblablement, au fait qu'elle soit impliquée dans un système métabolique commun. Aussi, l'intense activité de la GPX est peut-être due au fait qu'elle soit impliquée dans un métabolisme (lipogénèse), autre que celui de la régénération du GSH.



**Figure 12 :** Variation de l'activité enzymatique de la CAT en fonction de la durée de traitement.

Les rats du lot 3, enregistrent une augmentation de l'activité de la CAT de 29%, comparativement au lot 2. Ce que nous pouvons émettre comme hypothèse, c'est que l'activité de la GPX ne peut devenir efficace à elle seule pour la détoxification des lipoperoxydes du fait de l'augmentation du taux en TBARS et surtout de l'augmentation de la CAT [78].

Des travaux suggèrent que les concentrations du lycopène diététique, pourrait moduler certaines enzymes du métabolisme du lycopène [79]. En revanche, d'autres études ont indiqué que plusieurs des enzymes hépatiques de désintoxication de la phase I et de la phase II sont induites par les oxycaroténoïdes, mais pas avec le  $\beta$  carotène et le lycopène plus apolaires [80]. Il est possible qu'un seuil de concentration de lycopène dans certains tissus soit nécessaire pour déclencher l'induction des enzymes.

### 3.7. Evolution du TBARS hépatique

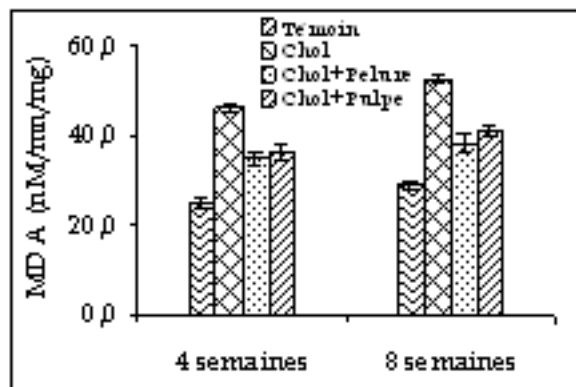


Figure 13 : Variation du TBARS hépatique en fonction de la durée de traitement

La figure 13, regroupe les taux de TBARS, où l'on note une augmentation significative chez les rats du lot 2, soit 45%, 27% et 22% comparativement au lot 1, 2 et 3, respectivement.

L'intense activité du TBARS hépatique chez les rats du lot 2, pourrait s'expliquer par une diminution de l'activité des enzymes de protection contre les radicaux libres, GPX, GRD et CAT, qui sont les enzymes de protection. Ceci indique aussi, que le statut oxydatif du foie est influencé par le régime hypercholestérolémiant.

**Remarque :** En ce qui concerne les résultats des concentrations taux de lycopène dans le foie, ceux-ci n'ont pu être détectés, malgré une bonne préparation des échantillons. Nous estimons, tout de même, que les régimes enrichis en lycopène via les pelures et pulpe de tomates, ont eu comme conséquence, une accumulation de lycopène dans le foie. De façon générale, les concentrations en lycopène dans le foie varient entre 0.055 et 0.012 nmol/g [81]. Les formes cis lycopène, sont plus abondantes, avec des proportions allant de 65 à 75%.

### 3.8. Discussion

Le régime supplémenté en cholestérol est en huile de noix de coco raffinée (lot2), a induit une hypertrophie du foie, caractérisé par un plus grand IHS, et une apparence macroscopique anormal [82]. La supplémentation, du régime en cholestérol a causé un poids plus élevé du foie des rats du lot 2 (figure 5), attribué sans doute à l'accumulation

de cholestérol (figure 6A). La supplémentation en cholestérol, a conduit à un déséquilibre dans le rapport antioxydant/oxydant. Les concentrations du TBARS dans le plasma et l'homogénéisat hépatiques ont été sensiblement augmentées (figures 10 et 13), tandis que l'activité de GPX et de GRD, dans le foie a diminué de manière significative. De même, nous avons observé une baisse de la CAT (figure 13). Les effets observés du cholestérol sur l'activité enzymatique antioxydante, dans la présente étude se rapprochent des résultats de certains travaux [83,84]. Le cholestérol à 1,5 %, a élevé le taux d'oxydation des lipides dans le foie des rats [85]. La concentration en MDA du plasma a été augmentée chez le lapin alimenté en supplément de cholestérol [86]. D'autre part, quelques études ont suggéré, que le cholestérol aurait un effet inhibiteur contre le stress oxydant en stabilisant les membranes [87]. Il est possible que le cholestérol ait des effets prooxydants et antioxydants, selon les conditions diététiques, telles que la dose de cholestérol, la quantité de graisse et la composition en acides gras. Les acides gras insaturés, tels que ceux de l'huile de tournesol, jouent un rôle dans la peroxydation des lipides des tissus. Dans le cas de notre étude, il est difficile de préciser, l'effet exercé par le régime hypercholestérolémiant dans le cas des lots 3 et 4, mais il semble bien que l'effet apparent, est à l'actif du lycopène contenu dans les pelures et pulpe de tomate dans le rétablissement des paramètres biochimiques et enzymatiques.

Il apparaît clairement, que le lycopène antioxydant efficace, a eu comme effet, une réduction du TBARS dans le plasma et dans le foie, ainsi que la régénération du système enzymatique protecteur, chez les rats des lots 3 et 4. Dans la présente étude, le lycopène des pelures de tomate, a diminué des concentrations du TBARS hépatique bien plus que la pulpe de tomate. Ces résultats suggèrent que le lycopène des pelures a eu une activité antioxydante, aussi efficace dans le plasma que dans le foie. Il est vrai aussi que cette capacité antioxydante dépend de la structure et de l'environnement dans lequel elle active [88]. Ceci n'exclut pas le fait que les caroténoïdes apolaires, tels que le lycopène, existant exclusivement dans le noyau hydrophobe des lipoprotéines, peuvent ne pas permettre leur transfert entre les lipoprotéines à des taux appréciables [89,90]. Ce fait, peut être attribué à l'action des autres caroténoïdes existant dans la région polaire des lipoprotéines du plasma [91,92].

Le système de GPX/glutathion est vraisemblablement une défense importante contre le stress oxydant de faible niveau, tandis que la catalase, elle est efficace contre un stress oxydant de niveau élevé [93]. En dépit d'une substitution possible par la catalase dans les situations de l'effort oxydant modéré, la GPX semble toujours être l'enzyme antioxydante principale de l'organisme [94]. Les érythrocytes sont fortement sensibles au stress oxydant en raison de leurs concentrations élevées en hémoglobine et en oxygène [95]. Même dans les érythrocytes qui ont un contenu élevé de catalase, le peroxyde d'hydrogène est essentiellement dégradé par GPX [96]. Les faibles activités de GPX, se sont avérées un facteur de risque indépendant pour les MCV [97]. Ces résultats suggèrent que le lycopène (dans le cas des lots 3 et 4), a eu un pouvoir de surmonter le stress oxydant des érythrocytes induit par le cholestérol. Plusieurs études suggèrent l'évidence que les caroténoïdes modifient le métabolisme des lipides. Dans l'une d'elles, il a été rapporté, une diminution du cholestérol dans le sérum, par la prise de  $\beta$ -carotène chez les rats alimentés avec un régime hypercholestérolémiant [98,99]. La canthaxanthine a élevé la concentration des HDL cholestérol du sérum et diminué le cholestérol total du foie, chez les rats alimentés par un régime enrichi en cholestérol à 2% [100]. Dans une autre étude, le  $\beta$ -carotène a empêché une augmentation des LDL-cholestérol sériques, chez les rats alimentés avec un supplément de cholestérol à 1% [101]. Le  $\beta$ -Carotène, a également montré un effet antihyperlipidémiant chez le rat hypertendu [102,103]. Dans la présente étude, le régime

hypercholestérolémiant, a induit une augmentation des concentrations plasmatiques en cholestérol et des triglycérides, chez les rats du lot 2. Cependant, l'enrichissement des régimes en lycopène (particulièrement sous forme de pelures) a amélioré les taux de cholestérol dans le plasma. Il a été mis en évidence que les taux de cholestérol diététique dans le sérum sont étroitement liés aux maladies cardiovasculaires [104,105]. Ceci suggère, que le lycopène est pu modifier le métabolisme de cholestérol.

En conclusion, la présente étude a prouvé, que le lycopène a eu des effets de modulation sur la peroxydation des lipides et les activités enzymatiques antioxydantes, chez les rats alimentés avec un régime supplémenté en cholestérol et à haute teneur en acides gras saturés et enrichi avec 10 % de pelure et pulpe de tomates lyophilisées. Le rétablissement des marqueurs d'oxydation, suggère que le lycopène ait changé l'équilibre du rapport prooxydant/antioxydant, de même qu'apparaît une atténuation du stress oxydant induit, en modulant de manière endogène le métabolisme du système antioxydant.

---

# Conclusion générale

Les résultats de cette étude confirment que les « déchets » de tomates et particulièrement les pelures, constituent une réserve importante de composés biologiques, dont l'importance est cruciale pour la santé humaine. L'originalité de ce travail réside dans le fait que nous avons touché à trois aspects de la thématique, c'est-à-dire l'aspect technologique et industriel, ainsi que le volet nutritionnel. Nous avons eu beaucoup de difficultés à comparer nos résultats, du fait, de l'inexistence de références, sur les matrices des pelures de tomates. Les pelures de tomates, sont des matrices végétales fortement structurées, Le choix de la méthode d'extraction du lycopène reste tributaire des coûts économiques. Néanmoins, nos résultats confirment ce que plusieurs travaux ont déjà établi : les pelures (peaux) de tomates, contiennent beaucoup plus de lycopène que le reste des parties de la tomate.

Comparativement à la pulpe de tomate, les rendements d'extraction par une mixture de solvant, les pelures de tomate contiennent d'avantage de lycopène, ce qui est en faveur d'une valorisation des peaux. Aussi, la combinaison de techniques analytiques et enzymatiques favorise les rendements d'extraction, avec des taux de 50% supérieur à l'extraction par solvant uniquement. Nous préconisons, donc un séchage au soleil des matrices et le prétraitement enzymatique pour réduire les coûts. Les augmentations du rendement d'extraction du lycopène, varient de 177,32% à 188,70% dans les échantillons traités par une pectinase (viscozym), et de 166,2% dans le cas du traitement par une cellulase (celluclast). Il faut peut être préconiser une combinaison des deux enzymes (viscozyme et celluclast) de manière à optimiser d'avantage des rendements d'extractions.

En ce qui concerne, l'enrichissement, des aliments par des pelures de tomates, en vue, d'obtenir des bioproduits, l'étude a révélée, que les aliments enrichis en lycopène obtenu à partir des pelures de tomates, s'enrichissent en polyphénols, et augment leur pouvoir antioxydant, et leur résistance à l'oxydation dans le cas des substrats gras, nous avons obtenu une corrélation positive dans les essais au DPPH, CL et à un degré moindre dans le test de Rancimat. L'analyse chromatographique a révélé, la présence d'autres composés aussi importants, telle que la quarcitine, dont les mécanismes restent à élucider.

Dans le même ordre d'idée, l'étude menée sur les effets du lycopène sur certains paramètres lipidiques sériques et sur le système enzymatique hépatique de défense, a révélée, que la présence de lycopène dans un régime hyperlipidique et hypecholestérolémiant, a favorisent le rétablissement des paramètres, tels que le cholestérol, les triglycérides, et les HDL, à des niveaux de protection élevés. Le lycopène, à réduit les taux de TBARS sérique et hépatique. Il a modéré l'action des enzymes hépatiques de protection avec des taux parfois meilleurs que le témoin.

Toutes ces observations, sont corrélées avec un effet bénéfique avéré, du lycopène dans le régime alimentaire. Le fait établi, demeure que les pelures de tomates contiennent des composants en plus du lycopène, qui interagiraient dans le système de protection, afin d'améliorer le statut antioxydant

Résumer les vertus de la tomate au seul lycopène est cependant fort réducteur. À vrai dire, le lycopène n'est qu'une des nombreuses substances actives de la tomate qui peuvent agir en synergie. On y trouve de nombreux caroténoïdes (lutéine, zéaxanthine, bêta-

carotène, alpha-carotène, phytoène...) et des polyphénols, d'autres puissants antioxydants comme le flavonol, la quercétine et le kœmpférol.

