



HAL
open science

Stabilité de microconstituants de la tomate (composés phénoliques, caroténoïdes, vitamines C et E) au cours des procédés de transformation : études en systèmes modèles, mise au point d'un modèle stoechio-cinétique et validation pour l'étape unitaire de préparation de sauce tomate

Céline Chanforan

► **To cite this version:**

Céline Chanforan. Stabilité de microconstituants de la tomate (composés phénoliques, caroténoïdes, vitamines C et E) au cours des procédés de transformation : études en systèmes modèles, mise au point d'un modèle stoechio-cinétique et validation pour l'étape unitaire de préparation de sauce tomate. Autre. Université d'Avignon, 2010. Français. NNT : 2010AVIG0241 . tel-00581598v2

HAL Id: tel-00581598

<https://theses.hal.science/tel-00581598v2>

Submitted on 31 Mar 2011

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

THESE

présentée pour obtenir le grade de Docteur en Sciences
de l'Université d'Avignon et des Pays de Vaucluse

SPECIALITE : CHIMIE

**Stabilité de microconstituants de la tomate (composés
phénoliques, caroténoïdes, vitamines C et E) au cours des
procédés de transformation : études en systèmes modèles, mise au
point d'un modèle stoechio-cinétique et validation pour l'étape
unitaire de préparation de sauce tomate**

par Céline CHANFORAN

soutenue le 17 septembre 2010 devant un jury composé de

Mme MAILLARD Marie-Noëlle	Professeur, AgroParisTech Massy	Rapporteur
M. GUYOT Sylvain	Chargé de Recherche, INRA	Rapporteur
Mme BONAZZI Catherine	Chargée de Recherche, INRA	Examineur
M. DANGLES Olivier	Professeur, Université d'Avignon	Examineur
M. GEORGE Stéphane	Chef de projet, CTCPA	Examineur
Mme CARIS-VEYRAT Catherine	Chargée de Recherche, INRA	Directrice de thèse
Mme DUFOUR Claire	Chargée de Recherche INRA	Directrice de thèse

LISTE DES ABREVIATIONS

AA	acide ascorbique
AAPH	2,2'-azo(2-amidinopropane)dihydrochloride
ACHL	acide chlorogénique
AE	efficacité antioxydante
AH	antioxydant
BHT	butylated hydroxytoluène
CAR	caroténoïdes
CLHP	chromatographie liquide haute performante
CPG	chromatographie en phase gazeuse
$d_{[4,3]}$	diamètre de volume
$d_{[3,2]}$	diamètre de surface
DHAA	acide déhydroascorbique
Ea	énergie d'activation
E/H	eau dans huile
E/H/E	eau dans huile dans eau
ERO	espèce réactive de l'oxygène
h	heure
H/E	huile dans eau
H ₂ O ₂	peroxyde d'hydrogène
HDL	lipoprotéine de forte densité (<i>high density lipoprotein</i>)
k	constante de vitesse
kapp	constante de vitesse apparente
kLa	coefficient de transfert de l'oxygène
LDL	lipoprotéine de basse densité (<i>low density lipoprotein</i>)
LH	lipide polyinsaturé
LOH	lipide polyinsaturé alcool
LOOH	lipide polyinsaturé peroxydé
MTBE	éther tert-butylméthylique
m/z	masse/charge
O ₂	oxygène
PC	phosphatidylcholine
PL	phospholipide
PP	composés phénoliques
PRU	prunine
RMN	résonance magnétique nucléaire
RUT	rutine
SDS	sodium dodecyl sulfate
SM	spectrométrie de masse
T	température
TG	triglycéride
TL	trilinoléine
TOCO	α -tocophérol
Tr	temps de rétention
UV	ultraviolet
VLDL	lipoprotéine de très basse densité (<i>very low density lipoprotein</i>)
λ_{\max}	longueur d'onde maximale d'absorption
X [•]	radicaux initiateurs

SOMMAIRE GENERAL

Introduction

Chapitre I

Etat de l'art

Chapitre II

Evolution des microconstituants de la tomate au cours des
procédés de transformation

Chapitre III

Etude de la stabilité de microconstituants dans des systèmes
modèles mimant le procédé industriel de préparation de sauce
tomate à partir de concentré de tomate

Chapitre IV

Mise en place d'un modèle stoechio-cinétique et validation sur
un produit réel

Conclusion

Introduction

De nombreuses études épidémiologiques ont démontré les effets bénéfiques d'un régime riche en fruits et légumes. Ces effets pourraient être en partie dus, aux microconstituants (caroténoïdes, composés phénoliques, vitamines, minéraux, composés soufrés...) contenus dans ces produits. Des effets protecteurs vis-à-vis des maladies cardio-vasculaires et de certains cancers ont été mis en évidence pour certains d'entre eux.

La tomate a été étudiée à de nombreuses reprises. Elle s'est révélée être riche en microconstituants antioxydants, et plus particulièrement, en caroténoïdes. D'après certaines études, une consommation régulière de tomates ou de produits à base de tomates réduirait les risques de cancers, mais également de maladies cardiovasculaires, de diabète et d'ostéoporose.

La transformation de la tomate permet l'élaboration d'une grande diversité de produits qui se retrouvent ensuite disponibles dans le commerce. Les procédés de transformation impliquent un ou plusieurs traitements thermiques susceptibles d'affecter les teneurs en microconstituants et ainsi la qualité nutritionnelle des produits finis. En effet, ces microconstituants sensibles à la chaleur et à la lumière peuvent être partiellement dégradés lors de réactions d'oxydation et/ou d'isomérisation.

Ce travail a été réalisé dans le cadre du projet ANR Réactial qui a pour objet la prédiction et le contrôle de l'apparition ou de la disparition de marqueurs réactionnels au cours de la transformation et de la conservation des aliments. L'objectif principal de ce projet consiste en la mise au point d'une méthodologie ayant pour but de développer des stratégies permettant de préserver au mieux l'intégrité des composés nutritionnels d'un aliment ou favorisant l'apparition de composés néoformés positifs. L'impact de la formulation et des transferts de matière et de chaleur sur les cinétiques réactionnelles seront largement étudiés. L'obtention de données expérimentales synchrones des transferts et des réactions sur plusieurs produits alimentaires permettra une réflexion méthodologique et la mise en place d'outils d'intégration des connaissances et d'aide à la décision. Une approche globale de type « génie de la réaction » permettra de compléter et de fiabiliser les connaissances des mécanismes et des cinétiques réactionnelles, puis de les formaliser et de les modéliser en vue d'optimiser le système produit/procédé. Les trois produits alimentaires retenus dans ce projet sont les suivants: une génoise, un fromage processé et une sauce tomate.

Le projet REACTIAL regroupe un certain nombre de partenaires publics et privés. Les

partenaires publics sont l'UMR Génie Industriel Alimentaire (Massy), l'UMR Science de l'Aliment et de l'Emballage (Massy), l'UR Qualité des Produits Animaux (Theix), le Laboratoire de Génie Chimique (Toulouse), l'UMR Ingénierie des Agropolymères et Technologies Emergentes (Montpellier) et l'UMR Sécurité et Qualité des Produits d'Origine Végétale (Avignon). Les partenaires privés du projet sont les Fromageries Bel (Vendôme), les Moulins Soufflet (Corbeil-Essonnes) et le Centre Technique de la Conservation des Produits Agricoles (Avignon). Un membre individuel, le professeur Tiny Van Boekel (Wageningen, Pays-Bas), a également été associé.

Dans ce contexte, la stabilité des microconstituants de la tomate et l'oxydation des lipides seront évalués en systèmes modèles dans des conditions mimant la préparation de la sauce tomate.

L'originalité de cette étude réside dans la mise au point de milieux modèles permettant un suivi cinétique des différents composés d'intérêt au cours du temps. En effet, la grande majorité des études réalisées jusqu'à présent se sont simplement intéressées aux teneurs en microconstituants dans les produits avant et après le traitement, sans suivre précisément leur évolution au cours du temps. Par ailleurs, les études concernant l'évolution des caroténoïdes de la tomate au cours des procédés de transformation sont nombreuses alors que celles concernant les composés phénoliques sont quasi-inexistantes. Au delà d'une étude impliquant divers microconstituants, l'utilisation de systèmes modèles au sein desquels sont réalisés des suivis cinétiques, complétés par une modélisation aboutissant à la mise en place d'un modèle stoechio-cinétique, font de ce travail un projet innovant.

Ce manuscrit est organisé en quatre chapitres. Le premier sera consacré à un état de l'art exhaustif sur les microconstituants de la tomate et l'impact des procédés de transformation sur leur teneur au sein des produits à base de tomate. Dans un second chapitre, les analyses qualitatives et quantitatives réalisées sur divers produits à base de tomate seront présentés. L'analyse de produits fournis par des usines, récoltés en entrée et en sortie de process, permettront de formuler des hypothèses concernant la stabilité des microconstituants. D'autres part, les marqueurs de la qualité nutritionnelle des produits à base de tomate seront sélectionnés grâce à ces analyses. Ceux-ci seront étudiés au sein de systèmes modèles présentés dans le chapitre III. Ce chapitre

présente la mise au point des milieux modèles ainsi que l'évolution des marqueurs dans ces milieux soumis à des températures proches de celles appliquées lors de la préparation des produits à base de tomate. Enfin, un dernier chapitre est consacré à la modélisation mathématique des données obtenues en milieux modèles. Un essai de validation, au cours duquel un suivi des marqueurs dans une sauce réelle a été réalisé au laboratoire, vient compléter ce chapitre.

Chapitre I

Etat de l'art

SOMMAIRE

I. IMPORTANCE D'UN REGIME RICHE EN MICROCONSTITUANTS.....	9
I.1. LES MICROCONSTITUANTS VEGETAUX APPORTES PAR L'ALIMENTATION	10
I.1.1. Les caroténoïdes	10
I.1.2. Les composés phénoliques	13
I.1.3. La vitamine E et ses dérivés	21
I.1.4. La vitamine C	23
I.2. OXYDATION DES LIPIDES ET EFFETS PROTECTEURS DES MICROCONSTITUANTS.....	25
I.2.1. Les lipides alimentaires	25
I.2.2. Les mécanismes généraux de l'oxydation des lipides insaturés.....	30
I.2.3. Les effets protecteurs des microconstituants vis-à-vis de l'oxydation lipidique.....	36
I.3. LES MICROCONSTITUANTS DANS L'ORGANISME	44
I.3.1. Ingestion et absorption des microconstituants d'origine alimentaire.....	44
I.3.2. Implication des microconstituants dans le système de défense antioxydante in vivo	48
I.3.3. Implication des microconstituants dans la prévention de cancers.....	51
II. LA TOMATE, UN PRODUIT AUX QUALITES NUTRITIONNELLES	
AVEREES	54
II.1. GENERALITES	54
II.1.1. Histoire.....	54
II.1.2. Culture et conditions de récolte de la tomate	54
II.1.3. Contexte économique.....	55
II.2. STRUCTURE ET COMPOSITION	57
II.3. LES MICROCONSTITUANTS ANTIOXYDANTS DE LA TOMATE	60
II.3.1. Les caroténoïdes.....	60
II.3.2. Les composés phénoliques.....	64
II.3.3. Les vitamines	68
III. IMPACT DES PROCEDES DE TRANSFORMATION ET DE LA	
CONSERVATION SUR LA QUALITE NUTRITIONNELLE DES PRODUITS A BASE	
DE TOMATE.....	71
III.1. LES PROCEDES DE TRANSFORMATION INDUSTRIELS	71
III.1.1. De la tomate au concentré.....	71
III.1.2. Utilisation du concentré pour la préparation d'autres produits	72
III.2. EFFETS DES PROCEDES DE TRANSFORMATION	72
III.2.1. Impact sur la matrice alimentaire	72
III.2.2. Evolution des microconstituants au cours des procédés	73
III.2.3. Les procédés de transformation peuvent-ils avoir un effet bénéfique sur la qualité nutritionnelle des produits ?.....	78
III.3. EVOLUTION DES PRODUITS AU COURS DE LA CONSERVATION	81
III.4. LES PROCEDES INNOVANTS	83
III.4.1. Les procédés "hautes pressions"	83
III.4.2. Les champs électriques pulsés	83
III.4.3. Les micro-ondes.....	84
III.4.4. Le chauffage ohmique	84
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	85

I. Importance d'un régime riche en microconstituants

De nombreuses études épidémiologiques ont démontré les effets nutritionnels bénéfiques d'un régime riche en fruits et légumes. Consommés en quantités importantes, ils seraient associés à une réduction des risques de maladies cardio-vasculaires et de certains cancers. Ces bienfaits sont attribués à une teneur élevée en antioxydants.

Un antioxydant se définit comme une substance qui, quand elle est présente en faible concentration par rapport à celles de substrats oxydables, retarde significativement ou prévient l'oxydation de ce substrat (1). Les substrats oxydables peuvent être des lipides, des protéines, des glucides ou des acides nucléiques. Parmi les antioxydants d'origine alimentaire, on retrouve les micronutriments dont les bénéfices nutritionnels sont avérés et qui font l'objet d'apports journaliers recommandés. Les vitamines, le β -carotène, ainsi que certains oligo-éléments font parti de cette classe. Le terme "microconstituants" désigne les éléments apportés par l'alimentation dans la limite de 1 g par jour. Il englobe ainsi les micronutriments et les composés antioxydants ou non, dont la valeur nutritionnelle n'a pas encore été clairement établie. Les composés phénoliques ainsi que le lycopène sont, par exemple, des microconstituants antioxydants.

Dans ce manuscrit, les composés antioxydants provenant de l'alimentation seront désignés par le terme de "microconstituants".

I.1. Les microconstituants végétaux apportés par l'alimentation

Un régime alimentaire équilibré apporte une grande variété de microconstituants d'origine animale et végétale. Nous nous intéresserons essentiellement aux microconstituants d'origine végétale, présents en abondance dans l'alimentation méditerranéenne.

I.1.1. Les caroténoïdes

Les caroténoïdes sont des métabolites secondaires, c'est-à-dire des composés synthétisés par les végétaux et ainsi nommés car supposés ne pas avoir un rôle essentiel dans leur métabolisme.

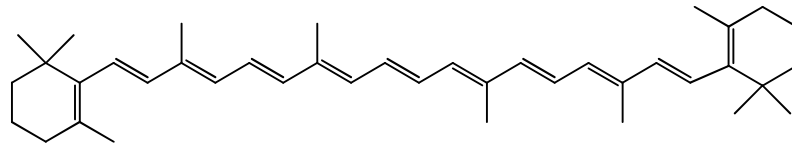
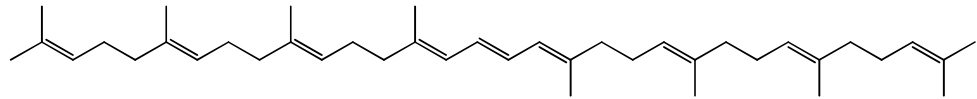
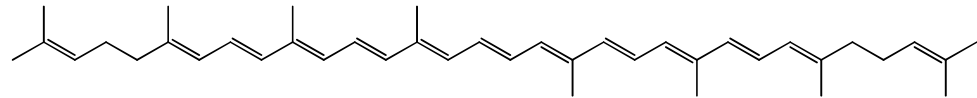
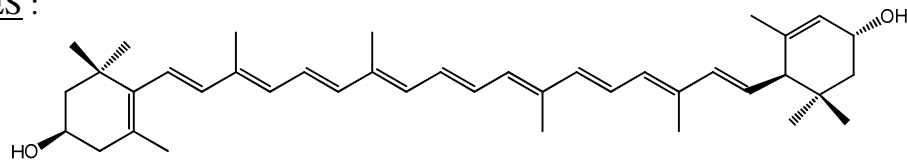
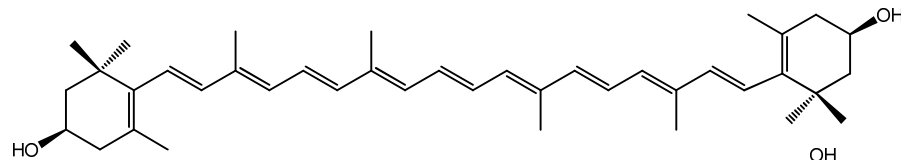
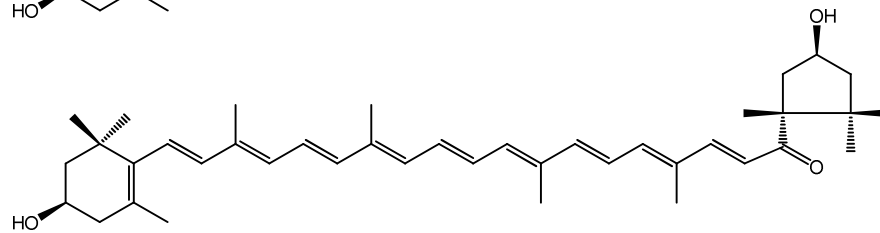
I.1.1.1. Structure chimique (2)

Les caroténoïdes rassemblent plus de 600 composés, appartenant à la famille chimique des terpénoïdes, dont le point commun est une longue chaîne polyénique comportant en moyenne 11 doubles liaisons conjuguées. Ils regroupent deux classes de composés : les carotènes et les xanthophylles.

Les carotènes sont des hydrocarbures polyéniques à 40 atomes de carbones (C_{40}), tandis que les xanthophylles comprennent au moins une fonction oxygénée (hydroxyle, époxyde, carbonyle ou carboxyle). La majorité des caroténoïdes appartiennent à cette dernière classe. Quelques caroténoïdes présents dans l'alimentation sont représentés sur la Figure I-1.

Grâce à leur chaîne polyénique conjuguée, qui agit comme un chromophore, les caroténoïdes sont souvent responsables des couleurs vives de certains fruits et légumes. Cette chaîne est également responsable de l'instabilité des caroténoïdes vis-à-vis de l'oxydation, de la lumière et de la chaleur.

Du fait de la présence de doubles liaisons, les caroténoïdes peuvent adopter des configurations *E* (*trans*) ou *Z* (*cis*). A l'état naturel, ils sont généralement présents sous la forme *E*, configuration la plus stable d'un point de vue thermodynamique. Sous l'effet de la lumière ou de la chaleur, les caroténoïdes sous forme *E* sont susceptibles de s'isomériser pour donner des isomères *Z* (3).

CAROTENES : **β -Carotène****Phytoène****Lycopène****XANTHOPHYLLES :****Lutéine****Zéaxanthine****Capsanthine****Figure I-1. Structures chimiques de quelques caroténoïdes****I.1.1.2. Sources alimentaires**

Chez les végétaux, les caroténoïdes sont retrouvés dans les tissus verts photosynthétiques, les fruits, les racines, les graines et les fleurs. Par ailleurs, des organismes photosynthétiques tels que le phytoplancton, certaines algues, bactéries, champignons et levures sont capables de les synthétiser. Certains oiseaux, poissons et invertébrés, en contiennent après les avoir obtenus *via* leur alimentation (3).

Quelques caroténoïdes d'intérêt nutritionnel, ainsi que leurs principales sources alimentaires sont regroupés dans le Tableau I-1.

Tableau I-1. Sources principales de quelques caroténoïdes ayant une importance nutritionnelle (4).

Caroténoïde	Sources alimentaires	Teneur*
β-Carotène	Abricot, brocoli, carotte, chou, mangue, huile de palme, épinard, patate douce	++++
	Chou de Bruxelles, mangue, pêche, poivron	+++
	Goyave, laitue, orange, papaye, petits pois, courge, tomate	++
	Beurre, pamplemousse, mandarine	+
β-Cryptoxanthine	Kaki, cerise de cayenne	+++
	Papaye, poivron, courge, mandarine	++
Lutéine	Brocoli, légumes-feuilles, poivron	++++
	Jaune d'oeuf, courge	++
Lycopène	Tomate, pastèque	++++
	Carotte, goyave	+++
	Pamplemousse rose, papaye,	++
	Abricot, kaki	+
Zéaxanthine	Poivron	++++
	Kaki, courge, maïs	++

* +++++ : teneur très élevée (>2 mg/100g de matière fraîche) ; +++ : teneur élevée (0,5 à 2 mg/100g) ; ++ : teneur modérée (0,1 à 0,5 mg/100g) ; + : faible teneur (0 à 0,1 mg/100g)

Certains caroténoïdes sont utilisés comme colorants par l'industrie alimentaire dans la préparation de boissons, de crèmes glacées, de confiseries, etc. Ces produits contribuent à l'apport de caroténoïdes dans l'alimentation humaine mais dans des proportions bien moins importantes que les fruits et légumes (4).

I.1.2. Les composés phénoliques

Les composés phénoliques sont des métabolites secondaires, comme les caroténoïdes.

I.1.2.1. Structure chimique (5)

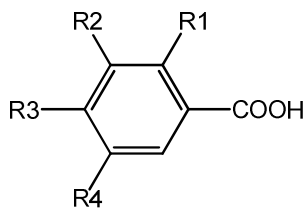
De très nombreux composés phénoliques ont été caractérisés à ce jour. Ils ont tous en commun la présence d'un ou plusieurs cycles benzéniques portant une ou plusieurs fonctions hydroxyles. Ils peuvent être répartis en plusieurs classes, selon la complexité de leur squelette de base, du degré de modification de ce squelette et des liaisons possibles de ces composés avec d'autres molécules.

Tableau I-2. Les principales classes de composés phénoliques

Squelette carboné	Classe	Exemple	Principales sources alimentaires
C ₆	Phénols simples	Catéchol	
C ₆ -C ₁	Acides hydroxybenzoïques	p-Hydroxybenzoïque	Epices, fraise
C ₆ -C ₃	Acides hydroxycinnamiques	Acides caféique et férulique	Pomme de terre, pomme
	Coumarines	Scopléine, esculéine	Agrumes
C ₆ -C ₄	Naphtoquinones	Juglone	Noix
C ₆ -C ₂ -C ₆	Stilbènes	Resvératrol	Vin, Raisin
C ₆ -C ₃ -C ₆	Flavonoïdes		
	▪ Flavonols	Kaempférol, quercétine	Fruits, légumes
	▪ Anthocyanes	Cyanidine, pélargonidine	Fruits rouges
	▪ Flavanols	Catéchine, épicatechine	Pomme, raisin
	▪ Flavanones	Naringénine	Agrumes
	Isoflavonoïdes	Daidzéine	Soja, pois
(C ₆ -C ₃) ₂	Lignanes	Pinorésinol	Pin
(C ₆ -C ₃) _n	Lignines		Bois, noyau des fruits
(C ₁₅) _n	Tannins		Raisin rouge, kaki

○ **Les acides hydroxybenzoïques**

Les acides hydroxybenzoïques dérivent tous de l'acide benzoïque. Ils sont majoritairement présents sous forme d'esters ou de glycosides dans les plantes; les formes libres sont parfois retrouvées mais dans de faibles proportions. Les principaux acides hydroxybenzoïques retrouvés dans les végétaux sont les acides p-hydroxybenzoïque, protocatéchique, vanillique, gallique et syringique (Figure I-2).



R1 = R2 = R3 = R4 = H : acide benzoïque (non phénolique)

R1 = R2 = R4 = H, R3 = OH : acide *p*-hydroxybenzoïque

R1 = R4 = H, R2 = R3 = OH : acide protocatéchique

R1 = R4 = H, R2 = OCH₃, R3 = OH : acide vanillique

R1 = H, R2 = R3 = R4 = OH : acide gallique

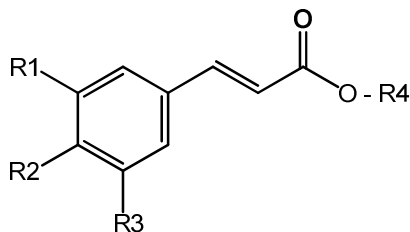
R1 = H, R2 = R4 = OCH₃, R3 = OH : acide syringique

Figure I-2. Structures chimiques d'acides hydroxybenzoïques.

○ **Les acides hydroxycinnamiques**

Les acides hydroxycinnamiques dérivent de l'acide cinnamique. Ils présentent une double liaison sur la chaîne latérale; il existe ainsi deux séries d'isomères (*cis* ou *Z* et *trans* ou *E*) dont les propriétés biologiques peuvent être différentes. Cependant, les formes *trans* sont largement majoritaires dans la nature.

Tout comme les acides hydroxybenzoïques, les acides hydroxycinnamiques sont rarement présents à l'état libre et généralement combinés à d'autres molécules organiques formant des esters, des phénolamides ou des glucosides. Parmi ces composés, l'acide caféique, généralement présent sous forme d'esters a une répartition quasi universelle chez les végétaux.



R1 = R2 = R3 = R4 = H : acide cinnamique (non phénolique)

R1 = R3 = R4 = H, R2 = OH : acide *p*-coumarique

R1 = R2 = OH, R3 = R4 = H : acide caféique

R1 = OCH₃, R2 = OH, R3 = R4 = H : acide férulique

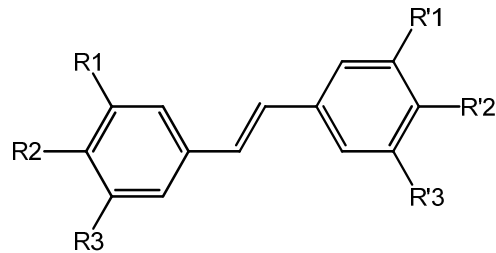
R1 = R3 = OCH₃, R2 = OH, R4 = H : acide sinapique

R1 = R2 = OH, R3 = H, R4 = H : acide chlorogénique

Figure I-3. Structures chimiques d'acides hydroxycinnamiques.

○ **Les stilbènes**

Les stilbènes dérivent des acides hydroxycinnamiques ; ils regroupent des dérivés hydroxy- et méthoxy- du stilbène simple, ainsi que leurs formes hétérosidiques et polymériques.



R1 = R3 = R'2 = OH, R2 = R'1 = R'3 = H : resvératrol

R1 = R3 = OCH₃, R2 = R'1 = R'3 = H, R'2 = OH : ptérostilbène

R1 = glucose, R2 = R'3 = OH, R2 = R'1 = OH, R'2 = OCH₃ : rhapontine

R1 = glucose, R2 = R'1 = R'3 = H, R3 = R'2 = OH : picéide

Figure I-4. Structures chimiques de stilbènes

○ **Les flavonoïdes**

Cette classe regroupe plusieurs milliers de molécules réparties en plus de 10 sous-classes et qui ont toutes en commun une structure de type 2-phénylbenzopyrane (Figure I-5).

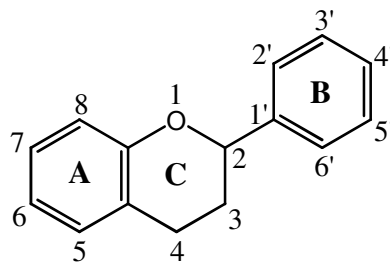


Figure I-5. Squelette de base des flavonoïdes

La structure de l'hétérocycle central et son degré d'oxydation, permettent de distinguer les différentes sous-classes de flavonoïdes :

- **les flavanones**

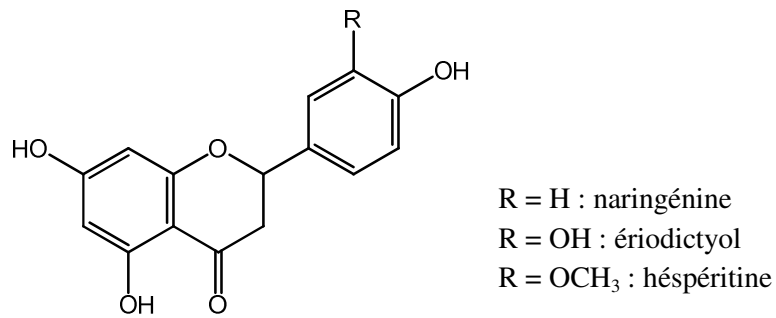


Figure I-6. Structures chimiques de flavanones

- **les flavonols**

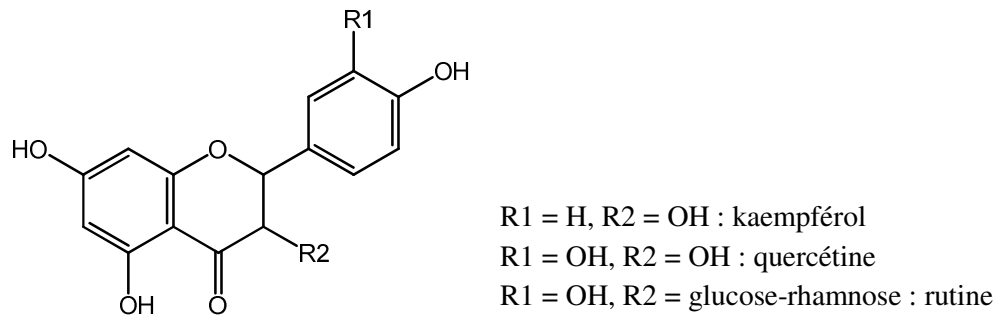


Figure I-7. Structures chimiques de flavonols

- **les flavanols**

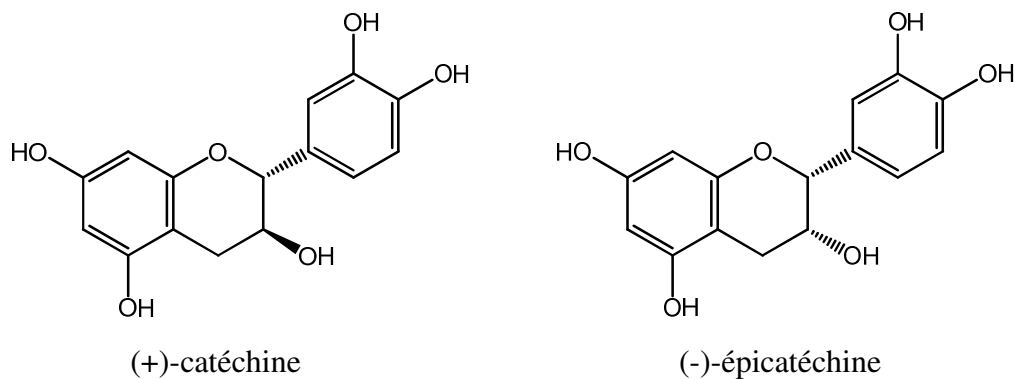


Figure I-8. Structures chimiques de flavan-3-ols

- **les anthocyanes**

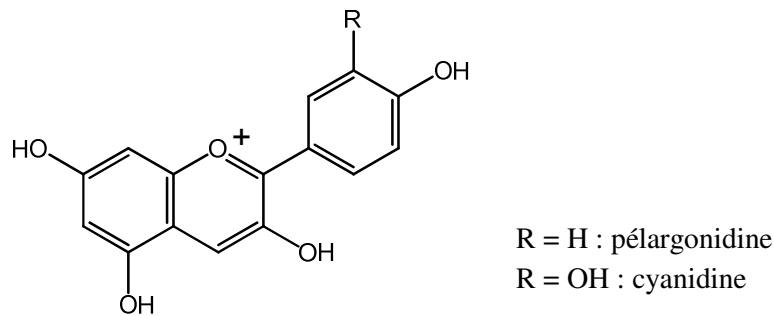


Figure I-9. Structures chimiques de deux anthocyanes

Le degré d'hydroxylation des différents cycles a un impact sur les spectres d'absorption des molécules. Ainsi, certains composés comme les anthocyanes, jouent un rôle de pigment au sein des organismes végétaux.

Les flavonoïdes sont généralement liés à des sucres par des liaisons glycosidiques. Cette glycosylation peut avoir de multiples conséquences: modification de la couleur des pigments, augmentation de l'hydrosolubilité et modification des propriétés biologiques des molécules.

- **Les tannins**

Les tannins sont des composés, résultant de la condensation de certaines formes simples évoquées précédemment, capables de se lier à des protéines en solution et de les précipiter. Il existe deux grands groupes de tannins :

- **les tannins hydrolysables** caractérisés par le fait qu'ils se dégradent par hydrolyse chimique ou enzymatique. Une partie non phénolique est alors libérée ainsi qu'une partie phénolique constituée d'acide gallique ou d'acide ellagique (dimère de l'acide gallique).

- **les tannins condensés** (ou proanthocyanidines) qui résultent de la condensation d'oligomères ou de polymères de flavan-3-ols dérivés de la (+)-catéchine ou de ses nombreux isomères. Ils sont résistants à l'hydrolyse; seules les attaques chimiques fortes sont capables de les dégrader.

Les tannins sont utilisés depuis l'Antiquité pour le tannage des peaux d'animaux. D'un point de vue alimentaire, ils sont responsables de l'astringence de nombreux fruits, légumes et de produits qui en sont dérivés. Cette caractéristique est due à leur propriété de complexation avec les protéines salivaires.

I.1.2.2. Sources alimentaires

- **Les acides hydroxybenzoïques**

Le thé, certains fruits, le vin rouge et les pommes de terre sont des sources importantes d'acides hydroxybenzoïques. Les baies, ainsi que les fraises, peuvent en contenir plusieurs dizaines de milligrammes par kilogramme de fruit frais, principalement sous formes d'acides gallique et *p*-hydroxybenzoïque. Par ailleurs, les céréales comme le blé et l'avoine contiennent de l'acide vanillique, de l'acide salicylique et de l'acide *p*-hydroxybenzoïque. Certains condiments (herbes et épices) peuvent également contenir des acides hydroxybenzoïques (6).

- **Les acides hydroxycinnamiques**

Ces composés sont largement présents dans les produits végétaux, majoritairement sous forme d'esters ou de glucosides. Cependant, des formes libres ont été détectées dans le café, le jus d'agrumes, le son de céréales, quelques fruits (pomme et myrtille) et certains légumes verts (épinard, brocoli, chou). De même, l'acide *p*-coumarique libre a été détecté dans de nombreux échantillons de vin rouge, sa teneur pouvant atteindre 6,7 mg/L (7).

Parmi les formes conjuguées, la plus abondante est l'acide chlorogénique (ou acide 5-O-caféoylquinique) retrouvé en forte concentration dans le café (qui peut en contenir jusqu'à 300 mg par tasse), la myrtille, la pomme et le cidre (7).

- **Les stilbènes**

Ces composés sont présents dans de nombreuses familles de plantes supérieures mais les principales sources alimentaires sont le raisin et le vin ainsi que les cacahuètes. Parmi les stilbènes, celui qui a été le plus étudié est le resvératrol. Présent dans la vigne, il s'accumule en réponse à des attaques parasitaires. Dans l'alimentation humaine, il est présent dans le vin et le jus de raisin, ceux-ci pouvant en contenir jusqu'à 8 et 14 mg/L, respectivement (8).

○ **Les flavonoïdes**

• **les flavanones**

Dans l'alimentation humaine, les flavanones sont présents dans la pomme de terre, le houblon et certaines plantes aromatiques comme la menthe, mais la principale source reste les agrumes. Parmi les formes libres, la naringénine, d'une part, est retrouvée dans le pamplemousse et l'orange amère et l'hesperidine, d'autre part, dans le citron, l'orange douce et la mandarine.

Le plus souvent, les flavanones existent sous forme glycosylée en position 7 par un disaccharide, comme les néohesperidosides responsables du goût amer du pamplemousse et de l'orange (9).

• **les flavonols**

Les flavonols sont les flavonoïdes les plus répandus dans les aliments; ils peuvent être considérés comme des pigments végétaux de couleur jaune plus ou moins clair. Les flavonols majoritairement présents dans l'alimentation humaine sont la quercétine et le kaempférol, généralement retrouvés dans les tissus végétaux sous forme glycosylée. Les sources les plus importantes de quercétine sont l'oignon (280 à 490 mg/kg), le chou (110 mg/kg), les haricots (45 à 60 mg/kg) et le brocoli (30 mg/kg) (10). Ce composé est également présent dans de nombreux fruits ainsi que dans le vin rouge et le thé noir.

• **les flavanols**

Les flavanols sont largement répandus dans les fruits et légumes, mais la source la plus riche de flavanols au sein de l'alimentation humaine est certainement le thé. Ce dernier contient principalement de la (-)-épicatéchine gallate, de la (-)-épigallocatechin gallate et de la (-)-épigallocatechine. Les autres sources de flavanols sont le raisin et le vin qui contiennent de fortes teneurs en (+)-catéchine et (-)-épicatéchine (jusqu'à 208 mg de (+)-cathéchine par litre de vin rouge) (10). Certains fruits à noyau (abricot, cerise, pêche, prune, etc), ainsi que des baies (cassis, groseille, myrtille) apportent également des flavanols mais dans des proportions moins importantes.

• **les anthocyanes**

Les anthocyanes sont des pigments hydrosolubles responsables des couleurs bleu, mauve, rouge ou rose de certaines parties végétales (fleurs, fruits, feuilles, racines,...). Ils sont rarement présents dans les tissus végétaux sous forme aglycone et souvent liés à des sucres en

position 3 ou 5 ce qui leur confère de meilleures solubilité et stabilité. Certains fruits, et plus particulièrement les baies (cassis, myrtille, canneberge, mûre, etc), contiennent des quantités remarquables d'anthocyanes pouvant atteindre plusieurs grammes par kilogrammes de produit frais. Le vin est également une bonne sources d'anthocyanes, le pigment majoritaire de ce produit étant la malvidine-3-glucoside (11). Par ailleurs, du fait de leurs propriétés colorantes et antioxydantes reconnues, les anthocyanes entrent dans la composition de certains produits industriels en tant qu'additifs.

- **Les tannins**

Les tannins sont largement répandus dans les organismes végétaux et plus particulièrement dans les fruits, les graines de céréales et diverses boissons. Dans l'alimentation humaine, les sources les plus importantes de tannins sont le vin et le thé (12).

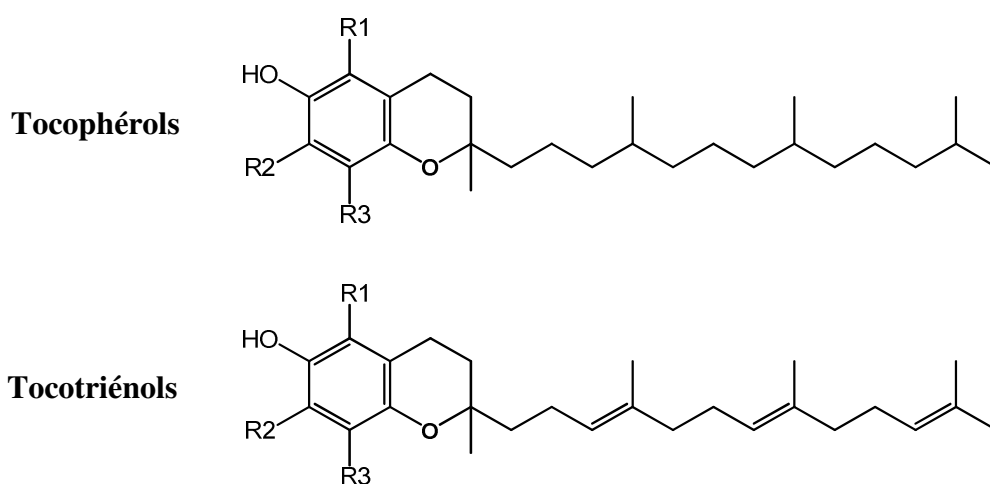
I.1.3. La vitamine E et ses dérivés

La vitamine E est le terme générique utilisé habituellement pour désigner les différents tocophérols et tocotriénols (4 tocophérols et 4 tocotriénols). Cette vitamine liposoluble est reconnue pour ses propriétés antioxydantes et assure la stabilité des structures cellulaires.

I.1.3.1. Structure chimique

La molécule de tocol constitue la structure de base des tocophérols. Elle est constituée d'un noyau hydroxychromane et d'une chaîne phytyle entièrement saturée. Les différentes formes de tocophérols (α , β , γ et δ) se distinguent entre eux par le nombre et la situation des groupements méthyles fixés sur le noyau chromanol. Parmi ces composés, le plus fréquemment retrouvé dans la nature est l' α -tocophérol, qui présente également l'activité vitaminique la plus élevée.

Les tocotriénols diffèrent des tocophérols par la présence de trois doubles liaisons sur la chaîne latérale. Naturellement présents dans la nature, les α - et β -tocotriénols possèdent une activité vitaminique alors que les formes γ et δ sont inactives (13).



R1	R2	R3	Dénomination	
CH ₃	CH ₃	CH ₃	α -tocophérol (5,7,8-triméthyltolcol)	α -tocotriénol (5,7,8-triméthyltocotriénol)
CH ₃	H	CH ₃	β -tocophérol (5,8-diméthyltolcol)	β -tocotriénol (5,8-diméthyltocotriénol)
H	CH ₃	CH ₃	γ -tocophérol (7,8-diméthyltolcol)	γ -tocotriénol (7,8-diméthyltocotriénol)
H	H	CH ₃	δ -tocophérol (8-méthyltolcol)	δ -tocotriénol (8-méthyltocotriénol)

Figure I-10. Structure des tocophérols et tocotriénols

I.1.3.2. Sources alimentaires

La vitamine E est un micronutriment essentiel au bon fonctionnement de l'organisme humain. Les besoins journaliers pour un adulte sont estimés à 12 mg.

Dans l'alimentation, les principales sources de vitamine E sont les huiles végétales et les produits dérivés de ces huiles. Parmi les huiles, celles issues de germes de blé et de tournesol sont les plus riches en α -tocophérol (respectivement 1330 et 487 mg/kg) (14). Les fruits oléagineux tels les noisettes et les amandes, et les céréales (l'orge, le seigle, etc) sont également des sources de vitamine E. Les tocophérols et tocotriénols sont aussi retrouvés dans les fractions lipidiques de certains produits d'origine animale comme le foie, les oeufs et la matière grasse du lait, mais en moindre mesure. Quant aux légumes verts, ils en contiennent de faibles quantités (13).

I.1.4. La vitamine C

La vitamine C est une vitamine hydrosoluble au fort pouvoir réducteur mais très sensible à la lumière et à la chaleur. Au sein de l'organisme, c'est un cofacteur enzymatique impliqué dans un certain nombre de réactions physiologiques. Elle est impliquée dans la synthèse du collagène et des globules rouges et joue un rôle de promoteur de l'absorption du fer.

I.1.4.1. Structure chimique

D'un point de vue chimique, la vitamine C regroupe l'acide L-ascorbique et sa base conjuguée: l'ion ascorbate (Figure I-11). Dans les tissus, on retrouve un équilibre réversible entre ces deux formes.

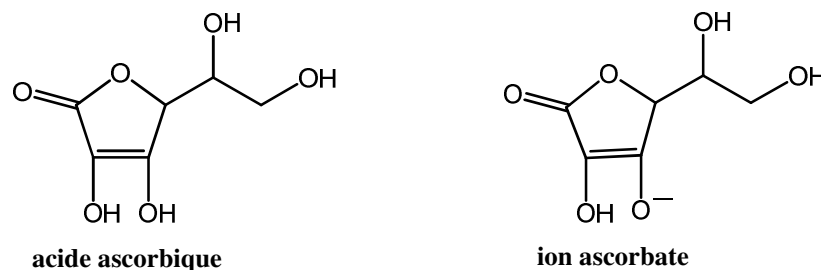


Figure I-11. Structures chimiques des formes acide et basique de la vitamine C

L'acide ascorbique est stable à l'état solide, à l'abri de la lumière et de l'humidité. En revanche, en solution aqueuse, il s'altère très rapidement au contact de l'oxygène. La chaleur, la présence d'ions métalliques ou un milieu basique accélèrent significativement ce phénomène d'oxydation (13).

I.1.4.2. Sources alimentaires

La plupart des mammifères sont capables de synthétiser cette vitamine, exceptés le cochon d'inde, la roussette, certains oiseaux et les primates (dont l'être humain). L'acide ascorbique, essentiel au bon fonctionnement de notre organisme, doit alors être apporté par notre alimentation (1).

La vitamine C est très répandue dans la nature. Tous les végétaux en contiennent, mais dans des quantités variables. Les meilleures sources de vitamine C sont les agrumes, les légumes à feuilles vertes, les choux, les tomates, et les fraises.