Des interrogations persistent tout de même, quant aux mécanismes d'action du lycopène, dans son activité antiradicalaire et antioxydante. Certains chercheurs, pensent même que le mécanisme d'action du lycopène, pourrait être autre que celui liée a son activité antioxydante.

Quel est le rôle des métabolites secondaire du lycopène ? Aussi, pourquoi la tomate transformée (processus thermique) et à un degré moindre, les tomates crues « allègent » le stress oxydant, expérimentalement induit, davantage que le lycopène pur ?

En terme de perspective de recherche, il reste à identifier :

- les mécanismes actifs dans l'absorption du lycopène, son transfert dans le plasma et son rôle de protection contre le développement des plaques athérosclérotiques.
- L'absorption intestinale du lycopène, où les transporteurs membranaires n'ont pas été identifiés.
- Identifier les isomères et métabolites du lycopène ayant une réelle bioactivité.



---

# Références bibliographiques

- Joanny Menvielle-Bourg F. (2006).** Plantes et vieillissement, données actuelles. *Phytothérapie* n° 2 : 57-71.
- Willcox JK., Ash SL., Catigani GL. (2004).** Antioxydants and prevention of chronic disease. *Critical Review Food Science Nutrition* vol 44 N° 4 : 275-295.
- Conclusions officielles du sommet international des fruits et légumes, Paris, Mai 2008 ;** Organisé par l'association Aprifel et l'IFAVA, avec le soutien de l'OMS, de la FAO, de la Commission Européenne.
- Carlos KB., Ferrari. (2007).** Functional foods and physical activities in health promotion of aging people Current opinion . *The European menopause journal* Maturitas, 58 : 327 - 339.
- Quadir M., Hickey M., Boulton A., Hoogers R. (2006).** Accumulation of total soluble solids in processing tomatoes. *Acta Hort*, 724 - ISHS.
- Toor RK., Savage G. P. (2005).** Antioxidant activity in different fractions of tomatoes. *Food Research International* 38 (5) : 487- 494.
- Abdulnabi A., Emhemed A.H., Hussein G., Daood P. (1997).** Determination of antioxidant vitamins in tomatoes. *Food Chemistry*, Vol. 60, No. 2 : 207-212.
- Binoy G., Kaur C., Khurdiya DS., Kapoor HC. (2006).** Antioxidants in tomato (*Lycopersium esculentum*) as a function of genotype. *Food Chemistry* 84 : 45–51.
- Sandei L., Leoni C. (2006).** Exploitation of By-Products (Solid Wastes) from Tomato processing to Obtain High Value Antioxidants *Acta Hort*. 724, ISHS.
- Winfried R., Roland M.P. (2004).** Utilizing Waste Products from the Food production and Processing Industries. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 44 : 57–62 .
- Peschel W., Sanchez-Rabaneda F., Diekmann W., Plescher A., Gartz#a I., Jimenez D., Lamuela-Ravento R., Buxaderas S., Codina C. (2006).** An industrial approach in the search of natural antioxidants from vegetable and fruit wastes. *Food Chemistry*, 97 : 137–150.
- Davies JN., Hobson GE . (1981).** The constituents of tomato fruit - the influence of environment, nutrition, and genotype. *CRC Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 15 : 205-280.
- Spooner D M., Peralta IE., Knapp S . (2005).** Comparison of AFLPs with other markers for phylogenetic inference in wild tomatoes *Solanum L. section Lycopersicon* (Mill.) Wettst. *Taxon* 54 : 43-61.
- Lecerf JM. (2006).** Tomate, lycopène et prévention cardiovasculaire ; Article de synthèse *Phytothérapie* n°1 : HS34–HS39
- Causse M., Buret M., Robini K., Verschave P . (2003).** Inheritance of nutritional and sensory quality traits in fresh market tomato and relation to consumer preferences . *Journal of Food Science*; 68 : 2342 -2350.

- Abbott JA . (2004).** Textural quality assessment for fresh fruits and vegetables. *Quality of Fresh and Processed Foods*, vol. 542 : 265 -279.
- Dumas Y., Dadomo M., Di Lucca G., Grolier, P. (2003).** Effects of environmental factors and agricultural techniques on antioxidant content of tomatoes. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 83 (5):369-382
- Alexander L., Grierson D . (2002).** Ethylene biosynthesis and action in tomato: a model for climacteric fruit ripening. *Journal of Experimental Botany*,53 : 2039-2055.
- D e Pascale S., Maggio A., Fogliano V., Ambrosino P., Ritieni A. (2001).** Irrigation with saline water improves carotenoids content and antioxidant activity of tomato. *Journal of Horticultural Science & Biotechnology*76 (4) : 447- 453.
- Cortes JM., Vazquez A., Guillermo SM., Blanch GP., Villen J. (2009).** Pesticide residue analysis by RPLC–GC in lycopene and other carotenoids obtained from tomatoes by supercritical fluid extraction. *Food Chemistry*,113 : 280–284.
- Fernandez-Ruiz V., Sanchez-Mata MC., Camara M., Torija ME., Chaya C., Galiana-Balaguer L., Rosello S., Nuez F. (2004).** Internal quality characterization of fresh tomato fruits. *Hortscience*39 (2) : 339- 345.
- Blum A., Monir M. (2005).** [The beneficial effects of tomatoes](#) . *Eur J Intern Med* , 16(6) : 402 - 404.
- Gillapsy G., Ben-David H., Gruissem W . (1993).** Fruits: a developmental perspective. *Plant Cell*,5 : 1439-1451.
- Gautier H., Diakou-Verdin V., Bérnard C., Reich M., Buret M., Bourgaud F., Poessel JL., Caris-Veyrat C., Gérard M. ( 2008 ).** How Does Tomato Quality (Sugar, Acid, and Nutritional Quality) Vary with Ripening Stage, Temperature, and Irradiance? *J. Agric. Food Chem*, 56 : 1241–1250.
- Roberta M., Sébastien A. (2007).** Place de la Méditerranée de fruits et légumes dans la production mondiale. Les notes d'analyse du CIHEAM n° 23 : 22 p.
- Lenne P., Banthome F. (2006).** Analyse de la filière transformation de la tomate : Rapport de synthèse. Ministère de la PME/PMI et de l'Artisanat. Alger : 59 p. Ministère de l'Agriculture et du Développement Rural.
- Caris-Veyrat C., Amiot MJ., Tyssandier V., Grasselly D., Buret M., Mikolajczak M., Guillard JC., Bouteloup-Demange C., Borel P. (2004).** Influence of organic versus conventional agricultural practice on the antioxidant microconstituent content of tomatoes and derived purees; Consequences on antioxidant plasma status in humans. *Journal of agricultural and food chemistry*52 (21) : 6503 - 6509.
- Bilton R., Gerber M., Grolier P., Leoni C. (2001).** The White Book on antioxidants in tomatoes and tomato products and their health benefits, 2nd rev. edition 2001, CMITI Sarl Avignon, ISSN 1145-9565.
- Brandt S., Lugasi A., Barna E., Hovari J., Pek Z., Helyes L. (2003).** Effects of the growing methods and conditions on the lycopene content of tomato fruits. *Acta Alimentaria* 32(3) : 269-278.
- Khachik F., Carvalho L. (2002).** [Chemistry, distribution, and metabolism of tomato carotenoids and their impact on human health](#) . *Exp Biol Med (Maywood)* , 227(10) : 845-851.

- Djuric Z., Zand L., Powell C. (2001).** Antioxidant capacity of lycopene-containing foods. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*; 52 : 143 -149.
- Véronique B., Daniel L. (2001).** Le lycopène : un antioxydant très puissant, partiellement, *le clinicien Consultation en nutrition* vol 12 : 53 -60.
- Davies BH. (1976).** Carotenoids. In: Goodwin T. W. (Ed.) Chemistry and Biochemistry of Plant Pigments. London: *Academic Press* Vol 2. Chap. 19 : 38- 165.
- Boileau AC., Shi J., Le Maguare MM. (2000).** Lycopene in tomatoes : Chemical and physical properties affected by food processing. *Crit Rev Biotechnol*, 20 : 293-334
- Matulka R A., Hood A M., Griffiths J C.( 2004) .** Safety evaluation of a natural tomato lycopene extract derived from food-processing tomatoes. *Regul. Toxicol.Pharmacol.* 39 : 390–402.
- Agarwal A., Shen H., Agarwal S., Rao A.V. (2001).** Lycopene content of tomato products: its stability, bioavailability and in vivo antioxidant properties. *J. Med.Food* 4 (1) : 9–15.
- Schierle J., Bretzel W., Buhler I., Faccin N., Hess H., Steiner K., Schuep W. (1997).** Content and isomeric ratio of lycopene in food and human blood plasma. *Food Chem.* , Vol. 59, n. 3 : 459-465.
- Hirschberg J. (2001).** Carotenoid biosynthesis in flowering plants. *Current Opinion in Plant Biology*; 4 : 210 – 218.
- Shen H., Agarwal S., Rao A. (2001).** Lycopene content of tomato products: Its stability, bioavailability and in vivo antioxidant properties. *J. Med. Food*, 4 : 9-15.
- Britton G., Liaaen-Jensen S., Pfander H. (1995).** Carotenoids today and challenges for the future. In.: Britton G., Liaaen-Jensen S., Pfander H. (Ed) Carotenoids: Isolation and Analysis. Basel: Birkhäuser, Vol. 1A. Chap. 2 : 13-26.
- Renfroe MH., Brevard PB., Montgomery JR. (2004).** Antioxidant content varies in fresh and processed tomato products. *Journal of the American Dietetic Association*; 104 (suppl.2) :A-49.
- Basu HN., J. Del Vecchio A., Flider F., T. Orthoefer F. (2001).** Nutritional and Potential Disease Prevention Properties of Carotenoids. *JAOCS*, Vol 78 (7) : 665 - 675.
- Stahl W., Helmut S. (2004).** Bioactivity and protective effects of natural carotenoids. *Biochimica et Biophysica Acta* xx xxx–xxx. 7 pages.
- O'Kennedy N., Crosbie L. (2006).** [Effects of tomato extract on platelet function: a double-blinded crossover study in healthy humans](#) . *Am J Clin Nutr* 84 (3) : 561-569.
- Paul D. Fraser, Peter M. Bramley. (2004).** The biosynthesis and nutritional uses of carotenoids. *Progress in Lipid Research* .43 : 228–265.
- Kiwon L., Hyong JL., Chang YL. (2004).** Vitamins, Phytochemicals, Diets, and Their Implementation in Cancer Chemoprevention *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 44 : 437–452.
- Faure H., Fayol V., Galabert C., Grolier P., Le Moël G., Steghens JP., Van Kappel A., Nabet F.,** Carotenoids : 1. Metabolism and physiology (1999) *Annale de Biologie Clinique*, vol 57, N° 2 : 163 – 183.