Tableau I-3. Teneurs en vitamine C dans quelques fruits et légumes (15)

Légume	Teneur en vitamine C (mg/kg de produit frais)	Fruit	Teneur en vitamine C (mg/kg de produit frais)
Brocoli	412-638	Fraise	801
Pomme de terre (cuite)	185-194	Papaye	627-807
Cresson	123-184	Orange	421-624
Tomate	99-101	Pamplemousse rose	413-520
Haricot (cuit)	84-107	Mangue	91-186
Epinard	76-116	Ananas	50
Chou (cuit)	68-147	Pomme	20-35
Oignon jaune	37-84		
Laitue	11-35		

Les teneurs sont données pour des aliments crus (sauf pour le haricot, le chou et la pomme de terre)

L'AFSSA (Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments) recommande une consommation de 110 mg d'acide ascorbique par jour chez l'adulte. Le plasma humain contient normalement 8 à 16 mg/L d'acide ascorbique et si la concentration est inférieure à 2 mg/L, un organisme est considéré en carence. Une carence en vitamine C provoque le scorbut alors qu'une consommation excessive (supérieure à 500 mg/jour) peut entraîner des irritations gastriques accompagnées de diarrhées et une acidification de l'urine entraînant des calculs rénaux (1).

I.2. Oxydation des lipides et effets protecteurs des microconstituants

I.2.1. Les lipides alimentaires (I)

Les lipides sont des composés biologiques solubles dans les solvants organiques tels que le chloroforme et l'éther. Ils regroupent les molécules constituées de chaînes d'acide gras, comme les triglycérides et les phospholipides ainsi que les molécules constituées d'un noyau hydrocarboné (cholestérol, hormones stéroïdes).

I.2.1.1. Les acides gras

Tous les acides gras portent un groupement acide carboxylique (-COOH) relié à une chaîne hydrocarbonée plus ou moins longue (4 à 32 atomes de carbone). Généralement, ils sont caractérisés par un nombre pair d'atomes de carbone et les plus abondants sont de type C16 et C18. Les acides gras sont dits « saturés » si tous les atomes de carbones de la chaîne sont reliés par des liaisons covalentes simples; parmi ces composés, on retrouve les acides palmitique (C16:0) et stéarique (C18:0) abondants dans les graisses d'origine animale. Lorsque une ou plusieurs doubles liaisons sont présentes sur la chaîne, les acides gras sont dits respectivement « monoinsaturés » ou « polyinsaturés ». L'acide oléique (C18:1), retrouvé en fortes proportions dans l'huile d'olive, est monoinsaturé alors que l'acide linoléique (C18:2), présent dans l'huile de tournesol, et présentant deux doubles liaisons, est dit polyinsaturé. Les doubles liaisons peuvent exister sous deux formes différentes: *cis* (*Z*) et *trans* (*E*). Ces configurations ainsi que le nombre d'atomes de carbone et d'insaturations sur la chaîne confèrent aux molécules des propriétés physiques différentes: la température de fusion augmente avec le nombre de carbones alors qu'elle diminue avec le nombre d'insaturations. Un aliment riche en lipides aura alors une consistance variable en fonction de sa composition en acides gras. Les principaux acides gras ainsi que leurs sources alimentaires sont présentés dans le Tableau I-4.

Certains acides gras sont essentiels à l'être humain, qui est incapable de les synthétiser. Ils doivent être apportés par l'alimentation. Deux acides gras sont dit "indispensables": l'acide linoléique et l'acide linoléique (C18:3), qui servent de précurseurs à d'autres acides gras au sein du corps humain. Les dérivés obtenus à partir de ces deux acides constituent les oméga 3 (ayant comme précurseur l'acide linoléique) et oméga 6 (synthétisés à partir d'acide linoléique). Ces composés ont un rôle essentiel dans l'organisme en assurant la protection du

système cardio-vasculaire et l'intégrité des fonctions cérébrales; ils jouent également un rôle anti-inflammatoire.

Tableau I-4. Acides gras les plus communs et leurs principales sources alimentaires

Structure	Nom commun	Principales sources alimentaires
12:0	Laurique	Huile de coprah
14:0	Myristique	Produits laitiers
16:0	Palmitique	Huile de palme
16:1	Palmitoléique	Huile de noix de macadamia
18:0	Stéarique	Graisses animales
18:1 (n-9) ^a	Oléique	Huile d'olive, de pépin de raisin, beurre de karité
18:2 (n-6)	Linoléique	Huiles de tournesol, de lin, de maïs, de soja,...
18:3 (n-3)	Linoléique	Huiles de noix, de colza, de soja
20:0	Arachidique	Huile d'arachide, de germe de maïs
20:4 (n-6)	Arachidonique	Graisses animales
20:5 (n-3)	Eicosapentaénoïque	Huiles de poissons
22:6 (n-3)	Docosahexaénoïque	Huiles de poissons

^a Le système de numérotation entre parenthèses identifie les doubles liaisons à partir de la fin de la chaîne située le plus loin de la fonction carboxyle (groupement méthyle terminal).

I.2.1.2. Les triglycérides

Les acides gras peuvent être présents dans la nature sous forme libre, mais on les retrouve majoritairement sous forme d'esters tels que les triglycérides (ou triacylglycérols). Ces derniers sont des graisses neutres composées d'une molécule de glycérol acylée par trois molécules d'acide gras (Figure I-12). Ils constituent la forme de réserve lipidique dans les tissus adipeux des animaux; ils sont également présents dans les végétaux et les graines d'oléagineux. Ils représentent la grande majorité des graisses d'origine alimentaire.

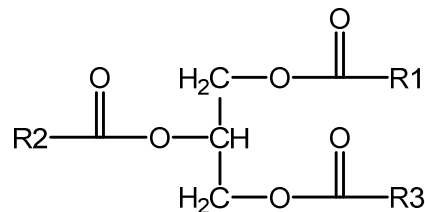


Figure I-12. Représentation d'une molécule de triglycérides (R1, R2, R3 correspondent à des chaînes d'acides gras).

Les triglycérides sont dits "homogènes" si les trois acides gras estérifiés sont identiques, ou "hétérogène" si au moins deux des trois acides gras sont différents; il existe ainsi une très grande diversité de triglycérides. La plupart des corps gras naturels sont constitués d'un mélange complexe de triglycérides homogènes et hétérogènes. Les propriétés physiques de ces mélanges sont alors très variables. Les huiles végétales sont constituées à 100 % de lipides, principalement sous forme de triglycérides. Elles se distinguent des graisses par leur état liquide à température ambiante.

I.2.1.3. Les phospholipides (16)

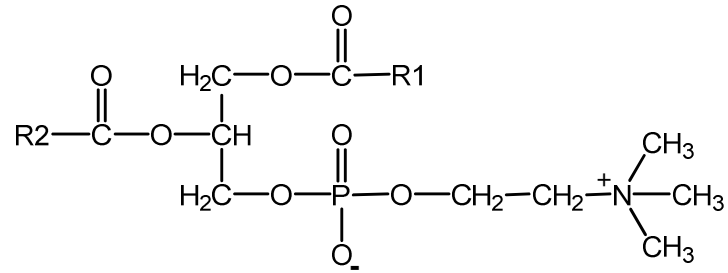
Les phospholipides sont des lipides présentant un groupement phosphate. Ils possèdent une tête polaire et deux queues hydrophobes, ce qui leur confère un caractère amphiphile. Constituants majoritaires des membranes cellulaires, ils s'organisent spontanément en bicouche grâce à leur propriété amphiphile.

Il existe deux types de phospholipides :

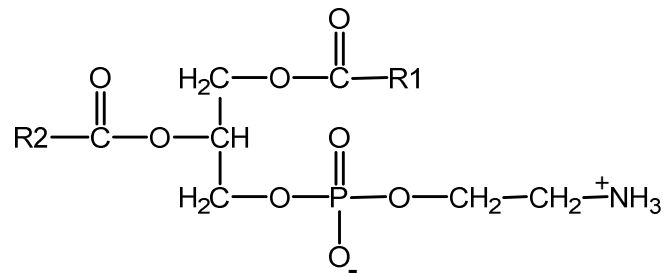
- les **sphingophospholipides** constitués d'une molécule de sphingosine liée à deux chaînes carbonées et d'un phosphate. La sphingomyéline est un exemple de sphingophospholipide. Elle est présente dans la myéline, une substance grasse servant d'isolant aux fibres nerveuses des animaux.
- les **glycérophospholipides** (ou phosphoacylglycérol) constitués d'une molécule de glycérol sur laquelle sont fixés deux acides gras et un groupement phosphate qui peut lui-même être dérivé. La lécithine (ou phosphatidylcholine), la phosphatidylsérine, la phosphatidylinositol ou encore la phosphatidyl éthanolamine sont des exemples de glycérophospholipides.

De part leur caractère amphiphile, ces composés jouent un rôle d'émulsifiant dans certains produits alimentaires. Par exemple, la mayonnaise est une émulsion stabilisée par les phospholipides provenant du jaune d'oeuf.

Phosphatidylcholine



Phosphatidyléthanolamine



Sphingomyéline

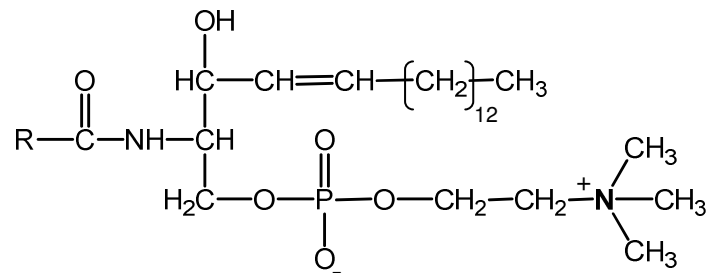


Figure I-13. Représentation de quelques phospholipides (R, R1 et R2 correspondent à des chaînes d'acides gras)

I.2.2. Les mécanismes généraux de l'oxydation des lipides insaturés

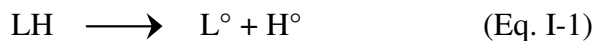
Au sein des aliments, les lipides sont susceptibles de s'oxyder ce qui concourt à l'altération des qualités organoleptiques et nutritionnelles des produits. Cette oxydation pose un problème majeur dans le stockage des aliments et plus particulièrement pour ceux contenant des acides gras polyinsaturés qui sont facilement oxydables.

I.2.2.1. Etapes fondamentales et intermédiaires du mécanisme d'oxydation

L'oxydation des lipides est la réaction de l'oxygène moléculaire ($^3\text{O}_2$) avec les acides gras saturés. C'est en fait un ensemble de réactions radicalaires en chaîne comprenant 3 étapes: l'amorçage (ou initiation), la propagation et la terminaison.

○ L'amorçage

L'étape d'amorçage consiste en l'arrachement d'un atome d'hydrogène en α d'une double liaison d'un acide gras insaturé (Eq. I-1).



Cette étape est immédiatement suivie de réarrangements électroniques aboutissant, pour les acides gras insaturés (dont les doubles liaisons sont initialement non conjuguées), à la formation de liaisons diéniques conjuguées.

Il existe différents mécanismes réactionnels permettant d'amorcer l'autoxydation. Certains impliquent directement le substrat lipidique (LH) à partir duquel sont générés les premiers radicaux alkyles (L°) et d'autres mettent en jeu les hydroperoxydes (LOOH) préexistant dans le milieu réactionnel. Ces derniers aboutissent à la formation de radicaux peroxydes (LOO°) qui réagissent ensuite avec le substrat lipidique.

Selon le milieu dans lequel a lieu l'amorçage, les mécanismes ne sont pas toujours les mêmes et font éventuellement intervenir d'autres espèces chimiques. Ils seront détaillés dans la partie "facteurs influençant la peroxydation lipidique".

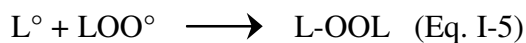
○ **La propagation**

Les radicaux libres carbonés produits lors de l'étape d'amorçage réagissent très rapidement avec l'oxygène pour former des radicaux peroxydes (LOO°) (Eq. I-2). Ces radicaux instables, réagissent instantanément avec d'autres lipides insaturés pour former des hydroperoxydes (LOOH) et de nouveaux radicaux lipidiques (L°) (Eq. I-3). Ces derniers peuvent à leur tour réagir avec l'oxygène induisant ainsi le processus de propagation de la réaction en chaîne radicalaire. La teneur en oxygène au sein du milieu est alors un paramètre critique vis-à-vis de cette étape de la peroxydation lipidique.



○ **La terminaison**

La terminaison de la réaction en chaîne radicalaire a lieu par combinaison des radicaux libres et aboutit à la formation de produits non-radicalaires stables. En pratique, du fait de la décomposition des hydroperoxydes, les radicaux présents dans le milieu sont nombreux et à l'origine de multiples combinaisons (Eq. I-4, I-5, I-6).



En présence d'antioxydants, la peroxydation lipidique est inhibée. La terminaison intervient par transfert d'électron ou d'atome d'hydrogène de l'antioxydant vers le radical peroxyde pour former un hydroperoxyde (Eq. I-7). Les antioxydants capables d'extraire ainsi les radicaux peroxydes de leur cycle de propagation sont dits "briseurs de chaîne".



I.2.2.2. Facteurs influençant la peroxydation lipidique

La peroxydation lipidique est un phénomène spontané mais sa vitesse peut-être accélérée ou ralentie sous l'effet de trois principaux facteurs :

- les substrats ou acides gras insaturés
- les catalyseurs ou systèmes générant des radicaux libres
- la concentration d'espèces de terminaison de chaînes ou antioxydants

Jusqu'ici, seule la peroxydation lipidique au sein des produits alimentaires a été évoquée. Elle a également lieu au sein de systèmes biologiques, par l'intermédiaire d'enzymes notamment.

○ Influence du type d'acide gras

La peroxydation lipidique ne concerne que les acides gras polyinsaturés. Les travaux réalisés sur l'autoxydation des acides gras ont souvent montré que la vitesse de réaction croît avec le nombre de doubles liaisons de la molécule. Ainsi, l'acide linoléique (C18:2) aura tendance à s'oxyder plus rapidement que l'acide linoléique (C18:2). Quant aux acides gras à longue chaîne, une étude a montré que l'acide docohexanoïque (C22:6) s'oxyde bien plus rapidement que l'acide arachidonique (C20:4) (17).

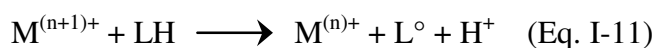
○ Les initiateurs de la peroxydation

➤ *Les catalyseurs métalliques*

Les ions des métaux de transition comme le fer, le cuivre, le nickel ou le manganèse sont des initiateurs efficaces de l'oxydation lipidique. Ils peuvent amorcer l'oxydation par réaction directe avec le substrat lipidique (LH) ou en décomposant des hydroperoxydes préformés (Eq. I-9 et I-10). Comme ces derniers sont inévitablement présents dans les échantillons contenant des lipides polyinsaturés, c'est ce mécanisme qui entre probablement en jeu lors de l'amorçage de l'autoxydation lipidique.



Lorsqu'il est dans son état de valence le plus élevé, l'ion métallique est susceptible de réagir directement avec un acide gras pour former un radical alkyle (L°) (Eq. I-11).



➤ *La chaleur*

Dans des conditions de températures élevées, des réactions radicalaires homolytiques peuvent se produire. Les hydroperoxydes peuvent alors subir une homolyse directe par rupture de la liaison O-O (Eq. I-12).



➤ *Initiation par voie enzymatique dans les systèmes biologiques (18)*

Dans les systèmes biologiques, des enzymes entrent en jeu. Elles peuvent initier la réaction d'autoxydation et ainsi générer des espèces oxygénées réactives. Par exemple, la xanthine oxydase génère des radicaux superoxydes (O_2°) qui, en milieu acide, donnent des radicaux hydroperoxydes (HO_2°). Ces radicaux superoxydes peuvent aussi être à l'origine de peroxyde d'hydrogène et d'oxygène après catalyse (ou non) par la superoxyde dismutase, une métalloprotéine à activité enzymatique présente dans presque tous les organismes aérobies.

D'autres enzymes, les lipoxygénases, présentes dans les cellules animales et végétales, sont capables de catalyser l'oxydation des acides gras polyinsaturés pour donner des hydroperoxydes.

○ **Les antioxydants**

La peroxydation lipidique peut être ralentie par la présence d'antioxydants. Certains antioxydants peuvent agir par voie radicalaire en mettant fin à l'étape de propagation (voir I.2.2.1). D'autres limitent la réaction d'oxydation en limitant la formation des espèces radicalaires, par exemple en chélatant les ions métalliques; l'action catalytique de ces ions sur l'amorçage et la décomposition des hydroperoxydes est alors inhibée. Par exemple, l'EDTA (acide éthylène diamine tétra-acétique) en présence de métaux est à l'origine de complexes extrêmement stables et inertes.

Un autre moyen de limiter la réaction d'oxydation est l'élimination de l'oxygène. Pour cela, les produits alimentaires industriels peuvent être conservés sous vide ou sous azote, ce qui permet de rallonger leur durée de vie.

Les effets protecteurs des microconstituants antioxydants vis-à-vis de l'oxydation lipidique seront présentés en détail dans un paragraphe spécifique.

I.2.2.3. Conséquences de l'oxydation lipidique dans les aliments

Depuis l'antiquité, l'altération des lipides par le processus de rancissement est reconnue comme un problème majeur dans le stockage des aliments. Il concerne les huiles et les graisses ainsi que les lipides constitutifs des aliments. Le processus est aussi à l'origine de l'altération de certains constituants non lipidiques comme les protéines et les vitamines.

○ Conséquences sensorielles de l'oxydation des lipides

Dans les aliments, l'oxydation lipidique est responsable du développement d'une odeur désagréable que l'on qualifie souvent de "rance". Cette odeur n'est pas due aux hydroperoxydes, qui sont inodores, mais aux produits issus de leur dégradation. En effet, la décomposition des hydroperoxydes est à l'origine de nombreux composés volatils qui contribuent aux modifications de l'arôme des aliments au cours du rancissement.

La nature des produits volatils formés dépend de l'acide gras peroxydé et des autres espèces réactives présentes lors de la décomposition. Un grand nombre d'espèces chimiques peut apparaître: des aldéhydes, des alcools, des cétones, des alcanes, des alcènes, des alcynes et des furanes substituées. Par exemple, l'oxydation d'une huile riche en acide linoléique entraîne majoritairement la formation d'hexanal, d'heptanal, de pentanal, de (*E*)-hept-2-éanal, de (*E*)-non-2-éanal et de (*E*)-oct-2-éanal (19).

Le développement de ces composés volatils peut parfois être recherché. Du fait de leur très faible seuil de détection, ces composés odorants participent, à très faibles concentrations, à l'arôme plaisant de certains aliments (pain, viande, fruits et légumes, etc).

L'aspect visuel des aliments peut également être altéré par l'oxydation lipidique. En effet, la peroxydation entraîne l'altération de certains pigments, et par la suite, une modification de la couleur de l'aliment. Par exemple, les caroténoïdes présents dans le beurre, la margarine ou encore certains fruits et légumes peuvent être oxydés et ainsi perdre leurs couleurs caractéristiques (3). De même, les aldéhydes qui peuvent apparaître à la suite de l'oxydation lipidique sont susceptibles de réagir avec des protéines pour former des pigments bruns. Ceux-ci engendrent un changement de couleur dans des produits laitiers et la viande (20-21).

Par ailleurs, dans certains produits comme la viande, les interactions entre les lipides oxydés et les protéines sont à l'origine de complexes pouvant avoir des conséquences sur la texture de l'aliment (22).

○ **Conséquences nutritionnelles de l'oxydation des lipides**

L'oxydation lipidique induit tout d'abord une perte nutritionnelle. L'acide linoléique (C18:2) et linoléique (C18:3), des acides gras essentiels, sont dégradés par le biais de l'oxydation lipidique. Ils sont toutefois présents dans des proportions relativement importantes au sein des aliments, les pertes nutritionnelles sont donc rarement significatives. Les pertes se révèlent plus critiques pour des acides gras hautement insaturés et fortement oxydables comme l'acide arachidonique (C20:4), eicosapentaénoïque (C20:5) ou docosahexaénoïque (C22:6) qui sont présents en faibles concentrations dans l'alimentation.

Par ailleurs, l'oxydation des lipides induit une dégradation de molécules antioxydantes comme les caroténoïdes et les vitamines E et C, ce qui a pour conséquence une perte nutritionnelle vitaminique.

L'oxydation lipidique peut aussi avoir des conséquences sur l'organisme bien plus graves que des carences nutritionnelles. L'ingestion chronique de produits d'oxydation peut être à l'origine de nombreuses pathologies dégénératives. Par exemple, les radicaux libres sont susceptibles d'altérer le matériel génétique et, à la suite de plusieurs mécanismes cellulaires, entraîner le développement de cellules cancéreuses. L'athérosclérose peut aussi être induite après oxydation des LDL (Low Density Lipoprotein), ces dernières déclenchant la prolifération des cellules de la paroi artérielle et l'agrégation de monocytes à l'origine de la plaque d'athérome. D'autres pathologies dégénératives, comme les maladies de Parkinson ou d'Alzheimer seraient en partie liées à la présence de radicaux libres qui, en oxydant l'ADN, des protéines ou des lipides conduisent à la mort neuronale (23). Enfin, tous les dommages cellulaires liés à l'oxydation (déstructurations des membranes, oxydation de l'ADN, modification oxydative des protéines, etc) seraient impliqués dans le processus de vieillissement.

I.2.3. Les effets protecteurs des microconstituants vis-à-vis de l'oxydation lipidique

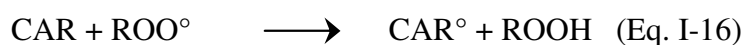
Les microconstituants antioxydants sont capables d'inhiber la peroxydation lipidique. Ce mécanisme se fait par transfert d'électron ou d'atome d'hydrogène de l'antioxydant vers le radical peroxyde entraînant la formation d'un hydroperoxyde (Eq. I-13). Une fois qu'il est sous une forme radicalaire, l'antioxydant peut réagir avec un radical peroxyde pour former un produit non radicalaire stable (Eq. I-14).



Certains microconstituants peuvent aussi agir en régénérant d'autres antioxydants, comme c'est le cas pour l'ascorbate qui est capable de réduire les radicaux α -tocophéryles en α -tocophérol.

I.2.3.1. Mode d'action des caroténoïdes (3)

Le rôle protecteur des caroténoïdes implique la désactivation d'espèces chimiques réactives comme les radicaux peroxydes (ROO°) et alkyles (R°). Les caroténoïdes sont alors convertis en radicaux stabilisés selon des réactions de transfert d'électrons ou d'atome d'hydrogène ou des réactions d'addition électrophile, comme présentées ci-dessous dans le cas de réactions impliquant les radicaux peroxydes :



Le potentiel antioxydant des caroténoïdes dépend de la vitesse avec laquelle ils vont réagir avec les radicaux libres. Cette vitesse est fonction de la nature du radical impliqué et de l'environnement au sein duquel a lieu la réaction (milieu aqueux ou lipidique) ainsi que de la structure du caroténoïde. Les xanthophylles sont des piègeurs de radicaux moins efficaces que les carotènes, et le lycopène présente un fort pouvoir antioxydant due au nombre important de doubles liaisons conjuguées présentes sur la molécule (24). Par ailleurs, il a été montré que les isomères *Z* de lycopène exercent une activité antioxydante supérieure à celle du (*E*)-lycopène (25).

D'autre part, le comportement antioxydant des caroténoïdes dépend de la pression partielle en oxygène. En effet, lorsque celle-ci est faible, ils agissent comme des antioxydants briseurs de chaîne, alors que dans un milieu où l'oxygène est présent en forte concentration, ils deviennent pro-oxydants (26). Ce phénomène s'explique par le fait que la formation de l'espèce ROO-CAROO° est favorisée en présence de fortes teneurs en oxygène et ce radical formé peut réagir avec un autre caroténoïde ou des lipides, en perturbant ainsi la peroxydation lipidique (Figure I-14). Quand l'oxygène se fait plus rare, l'équilibre se fait en faveur de la production de ROO-CAR° qui peut soit réagir avec un ROO° pour former une espèce non radicalaire, soit se décomposer pour former un époxyde de caroténoïde. Le pouvoir antioxydant des caroténoïdes serait observable pour des concentrations en oxygène allant jusqu'à 0,01 mol/L.

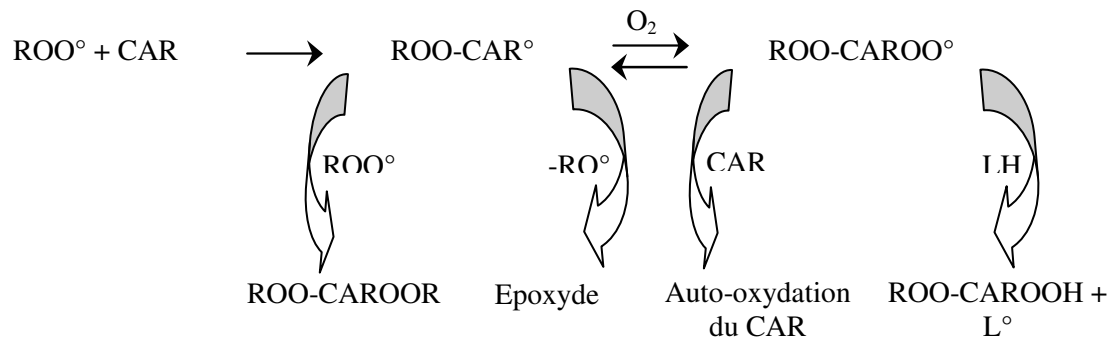
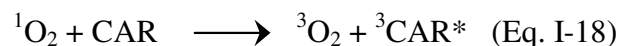


Figure I-14. Réactions d'oxydation des caroténoïdes en présence ou non d'oxygène. D'après El-Agamet *et al.*, 2004 (26).

Dans les systèmes biologiques, les caroténoïdes sont capables de désactiver des espèces oxygénées réactives (EOR) telles que l'oxygène singulet $^1\text{O}_2$ (présent chez les végétaux) par quenching physique ou chimique. Lors du quenching physique, le dioxygène triplet est produit et le caroténoïde se retrouve sous une forme excitée qui retourne ensuite à l'état fondamental par un simple dégagement de chaleur (Eq. I-18 et I-19).



Au cours du quenching chimique, les caroténoïdes sont oxydés par l'intermédiaire de "ènes" réactions pour donner des hydroperoxydes de caroténoïdes (27).

I.2.3.2. Mode d'action des composés phénoliques

De part leur fort caractère réducteur et donneur d'atome d'hydrogène, les composés phénoliques sont capables de réagir rapidement avec les EOR.

Les relations structure-activité suggèrent que le pouvoir antioxydant des composés phénoliques est favorisé par plusieurs caractéristiques structurales. Pour les flavonoïdes, une structure *ortho*-dihydroxy sur le noyau B (catéchol) est responsable du pouvoir réducteur de la molécule, et ainsi, de son aptitude à réduire les EOR. Par ailleurs, une double liaison entre les carbones 2 et 3, conjuguée avec la fonction 4-oxo au niveau du noyau C, accentue la délocalisation électronique du radical semi-quinone et permet sa stabilisation, qui est accentuée par la formation d'une liaison hydrogène intramoléculaire (28-30).

Par ailleurs, le nombre de groupements hydroxyles et leur position a un impact sur le pouvoir réducteur des flavonoïdes. Leur pouvoir antioxydant s'accroît généralement avec le nombre de OH alors que la présence d'une O-glycosylation le diminue (31).

Dans le cas des acides phénoliques, la présence d'un second OH sur le cycle accroît leur pouvoir antioxydant et la position des groupements hydroxyles joue également un rôle sur l'efficacité: *para* > *ortho* > *méta* ou *ortho* = *para* > *méta* (30).

En réduisant un radical peroxyde en hydroperoxyde (Eq. I-13), un polyphénol se retrouve sous forme d'un radical aryloxyde qui évolue rapidement par dimérisation ou dismutation. Cette dernière requiert généralement la présence d'un noyau catéchol et s'accompagne de la formation d'une ortho-quinone avec régénération du polyphénol parent (voir Figure I-15).

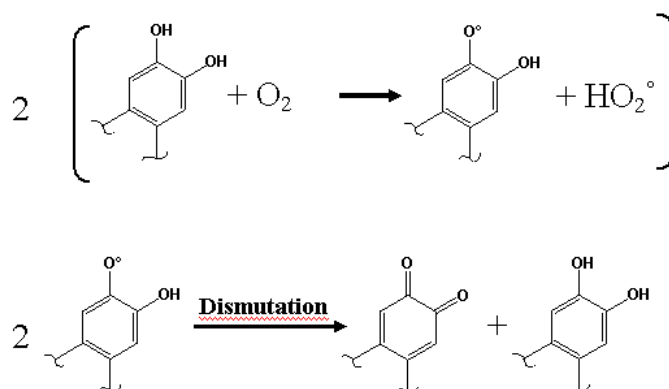
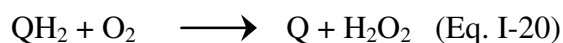


Figure I-15. Mécanisme d'oxydation d'un composé phénolique entraînant la formation d'une ortho-quinone

Les composés phénoliques sont également susceptibles de réagir avec le dioxygène (réaction d'autoxydation). Dans le cas d'un polyphénol à noyau catéchol (QH₂), la réaction est la suivante:



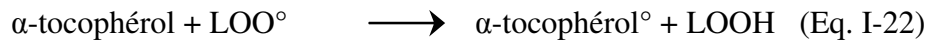
En présence de traces d'ions métalliques, le peroxyde d'hydrogène se décompose selon la réaction de Fenton (Eq. I-21). Le radical hydroxyle, fortement réactif, est ainsi formé.



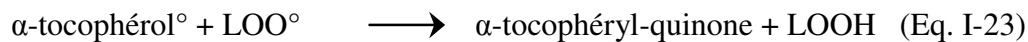
En plus de leur aptitude à capter les EOR, les composés phénoliques sont capables de chélater des ions métalliques initiateurs de la peroxydation lipidique. Au sein des systèmes biologiques, ils peuvent interagir avec des protéines spécifiques (kinases, facteurs de transcription impliqués dans la régulation de l'expression génique) et ainsi inhiber l'activité d'enzymes impliquées dans la production d'EOR (lipoxygénases, cycloxygénases, xanthine oxydase,...) ou stimuler l'expression de gènes codant pour des enzymes antioxydantes (32-33).

I.2.3.3. Mode d'action de la vitamine E

Les tocophérols inhibent la peroxydation lipidique en réagissant sur les radicaux peroxydes lipidiques avant qu'ils n'aient eu le temps d'oxyder une chaîne d'acide gras:



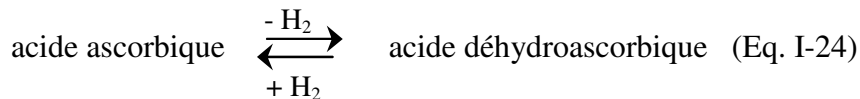
Le tocophérol brise ainsi la réaction en chaîne que constitue la peroxydation lipidique, et est lui-même converti en radical tocophéroxyde. Ce dernier est très instable et réagit instantanément avec un second radical peroxyde:



Le tocophérol peut également former des complexes moléculaires stables avec les radicaux peroxydes selon des mécanismes mal connus (13).

I.2.3.4 Mode d'action de la vitamine C

L'acide ascorbique est un très bon réducteur. Son pouvoir antioxydant serait en rapport avec l'interconversion réversible entre la forme réduite (acide ascorbique) et oxydée (acide déhydroascorbique).



Au cours de cette réaction un intermédiaire mono-oxydé instable est formé: le radical ascorbyle. Le mécanisme d'oxydation de l'acide ascorbique en acide déhydroascorbique est détaillé sur la Figure I-16.

Comme cela a déjà été évoqué, l'ascorbate est capable de régénérer le radical α -tocophéroxyde en α -tocophérol:



En tant qu'agent réducteur, l'ascorbate peut également réduire les ions fer et cuivre:



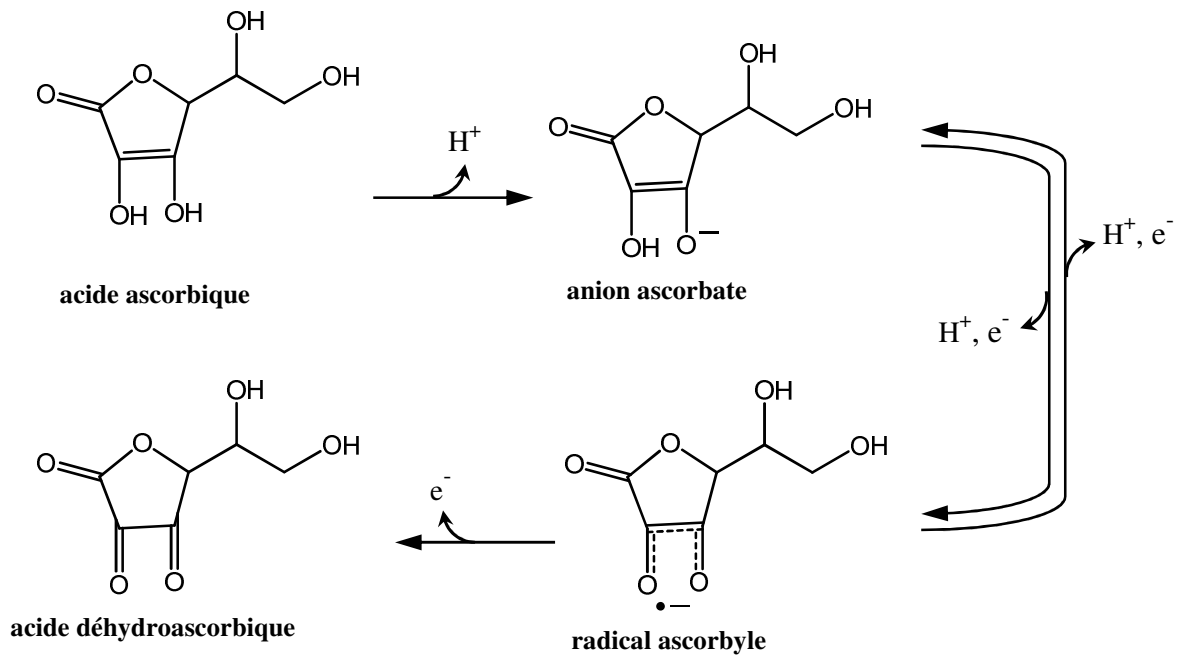


Figure I-16. Mécanisme d'oxydation de l'acide ascorbique

I.2.3.5. Effets d'interaction et d'association

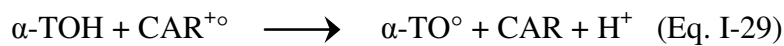
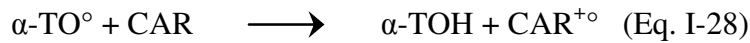
Dans les produits alimentaires, les microconstituants sont généralement présents en mélange. Dans ce cas, leur pouvoir antioxydant peut être accentué en fonction du milieu dans lequel ils se trouvent et des autres antioxydants présents avec lesquels ils vont interagir.

○ Interactions entre vitamine C et vitamine E

Le mécanisme de régénération du radical α -tocophéroxyl par l'ascorbate a déjà été évoqué (Eq. I-25). L' α -tocophérol est soluble en milieu apolaire contrairement à l'acide ascorbique; il inhibe ainsi l'oxydation lipidique plus efficacement que l'acide ascorbique. Grâce à la régénération, une molécule d' α -tocophérol pourra réagir plusieurs fois en tant qu'antioxydant briseur de chaîne.

○ **Interactions entre caroténoïdes et vitamine E et entre caroténoïdes et vitamine C**
(34)

Plusieurs hypothèses concernant le mécanisme d'interaction entre les caroténoïdes et l' α -tocophérol ont été proposées. Certaines évoquent une régénération de l' α -tocophérol par le caroténoïde (Eq. I-28) (35) et d'autres proposent une régénération du caroténoïde par l' α -tocophérol (Eq. I-29) (36).



L'hypothèse d'une régénération des caroténoïdes par l' α -tocophérol semble la plus probable. La régénération du tocophérol par les caroténoïdes est favorisée par la présence des deux composés dans le même milieu apolaire (35).

En présence d'ascorbate, les radicaux cations de caroténoïdes peuvent être réduits selon la réaction suivante (36-37):



Les caroténoïdes et la vitamine C ne sont pas solubles dans les mêmes milieux; l'interaction directe entre ces composés se fait alors à l'interface entre la phase aqueuse et lipidique.

L'ensemble des interactions ayant lieu entre les produits issus de la peroxydation lipidique, les caroténoïdes, l' α -tocophérol et l'acide ascorbique est présenté sur la Figure I-17.

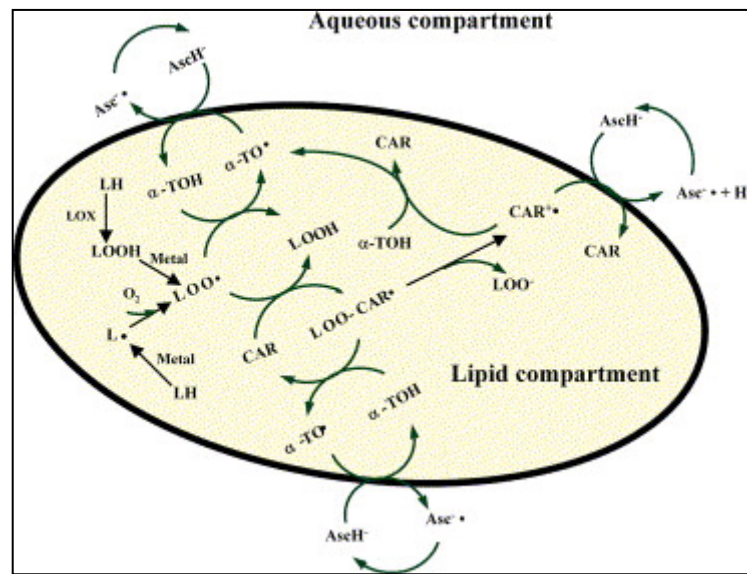


Figure I-17. Interactions entre les radicaux hydroperoxydes, les caroténoïdes, les radicaux cations de caroténoïdes, les radicaux α -tocophéroxydes et l'acide ascorbique en milieu biphasique. Par Krinsky et Yeum, 2003 (34).

○ **Interactions entre vitamine E et composés phénoliques**

Plusieurs études ont montré des effets de synergies entre les polyphénols du thé et l' α -tocophérol vis-à-vis de la peroxydation lipidique (38-40). Plus récemment, Goupy *et al.* ont observé une synergie entre l' α -tocophérol et la quercétine dans un milieu micellaire qui pourrait être due à une régénération des produits d'oxydation de la quercétine par l' α -tocophérol (41).

I.3. Les microconstituants dans l'organisme

I.3.1. Ingestion et absorption des microconstituants d'origine alimentaire

La digestion débute au niveau de la bouche où les aliments sont broyés et mélangés à la salive pour former le bol alimentaire. Ils descendent ensuite le long de l'oesophage et arrivent dans l'estomac. A leur arrivée dans l'estomac, les microconstituants sont toujours présents au sein de la matrice alimentaire et n'ont a priori pas encore subi de modification chimique majeure.

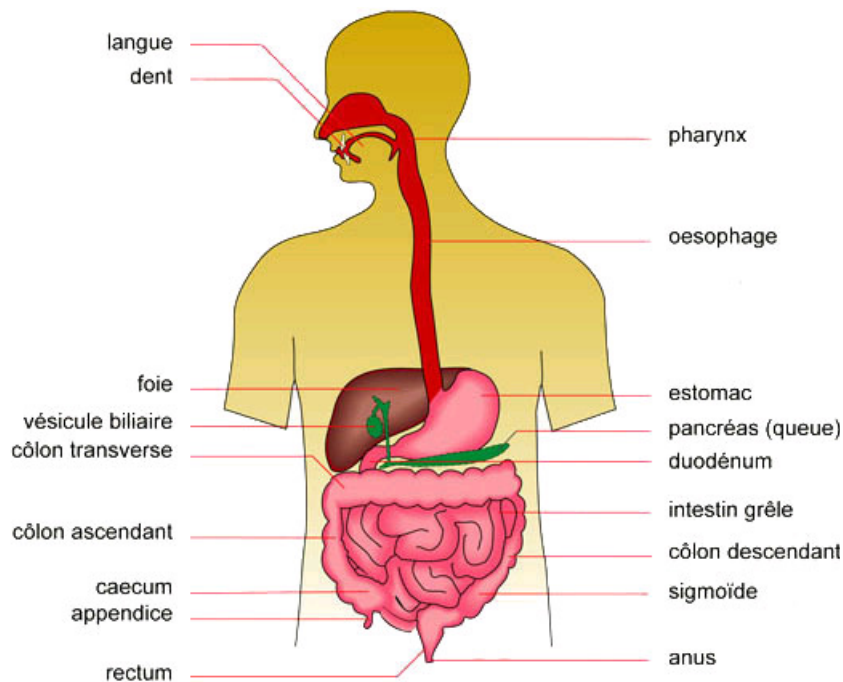


Figure I-18. Schéma de l'appareil digestif

Source : http://www.infovisual.info/03/057_fr.html

I.3.1.1. Les microconstituants dans l'estomac

Le bol alimentaire séjourne 2 à 4 heures dans l'estomac pour être partiellement digéré. Lors de ce séjour, il est mis en présence d'acide chlorhydrique, ce qui rend le pH du milieu fortement acide et facilite la destruction du tissu conjonctif et des membranes cellulaires des tissus préalablement ingérés. Le contenu cytoplasmique des cellules est alors répandu dans l'estomac entraînant avec lui les microconstituants antioxydants provenant des aliments.

Des enzymes actives à faible pH entrent en jeu: la pepsine qui dégrade les protéines et la lipase gastrique qui réduit les triglycérides en acide gras et en monoglycérides. De plus, le brassage stomacal résultant de la contraction de l'estomac permet la macération et le brassage des aliments avec le contenu des sécrétions gastriques. La présence de molécules amphiphiles (phospholipides par exemple), de protéines et d'acides gras au sein de ce "bioréacteur" permet l'émulsification du contenu gastrique. Les lipides se retrouvent ainsi sous forme de gouttelettes à l'intérieur desquelles migrent les microconstituants lipophiles tels que les caroténoïdes et la vitamine E (42).

Peu de cellules absorbantes sont présentes sur les parois de l'estomac. Seules l'eau et des molécules de petite taille (alcools par exemple) peuvent être absorbées à ce niveau du tube digestif et passer dans les capillaires sanguins. Concernant les microconstituants, plusieurs études récentes ont montré que les acides phénoliques peuvent être absorbés au niveau de l'estomac chez le rat (43-44). Cette absorption se ferait par l'intermédiaire de transporteurs membranaires spécifiques et, par ailleurs, les esters d'acides phénoliques, tel que l'acide chlorogénique, seraient absorbés sans être préalablement hydrolysés.

Une fois que le contenu de l'estomac a été partiellement digéré, il passe par le duodénum où le suc pancréatique (constitué de protéases, de lipases et d'amylases) continue la digestion. La bile, libérée par la vésicule biliaire, entre en contact avec ce mélange. Les sels biliaires réduisent la taille des gouttelettes lipidiques afin de faciliter leur digestion par la lipase et l'absorption des produits de lipolyse des lipides au niveau de la membrane de la muqueuse intestinale.

I.3.1.2. L'absorption des microconstituants au niveau de l'intestin

En sortie du duodénum, le contenu gastrique entre dans l'intestin grêle. C'est le lieu principal d'absorption des nutriments dans l'organisme. Il mesure 4 à 7 mètres de long et sa surface présente de nombreuses valvules, des plis et des villosités, rendant ainsi sa surface d'absorption maximale. De plus, le péristaltisme, qui se définit comme l'ensemble des contractions musculaires permettant la progression du contenu d'un organe creux, est lent au niveau de l'intestin. Ceci facilite les échanges.

Le glucose, les acides aminés, les acides gras à courtes chaînes et le glycérol traversent les cellules épithéliales de la muqueuse intestinale puis passent dans les capillaires sanguins alors que les acides gras à longues chaînes et les triglycérides (re-synthétisés dans les cellules intestinales) sont dirigés vers les vaisseaux lymphatiques. Dans la lymphe, les lipides sont transportés sous formes de lipoprotéines appelées chylomicrons vers le foie.

Selon leur polarité, les microconstituants seront dirigés vers les vaisseaux sanguins ou le système lymphatique après avoir traversé les cellules épithéliales. Leur absorption dans ces cellules peut se faire selon plusieurs mécanismes:

- **par diffusion passive** si l'absorption ne fait appel à aucun système spécialisé (passage proportionnel au gradient de concentration)
- **par diffusion facilitée** si l'absorption se fait par l'intermédiaire d'un transporteur membranaire
- **par transport actif** s'il existe un système spécialisé capable de transférer un constituant contre un gradient de concentration

Depuis plusieurs décennies, il est connu que la vitamine E passe la membrane cellulaire par diffusion passive. Selon une étude récente, elle pourrait également traverser la membrane par diffusion facilitée faisant intervenir le *scavenger receptor* de classe B type I (SR-BI) (45). De part son caractère lipophile, elle est associée à des chylomicrons au sein des cellules intestinales. Ces lipoprotéines passent ensuite dans le système lymphatique. L'absorption de la vitamine E est incomplète: environ 50 % de la quantité ingérée serait absorbée (13). En revanche, la vitamine C est presque totalement absorbée grâce à un transport actif qui devient passif à fortes doses. Après avoir traversé la membrane intestinale, la vitamine C passe dans la circulation sanguine. Elle circule sous forme libre dans le plasma (13).

Les composés phénoliques sont absorbés au niveau de l'intestin grêle sous forme native (46) ou après avoir été hydrolysés en aglycones par des enzymes intestinales ou par la microflore (30). Actuellement, les mécanismes de transport au niveau des cellules épithéliales sont mal

connus. Jusqu'à présent, seul un transport actif dépendant du sodium a été décrit chez le rat par Ader *et al.* (47). Une fois passés dans les entérocytes, les composés phénoliques sont conjugués avec des acides glucuroniques ou des sulfates, ou encore O-méthylés avant de se retrouver dans les vaisseaux sanguins (48). Ils circulent dans le sang liés à des protéines et plus particulièrement à l'albumine (30).

Les résultats d'études récentes suggèrent que l'absorption des caroténoïdes s'effectuerait par l'intermédiaire d'un transporteur membranaire (49). Les études sur modèles cellulaires et souris ont montré qu'un processus de diffusion facilité entre en jeu, faisant intervenir le *scavenger receptor* de classe B type I (SRB1) membranaire (50-51). Plusieurs facteurs pourraient accroître la vitesse d'absorption des caroténoïdes: une acidification du contenu de la lumière intestinale et une forte teneur en acide gras. La matrice alimentaire ainsi que la quantité de caroténoïdes ingérés et leur nature affectent également leur transfert (4, 49). Il a, par exemple, été montré que les isomères Z de lycopène seraient mieux absorbés que le E-lycopène (52-53).

Dans les entérocytes, les caroténoïdes sont incorporés aux chylomicrons. Ces lipoprotéines sont ensuite libérées dans le système lymphatique pour être envoyées vers les organes.

I.3.2. Implication des microconstituants dans le système de défense antioxydante *in vivo*

L'organisme humain produit en permanence des espèces oxygénées réactives (EOR): des radicaux hydroxyles (OH°), des radicaux superoxydes ($\text{O}_2^{\circ-}$), du peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) ou encore d'autres radicaux plus ou moins agressifs vis-à-vis des cellules. Grâce à un système complexe de détoxification, l'organisme est capable de les neutraliser: il existe ainsi un équilibre entre la production d'EOR et le système de défense antioxydant. Un déséquilibre en faveur des EOR caractérise l'état de stress oxydant qui peut entraîner des conséquences graves sur l'organisme. Les EOR en excès, s'attaquant aux lipides, aux protéines et à l'ADN de cellules, sont ainsi à l'origine de nombreuses pathologies (maladies cardio-vasculaires, cancers, maladies dégénératives, etc) (1, 54).

L'organisme a développé un système de défense très efficace qui limite la production de radicaux libres. Cette protection antioxydante peut être de nature enzymatique. Les enzymes entrent en compétition avec les cibles des EOR et limitent ainsi leur oxydation. La superoxyde dismutase, d'une part, qui réduit $\text{O}_2^{\circ-}$ en H_2O_2 , et la catalase et la glutathion peroxydase, d'autre part, qui réduisent les hydroperoxydes, sont les principales enzymes intervenant dans ce système de défense.

Des molécules non enzymatiques interviennent aussi dans ce système antioxydant. Elles sont très diverses: vitamines C, A et E, caroténoïdes, thiols (glutathion par exemple), l'ubiquinone, l'acide urique, etc (54). Certaines d'entre elles sont des microconstituants apportés par l'alimentation

Parmi les piègeurs de radicaux non enzymatiques, l'ascorbate est l'un des plus performants et parmi les plus abondants dans l'organisme. Il agit en captant les radicaux hydroxyles, peroxydes et superoxydes, ou en régénérant d'autres antioxydants comme le tocophérol (voir Figure I-16). La vitamine C protège ainsi les biomembranes et les lipoprotéines en piégeant les radicaux dans la phase aqueuse avant qu'ils initient la peroxydation lipidique (54). Grâce à plusieurs études, l'effet antioxydant de cette vitamine a été démontré *in vitro* (55-56). En revanche, les résultats des études épidémiologiques se sont avérés moins concluants: sur les 12 études cliniques présentées par Willcox *et al.* (56), 6 ne montrent aucun effet significatif de la vitamine C sur les maladies cardiovasculaires. Les 6 autres études montrent un effet protecteur de la vitamine C vis-à-vis de l'infarctus du myocarde, des maladies coronariennes

et des maladies cardio-vasculaires en général.

Plusieurs propriétés des composés phénoliques sont à l'origine de leurs effets antioxydants. Ils interviennent dans le mécanisme d'interruption de la chaîne de propagation des réactions radicalaires en cédant un hydrogène aux radicaux peroxydes (mécanisme présenté dans le paragraphe I.2.3.). Les composés phénoliques sont également capables de chélater les métaux de transition (Fe^{2+} , Cu^+) qui accélèrent fortement l'oxydation lipidique (Eq. I-9). Enfin, des enzymes telles que la lipoxygénase et la cyclo-oxygénase sont inhibées par certains composés phénoliques (30).

Les études impliquant les composés phénoliques réalisées *in vitro* montrent qu'ils possèdent un puissant pouvoir antioxydant (57-59). De même, l'effet protecteur des flavonoïdes vis-à-vis de l'oxydation des LDL (Low Density Lipoprotein) a été démontré à plusieurs reprises *in vitro* (58). D'autre part, des études réalisées sur animaux et *in vitro* suggèrent que les composés phénoliques pourraient aussi limiter le développement de cancers chez l'homme (58, 60).

Cependant, les études *in vivo* et épidémiologiques réalisées jusqu'à présent ne permettent pas de confirmer ces résultats (57-58, 61). Il faut également noter qu'une étude récente a mis en évidence la capacité de la quercétine-3-glucuronide (métabolite plasmatique majeur de la quercétine) à inhiber significativement l'oxydation des LDL *in vivo*. Par ailleurs, ce composé s'accumulerait dans les lésions athérosclérotiques et, par un mécanisme cellulaire complexe, limiterait la formation des cellules spumeuses impliquées dans la formation de la plaque d'athérome (62).

Parmi les microconstituants lipophiles ayant des propriétés de piégeage des EOR, la vitamine E joue un rôle essentiel. Grâce à son pouvoir réducteur des radicaux hydroxyles et peroxydes, elle interrompt la propagation de la peroxydation lipidique et protège les membranes cellulaires et les lipoprotéines (1). Il est important de noter que la vitamine E agit en synergie avec d'autres systèmes de défense antioxydants, en particulier la vitamine C, le glutathion et le sélénium. De même, une enzyme spécifique, glutathion dépendante, la tocophéryl réductase, est capable de réduire les radicaux tocophéryles en α -tocophérol (54). Des études de cohortes réalisées sur une large population (5000 à 87000 participants) et une durée relativement longue (4 à 16 années) suggèrent que la consommation de vitamine E protège des maladies coronariennes et de l'infarctus du myocarde (56).

Les caroténoïdes permettent eux aussi de lutter contre le stress oxydant en piégeant les

radicaux hydroxyles, peroxydes et alkyles. Du fait de leur association aux chylomicrons et aux lipoprotéines (LDL, HDL (High Density Lipoprotein) et VLDL (Very Low Density Lipoprotein)) au sein de la circulation sanguine, les caroténoïdes sont en première ligne pour protéger ces particules de l'oxydation. Les LDL oxydés, puis ingérés par des macrophages transformés, sont à l'origine des cellules spumeuses qui forment la plaque d'athérome dans l'intima de la paroi artérielle. Les caroténoïdes vont ainsi limiter les risques d'athérosclérose (63-64).

Des études ont été réalisées *ex vivo* sur des LDL prélevés sur des organismes animaux ou humains. Pour plusieurs de ces études, l'oxydation des LDL était moins importante quand les organismes étaient préalablement soumis à un régime riche en fruits et légumes, ou une supplémentation en caroténoïdes. Parmi les caroténoïdes étudiés, l' α -carotène, le β -carotène, la β -cryptoxanthine, la zéaxanthine et la lutéine se sont parfois avérés être d'efficaces antioxydants des LDL. Le lycopène, caroténoïde majoritaire dans le plasma humain, a une capacité à inhiber les EOR plus importante que celle du β -carotène et de la β -cryptoxanthine (24) et est supposé protéger efficacement les LDL au sein de l'organisme. Cependant, l'ensemble des résultats de ces études *ex vivo* n'a pas permis de conclure quant à l'effet protecteur des caroténoïdes vis-à-vis de l'oxydation des LDL *in vivo* (4, 65).

Plusieurs études cliniques réalisées sur une large population et sur une durée comprise entre 4 et 16 années ont montré un probable effet protecteur du β -carotène vis-à-vis des maladies cardio-vasculaires (56). D'autres études concernant le lycopène suggèrent que sa consommation (sous forme de produits à base de tomate) ou la présence de fortes teneurs en lycopène dans le plasma, limiterait les risques de maladies cardio-vasculaires (63). D'autres caroténoïdes ont fait l'objet de quelques études *in vivo*: l'astaxanthine, la lutéine, la zéaxanthine, l' α -carotène et la β -cryptoxanthine. Les résultats semblent indiquer des effets de protection du stress oxydant, mais étant donné le nombre limité d'études cliniques réalisées, il n'est pas possible, à l'heure actuelle, de conclure sur leur effets protecteurs au sein de l'organisme humain (63-64).

I.3.3. Implication des microconstituants dans la prévention de cancers

En plus des effets protecteurs des maladies cardio-vasculaires attribués aux microconstituants, des études ont démontré leur implication dans la protection de cancers. En effet, certains microconstituants induiraient des mécanismes cellulaires permettant de limiter le développement de cancers.

Plusieurs études épidémiologiques ont analysé les apports alimentaires en vitamine C et le risque de cancers. Celles-ci montrent que de faibles apports alimentaires sont corrélés à une augmentation du risque de survenue de certains cancers. Les résultats les plus significatifs concernent les cancers de l'estomac, de l'oesophage, de la cavité buccale, du pharynx et du sein. Au niveau moléculaire, l'acide ascorbique inhibe la formation de composés cancérigènes comme les nitrosamines et de mutagènes fécaux. En piégeant les EOR, il limite l'oxydation de l'ADN qui est à l'origine de cellules cancéreuses. Il est probable que la vitamine C soit à l'origine de régulations cellulaires qui limiteraient le développement de tumeurs. Toutefois, à ce jour, ces mécanismes n'ont pas été élucidés (13, 17).

Les propriétés anticancéreuses des composés phénoliques ont été mises en évidence dans de nombreuses études *in vitro* et sur animaux. Les résultats d'une étude menée par Yi *et al.*, ont suggéré que les composés phénoliques du vin muscadine inhibent la croissance de cellules cancéreuses du côlon (HT-29 et Caco-2). La fraction riche en anthocyanes présente une activité inhibitrice plus importante que la fraction phénolique. Ils induiraient l'apoptose des cellules selon un mécanisme encore mal connu (60). Les extraits riches en anthocyanes bloqueraient les phases G1/G0 et G2/M du cycle cellulaire. Par ailleurs, la cyanidine et la delphinidine sont de potentiels récepteurs membranaires de facteurs de croissance et inhibiteurs de la phosphodiesterase. Ils interfèrent ainsi avec différents signaux de réactions en cascade impliqués dans la régulation de la croissance des cellules cancéreuses.

Les effets de composés phénoliques du vin (catéchine, épicatechine, quercétine et resvératrol) ont également été testés sur des lignées cellulaires cancéreuses de la prostate (LNCaP, PC3 et DU145). Les 4 composés inhibent la prolifération de ces cellules en modulant par un mécanisme cellulaire leur production d'oxyde nitrique (66).

Les mécanismes cellulaires impliquant les flavonoïdes dans la protection des cancers sont divers. Ils inhiberaient l'action d'enzymes impliquées dans la prolifération des cellules lors de

la carcinogénèse (cycloxygénase, protéines kinases), d'enzymes productrices d'EOR ou encore d'enzymes contribuant à la synthèse de l'ADN. Ils peuvent également induire l'apoptose de cellules tumorales après inhibition de l'ADN topoisomerase II, ou une toxicité mitochondriale entraînant la mort des mitochondries (67). Ces modulations peuvent résulter d'une modification de la voie des signaux de transductions induite par des interactions entre les flavonoïdes et des récepteurs (aryl hydrocarbure par exemple) qui activent ou non les cytochromes P450 monooxygénases. Ces enzymes activent à leur tour un facteur de transcription et régulent ainsi la transcription cellulaire (68-69).

Bien que les résultats des études réalisées *in vitro* et sur animaux montrent des effets de protection des cancers par les composés phénoliques, les résultats des études épidémiologiques divergent (58, 61). A l'heure actuelle, il n'est donc pas possible de conclure quant à l'effet protecteur des composés phénoliques vis-à-vis des cancers.

Des études réalisées sur animaux et *in vitro* ont permis d'obtenir des informations sur les éventuelles propriétés anticancéreuses de la vitamine E. Celles-ci suggèrent que cette vitamine permettrait de limiter le développement de cellules malignes au sein des tissus, notamment ceux de la peau et de la bouche. L'inhibition par la vitamine E de la formation de nitrosamines ou d'autres composés potentiellement mutagènes ou carcinogènes pourrait expliquer ce phénomène. Par ailleurs en induisant une réponse immunitaire au sein de cellules cancéreuses, cette vitamine pourrait également entraîner une régression de la tumeur.

Les études épidémiologiques ont suggéré que des teneurs élevées en vitamine E dans l'organisme seraient associées à une réduction de l'apparition de cancers de la langue, de la tête, du cou et de mélanomes (17, 70).

Les effets protecteurs des caroténoïdes sur les cancers ont fait l'objet de nombreuses études. Les résultats d'études épidémiologiques ont permis d'associer la consommation de fruits et légumes riches en caroténoïdes à une réduction des risques de cancers de la prostate et de l'appareil digestif (70-74). Les propriétés anticancéreuses de certains caroténoïdes ont été particulièrement étudiées; c'est le cas du lycopène. Les études *in vitro* ont démontré que ce composé limite la prolifération de lignées de cellules cancéreuses induites par les facteurs IGF (Insulin-like Growth Factor). Il est supposé agir en inhibant la phosphorylation des protéines régulatrices (p53 et Rb anti-oncogènes) induisant ainsi l'arrêt de la division cellulaire (75). Un autre mécanisme d'action possible consiste en l'accroissement des communications entre les gap-jonctions (qui permettent la communication entre cellules voisines) entraînant une

inhibition du développement de la tumeur maligne (17, 76). Le lycopène inhiberait également la prolifération de cellules épithéliales non cancéreuses de la prostate (77). Les études cliniques impliquant le lycopène sont nombreuses, certaines ont montré des effets préventifs ou thérapeutiques vis-à-vis du cancer de la prostate mais l'ensemble des résultats ne permet pas de tirer des conclusions définitives sur les effets de ce caroténoïde (17, 71-72, 76).

II. La tomate, un produit aux qualités nutritionnelles avérées

II.1. Généralités

La **tomate** (*Solanum lycopersicum* L.) est une espèce de plante herbacée de la famille des solanacées, originaire du nord-ouest de l'Amérique du Sud, largement cultivée pour son fruit. Le terme désigne aussi ce fruit charnu, largement consommé dans de nombreux pays, frais ou transformé. Compte tenu de son importance économique, elle est l'objet de nombreuses recherches scientifiques et est considérée comme une plante modèle pour les études scientifiques sur les fruits charnus.

II.1.1. Histoire

La tomate est originaire du nord-ouest de l'Amérique du Sud où elle était déjà consommée par les aztèques. Elle fût introduite en Europe au début du XVI^e siècle par les Espagnols puis traversa les frontières européennes. Des recettes furent développées dans les pays méditerranéens, alors que dans les pays du nord de l'Europe, elle était plutôt considérée comme une plante ornementale jusqu'au XVIII^e siècle.

En France, l'introduction de la tomate fût lente et commença par la Provence. Sa diffusion s'accéléra à la fin du XVIII^e siècle et ce fruit entra peu à peu dans la composition de nombreux plats. La popularité croissante des tomates a eu comme conséquence le développement de nouvelles variétés. Au XX^e siècle, l'industrie de la tomate se développa peu à peu pour proposer des produits à base de tomate de plus en plus diversifiés (78-80).

II.1.2. Culture et conditions de récolte de la tomate

La tomate est cultivée dans de nombreux pays du monde et sous divers climats. Cette plante est capable de pousser sous des climats variés et des sols de plus ou moins bonne qualité. Son développement optimal requiert un climat tempéré chaud et des températures comprises entre 16 et 27 °C. L'intensité lumineuse joue également sur le développement de la plante et sa floraison, la durée du jour ayant une grande importance (80).

Sa culture fait appel à diverses techniques (en plein champ, sous abri léger, en serre, culture hydroponique, etc) dans le cadre de deux filières distinctes: la tomate de marché, pour la consommation en frais, et la tomate d'industrie pour la transformation. Les variétés destinées

à la transformation sont spécifiques puisque leurs caractéristiques répondent aux exigences de l'industrie. Elles sont cultivées en plein champ et doivent alors résister à des conditions climatiques particulières ainsi qu'aux pathologies et ravageurs affectant ce fruit. La récolte se fait, à maturation, de façon mécanique ce qui implique l'utilisation de variétés caractérisées par une croissance déterminée et une croissance groupée des fruits (78).

Les tomates destinées au marché du frais sont généralement cultivées en serre ou en plein champ. Elles se récoltent manuellement à un stade de maturité incomplet lorsque les fruits sont encore très fermes et peu colorés.

II.1.3. Contexte économique

II.1.3.1. Production

La tomate est la troisième espèce cultivée au monde en terme de volume de production, après la pomme de terre et la patate douce. En 2007, 126,2 millions de tonnes de tomates ont été produites dans le monde, dont près d'un quart proviennent de Chine (33,6 millions de tonnes). En Europe, l'Italie assure une grosse partie de la production (6,53 millions de tonnes en 2007) suivie par l'Espagne et la Grèce (respectivement 3,66 et 1,46 millions de tonnes) (81). La production française de tomates s'élevait en 2007 à 715 000 tonnes dont environ 40 % est destinée à la transformation (82). Les principaux bassins de production de notre pays sont le Sud-Est (Vaucluse, Bouches du Rhône, Gard, Drôme, Hérault), le Sud-Ouest (Lot et Garonne, Landes, Dordogne, Gironde, Tarn et Garonne) et la Bretagne (83).

II.1.3.2. Consommation

La tomate tient une place importante dans l'alimentation humaine. Elle se consomme soit crue, en salade, en mélange avec d'autres ingrédients, ou en jus, soit cuite dans d'innombrables préparations culinaires. En 2003, la consommation mondiale de tomates (fraîches et transformées) s'élevait à 102,8 millions de tonnes. La Chine en est le plus gros consommateur (25,27 millions de tonnes en 2003) suivie des Etats-Unis et de l'Inde (respectivement 10,11 et 6,84 millions de tonnes). Concernant la consommation par habitant, ce sont les Libyens et les Grecs qui consomment la plus importante quantité de tomate (respectivement 117 et 115 kg/an/habitant) (81). En France, la consommation de tomates fraîches s'élève à environ 12 kg

par personne et par an. Il s'agit d'un des fruits et légumes les plus consommé par les ménages français (84). En ce qui concerne la consommation des produits transformés, elle s'élevait, en 2008, à environ 16 kg/an/habitant en France contre 41 kg/an/habitant pour l'Italie, le plus gros consommateur européen.

II.1.3.3. La transformation de la tomate (85)

En 2008, près de 37 millions de tonnes de tomates ont été transformées dans le monde pour donner principalement des concentrés de tomate, mais aussi des sauces, des jus et des tomates en conserves. La Californie est la région où la transformation de tomate est la plus importante (10,7 millions de tomates en 2008). En Europe, l'Italie et l'Espagne sont les principaux transformateurs (4,9 et 1,7 millions de tonnes en 2008). La France est le 5^e pays transformateur d'Europe avec 125 000 tonnes de tomates transformées en 2008.

La gamme de produits transformés proposée par les industriels de la tomate est large (pulpes, sauces, concentrés, purées, condiments et plats préparés). Ceux-ci sont soit préparés à partir de produits frais, soit préalablement transformés industriellement (concentré conditionné en conserves le plus souvent). La consommation européenne de ces produits, et plus particulièrement de concentré de tomate, ne cesse de croître et représente un marché important.

II.2. Structure et composition

D'un point de vue botanique, la tomate est un fruit (baie), mais elle est cultivée et utilisée comme un légume. Ce fruit est constitué de trois parties: le péricarpe (comprenant la peau et la partie charnue), le gel contenu dans les loges et les graines (Figure I-19). La peau consiste en quatre à cinq couches de cellules de type épidermique ou hypodermique sous une fine cuticule (79).

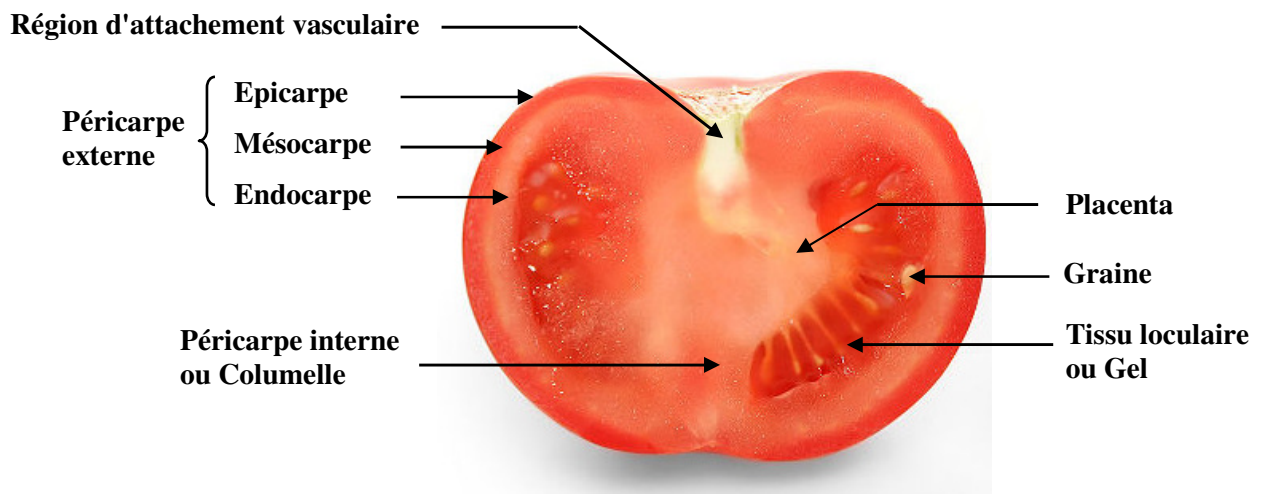


Figure I-19. Structure du fruit de tomate

Source : <http://en.wikipedia.org/wiki/Tomato>

La tomate est un fruit climactérique, ce qui signifie qu'au début de sa maturation, le fruit présente un pic de respiration caractéristique associé à un pic de dégagement d'éthylène (C_2H_4). A l'inverse, les fruits non climactériques tels que la fraise, le raisin, la cerise, ou encore le citron, se caractérisent par une respiration qui ralentit au cours de la maturation. L'éthylène est un gaz qui joue un rôle d'hormone de maturation des fruits (79, 86).

Au cours de sa maturation, la tomate change de couleur du fait de la dégradation de la chlorophylle et de la biosynthèse des caroténoïdes, passant du vert au blanc, puis au jaune, avant de revêtir peu à peu sa couleur rouge. L'importation des sucres de la plante et l'hydrolyse des réserves d'amidon du fruit entraînent une augmentation de la teneur en sucre lors de la maturation. L'acidité des fruits, due essentiellement à la présence des acides citrique et malique, est maximale au stage jaune puis diminue peu à peu. Ainsi, le goût du fruit se développe, tout comme la texture molle caractéristique des fruits mûrs, grâce à l'action

d'enzymes au niveau des parois cellulaires (79).

Tableau I-5. Teneurs des constituants majoritaires de la tomate (pour 100g de produit frais). Source: Tables de composition USDA (87).

Composés	Teneur	Composés	Teneur
Eau (%)	94,50	Acides aminés :	
Energie (Kcal)	18	Tryptophane (g)	0,006
Protéines (g)	0,88	Thréonine (g)	0,021
Lipides (g)	0,20	Isoleucine (g)	0,020
Centres (g)	0,50	Leucine (g)	0,031
Carbohydrates (g)	3,92	Lysine (g)	0,031
Fibres (g)	1,20	Méthionine (g)	0,007
Sucres (g)	2,63	Cystine (g)	0,011
Glucose (g)	1,25	Phénylalanine (g)	0,022
Fructose (g)	1,37	Tyrosine (g)	0,015
Minéraux :		Valine (g)	0,022
Calcium (mg)	10	Arginine (g)	0,021
Fer (mg)	0,27	Histidine (g)	0,013
Magnésium (mg)	11	Alanine (g)	0,024
Phosphore (mg)	24	Acide aspartique (g)	0,118
Potassium (mg)	237	Acide glutamique (g)	0,313
Sodium (mg)	5	Glycine (g)	0,021
Zinc (mg)	0,17	Proline (g)	0,016
Cuivre (mg)	0,059	Sérine (g)	0,023
Manganèse (mg)	0,114	Vitamines :	
Lipides :		Vitamine C (mg)	12,7
Acides gras saturés (g)	0,045	Thiamine (µg)	37
C16:0 (g)	0,033	Riboflavine (µg)	19
C18:0 (g)	0,013	Niacine (mg)	0,594
Acides gras monoinsaturés (g)	0,050	Acide pantothénique (µg)	89
C16:1 (g)	0,002	Vitamine B6 (µg)	80
C18:1 (g)	0,049	Folates (µg)	15
Acides gras polyinsaturés (g)	0,135	Vitamine A (µg)	42
C18:2 (g)	0,130	α-tocophérol (mg)	0,54
C18:3 (g)	0,005	γ-tocophérol (mg)	0,12
Phytosterols (mg)	7	Vitamine K (µg)	7,9
		Caroténoïdes :	
		α-Carotène (µg)	101
		β-Carotène (µg)	449
		Lycopène (µg)	2573
		Lutéine + Zéaxanthine (µg)	123

De nombreuses vertus nutritionnelles sont attribuées à la tomate. De part sa forte teneur en divers microconstituants antioxydants, aspect détaillé plus loin, elle protègerait de nombreuses pathologies. D'autres constituants, comme les minéraux et les fibres, ont également leur importance. Les minéraux et les vitamines sont considérés comme des micronutriments, par définition, indispensables au bon fonctionnement de l'organisme. Quant aux fibres, leur consommation stimule la digestion et facilite le transit intestinal; elles limiteraient, par ailleurs, les risques de maladies cardio-vasculaires, de cancers et du diabète de type 2 (88-93).

Il faut noter que la composition des tomates fraîches de différentes variétés peut varier significativement, en particulier en fonction des cultivars. (94). De même, les conditions de culture (techniques agricoles et facteurs environnementaux) et de conservation post-récolte peuvent entraîner des variabilités de composition au sein d'un même cultivar (95-97). Par exemple, une exposition à d'importantes radiations lumineuses lors de la croissance du fruit permettrait d'accroître les teneurs en caroténoïdes et vitamine C (98).

II.3. Les microconstituants antioxydants de la tomate

A la suite de nombreuses études épidémiologiques, la tomate et les produits à base de tomate ont été suspectés de limiter les risques de maladies cardio-vasculaires et de cancers (70, 72, 99). Ces propriétés nutritionnelles seraient dues en grande partie à la présence de microconstituants antioxydants (caroténoïdes, vitamines et composés phénoliques). Parmi ces constituants, le lycopène est systématiquement considéré puisque la tomate est, dans l'alimentation des pays développés, la principale source de lycopène. La tomate est également reconnue pour sa richesse en vitamine C et la grande diversité de composés phénoliques qu'elle contient.

II.3.1. Les caroténoïdes

II.3.1.1. Diversité des caroténoïdes de la tomate

Le caroténoïde retrouvé majoritairement chez les tomates rouges est le (*E*)-lycopène qui constitue leur principal pigment. Le lycopène sous ses formes *Z* peut également être retrouvé dans de faibles proportions dans ces tomates. Le β -carotène et l' α -carotène, des micronutriments possédant une activité pro-vitaminique A, sont eux aussi présents dans de nombreuses variétés de tomates principalement sous la forme *E*. Par ailleurs, des intermédiaires de la biosynthèse du lycopène (phytoène, phytofluène, neurosporène et ζ -carotène) mais également de faibles quantités de lycoxanthine et de γ - et δ -carotène ont été identifiés. On peut aussi noter la présence de xanthophylles: la lutéine, la néoxanthine et la violaxanthine (100-103).

D'autre part, des produits issus de l'oxydation du lycopène peuvent être présents dans les tomates fraîches, notamment le 1,2-époxy-lycopène et le 5,6-époxy-lycopène (103) ainsi que des produits de coupure (apo-6', apo-8', apo-10', apo-12' et apo-14'-lycopénals) (103-104).

Enfin, certaines variétés caractéristiques contiennent des composés particuliers comme le (7,7',9,9'-tetra-*Z*)-lycopène, le caroténoïde majoritaire de la tomate tangerine (105).

Les principaux caroténoïdes identifiés dans les tomates fraîches ont été quantifiés. Les teneurs répertoriées par plusieurs études sont présentées dans le Tableau I-6. Ces teneurs sont très variables, comme nous l'avons déjà souligné, les conditions de culture (date de récolte dans

l'année, ensoleillement, température, qualité du sol, etc) peuvent affecter grandement la teneur en caroténoïdes. Par ailleurs, la composition en caroténoïdes de cultivars différents peut varier énormément.

Tableau I-6. Teneurs des principaux caroténoïdes identifiés dans les tomates fraîches.

Caroténoïde	Teneurs (mg/100g de produit frais)	Références
Lycopène (<i>E+Z</i>)	0,11-17,5	(87, 96, 100, 102, 106-107)
β -Carotène (<i>E+Z</i>)	0,08-1,06	(87, 96, 100, 106)
γ -Carotène	0,01-0,07	(96, 100, 106)
ζ -Carotène	0,01-0,90	(100)
Phytoène	0,01-1,92	(96, 100, 106)
Phytofluène	0,04-1,05	(96, 100, 106)
Lutéine	0,01-0,20	(100, 106)
Neurosporène	0,01-0,05	(96, 100, 106)
1,2-Epoxy-lycopène	0,03-0,17	(100, 106)

II.3.1.2. Localisation des caroténoïdes dans le fruit de tomate

Après analyse de différentes parties de fruits de tomates (peau, pulpe et pépins) de plusieurs cultivars, Toor et Savage ont montré que la majorité du lycopène se trouve dans la peau et la pulpe, la peau étant 3 fois plus concentrée en lycopène que la pulpe (108). De même, Moco *et al.* ont quantifié des xanthophylles et des carotènes de la tomate à plusieurs stade du développement, et ceci dans les différents tissus du fruit. Les xanthophylles (néoxanthine, violaxanthine et lutéine) ont été détectés dans toutes les parties du fruit et sont majoritairement présents au sein de la région vasculaire, du placenta et de la columelle. Le β -carotène a lui aussi été détecté dans tous les tissus. Il est présent de façon relativement homogène dans le fruit (101).

II.3.1.3. Biosynthèse des caroténoïdes de la tomate

Les caroténoïdes sont des métabolites secondaires issus du métabolisme des terpènes. Leur synthèse se fait au niveau des tissus photosynthétiques, plus précisément dans les chromoplastes, des organites présents à l'intérieur des cellules des fruits où le lycopène et le β -carotène seraient présents sous forme de cristaux (102). Ce processus de biosynthèse est représenté sur la Figure I-20. Le composé indispensable à la synthèse de tous les caroténoïdes est l'isopentényl pyrophosphate (IDP) qui, suite à des réactions d'isomérisation et de condensation, forme le phytoène. Ce dernier est à l'origine de tous les autres caroténoïdes. Ainsi, par l'intermédiaire de réactions de désaturation, d'oxydation, de cyclisation et de réarrangement impliquant de nombreuses enzymes, l'ensemble des carotènes et xanthophylles de la tomate sont synthétisés.

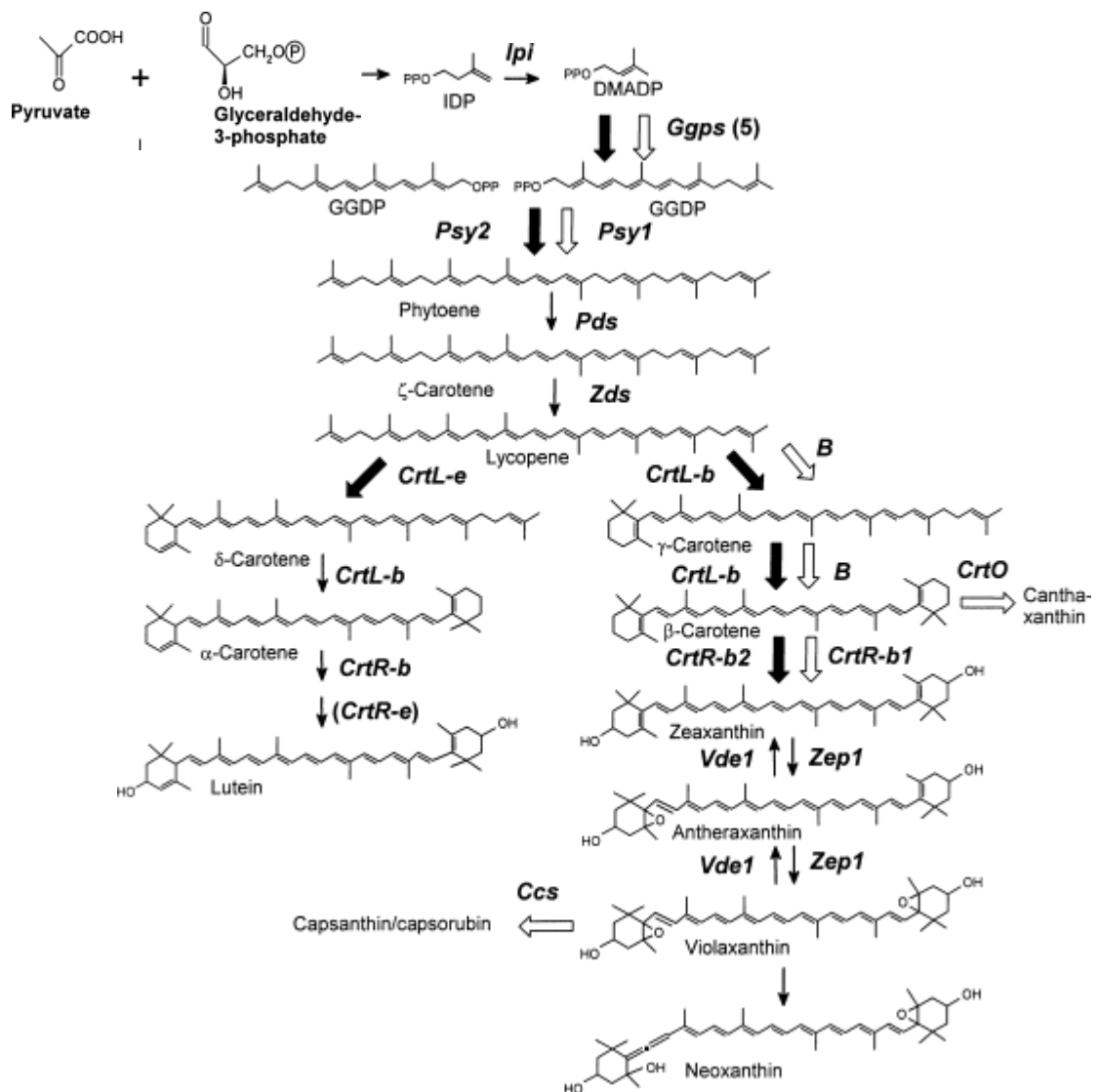


Figure I-20. Schéma de la biosynthèse des caroténoïdes dans les fruits de tomate. Selon van den Berg *et al.* 2000 (109).

Abréviations : Ccs : capsanthine-capsorubine synthase; CrtL-b : lycopène-β-cyclase; CrtL-e : lycopène-ε-cyclase; CrtO : β-C-4-oxygénase (cétolase); CrtR-b : β-ring hydroxylase; CrtR-e : ε-ring hydroxylase; DMADP : diméthylallyl diphosphate; GGDP : géranylgeranyl diphosphate; Ggps : géranylgeranyl diphosphate synthase; IDP : isopentényl pyrophosphate; Ipi : IDP isomérase; Pds : phytoène désaturase; Psy : phytoène synthase; Vde : violaxanthin dé-époxydase; Zds : ζ-carotène désaturase; Zep : zéaxanthin époxydase

II.3.2. Les composés phénoliques

II.3.2.1. Diversité des composés phénoliques de la tomate

Une grande diversité de composés phénoliques a été identifiée dans la tomate. Ce sont principalement des acides hydroxycinnamiques, des flavonols et des flavanones, presque tous sous forme glycosylée.

En 2006, Moco *et al.* ont mis en place une base de données qui a permis d'en répertorier plus de 70 différents (110). Certains flavonoïdes ont été identifiés avec précision, notamment les dérivés du kaempferol, de la quercétine et de la naringénine, ainsi que la forme aglycone de la naringénine (111-113). Ils sont présentés dans le Tableau I-7. Par ailleurs, Slimestad *et al.* ont retrouvé une dihydrochalcone dans des fruits de tomates de plusieurs cultivars. Ce composé a été identifié comme étant la phlorétine-3',5'-di-C-glucoside (111).

Parmi les acides hydroxycinnamiques de la tomate, ont été identifiés des glycosides des acides *p*-coumarique, caféique et férulique, des acides caféoylquiniques (chlorogéniques), *p*-coumaroylquiniques et féruloylquiniques et un conjugué entre l'acide coumarique et la rutine. Des acides di- et tricaféoylquiniques ont également été retrouvés (101, 110, 114).

Le fruit de tomate contient également des alcaloïdes dont le plus connu est la tomatine (tomatidine 3-O- β -lycotetraoside). En 2004, d'autres alcaloïdes ont été caractérisés dans les fruits de tomate: les esculéosides A et B (115), puis les isoesculéogénine A et esculéogénine B l'année suivante (116) et les esculéosides C et D plus récemment (117).

Tableau I-7. Flavonoïdes identifiés dans les tomates fraîches (110-112).

Classe de flavonoïde	Aglycone	Composés identifiés
Flavonol	Quercétine	Rutine (quercétine-3-rutinoside)
		Quercétine-3-O-trisaccharide
		Isoquercitrine (quercétine-3-O-glucoside)
		Quercétine-3-O-(2"-O- β -apiofuranosyl-6"-O- α -rhamnopyranosyl- β -glucopyranoside)
	Kaempférol	Dihydrokaempférol-O-hexoside
		Kaempférol-3-O-rutinoside
		Kaempférol-3-7-di-O-glucoside
		Kaempférol-3-O-rutinoside-7-O-glucoside
		Astragaline (kaempférol-3-O-glucoside)
	Myricétine	Myricitrine (myricétine-3-O-rhamnoside)
Flavanone	Naringénine	Naringénine aglycone
		Naringénine chalcone aglycone
		Prunine (naringénine-7-O-glucoside)
		Naringénine chalcone-O-glucoside
		Naringine (naringénine-7-O-néohespéridoside)
	Phlorétine	Phlorétine-3',5'-di-C-glucoside
Anthocyanidine	Delphinidine	Delphinidine-3-O-rutinoside-5-O-glucoside
		Delphinidine-3-O-(<i>p</i> -coumaroyl)-rutinoside-5-O-glucoside
		Delphinidine-3-O-(caféoyl)-rutinoside-5-O-glucoside
	Pétunidine	Pétunidine -3-O-rutinoside-5-O-glucoside
		Pétunidine -3-O-(<i>p</i> -coumaroyl)-rutinoside-5-O-glucoside
		Pétunidine -3-O-(caféoyl)-rutinoside-5-O-glucoside
	Malvidine	Malvidine-3-O-rutinoside-5-O-glucoside
		Malvidine-3-O-(<i>p</i> -coumaroyl)-rutinoside-5-O-glucoside
		Malvidine-3-O-(caféoyl)-rutinoside-5-O-glucoside

Etant donné la diversité des composés phénoliques présents dans les tomates et le manque de standards disponibles dans le commerce, leur quantification a généralement été réalisée grâce à des méthodes de dosage globales. Seuls les composés majoritaires, et pour lesquels des étalons sont disponibles, ont pu être quantifiés. Les teneurs en acide chlorogénique, rutine et naringénine mesurées dans des tomates fraîches sont présentées dans le Tableau I-8.

Tableau I-8. Teneurs de quelques composés phénoliques dans des tomates fraîches (114, 118)

Composé phénolique	Teneurs (mg/100g de matière sèche)
Acide chlorogénique	3,67 - 21,0
Rutine	19,8 - 31,23
Naringénine	0 - 22,48

II.3.2.2. Localisation des composés phénoliques dans le fruit de tomate

Selon plusieurs études, les flavonoïdes seraient principalement concentrés au sein de l'épicarpe (101, 113, 119). Cependant, ce tissu est présent dans de faibles proportions par rapport à l'ensemble des tissus du fruit; il contribuerait alors moins que la pulpe à la teneur globale du fruit en flavonoïdes (101, 108, 113). La forte concentration de ces composés au sein du tissu épidermique peut s'expliquer par l'intensité des radiations lumineuses reçues par les cellules de l'épicarpe, qui stimulent la synthèse de ces polyphénols. Par ailleurs, les flavonoïdes pourraient jouer un rôle de protection vis-à-vis des pathogènes et du stress environnemental, dû par exemple à la sécheresse ou aux rayonnements ultra-violets (94, 101). Les acides phénoliques ont été détectés dans toutes les parties du fruit. Les acides caféoylquiniques sont majoritairement présents dans l'épicarpe alors que les acides féruliques, coumariques et caféiques glycosylés se répartissent entre le gel, l'épiderme et la région d'attachement vasculaire.