- Tammy MB. (2000).** Dietary Antioxidants and Assessment of Oxidative Stress. *Nutrition* vol 16, 7/8 : 578 – 581.
- Nunes IL., Adriana Z. Mercadante AZ. ( 2004).** Obtenção de cristais de licopeno a partir de descarte de tomate. *Ciênc. Tecnol. Aliment., Campinas*, 24 (3) : 440 - 447.
- Elizabeth JJ. (2000).** The role of lycopene in health and disease, *Nutrition in Clinical Care*, vol 3, N° 1 : 35 - 43.
- Kiwon L., Hyong JL., Chang YL. (2004).** Vitamins, Phytochemicals, Diets, and Their Implementation in Cancer Chemoprevention *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 44 : 437–452.
- White PJ. (2002).** Recent advances in fruit development and ripening: an overview. *Journal of Experimental Botany* : 53 : 1995 – 2000.
- Porrini M., Riso P. (2005).** [What are typical lycopene intakes?](#) *J Nutr* , 135(8) : 42S-50S. **Wertz K., Siler U., Goralezkyk R. (2004).** Lycopene: Methods of action to promote prostate health. *Arch. Biochem. Biophys.* 430: 127-134.
- Cohen JH., Kristal AR., Stanford JL. (2000).** [Fruit and vegetable intakes and prostate cancer risk](#) . *J Natl Cancer Inst* . 5 92 (1) : 61 - 68.
- Samarjit D., Hajime O., Nilanjana M., Dipak KD. (2005).** Lycopene, tomatoes, and coronary heart disease. *Free Radical Research*, 39 (4) : 449– 455.
- Gaté L., Paul J., Nguyen Ba G., Tew K.D., Tapiero H. (1999).** Oxidative Stress induced in pathologies : the role of antioxidants ; *Biomed & Pharmacother* ; 53 : 169-180.
- Campbell JK. (2007).** "Phytoene, phytofluene, and lycopene from tomato powder differentially accumulate in tissues of male Fisher 344 rats". *Nutrition Research*, vol 27, 12 : 794 – 801.
- Hackett M M., Lee J H., Francis D., Schwartz S J.(2004).** Thermal stability and isomerization of lycopene in tomato oleoresins from different varieties. *J. Food Sci*, 69 : 536–541.
- Gopal Krishna. (1985).** Carotene and Tocopherol in Agro-industrial By-products and Wastes of the Tropics. Short Communication. *Agricultural Wastes* 12 : 235-239.
- Borel P., Drai J., Faure H., Fayol V., Galabert C., Lacomiguière M., Le Moël G. (2005).** Données récentes sur l'absorption et le catabolisme des caroténoïdes ; *Ann Biol Clin* ; 63 (2) : 165-177.
- Shixian Q., Dai Y., Kakuda Y., Shi J., Mittal G., Yeung D., Jiang Y. (2005).** Synergistic Anti-Oxidative Effects of Lycopene with Other Bioactive Compounds *Food Reviews International*, 21 : 295–311.
- Böhm V., Bitsch R. (1999).** Intestinal absorption of lycopene from different matrices and interactions to other carotenoids, the lipid status, and the antioxidant capacity of human plasma. *Eur J Nutr*, 38 : 118–125.
- Guil-Guerrero JL., Reboloso-Fuentes MM. (2009).** Nutrient composition and antioxidant activity of eight tomato (*Lycopersicon esculentum*) varieties. *Journal of Food Composition and Analysis*, 22 : 123–129.

- David H., Qing-Yi Lu. (2002).** Overview of Mechanisms of Action of Lycopene. *Society for Experimental Biology and Medicine* : 920-923.
- Valko M. , Leibfritz D., Moncola J., Cronin MTD., Mazura., Telser J. (2007).** Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 39 : 44 – 84.
- Giovannucci E. (2002).** A review of epidemiologic studies of tomatoes, lycopene, and prostate cancer. *Exp Biol Med (Maywood )* 227 (10) : 852-859.
- Borel P. (2003).** Factors affecting intestinal absorption of highly lipophilic food microconstituents (fat-soluble vitamins, carotenoids and phytosterols). *Clin Chem Lab Med;* 41 : 979-94.
- Weisburger JH. (2002).** Lycopene and Tomato Products in Health Promotion Mediterranean Diet in Disease Prevention. *Society for Experimental Biology and Medicine* : 924 – 927.
- Kaarina V., Susanna S., Toshiaki O., Marina H. (2002).** Carotenoids as antioxidants to prevent photooxidation. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* 104 : 353–359.
- Unlu NZ., Bohn T. (2005).** [Carotenoid absorption from salad and salsa by humans is enhanced by the addition of avocado or avocado oil](#) . *J Nutr;* 135 (3) : 431-436.
- Elsayed NM., (2001)** Antioxidant Mobilization in Response to Oxidative Stress: A Dynamic Environmental–Nutritional Interaction . *Nutrition*, vol 17, N° 10 : 828– 834.
- Henson S., Masakure O., Cranfield J. (2008).** The propensity for consumers to offset health risks through the use of functional foods and nutraceuticals: The case of lycopène. *Food Quality and Preferenc*, 19 : 395– 406.
- Fuhrman B., Elis A., Aviram M. (1997).** Hypocholesterolemic effect of lycopene and  $\beta$ -carotene is related to suppression of cholesterol synthesis and augmentation of LDL receptor activity in macrophage. *Biochem Biophys Res Commun* 233 : 658 – 666.
- Niki E. (2004).** Antioxidants and atherosclerosis. *Biochemical Society Transactions*, vol 32, part 1 : 156-159.
- Jean Nève. (2002).** Modulation de l’apport alimentaire en anti-oxydants, nutrition et stress oxydant. *Clinique et métabolisme* 16 : 292– 300.
- Sesso HD., Buring JE., Norkus EP., Gaziano JM. (2004).** Plasma lycopene, other carotenoids, and retinol and the risk of cardiovascular disease in women. *Am. J. Clin. Nutr.* 79 : 47-53.
- Kohlmeier L., Kark JD., Gomez-Garcia E., Martin BC., Steck SE., Kardinaal AFM., Ringstad J., Thamm M., Masaev V., Riemersma R., Martin-Moreno JM., Huttunen JK., Kok F.(1997).** Lycopene and myocaedial infarction risk in the EURAMIC study. *Am J Epidemiol* 146 : 618 – 626 .
- Kritenson M., Zieden B., Kucinskiene Z., Elinder LS., Bergdahl B., Elwing B., Abaravicius A., Razinkoviene L., Calkauskas H., Olson A. (1997).** Antioxidant state and mortality from coronary heart disease in Lithuanian and Swedish men: concomitant cross sectional study of men aged 50. *Br Med J* ,314 : 629-633.
- Voutilainen S., Nurmit T., Mursu J., Rissanen TH. (2006).** Carotenoids and cardiovascular health. *The American Journal of Chimical Nutrition* Vol 83 : 1265 – 1271.



- Rissanen T., Voutilainen S., Nyyssonen K., Salonen JT. (2002).** Lycopene, Atherosclerosis, and Coronary Heart Disease. *The Society for Experimental Biology and Medicine* : 900-907.
- Levy J., Bosin., E, Feldman B. (1995).** Lycopene is a more potent inhibitor of human cancer cell proliferation than either a- or b-carotene. *Nutr Cancer* ,24 : 257-264.
- Cohen M. (2002).** Stress oxydant, glucation protéique, vieillissement et maladies liées à l'age. *La phytothérapie Européenne*. 6 : 16-18.
- Ansari MS., Ansari S. (2005).** [Lycopene and prostate cancer](#) . *Future Oncol*,N°3 : 425-430.
- Nishino H., Murakoshi M., Tokuda H., Satomi Y. (2008).** Cancer prevention by carotenoids. *Archives of Biochemistry and Biophysics* xxx : 1 – 4.
- Lemkecher T., Dartigues S., Vaysse J., Kulski O., Barraud-Lange V., Gattegno L., Wolf JP. (2005).** Leucospermie, stress oxydatif et fertilité masculine : certitudes et hypothèses. *Gynécologie Obstétrique & Fertilité* 33 : 2–10.
- Miller, EC., Hadley CW., Schwartz SJ., Erdman JW., Boileau TWM., Clinton SK. (2002)** .Lycopene, tomato products, and prostate cancer prevention. Have we established causality? *Pure Appl. Chem.*, v. 74, n. 8, : 1435 -1441.
- Etminan M., Takkouche B., Caamano-Isorna F. (2004).** [The role of tomato products and lycopene in the prevention of prostate cancer: a meta-analysis of observational studies](#) . *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* .13(3) : 340-345.
- Colliver S., Bovy A., Collins G., Muir S., Robinson S., Verhoeyen ME.(2002)** Improving the nutritional content of tomatoes through reprogramming their flavonoid biosynthetic pathway. *Phytochemistry Reviews* 1 : 113–123.
- Tapiero HDM., Townsend K.D. (2004)** The role of carotenoids in the prevention of human pathologies. *Tew Biomedicine & Pharmacotherapy* 58 : 100–110.
- Kucuk O., Wood DPJr . (2002).** Response of hormone refractory prostate cancer to lycopene. *J Urol* : 167- 651.
- Shao A., Hathcock J.N. (2006).** Risk assessment for the carotenoids lutein and lycopene. *Regul. Toxicol. Pharmacol.* 45 : 289–298.
- Mohanty NK., Kumar R., Gupta NP. (2001).** Lycopene therapy in the management of idiopathic oligoasthenospermia. *Ind J Urol*, 56 : 102-103.
- Markovitch D., Tyrrell RM., Tauler P., Frystyk J., Stokes K., Thompson D. (2009).** Lycopene supplementation (passata sauce) reduces apoptosis but does not affect oxidant-responsive heme oxygenase-1 in human lymphocytes. *Nutrition* , 25 : 668 – 675.
- Rao LG., Mackinnon ES., Josse RG., Murray TM., Strauss A., Rao AV. (2007).** Lycopene consumption decreases oxidative stress and bone resorption markers in postmenopausal women. *Osteoporosis Int.* 18 : 109 – 115.
- Kasagi S., Seyama K., Mori H., Souma S., Sato T., Akiyoshi T., Suganuma H., Fukuchi Y. (2006).** Tomato juice prevents senescence-accelerated mouse P1 strain from developing emphysema induced by chronic exposure to tobacco smoke. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 290 : L 396-L 404.

- Flourie F., Arab K., Rossary A. (2006).** Effets des différents antioxydants sur la lipoperoxydation in vitro initiée par le radical °OH. *Immuno-analyse et biologie spécialisée*, 21 : 229–233.
- Delattre J., Durand G., Jardillier JC. (2003).** Biochimie pathologique : aspects moléculaires et cellulaires. Radicaux libres et antioxydants. *Flammarion Médecine – Sciences*; 203 pages.
- Thérond P., Blache D. In: Delattre J, Beaudeau JL., Bonnefont-Rousselot D. (2005).** Cibles lipidiques des radicaux libres dérivés de l’oxygène et de l’azote. Radicaux libres et stress oxydant. Aspects biologiques et thérapeutiques. *Tec et Doc Lavoisier*, 233 pages.
- Tsuchihashi H, Kigashi M, Iwastuki M, Niki E. (1995).** Action of  $\beta$ -carotene as an antioxidant against lipid peroxidation. *Arch Biochem Biophys*, 17 : 137– 147.
- Joye K., Sarah LH. (2004).** Antioxidant and prevention of chronic disease. *Critical reviews in Food science and nutrition*, 44 : 275 – 295.
- Judy L., Hughes J., Colette NM., Sanner S. (2002).** Antioxidant in food : a summary of the review conducted for the Food Standards Agency *British Nutrition Foundation Nutrition bulletin*, 27 : 227 – 236.
- Anne GM., Boyer MJ., Vellas B., Thouvenot JP., Albarade JL. (1996).** Activity antioxydante, lipoperoxydation et vieillissement chez l’homme. *Nutr. Clin. Metabol*, 10 : 151-160.
- Jamshidzadeh A., Baghban M., Azarpira N., Mohammadi Bardbori A., Niknahad H. (2008).** Effects of tomato extract on oxidative stress induced toxicity in different organs of rats. *Food and Chemical Toxicology* 46 : 3612 – 3615.
- Eder E., Wacker M., Lutz U., Nair J., Fang X., Bartsch H., Beland FA., Schlatter J., Lutz WK. (2006).** Oxidative stress related DNA adducts in the liver of female rats fed with sunflower-, rapeseed-, olive- or coconut oil supplemented diets. *Chemico-Biological Interactions* 159 : 81–89.
- Ellinger S., Ellinger J., Stehlea P. (2006).** Tomatoes, tomato products and lycopene in the prevention and treatment of prostate cancer: do we have the evidence from intervention studies? *Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care*, 9 : 722 – 727.
- Masella T R. , Di Benedetto R., Var# R., Filesi C., Giovannini C. (2005)** Novel mechanisms of natural antioxidant compounds in biological systems: involvement of glutathione and glutathione-related enzymes. *Journal of Nutritional Biochemistry* 16 : 577–586.
- Valko M., Leibfritz D., Moncola J., Cronin MTD., Mazura M., Telser J. (2007).** Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. The International. *Journal of Biochemistry & Cell Biology* 39 : 44–84.
- Sorg Olivier. (2004).** Oxidative stress : a theoretical model or a biological reality? *C. R. Biologies*. 327 : 649–662.
- Scandalios JG. (2005).** Oxidative stress : molecular perception and transduction of signals triggering antioxidant gene defenses. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 38: 995-1014.

- Vecera R., Kottova N., Vana P., Kazdova L., Chmela Z., Vagera Z., Walterova D., Ulrichova J., Imanek V. (2003).**Antioxidant Status, Lipoprotein Profile and Liver Lipids in Rats Fed on High-Cholesterol Diet Containing Currant Oil Rich in n-3 and n-6 Polyunsaturated Fatty Acids. *Physiol. Res.* 52 : 177- 187.
- Sies H., Stahl W. (2004).**Carotenoids and UV Protection. *Photochem. Photobiol SCI*, 3 : 749 - 752.
- Tzouganaki ZD., Atta-Politou J., Koupparis MA. (2002).** Development and validation of liquid chromatographic method for the determination of lycopene in plasma. *Analytica Chimica Acta* , 467 : 115–123.
- Stahl W. , Heinrich U., Aust O., Tronnier H., Sies H. (2006).** Lycopene-rich products and dietary photoprotection. *Photochem. Photobiol. Sci.*, 2006, 5, 238–242.
- Brian L., Kirstie L., Canene-Adams J., Erdman W. (2007).** Lycopeneoids : Are lycopene metabolites bioactive? *Archives of Biochemistry and Biophysics* 458 : 136–140.
- Fournier G., Valeri A., Mangin P., Cussenot O. (2004).**Cancer de la prostate. Épidémiologie. Facteurs de risques. *Anatomopathologie Annales d'urologie*, 38 : 187–206.
- Injac R., Perse M., Cerne M., Potocnik N., Radic N., Govedarica B., Djordjevic A., Cerar A., Strukelj B. (2009).**Protective effects of fullereneol C60(OH)24 against doxorubicin-induced cardiotoxicity and hepatotoxicity in rats with colorectal cancer. *Biomaterials* xxx xxx 1–13.
- Chi Jian W., Chiou MH., Chen YT., Lin CN., Wub MC., Du CJ., Cleo CP. (2008).** Twenty-eight-day oral toxicity study of lycopene from recombinant Escherichia coli in rats Regulatory. *Toxicology and Pharmacology*, 52 : 163–168.
- Stacewicz-Sapuntzakis M. , Phyllis E., Bowen . (2005).** Role of lycopene and tomato products in prostate health. *Biochimica Biophysica Acta* ,1740 : 202–205.
- Nishino H., Murakoshi M., Tokuda H., Satomi Y., Masuda M., Bu P., Onozuka M., Kato T., Misawa N., Narisawa T., Takasuka N., Masamichi Y . (2008).** Cancer prevention by carotenoids. *Archives of Biochemistry and Biophysics* xxx (2008) xxx–xxx.
- Anne GM., Boyer MJ., Vellas B., Thouvenot JP., Albar JL., Ghisolf P J. (1996)** Activite anti-oxydante, lipoperoxydation et vieillissement chez l'homme. *Nutr. Clin. Metabol*, 10 : 151-160.
- Gitenay D., Lyan B., Rambeau M., Mazur A., Rock E. (2007).**Comparison of lycopene and tomato effects on biomarkers of oxidative stress in vitamin E deficient rats. *Eur J Nutr* , 46 : 468–475.
- D en Berg H., Faulks R., Fernando Granado H., Hirschberg J., Olmedilla B., Sandmann G., Southon S., Stahl W. (2000).** The potential for the improvement of carotenoid levels in foods and the likely systemic effects. *Journal of the Science of Food and Agriculture J Sci Food Agric* 80:880±912 (2000).
- Borel P., Drai J., Faure H., Fayol V., Galabert C., Laromiguière M., Le Moël G. (2005).** Données récentes sur l'absorption et le catabolisme des caroténoïdes. *Ann Biol Clin* , 63 (2) : 165-77.



- Bowen PE. (2003).** Is lycopene a likely candidate for prostate cancer prevention and control? Special Highlight: Lycopene *AGROFood industry hi-tech* \_ July/August 2 : 11-15.
- Agarwal S., Rao AV. (2000).** Tomato lycopene and its role in human health and chronic diseases. *CMAJ*, 163(6) : 739- 744.
- Leticia G., Rao E A., Rao V. (2003).** Lycopene: Its role in human health and disease. Special Highlight: Lycopene *AGROFood industry hi-tech* :3 pages.
- Alan Mortensen. ( 2004).** Carotenoids: an overview. *Carotenoids : Agro Food industry hi-tech*. November/December : 32-33.
- Pierre Astorg. (1997).** Food carotenoids and cancer prevention: An overview of current research. *Trends in Food Science and Technologie*, vol. 8. : 1 – 3.
- Adetayo O., Omoni R., Aluko E. (2005).** The anticarcinogenic and anti-atherogenic effects of lycopene: a review. *Trends in Food Science & Technology*, 16 : 344–350.
- Dwyer J., Wang XD. (2003).** Vegetable consumption and human health: Lycopene in the spotlight. Special Highlight: Lycopene *Agro Food industry hi-tech* July/August : 16-17.
- Voutilainen S., Tiina H., Rissane N. (2004).** Carotenoids and cardiovascular Health. *Carotenoids. Agro Food industry hi-tech*. November/December : 34-37.
- Ishida BK., Bartley GE. (2005).** Carotenoids : chemistry, sources, and physiology. In *Encyclopedia of Human Nutrition*, 2nd ed.; Caballero, B., Allen, L., Prentice, A., Eds.; Elsevier: Oxford, U.K., 2005; pp 330-338.
- Hadley CW., Clinton SK., Schwartz SJ. (2003).** The consumption of processed tomato products enhances plasma lycopene concentrations in association with a reduced lipoprotein sensitivity to oxidative damage. *J. Nutr.*, 133 : 727–732.
- Khachik F., Carvalho L., Bernstein PS., Muir GJ., Zhao DY., Katz NG. (2002).** Chemistry, distribution, and metabolism of tomato carotenoids and their impact on human health. *Exp. Biol.Med.*, 227 : 845–851.
- Boileau AC., Merchen NR., Wasson K., Atkinson CA., Erdman JS. ( 1999).** *cis*-Lycopene is more bioavailable than translycopene in Vitro and also in vivo in the lymph cannulated ferret. *J. Nutr.*, 129 : 1176–1181.
- Kravchenko LV., Morozov SV., Beketova NA., Deryagina VP., Tutelyan VA. (2003).** Antioxidant statut of rats receiving lycopène in different doses. *Bulletin of Experimental Biology and Medecine*, 135 (4) : 353 – 357.
- Cases N., Sureda A., Maestre A., Tauler P., Aguiló A., Córdova A., Roche E., Pons A. (2006).** Response of antioxidant defences to oxidative stress induced by prolonged exercise: antioxidant enzyme gene expression in lymphocytes. *Eur J Appl Physiol*, 98 : 263–269.
- Ishida BK., Roberts JS., Chapman MH., Burri BJ. (2007)** Processing Tangerine tomatoes: effects on lycopene-isomer concentrations and profile. *J. Food Sci.*, 72 (6) : C307-C312.
- Frohlich K., Conrad J., Schmid A., Breithaupt DE., Bohm V. (2007).** Isolation and structural elucidation of different geometrical isomers of lycopene. *Int. J. Vitam. Res.* 77: 369–375.

- Hackett M M., Lee JH., Francis D., Schwartz SJ. (2004).** Thermal stability and isomerization of lycopene in tomato oleoresins from different varieties. *J. Food Sci.*, 69 : 536–541.
- Shih CK., Chang JH., Yang SH. (2008).**  $\beta$ -Carotene and canthaxanthin alter the pro-oxidation and antioxidation balance in rats fed a high-cholesterol and high-fat diet. *British Journal of Nutrition*, 99 : 59–66.
- Huang CS., Chuang CH., Hu ML. (2006).** Supplementation on Plasma and Tissue Lycopene Levels in various rodent strains. *Int. J. Vitam. Nutr. Res*, 76 (6) : 377–384.
- Böhm V., Bitsch R. (1999).** Intestinal absorption of lycopene from different matrices and interactions to other carotenoids, the lipid status, and the antioxidant capacity of human plasma. *Eur J Nutr*, 38 : 118–125.
- Aviram M., Fuhrman B. (1998).** LDL oxidation by arterial wall macrophages depends on the oxidative status in the lipoprotein and in the cells: Role of prooxidants vs. antioxidants. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 188 : 149–159.
- Johnson JD. (2009).** Do carotenoids serve as transmembrane radical channels? *Free Radical Biology & Medicine*, 47 : 321–323.
- Davies BH. Carotenoids. (Ed.)** Chemistry and Biochemistry of Plant Pigments. London : Academic Press, 1976. V. 2. Cap. 19. p. 38- 165.
- Mercadante AZ., Rodriguez-Amaya DB. (1991).** Carotenoid composition of a leafy vegetable in relation to some agricultural variables. *J. Agric. Food Chem.*, v. 39, n. 6, p. 1094-1097.
- Bose KSC., Agrawal BK. (2007).** Effect of lycopene from cooked tomatoes on serum antioxidant enzymes, lipid peroxidation rate and lipid profile in coronary heart disease. *Singapore Med J*; 48 (5) : 415-421.
- Boyle P., Severi G., Giles GG. (2003).** The epidemiology of prostate cancer. *Urol Clin North Am* 2003; 30:209–17.
- Gronberg H. (2003).** Prostate cancer epidemiology. *Lancet*; 36 (1) : 859 – 64.
- Norris AE., Ferguson LR., Knize MG., Felton JS., Sharpe SJ., Jackson RT. (1999).** Heterocyclic amine content of cooked meat and risk of prostate cancer. *J Natl Cancer Inst*; 91: 20038– 20044.
- Epstein JI., Carmichael MJ., Partin AW., Walsh PC. (1994)** Small high grade adenocarcinoma of the prostate in radical prostatectomy specimens performed for nonpalpable disease: pathogenetic and clinical implications. *J Urol*; 151: 1587–1592.
- Anurag Kuhad A., Sethi R., Chopra K. (2008).** Lycopene attenuates diabetes-associated cognitive decline in rats. *Life Sciences* (83) : 128–134.
- Bergmeyer HU., Heder M., Rej R. (1986).** Approved recommendation on IFCC methods for the measurement of catalytic concentration of enzymes. Part 3. IFCC method for aminotransferase. *J. Clin. Chem. Biochem.* 24 : 481-495.
- Brensilver HL., Kaplan MM. (1975).** Significance of elevated liver alkaline phosphatase in serum. *Gastroenterology.* 68 : 201-210.
- Miller EC., Giovannucci E., Erdman JW., Bahnson R., Schwartz SJ., Clinton SK. (2002)** Tomato products, lycopene, and prostate cancer risk. *Urol Clin North Am*; 29:83–93.