II.3.2.3. Biosynthèse des composés phénoliques de la tomate

La phénylalanine et la tyrosine, deux acides aminés aromatiques, sont à l'origine de la formation de la plupart des composés phénoliques chez les végétaux. Ces deux composés sont eux-mêmes formés à partir de sucres simples issus du métabolisme primaire par la voie de l'acide shikimique (voir Figure I-21). Par désamination, la phénylalanine donne le précurseur immédiat des phénols: l'acide cinnamique. Ce composé n'est pas encore phénolique mais est à l'origine de la synthèse de tous les acides hydroxycinnamiques. Les formes esters de ces acides avec le coenzyme A, jouent un rôle dans le métabolisme des végétaux et sont à l'origine des principales classes de composés phénoliques: acides benzoïques, anthocyanes,

coumarines, lignines et flavonoïdes.

Chez le fruit de tomate, ce sont principalement des réactions intervenant dans les voies de synthèse des dérivés des acides hydroxycinnamiques et des flavonoïdes qui ont lieu.

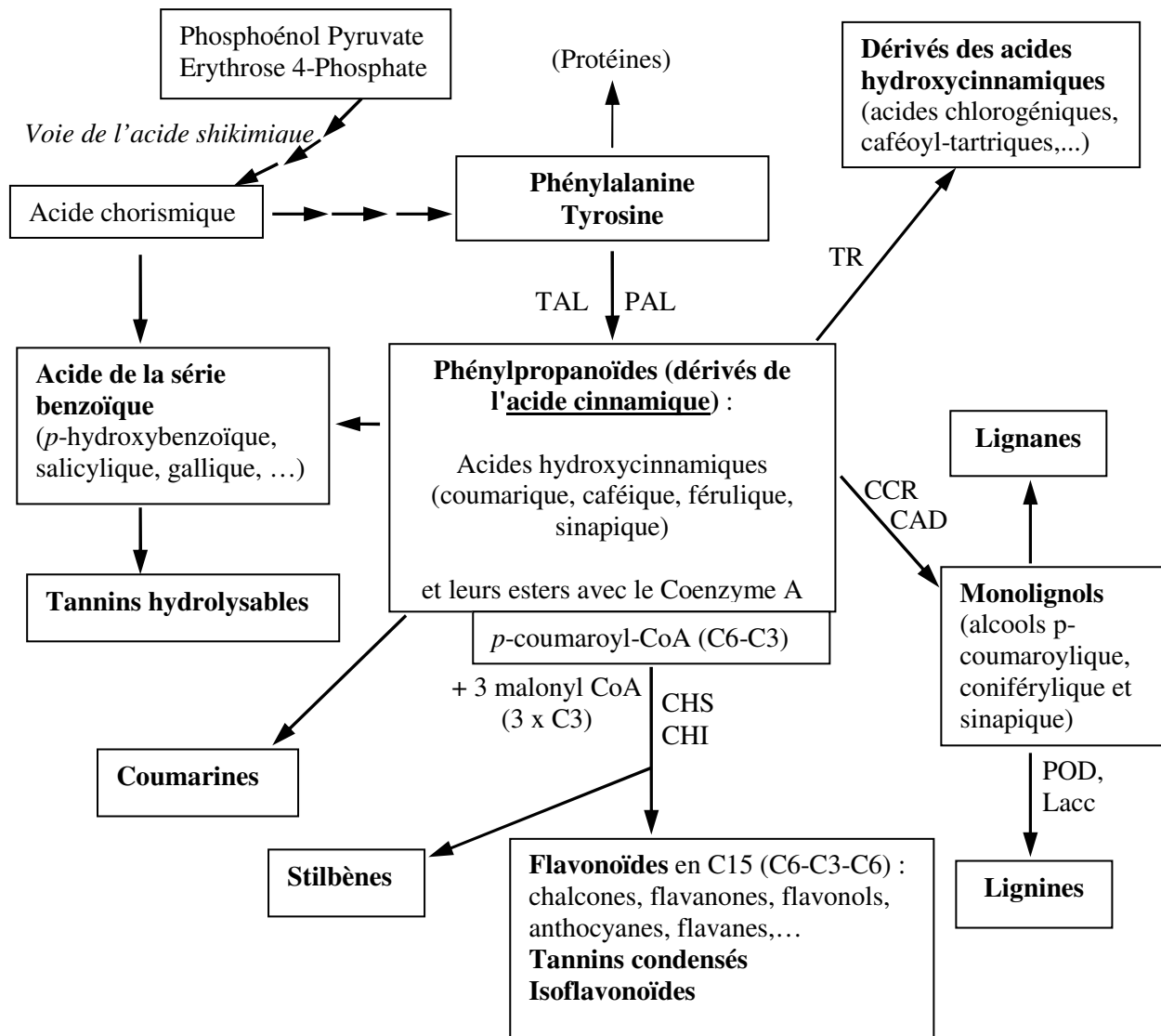


Figure I-21. Les grandes lignes de la biosynthèse des principaux groupes de composés phénoliques. D'après Macheix *et al.* 2005 (5).

Abréviation des principales enzymes : PAL : phénylalanine ammonialyase ; TAL : tyrosine ammonialyase ; CCR : cinnamate CoA réductase ; CAD : cinnamyl alcool déshydrogénase ; CHS : chalcone synthase ; CHI : chalcone flavanone isomérase ; POD : peroxydases ; Lacc : laccases ; TR : transférases.

II.3.3. Les vitamines

La tomate est reconnue pour sa richesse en vitamine C (forme réduite et oxydée). Par ailleurs, ce fruit contient aussi des vitamines A, B, K et E. Parmi les vitamines B, sont principalement retrouvées la thiamine (B1), la riboflavine (B2), la niacine (B3), l'acide panthoténique (B5), la vitamine B6 et les folates (B9), dont les teneurs données par les tables de composition USDA sont présentées dans le Tableau I-5.

Ce sont essentiellement les vitamines C et E qui ont été étudiées dans les fruits de tomate.

II.3.3.1. La vitamine E

L' α -tocophérol est la forme de vitamine E majoritairement retrouvée dans les tomates fraîches. Les autres formes du tocophérol (β -, γ - et δ -) sont également présentes mais dans des proportions plus faibles. Les teneurs en vitamine E varient beaucoup en fonction des variétés de tomate et des dates de récolte (96, 98).

La biosynthèse du tocophérol a lieu au sein des plastides et se fait à partir de 2 précurseurs: l'acide homogentisique (HGA), qui résulte de la voie des acides shikimiques, et le phytyldiphosphate (PDP) résultant de la voie du méthyl-érythritol phosphate. La synthèse de l' α -tocophérol se fait à partir du γ -tocophérol et celle du β -tocophérol à partir du δ -tocophérol (120).

Au sein du fruit, la vitamine E est répartie dans les différents tissus mais c'est dans les graines que les concentrations les plus importantes sont retrouvées. Or, elles ne sont pas digérées par l'organisme et la tomate contribue donc peu aux apports en vitamine E (96, 98).

II.3.3.2. La vitamine C

A la différence de la vitamine E, la tomate fraîche apporte des quantités non négligeables de vitamine C sous les formes oxydée (DHAA) et réduite (AA). Les teneurs en vitamine C totale sont variables selon les variétés et les conditions de culture; elles sont généralement comprises entre 7 et 30 mg/100g (de matière fraîche) mais peuvent atteindre 70 mg/100 g pour des tomates cerises (106, 121-122). Les proportions d'acides ascorbique (AA) et déhydroascorbique (DHAA) varient également en fonction des cultivars et des conditions environnementales. La forme oxydée pourrait représenter 0 à 85 % de la vitamine C totale et même atteindre 90 % lorsque les fruits sont cultivés sous un climat chaud. Ces variations s'expliquent par le fait qu'une modification des conditions environnementales est susceptible d'induire un changement de l'état redox du système AA/DHAA. Ce système pourrait jouer le rôle d'une sonde, entraînant une modulation du métabolisme cellulaire et de la sensibilité aux hormones en réponse à des facteurs extérieurs (94, 106).

Des analyses réalisées sur les différentes parties de fruits de tomate ont permis de localiser la vitamine C. Elle est présente dans tous les tissus mais surtout concentrée au niveau de l'épiderme. Cette concentration au sein des cellules de l'épiderme peut s'expliquer par la présence, dans de fortes proportions, d'une enzyme impliquée dans la biosynthèse de l'acide ascorbique: la guanidine diphosphate-mannose pyrophosphorylase (GMP) (101, 108).

Dans les cellules de tomate, les précurseurs de l'acide ascorbique sont le glucose-6-phosphate ou le D-galacturonate. La voie de biosynthèse de cette vitamine est présentée sur la Figure I-22.

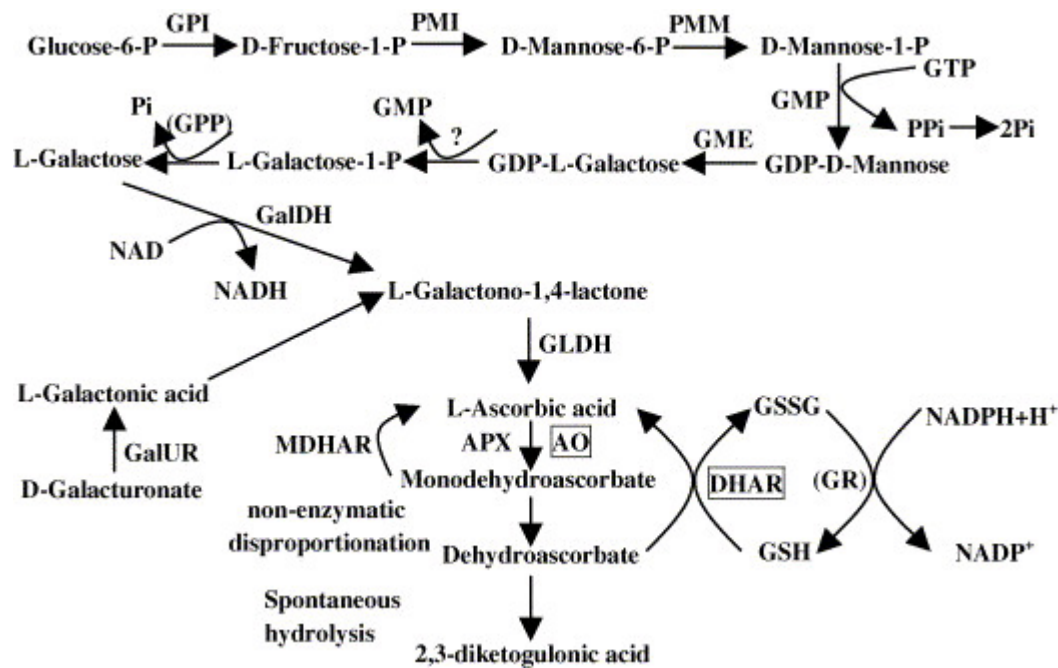


Figure I-22. La biosynthèse de l'acide L-ascorbique et la voie d'oxydation dans la tomate. D'après Zou *et al.* 2006 (123).

Les enzymes qui n'ont pas encore été caractérisées sont indiquées par un point d'interrogation.

Abréviations: GPI: glucose-6-phosphate isomérase; PMI: phosphomannose isomérase; PMM: phosphomannose mutase; GMP: GDP-mannose pyrophosphorylase; GME: GDP-mannose-3,5-épimérase; GPP: L-galactose-1-phosphate phosphatase; GalDH: L-galactose déhydrogénase; GLDH: L-galactono-1,4-lactone déhydrogénase; DHAR: déhydroascorbate réductase; MDHAR: monodéhydroascorbate réductase; APX: ascorbate peroxydase; AO: ascorbate oxydase; GalUR: acide D-galacturonique réductase; GR: glutathion réductase; GDP: guanidine diphosphate.

III. Impact des procédés de transformation et de la conservation sur la qualité nutritionnelle des produits à base de tomate

La tomate est un produit riche en microconstituants qui est consommé frais ou utilisé pour la préparation de produits transformés (concentrés, sauces, pulpes, etc). Au cours de leur préparation, ces produits sont soumis à des traitements thermiques, plus ou moins intenses, susceptibles de dégrader leur qualité nutritionnelle originelle. Par ailleurs, les réactions initiées au cours de la transformation peuvent se poursuivre lors de la conservation et avoir des conséquences sur les qualités organoleptiques des produits. La compréhension de ces réactions revêt ainsi un intérêt particulier pour les industries de la conserve qui souhaitent les limiter. Afin de palier à ces problèmes, de nouvelles technologies ont été mises en place; elles permettent, dans certains cas, de préserver les propriétés nutritionnelles et organoleptiques des produits.

III.1. Les procédés de transformation industriels

III.1.1. De la tomate au concentré

A leur arrivée sur le lieu de la transformation, les tomates sont lavées, triées selon leur taille puis pelées. Elles sont ensuite broyées puis soumises à un premier traitement thermique (préchauffage) qui varie selon le produit désiré. Le plus souvent, les concentrés sont préparés selon un procédé dit "Hot Break" qui implique une température de 90 °C ou plus. Dans ces conditions, les enzymes de la tomate sont inactivées, ce qui a des conséquences sur la texture et la saveur du produit final. Cette méthode est généralement utilisée pour la préparation de produits visqueux et pâteux, comme par exemple le concentré de tomate. L'autre procédé, dit "Cold Break", est utilisé pour la préparation d'aliments plus liquides, comme par exemple le jus de tomate. La température de chauffage est plus basse (jusqu'à 70 °C), permettant de maintenir les enzymes actives. En particulier, les enzymes pectinolytiques (pectine méthylestérase et endopolygalacturonase) permettront d'abaisser la viscosité du produit. Une fois l'étape de préchauffage terminée, le produit est tamisé afin d'éliminer les particules de peau restantes et les pépins. Il est ensuite concentré puis pasteurisé. La concentration consiste à réduire la teneur en eau grâce à un chauffage sous vide jusqu'à obtention d'un taux de 28-30 % de solides solubles pour des doubles concentrés, voire 36 à 45 % pour des concentrés plus

épais. Le conditionnement du produit, peut se faire avant ou après la pasteurisation (78, 124-125).

Ce procédé est utilisé pour la préparation de concentré, mais peut également servir à produire du jus, de la pulpe, de la purée de tomate et des sauces en période de production des tomates fraîches. Dans ce cas, l'étape de concentration est inexistante ou très courte, et d'autres ingrédients peuvent être ajoutés, en particulier pour la préparation de sauces.

III.1.2. Utilisation du concentré pour la préparation d'autres produits

Le concentré de tomate peut être considéré comme un produit "semi-fini" car il entre dans la préparation de nombreux produits industriels, en particulier des jus, des sauces ou encore des soupes. La préparation de ces aliments se fait, le plus souvent, à partir de concentré dilué et mélangé à d'autres ingrédients, qui varient selon le produit désiré (oignons, huile, sucre, sel, épices, etc). Le mélange subit un traitement thermique et, éventuellement, une étape d'homogénéisation à chaud permettant d'épaissir le produit. Il est ensuite conditionné puis pasteurisé (78).

III.2. Effets des procédés de transformation

III.2.1. Impact sur la matrice alimentaire

Lors de la préparation du concentré, les tomates sont broyées puis le produit est chauffé, ce qui a comme conséquence une modification de la matrice végétale initiale. Tibäck *et al.* (126) ont suivi l'évolution des cellules de tomate lors du broyage et du chauffage grâce à un microscope électronique. A la suite du broyage seul, des amas de cellules, des cellules seules et des morceaux de cellules sont observables; les parois cellulaires ne semblent pas affectées. Après le chauffage (20 minutes à 100 °C), des cellules entières sont toujours présentes mais des pectines, initialement présentes dans les parois cellulaires, se sont dispersées vers le milieu.

Ces pectines sont des polymères de polysaccharides acides, qui ont un rôle de maintien du tissu végétal. En solution dans un milieu aqueux, elles forment un gel qui va accroître la consistance du produit. Elles sont toutefois altérées par un chauffage prolongé qui entraîne une dépolymérisation et une destruction du gel (126-127).

La viscosité d'un concentré de tomate dépend de plusieurs paramètres: la température de préchauffage qui va inactiver, ou non, les enzymes pectinolytiques et la durée du traitement thermique (lors d'un procédé Hot Break) qui peut dégrader les pectines par β -élimination ou hydrolyse acide (126). La qualité des tomates utilisées a également son importance puisque la teneur en solides solubles et insolubles et la distribution de taille des particules au sein du produit vont influencer ses propriétés rhéologiques (128-129).

Le concentré de tomate est souvent utilisé pour la préparation de sauces tomate ou de ketchups. Les caractéristiques rhéologiques de ces derniers vont dépendre en grande partie de la qualité du concentré utilisé mais aussi de paramètres du procédé comme la quantité de concentré ajoutée et du degré d'homogénéisation pour les ketchups (130-132). Par ailleurs, la texture du produit peut aussi être modifiée par l'ajout d'épaississants comme, par exemple, l'amidon modifié.

La viscosité des produits à base de tomate a largement été étudiée car leur consistance est, avec la couleur et la flaveur, un paramètre qui caractérise majoritairement la qualité du produit du point de vue des consommateurs (125, 133).

III.2.2. Evolution des microconstituants au cours des procédés

III.2.2.1. Les caroténoïdes

De nombreuses études se sont intéressées à l'évolution des caroténoïdes, et en particulier du lycopène, au cours de la préparation des produits à base de tomate.

Ce composé est susceptible de s'oxyder ou de s'isomériser du fait des traitements thermiques qu'il subit, comme l'ont montré plusieurs auteurs. Deux études ont suivi le devenir du lycopène dans des tomates ou des tomates broyées cuites au four et à la poêle en présence d'huile (de tournesol ou d'olive) pour ce second traitement (134-135). La teneur en lycopène diminue bien plus lors de la cuisson à la poêle, ce qui peut s'expliquer par une accélération de l'oxydation due aux hydroperoxydes provenant de l'huile. Par ailleurs, la disparition du lycopène s'accélérerait avec une augmentation de la température et un allongement de la durée du traitement. Au cours d'autres études, l'évolution du (*E*)-lycopène a été suivie pendant la préparation de concentré et de jus dans des conditions industrielles (136-137). Celui-ci semblait significativement affecté seulement lors de l'étape de concentration et pasteurisation

pour le concentré et pendant l'homogénéisation pour le jus. Il faut noter que pour d'autres études, les résultats sont très différents et viennent contredire le fait que les procédés dégradent le lycopène. Par exemple, Capanoglu *et al.* (114) ont observé des teneurs en (*E*)-lycopène relativement stables au cours des différentes étapes de la préparation industrielle de concentré. Quant aux résultats de Abushita *et al.* (138), ils montrent que la teneur en (*E*)-lycopène s'accroît au cours de la fabrication de ce même produit, ce qui pourrait s'expliquer par une meilleure extractabilité du lycopène lors de son dosage, phénomène dû à la libération du lycopène de la matrice végétale au cours du chauffage.

En définitive, les données de la littérature sont divergentes. Cependant, il est clair que le lycopène est sensible aux températures imposées par ces procédés et se dégrade de façon plus ou moins rapide selon l'intensité du chauffage. Le fait qu'il soit simultanément dégradé et libéré dans le milieu aqueux explique la diversité des résultats observés. Par ailleurs, les tomates fraîches peuvent apporter des quantités de lycopène plus ou moins importantes selon les variétés. De même, leur état de maturité et leur fermeté peuvent influencer l'extractibilité du lycopène (126, 134, 137, 139-140).

Le comportement du lycopène libre sous forme solide ou en solution dans de l'huile a parfois été comparé à son évolution au sein de produits à base de tomate. Sous forme libre, il se dégrade généralement rapidement, surtout à des températures supérieures à 100 °C. La matrice alimentaire semble ainsi protéger efficacement cet antioxydant, en partie retenu dans les cellules végétales (134, 137).

Le lycopène sous forme *E*, majoritairement présent dans les fruits de tomate est susceptible de se dégrader par des réactions d'oxydation ou d'isomérisation. Les isomères *Z* du lycopène sont parfois présents dans les tomates fraîches et retrouvés dans tous les produits à base de tomate. L'isomérisation du (*E*)-lycopène en (*Z*)-lycopène est favorisée par la chaleur et l'exposition à la lumière, des conditions auxquelles sont soumis les produits lors de la transformation. Les formes *Z* du lycopène apparaissent ainsi au cours des procédés, avant d'être à nouveau isomérisées en (*E*)-lycopène ou par oxydation ce qui explique les faibles proportions d'isomères *Z* retrouvés dans les produits à base de tomate (4, 118, 139, 141).

L'oxygène est susceptible de réagir avec des radicaux dérivés des caroténoïdes pour produire des radicaux peroxydes capables de propager la peroxydation lipidique. Ainsi, lors de la préparation des produits à base de tomate, la présence d'importantes quantités d'oxygène peut avoir pour conséquence une diminution de la teneur en caroténoïdes. Cette réaction peut, par ailleurs, être accélérée par la température et la présence d'huile (134-135). Certaines enzymes provenant de la tomate, telles que les peroxydases, sont également susceptibles d'oxyder les

caroténoïdes au cours de la transformation de tomates fraîches, mais uniquement avant les traitements thermiques, lorsqu'elles sont encore actives (4). Un certain nombre de produits issus de ces réactions d'oxydation peuvent alors apparaître au cours de la transformation. Certains d'entre eux ont été identifiés dans des produits à base de tomate: le 1,2-époxylycopène, le 5,6-époxylycopène, le 5,6-diméthoxy-5,6-dihydrolycopène, le lycopène-5,6-diol (5,6-dihydroxy-5,6-dihydrolycopène), le 1,5-époxy-2,6-cyclolycopène et le 2,6-cyclolycopène-1,5-diol (142-143). Le 1-méthoxy-2,6-cyclolycopène-5-ol, le 1,16-didéhydro-2,6-cyclolycopène-5-ol et le 1,5-dihydroxyiridanyl-lycopène ont été détectés dans des purées de tomate (144-145). Par ailleurs, des produits de coupure du lycopène ont été identifiés dans des produits à base de tomate (sauce, soupe, jus et concentré): les apo-6'-, apo-8'-, apo-10'-, apo12'- et apo-14'-lycopénals.

L'impact des procédés de transformation de la tomate sur le β -carotène a également été étudié. Pour certaines études, les teneurs en β -carotène sont stables alors que d'autres études montrent une dégradation de ce composé au cours des procédés. Capanoglu *et al.* (114) ont prélevé des échantillons aux différentes étapes de la production de concentré et ont observé une diminution de la teneur en β -carotène uniquement lors de l'étape de concentration. Abushita *et al.* (138) ont réalisé la même expérience mais les résultats suggèrent que la teneur en β -carotène est stable au cours du procédé. Les isomères *E* et *Z* ayant été dosés séparément pour cette étude, il est possible de dire que des réactions d'isomérisation du (*E*)- β -carotène en (*Z*)- β -carotène ont eu lieu lors de la préparation du concentré. L'évolution de la teneur en (*E*)- β -carotène a également été suivie au cours de la fabrication d'une soupe et d'un jus de tomate par Seybold *et al.* (137). La teneur en (*E*)- β -carotène décroît progressivement lors de la préparation de la soupe et du jus et des isomères *Z* apparaissent dans ces deux produits. Comme pour le lycopène, les résultats des études concernant le β -carotène divergent. De nombreux paramètres influencent l'évolution de ce composé au cours de la transformation des produits à base de tomate (qualité des tomates fraîches utilisées, température et durée du procédé, présence d'huile, etc).

D'autres caroténoïdes, présents en plus faibles quantités que le lycopène et le β -carotène ont été étudiés: la lutéine, le phytoène, le phytofluène, le neurosporène et le ζ -carotène. D'après les résultats de différentes études, ils semblent peu affectés par les procédés (136, 138, 146).

III.2.2.2. Les composés phénoliques

Les données de la littérature concernant l'évolution des composés phénoliques au cours de la préparation de produits à base de tomate sont rares. Le plus souvent, seules les teneurs en composés phénoliques totaux ou en flavonoïdes totaux ont été évaluées. Les teneurs en composés phénoliques totaux semblent peu affectées par les traitements thermiques au cours de la fabrication en conditions industrielles de purée et de concentré, ou pendant la cuisson de tomates dans l'eau bouillante ou au four (135, 147). Une augmentation de la teneur (par rapport à la quantité de matière fraîche) a été observée par Gahler *et al.* (148) dans une soupe, une sauce et des tomates cuites au four à 220 °C. Ce phénomène peut s'expliquer par une augmentation de la matière sèche au cours du traitement thermique, mais également par une libération des composés phénoliques des cellules vers le milieu, suite à la déstructuration des cellules végétales par la chaleur. Les composés phénoliques libres ont été dosés dans ces produits; leur teneur a tendance à augmenter lors des traitements thermiques, ce qui confirme cette dernière hypothèse.

L'ajout d'huile à la préparation de produits à base de tomate semble affecter sévèrement les composés phénoliques. La friture de morceaux de tomate dans l'huile d'olive ou simplement le trempage à 20 °C dans cette même huile induit une perte importante de la teneur en composés phénoliques totaux (135). Les composés phénoliques étant des inhibiteurs de l'oxydation des lipides, on peut supposer qu'ils vont limiter ces réactions mais par là même être oxydés.

Deux études se sont intéressées à l'évolution de certains composés phénoliques de la tomate, plutôt qu'aux teneurs en polyphénols totaux, au cours de la préparation industrielle de concentré à partir de tomates fraîches. Selon Re *et al.* (118), les acides hydroxycinnamiques analysés (acides p-coumarique, férulique, caféique et chlorogénique) ne sont pas affectés par les traitements thermiques; les teneurs en acide caféique et chlorogénique ont même tendance à augmenter. La chaleur a certainement permis de faciliter leur extraction de la matrice. Les flavonoïdes se sont dégradés lors des procédés, en particulier la naringénine qui paraît plus sensible que la rutine. Ces résultats ne sont pas en accord avec ceux obtenus par Capanoglu *et al.* (114), qui montrent des teneurs en rutine et acide chlorogénique stables alors que la teneur en naringénine s'accroît. La naringénine chalcone, présente dans les tomates fraîches, disparaît du produit au cours de sa fabrication car elle serait localisée en grande partie dans la peau et les pépins lesquels sont éliminés. Il est également possible que ce composé se cyclise sous l'effet de la chaleur, ce qui expliquerait l'augmentation de la teneur en naringénine. Etant donné le faible nombre d'études concernant les effets de la transformation sur les composés

phénoliques de la tomate et la divergence des résultats, il est difficile de tirer des conclusions à ce sujet. En s'intéressant à d'autres produits transformés à base de fruits et légumes, il apparaît que les méthodes et durées de préparation ainsi que le produit frais utilisé influencent grandement l'évolution des teneurs en composés phénoliques au cours des procédés (149).

III.2.2.3. Les vitamines C et E

L'évolution de la vitamine C au cours des procédés de transformation a largement été étudiée dans divers produits à base de tomate. Etant donné sa forte sensibilité à la chaleur et à la lumière, la vitamine C est systématiquement dégradée par les procédés de transformation. Selon les conditions employées, les pertes sont plus ou moins importantes. La température, le pH et la durée du traitement sont les principaux paramètres influençant la dégradation de ce composé. Par l'intermédiaire de réactions d'oxydation, l'acide ascorbique donne de l'acide déhydroascorbique, qui est à son tour hydrolysé en produits n'ayant pas d'activité vitaminique. Ces réactions font intervenir l'oxygène et des métaux de transitions dont l'abondance au sein des produits aura un impact direct sur la vitesse de disparition de la vitamine C (150).

D'après la littérature, la dégradation de la vitamine C dans les produits alimentaires suit une cinétique de pseudo-ordre 1 (151-152). Les pertes varient énormément selon la structure et la composition de la matrice alimentaire et les conditions de procédés appliquées. Malgré ces pertes, la vitamine C est toujours présente dans les produits à base de tomate en fin de fabrication. Des analyses réalisées par Podsedek *et al.* (153) sur plusieurs produits du commerce présentent des teneurs comprises entre 0,7 et 26,9 mg/100 g pour les jus, 1,9 et 6,0 mg/100 g pour les tomates en conserve et 14,5 et 21,6 mg/100 g pour les concentrés (teneurs exprimées en matière fraîche). La grande hétérogénéité des résultats s'explique par des teneurs en vitamine C dans les tomates fraîches utilisées très variables ainsi que des procédés de transformations différents, à l'origine de pertes plus ou moins importantes.

Du fait de sa teneur relativement faible dans les tomates fraîches, la vitamine E a été beaucoup moins étudiée que la vitamine C dans les produits à base de tomate. Les publications concernant son évolution sont rares et se contredisent. Selon Capanoglu *et al.* (114), le tocophérol total (somme des formes α , β , γ et δ) n'est pas significativement affecté par les traitements subis lors de la préparation industrielle d'un concentré à partir de tomates fraîches. Abushita *et al.* (138) ont suivi l'évolution de la teneur en α - et γ -tocophérol lors d'un

procédé similaire et observé des pertes, mais uniquement lors de l'étape de concentration et pasteurisation. Une autre étude, réalisée sur quatre produits différents (jus, soupe, sauce et tomates en tranches), a suivi l'évolution de l' α -tocophérol au cours du temps lors de la cuisson de trois de ces produits et la préparation industrielle du jus (137). A la différence des deux autres études, la teneur a tendance à augmenter lors des traitements thermiques, sauf pour le jus dont la teneur en α -tocophérol est significativement affectée lors des étapes d'homogénéisation et de stérilisation. D'après la littérature, la vitamine E serait un composé relativement stable aux traitements subis par les produits alimentaires lors de la transformation, de la conservation et du chauffage (149). Mais le faible nombre d'études réalisées sur les produits à base de tomates ne permet pas de l'affirmer pour ces aliments (149).

III.2.3. Les procédés de transformation peuvent-ils avoir un effet bénéfique sur la qualité nutritionnelle des produits ?

Les procédés de transformation entraînent généralement la perte de composés, notamment la vitamine C qui est très sensible à la chaleur et à la lumière. Les teneurs en microconstituants restent toutefois relativement importantes dans les produits finaux comme le montrent les données du Tableau I-9. Pour certains produits, tel que le concentré de tomate, les teneurs en microconstituants (données par rapport à la matière fraîche) sont généralement élevées du fait de l'étape de concentration. En effet, la réduction de la teneur en eau du produit entraîne une concentration de la matière sèche et donc des microconstituants. Finalement, même s'ils sont dégradés au cours du procédé, ils peuvent être retrouvés dans des proportions plus importantes que dans les tomates fraîches (relativement à la matière fraîche) grâce à l'étape de concentration.

Tableau I-9. Teneurs en microconstituants dans des produits à base de tomate préparés industriellement

Microconstituant	Teneur dans les produits rapporté en matière fraîche	Produit
Lycopène (E+Z)	2,13-3,44 mg/100 mL (154)	Jus de tomate
	10,92 mg/100 g (142)	Soupe à la tomate
	17,98 mg/100 g (142)	Sauce tomate
	32,7-68,2 mg/100 g (146)	Concentré de tomate
β-Carotène (E+Z)	0,18-0,32 mg/100 mL (154)	Jus de tomate
	0,23 mg/ 100 g (142)	Soupe à la tomate
	0,45 mg/ 100 g (142)	Sauce tomate
	0,26-1,66 mg/ 100 g (146)	Concentré de tomate
Polyphénols totaux	30,12-52,26 mg/100 g (153)	Jus de tomate
	116,74-155,44 mg /100 g (153)	Concentré de tomate
Vitamine C	0,69-26,87 mg/100 g (153)	Jus de tomate
	0,49-9,03 mg/100 g (155)	Sauce tomate
	14,47-21,56 mg/100 g (153)	Concentré de tomate
α-Tocophérol	1,39-1,84 mg/100 g (153)	Jus de tomate
	4,12-5,03 mg/100 g (153)	Concentré de tomate

Nous avons vu, dans le paragraphe III.2.1. ("Impact sur la matrice alimentaire"), que les procédés entraînent une modification de la matrice alimentaire. Les cellules de tomate sont partiellement détruites, induisant une libération des microconstituants vers le milieu aqueux du produit. Ils deviennent plus facilement extractibles de la matrice et accessibles, ce qui facilite leur transfert à travers la barrière intestinale au cours de la digestion de l'aliment.

La bioaccessibilité se définit comme la fraction d'un nutriment ingéré susceptible d'être absorbée au niveau de l'intestin après la digestion. D'autre part, on définit la biodisponibilité comme la quantité d'un nutriment ingéré qui atteint la circulation et des sites d'action spécifiques. La bioaccessibilité impacte ainsi directement la biodisponibilité. Ces deux concepts sont de plus en plus étudiés et il apparaît que les procédés technologiques améliorent la bioaccessibilité et la biodisponibilité des caroténoïdes par altération de la matrice alimentaire (150, 156-157).

Tiback *et al.* (126) ont montré que l'étape de broyage des tomates suivie d'un chauffage semble accroître l'accessibilité *in vitro* du lycopène. Par ailleurs, un prolongement de la durée du chauffage de 8 à 20 minutes, entraînerait une dégradation plus prononcée des pectines, ce qui contribue à augmenter l'accessibilité du lycopène. D'autres études ont montré que les caroténoïdes sont plus biodisponibles dans des produits transformés ou riches en huile que dans des végétaux frais (158). En présence d'huile, ces composés hydrophobes sont incorporés à des micelles, facilitant alors leur absorption au niveau des entérocytes.

La chaleur et l'exposition à la lumière des caroténoïdes, qui se trouvent principalement sous forme *E* dans les tomates fraîches, sont susceptibles d'entraîner leur isomérisation. Or, les isomères *Z* du lycopène, grâce à leur meilleure solubilité dans les micelles, passeront la barrière intestinale plus facilement que le (*E*)-lycopène (52, 158-159). Ceci contribue également à améliorer la biodisponibilité des caroténoïdes de produits transformés à base de tomate.

Les études concernant les effets des procédés sur la biodisponibilité des composés phénoliques sont rares et ne permettent pas d'affirmer que la transformation améliorerait leur biodisponibilité (156). En revanche, la bioaccessibilité serait accrue. Des études ont montré que les procédés entraîneraient une meilleure accessibilité de flavonoïdes notamment grâce à l'hydrolyse de parois cellulaires et de liaisons phénoliques. Les composés phénoliques se retrouvent ainsi sous forme libre dans le produit et leur extractabilité est améliorée (150, 158).

Les procédés de transformation, qui sont suspectés de dégrader les qualités nutritionnelles des produits à base de tomate, sont en définitive à l'origine de transformations qui accentuent l'accessibilité des caroténoïdes et des composés phénoliques. De plus, ces produits contiennent parfois des teneurs en microconstituants supérieures à celles de la tomate fraîche du fait de la concentration de la matière sèche lors du procédé. Ils peuvent donc être considérés comme des sources de microconstituants antioxydants, apportant des quantités plus importantes et plus bioaccessibles de caroténoïdes et polyphénols que les tomates fraîches.

III.3. Evolution des produits au cours de la conservation

Une fois préparés, les produits à base de tomate sont parfois stockés plusieurs mois avant d'être consommés. Les concentrés de tomate destinés à être transformés peuvent être conservés dans des fûts pendant une période plus ou moins longue avant d'être utilisés. D'autres part, les produits finis, prêts à être commercialisés, sont conditionnés dans des bouteilles ou flacons en verre, des boîtes métalliques, des tubes en aluminium, ou encore dans des briques alimentaires de type Tetra Pack. Ils sont conservés en magasin puis chez le consommateur dans des conditions qui peuvent être très variables (température et durée de stockage, intensité lumineuse, humidité, etc) et avoir des conséquences sur les qualités nutritionnelles du produit.

Parmi les microconstituants, l'acide ascorbique est celui dont l'évolution au cours du stockage est la mieux connue. Ce composé très sensible à l'oxydation se dégrade lors du stockage et sa disparition s'accélère quand la température augmente (151, 160-162). Les traitements thermiques appliqués lors de la transformation ont également un impact sur la stabilité de l'acide ascorbique au cours du stockage, l'oxydation initiée lors des procédés se poursuivant pendant la conservation.

Les teneurs en lycopène (*E+Z*) semblent stables dans des pulpes, purées, concentrés et jus, y compris en conditions de stockage extrêmes (3 mois à 50 °C) (151, 161-162). Quant au β -carotène, les études effectuées concernant son évolution lors du stockage sont rares et leurs conclusions divergent. Selon Lavelli et Giovanelli (151), ce composé se dégrade au cours des 3 mois de stockage, même à 30 °C (température étudiée la plus basse) alors que Ordóñez-Santos *et al.* (161) observent une augmentation significative de la teneur en β -carotène dans de la pulpe conservée 6 mois à 20 °C.

Les composés phénoliques semblent peu affectés par le stockage, les teneurs en polyphénols totaux ayant même parfois tendance à augmenter. Cette augmentation peut s'expliquer par l'hydrolyse de composés glycosylés ou la libération de composés initialement présents dans les cellules. Ces réactions sont initiées pendant les procédés de transformation et se poursuivent ensuite (151, 161-162).

Globalement, des températures proches de 20 °C semblent optimales pour maintenir les teneurs en antioxydants dans les produits à base de tomate, sauf pour l'acide ascorbique qui se dégrade même à très faibles températures. Les emballages dans lesquels sont conditionnés les produits ont également leur importance. En effet, les différents matériaux utilisés sont plus ou moins perméables à l'oxygène et à la lumière, deux paramètres susceptibles d'accélérer

l'oxydation des microconstituants. Selon Gracia-Alonso *et al.* (162), un jus de tomate conservé 12 mois dans des bouteilles en verre ou dans des briques Tetra Pack présente les mêmes caractéristiques nutritionnelles. Ces deux matériaux sont hautement imperméables à l'oxygène et permettent de préserver au mieux les microconstituants contenus dans le jus. Dans ce cas, l'oxydation de l'acide ascorbique, qui a lieu pendant le stockage, serait principalement due à la présence d'oxygène préalablement dissout dans le produit au cours de la transformation.

III.4. Les procédés innovants

Les procédés de transformation décrits précédemment sont largement utilisés dans les industries alimentaires mais de nouveaux procédés ont fait leur apparition dans le but d'améliorer les qualités nutritionnelles et organoleptiques des produits. Ces procédés font intervenir des hautes pressions, des impulsions électriques, des ondes électromagnétiques telles que les micro-ondes ou encore l'effet joule dans le cas du chauffage ohmique.

III.4.1. Les procédés "hautes pressions"

Les traitements hautes pressions consistent à appliquer des pressions de quelques dizaines de MPa (Méga Pascals) à 1 GPa (Giga Pascal), tout en travaillant à faibles températures d'où la dénomination "pasteurisation à froid" qui est donné à ces procédés. Ces traitements peuvent être appliqués lors de la préparation des produits à base de tomate. Ils permettent d'inactiver les micro-organismes tout en préservant les qualités organoleptiques des produits; ils constituent ainsi une alternative à la pasteurisation conventionnelle. D'un point de vue nutritionnel, ces procédés permettraient de mieux préserver les microconstituants antioxydants que les procédés thermiques classiques. Par exemple, l'acide ascorbique est très peu dégradé par les traitements hautes pressions (environ 90 % de la quantité initiale est préservée) alors que les traitements thermiques appliqués, et permettant l'obtention d'un produit similaire à celui traité par hautes pressions, entraînent des pertes plus significatives (163-164). L'utilisation de cette technologie dans les usines de transformation de la tomate reste toutefois marginale à cause des coûts engendrés par cette technologie.

III.4.2. Les champs électriques pulsés

La pasteurisation des aliments à froid peut également se faire grâce à des impulsions électriques de champ élevé ($10-50 \text{ kV.cm}^{-1}$) et de très courte durée ($< 10 \mu\text{s}$). Les microorganismes et enzymes sont inactivés par ce traitement et les qualités organoleptiques préservées. Par ailleurs, en comparant ce procédé à un procédé classique de pasteurisation de jus de tomate, Odriozola-Serrano *et al.* (165) ont conclu que la préservation des qualités nutritionnelles était meilleure pour le traitement aux champs électriques pulsés. De même, lors de la conservation, les teneurs en caroténoïdes et quercétine des produits ayant subi ce traitement se dégradent plus lentement. Ainsi, la technologie des champs électriques pulsés

semble être une bonne alternative à la pasteurisation traditionnelle, permettant d'obtenir des produits riches en antioxydants.

III.4.3. Les micro-ondes

Les micro-ondes sont des ondes électromagnétiques dont les longueurs d'onde sont comprises entre 1 m et 1 mm, ce qui correspond à des fréquences allant de 300 MHz à 300 GHz. Elles sont susceptibles de fournir de l'énergie grâce à la friction, aux chocs et à l'agitation moléculaire produite par la migration des ions et la rotation polaire (166). Ces micro-ondes peuvent être utilisées par l'industrie alimentaire pour la pasteurisation de certains produits (167). Elles peuvent aussi remplacer le procédé Hot Break dans la préparation de produits à base de tomate. Kaur *et al.* (168) ont comparé les effets d'un procédé Hot Break classique à un procédé utilisant les micro-ondes lors de la préparation d'un jus de tomate. Les teneurs en lycopène, acide ascorbique et composés phénoliques totaux sont plus importantes dans les produits traités au micro-onde. Par ailleurs, Mayeaux *et al.* (134) ont étudié l'évolution du lycopène dans un broyat de tomate traité selon différentes méthodes de cuisson: au four (35 minutes à 177 et 218 °C), à la poêle en présence d'huile végétale (2 minutes à 145 et 165 °C) et au micro-onde (1000 w, 1 minute). C'est dans l'échantillon traité au micro-onde que le lycopène a été le moins dégradé. L'utilisation des micro-ondes dans la préparation des produits à base de tomate pourrait être une alternative aux procédés thermiques qui permettent de réduire la durée des traitements tout en préservant les microconstituants.

III.4.4. Le chauffage ohmique

Le chauffage ohmique est une technologie basée sur l'effet joule: le produit à chauffer sert de résistance, l'énergie est alors transformée en chaleur dans le produit. Les aliments peuvent être chauffés rapidement et de manière homogène ce qui permet d'obtenir des produits de haute qualité organoleptique et nutritionnelle et également exempts de microorganismes. Cette technologie est appliquée à l'extraction de jus de fruits (169) et est utilisée pour décontaminer et stériliser certains aliments (produits laitiers, crèmes glacées, soupe, sauce, purée de fruit et aliments contenant des morceaux). Les tomates fraîches et produits à base de tomate peuvent être traités par chauffage ohmique (170-171). Les principaux avantages de cette technique sont la durée de traitement réduite et le rendement énergétique élevé ainsi qu'une très bonne préservation des qualités du produit.