- Agarwal A., Shen H., Agarwal S., Rao A.V. (2001).** Lycopene content of tomatoproducts: its stability, bioavailability and in vivo antioxidant properties. *J. Med. Food* 4 (1), 9–15.
- FDA. (1997)** . Title 21 of the US Code of Federal Regulations, Part 58. Good Laboratory Practice for Nonclinical Laboratory Studies.
- Draper HH, Squires EJ, Mahmoodi H, Wu J, Agarwal S, Hadley M . (1993).**A comparative evaluation of thiobarbituric acid methods for the determination of malondialdehyde in biological materials. *Free Radic Biol Med* ,15 : 353–363.
- Shao A., Hathcock JN. (2006).** Risk assessment for the carotenoids lutein and lycopene. *Regul. Toxicol. Pharmacol.* 45, 289–298.
- Yoon SH., Lee YM., Kim JE., Lee SH., Lee JH., Kim JY., Jung KH., Shin YC., Keasling JD., Kim SW. (2006).** Enhanced lycopene production in *Escherichia coli* engineered to synthesize isopentenyl diphosphate and dimethylallyl diphosphate from mevalonate. *Biotechnol. Bioeng.* 94 (6) : 1025–1032.
- Gerster H. (1997).** The potential role of lycopene for human health. *J. Am. Coll. Nutr.* 16 : 109–126.
- Jamall IS., Smith JC. (1985).** Effects of cadmium on glutathione peroxidase, superoxide dismutase, and lipid peroxidation in the rat heart: a possible mechanism of cadmium cardiotoxicity. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 80: 33–42.
- Lee A., Thurnham DI., Chopra M. (2000).** Consumption of tomato products with olive oil but not sunflower oil increases the antioxidant activity of plasma. *Free Rad. Biol. Med.* 29 : 1051–1055.
- Upritchard JE., Sutherland WHF., Mann JI. (2000).** Effect of supplementation with tomato juice, vitamin E, and vitamin C on LDL oxidation and products of inflammatory activity in type 2 diabetes. *Diabetes Care* 23 : 733–738.
- DeLeve LD., Kaplowitz N. (1991).** Glutathione metabolism and its role in hepatotoxicity. *Pharmacol. Ther.* 52 : 287–305.
- Botsoglou NA., Fletouris DJ., Papageorgiou GE., Vassilopoulos VN., Mantis AJ., Trakatellis G. (1994).** Rapid, sensitive, and specific thiobarbituric acid method for measuring lipid peroxidation in animal tissue, food, and food-stuff samples. *J. Agric. Food Chem.* 42 : 1931–1937.
- Said S., Moselhy M., Al mslmani A. (2008).** Chemopreventive effect of lycopene alone or with melatonin against the genesis of oxidative stress and mammary tumors induced by 7,12 dimethyl(a)benzanthracene in sprague dawely female rats. *Mol Cell Biochem*, 319 : 175–180.
- Morelli R., Das S., Bertelli A., Bollini R., Lo Scalzo R., Das DK., Falchi M. (2006).**The introduction of the stilbene synthase gene enhances the natural antiradical activity of *Lycopersicon esculentum* mill. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 282 : 65–73.
- Colitti M., Stefanon B. (2006).** Effect of natural antioxidants on superoxide dismutase and glutathione peroxidase mRNA expression in leukocytes from periparturient dairy cows. *Veterinary Rasearch Communications*, 30 : 19 – 27.

- Subhash K., Bose C., Agrawal BK. (2007).**Effect of short term supplementation of tomatoes on antioxidant enzymes and lipid peroxidation in type-II diabetes. *Indian Journal of Clinical Biochemistry*, 22 (1) : 95-98.
- Basu Imrhan. (2007).**Tomatoes versus lycopene in oxidative stress and carcinogenesis: conclusions from clinical trials. *European Journal of Clinical Nutrition*,61 : 295–303.
- Huang CS., Chuang JH., Hu ML. (2006).**Effects of Lycopene supplementation on Plasma and Tissue Lycopene Levels in Various Rodent Strains Int. *J. Vitam. Nutr. Res*, 76 (6) : 377–384.
- Lambelet P., Richelle M., Bortlik K., Franceschi F., Giori AM. (2009).** Improving the stability of lycopene Z-isomers in isomerised tomato extracts. *Food Chemistry*, 112 : 156–161.
- Gokmena V., Serpena A., Fogliano V. (2009).** Direct measurement of the total antioxidant capacity of foods: the 'QUENCHER' approach. *Trends in Food Science & Technology*, 20 : 278 – 288.
- Sahnoun Z., Jamoussi K. (1998).**Free, radicals and antioxidants: physiology, human pathology and therapeutic aspects. *Therapie*, 53 : 315–339.
- Yuan YV., Kitts DD ., Godin DV .(1998).**Variations in dietary fat and cholesterol intakes modify antioxidant status of SHR and WKY rats. *J Nutr* , 128 : 1620–1630.
- Lu YF & Chiang CF.(2001).** Effect of dietary cholesterol and fat levels on lipid peroxidation and the activities of antioxidant enzymes in rats. *Internat J Vit Nutr Res*, 71 : 339–346.
- Leal M., Shimada A., Ru#z F., Gonzalez de Mej#a E. (1999).**Effect of lycopene on lipid peroxidation and glutathione-dependent enzymes induced by T-2 toxin in vivo. *Toxicology Letters*, 109 : 1–10.
- Xiaochun Z., Feng D., Jun R., Meghan J., Driscoll B. (2005).** High dietary fat induces NADPH oxidase-associated oxidative stress and inflammation in rat cerebral cortex. *Experimental Neurology* 191 : 318– 32.
- Del Rio D., Stewart AJ., Pellegrini N. (2005).** A review of recent studies on malondialdehyde as toxic molecule and biological marker of oxidative stress. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*,15 : 316–328.
- Naoto M., Toshinari T. ; Seiichiro., Hirofumi M., Tsuguhito O., Hitoshi A. (2007).**Lipid-Induced Oxidative Stress Causes Steatohepatitis in Mice Fed an Atherogenic Diet *Hepatology*, vol. 46, 5 : 1392 – 1403.
- El-Agamey A, Lowe GM, McGarvey DJ, Mortensen A, Phillip DM, Truscott TG ,. Young AJ. (2004).** Carotenoid radical chemistry and antioxidant-pro-oxidant properties. *Arch Biochem Biophys*,430 : 37–48.
- Parker RS. (1996).** Absorption, metabolism, and transport of carotenoids. *FASEB J*10 : 542–551.
- Yeum K-J., Russell RM. (2002).** Carotenoid bioavailability and bioconversion. *Annu Rev Nutr* , 22 : 483–504.
- Terao J.(1989).** Antioxidant activity of beta-carotene-related carotenoids in solution. *Lipids* ,24 : 659–661.

- Palozza P., Luberto C., Ricci P., Sgarlata E., Calviello G., Bartoli GM (1996).** Effect of beta-carotene and canthaxanthin on tertbutyl hydroperoxide-induced lipid peroxidation in murine normal and tumor thymocytes. *Arch Biochem Biophys*, 325 : 145–151.
- Lopez SV., Tsai AC (1992).** Effects of dietary beta-carotene and canthaxanthin on lipid levels in rats. *FASEB J*, 6 : A966.
- Brigelius-Flohe R. (1999).** Tissue-specific functions of individual glutathione peroxidases. *Free Radic Biol Med*, 27 : 951–965.
- Eder K., Flader D., Hirche F., Brandsch C. (2002).** Excess dietary vitamin E lowers the activities of antioxidative enzymes in erythrocytes of rats fed salmon oil. *J Nutr*, 132 : 3400–3404.
- Chaudiere J., Ferrari-Iliou R. (1999).** Intracellular antioxidants: from chemical to biochemical mechanisms. *Food Chem Toxicol*, 37 : 949–962.
- Schierle J., Bretzel W., Biihler I., Faccin N., Hess D., Steiner K. (2005).** Content and isomeric ratio of lycopene in food and human blood plasma. *Food Chemistry*, vol. 59, 3 : 459-465.
- Amen RJ., Lachance PA. (1974).** The effects of beta-carotene and canthaxanthin on serum cholesterol levels in the rats. *Nutr Rep Int*, 10 : 269–276.
- Erdman JW., Lachance PA. (1974).** Failure of the non-vitamin A active carotenoid lycopene to act as an antihypercholesterolemic agent in rats. *Nutr Rep Int*, 10 : 277–284.
- Pinchuk I., Lichtenberg D. (2002).** The mechanism of action of antioxidants against lipoprotein peroxidation, evaluation based on kinetic experiment. *Progress in Lipid Research* 41 : 279–314.
- Shih C-K., Cheng H-H., Shieh MJ. (1997).** Effects of beta-carotene on lipid metabolism in rats fed with or without cholesterol. *Nutr Sci J*, 22 : 287–301.
- Tsai AC., Mazeedi HA. (1988).** Effects of beta-carotene supplementation on serum lipid levels in spontaneously hypertensive (SH) rats. *FASEB J*, 2 : A854.
- Tsai AC, Mazeedi HA., Mameesh MS. (1992).** Dietary betacarotene reduces serum lipid concentration in spontaneously hypertensive rats fed a vitamin A-fortified and cholesterol-enriched diet. *J Nutr*, 122 : 1768–1771.
- Rao AV., Shen H. (2002).** Effect of low dose lycopene intake on lycopène bioavailability and oxidative stress. *Nutrition Research*, 22 : 1125–1131.
- Manninen V., Tenkanen L., Koskinen P., Huttunen JK., Manttari M., Heinonen OP., Frick MH. (1992)** Joint effects of serum triacylglycerol and LDL cholesterol and HDL cholesterol concentration on coronary heart disease risk in the Helsinki Heart Study. *Circulation*, 85 : 37–45.
- Canene-Adams K., Campbell JK., Zaripheh S., Jeffery EH., Erdman JW. (2004).** The Tomato As a Functional Food. *Food Comp Anal*, 15 : 309–317.
- Sandei L., Leoni C. (2006).** Exploitation of By-Products (Solid Wastes) from Tomato Processing to Obtain High Value Antioxidants *Acta Hort.* 724, ISHS.

- Kaur D ., Wani AA., Oberi PS., Sogi DS. (2008).** Effect of extraction conditions on lycopene extractions from tomato processing waste skin using response surface methodology. *Food Chemistry* , 108 : 711–718.
- Roldan-Gutierrez JM., Luque de Castro MD. ( 2007).** Lycopene : The need for better methods for characterization and determination. *Trends in Analytical Chemistry*, Vol. 26, n° 2,
- Encinara JM., González JF., Martínez G. (2008).** Energetic use of the tomato plant waste. *Fuel Processing Technology* : 1193 – 1200.
- Jess Halliday. (2007).** New player to tap tomato waste for cheaper lycopene. *Eur Food Res Technol* , 219 : 151–160.
- Raffo A., Leonardi C., Fogliano V., Ambrosino P., Salucci M., Gennaro L., Bugianesi R., Giuffrida F., Quaglia G. (2002)** Nutritional Value of Cherry Tomatoes (*Lycopersicon esculentum* Cv. Naomi F1) Harvested at Different Ripening Stages. *J. Agric. Food Chem*, 50 : 6550-6556.
- Lateef A., Oloke JK., Gueguim EB., Kana SO., Oyeniyi OR., Onifade AO., Oyeleye OC. (2008).** Improving the quality of agro-wastes by solid-state fermentation: enhanced antioxidant activities and nutritional qualities. *World J Microbiol Biotechnol* , 24 : 2369 – 2374
- Strazzullo G., Poli A., Lama L., De Prisco R., La Pastina K., Nicaulos B. (2006).** Chemical identification of polysaccharides from solid wastes of tomato processing. *Acta Hort* 724
- Ramandeep K., Geoffrey T., Savage P. (2005).** Antioxidant activity in different fractions of tomatoes. *Food Research International* 38 : 484 – 494.
- Bortlik KH., Lambelet P., Richelle M., Saucy F. (2004).** Compositions containing cis-isomers of a carotenoid compound. *European patent no.* 04015865.1.
- Rachel LA. (2007).** Sensory properties of fruit skins. *Postharvest Biology and Technology* 44 : 307–311.
- Concepcio S-M., Plaza L., De Ancos B., Pilar Cano M. (2004).** Effect of combined treatments of high-pressure and natural additives on carotenoid extractability and antioxidant activity of tomato puree (*Lycopersicum esculentum* Mill.). *Eur Food Res Technol*, 219 : 151–160.
- Graziani G., Pernice R., Lanzuise S., Paola Vitaglione P., Anese M., Fogliano V. (2003).** Effect of peeling and heating on carotenoid content and antioxidant activity of tomato and tomato-virgin olive oil systems. *Eur Food Res Technol*, 216 : 116–121.
- Levent Bayindirfi. (1994)** Mathematical Analysis of Lye Peeling of Tomatoes *Journal of Food Engineering*, 23 :225-231.
- Chiu Y.T., Chiu C.P., Chen J.T., Ho G.H., Yang J., Chen B.H. (2007).** Encapsulation of Lycopene Extract from Tomato Pulp Waste with Gelatin and Poly( $\beta$ -glutamic acid) as Carrier *J. Agric. Food Chem*, 55 : 5123–5130.
- Waldron KW., Parker ML., Smith AC . (2003).** Plant cell walls and food quality. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* , 2 : 101-119.
- Catala C., Rose JKC., Bennett AB . (2000).** Auxin-Regulated Genes Encoding Cell Wall-Modifying Proteins Are Expressed during Early Tomato Fruit Growth. *Plant Physiol*, 122 : 527-534.

- Crookes PR., Grierson D . (1983).** Ultrastructure of tomato fruit ripening and the role of polygalacturonase isoenzymes in cell wall degradation. *Plant Physiology* , 72 : 1088 - 1093.
- Huber DJ . (1983).** Polyuronide degradation and hemicellulose modifications in ripening tomato fruit. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 108 : 405-409.
- Jarvis MC., Briggs SPH., Knox JP . (2003).** Intercellular adhesion and cell separation in plants. *Plant, Cell & Environment* 26 : 977-989.
- Al-Wandawi H., Maha A.R., Al-Shaikhly K. (1985)** Tomato Processing Wastes as Essential Raw Materials Source. *J. Agric. Food Chem.* 33 : 804-807.
- Telef N., Stammitti-Bert L., Mortain-Bertrand A., Maucourt M., Rolin D., Gallusci P. ( 2006)** Sucrose deficiency delays lycopene accumulation in tomato fruit pericarp discs. *Plant Mol Biol* . 62 : 453–469.
- Douymaz Ibrahim. (2007).** Air-drying characteristics of tomatoes. *Journal of Food Engineering* 78 : 1291–1297.
- Qiu W., Jiang H., Wang H., Yuan J. (2004).** Isomerisation of all-trans-lycopene to cis-lycopene in organic solvents. *Shipin Yu Fayao Gongye*, 30 : 1–5.
- Redgwell R J., Curti D., Gehin-Delval C. ( 2007).** Physicochemical properties of cell wall materials from apple, kiwifruit and tomato. *Eur Food Res Technol*, Springer-Verlag : 12 p.
- Wagner Breiteneder (2002).** The latex fruit syndrome . *Biochem. Soc . Trans*, 3 : 935-940.
- Matulka RA., Hood AM., Griffiths, JC. (2004)** Safety evaluation of a natural tomato oleoresin extract derived from food-processing tomatoes. *Regul. Toxicol. Pharmacol.* 39 : 390–402.
- Movagharnjad K., Nikzad M. (2007)** Modeling of tomato drying using artificial neural network. *Computers and Electronics in Agriculture* 59 : 78–85.
- Hawlder MNA., Uddin M.S., Hou J.C., Teng ABW. (1991).** Drying Characteristics of Tomatoes. *Journal of Food Engineering* 14 : 259 -268.
- Sacilik K., Keskin R., Konuralp Elicin A. (2006).** Modeler mathématique du séchage solaire de tunnel de la couche mince tomate organique. *Journal of Food Engineering* 73 : 231 –238.
- Al-Asheh S., Jumah R., Banat F., Hammad S. (2003).** The use of experimental factorial design for analysing the effect of spray dryer operating variables on the production of tomato powder. *Trans IChemE*, vol 81, Part C : 81–88.
- Wilkins MR., Widmer WW., Grohmann K., Cameron RG. (2007).** Hydrolysis of grapefruit peel waste with cellulase and pectinase enzymes. *Bioresource Technology*, 98 : 1596–1601.
- Goula AM., Konstantinos G., Adamopoulos. (2005).** Spray drying of tomato pulp in dehumidified air: II. The effect on powder properties. *Journal of Food Engineering*, 66 : 35–38.
- Lamberet P., Richelle M., Karlheinz B., Franceschi F., Giori AM. (2009).** Improving the stability of lycopene Z-isomers in isomerised tomato extracts. *Food Chemistry* , 112 : 156–161.

- Goula AM., Karapantsios TD., Achilias DS., Adamopoulos KG. (2008).** Water sorption isotherms and glass transition temperature of spray dried tomato pulp. *Journal of Food Engineering* , 85 : 73–83.
- De los R., Heredia A., Fito P., Andres A. (2007).** Dielectric spectroscopy of osmotic solutions and osmotically dehydrated tomato products *Journal of Food Engineering* , 80 : 1218–1225.
- Dai JSY., Yukio K., Mittal G., Jun Xue S. (2008).** Effect of heating and exposure to light on the stability of lycopene in tomato puree. *Food Control* , 19 : 514–520.
- Gio vanelli G., Zanoni B., Lavelli V., Nani Rr. (2002).** Water sorption, drying and antioxidant properties of dried tomato products. *Journal of Food Engineering*, 52 : 135–141.
- Heredia A., Barrera C., Andres A. (2007).** Drying of cherry tomato by a combination of different dehydration techniques. Comparison of kinetics and other related properties. *Journal of Food Engineering* . 80 : 111-118.
- Sogi DS., Shivhare US., Garg SK., Bawa AS. (2003).** Water Sorption Isotherm and Drying Characteristics of Tomato Seeds. *Biosystems Engineering*, 84 (3) : 297–301.
- Kaur D., Wani A.A., Sogi D.S., Shivhare U.S. (2006).** Sorption Isotherms and Drying Characteristics of Tomato Peel Isolated from Tomato Pomace. *Drying Technology*, 24 : 1515–1520.
- Zanoni B., Peri a C., Nani b R., Lavelli a V. (1999).** Oxidative heat damage of tomato halves as affected by drying. *Food Research International*, vol. 31, 5 : 395-401.
- Baysal T., Ersus S., Starmans D.(2000).** Supercritical CO<sub>2</sub> extractions of b-carotene and lycopene from tomato paste waste. *J. Agric. Food Chem.* 48 : 5507–5511.
- Pani P., Avitabile Leva A., Marco Riva B., Maestrelli A., Torreggiani D. (2008).** Influence of an osmotic pre-treatment on structure-property relationships of air-dehydrated tomato slices. *Journal of Food Engineering* ,86 : 105–112.
- Osorio C., Franco MS., Castaño MP., González-Miret ML., Heredia FJ., Morales AL. (2007).** Colour and flavour changes during osmotic dehydration of fruits. *Innovative Food Science and Emerging Technologies* , 8 : 353–359.
- Çinar, I. (2005).** Effects of cellulase and pectinase concentrations on the colour yield of enzyme extracted plant carotenoids. *Process Biochemistry*, 40 : 945–949.
- Periago MJ., Rincoan F., Aguera MD., Ros G. (2004).** Mixture Approach for Optimizing Lycopene Extraction from Tomato and Tomato Products *J. Agric. Food Chem.* 52: 5796-5802.
- Hernandez M., Rodriguez E., Diaz C. (2007).** Free hydroxycinnamic acids, lycopene, and color parameters in tomato cultivars. *J. Agric. Food Chem*, 55, 8604–8615.
- Fish W., Perkins-Veazie P., Collins JK. (2002).** A Quantitative Assay for Lycopene That Utilizes Reduced Volumes of Organic Solvents. *Journal of food composition and analysis*, 15 : 309 – 317.
- Gómez-Prieto MS., Caja MM., Santa-María G. (2002).** Solubility in Supercritical Carbon Dioxide of the Predominant Carotenes of Tomato Skin. *JAOCS*, vol. 79, 9 : 336-341.



- Montesano D., Fallarino F., Cossignani L., Bosi A., Simonetti MS., Puccetti P., Damiani P. (2008).** Innovative extraction procedure for obtaining high pure lycopene from tomato. *Eur Food Res Technol*, 226 : 327–335.
- Kassamaa LK., Shi J., Gauri SM. (2007).** Optimization of supercritical fluid extraction of lycopene from tomato skin with central composite rotatable design model. *Separation and Purification Technology* xxx (2007) xxx–xxx 7 pages.
- Vaughn Katherine LS., Clausen Edgar C., King Jerry W. , Howard Luke R., Carrier DJ. (2008).** Extraction conditions affecting supercritical fluid extraction (SFE) of lycopene from watermelon. *Bioresource Technology*, 99 : 7835–7841
- Vasapollo G., Longo L., Rescio L., Ciurlia L. (2004).** Innovative supercritical CO<sub>2</sub> extraction of lycopene from tomato in the presence of vegetable oil as co-solvent. *J. of Supercritical Fluids* 29 : 87– 96.
- Patras A., Brunton N., Da Pieve S., Butler F., Teagasc GD., (2008).** Effect of thermal and high pressure processing on antioxidant activity and instrumental colour of tomato and carrot purées Innovative. *Food Science and Emerging Technologies* xxx (2008) xxx–xxx.
- Takahashi M., Watanabe H., Junko Kikkawa J., Masaki Ota M., Watanabe M., Sato Y., Inomata H., Sato N. (2006).** Carotenoids Extraction from Japanese Persimmon (Hachiyakaki) Peels by Supercritical CO<sub>2</sub> with Ethanol. *Analytical Sciences*, vol. 22 : 1441-1447.
- Ruiz del Castillo ML., Gómez-Prieto MS., Herraiz M., Santa-María G.(2003).** Lipid Composition in Tomato Skin Supercritical Fluid Extracts with High Lycopene Content. *JAOCS*, vol. 80, 3 : 271- 274.
- Rozzi NL., Singh RK., Vielring RA., Watkins BA. (2002).** Supercritical Fluid Extraction of Lycopene from Tomato Processing Byproducts. *J. Agric. Food Chem.* 50 : 2638 - 3643
- Jannat M., Gutierrez R., Luque de Castro MD. (2003).** Lycopene: The need for better methods for characterization and determination. *Trends in Analytical Chemistry*, 26 : 266 -269.
- Chasse GA., Mak ML., Deretey E., Farkas I., Torday LL., Papp J G (2001).** An ab initio computational study on selected lycopene isomers. *Theochem*, 571 : 27–37.
- Humayoun MA., Bryan M. (2008).** Extraction and quantification of major carotenoids in processed foods and supplements by liquid chromatography. *Food Chemistry* 111 : 255–261.
- Yoon S.H., Lee Y.M., Kim J.E., Lee S.H., Lee J.H., Kim J.Y., Jung K.H., Shin Y.C., Keasling J.D., Kim S.W. (2006).** Enhanced lycopene production in *Escherichia coli* engineered to synthesize isopentenyl diphosphate and dimethylallyl diphosphate from mevalonate. *Biotechnol. Bioeng.* 94 (6) : 1025–1032.
- Fernandez-Ruiz, V., Sanchez-Mata, M. C., Camara, M., Torija, M. E., Chaya, C., Galiana-Balaguer, L., Rosello, S., and Nuez, F. (2004).** Internal quality characterization of fresh tomato fruits. *Hortscience* 39(2), 339-345.
- Ollanketo M., Hartonen K., Riekkola M.L., Holm Y. Hiltunen R. (2001).** Supercritical carbon dioxide extraction of lycopene in tomato skins. *Eur Food Res Technol*, 212 : 561–565.