Références bibliographiques

1. Gutteridge, J. M., and Halliwell, B. (1994) *Antioxydants in nutrition, health and disease*, Oxford University Press, New York.
2. Britton, G., Liaaen-Jensen, S., and Pfander, H., (Eds.) (1995) *Carotenoids Volume 1A : Isolation and Analysis*, Birkhäuser Verlag, Basel.
3. Krinsky, N. I., Mayne, S. T., and Sies, H., (Eds.) (2004) *Carotenoids in health and disease*, Marcel Dekker, New York.
4. Britton, G., Liaaen-Jensen, S., and Pfander, H., (Eds.) (2009) *Carotenoids Volume 5 : Nutrition and Health*, Birkhäuser Verlag, Basel.
5. Macheix, J. J., Fleuriet, A., and Jay-Allemand, C., (Eds.) (2005) *Les composés phénoliques des végétaux. Un exemple de métabolites secondaires d'importance économique*, Presses polytechniques et universitaires romandes, Lausanne.
6. Tomás-Barberán, F. A., and Clifford, M. N. (2000) Dietary hydroxybenzoic acid derivatives - nature, occurrence and dietary burden, *Journal of the Science of Food and Agriculture* 80, 1024-1032.
7. Clifford, M. N. (2000) Chlorogenic acids and other cinnamates - nature, occurrence, dietary burden, absorption and metabolism, *Journal of the Science of Food and Agriculture* 80, 1033-1043.
8. Cassidy, A., Hanley, B., and Lamuela-Raventos, R. M. (2000) Isoflavones, lignans and stilbenes - origins, metabolism and potential importance to human health, *Journal of the Science of Food and Agriculture* 80, 1044-1062.
9. Tomás-Barberán, F. A., and Clifford, M. N. (2000) Flavanones, chalcones and dihydrochalcones - nature, occurrence and dietary burden, *Journal of the Science of Food and Agriculture* 80, 1073-1080.
10. Hollman, P. C. H., and Arts, I. C. W. (2000) Flavonols, flavones and flavanols - nature, occurrence and dietary burden, *Journal of the Science of Food and Agriculture* 80, 1081-1093.
11. Clifford, M. N. (2000) Anthocyanins - nature, occurrence and dietary burden, *Journal of the Science of Food and Agriculture* 80, 1063-1072.
12. Santos-Buelga, C., and Scalbert, A. (2000) Proanthocyanidins and tannin-like compounds - nature, occurrence, dietary intake and effects on nutrition and health, *Journal of the Science of Food and Agriculture* 80, 1094-1117.
13. Le Grusse, J., and Watier, B., (Eds.) (1993) *Les vitamines*, Centre d'Etude et d'Information sur les Vitamines, Neuilly-sur-Seine.
14. Bramley, P M., Elmadfa, I., Kafatos, A., Kelly, F J., Manios, Y., Roxborough, H E., Schuch, W., Sheehy, P J A., and Wagner, K. H. (2000) Vitamin E, *Journal of the Science of Food and Agriculture* 80, 913-938.
15. Franke, A. A., Custer, L. J., Arakaki, C., and Murphy, S. P. (2004) Vitamin C and flavonoid levels of fruits and vegetables consumed in Hawaii, *Journal of Food Composition and Analysis* 17, 1-35.
16. Belitz, H. D., and Grosch, W., (Eds.) (1999) *Food Chemistry*, 2 ed., Springer, Berlin.
17. Frei, B., (Ed.) (1994) *Natural Antioxydants in Human Health and Disease*, Academic press, Londres.
18. Pryor, W. A., (Ed.) (1982) *Free Radicals in Biology*, Academic Press, Londres.
19. García-Martínez, M. C., Márquez-Ruiz, G., Fontecha, J., and Gordon, M. H. (2009) Volatile oxidation compounds in a conjugated linoleic acid-rich oil, *Food Chemistry* 113, 926-931.

20. Meynier, A., Rampon, V., Dalgalarondo, M., and Genot, C. (2004) Hexanal and t-2-hexenal form covalent bonds with whey proteins and sodium caseinate in aqueous solution, *International Dairy Journal* 14, 681-690.
21. Gatellier, P., Santé-Lhoutellier, V., Portanguen, S., and Kondjoyan, A. (2009) Use of meat fluorescence emission as a marker of oxidation promoted by cooking, *Meat Science* 83, 651-656.
22. Kanner, J. (1994) Oxidative processes in meat and meat products: Quality implications, *Meat Science* 36, 169-189.
23. Singh, M., Arseneault, M., Sanderson, T., Murthy, V., and Ramassamy, C. (2008) Challenges for Research on Polyphenols from Foods in Alzheimer's Disease: Bioavailability, Metabolism, and Cellular and Molecular Mechanisms, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 56, 4855-4873.
24. Miller, N. J., Sampson, J., Candeias, L. P., Bramley, P. M., and Rice-Evans, C. A. (1996) Antioxidant activities of carotenes and xanthophylls, *FEBS Letters* 384, 240-242.
25. Bohm, V., Puspitasari-Nienaber, N. L., Ferruzzi, M. G., and Schwartz, S. J. (2002) Trolox Equivalent Antioxidant Capacity of Different Geometrical Isomers of alpha-Carotene, beta-Carotene, Lycopene, and Zeaxanthin, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 50, 221-226.
26. El-Agamey, A., Lowe, G. M., McGarvey, D. J., Mortensen, A., Phillip, D. M., Truscott, T. G., and Young, A. J. (2004) Carotenoid radical chemistry and antioxidant/pro-oxidant properties, *Archives of Biochemistry and Biophysics* 430, 37-48.
27. Clennan, E. L. (2000) New Mechanistic and Synthetic Aspects of Singlet Oxygen Chemistry, *Tetrahedron* 56, 9151-9179.
28. Buchner, N., Krumbein, A., Rohn, S., and Kroh, L. W. (2006) Effect of thermal processing on the flavonols rutin and quercetin, *Rapid Communications in Mass Spectrometry* 20, 3229-3235.
29. Jovanovic, S. V., Steenken, S., Hara, Y., and Simic, M. G. (1996) Reduction potentials of flavonoid and model phenoxyl radicals. Which ring in flavonoids is responsible for antioxidant activity?, *Journal of the Chemical Society-Perkin Transactions 2*, 2497-2504.
30. Sarni-Manchado, P., and Cheynier, V., (Eds.) (2006) *Les polyphénols en agroalimentaire*, Lavoisier.
31. Fukumoto, L. R., and Mazza, G. (2000) Assessing Antioxidant and Prooxidant Activities of Phenolic Compounds†, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 48, 3597-3604.
32. Dangles, O., and Dufour, C. (2006) Flavonoids-Protein interactions, In *Flavonoids : chemistry, biochemistry and applications* (Andersen, O. M., and Markham, K. R., Eds.), pp 443-469, CRC Press.
33. Dangles, O., and Dufour, C. (2008) Flavonoid-protein binding processes and their potential impact on human health, In *Recent advances in polyphenol research* (Lattanzio, V., and Daayf, F., Eds.), pp 67-87, Blackwell, London.
34. Krinsky, N. I., and Yeum, K. J. (2003) Carotenoid-radical interactions, *Biochemical and Biophysical Research Communications* 305, 754-760.
35. Bohm, F., Edge, R., Land, E. J., McGarvey, D. J., and Truscott, T. G. (1997) Carotenoids enhance vitamin E antioxidant efficiency, *Journal of the American Chemical Society* 119, 621-622.
36. Edge, R., and Truscott, T. G. (1997) Prooxidant and antioxidant reaction mechanisms of carotene and radical interactions with vitamins E and C, *Nutrition* 13, 992-994.

37. Mortensen, A., Skibsted, L. H., and Truscott, T. G. (2001) The Interaction of Dietary Carotenoids with Radical Species, *Archives of Biochemistry and Biophysics* 385, 13-19.
38. Zhu, Q. Y., Huang, Y., and Chen, Z.-Y. (2000) Interaction between flavonoids and alpha-tocopherol in human low density lipoprotein, *The Journal of Nutritional Biochemistry* 11, 14-21.
39. Zhou, B., Wu, L.-M., Yang, L., and Liu, Z.-L. (2005) Evidence for alpha-tocopherol regeneration reaction of green tea polyphenols in SDS micelles, *Free Radical Biology and Medicine* 38, 78-84.
40. Jia, Z.-S., Zhou, B., Yang, L., Wu, L.-M., and Liu, Z.-L. (1998) Antioxidant synergism of tea polyphenols and alpha-tocopherol against free radical induced peroxidation of linoleic acid in solution, *Journal of Chemical Society, Perkin Transaction 2*, 911-915.
41. Goupy, P., Vulcain, E., Caris-Veyrat, C., and Dangles, O. (2007) Dietary antioxidants as inhibitors of the heme-induced peroxidation of linoleic acid: Mechanism of action and synergism, *Free Radical Biology and Medicine* 43, 933-946.
42. Armand, M., Borel, P., Dubois, C., Senft, M., Peyrot, J., Salducci, J., Lafont, H., and Lairon, D. (1994) Characterization of emulsions and lipolysis of dietary lipids in the human stomach, *American Journal of Physiology - Gastrointestinal and Liver Physiology* 266, G372-381.
43. Konishi, Y., Zhao, Z., and Shimizu, M. (2006) Phenolic acids are absorbed from the rat stomach with different absorption Rates, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 54, 7539-7543.
44. Lafay, S., Gil-Izquierdo, A., Manach, C., Morand, C., Besson, C., and Scalbert, A. (2006) Chlorogenic acid is absorbed in its intact form in the stomach of rats, *The Journal of Nutrition* 136, 1192-1197.
45. Reboul, E., Klein, A., Bietrix, F., Gleize, B., Malezet-Desmoulins, C., Schneider, M., Margotat, A., Lagrost, L., Collet, X., and Borel, P. (2006) Scavenger receptor class B type I (SR-BI) is involved in vitamin E transport across the enterocyte, *Journal of Biological Chemistry* 281, 4739-4745.
46. Spencer, J. P. E., Chowrimootoo, G., Choudhury, R., Debnam, E. S., Srai, S. K., and Rice-Evans, C. (1999) The small intestine can both absorb and glucuronidate luminal flavonoids, *FEBS Letters* 458, 224-230.
47. Ader, P., Grenacher, B., Langguth, P., Scharrer, E., and Wolfram, S. (1996) Cinnamate uptake by rat small intestine: transport kinetics and transepithelial transfer, *Experimental Physiology* 81, 943-955.
48. Murota, K., and Terao, J. (2003) Antioxidative flavonoid quercetin: implication of its intestinal absorption and metabolism, *Archives of Biochemistry and Biophysics* 417, 12-17.
49. Borel, P., Draï, J., Faure, H., Fayol, V., Galabert, C., Laromiguiere, M., and Le Moel, G. (2005) Recent knowledge about intestinal absorption and cleavage of carotenoids, *Annales de Biologie Clinique* 63, 165-177.
50. Reboul, E., Abou, L., Mikail, C., Ghiringhelli, O., Andre, M., Portugal, H., Jourdeuil-Rahmani, D., Amiot, M.-J., Lairon, D., and Borel, P. (2005) Lutein transport by Caco-2 TC-7 cells occurs partly by a facilitated process involving the scavenger receptor class B type I (SR-BI), *The Biochemical Journal* 387, 455-461.
51. Moussa, M., Landrier, J.-F., Reboul, E., Ghiringhelli, O., Comera, C., Collet, X., Frohlich, K., Bohm, V., and Borel, P. (2008) Lycopene absorption in human intestinal cells and in mice involves scavenger receptor class B type I but not Niemann-Pick C1-like 1, *The Journal of Nutrition* 138, 1432-1436.

52. Re, R., Fraser, P. D., Long, M., Bramley, P. M., and Rice-Evans, C. (2001) Isomerization of Lycopene in the Gastric Milieu, *Biochemical and Biophysical Research Communications* 281, 576-581.
53. Unlu, N. Z., Bohn, T., Francis, D., Clinton, S. K., and Schwartz, S. J. (2007) Carotenoid absorption in humans consuming tomato sauces obtained from tangerine or high-beta-carotene varieties of tomatoes, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 55, 1597-1603.
54. Delattre, J., Beaudeau, J.-L., and Bonnefont-Rousselot, D., (Eds.) (2005) *Radicaux libres et stress oxydant : aspects biologiques et pathologiques*, Tec & Doc / Editions Médicales Internationales ed., Lavoisier, Paris.
55. Niki, E., Saito, T., Kawakami, A., and Kamiya, Y. (1984) Inhibition of oxidation of methyl linoleate in solution by vitamin E and vitamin C, *Journal of Biological Chemistry* 259, 4177-4182.
56. Willcox, B. J., Curb, J. D., and Rodriguez, B. L. (2008) Antioxidants in cardiovascular health and disease: Key lessons from epidemiologic studies, *The American Journal of Cardiology* 101, S75-S86.
57. Visioli, F., Borsani, L., and Galli, C. (2000) Diet and prevention of coronary heart disease: the potential role of phytochemicals, *Cardiovascular Research* 47, 419-425.
58. Hollman, P. C. H., and Katan, M. B. (1999) Dietary flavonoids: intake, health effects and bioavailability, *Food and Chemical Toxicology* 37, 937-942.
59. Amaro, M. I., Rocha, J., Vila-Real, H., Eduardo-Figueira, M., Mota-Filipe, H., Sepodes, B., and Ribeiro, M. H. (2009) Anti-inflammatory activity of naringin and the biosynthesised naringenin by naringinase immobilized in microstructured materials in a model of DSS-induced colitis in mice, *Food Research International* 42, 1010-1017.
60. Yi, W. G., Fischer, J., and Akoh, C. C. (2005) Study of anticancer activities of muscadine grape phenolics in vitro, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 53, 8804-8812.
61. Knekt, P., Kumpulainen, J., Jarvinen, R., Rissanen, H., Heliovaara, M., Reunanen, A., Hakulinen, T., and Aromaa, A. (2002) Flavonoid intake and risk of chronic diseases, *American Journal of Clinical Nutrition* 76, 560-568.
62. Kawai, Y., Nishikawa, T., Shiba, Y., Saito, S., Murota, K., Shibata, N., Kobayashi, M., Kanayama, M., Uchida, K., and Terao, J. (2008) Macrophage as a target of quercetin glucuronides in human atherosclerotic arteries - Implication in the anti-atherosclerotic mechanism of dietary flavonoids, *Journal of Biological Chemistry* 283, 9424-9434.
63. Riccioni, G. (2009) Carotenoids and Cardiovascular Disease, *Current Atherosclerosis Reports* 11, 434-439.
64. Sesso, H. D. (2006) Carotenoids and cardiovascular disease: what research gaps remain?, *Current Opinion in Lipidology* 17, 11-16
10.1097/1001.mol.0000203888.0000242514.00 00203827.
65. Alshatwi, A. A., Al Obaaid, M. A., Al Sedairy, S. A., Al-Assaf, A. H., Zhang, J. J., and Lei, K. Y. (2010) Tomato powder is more protective than lycopene supplement against lipid peroxidation in rats, *Nutrition Research* 30, 66-73.
66. Kampa, M., Hatzoglou, A., Notas, G., Damianaki, A., Bakogeorgou, E., Gemetzi, C., Kouroumalis, E., Martin, P. M., and Castanas, E. (2000) Wine antioxidant polyphenols inhibit the proliferation of human prostate cancer cell lines, *Nutrition and Cancer* 37, 223-233.
67. Galati, G., and O'Brien, P. J. (2004) Potential toxicity of flavonoids and other dietary phenolics: significance for their chemopreventive and anticancer properties, *Free Radical Biology and Medicine* 37, 287-303.

68. Murakami, A., Ashida, H., and Terao, J. (2008) Multitargeted cancer prevention by quercetin, *Cancer Letters* 269, 315-325.
69. Hodek, P., Trefil, P., and Stiborova, M. (2002) Flavonoids-potent and versatile biologically active compounds interacting with cytochromes P450, *Chemico-Biological Interactions* 139, 1-21.
70. Ferguson, L. R. (1999) Prospects for cancer prevention, *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis* 428, 329-338.
71. Kucuk, O., Sarkar, F. H., Djuric, Z., Sakr, W., Pollak, M. N., Khachik, F., Banerjee, M., Bertram, J. S., and Wood, D. P., Jr. (2002) Effects of lycopene supplementation in patients with localized prostate cancer, *Experimental Biology and Medicine (Maywood)* 227, 881-885.
72. van Breemen, R. B., and Pajkovic, N. (2008) Multitargeted therapy of cancer by lycopene, *Cancer Letters* 269, 339-351.
73. Campbell, J. K., Canene-Adams, K., Lindshield, B. L., Boileau, T. W. M., Clinton, S. K., and Erdman, J. W., Jr. (2004) Tomato phytochemicals and prostate cancer risk, *The Journal of Nutrition* 134, 3486S-3492S.
74. Clinton, S. K. (1999) The dietary antioxidant network and prostate carcinoma, *Cancer* 86, 1629-1631.
75. Roa, A. V., (Ed.) (2006) *Tomatoes, Lycopene and Human Health Preventing Chronic Diseases*, Caledonian Science Press, Badalona.
76. Omoni, A. O., and Aluko, R. E. (2005) The anti-carcinogenic and anti-atherogenic effects of lycopene: a review, *Trends in Food Science & Technology* 16, 344-350.
77. Obermuller-Jevic, U. C., Olano-Martin, E., Corbacho, A. M., Eiserich, J. P., van der Vliet, A., Valacchi, G., Cross, C. E., and Packer, L. (2003) Lycopene inhibits the growth of normal human prostate epithelial cells in vitro, *The Journal of Nutrition* 133, 3356-3360.
78. Gould, W., A., (Ed.) (1991) *Tomato production, processing and technology*, 3rd ed., CTI Publications, Inc, Baltimore.
79. Hulme, A. C., (Ed.) (1971) *The Biochemistry of Fruits and their Products*, Vol. 2, Academic Press, Norwich.
80. Yamagushi, M., (Ed.) (1983) *World Vegetables. Principles, Production and Nutritive Values*, Ellis Horwood Limited, Westport.
81. FAOSTAT. (2009), p <http://faostat.fao.org/>, Organisation des nations unies pour l'alimentation et l'agriculture.
82. fruit-et-légumes.net. (2009) Productions nationales européennes, pp <http://www.fruits-et-legumes.net/>.
83. CTIFL, (Ed.) (1990) *Le mémento des fruits et légumes*, Paris.
84. CTIFL, (Ed.) (2000) *Tomate, pour un produit de qualité*, Paris.
85. Tomatoland. (2008) The processed tomato yearbook 2008, In *Tomato News*, Centre mondial d'information sur la tomate d'industrie.
86. Hulme, A. C., (Ed.) (1970) *The Biochemistry of Fruits and their Products*, Vol. 1, Academic Press, London.
87. USDA/CNPP. (2007) USDA national nutrient database for standard reference, p <http://www.nal.usda.gov/fnic/foodcomp/Data/SR16/reports/sr16fg11.pdf>, U.S. agricultural research service.
88. Rimm, E. B., Ascherio, A., Giovannucci, E., Spiegelman, D., Stampfer, M. J., and Willett, W. C. (1996) Vegetable, fruit, and cereal fiber intake and risk of coronary heart disease among men, *JAMA* 275, 447-451.

89. Wolk, A., Manson, J. E., Stampfer, M. J., Colditz, G. A., Hu, F. B., Speizer, F. E., Hennekens, C. H., and Willett, W. C. (1999) Long-term intake of dietary fiber and decreased risk of coronary heart disease among women, *JAMA* 281, 1998-2004.
90. Salmeron, J., Manson, J. E., Stampfer, M. J., Colditz, G. A., Wing, A. L., and Willett, W. C. (1997) Dietary fiber, glycemic load, and risk of non--insulin-dependent diabetes mellitus in women, *JAMA* 277, 472-477.
91. Ludwig, D. S., Pereira, M. A., Kroenke, C. H., Hilner, J. E., Van Horn, L., Slattery, M. L., and Jacobs, D. R., Jr. (1999) Dietary fiber, weight gain, and cardiovascular disease risk factors in young adults, *JAMA* 282, 1539-1546.
92. Howe, G. R., Benito, E., Castelleto, R., Cornee, J., Esteve, J., Gallagher, R. P., Iscovich, J. M., Deng-ao, J., Kaaks, R., Kune, G. A., Kune, S., L'Abbe, K. A., Lee, H. P., Lee, M., Miller, A. B., Peters, R. K., Potter, J. D., Riboli, E., Slattery, M. L., Trichopoulos, D., Tuyns, A., Tzonou, A., Whittemore, A. S., Wu-Williams, A. H., and Shu, Z. (1992) Dietary intake of fiber and decreased risk of cancers of the colon and rectum: evidence from the combined analysis of 13 case-control studies, *Journal of the National Cancer Institute* 84, 1887-1896.
93. Lairon, D., Arnault, N., Bertrais, S., Planells, R., Clero, E., Hercberg, S., and Boutron-Ruault, M.-C. (2005) Dietary fiber intake and risk factors for cardiovascular disease in French adults, *American Journal of Clinical Nutrition* 82, 1185-1194.
94. Lenucci, M. S., Cadinu, D., Taurino, M., Piro, G., and Dalessandro, G. (2006) Antioxidant composition in cherry and high-pigment tomato cultivars, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 54, 2606-2613.
95. Luthria, D. L., Mukhopadhyay, S., and Krizek, D. T. (2006) Content of total phenolics and phenolic acids in tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) fruits as influenced by cultivar and solar UV radiation, *Journal of Food Composition and Analysis* 19, 771-777.
96. Dumas, Y., Dadomo, M., Lucca, G. d., and Grolier, P. (2003) Effects of environmental factors and agricultural techniques on antioxidant content of tomatoes, *Journal of the Science of Food and Agriculture* 83, 369-382.
97. Slimestad, R., and Verheul, M. J. (2005) Content of chalconaringenin and chlorogenic acid in cherry tomatoes is strongly reduced during postharvest ripening, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 53, 7251-7256.
98. Marsic, N. K., Sircelj, H., and Kastelec, D. (2010) Lipophilic antioxidants and some carpometric characteristics of fruits of ten processing tomato varieties, grown in different climatic conditions, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 58, 390-397.
99. Visioli, F., Riso, P., Grande, S., Galli, C., and Porrini, M. (2003) Protective activity of tomato products on in vivo markers of lipid oxidation, *European Journal of Nutrition* 42, 201-206.
100. Leonardi, C., Ambrosino, P., Esposito, F., and Fogliano, V. (2000) Antioxidative activity and carotenoid and tomatine contents in different typologies of fresh consumption tomatoes, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 48, 4723-4727.
101. Moco, S., Capanoglu, E., Tikunov, Y., Bino, R. J., Boyacioglu, D., Hall, R. D., Vervoort, J., and De Vos, R. C. H. (2007) Tissue specialization at the metabolite level is perceived during the development of tomato fruit, *Journal of Experimental Botany*.
102. Nguyen, M., Francis, D., and Schwartz, S. (2001) Thermal isomerisation susceptibility of carotenoids in different tomato varieties, *Journal of the Science of Food and Agriculture* 81, 910-917.
103. Ben-Aziz, A., Britton, G., and Goodwin, T. W. (1973) Carotene epoxides of *Lycopersicon esculentum*, *Phytochemistry* 12, 2759-2764.

104. Kopec, R. E., Riedl, K. M., Harrison, E. H., Curley, R. W., Hruszkewycz, D. P., Clinton, S. K., and Schwartz, S. J. (2010) Identification and quantification of apolycopenals in fruits, vegetables, and human plasma, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 58, 3290-3296.
105. Ishida, B. K., Roberts, J. S., Chapman, M. H., and Burri, B. J. (2007) Processing Tangerine tomatoes: Effects on lycopene-isomer concentrations and profile, *Journal of Food Science* 72, C307-C312.
106. Raffo, A., La Malfa, G., Fogliano, V., Malani, G., and Quaglia, G. (2006) Seasonal variations in antioxidant components of cherry tomatoes (*Lycopersicon esculentum* cv. Naomi F1), *Journal of Food Composition and Analysis* 19, 11-19.
107. Martinez-Valverde, I., Periago, M. J., Provan, G., and 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.
108. Toor, R. K., and Savage, G. P. (2005) Antioxidant activity in different fractions of tomatoes, *Food Research International* 38, 487-494.
109. van den Berg, H., Faulks, R., Granado, H. F., Hirschberg, J., Olmedilla, B., Sandmann, G., Southon, S., and 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* 80, 880-912.
110. Moco, S., Bino, R. J., Vorst, O., Verhoeven, H. A., Groot, J. d., Beek, T. A. v., Vervoort, J., and Vos, C. H. R. d. (2006) A liquid chromatography-mass spectrometry-based metabolome database for tomato, *Plant Physiology* 141, 1205-1218.
111. Sliemstad, R., Fossen, T., and Verheul, M. J. (2008) The flavonoids of tomatoes, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 56, 2436-2441.
112. le Gall, G., DuPont, M. S., Mellon, F. A., Davis, A. L., Collins, G. J., Verhoeven, M. E., and Colquhoun, I. J. (2003) Characterization and content of flavonoid glycosides in genetically modified tomato (*Lycopersicon esculentum*) fruits, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*: 51 (9) 2438-2446 51, 2438-2446.
113. Torres, C. A., Davies, N. M., Yanez, J. A., and Andrews, P. K. (2005) Disposition of selected flavonoids in fruit tissues of various tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) Genotypes, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 53, 9536-9543.
114. Capanoglu, E., Beekwilder, J., Boyacioglu, D., Hall, R., and De Vos, R. (2008) Changes in antioxidant and metabolite profiles during production of tomato paste, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 56, 964-973.
115. Fujiwara, Y., Takaki, A., Uehara, Y., Ikeda, T., Okawa, M., Yamauchi, K., Ono, M., Yoshimitsu, H., and Nohara, T. (2004) Tomato steroidal alkaloid glycosides, esculeosides A and B, from ripe fruits, *Tetrahedron* 60, 4915-4920.
116. Yoshizaki, M., Matsushita, S., Fujiwara, Y., Ikeda, T., Ono, M., and Nohara, T. (2005) Tomato new sapogenols, isoesculeogenin A and esculeogenin B, *Chemical and Pharmaceutical Bulletin* 53, 839-840.
117. Ono, M., Takara, Y., Egami, M., Uranaka, K., Yoshimitsu, H., Matsushita, S., Fujiwara, Y., Ikeda, T., and Nohara, T. (2006) Steroidal alkaloid glycosides, esculeosides C and D, from the ripe fruit of cherry tomato, *Chemical and Pharmaceutical Bulletin* 54, 237-239.
118. Re, R., Bramley, P. M., and Rice-Evans, C. (2002) Effects of food processing on flavonoids and lycopene status in mediterranean tomato variety, *Free Radical Research* 36, 803-810.

119. Stewart, A. J., Bozonnet, S., Mullen, W., Jenkins, G. I., Lean, M. E. J., and Crozier, A. (2000) Occurrence of flavonols in tomatoes and tomato-based products, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 48, 2663-2669.
120. Li, Y., Wang, Z. N., Sun, X. F., and Tang, K. X. (2008) Current opinions on the functions of tocopherol based on the genetic manipulation of tocopherol biosynthesis in plants, *Journal of Integrative Plant Biology* 50, 1057-1069.
121. Chassy, A. W., Bui, L., Renaud, E. N. C., Van Horn, M., and Mitchell, A. E. (2006) Three-year comparison of the content of antioxidant microconstituents and several quality characteristics in organic and conventionally managed tomatoes and bell peppers, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 54, 8244-8252.
122. Toor, R. K., Savage, G. P., and Lister, C. E. (2006) Seasonal variations in the antioxidant composition of greenhouse grown tomatoes, *Journal of Food Composition and Analysis* 19, 1-10.
123. Zou, L., Li, H., Ouyang, B., Zhang, J., and Ye, Z. (2006) Cloning and mapping of genes involved in tomato ascorbic acid biosynthesis and metabolism, *Plant Science* 170, 120-127.
124. Chong, H. H., Simsek, S., and Reuhs, B. L. (2009) Analysis of cell-wall pectin from hot and cold break tomato preparations, *Food Research International* 42, 770-772.
125. Goodman, C. L., Fawcett, S., and Barringer, S. A. (2002) Flavor, viscosity, and color analyses of hot and cold break tomato juices, *Journal of Food Science* 67, 404-408.
126. Tibäck, E. A., Svelander, C. A., Colle, I. J. P., Altskär, A. I., Alminger, M. A. G., Hendrickx, M. E. G., Ahrné, L. M., and Langton, M. I. B. C. (2009) Mechanical and thermal pretreatments of crushed tomatoes: effects on consistency and in vitro accessibility of lycopene, *Journal of Food Science* 74, E386-E395.
127. Hurtado, M. C., Greve, L. C., and Labavitch, J. M. (2002) Changes in cell wall pectins accompanying tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) paste manufacture, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 50, 273-278.
128. Sanchez, M. C., Valencia, C., Gallegos, C., Ciruelos, A., and Latorre, A. (2002) Influence of processing on the rheological properties of tomato paste, *Journal of the Science of Food and Agriculture* 82, 990-997.
129. Servais, C., Jones, R., and Roberts, I. (2002) The influence of particle size distribution on the processing of food, *Journal of Food Engineering* 51, 201-208.
130. Bayod, E., Willers, E. P., and Tornberg, E. (2008) Rheological and structural characterization of tomato paste and its influence on the quality of ketchup, *Lwt-Food Science and Technology* 41, 1289-1300.
131. McCarthy, K. L., and McCarthy, M. J. (2009) Relationship between in-line viscosity and bostwick measurement during ketchup production, *Journal of Food Science* 74, E291-E297.
132. Valencia, C., Sanchez, M. C., Ciruelos, A., Latorre, A., Franco, J. M., and Gallegos, C. (2002) Linear viscoelasticity of tomato sauce products: influence of previous tomato paste processing, *European Food Research and Technology* 214, 394-399.
133. Bayod, E., Mansson, P., Innings, F., Bergenstahl, B., and Tornberg, E. (2007) Low shear rheology of concentrated tomato products. Effect of particle size and time, *Food Biophysics* 2, 146-157.
134. Mayeaux, M., Xu, Z., King, J. M., and Prinyawiwatkul, W. (2006) Effects of cooking conditions on the lycopene content in tomatoes, *Journal of Food Science* 71, C461-C464.
135. Sahlin, E., Savage, G. P., and Lister, C. E. (2004) Investigation of the antioxidant properties of tomatoes after processing, *Journal of Food Composition and Analysis* 17, 635-647.

136. Takeoka, G. R., Dao, L., Flessa, S., Gillespie, D. M., Jewell, W. T., Huebner, B., Bertow, D., and Ebeler, S. E. (2001) Processing effects on lycopene content and antioxidant activity of tomatoes, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 49, 3713-3717.
137. Seybold, C., Frohlich, K., Bitsch, R., Otto, K., and Bohm, V. (2004) Changes in contents of carotenoids and vitamin E during tomato processing, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 52, 7005-7010.
138. Abushita, A. A., Daood, H. G., and Biacs, P. A. (2000) Change in carotenoids and antioxidant vitamins in tomato as a function of varietal and technological factors, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 48, 2075-2081.
139. Pérez-Conesa, D., García-Alonso, J., García-Valverde, V., Iniesta, M.-D., Jacob, K., Sánchez-Siles, L. M., Ros, G., and Periago, M. J. (2009) Changes in bioactive compounds and antioxidant activity during homogenization and thermal processing of tomato puree, *Innovative Food Science & Emerging Technologies* 10, 179-188.
140. Anese, M. F., P.; Fogliano, V.; Nicoli, M.C.; Massini, R. (2002) Effect of equivalent thermal treatments on the color and the antioxidant activity of tomato purees, *Journal of Food Science* 67, 3442-3446.
141. Shi, J., and Le Maguer, M. (2000) Lycopene in tomatoes: Chemical and physical properties affected by food processing, *Critical Reviews in Biotechnology* 20, 293-334.
142. Tonucci, L. H., Holden, J. M., Beecher, G. R., Khachik, F., Davis, C. S., and Mulokozi, G. (1995) Carotenoid content of thermally processed tomato-based food-products, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 43, 579-586.
143. Khachik, F., Steck, A., Niggli, U. A., and Pfander, H. (1998) Partial synthesis and structural elucidation of the oxidative metabolites of lycopene identified in tomato paste, tomato juice, and human serum, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 46, 4874-4884.
144. Yokota, T., Etoh, H., Oshima, S., Hayakawa, K., and Ishiguro, Y. (2003) Oxygenated lycopene and dehydrated lutein in tomato puree, *Bioscience Biotechnology and Biochemistry* 67, 2644-2647.
145. Yokota, T., Etoh, H., Ukai, N., Oshima, S., Sakamoto, H., and Ishiguro, Y. (1997) 1,5-Dihydroxyiridanyl-lycopene in tomato puree, *Bioscience Biotechnology and Biochemistry* 61, 549-550.
146. Khachik, F., Goli, M. B., Beecher, G. R., Holden, J., Lusby, W. R., Tenorio, M. D., and Barrera, M. R. (1992) Effect of food preparation on qualitative and quantitative distribution of major carotenoid constituents of tomatoes and several green vegetables, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 40, 390-398.
147. Dewanto, V., Wu, X. Z., Adom, K. K., and Liu, R. H. (2002) Thermal processing enhances the nutritional value of tomatoes by increasing total antioxidant activity, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 50, 3010-3014.
148. Gahler, S., Otto, K., and Bohm, V. (2003) Alterations of vitamin C, total phenolics, and antioxidant capacity as affected by processing tomatoes to different products, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 51, 7962-7968.
149. Rickman, J. C., Barrett, D. M., and Bruhn, C. M. (2007) Nutritional comparison of fresh, frozen and canned fruits and vegetables. Part 1. Vitamins C and B and phenolic compounds, *Journal of the Science of Food and Agriculture* 87, 930-944.
150. Singh, S., Singh, J., and Rai, M. (2008) Nutritional attributes of processed tomatoes, *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* 7, 335-339.

151. Lavelli, V., and Giovanelli, G. (2003) Evaluation of heat and oxidative damage during storage of processed tomato products. II. Study of oxidative damage indices, *Journal of the Science of Food and Agriculture* 83, 966-971.
152. Dhuique-Mayer, C., Tbatou, M., Carail, M., Caris-Veyrat, C., Dornier, M., and Amiot, M. J. (2007) Thermal degradation of antioxidant micronutrients in Citrus juice: kinetics and newly formed compounds, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 55, 4209-4216.
153. Podsedek, A., Sosnowska, D., and Anders, B. (2003) Antioxidative capacity of tomato products, *European Food Research and Technology* 217, 296-300.
154. Sanchez-Moreno, C., Plaza, L., de Ancos, B., and Cano, M. P. (2006) Nutritional characterisation of commercial traditional pasteurised tomato juices: carotenoids, vitamin C and radical-scavenging capacity, *Food Chemistry* 98, 749-756.
155. Koh, E., Wimalasiri, K. M. S., Renaud, E. N. C., and Mitchell, A. E. (2008) A comparison of flavonoids, carotenoids and vitamin C in commercial organic and conventional marinara pasta sauce, *Journal of the Science of Food and Agriculture* 88, 344-354.
156. Porrini, M., and Riso, P. (2008) Factors influencing the bioavailability of antioxidants in foods: A critical appraisal, *Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases* 18, 647-650.
157. Borguini, R. G., and Torres, E. (2009) Tomatoes and tomato products as dietary sources of antioxidants, *Food Reviews International* 25, 313-325.
158. Parada, J., and Aguilera, J. M. (2007) Food microstructure affects the bioavailability of several nutrients, *Journal of Food Science* 72, R21-R32.
159. Stahl, W., and Sies, H. (1992) Uptake of lycopene and its geometrical isomers is greater from heat-processed than from unprocessed tomato juice in humans, *The Journal of Nutrition* 122, 2161-2166.
160. Apaiah, R. K., and Barringer, S. A. (2001) Quality loss during tomato paste production versus sauce storage, *Journal of Food Processing and Preservation* 25, 237-250.
161. Ordóñez-Santos, L. E., Vázquez-Odériz, L., Arbones-Maciñeira, E., and Romero-Rodríguez, M. Á. (2009) The influence of storage time on micronutrients in bottled tomato pulp, *Food Chemistry* 112, 146-149.
162. Garcia-Alonso, F. J., Bravo, S., Casas, J., Perez-Conesa, D., Jacob, K., and Periago, M. J. (2009) Changes in Antioxidant Compounds during the shelf life of commercial tomato juices in different packaging materials, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 57, 6815-6822.
163. Patras, A., Brunton, N., Da Pieve, S., Butler, F., and Downey, G. (2009) Effect of thermal and high pressure processing on antioxidant activity and instrumental colour of tomato and carrot purées, *Innovative Food Science & Emerging Technologies* 10, 16-22.
164. Dede, S., Alpas, H., and Bayindirli, A. (2007) High hydrostatic pressure treatment and storage of carrot and tomato juices: Antioxidant activity and microbial safety, *Journal of the Science of Food and Agriculture* 87, 773-782.
165. Odriozola-Serrano, I., Soliva-Fortuny, R., Hernández-Jover, T., and Martín-Belloso, O. (2009) Carotenoid and phenolic profile of tomato juices processed by high intensity pulsed electric fields compared with conventional thermal treatments, *Food Chemistry* 112, 258-266.
166. Virot, M. (2009) Soxhlet assisté par micro-ondes. Conception et application à l'extraction des matières grasses, Thèse de Chimie, Université d'Avignon et des Pays de Vaucluse, Avignon.

167. Lau, M. H., and Tang, J. (2002) Pasteurization of pickled asparagus using 915 MHz microwaves, *Journal of Food Engineering* 51, 283-290.
168. Kaur, C., George, B., Deepa, N., Jaggi, S., and Kapoor, H. C. (2007) Viscosity and quality of tomato juice as affected by processing methods, *Journal of Food Quality* 30, 864-877.
169. Onwuka, U. N., and Ejikeme, C. (2005) Influence of voltage and electrode type on the yield and quality of fruit juice extracted by ohmic heating, *Fruits* 60, 341-349.
170. Yildiz, H., and Baysal, T. (2006) Effects of alternative current heating treatment on *Aspergillus niger*, pectin methylesterase and pectin content in tomato, *Journal of Food Engineering* 75, 327-332.
171. Onwuka, U. N., Akobundu, E. N. T., and Iwe, M. O. (2008) Kinetics of inactivation of *Listeria monocytogenes*, *Clostridium perfringens*, *Escherichia coli* and *Salmonella* spp. in ohmic heated tomato juices, *Journal of Pure and Applied Microbiology* 2, 29-38.

Chapitre II

*Evolution des
microconstituants de la tomate
au cours de procédés de
transformation*

SOMMAIRE

I. INTRODUCTION	101
I.1. DIVERSITE DES MICROCONSTITUANTS DANS LES TOMATES ET LES PRODUITS A BASE DE TOMATE	102
I.1.1. Les caroténoïdes	102
I.1.2. Les composés phénoliques	103
I.1.3. Les vitamines.....	104
I.2. IMPACT DES PROCEDES ET DE LA CONSERVATION SUR LES TENEURS EN MICROCONSTITUANTS DANS LES PRODUITS A BASE DE TOMATE	104
I.2.1. Les caroténoïdes	104
I.2.2. Les composés phénoliques	105
I.2.3. La vitamine C	106
I.2.4. Conclusion.....	106
II. MATERIELS ET METHODES	108
II.1. MATERIELS	108
II.1.1. Produits à base de tomate.....	108
II.1.2. Produits utilisés pour la préparation de sauces à l'échelle pilote.....	108
II.1.3. Produits chimiques	109
II.1.4. Equipement utilisé pour la mesure de la teneur en oxygène	110
II.2. METHODES.....	111
II.2.1. Préparation des produits à base de tomate	111
II.2.2. Méthodes d'extraction et d'analyse des microconstituants	116
III. RESULTATS ET DISCUSSION.....	121
III.1. ETUDE APPROFONDIE DE DEUX PROCEDES INDUSTRIELS DE PREPARATION DE SAUCES TOMATE	121
III.1.1. Identification des caroténoïdes et des composés phénoliques dans les produits avant et après transformation	121
III.1.2. Détermination des teneurs en microconstituants dans les produits avant et après transformation.....	132
III.1.3. Discussion.....	142
III.2. PREPARATION DE SAUCES EN PILOTE. ETUDE DE L'EVOLUTION DES MICROCONSTITUANTS AU COURS DE LA TRANSFORMATION ET DE LA CONSERVATION	144
III.2.1. Rappel des deux procédés testés.....	144
III.2.2. Evolution des microconstituants au cours de la transformation	145
III.2.3. Evolution des microconstituants au cours de la conservation	147
III.3. ANALYSE DES MICROCONSTITUANTS DANS DES TOMATES ET DANS DES PRODUITS TRANSFORMES A BASE DE TOMATE	149
III.3.1. De la tomate au concentré.....	149
III.3.2. Teneurs en acide ascorbique dans de nombreux produits industriels à base de tomate..	160
III.3.3. Autres analyses réalisées sur des produits industriels à base de tomate	161
IV. CONCLUSION	163
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	165
ANNEXE	169

I. Introduction

La tomate, fruit cultivé et consommé sous de nombreuses latitudes, a fait l'objet de nombreuses études. Du fait de sa popularité, les scientifiques se sont intéressés à ses caractéristiques organoleptiques (couleur, texture, flaveur, goût, etc), en cherchant à les améliorer. Certains cultivars permettant d'augmenter les rendements de production et résistants aux agresseurs ont été développés. Enfin, et parce qu'elle est riche en vitamines, minéraux, caroténoïdes et autres microconstituants antioxydants, les propriétés nutritionnelles de la tomate ont été largement étudiées.

Les produits issus de la transformation de la tomate constituent un marché relativement important et en développement. Comme pour la tomate fraîche, la connaissance des caractéristiques nutritionnelles de ces produits présente un intérêt pour les consommateurs et les professionnels de la filière. Par exemple, les microconstituants des produits à base de tomate ont été étudiés à de nombreuses reprises. Cependant, lors de la transformation, les mécanismes des réactions dans lesquelles ils interviennent suscitent encore de nombreuses interrogations.

La première partie de ce travail de recherche est consacrée à l'étude de l'évolution de microconstituants antioxydants au cours des procédés de transformation. Pour ce faire, plusieurs produits industriels ont été analysés (tomates fraîches, pulpe, concentrés et sauces) permettant, dans un premier temps, une identification de l'ensemble des caroténoïdes et composés phénoliques contenus dans ces produits. Par la suite, la quantification des microconstituants majoritaires a permis d'évaluer l'impact des procédés ou du vieillissement accéléré sur les teneurs en microconstituants dans les produits. Ainsi, des hypothèses concernant leur stabilité ont été formulées; elles seront confirmées, ou non, dans le chapitre III.

I.1. Diversité des microconstituants dans les tomates et les produits à base de tomate

Les microconstituants antioxydants de la tomate ont été présentés de manière exhaustive dans le chapitre I de ce manuscrit. Ce paragraphe est un rappel sur les microconstituants présents dans les tomates et les produits à base de tomate.

I.1.1. Les caroténoïdes

Chez les tomates rouges (utilisées pour la préparation de produits transformés), le caroténoïde majoritaire est le (*E*)-lycopène qui est responsable de leur couleur. De nombreux autres carotènes sont également présents dans des quantités relativement faibles: des isomères *Z* du lycopène, le phytoène, le phytofluène, et des isomères α -, β -, γ -, δ -, ζ - du carotène. La tomate peut aussi contenir des xanthophylles, comme la lutéine, la néoxanthine, le neurosporène et la violaxanthine (1-4). Parmi ces composés, certains ont été étudiés dans les produits transformés, en particulier les isomères *Z* et *E* du lycopène et du β -carotène (5-6). Quelques publications rapportent également la présence de phytoène, de phytofluène, d' α - et ζ -carotène, de lutéine ou encore de neurosporène dans les produits transformés à base de tomate (7-10). Il est probable que d'autres caroténoïdes de la tomate fraîche soient présents dans les produits transformés mais ils n'ont pas été mentionnés dans la littérature.

Par ailleurs, on retrouve des produits issus de l'oxydation du lycopène dans les tomates fraîches et les produits transformés: le 1,2-époxylycopène, le 5,6-époxylycopène, le lycopène-5,6-diol et le 5,6-dihydroxy-5,6-dihydrolycopène (4, 7-8). On peut noter la présence de produits de coupure du lycopène dans des tomates fraîches et des produits transformés (soupe, sauce, jus et concentré de tomate): les apo-6', apo-8', apo-10', apo-12' et apo-14'-lycopénals (4, 11).

Enfin, certains produits d'oxydations plus minoritaires encore ont été retrouvés dans les produits transformés uniquement: le 5,6-diméthoxy-5,6-dihydrolycopène, le 1,5-époxy-2,6-cyclolycopène, le 1-méthoxy-2,6-cyclo-5-hydroxy-lycopène, le 1,16-didehydro-2,6-cyclo-5-hydroxy-lycopène et le 1,5-dihydroxyiridanyl-lycopène (= 1,5 dihydroxy-2,6-cyclolycopène) (7, 12-14).

Des époxydes d'autres carotènes ont également été identifiés dans des tomates fraîches: le 1,2-époxy-phytoène, le 1,2-époxy-phytofluène et le 1,2-époxy- ζ -carotène (4, 15).

I.1.2. Les composés phénoliques

Il existe une grande diversité de composés phénoliques dans les tomates et les produits transformés à base de tomate. Ceux-ci appartiennent essentiellement aux classes des acides hydroxycinnamiques, des flavonols et des flavanones. On les retrouve essentiellement sous forme glycosylée.

Dans la tomate, parmi les acides hydroxycinnamiques, on retrouve d'une part des glycosides des acides *p*-coumarique, caféique et férulique et d'autre part des acides mono-, di- et tri-caféoylquinique, *p*-coumaroylquinique et féruloylquinique (2, 16-17).

Les flavonoïdes de la tomate semblent peu diversifiés. Les flavonols présents dans ce fruit sont des dérivés du kaempferol, de la quercétine ou encore de la myricétine. Les flavanones identifiés sont la naringénine aglycone, la naringénine chalcone et des dérivés glycosylés de la naringénine. Quelques études ont également répertorié des anthocyanes: des dérivés de delphinidine, de petunidine et de malvidine (16-20). Une dihydrochalcone a récemment été identifiée dans des tomates fraîches: le 3',5'-di-C- β -glucopyranosyl-phlorétine (18). Ce fruit contient également des alcaloïdes: la tomatine, des esculéosides (A, B, C, D) et des lycopersides (A, B, C, F, G, H) (17, 21-23).

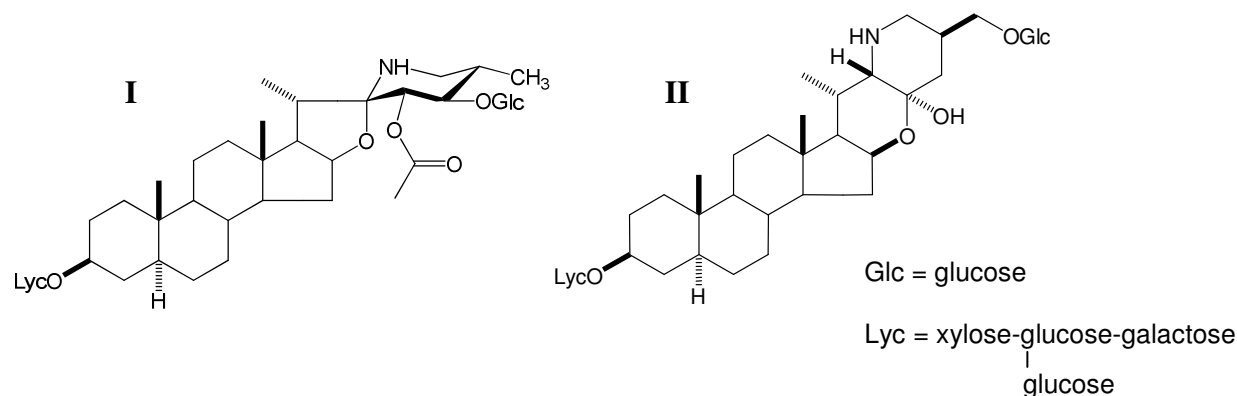


Figure II-1. Structure chimique du lycoperside G (I) et de l'esculéoside B (II)

Tous ces composés ont été identifiés dans les tomates fraîches. Les études concernant les composés phénoliques dans des produits transformés sont rares. Seuls quelques composés phénoliques ont fait l'objet d'études concernant les procédés de transformation des tomates et ont été retrouvés dans les produits en sortie de process. C'est le cas de l'acide chlorogénique, de la rutine et de la naringénine dans du concentré de tomate (16, 24).

I.1.3. Les vitamines

La tomate contient des vitamines A, B, E et K mais est surtout reconnue pour sa richesse en vitamine C. Selon les tables de composition USDA, les tomates fraîches en contiendraient 12,7 mg pour 100 g (25). Ces vitamines sont également présentes dans de nombreux produits transformés à base de tomate (25-26).

I.2. Impact des procédés et de la conservation sur les teneurs en microconstituants dans les produits à base de tomate

L'évolution des microconstituants de la tomate au cours de la transformation et de la conservation a déjà été évoquée dans le chapitre I de ce manuscrit. Le paragraphe suivant reprend les principales tendances observées pour les caroténoïdes, les composés phénoliques et la vitamine C.

I.2.1. Les caroténoïdes

Parmi les caroténoïdes de la tomate, le lycopène a été le plus largement étudié. Les publications concernant l'évolution de ce composé au cours des procédés sont nombreuses. Bien que les résultats des études divergent, on peut noter une tendance: les teneurs en lycopène restent relativement stables au cours de la transformation mais une élévation des températures ou une prolongation de la durée des traitements thermiques accélère la disparition de ce composé (10, 27-29). Les réactions impliquées sont des réactions d'isomérisation et d'oxydation dont les vitesses sont influencées par plusieurs paramètres: les conditions des traitements thermiques (température et durée de chauffage), la présence d'huile et la qualité des tomates fraîches utilisées (10, 27-32). Lors du stockage, ce composé ne semble pas affecté (33-35).

Le β -carotène a également été suivi au cours de procédés de transformation. Comme pour le lycopène, les résultats divergent: certaines études montrent que la teneur en β -carotène reste stable alors que pour d'autres, elle décroît (9, 16). D'autres part, les traitements thermiques semblent favoriser l'isomérisation du *E*- β -carotène en *Z*- β -carotène (27). Il est possible que ce composé soit dégradé par l'intermédiaire de réactions d'oxydation. Cependant, des produits d'oxydation n'ont jamais été observés dans les produits à base de tomate.

Les études concernant le suivi du β -carotène dans des produits à base de tomate lors de la conservation sont rares, et les tendances observées sont souvent différentes d'une étude à l'autre (33-34).

D'autres caroténoïdes comme la lutéine, le phytoène, le phytofluène, le neurosporène ou le ζ -carotène ont été étudiés au cours de la transformation et semblent peu affectés par les procédés (8-10).

I.2.2. Les composés phénoliques

Les études concernant l'évolution des composés phénoliques au cours de la transformation de la tomate sont rares. Les teneurs en composés phénoliques totaux semblent stables au cours de la préparation de purée et de concentré de tomate ou lors de la cuisson de tomates au four ou dans l'eau bouillante (32, 36). Les méthodes de dosage global (de type Folin-Ciocalteu) sont toutefois contestées car des composés non phénoliques sont susceptibles de réduire le réactif de Folin-Ciocalteu, faussant ainsi les résultats. Peu d'auteurs se sont intéressés à l'évolution de composés spécifiques en utilisant des méthodes d'analyse CLHP. Les acides hydroxycinnamiques (acides *p*-coumarique, férulique, caféique et chlorogénique) ne semblent pas affectés par les traitements thermiques. Les résultats concernant les flavonoïdes sont contradictoires. Re *et al.* (24) observent une diminution des teneurs en naringénine et en rutine lors de la préparation d'une sauce à partir de tomates fraîches alors que Capanoglu *et al.* (16) notent des teneurs stables, ou en légère augmentation lors de la transformation de tomates en concentré.

L'huile végétale intervient dans la préparation de certains produits à base de tomates. Or, au contact de morceaux de tomate, elle semble affecter les teneurs en composés phénoliques totaux même à faible température comme lors d'un assaisonnement par vinaigrette (32). Il est possible que les acides gras polyinsaturés de l'huile s'oxydent soit naturellement, soit après catalyse liée à l'apport d'ions issus de métaux de transition par la tomate. Cette oxydation peut être ralentie par les composés phénoliques, qui en jouant leur rôle d'antioxydant, sont dégradés.

Lors de la conservation, les teneurs en composés phénoliques semblent peu impactées ou ont même parfois tendance à augmenter (33-35).

I.2.3. La vitamine C

La vitamine C est le seul microconstituant de la tomate pour lequel il existe un consensus au sein de la littérature. Cette dernière, naturellement très sensible à l'oxydation de part sa structure, se dégrade fortement au cours des procédés. Selon les températures et durées des traitements thermiques, la luminosité, le pH et la teneur en oxygène, l'oxydation de ce composé sera plus ou moins rapide. La dégradation se poursuit lors du stockage, probablement en lien avec les réactions initiées lors des traitements thermiques (33-35, 37-38).

I.2.4. Conclusion

L'ensemble des données de la littérature fournit des résultats divergeant en ce qui concerne l'évolution des microconstituants de la tomate. Seules les études sur la vitamine C concordent toutes, montrant une dégradation de ce composé au cours de la transformation et de la conservation. Par ailleurs, les différentes études s'intéressant à l'impact des procédés sur les caroténoïdes et les composés phénoliques ont généralement employé des conditions de transformations différentes. Il est ainsi particulièrement difficile de comparer tous les résultats et de conclure sur les effets des traitements thermiques. Notons par ailleurs que d'autres paramètres, tels que les variétés de tomates utilisées et leur maturité semblent avoir un impact sur le devenir des microconstituants au cours de la transformation et de la conservation.

Dans le cadre de ce travail de recherche, les caroténoïdes et les composés phénoliques de tomates fraîches et de produits à base de tomate (concentrés, pulpe, sauces) seront d'abord identifiés ce qui permettra, le cas échéant, de répertorier de nouveaux composés et d'apprécier la diversité des microconstituants présents dans ces aliments. Ceci présente un intérêt particulier pour les composés phénoliques au sein des produits transformés, étant donné la faible quantité d'informations disponibles dans la littérature. Certains des composés identifiés seront ensuite quantifiés dans les produits avant et après transformation, afin d'évaluer l'impact des procédés sur les teneurs en microconstituants. Plusieurs procédés seront testés. Deux procédés industriels de transformation de concentré de tomate en sauce seront évalués puis les teneurs en microconstituants dans des sauces préparées en pilotes seront suivies lors de la transformation et du stockage. Les microconstituants seront également quantifiés en entrée et sortie d'un procédé de transformation de tomates fraîches en concentré.

L'étude de ces différents procédés de transformation permettra de déterminer les plus destructeurs vis-à-vis des microconstituants et d'émettre des hypothèses concernant la stabilité de ces derniers.

II. Matériels et méthodes

II.1. Matériels

II.1.1. Produits à base de tomate

Deux transformateurs de la région PACA, identifiés comme **A** et **B**, ont fournis divers produits à base de tomate au cours des campagnes 2007-2009.

L'usine A a fourni :

- des tomates fraîches (mélange de variétés Nautico, Montégo and Elégy) ainsi que le concentré préparé à partir de ces tomates (2008).
- un concentré de tomate et la sauce préparée à partir de ce concentré (2009). Cette huile contient 0,5 % d'huile de colza.

L'usine B a fourni :

- une sauce préparée à partir de tomates fraîches contenant 0,2 % d'huile d'olive (2007)
- un concentré, de la pulpe et la sauce préparée à partir de ces deux produits (2007).

Enfin, des concentrés de tomates (28-30 %) issus de la grande distribution ont été acquis auprès de Auchan, Carrefour et Intermarché.

II.1.2. Produits utilisés pour la préparation de sauces à l'échelle pilote

II.1.2.1. Huile végétale

L'huile utilisée pour la préparation des sauces en pilote est de l'huile de tournesol provenant du commerce (Carrefour). L'analyse des acides gras de cette huile est présentée dans la partie "II. Matériels et méthodes" du chapitre III.

II.1.2.2. Amidon modifié

L'amidon utilisé pour la préparation des sauces en pilote est de l'amidon modifié Resistamyl 347 (Adipate de di-amidon acétylé E1422, non gélatinisé, Tate & Lyle, Londres, Angleterre) fourni par le CTCPA d'Avignon.

II.1.2.3. Autres

Le sucre utilisé pour la préparation des sauces en pilote est du sucre en poudre blanc raffiné et le sel est du sel de table fin. Ils ont été fournis par le CTCPA d'Avignon.

II.1.3. Produits chimiques

II.1.3.1. Substances naturelles

L'acide chlorogénique (PM = 354,32 g.mol⁻¹, 95 %), la rutine (monohydrate, PM = 610,53 g.mol⁻¹, 95 %), la naringénine (PM = 272,26 g.mol⁻¹, 95 %) et l'acide L-ascorbique (PM = 176,12 g.mol⁻¹, 99 %) proviennent de chez Sigma-Aldrich (St Louis, MO, USA). Le (*E*)- β -carotène (PM = 536,89 g.mol⁻¹, 97 %) et l'ériodictyol (PM = 288,25 g.mol⁻¹, 95 %) proviennent de chez Fluka (St Louis, MO, USA). La prunine (PM = 434,40 g.mol⁻¹, 94 %) et l'ériodictyolchalcone (PM = 288,22 g.mol⁻¹, 100 %) proviennent de chez Extrasynthèse (Genay, France). Un mélange de (*E*)- et (*Z*)-phytoène (PM = 544,94 g.mol⁻¹, 99 %) a été fourni par la société DSM Nutritional products (Kaiseraugst, Suisse). Le (*5Z*)-lycopène et le (*13Z*)-lycopène ont été fournis par Kati Fröhlich et Volker Böhm de l'Université Friedrich-Schiller de Jena (Allemagne). Le (*E*)-lycopène ainsi que les 4-glucosides des acides caféique et *p*-coumarique ont été synthétisés par Eric Reynaud et Nathalie Mora de l'équipe Chimie des Antioxydants de l'UMR Sécurité et Qualité des Produits d'Origine Végétale (INRA, Université d'Avignon, Avignon, France). Les acides 3,4-et 4,5-dicaféoylquiniques (PM = 516,46 g.mol⁻¹) proviennent de chez PhytoLab (Vestenbergsreuth, Allemagne). L'acide 3,5-dicaféoylquinique a été fourni par l'équipe de Jean-Luc Poëssel de l'unité de Génétique et Amélioration des Fruits et Légumes (INRA, Avignon, France)

II.1.3.2. Autres

Parmi les solvants, l'éther de pétrole, le dichlorométhane (CH₂Cl₂), l'éthanol (C₂H₅OH), le méthanol (CH₃OH) et l'éther tert-butylméthylique ((CH₃)₃COCH₃) proviennent de chez Fisher Scientific (Illkirch, France). L'acétone (CH₃COCH₃) provient de Prolabo (Leuven, Belgique).

L'acide formique (98-100 %) provient de chez Merck (Darmstadt, Allemagne) et l'acide orthophosphorique (85 %) de Prolabo (Leuven, Belgique).

Le formiate d'ammonium, NH_4COOH (99,995 %) provient de chez Sigma Aldrich (St Louis, MO, USA) et le sulfate de sodium anhydre, Na_2SO_4 (99 %) de chez Fluka (St Louis, MO, USA).

L'eau de qualité milliQ a été obtenue à l'aide d'un système Millipore® QPak 2 (Millipore Corporation, Bedford, USA).

II.1.4. Equipement utilisé pour la mesure de la teneur en oxygène

La pression partielle en oxygène dans les sauces soumises à un vieillissement accéléré a été déterminée grâce à une sonde optique à oxygène (micro-sensor, Presens, Neuburg, Allemagne). Cette sonde est reliée à une base de type MicroX TX3 (Presens) qui donne la valeur de la teneur en oxygène dans le milieu à partir du signal luminescent capté par la sonde.

II.2. Méthodes

II.2.1. Préparation des produits à base de tomate

II.2.1.1. Préparation de deux sauces en usine

- **Préparation de la sauce A**

Un concentré de tomate et la sauce préparée à partir de ce concentré ont été fournis par l'usine A en avril 2009. Le procédé employé consiste à mélanger tous les ingrédients (eau, concentré de tomate, sucre, amidon, oignons frais, huile de colza et sel) dans une cuve ouverte et à les chauffer jusqu'à ce que le mélange soit à ébullition. La sauce est ensuite emboîtée puis pasteurisée (35 minutes à 96 °C) et refroidie sous flux d'eau froide. Le schéma de fabrication de la sauce A est présenté sur la Figure II-2 et son historique thermique sur la Figure II-4.

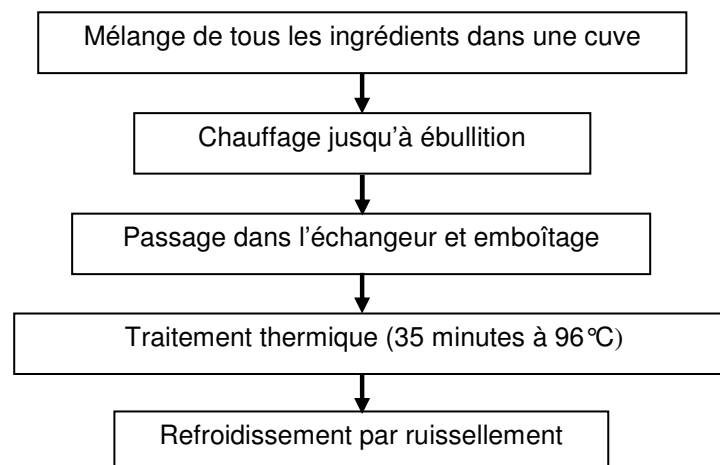


Figure II-2. Schéma de fabrication de la sauce A

- **Préparation de la sauce B**

L'usine B a fourni de la pulpe et du concentré ainsi que la sauce préparée à partir de ces deux produits, en février 2008. Au cours du procédé de fabrication de la sauce, le concentré est dilué puis chauffé à 95 °C. D'autre part, tous les autres ingrédients (huile d'olive, oignons, amidon, pulpe de tomate, sucre et sel) sont mélangés puis chauffés à 60, 80 et 120 °C en 2 minutes sur pastoplaques. Les deux préparations sont mélangées puis la sauce est emboîtée.

Les boîtes sont immédiatement refroidies sous flux d'eau froide. Le schéma de fabrication de la sauce B est présenté sur la Figure II-3 et son historique thermique sur la Figure II-5.

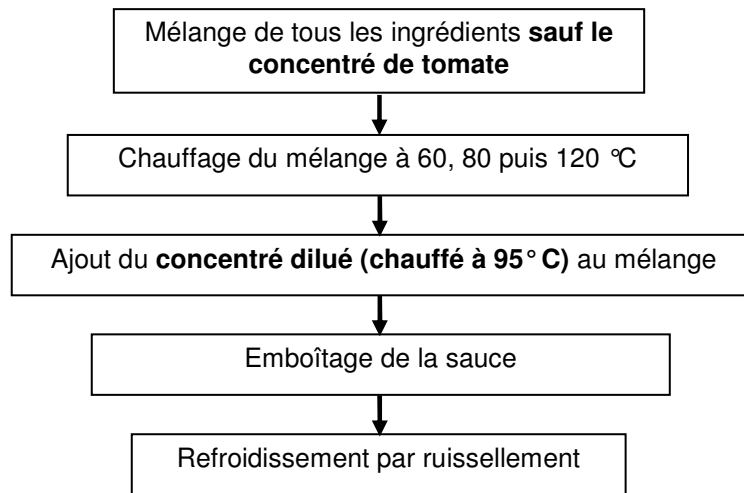


Figure II-3. Schéma de fabrication de la sauce B

○ Historiques thermiques

Les historiques thermiques des procédés A et B sont présentés ci-dessous.

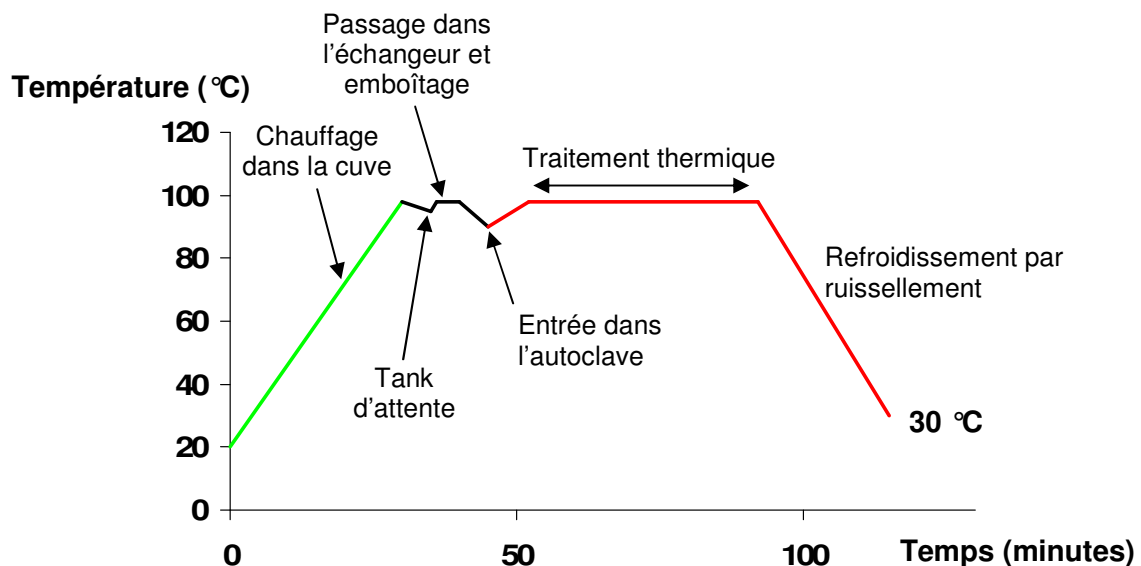


Figure II-4. Historique thermique de la sauce A

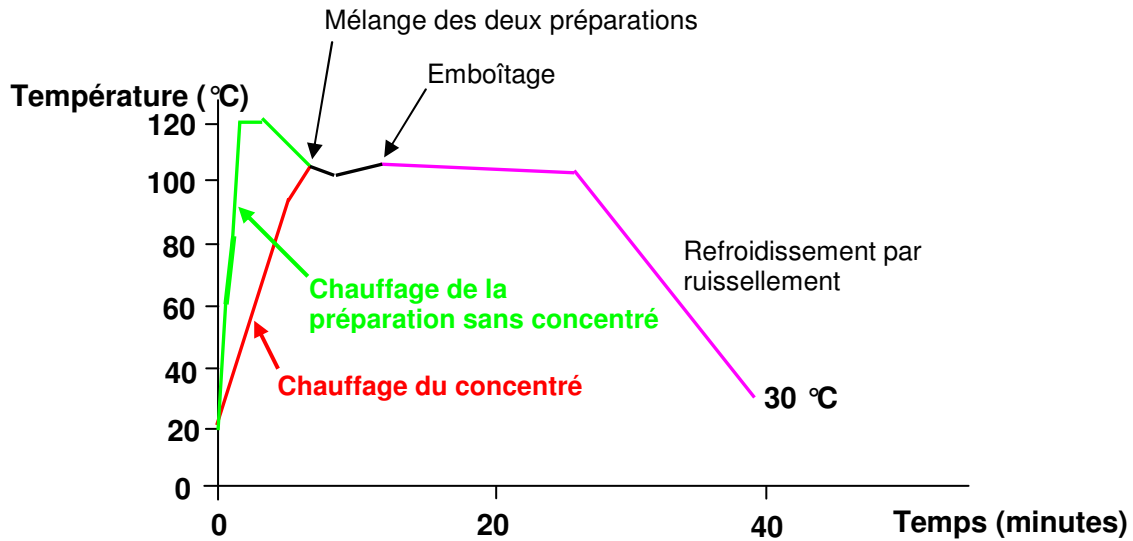


Figure II-5. Historique thermique de la sauce B

II.2.1.2. Préparation de deux sauces en pilote et suivi de leur vieillissement

Un concentré de tomate fourni par l'usine B a été utilisé pour préparer des sauces selon deux procédés de fabrication en pilote, inspirés de ceux appliqués à l'échelle industrielle dans les usines A et B.

○ Préparation de la sauce I

La sauce est préparée en mélangeant 300 g de concentré de tomate, 22,5 g de sucre, 22,5 g de sel, 28 g d'huile de tournesol, 22,5 g d'amidon et 1015,9 g d'eau dans une casserole. Le produit est chauffé jusqu'à ce que la température à cœur ait atteint 90 °C puis est emboîté immédiatement. Les boîtes métalliques utilisées sont de type 1/6, ce qui correspond à une contenance d'environ 142 mL. Elles sont pasteurisées à 96 °C pendant 35 minutes puis refroidies sous eau froide.

○ Préparation de la sauce II

La sauce II est préparée à partir des mêmes ingrédients que la sauce I et dans des proportions strictement identiques.

L'huile, l'amidon, le sucre et le sel sont dilués dans de l'eau. Ce mélange est homogénéisé puis chauffé 8 minutes dans un « Stephan® » jusqu'à atteindre une température de 120 °C. Cet appareil est équipé d'une double enveloppe à l'intérieur de laquelle la vapeur est injectée, ce

qui permet un chauffage indirect et une élévation rapide de la température du produit. Le concentré de tomate (300 g) est dilué dans 596,5 g d'eau puis chauffé dans une casserole jusqu'à atteindre une température à coeur de 95 °C (en 4 minutes). Ce concentré dilué est ensuite ajouté à la première préparation. Après homogénéisation, la température de la sauce est de 89 °C. Elle est emboîtée puis refroidie sous flux d'eau froide. Les boîtes sont les mêmes que celles utilisées pour conditionner la sauce I.

Les sauces I et II sont des produits à 7,7% de matière sèche de tomate contenant exactement les mêmes ingrédients.

- **Essai de vieillissement accéléré**

Les sauces I et II sont analysées après leur fabrication. Un essai de vieillissement accéléré est réalisé en plaçant 3 boîtes de chaque sauce dans une étuve à 37 °C pendant 4 mois. Elles seront analysées par la suite.

II.2.1.3. Préparation d'un concentré à partir de tomates fraîches

L'usine A a fourni des tomates fraîches et le concentré de tomate préparé à partir de ces tomates en août 2008. Le procédé de fabrication de ce concentré est présenté ci-dessous.

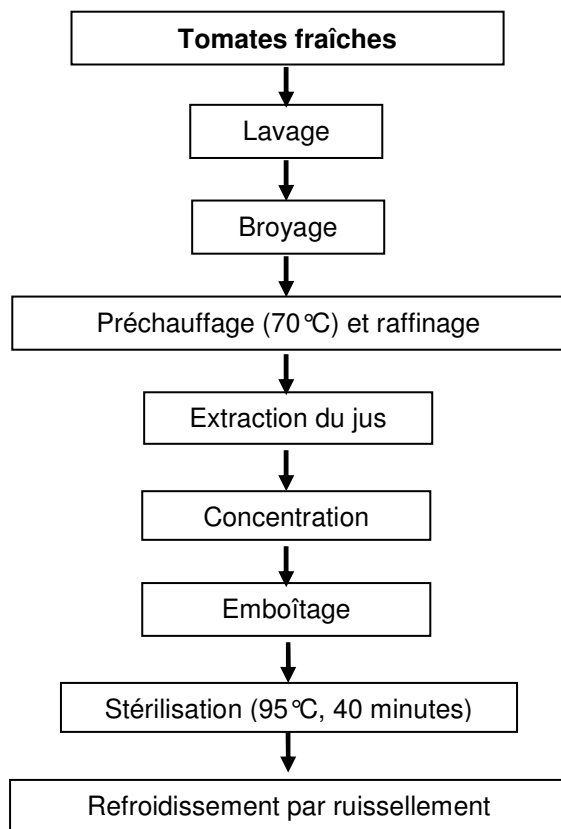


Figure II-6. Schéma de fabrication du concentré de tomate à partir de tomates fraîches

La préparation du concentré consiste en plusieurs étapes présentées sur la Figure II-6. Le produit final contient 30 % de matière sèche de tomate.

II.2.2. Méthodes d'extraction et d'analyse des microconstituants

II.2.2.1. Extraction et analyse de l'acide ascorbique

○ Extraction

Pour le concentré, 1 g de produit est dilué dans 4 mL d'acide phosphorique (H_3PO_4) à 2 %. Pour les tomates fraîches, la pulpe et les sauces, 2 g sont pesés puis dilués dans 2 mL d' H_3PO_4 à 2 %. L'ensemble est homogénéisé à l'Ultra-Turrax pendant une minute puis la tige est rincée avec 2 mL d' H_3PO_4 dilué. Le tout est centrifugé (10000 tr/min, 5 min, 4 °C); le surnageant est récupéré puis filtré (sur filtre de 0,45 μm) avant d'être injecté immédiatement en CLHP-UV.

○ Analyse

L'extrait obtenu est analysé en CLHP-UV à l'aide d'un chromatographe HP 1100 de Hewlett Packard couplé à un détecteur à barrettes de diodes (190-950 nm). La colonne utilisée est une colonne Alltima silice, greffée C18 (5 μm , 150 mm x 4,6 mm) munie d'une colonne de garde (7,5 mm x 4,6 mm) et placée dans un compartiment thermostaté à 24 °C. La phase mobile est une solution d'acide formique en solution aqueuse à 0,05 % à un débit de 0,5 mL.min⁻¹. Le volume d'échantillon injecté est de 10 μL et l'intégration du pic d'acide ascorbique se fait à 254 nm. La quantification est obtenue après calibration avec des solutions comprises dans la gamme [4-400 $\mu mol/L$]. Les caractéristiques de la méthode d'analyse de l'acide ascorbique sont présentées en annexe.

II.2.2.2. Extraction et analyse des composés phénoliques

○ Extraction

L'extraction est réalisée sur 4 g pour les concentrés et 16 g pour les tomates fraîches, la pulpe et les sauces. Le solvant utilisé est de l'éthanol absolu. Trois extractions successives sont réalisées, avec 5 mL de solvant pour les concentrés et 30 mL pour les tomates fraîches, la pulpe et les sauces, en effectuant une homogénéisation à l'Ultra-turrax pendant une minute. La tige de l'Ultra-turrax est rincée avec 2 mL de solvant après chaque extraction. Chaque extrait est centrifugé (10000 tr/min, 5 min, 4 °C). Les surnageants sont regroupés et concentrés à l'évaporateur rotatif. L'extrait sec est alors repris dans 5 mL de méthanol pour

les extraits provenant d'un concentré (10 mL pour les autres) et filtré (sur filtre de 0,45 μm) avant d'être injecté en CLHP-UV ou en fast-CLHP-SM.

○ **Analyse**

• **Identification**

L'identification des composés phénoliques se fait en fast-CLHP-SM. L'appareil utilisé est un chromatographe Waters Acquity Ultra Performance LC couplé à un détecteur à barrettes de diodes et une trappe d'ions HCT Ultra (Bruker Daltonics). Les analyses en spectrométrie de masse ont été réalisées selon le mode d'ionisation électrospray négatif (ESP-). La colonne utilisée est une colonne HSST3 (waters[®]) C18 (1,8 μm , 50 mm x 2,1mm) munie d'une colonne de garde (VanGuard, 1,8 μm) et maintenue à 30 °C. La phase mobile est constituée d'un gradient d'acide formique en solution aqueuse à 0,05 % et de méthanol, avec un débit de 0,4 mL.min⁻¹. Il est présenté dans le Tableau II-1. Le volume d'injection est de 1 μL .

Tableau II-1. Gradient d'élution utilisé pour l'analyse des composés phénoliques en fast-CLHP-SM

Temps (minutes)	Acide formique (%)	Méthanol (%)	Débit (mL/min)
0,00	85	15	0,4
1,13	85	15	0,4
2,27	79	21	0,4
3,63	79	21	0,4
4,76	77	23	0,4
5,90	77	23	0,4
12,20	40	60	0,4
13,60	40	60	0,4
15,00	0	100	0,4
16,00	85	15	0,4
20,00	85	15	0,4

Les spectres de masse ont été générés grâce au mode Ultrascan sur une plage m/z allant de 100 à 1300. Les paramètres d'ionisation sont les suivants: une pression de nébulisation de 40 psi, un débit de gaz de 9 mL.min⁻¹ et une température du gaz de 365 °C. La tension appliquée aux capillaires est de 2 kvolts.

L'analyse des données a été effectuée avec le programme DataAnalysis (Bruker Daltonics).

- **Quantification**

L'extrait méthanolique est injecté en CLHP-UV. L'appareil et la colonne utilisés sont les mêmes que pour l'analyse de l'acide ascorbique. La température de la colonne est maintenue à 30 °C pendant toute la durée de l'analyse. La phase mobile est constituée d'un gradient d'acide formique en solution aqueuse à 0,05 % et de méthanol. Il est présenté dans le Tableau II-2.

Tableau II-2. Gradient d'éluion utilisé pour l'analyse des composés phénoliques en CLHP-UV

Temps (minutes)	Acide formique (%)	Méthanol (%)	Débit (mL/min)
0	85	15	0,5
10	85	15	0,5
20	79	21	0,5
32	79	21	0,5
42	77	23	0,5
44	77	23	0,5
46	77	23	0,7
52	77	23	0,7
107	40	60	0,7
110	40	60	0,7
112	0	100	0,7
117	0	100	0,7
118	0	100	0,5
119	85	15	0,5
140	85	15	0,5

Le volume d'échantillon injecté est de 10 µL. L'intégration des pics se fait à 280, sauf pour la naringénine chalcone intégré à 365 nm. La quantification des différents composés phénoliques est obtenue après calibration avec des solutions d'acide chlorogénique, de rutine, de 7-O-glucosyl-naringénine, de naringénine, d'acide 4-O-glucosyl-caféique, d'acide 4-O-glucosyl-*p*-coumarique et d'ériodyctiolchalcone. Les caractéristiques des méthodes d'analyse de ces composés phénoliques sont présentées en annexe.

II.2.2.3. Extraction et analyse des caroténoïdes

○ Extraction

L'extraction est réalisée, respectivement, sur 1 g pour le concentré et 4 g pour les tomates fraîches, la pulpe et les sauces. Le solvant utilisé est un mélange acétone/éther de pétrole (50:50 vol). Il faut réaliser trois extractions successives. Pour la première, le concentré est mélangé à 2 mL d'eau puis 13 mL de solvants sont ajoutés avant d'homogénéiser à l'Ultra-turrax pendant une minute. Pour les tomates fraîches, la pulpe et les sauces, 15 mL de solvants sont ajoutés. La tige de l'Ultra-turrax est rincée avec 5 mL de solvants. L'ensemble est filtré sur coton de verre. Les deux extractions suivantes sont réalisées avec 20 mL de solvants sous agitation magnétique pendant 5 minutes avant de filtrer les solvants. Les trois filtrats sont regroupés. Lorsque l'extraction est réalisée sur concentré, 20 mL d'eau sont ajoutés afin d'obtenir un mélange bi-phasique. Pour la pulpe et les sauces, le déphasage se fait sans ajout d'eau, le produit à extraire contenant déjà une forte proportion d'eau. La phase éther de pétrole est récupérée, transférée dans une fiole jaugée de 50 mL et complétée avec de l'éther de pétrole. Cette phase organique trouble est séchée par ajout de quelques grammes de sulfate de sodium anhydre. Avant injection en CLHP-SM-DAD, l'extrait est évaporé à sec et repris dans un mélange dichlorométhane/méthanol (50:50 vol).

○ Analyse

L'extrait est analysé en CLHP-UV-SM à l'aide d'un chromatographe HP 1050 de Hewlett Packard couplé à un détecteur à barrettes de diode et un spectromètre de masse Micromass LCZ 4000, ce qui permet une identification et une quantification simultanées. La colonne utilisée est de type YMC, phase inverse C30 (3 μ m, 250 mm x 4,6 mm). Elle est munie d'une colonne de garde (7,5 mm x 4,6 mm) et placée dans un compartiment thermostaté à 30°C. La phase mobile est constituée de 3 solvants:

- Formiate d'ammonium 25 mM dans de l'eau: A
- Formiate d'ammonium 25 mM dans du méthanol: B
- MTBE (éther tert-butylméthylique): C

Le gradient d'élution est présenté dans le Tableau II-3. Le débit est de 1 mL.min⁻¹ et le volume d'injection de 5 μ L. Les analyses sont réalisées selon le mode d'ionisation positif (ESP+) et les tensions des cônes sont de 17 et 32 volts.

Tableau II-3. Gradient d'élution utilisé pour l'analyse des caroténoïdes

Temps (minutes)	A (%)	B (%)	C (%)
0,00	40	60	0
5,00	40	60	0
10,00	30	70	0
15,00	25	70	5
20,00	20	70	10
60,00	4	11	85
70,00	4	11	85
70,10	0	100	0
72,00	0	100	0
72,01	40	60	0
80,00	40	60	0

L'analyse des données est réalisée avec le programme Masslynx. La quantification des composés d'intérêt se fait à 452 nm pour le β -carotène (formes *E* et *Z*) et à 472 nm pour le lycopène (*E* et *Z*). La quantification des caroténoïdes est obtenue après calibration avec des solutions de (*E*)-lycopène et de (*E*)- β -carotène comprises dans les gammes [0,4-200 $\mu\text{mol/L}$] et [0-20,5 $\mu\text{mol/L}$] respectivement. Les caractéristiques des méthodes d'analyse des caroténoïdes sont présentées en annexe.

III. Résultats et discussion

III.1. Etude approfondie de deux procédés industriels de préparation de sauces tomate

III.1.1. Identification des caroténoïdes et des composés phénoliques dans les produits avant et après transformation

III.1.1.1. Caroténoïdes

L'analyse en CLHP-SM des extraits de caroténoïdes provenant des sauces A et B ainsi que des concentrés et pulpe entrant dans leurs compositions a permis leur analyse qualitative et quantitative. A 450 nm (longueur d'onde proche de la longueur d'onde maximale d'absorption du (*E*)- β -carotène et du (*E*)-lycopène), les chromatogrammes obtenus pour les 5 produits analysés présentent des profils relativement similaires. Le chromatogramme correspondant à l'extrait de caroténoïdes de la sauce A est présenté sur la Figure II-7.

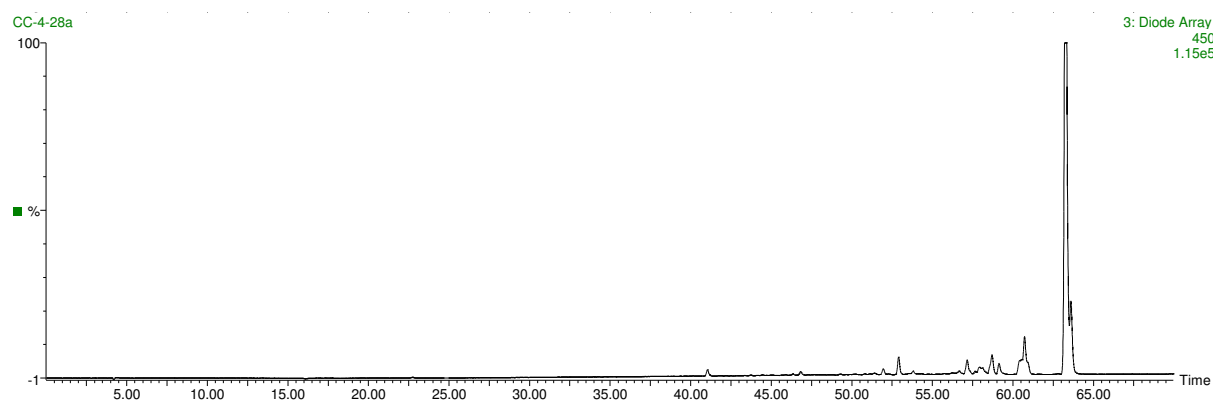


Figure II-7. Chromatogramme de l'extrait de caroténoïdes de la sauce A à 450 nm

Le pic majoritaire correspond au (*E*)-lycopène et est ainsi présent dans tous les produits analysés. D'autres composés, en apparence moins concentrés que le (*E*)-lycopène, sont également présents. Les données de spectrométrie de masse ainsi que les spectres UV-visible de chacun de ces composés ont permis leur identification avec l'aide de données de la littérature.

L'ensemble des produits identifiés dans ces 5 produits est présenté dans le Tableau II-4. Les caractéristiques de ces caroténoïdes (temps de rétention (Tr), longueur d'onde maximale d'absorption (λ_{max}) et masse (m/z)) sont précisées ainsi que les produits à base de tomate dans lesquels ils ont été retrouvés.

L'identification des isomères de lycopène et de β -carotène se fait grâce au spectre UV-visible. Ainsi, la principale longueur d'onde maximale d'absorption d'un isomère Z est inférieure à celle de l'isomère E; pour un double isomère Z, l'écart des longueurs d'ondes sera plus important. De plus, la présence d'un pic "cis" placé 140 nm avant la longueur d'onde d'absorption maximale est caractéristique des isomères Z. L'intensité de ce pic permet, par ailleurs, de connaître la position de la double liaison isomérisée. Elle est exprimée comme un pourcentage de l'absorbance mesurée à la longueur d'onde maximale d'absorption et se note " $\%A_B/A_{II}$ " (voir Figure II-8). Plus la valeur de $\%A_B/A_{II}$ est élevée, plus la double liaison isomérisée est proche du centre de la molécule (double liaison 15,15'). Les intensités mesurées pour les différents isomères de lycopène et de β -carotène identifiés sont précisées dans le Tableau II-4. Les composés pour lesquels un étalon ou un témoin était disponible sont indiqués par la lettre **E** ou **T** dans ce tableau.

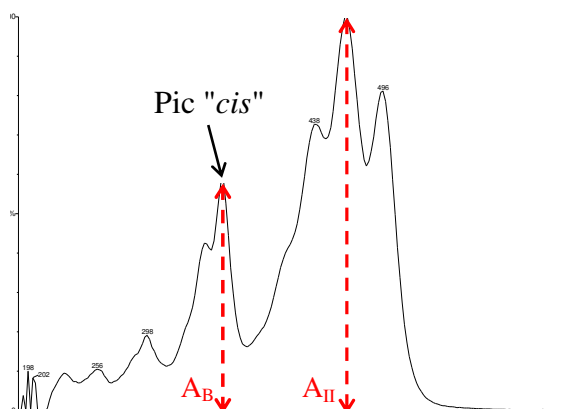


Figure II-8. Spectres UV-Visibles d'un isomère Z du lycopène

Tableau II-4. Caroténoïdes identifiés dans les sauces A et B et dans les concentrés et la pulpe ayant servi à leurs préparations

Tr. (min)	λ_{\max} (nm)	% A _B /A _{II}	m/z [M+H] ⁺	Composé	Origine
41,18	416, <u>446</u> , 474	-	751	Mono-laurate de lutéine	C _A , S _A , C _B , P _B , S _B
42,09	276, <u>286</u> , 297	-	561	1,2-époxy-phytoène	C _A , S _A , C _B , P _B
50,01	275, <u>286</u> , 297	-	545	(15Z)-Phytoène (T)	C _A , S _A , C _B , P _B , S _B
50,31	273, <u>280</u> , 292	-	545	(E)-Phytoène (T)	C _A
50,75	332, <u>348</u> , 368	-	543	Phytofluène	C _A , S _A , C _B , P _B , S _B
51,71	332, <u>348</u> , 368	-	543	Isomère de phytofluène	C _A , S _A , C _B , P _B , S _B
51,97	420, <u>442</u> , 468	0,444	537	(13Z)- β -Carotène	S _A C _B , P _B , S _B
52,92	426, <u>452</u> , 478	-	537	(E)- β -Carotène (E)	C _A , S _A , C _B , P _B , S _B
53,77	382, 402, <u>426</u>	-	539	ζ -Carotène	C _A , P _B , S _B
57,16	428, <u>456</u> , 488	0,267	537	Di-(Z)-lycopène	S _A
57,58	430, <u>458</u> , 486	0,324	537	Di-(Z)-lycopène	C _B , S _B
57,65	430, <u>460</u> , 492	-	537	Di-(Z)-lycopène	S _A
57,76	440, <u>468</u> , 498	0,731	537	(15Z)-Lycopène ^a	C _B
57,89	440, <u>460</u> , 492	0,222	537	Di-(Z)-lycopène	S _A
57,91	432, <u>462</u> , 490	-	537	Di-(Z)-lycopène	C _A , C _B , S _B
58,10	438, <u>458</u> , 490	-	537	Di-(Z)-lycopène	S _A
58,15	440, <u>468</u> , 494	0,533	537	(5Z,13Z)-lycopène (?)	C _A
58,34	436, <u>462</u> , 492	0,133	537	Di-(Z)-lycopène	C _B , S _B
58,58	440, <u>466</u> , 494	0,643	537	Di-(Z)-lycopène	S _A
58,70	440, <u>464</u> , 494	0,356	537	(11Z)-lycopène (?)	S _A

C_A = concentré de tomate utilisé pour préparer la sauce A; S_A = sauce A; C_B = concentré de tomate utilisé pour préparer la sauce B; P_B = pulpe de tomate utilisée pour préparer la sauce B; S_B = sauce B.