- Jeevarajan AS., Wei CC., Kispert LD. (1994).** Geometrical isomerization of carotenoids in dichloromethane. *Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions, 2* : 861–869.
- Zamora G S., Elhadi M., Brecht JK., Gardea A. (2005).** Effects of postharvest hot air treatments on the quality and antioxidant levels in tomato fruit. *LWT* 38 : 657–663.
- Gordon E., Diane M., Barrett. (2002).** Potential and Limitations for Determining Lycopene in Tomatoes by Optical Methods. *Food Chem*, 50 : 2638–2643.
- Calvo MM., Dado D., Santa-Maria G. (2007).** Influence of extraction with ethanol or ethyl acetate on the yield of lycopene, b-carotene, phytoene and phytofluene from tomato peel powder. *European Food Research and Technology*, 224 : 567–571.
- Kerkhofs NS., Lister CE., Savage GP.(2005).** Change in Colour and Antioxidant Content of Tomato Cultivars Following Forced-Air Drying. *Plant Foods for Human Nutrition*, 60: 117–121.
- Sandei L., Pieracci V., Maselli A., Visentini G., Leoni C. (2007).** Instrumental Measurement of Colour and Lycopene in Tomato and Products. Proc. Xth IS on the Processing Tomato Eds.: A. B Chir and S. Colvine *Acta Hort.* 758, ISHS 2007.
- Yu-Jie F., Wei L., Yuan-Gang Z., Mei-Hong T., Shuang-Ming L., Ming-Ming Y., Efferth T., Hao Luo. (2008).** Enzyme assisted extraction of luteolin and apigenin from pigeonpea. *Food Chemistry*, 111 : 508–512.
- Sheetal M., Choudhari LA. (2007).** Enzyme aided extraction of lycopene from tomato tissues. *Food Chemistry*, 102 : 77–81.
- Lavecchia R., Zuurro A. (2008).** Improved lycopene extraction from tomato peels using cell-wall degrading enzymes. *Eur Food Res Technol* : 5 pages.
- Olives Barba A.I., Camara Hurtado M., Sanchez Mata M.C., Fernandez Ruiz M., Lopez Saenz de Tejada. (2006).** Application of a UV–Vis detection-HPLC method for a rapid determination of lycopene and b-carotene in vegetables *Food Chemistry*, 95 : 328–336.
- Pol., Hyotylainen T., Aho OR., Riekkola ML. (2004).** Determination of lycopene in food by on-line SFE coupled to HPLC using a single monolithic column for trapping and separation. *Journal of Chromatography A*, 1052 : 25–31.
- Roldan-Gutierrez JM., Luque de Castro MD. (2007).** Lycopene: The need for better methods for characterization and determination. *Trends in Analytical Chemistry*, vol. 26, 2 : 163-169.
- Seo JS., Burrib BJ., Quan Z., Neidlinger TR. (2005)** Extraction and chromatography of carotenoids from pumpkin. *Journal of Chromatography A*, 1073 : 371–375.
- Choudhary R., Bowsera TJ., Weckler P., Manessb NO., McGlynnb W. (2008).** Rapid estimation of lycopene concentration in watermelon and tomato puree by fiber optic visible reflectance spectroscopy. *Postharvest Biology and Technology* xxx (2008) xxx–xxx.
- Da vis AR., Fish WW., Perkins-Veazie P. (2003).** A rapid spectrophotometric method for analyzing lycopene content in tomato and tomato products. *Postharvest Biology and Technology*, 28 : 425-430.
- Bhatia P., Ashwath N., Senaratna T., Midmore D. (2004).** Tissue culture studies of tomato (*Lycopersicon esculentum*). *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 78 : 1–21.

- Shi J, Le Maguer M, Bryan M (2002).** Lycopene from tomatoes. In: Shi J, Le Maguer M, Mazza G. Functional foods. *CRC Press, Boca Raton* : 135–167.
- Grohman K., Baldwin E. A. (1992).** Hydrolysis of orange peel with pectinase and cellulase enzymes. *Biotechnology Letters*, 14 : 1169–1174.
- Georgelis N., Scott JW., Baldwin EA . (2006).** Inheritance of high sugars from tomato accession PI 270248 and environmental variation between seasons. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 131: 41-45.
- Ishida B.K., Chapman A.H. (2009).** Carotenoid Extraction from Plants Using a Novel, Environmentally Friendly Solvent. *J. Agric. Food Chem*; 57 : 1051–1059.
- Shi J., Yi C., Jun Xue S., Jiang Y., Mac Y., Li D. (2008).** Effects of modifiers on the profile of lycopene extracted from tomato skins by supercritical CO<sub>2</sub>. *Journal of Food Engineering*, 93 : 431–436.
- Catala C, Rose JKC, Bennett AB . (2000).** Auxin-Regulated Genes Encoding Cell Wall-Modifying Proteins Are Expressed during Early Tomato Fruit Growth. *Plant Physiol.* 122 : 527-534.
- Hyardin A., Astier C., L. Méjean L. ( 2008).** La fonctionnalité de l'aliment : un concept défini. *Médecine des maladies Métaboliques* , Vol. 2 - N°4 : 349 – 353.
- Leccia MT. (2008).** Antioxydants et photoprotection : prudence. *Annales de dermatologie et de vénéréologie*. doi:10.1016/j.annder :7-10.
- Ferrari CKB. (2007).** Functional foods and physical activities in health promotion of aging people. *Maturitas (the European Menopause Journal)*, 58 : 327–339.
- Mente A., Koning L., Shannon H.S., Arnand SS. (2009).** A Systematic Review of the Evidence Supporting a Causal Link Between Dietary Factors and Coronary Heart Disease. *Archives of Internal Medicine*. Vol 169, N° 7 : 659-666
- Stahl W., Sies H. (2004).** Bioactivity and protective effects of natural carotenoids. *Biochemica et Biophysica Acta* xx (2004) xxx–xxx.
- Kushi LE., Lenart EB., Willet WC. (1995).** Health implications of Mediterranean diets in the light of contemporary knowledge. I. Plant foods and dairy products. *American Journal of Clinical Nutrition*, 61(Suppl. 6) : 1407S–1415S.
- Nguyen M. L., Schwartz S.J. (1999).** Lycopene: Chemical and biological properties. *Food Technology*, 53 : 38–53.
- Hertog MGL., Hollman PCH., Katan MB. (1992).** Content of potentially anticarcinogenic flavonols of 28 vegetables and 9 fruits commonly consumed in the Netherlands. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 40 : 2379–2383.
- King AJ., Zeidler G. (2004).** Tomato pomace may be a good source of vitamin E in broiler diets. *California Agriculture*, 58 : 59–62.
- Al-Wandawi H., Abdul-Rahman M., Shaikhly K. (1985).** Tomato processing wastes as essential raw material sources. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 33 : 804–807.
- Stewart AJ., Bozonnet S., Mullen W., Jenkins GI., Lean MEJ., Crozier A. (2000).** Occurrence of flavonols in tomatoes and tomato-based products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48 : 2663–2669.

- George B., Kaur C., Khurdiya DS., Kapoor HC. (2004).** Antioxidants in tomato (*Lycopersicon esculentum*) as a function of genotype. *Food Chemistry*, 84 : 45–51.
- Peschel W., Sanchez-Rabaneda F., Diekmann W., Plescher A., Gartz#a I., Jimenez D., Lamuela-Raventos R., Buxaderas S.(2006).** An industrial approach in the search of natural antioxidants from vegetable and fruit wastes. *Food Chemistry* , 97 : 137–150
- Ornella M. Porcu DB., Rodriguez-Amaya. (2008).** Variation in the Carotenoid Composition of the Lycopene-Rich Brazilian Fruit *Eugenia uniflora* L. *Plant Foods Hum Nutr* , 63 : 195–199.
- Chaveron H. (1999).** Molécules toxiques. Molécules formées au cours des réactions d'oxydation. In : Chaveron H, ed. *Introduction à la toxicologie nutritionnelle*. Londres : Tec Et Doc : 175-83.
- Penfield MP., Campbell AM. (1990).** Fats and their lipids constituents. Chemical reactions of lipids. In : Penfield MP, Campbell AM. eds. *Experimental food science*, 3e ed. San Diego : *Academic Press*, 1990 : 340-7.
- Piretti MV., Cavani C., Zeli F. ( 1978).** « Mechanism of the formation of hydroperoxides from methyl oleate ». *Rev.Fse Corps Gras* 25(2) : 73-79.
- Judde A. (2004).** « Prévention de l'oxydation des acides gras dans un système cosmétique : mécanismes, conséquences, moyens de mesure, quels antioxydants pour quelles applications ? ». *OCL* 11 (6) : 414-418.
- Rolland Y. (2004).** Antioxydants naturels végétaux .OCLVol. 11 N° 6 : 419 - 424.
- Marc F., Davin A., Deglène-Benbrahim L., Ferrand C., Baccaunaud M., Fritsch P. (2004).** Méthodes d'évaluation du potentiel antioxydant dans les aliments. *Medecine/ Sciences*; 20 : 458 - 463.
- Rahmani M. (2007).** Méthodes d'évaluation de la stabilité oxydative des lipides. *Les Technologies de laboratoire*, 2 : 18-21.
- Gray J.I. (1978).** « Measurement of lipid oxidation : A review ». *J.AO.C.S.* 55 (6) : 539-546.
- Gordon MH. (1990).** The mechanism of antioxidant action *in vitro*. In : Hudson BJB, ed. *Food antioxidants*. Amsterdam : Elsevier : 1-18.
- Pelli K., Lyly M. ( 2003).** Les antioxydants dans l'alimentation. *VTT Biotechnology Consommateurs* N° 3 : 28 pages.
- Nicholas J., Miller A., Sampson JA, Luis P. Candeias B., Peter M., Bram ley C., Catherine A., Rice-Evans A. (1996).** Antioxidant activities of carotenes and xanthophylls. *FEBS Letters* 384 : 240-242.
- Rialland JP. (1972).** « Proposition d'amélioration du test accéléré d'oxydation. Application aux suifs de boeuf ». *Rev.Fse Corps Gras* 1 : 37-42.
- Fujisawa., A. Ishihara YK. (2004).** kinetics of the radical scavenging activity of #-carotene-related compounds. SAR and QSAR *in Environmental Research*, Vol. 15 (1) : 33–41.
- Cao G., Verdon CP., Wu AH. (1995). Automated assay of oxygen radical absorbance capacity with the COBAS FARA II. *Clin Chem*; 41:1738-44.

- Antonio Jimenez-Escrig A., Jimnez-Jimenez I., Sanchez-Moreno C., Saura-Calixto .(2000).**Evaluation of free radical scavenging of dietary carotenoids by the stable radical 2,2- iphenyl-1-picrylhydrazyl. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 80 : 1686 - 1690.
- Deneka N., Canb A. (2006).** Feeding value of wet tomato pomace ensiled with wheat straw and wheat grain for Awassi sheep. *Small Ruminant Research*, 65 : 260–265.
- Ben Salem H., Znaidi IA. (2007).** Partial replacement of concentrate with tomato pulp and olive cake-based feed blocks as supplements for lambs fed wheat straw *Animal Feed Science and Technology* ANIFEE-11869 : 17 pages.
- Knoblich M., Anderson B., Latshaw D. (2005).**Analyses of tomato peel and seed byproducts and their use as a source of carotenoids. *Journal of the Science of Food and Agriculture* , 85 : 1166–1170.
- Bourre JM. (2005).** L'œuf naturel Multi-enrichi : des apports élevés en nutriments, notamment acides gras oméga-3, en vitamines, minéraux et caroténoïdes. *Medecine et Nutrition*. Vol 41, N°3 : 116 - 125.
- Sahin N., Akdemir F., Orhan C., Kucuk O., Hayirli A., Sahin K. (2008).** Lycopene-enriched quail egg as functional food for humans. *Food Research International* : 6 pages.
- Montesano D., Cossignani L., D'Arco G., Simonetti MS., Damiani P. (2006).** Pure Lycopene from Tomato Preserves Extra Virgin Olive Oil from Natural Oxidative Events During Storage. *JAOCS*, Vol. 83, N° 11 : 933-941.
- Salta FN., Mylona A., Chiou A., Boskou G., Andrikopoulos NK. (2007).** Oxidative Stability of Edible Vegetable Oils Enriched in Polyphenols with Olive Leaf Extract. *Food Science and Technology International*. 13 : 413
- Mansoori B., Modirsanei M., Radfar M., Kiaei MM., Farkhoy M., Honarзад J. (2008).**Digestibility and metabolisable energy values of dried tomato pomace for laying and meat type cockerels. *Animal Feed Science and Technology*, 141 : 384 – 390.
- Donald F., Steenson W., David B. (2000).**Effects of #-Carotene and Lycopene Thermal Degradation Products on the oxidative Stability of Soybean Oil. *JAOCS*, Vol. 77, No. 11: 1153- 1160.
- Caitlin S., Xu Z., Yue X., Mc Clements JD., Weiss J., Eric A. (2008).** Factors Affecting Lycopene Oxidation in Oil-in-Water Emulsions. *Agric. Food Chem*, 56 : 1408–1414
- Reboul E., Borel P., Mikail C., Abou L ., Charbonnier M., Caris-Veyrat C., Goupy P., Portugal H., Lairon D., Amiot MJ. (2005).**Enrichment of Tomato Paste with 6% Tomato Peel Increases Lycopene and #-Carotene Bioavailability in Men. *American Society for Nutritional Sciences* :790 – 794.
- Sánchez MC., Valence C., Ciruelos A., Latorre A., Gallegos C. (2006).** Propriétés rhéologiques de sauce tomate : Influence de l'addition de la boue de tomate. *Trends in Food and Technology*, 16 : 344-350.
- Calvo MM., Garcia ML., Selgas MD. (2008).** Dry fermented sausages enriched with lycopene from tomato peel. *Meat Science* , 80 : 167–172.