^a identification selon les travaux de Hengartner *et al.* (39)

^b identification selon les travaux de Breitenbach *et al.* (40)

Tr. (min)	λ_{\max} (nm)	% A_B/A_{II}	m/z [M+H] ⁺	Composé	Origine
59,18	440, <u>466</u> , 496	0,576	537	(13Z)-lycopène (T)	S _A , C _B , S _B
59,61	432, <u>458</u> , 488	0,286	537	(5Z,13'Z)-lycopène ^b	C _A , S _A , S _B
60,98	446, <u>472</u> , 502	-	553	1,2-epoxy-lycopène	C _A , S _A , C _B , P _B , S _B
61,28	440, <u>466</u> , 496	0,156	537	(9Z)-lycopène ^b	C _A , S _A , C _B , P _B , S _B
61,38	440, <u>466</u> , 498	0,125	537	(5Z,9'Z)-lycopène ^b	C _A , S _A , C _B , P _B , S _B
61,87	450, <u>474</u> , 506	-	537	(5Z,5'Z)-lycopène (?)	P _B
63,76	446, <u>472</u> , 502	-	537	(E)-lycopène (E)	C _A , S _A , C _B , P _B , S _B
64,11	446, <u>472</u> , 502	-	537	(5Z)-lycopène (T)	C _A , S _A , C _B , P _B , S _B

C_A = concentré de tomate utilisé pour préparer la sauce A; S_A = sauce A; C_B = concentré de tomate utilisé pour préparer la sauce B; P_B = pulpe de tomate utilisée pour préparer la sauce B; S_B = sauce B.

^a identification selon les travaux de Hengartner *et al.* (39)

^b identification selon les travaux de Breitenbach *et al.* (40)

La majorité des produits identifiés sont des isomères Z de lycopène. Les composés identifiés ne présentant qu'une seule isomérisation sont les (5Z)-, (9Z), (11Z)-, (13Z)- et (15Z)-lycopène. Des standard de (5Z)- et (13Z)-lycopène ont été injectés en CLHP-SM dans les mêmes conditions que les extraits provenant des produits à base de tomate et ont permis de confirmer la présence de ces deux composés dans les extraits analysés. L'identification des (9Z)- et (15Z)-lycopène repose sur des données de la littérature (39-40), elle n'a pas pu être confirmée faute de standards, et la présence du (11Z)-lycopène reste une supposition. Ce dernier n'a pas été caractérisé dans la littérature; cette supposition repose sur les données relatives au spectre UV-visible du pic correspondant. Un nombre important d'isomères de lycopène présentant deux isomérisations serait également présent dans les produits à base de tomate analysés. Nous n'avons pas pu avancer une attribution pour la majorité d'entre eux (localisation des doubles liaisons isomérisées inconnues) du fait des faibles quantités présentes dans les extraits. Les spectres UV-visible obtenus n'étaient pas suffisamment précis pour permettre une

identification non ambiguë de ces caroténoïdes et les molécules standards ne sont pas commerciales.

Un seul produit d'oxydation du lycopène a été retrouvé: le 1,2-époxy-lycopène, cependant l'attribution reste hypothétique, la molécule standard n'étant pas disponible. Il est possible que d'autres produits d'oxydation du lycopène ou des produits de coupure soient présents dans les extraits mais dans des proportions trop faibles pour être détectés.

Par ailleurs, un produit d'oxydation du phytoène a été détecté ainsi que le (*E*)-phytoène et un isomère qui serait probablement le (15*Z*)-phytoène. L'injection d'un mélange standard de (*E*) et (*Z*)-phytoène a confirmé la présence de la forme *E* dans les produits analysés. L'hypothèse de la présence du (15*Z*)-phytoène se base sur les données de la littérature qui indiquent que le phytoène est présent sous cette forme dans les organismes végétaux (41). L'identification du 1,2-époxy-phytoène est basée sur les données de spectrométrie de masse, le spectre UV-visible du pic et des données de la littérature (15). Cependant, nous n'avons pas de standard,, l'attribution reste donc hypothétique. L'injection d'un standard de (*E*)-β-carotène a permis de confirmer la présence de ce caroténoïde. Son isomère (13*Z*) a été caractérisé grâce à des données de la littérature (42-43).

Parmi les composés que nous avons potentiellement identifiés, tous avaient préalablement été répertoriés par différents auteurs dans des tomates ou produits à base de tomate, excepté le monolaurate de lutéine.

Plusieurs isomères de lycopène avaient eux aussi été répertoriés, mais parmi ceux retrouvés dans nos produits, beaucoup n'ont jamais été mentionnés dans des produits à base de tomate, en particulier des di-(*Z*)-lycopènes. Il serait intéressant de confirmer la présence des isomères supposés et d'apporter des précisions concernant ceux qui n'ont pas été totalement caractérisés.

III.1.1.2. Composés phénoliques

Après extraction des composés phénoliques des 5 produits analysés, les analyses en fast-CLHP-SM ont permis l'identification de 23 à 42 composés différents par produit. Les chromatogrammes présentés sur la Figure II-9 correspondent à l'extrait provenant de la sauce A. Les longueurs d'onde 280 et 330 nm permettent d'avoir une vision globale de l'ensemble des composés phénoliques provenant de la tomate.

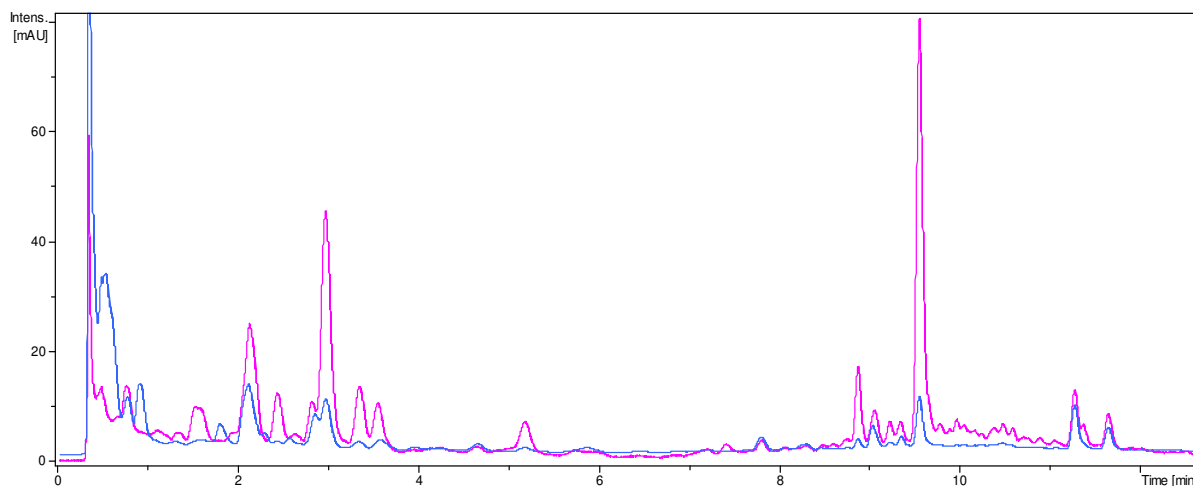


Figure II-9. Chromatogrammes obtenus en fast-CLHP-SM de l'extrait de composés phénoliques de la sauce A à 280 nm (en bleu) et 330 nm (en rose).

Pour les sauces comme pour les concentrés et la pulpe analysés, les profils des différents chromatogrammes obtenus sont très proches. Le nombre de composés présents dans les extraits phénoliques semble important. Alors qu'une partie d'entre eux est éluée relativement tôt (0-4 minutes) du fait de leur forte polarité, l'autre partie, constituée de composés plus apolaires, sort plus tard (7-10 minutes).

Les données obtenues par spectrométrie de masse, en complément des spectres UV-visible, des pics et des données de la littérature ont permis d'identifier un certain nombre de composés phénoliques, listés dans le Tableau II-5. De même, les produits à base de tomate dans lesquels ont été retrouvés ces composés sont indiqués. Les composés pour lesquels un étalon ou un témoin était disponible sont indiqués par la lettre **E** ou **T** dans ce tableau.

Tableau II-5. Composés phénoliques identifiés dans les sauces A et B et dans les concentrés et la pulpe ayant servi à leurs préparations

Tr (min)	λ_{max} (nm)	m/z [M-H] ⁻	Fragmentations des ions (m/z)	Composé	Origine
1,8	292ep, <u>324</u>	353	191, 179, 135	Acide 3-O-caféoylquinique ^b	C _A , S _A , C _B , S _B
1,8		341	323, 229, 203, 179, 101	Acide caféique + hexose ^b (I)	C _A , S _A , C _B
1,9		503	413, 341, 179	Acide –di-hexosyl-caféique	C _A
2,0		341	281, 251, 233, 203, 189, 179, 161, 135	Acide caféique + hexose ^b (II)	C _A , S _A , P _B
2,2	222, <u>294</u>	651 (PM = 326)	632, 489, 325	Acide 4-O-glucosyl- <i>p</i> -coumarique (E)	C _A , C _B , P _B , S _B
2,2	236ep, <u>290</u> , 316ep	341	179, 135	Acide 4-O-glucosyl-caféique (E)	C _A , S _A , C _B , P _B , S _B
2,5	<u>288</u>	329	311, 209, 167	Acide hexosyl-dihydroxyphenylacétique	C _A , S _A , C _B , P _B
2,5	236, 298ep, <u>325</u>	341	323, 281, 251, 221, 179, 135	Caféoyl-hexose ^b (I)	C _A , S _A , P _B , S _B
2,6	216, <u>279</u> ,	343	298, 223, 181, 137	Acide hexosyl-dihydroxyphénylpropionique	C _A , S _A , C _B , P _B
3,1	292ep, <u>324</u>	341	323, 281, 221, 179, 135	Caféoyl-hexose ^b (II)	C _A , S _A , C _B , P _B , S _B
3,1	298ep, <u>326</u>	353	191	Acide 5-O-caféoylquinique ^b (E)	C _A , S _A , C _B , P _B , S _B
3,4	223ep, <u>280</u> , 300ep	357	195, 136	Acide hexosyl-hydroxyméthoxyphényl propionique	P _B
3,5	219, 234, 298ep, <u>326</u>	353	191<179<173, 135	Acide 4-O-caféoylquinique ^b	C _A , S _A , C _B , P _B , S _B
3,5	236, 295ep, <u>318</u>	355	295, 217, 193, 175, 134	Acide hexosyl-férulique ^b	S _B

C_A = concentré de tomate utilisé pour préparer la sauce A; S_A = sauce A; C_B = concentré de tomate utilisé pour préparer la sauce B; P_B = pulpe de tomate utilisée pour préparer la sauce B; S_B = sauce B.

Le suffixe “ep” indique un épaulement sur le spectre UV-visible. Les données relatives aux spectres UV-visible ne sont pas indiquées lors de co-élutions.

^a Selon les travaux de Slimstad *et al.* 2008 (18)

^b Selon les travaux de Moco *et al.* 2007 (2)

Tr (min)	λ_{\max} (nm)	m/z [M-H] ⁻	Fragmentations des ions (m/z)	Composé	Origine
3,6		385	223, 208, 164, 179	Acide hexosyl-sinapique	S _B
3,7		387	369, 163, 113	Acide hexosyl-dihydrosinapique	S _A , C _B , S _B
4,0		903	741, 609	Quercétine-glucose-rhamnose-apiose-hexose	S _A , P _B
4,4	<u>289</u> , 326ep	595	577, 475, 415, 385, 355, 313	Di-hexosyl-naringénine ^b (?)	C _A , S _A , C _B , P _B , S _B
4,6		445	221, 179	Acide hexosyl-sinapique + 60 u.m.a.	P _B
4,9	237, 299ep, <u>310</u>	337	191, 163	Acide <i>p</i> -coumaroylquinique	C _A , S _A
5,4	<u>254</u> , 265ep, <u>351</u>	771	609, 301	Hexosyl-rutine	C _A , S _A , C _B , P _B , S _B
5,7	248ep, <u>277</u> , <u>325ep</u>	557	359, 299, 255, 197, 153	Acide hexosyl-syringique + 198 u.m.a	C _A , C _B
6,1	284ep, <u>310</u>	631	433, 271	Hexosyl-naringénine + 198 u.m.a.	C _A , S _A , C _B , P _B
6,1	284ep, <u>310</u>	611	565, 513, 449, 287	Dihexosyl-dihydrokaempferol	C _A , S _A
6,3		245	191, 119	Acide <i>p</i> -coumarique + 82 u.m.a.	C _A , S _A , S _B
7,3	248, <u>291</u> , <u>324ep</u>	433	387, 343, 313	Hexosyl-naringénine (I)	C _A , S _A
7,9	250ep, <u>282</u>	449	287, 151	Hexosyl-dihydrokaempferol (I)	C _A , S _A
8,0		625	463, 301	Di-hexosyl-quercétine	S _B
8,1	236ep, <u>278</u>	449	431, 391, 334, 287, 269, 198, 151	Hexosyl-dihydrokaempferol (II)	C _A , C _B , P _B
8,1		359	197, 153	Acide hexosyl-syringique	C _A , S _A , C _B , P _B
8,1	<u>284</u> , ep 330	433	313, 271, 151	Hexosyl-naringénine (II)	C _A , S _A , C _B , P _B , S _B

C_A = concentré de tomate utilisé pour préparer la sauce A; S_A = sauce A; C_B = concentré de tomate utilisé pour préparer la sauce B; P_B = pulpe de tomate utilisée pour préparer la sauce B; S_B = sauce B.

Le suffixe "ep" indique un épaulement sur le spectre UV-visible. Les données relatives aux spectres UV-visible ne sont pas toujours indiquées car les composés étaient co-élus.

^a Selon les travaux de Slimstad *et al.* 2008 (18)

^b Selon les travaux de Moco *et al.* 2007 (2)

Tr (min)	λ_{\max} (nm)	m/z [M-H] ⁻	Fragmentations des ions (m/z)	Composé	Origine
8,5	248, 290 ^{ep} , <u>324</u>	839	677, 515, 353	Acide hexosyl-tricaféoylquinique ou acide tétra caféoylquinique	C _B
9,0	<u>256</u> , 268 ^{ep} , 293 ^{ep} , <u>355</u>	741	609, 547, 475, 343, 300	Quercétine 3-O-(2''-O- β -apiofuranosyl-6''-O- α -rhamnopyranosyl- β -glucopyranoside) ^a	C _A , S _A , C _B , P _B , S _B
9,2	248 ^{ep} , <u>288</u> , 322	433	271	7-O-glucosyl-naringénine (= prunine) (E)	C _A , S _A , C _B , P _B , S _B
9,2	248 ^{ep} , <u>288</u> , 322	515	353, 191<179<173	Acide 3,4-dicaféoylquinique ^b (T)	C _A , C _B , P _B , S _B
9,2		1227	1095, 1065, 933, 771	Esculéoside B ^b (I)	S _A , C _B , P _B
9,3	250, <u>293</u> , 325	515	353, 191>179>173	Acide 3,5-dicaféoylquinique ^b (E)	C _A , S _A , C _B , P _B , S _B
9,3	250, <u>293</u> , 325	434	271, 151	Hexosyl-naringénine (III)	C _B , P _B
9,4	<u>285</u> , 322 ^{ep}	597	477, 417, 387, 357, 315	Dihexosyl-phloretin ^a	C _A , S _A , C _B , P _B
9,7	228 ^{ep} , <u>256</u> , 267 ^{ep} , 293, <u>354</u>	609	301	Rutine (E)	C _A , S _A , P _B , S _B
10,1		1227	1095, 1065, 933, 771	Esculéoside B ^b (II)	C _A , S _A , C _B , P _B
10,1	248, <u>319</u>	515	353, 299, 255, 173>179>191	Acide 4,5-dicaféoylquinique ^b (T)	C _A , S _A
10,3	248, <u>330</u>	433	313, 271, 151	Hexosyl-naringénine (IV)	C _A
10,5	250, 268, <u>292</u> , 321	287	269, 151	Dihydrokaempferol	S _A , P _B
10,5	230 ^{ep} , <u>268</u> , 290, 350	593	345, 283	3-O-rutinosyl-kaempférol ^b	C _A , S _A , C _B , P _B , S _B
10,5	250, 268, <u>292</u> , 321	917	741	Quercétine-glucose-rhamnose-apiose-acide férulique	C _A , S _A , C _B , P _B

C_A = concentré de tomate utilisé pour préparer la sauce A; S_A = sauce A; C_B = concentré de tomate utilisé pour préparer la sauce B; P_B = pulpe de tomate utilisée pour préparer la sauce B; S_B = sauce B.

Le suffixe "ep" indique un épaulement sur le spectre UV-visible. Les données relatives aux spectres UV-visible ne sont pas toujours indiquées car les composés étaient co-élus.

^a Selon les travaux de Slimestad *et al.* 2008 (18)

^b Vu dans la publication de Moco *et al.* 2007 (2)

Tr (min)	λ_{\max} (nm)	m/z [M-H] ⁻	Fragmentations des ions (m/z)	Composé	Origine
10,7		1269	1269, 1209, 1137, 1107, 1095, 1047, 975, 933, 867, 817, 753	Lycoperoside F,G ou esculéoside A ^b	P _B
10,7		1049		Lycoperoside H ^b (I)	C _A , S _A , C _B , P _B , S _B
10,7		887	741	Quercétine-glucose-rhamnose-apiose-acide <i>p</i> -coumarique	C _A , S _A , C _B , P _B , S _B
11,0		1049		Lycoperoside H ^b (II)	C _A , S _A , P _B , S _B
11,4		921	877, 741, 723, 609, 300	Quercétine-glucose-rhamnose-apiose-acide syringique	C _B
11,4	<u>290</u> , 330ep	271	177, 151, 119, 107	Naringénine	C _A , S _A , C _B , P _B , S _B
11,4	<u>251</u> , <u>293</u> , 328	677	515, 353	Acide tricaféoylquinique ^b	C _A , S _A , C _B

C_A = concentré de tomate utilisé pour préparer la sauce A; S_A = sauce A; C_B = concentré de tomate utilisé pour préparer la sauce B; P_B = pulpe de tomate utilisée pour préparer la sauce B; S_B = sauce B.

Le suffixe “ep” indique un épaulement sur le spectre UV-visible. Les données relatives aux spectres UV-visible ne sont pas toujours indiquées car les composés étaient co-élus.

^a Selon les travaux de Slimestad *et al.* 2008 (18)

^b Selon les travaux de Moco *et al.* 2007 (2)

Au total, 53 composés phénoliques différents ont été recensés dans les 5 produits analysés. Ils appartiennent à 3 classes principales: les acides hydroxycinnamiques, les flavanones et les flavonols. Ils sont majoritairement des dérivés de l'acide chlorogénique, de la quercétine et de la naringénine.

Quelques produits minoritaires qui ne font pas partie de ces 3 classes ont également été retrouvés: des alcaloïdes (lycoperosides et esculéosides). Leur identification a pu être réalisée grâce aux données de Moco *et al.* (2) qui avaient recensé ces composés dans des tomates. Par ailleurs, ces données ont également permis l'identification de nombreux autres composés dont la quercétine-glucose-rhamnose-apiose-acide *p*-coumarique. La présence d'un acide *p*-coumarique sur ce composé rend probable le couplage des acides férulique, syringique, sinapique sur la quercétine trisaccharide, comme nous l'avons supposé. Quant à la structure

exacte de ces composés, il semblerait que la quercétine soit liée en position 3 à un glucose lui-même lié à un apiose en position 2'' et à un rhamnose en position 6'' comme Slimestad *et al.* l'ont démontré par RMN (18). En revanche, aucune information n'est disponible concernant la position des acides aromatiques liés à ce composé.

L'injection de standards a permis de confirmer la présence de quelques composés phénoliques: l'acide 4-O-glucosyl-*p*-coumarique, l'acide 4-O-glucosyl-caféique, l'acide 5-O-caféoylquinique (= acide chlorogénique), la naringénine, le 7-O-glucosyl-naringénine (= prunine), la rutine et les acides 3,4-, 3,5- et 4,5-dicaféoylquiniques. D'autres 4-hexosides de l'acide caféique ont été observés probablement liés à du galactose ou du mannose.

Pour le composé de masse m/z 288 retrouvé dans la sauce A et la pulpe, il existe deux isomères de position possibles que sont l'ériodictyl et le dihydrokaempférol. L'ériodictyol, seul composé disponible commercialement, n'a pas été retrouvé dans les échantillons analysés. Il doit donc s'agir du dihydrokaempferol. De même, les composés de masse m/z 449 et 611, correspondant à m/z 287 lié à un ou deux hexoses sont probablement des hexosides ou dihexosides du dihydrokaempferol. Le Gall *et al.* (19) ont récemment trouvé deux hexosides différents du dihydrokaempferol dans des fruits de tomate qui potentiellement pourraient être les 3- et 7-glucosyl-dihydrokaempferol. L'identification précise des acides monocaféoylquiniques a été réalisée grâce aux données de fragmentation en masse et par comparaison avec les travaux de Clifford *et al.* (44). Ces derniers avaient mis en évidence la fragmentation des acides 3-, 4- et 5-O-caféoylquiniques en utilisant la chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse en tandem. Ces trois isomères avaient déjà été identifiés dans les tomates.

Etant donnée la faible quantité de données disponibles dans la littérature concernant l'identification de composés phénoliques dans des produits à base de tomate, il n'est pas possible de comparer nos résultats. Il est toutefois possible de les comparer avec des données concernant les composés phénoliques retrouvés dans des tomates fraîches. Il apparaît que les composés retrouvés dans nos produits analysés sont globalement les mêmes que ceux répertoriés dans la base de données de Moco *et al.* (17). La transformation n'affecterait pas les profils phénoliques puisque les tomates fraîches et les produits à base de tomate contiennent les mêmes composés. Les analyses quantitatives présentées dans le paragraphe suivant vont permettre d'avoir des données plus concrètes à ce sujet.

III.1.2. Détermination des teneurs en microconstituants dans les produits avant et après transformation

III.1.2.1. Sauce A

○ Caroténoïdes

Les formes *E* et *Z* du lycopène et du β -carotène ont été quantifiées dans la sauce A et le concentré ayant servi à sa préparation. Les analyses ont été réalisées en triplicats et les résultats sont présentés dans le Tableau II-6.

Tableau II-6. Teneurs en caroténoïdes dans le concentré A et la sauce A correspondante (en mg/100 g de matière sèche de tomate)

Composé	Concentré de tomate A	Sauce A
(<i>E</i>)-lycopène	368 \pm 75 ^a	123 \pm 10 ^b
(<i>Z</i>)-lycopène	15,2 \pm 5,1 ^a	27,0 \pm 1,0 ^b
(<i>E</i>)- β -carotène	5,6 \pm 0,9 ^a	2,4 \pm 0,1 ^b
(13 <i>Z</i>)- β -carotène	-	2,0 \pm 0,1

Les teneurs en (*Z*)-lycopène correspondent à la somme des teneurs en isomères *Z*. Les teneurs en *Z*-lycopène sont exprimées en équivalent (*E*)-lycopène et la teneur en (13*Z*)- β -carotène en équivalent (*E*)- β -carotène. Les valeurs avec des lettres différentes sont significativement différentes (test post-hoc de Tukey-Kramer) pour un intervalle de confiance de 95 %.

On remarque l'importance de la teneur en (*E*)-lycopène dans les produits avant et après transformation. Bien que ce composé se soit significativement dégradé lors de la préparation de la sauce (perte de 67 %), il reste, de loin, le caroténoïde majoritaire dans la sauce. Une partie du (*E*)-lycopène s'est isomérisé en (*Z*)-lycopène puisque la teneur en isomères *Z* a quasiment doublée. Comme le (*E*)-lycopène, le (*E*)- β -carotène a lui aussi subi des pertes significatives lors de la transformation (- 57 %). Elles seraient, en partie, dues à des réactions d'isomérisation, le (13*Z*)- β -carotène étant présent dans la sauce mais pas dans le concentré.

○ **Composés phénoliques**

Les composés phénoliques majoritaires ont été quantifiés dans la sauce A et le concentré ayant servi à sa préparation. Les sommes des hexosides de l'acide caféique et de la naringénine ont été calculées ainsi que les sommes des acides mono- et di-caféoylquiniques et des polysaccharides de quercétine. Les analyses ont été réalisées en triplicats et les résultats sont présentés dans le Tableau II-7.

Tableau II-7. Teneurs en composés phénoliques dans la sauce A et le concentré utilisé pour la préparation de cette sauce (en mg/100 g de matière sèche de tomate)

Composé	Concentré de tomate A	Sauce A
Hexosides de l'acide caféique dont	41,8 ± 15,4	47,3 ± 4,8
Acide 4-O-glucosyl-caféique	23,0 ± 8,4	26,2 ± 2,4
Acide 4-O-glucosyl- <i>p</i> -coumarique	14,8 ± 5,0	15,5 ± 1,4
Acides caféoylquiniques dont	14,2 ± 5,3	16,1 ± 2,3
Acide 5-O-caféoylquinique	8,31 ± 2,88	8,92 ± 1,12
Polysaccharides de quercétine dont	78,2 ± 28,6	84,3 ± 10,0
Rutine	52,8 ± 21,9	55,0 ± 6,6
Hexosides de naringénine dont	10,3 ± 3,2	11,0 ± 1,0
7-O-glucosyl-naringénine	2,30 ± 0,67	2,27 ± 0,25
Acides dicaféoylquiniques dont	13,8 ± 5,5	15,1 ± 2,0
Acide 3,5-dicaféoylquinique	7,60 ± 3,12	8,47 ± 0,91
3-O-rutinosyl-kaempférol	1,60 ± 0,51	3,45 ± 1,13
Naringénine	10,2 ± 1,9	8,40 ± 1,23
Acide tricaféoylquinique	5,38 ± 1,94	4,83 ± 1,86

La somme des teneurs en hexosides de l'acide caféique est exprimée en équivalent acide 4-O-glucosylcaféique-. La somme des teneurs en acides caféoylquiniques et en acides dicaféoylquiniques, ainsi que la teneur en acide tricaféoylquinique sont exprimées en équivalent acide 5-O-caféoylquinique. La somme des teneurs en polysaccharides de quercétine et la teneur 3-O-rutinosyl-kaempférol sont exprimées en équivalent rutine. La somme des teneurs en hexosides de naringénine est exprimée en équivalent 7-O-glucosyl-naringénine. Les valeurs avec des lettres différentes sont significativement différentes (test post-hoc de Tukey) pour un intervalle de confiance de 95 %.

Parmi tous les composés phénoliques identifiés, la rutine semble majoritaire dans le concentré et la sauce A. En ce qui concerne les acides 4-O-glucosyl caféique et 4-O-glucosyl-*p*-coumarique, ils contribuent de façon non négligeable à l'ensemble des composés phénoliques retrouvés dans ces produits.

Concernant l'évolution des composés phénoliques au cours de la préparation de la sauce, les teneurs restent stables. En effet, l'analyse de variance n'a révélé aucune augmentation ou baisse significative des teneurs en composés phénoliques.

○ **Acide ascorbique**

L'acide ascorbique a été quantifié dans la sauce A et le concentré ayant servi à sa préparation. Les analyses ont été réalisées en triplicats et les résultats sont présentés dans le Tableau II-8.

Tableau II-8. Teneurs en acide ascorbique dans la sauce A et le concentré utilisé pour la préparation de cette sauce (en mg/100 g de matière sèche de tomate)

	Concentré de tomate A	Sauce A
Acide ascorbique	107 ± 8 ^a	54,6 ± 5,2 ^b

Les valeurs avec des lettres différentes sont significativement différentes (test post-hoc de Tukey) pour un intervalle de confiance de 95 %.

Environ la moitié (49 %) de l'acide ascorbique initialement présent dans le concentré a été dégradé lors de la préparation de la sauce A. Cette perte significative s'explique par la forte sensibilité à l'oxydation de ce composé.

III.1.2.2. Sauce B

○ Caroténoïdes

Les formes *E* et *Z* du lycopène et du β -carotène ont été quantifiées dans la sauce B et les produits à base de tomate ayant servi à sa préparation. Les analyses ont été réalisées en triplicats et les résultats sont présentés dans le Tableau II-9.

Tableau II-9. Teneurs en caroténoïdes dans la sauce B et dans le concentré et la pulpe utilisés pour la préparation de cette sauce (en mg/100 g de matière sèche de tomate)

Composé	Concentré de tomate B	Pulpe B	Sauce B
(<i>E</i>)-lycopène	121 \pm 16	319 \pm 13	209 \pm 10
(<i>Z</i>)-lycopène	36,3 \pm 15,7	13,6 \pm 1,7	23,8 \pm 3,2
(<i>E</i>)- β -carotène	4,1 \pm 0,8	9,6 \pm 0,4	4,2 \pm 0,2
(13 <i>Z</i>)- β -carotène	1,1 \pm 0,2	-	1,1 \pm 0,0

Les teneurs en (*Z*)-lycopène et (*Z*)- β -carotène correspondent à la somme des teneurs en isomères *Z*. Les teneurs en (*Z*)-lycopène sont exprimées en équivalent (*E*)-lycopène et la teneur en (13*Z*)- β -carotène en équivalent (*E*)- β -carotène.

Comme pour la sauce A, le (*E*)-lycopène est retrouvé très majoritairement dans la sauce B et les produits utilisés pour sa préparation. On remarque que la pulpe contient de faibles proportions de (*Z*)-lycopène par rapport à la quantité de (*E*)-lycopène présente. La préparation de ce produit a probablement été réalisée dans des conditions induisant peu de réactions d'isomérisation.

Il faut noter que le concentré (dilué à 14 % de matière sèche) contribue pour 60 % à la sauce, et la pulpe (contenant 6,5 % de matière sèche) y contribue pour 40 %. C'est donc le concentré qui apporte la majeure partie de la matière sèche à la sauce. Afin d'évaluer l'évolution des teneurs en caroténoïdes au cours de la préparation de la sauce B, les quantités apportées par le concentré et la pulpe sont additionnées en prenant en compte la proportion de matière sèche provenant de chacun de ces produits. Les résultats sont présentés dans le Tableau II-10.

Tableau II-10. Teneurs en caroténoïdes dans la sauce B avant et après la transformation (en mg/100 g de matière sèche de tomate)

Composé	Concentré + Pulpe	Sauce B
(E)-lycopène	203 ± 16	209 ± 10
(Z)-lycopène	37,4 ± 14,2	23,8 ± 3,2
(E)-β-carotène	6,5 ± 0,7 ^a	4,2 ± 0,2 ^b
(13Z)-β-carotène	1,0 ± 0,2	1,1 ± 0,0

Les teneurs en (Z)-lycopène et (Z)-β-carotène correspondent à la somme des teneurs en isomères Z. Les teneurs en (Z)-lycopène sont exprimées en équivalent (E)-lycopène et la teneur en (13Z)-β-carotène en équivalent (E)-β-carotène. Les valeurs avec des lettres différentes sont significativement différentes (test post-hoc de Tukey) pour un intervalle de confiance de 95 %.

Contrairement à ce qui a été observé pour la sauce A, le (E)-lycopène ne semble pas affecté par le procédé de fabrication de la sauce B et la somme des teneurs en (Z)-lycopène reste, elle aussi, relativement stable. Il est également possible que le lycopène se soit dégradé et que sa dégradation ait été compensée par un relargage des tissus végétaux lors du chauffage.

Le (E)-β-carotène est affecté (35 % de la teneur initiale perdue) alors que la teneur en (Z)-β-carotène reste la même. Il semblerait que les réactions intervenant lors de la préparation de la sauce B ne soient pas les mêmes que pour la sauce A. En effet, d'après l'évolution des caroténoïdes dans la sauce B, les réactions d'isomérisation semblent peu intervenir lors de la préparation de ce produit.

○ **Composés phénoliques**

Les composés phénoliques majoritaires ont été quantifiés dans la sauce B et les produits à base de tomate utilisés pour sa préparation. Les sommes des hexosides de l'acide caféique et de la naringénine ont été calculées tout comme les sommes des acides mono- et dicaféoylquiniques et des polysaccharides de quercétine. Les analyses ont été réalisées en triplicats et les résultats sont présentés dans le Tableau II-11.

Tableau II-11. Teneurs en composés phénoliques dans la sauce B et dans le concentré et la pulpe utilisés pour la préparation de cette sauce (en mg/100 g de matière sèche de tomate)

Composé	Concentré de tomate B	Pulpe B	Sauce B
Hexoside de l'acide caféique dont	26,7 ± 3,3	28,5 ± 2,0	38,1 ± 7,8
Acide 4-O-glucosyl-caféique	10,4 ± 0,7	13,2 ± 0,7	22,3 ± 2,5
Acide 4-O-glucosyl- <i>p</i> -coumarique	18,0 ± 6,7	14,0 ± 0,8	26,5 ± 2,6
Acide caféoylquinique dont	13,9 ± 0,2	11,2 ± 0,7	19,9 ± 1,4
Acide 5-O-caféoylquinique	6,19 ± 0,17	6,90 ± 0,69	7,07 ± 0,48
Polysaccharide de quercétine dont	21,0 ± 0,2	50,9 ± 3,5	30,2 ± 3,3
Rutine	4,23 ± 0,14	40,1 ± 2,6	19,1 ± 1,5
Hexoside de naringénine dont	2,33 ± 0,05	2,32 ± 0,22	2,32 ± 0,14
7-O-glucosylnaringénine	0,50 ± 0,03	0,47 ± 0,13	0,32 ± 0,08
Acide dicaféoylquinique dont	4,26 ± 0,13	7,63 ± 3,99	5,58 ± 1,51
Acide 3,5-dicaféoylquinique	3,10 ± 0,09	2,04 ± 1,28	2,37 ± 0,58
3-O-rutinosyl-kaempférol	3,70 ± 0,29	3,61 ± 0,31	3,80 ± 1,05
Naringénine	1,00 ± 0,01	19,7 ± 2,8	4,23 ± 0,32
Acide tricaféoylquinique	0,29 ± 0,01	-	-

La somme des teneurs en hexosides de l'acide caféique est exprimée en équivalent acide 4-O-glucosyl-caféique. La somme des teneurs en acide caféoylquinique et en acide dicaféoylquinique, ainsi que la teneur en acide tricaféoylquinique sont exprimées en acide 5-O-caféoylquinique. La somme des teneurs en polysaccharides de quercétine et la teneur en 3-O-rutinosyl-kaempférol sont exprimées en équivalent rutine. La somme des teneurs en hexosides de naringénine est exprimée en équivalent 7-O-glucosyl-naringénine.

Le concentré et la pulpe analysés présentent des profils phénoliques différents. Dans le concentré, les hexosides des acides caféique et *p*-coumarique, les acides caféoylquiniques et les polysaccharides de quercétine sont majoritaires alors que ce sont les teneurs en rutine, sommes des hexosides de l'acide caféique et naringénine qui sont les plus importantes parmi les composés phénoliques de la pulpe. Cette différence s'explique par l'utilisation de tomates fraîches différentes, dont les teneurs en antioxydants peuvent être très variables, mais également par l'emploi de procédés de fabrication différents pour ces deux produits.

Afin d'évaluer l'évolution des teneurs en composés phénoliques au cours de la préparation de la sauce B, il faut tenir compte de la quantité de matière sèche apportée par le concentré et par la pulpe, comme cela a été fait pour les caroténoïdes de ce même produit. Les résultats des calculs prenant en compte les composés phénoliques provenant de la pulpe et ceux provenant du concentré sont présentés dans le Tableau II-12.

Tableau II-12. Teneurs en composés phénoliques dans la sauce B avant et après la transformation (en mg/100 g de matière sèche de tomate)

Composé	Concentré B + Pulpe B	Sauce B
Hexosides de l'acide caféique dont Acide 4-O-glucosyl-caféique	32,8 ± 3,4 13,3 ± 0,7 ^a	38,1 ± 7,8 22,3 ± 2,5 ^b
Acide 4-O-glucosyl- <i>p</i> -coumarique	20,6 ± 6,4	26,5 ± 2,6
Acides caféoylquiniques dont Acide 5-O-caféoylquinique	16,1 ± 0,1 ^a 7,69 ± 0,23	19,9 ± 1,4 ^b 7,07 ± 0,48
Polysaccharides de quercétine dont Rutine	33,9 ± 0,8 15,4 ± 0,9 ^a	30,2 ± 3,3 19,1 ± 1,5 ^b
Hexosides de naringénine dont 7-O-glucosyl-naringénine	2,81 ± 0,05 ^a 0,59 ± 0,01 ^a	2,32 ± 0,14 ^b 0,32 ± 0,08 ^b
Acides dicaféoylquiniques dont Acide 3,5-dicaféoylquinique	6,11 ± 1,08 3,44 ± 0,29 ^a	5,58 ± 1,51 2,37 ± 0,58 ^b
3-O-rutinosyl-kaempférol	4,44 ± 0,45	3,80 ± 1,05
Naringénine	6,54 ± 0,79 ^a	4,23 ± 0,32 ^b
Acide tricaféoylquinique	0,27 ± 0,01	-

La somme des teneurs en hexoside de l'acide caféique est exprimée en équivalent acide 4-O-glucosyl-caféique. La somme des teneurs en acide caféoylquinique et en acide dicaféoylquinique, ainsi que la teneur en acide tricaféoylquinique sont exprimées en acide 5-O-caféoylquinique. La somme des teneurs en polysaccharides de quercétine et en 3-O-rutinosyl-kaempférol sont exprimées en équivalent rutine. La somme des teneurs en hexoside de naringénine est exprimée en équivalent 7-O-glucosyl-naringénine. Les valeurs avec des lettres différentes sont significativement différentes (test post-hoc de Tukey) pour un intervalle de confiance de 95 %.

Au cours de la préparation de la sauce B, quelques variations significatives sont observées. La naringénine et les hexosides de naringénine sont dégradés. Presque la moitié de la teneur en prunine (= 7-O-glucosyl-naringénine) initiale est détruite (- 46 %) alors que les pertes en naringénine sont plus modérées (- 35 %). Les flavanones seraient alors sensibles aux conditions de préparation de la sauce B. Par ailleurs, l'acide tricaféoylquinique provenant du concentré a été totalement dégradé puisqu'il n'est pas retrouvé dans la sauce B, tout comme l'acide 3,5 dicaféoylquinique qui est lui aussi dégradé significativement.

Certains composés phénoliques sont retrouvés dans des proportions plus importantes après le procédé. C'est le cas de l'acide 4-O-glucosyl-caféique, dont la teneur dans la sauce est supérieure de 40 % à la teneur initiale dans le mélange constitué de pulpe et de concentré. Les teneurs en acides caféoylquiniques et rutine semblent, elles aussi, augmenter au cours de la fabrication de la sauce B mais dans des proportions moins importantes (respectivement 19 et 20 %). Il est probable que le traitement thermique appliqué lors de la préparation de la sauce B ait rendu ces composés plus extractibles au sein de la matrice, ce qui expliquerait les résultats obtenus.

○ **Acide ascorbique**

L'acide ascorbique a été quantifié dans la sauce B ainsi que dans le concentré et la pulpe utilisés pour la préparation de cette sauce. Les analyses ont été réalisées en triplicats et les résultats sont présentés dans le Tableau II-13.

Tableau II-13. Teneurs en acide ascorbique dans la sauce B et dans le concentré et la pulpe utilisés pour la préparation de cette sauce (en mg/100 g de matière sèche de tomate)

	Concentré de tomate B	Pulpe de tomate B	Sauce B
Acide ascorbique	89,5 ± 13,0	422 ± 112	17,0 ± 4,5

La pulpe contient une très forte teneur en acide ascorbique. La préparation de ce produit a probablement consisté en un broyage de tomates fraîches, suivi d'un traitement thermique court qui a peu affecté la vitamine C.

Afin d'évaluer les pertes en acide ascorbique au cours de la préparation de la sauce B, il faut tenir compte des quantités apportées par le concentré et par la pulpe. Les résultats des calculs prenant en compte la quantité d'acide ascorbique provenant de la pulpe et celle provenant du concentré sont présentés dans le Tableau II-14.

Tableau II-14. Teneurs en acide ascorbique dans la sauce B avant et après la transformation (en mg/100 g de matière sèche de tomate)

	Concentré + Pulpe	Sauce B
Acide ascorbique	203 ± 42 ^a	17,0 ± 4,5 ^b

Les valeurs avec des lettres différentes sont significativement différentes (test post-hoc de Tukey) pour un intervalle de confiance de 95 %.

L'acide ascorbique a fortement été dégradé au cours de la préparation de la sauce B. En effet, 92 % de la quantité apportée initialement par le concentré et la pulpe a disparu lors de la transformation.

III.1.3. Discussion

L'évaluation des teneurs en microconstituants avant et après les procédés a permis d'observer des évolutions très différentes entre les divers composés antioxydants. Par ailleurs, certains composés sont plus ou moins affectés selon les conditions de transformation employées.

Les formes *E* des caroténoïdes seraient dégradées par des réactions d'isomérisation au cours de la préparation de la sauce A. Quant à la préparation de la sauce B, elle n'affecte pas les teneurs en (*E*)-lycopène et la dégradation du (*E*)- β -carotène est moins importante que pour la sauce A. Par ailleurs, les teneurs en isomères *Z* restent stables pendant la fabrication de la sauce B, ce qui indique que la dégradation du (*E*)- β -carotène pourrait être due à des réactions d'oxydation plutôt qu'à des réactions d'isomérisation. Au cours de la préparation de la sauce A, les différents ingrédients ont été mélangés dans une cuve ouverte puis chauffés jusqu'à ébullition. La présence de lumière, associée à la chaleur, a certainement favorisé les réactions d'isomérisation, ce qui explique les résultats obtenus. Pour la préparation de la sauce B, les ingrédients sont mélangés dans des cuves, mais y séjournent pendant une durée très courte. Au cours du traitement thermique, le produit passe dans des tuyaux à l'abri de la lumière, ce qui limite les réactions d'isomérisation.

Les composés phénoliques n'ont pas été affectés par le procédé utilisé pour la sauce A. En revanche, pendant la préparation de la sauce B, les flavanones ont eu tendance à être dégradés et les teneurs en hexosides de l'acide caféique et en rutine à augmenter. *Re et al.* (24) avait observé un phénomène similaire: la naringénine était fortement affectée au cours de la préparation d'un concentré alors que la teneur en acide chlorogénique avait tendance à s'accroître. Les augmentations de teneur observées pour certains composés phénoliques s'expliqueraient par une meilleure accessibilité de ces composés après le procédé. Les traitements thermiques, associés à une agitation, ont accéléré leur libération dans le milieu. Ils ont ainsi été extraits plus efficacement dans la sauce que dans le concentré. Pour la sauce A, bien qu'aucune perte n'ait été observée, il se peut que la meilleure accessibilité des composés phénoliques ait compensé leur dégradation.

La quantité de composés phénoliques présents dans les concentrés et la pulpe, ainsi que leur accessibilité avant les procédés, a certainement un impact sur leur évolution au cours de la fabrication des sauces.

L'acide ascorbique est un composé très sensible à l'oxydation, qui a été fortement dégradé au cours de la préparation des deux sauces. Le procédé de fabrication utilisé pour la sauce B

semble toutefois être plus destructeur: près de 92 % de la teneur initiale a été dégradée, contre 49 % pour la sauce A. Cette différence peut s'expliquer par une température appliquée plus élevée pour le procédé "B". En effet, le mélange contenant la pulpe est chauffé jusqu'à 120 °C puis mélangé au concentré préalablement chauffé à 95 °C. La température du produit doit alors être proche de 100 °C, soit une température légèrement supérieure à celle employée pour la pasteurisation de la sauce A (96 °C). D'autres paramètres peuvent jouer sur la stabilité de l'acide ascorbique, en particulier la teneur en oxygène, la lumière et la présence d'ions de métaux de transition qui accélèrent sa vitesse d'oxydation. N'ayant que peu d'informations sur ces paramètres pour les procédés étudiés, il n'est pas possible de savoir pourquoi le procédé de transformation de la sauce B est plus agressif vis-à-vis de l'acide ascorbique que celui utilisé pour la sauce A.