- Sanchez-Escalante A., Torrescano G., Djenane D., Beltran JA., Roncales P. (2003).** Stabilisation of colour and odour of beef patties by using lycopene-rich tomato and peppers as a source of antioxidants. *J Sci Food Agric*, 83: 187 – 194.
- Chen J., Shi J., Jun Xue S., Mac Y. (2008).** Comparison of lycopene stability in water- and oil-based food model systems under thermal- and light-irradiation treatments *LWT - Food Science and Technology*: 1–8.
- Montenegro MA., Nunes IL., Mercadante AZ., Ercadante ., Claudio D. Borsarelli CD. (2007).** Photoprotection of Vitamins in Skimmed Milk by an Aqueous Soluble Lycopene-Gum Arabic Microcapsule. *J. Agric. Food Chem*, 55 : 323-329.
- Viljanena K., Sundberg S., Ohshimab T., Heinonen M. (2002).** Carotenoids as antioxidants to prevent photooxidation. *Eur. J. lipid Sci. Technol.* 104 (2002) 353-359.
- Encinar JM., González JF., Gloria Martínez G. (2008).** Energetic use of the tomato plant waste. *Fuel Processing Technology*, 89 : 1193 – 1200.
- Waterman P G., Mole S. (1994).** Analysis of phenolics plant metabolites. Oxford: Blackwell Scientific Publication, pp. 83–91.
- Rodriguez-Amaya, D. B. (2001).** A guide to carotenoid analysis in foods. Washington, DC: ILSI Press, pp. 1–64.
- Soto-Zamora, G., Yahia, E. M., Brecht, J. K., & Gardea, A. (2005). Effects of Postharvest hot air treatments on the quality and antioxidant levels in tomato fruit. *Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie*, 38 : 657–663.
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E., & Berset, C. (1995).** Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie*, 28, 25–30.
- Arnous A., Petrakis C., Makris DP., Kefalas P.(2003).** A peroxyoxalate chemiluminescence-based assay for the evaluation of hydrogen peroxide scavenging activity employing 9,10-diphenylanthracene as the fluorophore. *Journal of Pharmacological and Toxicological Methods*, 48, 171–177.
- Toor R K., Savage G P. (2005).** Antioxidant activity in different fractions of tomatoes. *Food Research International*, 38 : 487– 494.
- Sharma S K., Le Maguer M. (1996).** Lycopene in tomatoes and tomato pulp fractions. *Italian Journal of Food Science*, 8 : 107– 113.
- Codex Standard for Named Vegetable Oils. (2001).** Codex Standard 210- 1999. Codex Alimentarius, 8.
- Borel P., Grolier P., Armand, M., Partier A., Lafont, H., Lairon D. (1996).** Carotenoids in biological emulsions: Solubility, surfacetocore distribution, and release from lipid droplets. *Journal of Lipid Research*, 37, 250–261.
- Mortensen A., Skibsted LH., Trusco TG.(2001)** The interaction of dietary carotenoids with radical species. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 385 :13 – 19.
- Eichler O., Sies H., Stahl W. (2002).** Divergent optimum levels of lycopène. #-carotène and lutein protectind against UVB irradiation in human fibroblasts. *Photochemistry and photobiology*, 75 (5) : 503 - 506.
- Beutner S., Bloedorn B., Frixel S., Hernandez Blanco I., Hoffmann T., Martin HD., Mayer B., Noack P., Ruck C., Schmidt M., Schulke I., Sell S., Ernst H., Haremza**

- S., Seybold G., Sies H. (2001).**Quantitative assessment of antioxidant properties of natural colorants and phytochemicals: carotenoids, flavonoids, phenols and indigoids. The role of  $\beta$ -carotene in antioxidant functions. *J. Sci Food Agric* 81 : 559-568.
- Krinsky N I. (1993).**Actions of carotenoids in biological systems. *Annual Review of Nutrition*, 13 : 561–587.
- Fakourelis N., Lee E. C., Min D B. (1987).**Effects of chlorophyll and  $\beta$ -carotene on the oxidation stability of olive oil. *Journal of Food Science*, 52 : 234–235.
- Filippo Rossi F., Godani F., Bertuzzi T., Trevisan M., Ferrari F., Gatti S. (2008).**Health-promoting substances and heavy metal content in tomatoes grown with different farming techniques. *Eur J Nutr*47:266–272.
- Terao J., Yamauchi R., Murakami H., Matsushita S. (1980).**Inhibitory photooxidation of methyl linoleate and soybean oil. *Journal of Food Processing and Preservation*, 4 : 79–93.
- Suzuki, T., Usuki, R., & Kaneda, T. (1989).**The role of carotenoids in the oxidative deterioration of edible oils. *Journal of Japan Oil Chemists Society*, 38, 486–491.
- Bovy A., Schijlen E., D. Hall R.(2007).** Metabolic engineering of flavonoids in tomato (*Solanum lycopersicum*) : the potential for metabolomics. *Metabolomics*, 3 : 399 – 412.
- Shixian Q., Dai Y., Kakuda Y., Shi J., Mittal G., Yeung D.(2005).**Synergistic anti-oxidative effects of lycopene with other bioactive compounds. *Food Reviews International*, 21: 295–311.
- Martinez-Valverde I., Periago M J., Provan G., Chesson A. (2002).**Phenolic compounds, lycopene and antioxidant activity in commercial varieties of tomato (*Lycopersicon esculentum*). *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 82 : 323 – 330.
- Pavanato MA., Marroni NP. (2007).** Quercetin prevents oxidative stress in cirrhotic rats. *Dig Dis Sci*, 52 : 2616 - 2621.
- Xianquan S., Shi J., Kakuda Y., Yueming J. (2005).** Stability of lycopene during food processing and storage. *Journal of Medicinal Food*, 8 : 413–422.
- Aparicio, R., Roda, L., Albi, M. A., & Gutierrez, F. (1999).**Effect of various compounds on virgin olive oil stability measured by rancimat. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47, 4150–4155.
- Beecher, G. R. (1998).**Nutrient content of tomatoes and tomato products. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine*, 218 :98–100
- Stahl W., Sies H. (2007)** Carotenoids and flavonoids contribute to nutritional protection against skin damage from sunlight. *Mol Biotechnol*, 37 : 26-30.
- Arabbi P R., Genovese M I., Lajolo F M. (2004).**Flavonoids in vegetable foods commonly consumed in Brazil and estimated ingestion by the Brazilian population. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*,52, 1124–1131.
- Miranda, C. L., Stevens, J. F., Ivanov, V., McCall, M., Frei, B., Deinzer, M. L., et al. (2000).**Antioxidant and prooxidant actions of prenylated and nonprenylated chalcones and flavanones in vitro. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48, 3876–388.

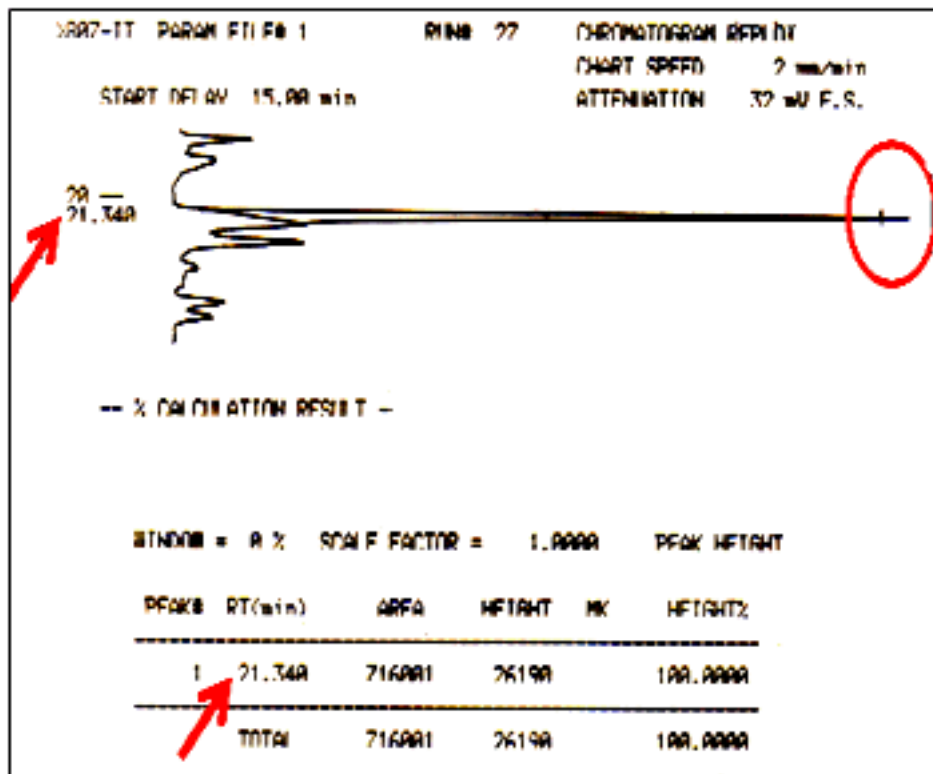
## Annexes

### Annexe 1 : Composition du régime Rationnelle (ONAB)

Caractéristiques	Composition
Au minimum	
Energie digestible	3000 / kg kcal
Protéines brutes	22%
ENA	38%
<b>Matière grasse</b>	<b>3%</b>
Calcium	1%
phosphore	0,6%
Au maximum	
Humidité	14%
Cellulose	4%
Matière minérale	6%
Vitamines / 100kg	
Vit A	1230000 UI
Vit D <sub>3</sub>	205000 UI
Vit B <sub>1</sub>	150 mg
Vit B <sub>2</sub>	500 mg
Vit B <sub>3</sub>	1000 mg
Vit B <sub>6</sub>	500 mg
Vit B <sub>12</sub>	02 mg
Vit E	2000 mg
Acide folique	100 mg
Oligo-éléments /100kg	
Fer	7600 mg
Cuivre	760 mg
Zinc	4600 mg
Cobalt	90 mg
Sélénium	03 mg
Iode	98 mg
Magnesium	2500 mg
Manganèse	4600 mg
Soufre	4700 mg
Supplémentations	
Antibiotique	Flavomycine 2 ppm
Acide aminé	DL-Metionine 0,1%
Antioxydant	BHT 125 ppm

### Annexe 2 : Chromatogramme du lycopène des pelures de tomates lyophilisées, quantifié par HPLC à 472 nm





### Annexe 3 : Courbes d'étalonnage du lycopène par HPLC et par spectrophotométrie.

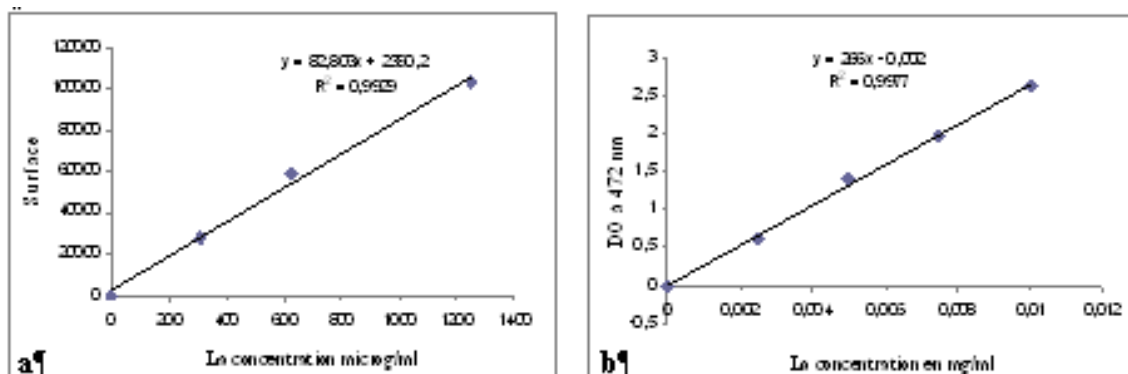


Figure 15 : Courbe d'étalonnage du lycopène par HPLC (a) et par spectrophotométrie (b)

## Annexe 4 : Chromatogramme HPLC de la concentration en lycopène sérique chez le rat dulot 3 (A) et du lot 4 (B).