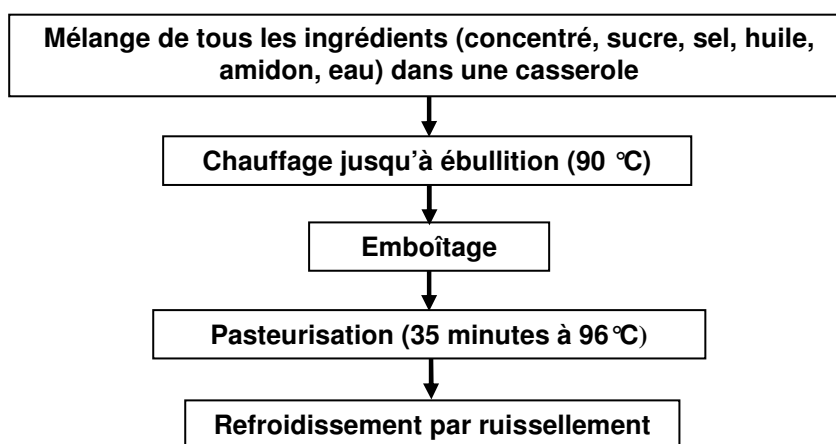
D'après l'étude des deux procédés de fabrication, il semble que l'évolution des microconstituants puisse être très variable. Ces variations sont dues à plusieurs facteurs, notamment les températures et durées des traitements thermiques appliqués ainsi que la géométrie des installations utilisées. En effet, la présence de lumière et le contact avec l'air contenant de fortes proportions d'oxygène peuvent accélérer l'oxydation de certains microconstituants. Par ailleurs, la teneur en microconstituants dans les concentrés et pulpes utilisés aurait également un rôle très important sur leur devenir au cours du procédé de préparation des sauces.

III.2. Préparation de sauces en pilote. Etude de l'évolution des microconstituants au cours de la transformation et de la conservation

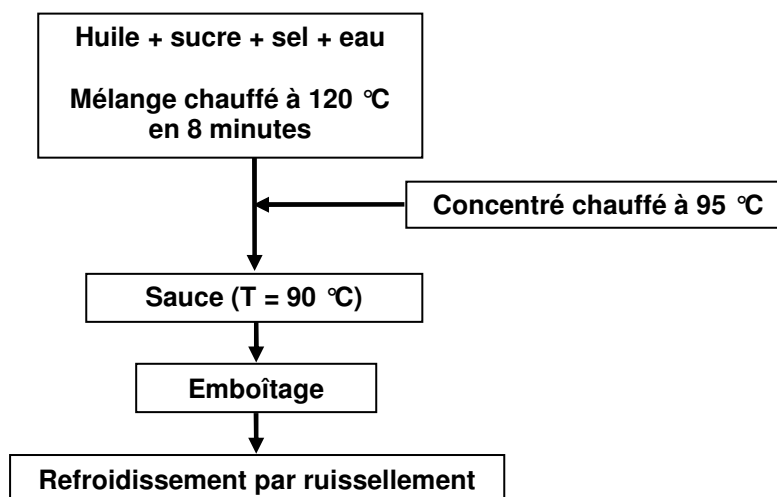
III.2.1. Rappel des deux procédés testés

A partir d'un même concentré de tomate (à 36 % de matière sèche), deux sauces ont été préparées en pilote. Les procédés utilisés sont proches de ceux observés dans l'industrie, étudiés dans la partie précédente (III.1. "Etude approfondie de deux procédés industriels de préparation de sauces tomate"). Les deux sauces obtenues sont nommées "I" et "II". Les procédés utilisés pour la préparation industrielle des sauces A et B correspondent respectivement aux procédés I et II.

○ Préparation de la sauce I



○ Préparation de la sauce II



Les sauces I et II sont des produits à 7,7% de matière sèche de tomate contenant exactement les mêmes ingrédients dans les mêmes proportions. Les teneurs en acide ascorbique, (*E*)-lycopène, (*E*)- β -carotène, acide chlorogénique (= acide 5-O-caféoylquinique), rutine et naringénine ont été déterminées dans le concentré de tomate et les deux sauces. Ces résultats vont nous donner des informations concernant l'impact des deux procédés testés sur la dégradation des antioxydants lors de la préparation des sauces.

Afin d'étudier l'évolution des microconstituants au cours du stockage, un essai de vieillissement accéléré a été réalisé: trois boîtes de chaque sauce (I et II) ont été stockées 4 mois dans une étuve à 37 °C. Les teneurs en microconstituants sont déterminées avant et après vieillissement. Grâce à cet essai, nous évaluerons l'impact de la conservation sur les antioxydants présents dans les deux sauces préparées.

III.2.2. Evolution des microconstituants au cours de la transformation

Les teneurs en microconstituants mesurées dans les sauces I et II et dans le concentré utilisé pour leur préparation sont présentées dans le Tableau II-15. Les analyses ont été réalisées en triplicats et les résultats étudiés par une analyse de variance (test post-hoc de Tukey).

Tableau II-15. Teneurs en microconstituants dans le concentré de tomate et les deux sauces préparées à partir de ce concentré (en mg/100 g de matière sèche de tomate)

Composé	Concentré de tomate	Sauce I	Sauce II
(<i>E</i>)- β -carotène	9,3 \pm 0,4 ^a	4,4 \pm 0,5 ^b	3,8 \pm 0,2 ^b
(<i>E</i>)-lycopène	196 \pm 34	190 \pm 9	161 \pm 10
Acide chlorogénique	41,0 \pm 2,4	35,6 \pm 3,3	40,2 \pm 2,0
Rutine	18,2 \pm 0,7 ^a	14,6 \pm 0,5 ^b	16,8 \pm 1,6 ^{ab}
Naringénine	10,7 \pm 0,5	9,9 \pm 0,6	9,8 \pm 1,2
Acide ascorbique	89,5 \pm 13,0 ^a	16,4 \pm 4,6 ^b	17,9 \pm 8,2 ^b

Les valeurs avec des lettres différentes sont significativement différentes pour un intervalle de confiance de 95%.

D'après les résultats de l'analyse de variance, seuls l'acide ascorbique et le (*E*)- β -carotène se dégradent significativement lors de la fabrication des sauces I et II. Par ailleurs, la rutine est elle aussi affectée mais uniquement pendant la préparation de la sauce I.

Comme cela a déjà été mentionné dans la littérature (16, 36, 45-46) et observé pour les sauces A et B, l'acide ascorbique se dégrade fortement au cours de la transformation. En effet, environ 80 % de la teneur initialement présente est détruite au cours de la fabrication des sauces I et II.

Parmi les caroténoïdes, le (*E*)- β -carotène paraît plus sensible que le (*E*)-lycopène aux conditions de préparation employées en pilote et les pertes semblent légèrement plus importantes pour la sauce II (- 59 %) que pour la sauce I (-53 %). Abushita *et al.* (9) avaient également observé des pertes plus importantes en (*E*)- β -carotène qu'en (*E*)-lycopène au cours de la préparation d'un concentré à partir de tomates fraîches, tout comme Seybold *et al.* (27) pendant la production d'un jus de tomate. Cependant, les pertes en (*E*)- β -carotène présentées par ces études étaient plus modérées (- 29 et - 35 %) que celles observées pour les sauces I et II.

Les composés phénoliques n'ont pas été affectés par les procédés utilisés pour la préparation des sauces I et II, exceptée la rutine (pour la sauce I). Pour la préparation de la sauce II, le traitement thermique plus court, et n'impliquant pas de pasteurisation, peut expliquer que la teneur en rutine soit plus importante dans cette sauce. Re *et al.* (24) avaient eux aussi observé des pertes en rutine au cours de la préparation d'un concentré pour un procédé de type "Cold Break", alors que les résultats de Capanoglu *et al.* (16), concernant la transformation de tomates en concentré (procédé "Cold Break"), montrent que ce composé n'est pas affecté.

Pour conclure, les évolutions des teneurs en microconstituants dans les deux sauces sont globalement les mêmes. Il est important de noter qu'elles ont été préparées à partir d'un même concentré. La composition des ingrédients utilisés pour la fabrication de produits à base de tomate jouerait alors un rôle fondamental sur l'évolution des microconstituants au cours de la transformation. Ceci expliquerait les évolutions très variables observées pour les sauces A et B, mais aussi la divergence des données de la littérature.

III.2.3. Evolution des microconstituants au cours de la conservation

Les teneurs en microconstituants mesurées dans les sauces I et II avant et après le vieillissement accéléré sont présentées dans les Tableaux II-16 et II-17. Les analyses ont été réalisées en triplicats et les résultats étudiés par une analyse de variance (test post-hoc de Tukey).

Tableau II-16. Teneurs en microconstituants dans la sauce I avant et après le vieillissement accéléré (en mg/100 g de matière sèche de tomate)

Composé	Avant conservation	Après conservation
(<i>E</i>)- β -carotène	4,4 \pm 0,5 ^a	3,0 \pm 0,2 ^b
(<i>E</i>)-lycopène	190 \pm 9 ^a	162 \pm 13 ^b
Acide chlorogénique	35,6 \pm 3,3	34,9 \pm 1,0
Rutine	14,6 \pm 0,5	14,3 \pm 1,4
Naringénine	9,9 \pm 0,6	8,9 \pm 0,5
Acide ascorbique	16,4 \pm 4,6 ^a	2,7 \pm 1,0 ^b

Les valeurs avec des lettres différentes sont significativement différentes pour un intervalle de confiance de 95%.

Tableau II-17. Teneurs en microconstituants dans la sauce II avant et après le vieillissement accéléré (en mg/100 g de matière sèche de tomate)

Composé	Avant conservation	Après conservation
(<i>E</i>)- β -carotène	3,8 \pm 0,2 ^a	2,6 \pm 0,4 ^b
(<i>E</i>)-lycopène	161 \pm 10	144 \pm 5
Acide chlorogénique	40,2 \pm 2,0	38,7 \pm 1,6
Rutine	16,8 \pm 1,6	16,8 \pm 0,3
Naringénine	9,8 \pm 1,2	9,5 \pm 0,6
Acide ascorbique	17,9 \pm 8,2	10,0 \pm 0,9

Les valeurs avec des lettres différentes sont significativement différentes pour un intervalle de confiance de 95%.

Au cours du vieillissement accéléré, seul le (*E*)- β -carotène est significativement dégradé dans la sauce II. Une tendance à la baisse, bien que non significative, est observée pour l'acide ascorbique et le (*E*)-lycopène. Ces résultats sont en accord avec ceux obtenus au cours du vieillissement de la sauce I.

Les teneurs en composés phénoliques restent les mêmes au cours de la conservation. Garcia-Alfonso *et al.* (35) avaient également conservé des jus de tomate à 37 °C pendant plusieurs mois et n'avaient observé aucune variation des teneurs en flavonoïdes totaux et composés phénoliques totaux, même au bout d'un an. Parmi les microconstituants que nous avons étudiés, les composés phénoliques paraissent être les plus résistants aux conditions imposées lors des traitements thermiques et du vieillissement.

L'acide ascorbique qui avait été fortement dégradé lors de la préparation de la sauce continue à s'oxyder dans la sauce I. La perte est globalement la même que pendant la préparation du produit (environ - 80 %). La faible stabilité de ce composé est reconnue et plusieurs études récentes sur le stockage de produits à base de tomate ont montré qu'il continue à se dégrader même à faible température (33-35). Ce résultat ne peut pas être vérifié pour la sauce II du fait d'une variabilité trop élevée de la teneur initiale. Le procédé de transformation utilisé pour la sauce I impliquait un traitement thermique plus long que pour la sauce II. Il est alors possible que des réactions d'oxydation aient été initiées de façon plus importante dans la sauce I, entraînant des pertes en acide ascorbique plus importantes au cours du stockage. Une autre hypothèse est possible: les boîtes de sauce I contenaient peut-être davantage d'oxygène que les boîtes de sauce II au moment du sertissage. L'oxygène joue un rôle majeur dans l'oxydation de l'acide ascorbique : plus sa teneur est importante, plus l'acide ascorbique a tendance à s'oxyder rapidement, même à basse température.

Un dosage de l'oxygène a été effectué dans les deux sauces après la période de vieillissement accéléré. Les résultats montrent que la totalité de l'oxygène a été consommée au cours de la conservation.

Parmi les caroténoïdes, le (*E*)- β -carotène est plus sensible que le (*E*)-lycopène aux conditions imposées lors des traitements thermiques et du vieillissement accéléré. En effet, seulement 14 % du (*E*)-lycopène est dégradé contre 32 % pour le (*E*)- β -carotène lors de l'essai de vieillissement de la sauce I. Lavelli et Giovanelli (33) avaient observé un phénomène similaire : les teneurs en β -carotène dans des pulpes et concentrés diminuent au cours de la conservation (3 mois à 30, 40 ou 50 °C) alors que la teneur en lycopène total reste stable. Comme cela a été évoqué pour l'acide ascorbique, il est possible que les réactions d'oxydation initiées lors des traitements thermiques se soient poursuivies pendant le stockage, entraînant l'oxydation du (*E*)- β -carotène. Le (*E*)-lycopène serait moins sensible que le (*E*)- β -carotène à ces réactions et a donc été moins affecté.

III.3. Analyse des microconstituants dans des tomates et dans des produits transformés à base de tomate

III.3.1. De la tomate au concentré

Un concentré de tomate a été fourni par un transformateur en PACA (A) ainsi que les tomates utilisées pour sa préparation. L'analyse des caroténoïdes, des composés phénoliques et de l'acide ascorbique a été réalisée dans ces produits.

III.3.1.1. Identification des microconstituants dans les tomates fraîches et le concentré

- Caroténoïdes

Les caroténoïdes potentiellement identifiés dans les tomates fraîches et le concentré sont présentés dans le Tableau II-18. Les caractéristiques de ces caroténoïdes sont précisées dans ce même tableau: temps de rétention (T_r), longueur d'onde maximale d'absorption (λ_{max}), intensité du pic "cis" ($\%A_B/A_{II}$) et masse (m/z). Les identifications ont été réalisées grâce à l'ensemble de ces données.

Des témoins (**T**) ou étalons (**E**) disponibles pour certains composés ont confirmé leur présence dans les produits analysés. Ces composés sont les suivants: le (*E*)-lycopène, (*E*)- β -carotène, le (*5Z*)-lycopène, le (*13Z*)-lycopène et le (*15Z*)-phytoène. Les identifications des autres composés présentés dans le Tableau II-18 restent des hypothèses.

Au total, 13 caroténoïdes différents ont été recensés dans les tomates fraîches et 14 dans le concentré. La majorité d'entre eux avaient déjà été retrouvés dans les concentrés, sauces ou pulpe étudiés dans une partie précédente (III.1. "Etude approfondie de deux procédés industriels de préparation de sauces tomate") exceptés le (*7Z*)-lycopène et un isomère du ζ -carotène. La diversité des produits retrouvés est bien moins importante que celle observée dans les produits à base de tomate étudiés précédemment. En effet, seuls 4 isomères *Z* de lycopène ont été retrouvés dans les tomates fraîches et le concentré, alors que les sauces A et B en contenaient respectivement 11 et 8 différents. Ceci peut s'expliquer par le fait que les sauces ont subi plusieurs traitements thermiques ayant favorisé l'isomérisation des formes *E* et

Z du lycopène. Par ailleurs, on remarque qu'une partie du phytoène s'est oxydée pendant la préparation du concentré, l'époxyde identifié n'étant présent que dans ce produit.

Parmi tous les composés identifiés dans les tomates et le concentré, un n'a jamais été répertorié dans ces produits: le monolaurate de lutéine. La présence des isomères Z a largement été décrite mais peu d'études ont identifié précisément la position des doubles liaisons isomérisées.

Tableau II-18. Caroténoïdes identifiés dans les tomates fraîches et le concentré préparé à partir de ces tomates

Tr. (min)	λ_{\max} (nm)	% A_B/A_H	m/z [M+H] ⁺	Composé	Origine
41,18	416, <u>446</u> , 474	-	751	Monolaurate de lutéine	TF, CT
42,09	276, <u>286</u> , 297	-	561	1,2-époxy-phytoène	CT
50,01	275, <u>286</u> , 297	-	545	(15Z)-Phytoène (T)	TF, CT
50,75	332, <u>348</u> , 368	-	543	Phytofluène	TF, CT
51,71	332, <u>348</u> , 368	-	543	Isomère de phytofluène	TF, CT
51,95	380, 400, <u>424</u>	-	539	Isomère de ζ -carotène	TF, CT
52,92	426, <u>452</u> , 478	-	537	(E)- β -Carotène (E)	TF, CT
53,77	382, 402, <u>426</u>	-	539	ζ -Carotène	TF, CT
57,91	432, <u>462</u> , 490	-	537	Di-(Z)-lycopène	TF, CT
59,18	440, <u>466</u> , 496	0,576	537	(13Z)-lycopène (T)	TF, CT
60,98	446, <u>472</u> , 502	-	553	1,2-epoxy-lycopène	TF, CT
61,28	440, <u>466</u> , 496	0,156	537	(9Z)-lycopène ^b	TF
61,67	446, <u>470</u> , 504	-	537	(7Z)-lycopène ^b	CT
63,76	446, <u>472</u> , 502	-	537	(E)-lycopène (E)	TF, CT
64,11	446, <u>472</u> , 502	-	537	(5Z)-lycopène (T)	TF, CT

TF = tomates fraîches; CT = concentré de tomate.

^a identification selon les travaux de Hengartner *et al.* (39)

^b identification selon les travaux de Breitenbach *et al.* (40)

○ **Composés phénoliques**

Les composés phénoliques identifiés dans les tomates fraîches et le concentré préparé à partir de ces tomates sont listés dans le Tableau II-19. Les données de spectrométrie de masse et les spectres UV-visibles des pics ayant permis l'identification des composés phénoliques sont précisés dans ce tableau.

Au total, 59 composés ont été recensés dans les tomates fraîches et le concentré. Certains d'entre eux n'avaient pas été retrouvés dans les sauces A et B. C'est le cas du composé quercétine-glucose-rhamose-apiose-acide sinapique et de la naringénine chalcone qui n'ont été détectés que dans les tomates fraîches. La majorité des composés identifiés sont toutefois semblables à ceux recensés dans les produits précédemment étudiés (concentrés, pulpe, sauces). Ainsi, les composés majoritairement retrouvés sont des dérivés de l'acide chlorogénique, de la quercétine et de la naringénine.

Des lycoperosides et esculéosides sont également présents dans les tomates fraîches et le concentré. Les tomates contiennent, par ailleurs, un alcaloïde qui n'a pas été retrouvé dans le produit transformé. Il s'agit du lycopéroside F ou G ou de l'esculéoside A pour lequel le temps de rétention est de 10,5 minutes.

Parmi les acides monocaféoylquiniques, des formes *cis* (des acides 4 et 5-O-caféoylquiniques) ont été retrouvés dans les deux produits analysés. Elles n'avaient pas été identifiées dans les concentrés et sauces étudiés précédemment. Par ailleurs, l'acide 3-O-caféoylquinique est présent dans le concentré mais pas dans les tomates fraîches. Un réarrangement a pu avoir lieu au cours de la transformation, à partir d'un autre acide monocaféoylquinique. De même, le procédé peut être à l'origine de l'isomérisation observée pour les acides 4- et 5-O-caféoylquinique.

La naringénine chalcone, identifiée dans des tomates par Moco *et al.* (2), a été retrouvée dans les tomates fraîches mais pas dans le concentré. Ce composé sensible aux conditions acides s'est certainement cyclisé en naringénine au cours de la transformation. Capanoglu *et al.* (16) avaient, eux aussi, observé la disparition de ce composé au cours de la préparation d'un concentré à partir de tomates fraîches.

L'analyse quantitative présentée plus loin permettra d'apprécier les effets du procédé étudié de façon plus précise.

Tableau II-19. Composés phénoliques identifiés dans les tomates fraîches et le concentré préparé à partir de ces tomates

Tr (min)	λ_{\max} (nm)	m/z [M-H] ⁻	Fragmentations des ions (m/z)	Composé	Origine
1,8	292ep, <u>324</u>	353	191, 179, 135	Acide 3-O-caféoylquinique ^b	CT
1,8		341	323, 229, 203, 179, 101	Acide caféique + hexose ^b (I)	CT
1,9		503	413, 341, 179	Acide di-hexosyl-caféique	TF
2,0		649	445	Hexoside de l'acide <i>p</i> -coumaroyl-dicaféoyl	CT
2,0		341	281, 251, 233, 203, 189, 179, 161, 135	Acide caféique + hexose ^b (II)	TF, CT
2,2	222, <u>294</u>	651 (PM = 326)	632, 489, 325	Acide 4-O-glucosyl- <i>p</i> -coumarique (E)	TF, CT
2,2	236ep, <u>290</u> , 316ep	341	179, 135	Acide 4-O-Glucosyl-caféique	TF, CT
2,5	<u>288</u>	329	311, 209, 167	Acide hexosyl-dihydroxyphenyl acétique	CT
2,5	236, 298ep, <u>325</u>	341	323, 281, 251, 221, 179, 135	Caféoyl-hexose ^b (I)	TF, CT
2,6	216, <u>279</u> ,	343	298, 223, 181, 137	Acide hexosyl-dihydroxyphénylpropionique	CT
3,1		325	265, 187, 163, 119, 145	<i>p</i> -coumaroyl-hexose	TF, CT
3,1	298ep, <u>323</u>	341	323, 281, 221, 179, 135	Caféoyl-hexose ^b (II)	TF, CT
3,1	298, <u>326</u>	353	191	Acide 5-O-caféoylquinique ^b (E)	TF, CT
3,4	223ep, <u>280</u> , 300ep	357	195, 136	Acide hexosyl-hydroxyméthoxyphényl propionique	CT
3,5	219, 234, 298, <u>326</u>	353	191<179<173, 135	Acide 4-O-caféoylquinique ^b	TF, CT
3,5	236, 295ep, <u>318</u>	355	295, 217, 193, 175, 134	Acide hexosyl-férulique ^b	CT

TF = tomates fraîches; CT = concentré de tomate.

Le suffixe “ep” indique un épaulement sur le spectre UV-visible. Les données relatives aux spectres UV-visibles ne sont pas toujours indiquées car les composés étaient co-élus.

^a Selon les travaux de Slimstad *et al.* 2008 (18)

^b Vu dans la publication de Moco *et al.* 2007 (2)

Tr (min)	λ_{\max} (nm)	m/z [M-H] ⁻	Fragmentations des ions (m/z)	Composé	Origine
3,6		353	191<179<173, 135	Acide 4-O-caféoylquinique (forme CIS) ^b	CT
3,6		441	4223, 351, 321, 279, 220, 180	Acide hexosyl- <i>p</i> -coumaroyl-malique	CT
3,6		385	223, 208, 164, 179	Acide hexosyl-sinapique	TF
3,7		387	369, 163, 113	Acide hexosyl-dihydrosinapique	TF, CT
4,4	<u>289</u> , 326ep	595	577, 475, 415, 385, 355, 313	Di-hexosyl-naringénine ^b (?)	TF, CT
4,5			191	Acide 5-O-caféoylquinique (forme CIS) ^b	TF
4,9	237, 299ep, <u>310</u>	337	191, 163	Acide <i>p</i> -coumaroylquinique	TF
5,4	<u>254</u> , 265ep, <u>351</u>	771	609, 301	Hexosyl-rutine	TF, CT
5,7	248ep, <u>277</u> , 325ep	557	359, 299, 255, 197, 153	Acide hexosyl-syringique + 198 u.m.a	TF, CT
6,1	284ep, <u>310</u>	631	433, 271	Hexosyl-naringénine + 198 u.m.a.	TF, CT
6,1	284ep, <u>310</u>	611	565, 513, 449, 287	Di-hexosyl-dihydrokaempferol	TF, CT
7,3	248, <u>291</u> , 324ep	433	387, 343, 313	Hexosyl-naringénine (I)	TF
7,9	250ep, <u>282</u>	449	287, 151	Hexosyl-dihydrokaempferol (I)	TF
8,1	236ep, <u>278</u>	449	431, 391, 334, 287, 269, 198, 151	Hexosyl-dihydrokaempferol (II)	TF, CT
8,1	<u>284</u> , ep 330	433	313, 271, 151	Hexosyl-naringénine (II)	CT
8,5	248, 290ep, <u>324</u>	839	677, 515, 353	Acide hexosyl-tricaféoylquinique ou acide tétra caféoylquinique	TF, CT
8,8	251, <u>285</u> , 321	555	433, 357, 271	Hexosyl-naringénine + 122 u.m.a.	TF
8,8	251, <u>285</u> , 321	555	433, 357, 271	Hexosyl-naringénine + 122 u.m.a.	TF

TF = tomates fraîches; CT = concentré de tomate.

Le suffixe “ep” indique un épaulement sur le spectre UV-visible. Les données relatives aux spectres UV-visibles ne sont pas toujours indiquées car les composés étaient co-élués.

^a Selon les travaux de Slimestad *et al.* 2008 (18)

^b Vu dans la publication de Moco *et al.* 2007 (2)

Tr (min)	λ_{\max} (nm)	m/z [M-H] ⁻	Fragmentations des ions (m/z)	Composé	Origine
9,0	<u>256</u> , 268ep, 293ep, <u>355</u>	741	609, 547, 475, 343, 300	Quercétine 3-O-(2''-O- β -apiofuranosyl-6''-O- α -rhamnopyranosyl- β -glucopyranoside) ^a	TF, CT
9,2	248ep, <u>288</u> , 322	433	271	7-glucosyl-naringénine (= prunine) (E)	TF, CT
9,2	248ep, <u>288</u> , 322	515	353, 191<179<173	Acide 3,4-dicaféoylquinique ^b (T)	TF, CT
9,3	250, <u>293</u> , 325	515	353, 191>179>173	Acide 3,5-dicaféoylquinique ^b (E)	TF, CT
9,3	250, <u>293</u> , 325	463	325, 301, 151	Hexosyl-quercétine	TF
9,3	250, 293, 325	434	271, 151	Hexosyl-naringénine (III)	TF, CT
9,4	238, <u>285</u> , 322ep	597	477, 417, 387, 357, 315	Dihexosyl-phloretine ^a	TF, CT
9,7	228ep, <u>256</u> , 267ep, 293, <u>354</u>	609	301	Rutine (E)	TF, CT
10,1		1227	1095, 1065, 933, 771	Esculéoside B ^b (II)	CT
10,1	248, <u>319</u>	515	353, 299, 255, 173>179>191	Acide 4,5-dicaféoylquinique ^b (T)	TF
10,3	248, <u>330</u>	433	313, 271, 151	Hexosyl-naringénine (IV)	TF, CT
10,3		947	741, 591	Quercétine-glucose-rhamnose-apiose-acide sinapique	TF
10,5	250, 268, <u>292</u> , 321	287	269, 151	Dihydrokaempferol	TF
10,5	230ep, <u>268</u> , 290ep, 350	593	345, 283	3-O-rutinosyl-kaempférol ^b	TF, CT
10,5		1269	1227, 1107, 1047, 975, 933	Lycoperoside F,G ou esculéoside A ^b	CT
10,5		917	741	Quercétine-glucose-rhamnose-apiose-acide férulique	TF

TF = tomates fraîches; CT = concentré de tomate.

Le suffixe "ep" indique un épaulement sur le spectre UV-visible. Les données relatives aux spectres UV-visibles ne sont pas toujours indiquées car les composés étaient co-élus.

^a Selon les travaux de Slimstad *et al.* 2008 (18)

^b Vu dans la publication de Moco *et al.* 2007 (2)

Tr (min)	λ_{\max} (nm)	m/z [M-H] ⁻	Fragmentations des ions (m/z)	Composé	Origine
10,5		1269	1137, 1107, 1065, 1047, 975, 933, 867, 813, 753	Lycoperoside F,G ou esculéoside A ^b	TF
10,7		1269	1269, 1209, 1137, 1107, 1095, 1047, 975, 933, 867, 817, 753	Lycoperoside F,G ou esculéoside A ^b	TF, CT
10,7		1049	?	Lycoperoside H ^b (I)	TF, CT
10,7		887	741	Quercétine-glucose-rhamnose-apiose-acide <i>p</i> -coumarique	TF, CT
11,0		1049	?	Lycoperoside H ^b (II)	TF, CT
11,4		921	877, 741, 723, 609, 300	Quercétine-glucose-rhamnose-apiose-acide syringique	TF
11,4	<u>290</u> , 330ep	271	177, 151, 119, 107	Naringénine (E)	TF, CT
11,4	251, <u>293</u> , 328	677	515, 353	Acide tricaféoylquinique ^b	TF
11,9	243, 341ep, <u>368</u>	271	177, 151, 107	Naringénine chalcone	TF

TF = tomates fraîches; CT = concentré de tomate.

Le suffixe “ep” indique un épaulement sur le spectre UV-visible. Les données relatives aux spectres UV-visibles ne sont pas toujours indiquées car les composés étaient co-élus.

^a Selon les travaux de Sliestad *et al.* 2008 (18)

^b Vu dans la publication de Moco *et al.* 2007 (2)

III.3.1.2. Evolution des teneurs en microconstituants au cours de la préparation du concentré

○ Caroténoïdes

Les formes *E* et *Z* du lycopène et le (*E*)- β -carotène ont été quantifiés dans les tomates et le concentré. Aucun isomère *Z* de β -carotène n'a été retrouvé dans ces produits. Les analyses ont été réalisées en triplicats et les résultats sont présentés dans le Tableau II-20. Ces données ont été étudiées par une analyse de variance (test post-hoc de Tukey).

Tableau II-20. Teneurs en caroténoïdes dans le concentré et les tomates fraîches utilisées pour sa préparation (en mg/100 g de matière sèche de tomate)

Composé	Tomates fraîches	Concentré de tomate
(<i>E</i>)-lycopène	150 \pm 23	144 \pm 7
(<i>Z</i>)-lycopène	12,8 \pm 2,4 ^a	8,7 \pm 0,3 ^b
(<i>E</i>)- β -carotène	4,3 \pm 0,6 ^a	3,2 \pm 0,2 ^b

Les teneurs en (*Z*)-lycopène correspondent à la somme des teneurs en isomères *Z*. Les teneurs en (*Z*)-lycopène sont exprimées en équivalent (*E*)-lycopène. Les valeurs avec des lettres différentes sont significativement différentes (test post-hoc de Tukey) pour un intervalle de confiance de 95 %.

Au cours de la préparation du concentré, des pertes significatives sont observées pour les isomères *Z* de lycopène et le (*E*)- β -carotène. Ces composés se sont certainement dégradés par des réactions d'oxydation bien que leurs produits d'oxydation n'aient pas été retrouvés dans le concentré. Les réactions d'isomérisation semblent ne pas (ou peu) se produire puisque la teneur en (*E*)-lycopène reste stable et qu'aucun isomère *Z* du β -carotène n'a été retrouvé dans le concentré. Il est par ailleurs surprenant d'observer des teneurs en (*Z*)-lycopène plus importantes dans les tomates que dans le concentré. En effet, ces isomères sont généralement présents en très faibles quantités dans les tomates fraîches (47). Il est possible que des réactions d'isomérisation se soient produites lors de l'extraction des caroténoïdes. Ceci expliquerait la teneur relativement importante mesurée dans les tomates fraîches.

Les résultats observés sont partiellement en accord avec ceux de la littérature. Plusieurs auteurs ont noté une augmentation de la teneur en (*E*)-lycopène et d'autres une diminution au cours de la préparation de concentré à partir de tomates fraîches (9, 16, 24). Les résultats de ces mêmes études montrent des teneurs en (*Z*)-lycopène sont stables ou croissantes alors que nous avons observé une baisse. Concernant le (*E*)- β -carotène, les résultats d'Abushita *et al.* (9)

montrent que ce composé est affecté lors de la fabrication du concentré, ce qui concorde avec nos observations.

- **Composés phénoliques**

Les composés phénoliques majoritaires ont été quantifiés dans les tomates et le concentré. Les sommes des acides hexosyl-caféiques, des acides hexosyl-*p*-coumariques et des hexosyl-naringénines ont été calculées ainsi que les sommes des acides mono- et dicaféoylquiniques et des polysaccharides de quercétine. Les analyses ont été réalisées en triplicats et les résultats sont présentés dans le Tableau II-21 (en page suivante). Une analyse de variance (test post-hoc de Tukey) permet de comparer les teneurs dans les produits avant et après la transformation.

La rutine est le composé phénolique majoritairement retrouvé dans les tomates et le concentré. Les acides 4-O-glucosyl-caféique et 4-O-glucosyl-*p*-coumarique sont également présents dans des proportions relativement importantes dans ces produits.

Au cours de la préparation de la sauce, les teneurs en composés phénoliques varient significativement. En effet, les sommes des teneurs en hexosides de l'acide caféique, de l'acide *p*-coumarique et de la naringénine ainsi que la somme des acides caféoylquiniques augmentent toutes. De même, les teneurs de certains composés dosés individuellement (acide 4-O-glucosyl-caféique, acide 4-O-glucosyl-*p*-coumarique, acide 5-O-caféoylquinique, acide 3,5-dicaféoylquinique et naringénine) s'accroissent fortement. En revanche, deux composés présents dans les tomates fraîches sont totalement dégradés lors du procédé: la naringénine chalcone et l'acide tricaféoylquinique. Comme évoqué précédemment, la forme chalcone s'est certainement cyclisée en naringénine, ce qui expliquerait l'augmentation de la teneur observée pour ce polyphénol. L'acide tricaféoylquinique, en se dégradant, a pu libérer des acides mono- ou dicaféoylquiniques dont les teneurs augmentent lors du procédé.

Deux études se sont intéressées à l'évolution des composés phénoliques lors de la préparation du concentré de tomates (16, 24). Des tendances similaires à celles obtenues lors de ces études ont été observées dans nos produits: des teneurs en rutine stables et des teneurs en acide chlorogénique croissantes ou stables. Capanoglu *et al.* (16) ont également dosé la naringénine chalcone et observé sa disparition totale conjointement à l'augmentation de la teneur en naringénine.

Les teneurs plus importantes dans le concentré que dans les tomates peuvent s'expliquer par une meilleure extractibilité des composés après le traitement thermique. Le chauffage ayant participé à la déstructuration des cellules végétales de tomate, l'extraction des composés phénoliques est facilitée.

Tableau II-21. Teneurs en composés phénoliques dans le concentré et les tomates fraîches utilisées pour sa préparation (en mg/100 g de matière sèche de tomate)

Composé	Tomates fraîches	Concentré de tomate
Hexosides de l'acide caféique dont Acide 4-O-glucosyl-caféique	23,0 ± 2,0 ^a 6,89 ± 1,11 ^a	29,3 ± 1,6 ^b 12,3 ± 1,4 ^b
Hexosides de l'acide <i>p</i> -coumarique dont Acide 4-O-glucosyl- <i>p</i> -coumarique	13,2 ± 1,5 ^a 7,53 ± 0,78 ^a	18,6 ± 0,8 ^b 17,0 ± 0,6 ^b
Acides caféoylquiniques dont Acide 5-O-caféoylquinique	2,27 ± 0,73 ^a 0,68 ± 0,28 ^a	12,9 ± 1,9 ^b 8,12 ± 0,58 ^b
Polysaccharides de quercétine dont Rutine	46,1 ± 8,1 29,5 ± 7,7	47,5 ± 1,8 31,1 ± 0,9
Hexosides de naringénine dont 7-O-glucosyl-naringénine	2,50 ± 0,10 ^a 1,82 ± 0,06	3,71 ± 0,14 ^b 1,72 ± 0,08
Acides dicaféoylquiniques dont Acide 3,5-dicaféoylquinique	8,40 ± 1,69 0,63 ± 0,11 ^a	12,7 ± 2,5 1,04 ± 0,16 ^b
3-O-rutinosyl-kaempférol	4,07 ± 1,83	2,83 ± 0,91
Naringénine	0,21 ± 0,04 ^a	3,70 ± 0,06 ^b
Naringénine chalcone	15,8 ± 9,7	-
Acide tricaféoylquinique	0,82 ± 0,95	-

La somme des teneurs en hexosides de l'acide caféique est exprimée en équivalent acide 4-O-glucosyl-caféique. La somme des teneurs en acides caféoylquiniques et en acides dicaféoylquiniques, ainsi que la teneur en acide tricaféoylquinique sont exprimées en acide 5-O-caféoylquinique. La somme des teneurs en polysaccharides de quercétine et la teneur en 3-O-rutinosyl-kaempférol sont exprimées en équivalent rutine. La somme des teneurs en hexosyl-naringénine est exprimée en équivalent 7-O-glucosyl-naringénine. La teneur en naringénine chalcone est exprimée en équivalent eriodictyochalcone. Les valeurs avec des lettres différentes sont significativement différentes (test post-hoc de Tuckey) pour un intervalle de confiance de 95 %.

○ **Acide ascorbique**

La teneur en acide ascorbique a été déterminée dans les tomates fraîches et le concentré. Les résultats ont été réalisés en triplicats et sont présentés dans le Tableau II-22. Une analyse de variance (test post-hoc de Tukey) facilite l'interprétation de ces données.

Tableau II-22. Teneurs en acide ascorbique dans le concentré et les tomates fraîches utilisées pour sa préparation (en mg/100 g de matière sèche de tomate)

	Tomates fraîches	Concentré de tomate
Acide ascorbique	380 ± 58 ^a	185 ± 25 ^b

Les valeurs avec des lettres différentes sont significativement différentes (test post-hoc de Tuckey) pour un intervalle de confiance de 95 %.

Environ la moitié (49 %) de l'acide ascorbique initialement présent dans les tomates a été dégradé lors de la préparation du concentré. Des pertes du même ordre avaient été observées par Capanoglu *et al.* (16) pendant la préparation industrielle d'un concentré à partir de tomates fraîches.

III.3.2. Teneurs en acide ascorbique dans de nombreux produits industriels à base de tomate

Les teneurs en acide ascorbique ont été déterminées dans 9 concentrés de tomate issus du commerce et dans une sauce aux tomates fraîches fournie par une usine. Les résultats des analyses sont présentés dans le Tableau II-23.

Tableau II-23. Teneurs en acide ascorbique dans des produits du commerce (en mg/100 g de matière sèche de tomate)

Produit	Teneur en acide ascorbique
Concentré a	153
Concentré b	144
Concentré c	130
Concentré d	33
Concentré e	9,0
Concentré f	4,3
Concentré g	4,0
Concentré h	3,0
Concentré i	0,3
Sauce aux tomates fraîches	47,7

L'ensemble des données montre la grande variabilité des teneurs en acide ascorbique dans les produits à base de tomate du commerce. Des traitements thermiques plus ou moins violents (température, durée du traitement, présence d'oxygène et lumière), l'utilisation de tomates plus ou moins fraîches (stockage en extérieur), de génotypes plus ou moins riches en acide ascorbique et de conditions de cultures variées peuvent expliquer les grandes différences observées. Par ailleurs, comme nous l'avons montré, la durée et les conditions de stockage ont également un impact, l'acide ascorbique continuant de se dégrader dans les produits au cours de la conservation.

III.3.3. Autres analyses réalisées sur des produits industriels à base de tomate

Les caroténoïdes et composés phénoliques du concentré b et de la sauce aux tomates fraîches ont été analysés. Les teneurs en (*E*)-lycopène, (*E*)- β -carotène, acide chlorogénique (acide 5-O-caféoylquinique), rutine et naringénine ont été déterminées et les résultats sont présentés dans le Tableau II-24.

Tableau II-24. Teneurs en principaux caroténoïdes et composés phénoliques dans le concentré b et la sauce aux tomates fraîches (en mg/100 g de matière sèche de tomate)

Composé	Concentré b	Sauce aux tomates fraîches
(<i>E</i>)-lycopène	301 \pm 6	129 \pm 13
(<i>E</i>)- β -carotène	30,8 \pm 2,2	2,3 \pm 0,1
Acide chlorogénique	21,9 \pm 4,9	4,9 \pm 0,2
Rutine	70,2 \pm 8,6	14,9 \pm 0,4
Naringénine	19,2 \pm 4,6	0,7 \pm 0,1

Les teneurs en ces mêmes microconstituants, dans les autres produits présentés dans ce manuscrit et préparés à partir de tomates fraîches, sont rappelées dans le Tableau II-25.

Tableau II-25. Teneurs en principaux caroténoïdes et composés phénoliques dans les concentrés et pulpe utilisés pour la préparation des sauces A et B (en mg/100 g de matière sèche de tomate)

Composé	Concentré utilisé pour la sauce A	Concentré utilisé pour la sauce B	Pulpe utilisée pour la sauce B
(<i>E</i>)-lycopène	368 \pm 75	121 \pm 16	319 \pm 13
(<i>E</i>)- β -carotène	5,6 \pm 0,9	4,1 \pm 0,8	9,6 \pm 0,4
Acide chlorogénique	8,3 \pm 2,9	6,2 \pm 0,2	6,9 \pm 0,7
Rutine	52,8 \pm 21,9	4,2 \pm 0,1	40,1 \pm 2,6
Naringénine	10,2 \pm 1,9	1,0 \pm 0,1	19,7 \pm 2,8

L'ensemble des données montre que les teneurs en caroténoïdes et composés phénoliques peuvent être très variables d'un produit à un autre. Les teneurs en naringénine mesurées varient énormément: de 0,7 à 19,7 mg/100 g de matière sèche de tomate.

Ces produits ont été préparés avec des tomates de différentes variétés, cultivées dans des conditions inconnues, bien que probablement variables. Par ailleurs, elles ont pu être soumises à des conditions post-récoltes qui ont plus ou moins altéré leur qualité. Cette matière première, à la base de nombreux produits transformés, a déjà une qualité nutritionnelle qui peut être fortement variable.

D'autre part, les modes de préparation utilisés pour ces produits sont tous différents. Les conditions de chauffage (température, durée), la présence d'oxygène et la lumière auxquels ils sont soumis, impactent directement sur la stabilité des microconstituants.

IV. Conclusion

L'analyse de plusieurs produits à base de tomate fournis par des industriels a permis d'identifier un certain nombre de caroténoïdes et de composés phénoliques. La plupart d'entre eux avaient déjà été répertoriés dans la littérature; nous en avons toutefois identifiés de nouveaux. Parmi les caroténoïdes, le monolaurate de lutéine a été identifié, et des données plus précises sur les isomères *Z* de lycopène ont été obtenues. Concernant les composés phénoliques, le composé quercétine-glucose-rhamnose-apiose couplé à un acide aromatique n'avait été répertorié jusqu'à présent qu'avec l'acide *p*-coumarique, dans la littérature. Nous l'avons identifié lié aux acides férulique, syringique, et sinapique. Le dihydrokaempferol sous forme aglycone n'avait jamais été retrouvé dans des tomates jusqu'ici. De même, l'identification précise des différents acides dicaféoylquiniques de la tomate a été accomplie grâce à nos travaux.

La quantification des microconstituants dans les produits à base de tomate a permis de suivre leur évolution au cours des procédés. L'étude de deux procédés industriels a montré que les teneurs en microconstituants peuvent évoluer de façon très différentes. En revanche, lorsque des sauces ont été préparées en pilote à partir d'un même concentré, les évolutions se sont avérées similaires. La matière première utilisée aurait donc un impact crucial sur le devenir des antioxydants.

Lors de la préparation d'un concentré à partir de tomates fraîches, les teneurs en composés phénoliques majoritaires se sont globalement avérées être supérieures en sortie du procédé. Ce phénomène s'explique par une plus faible extractabilité de ces composés dans les tomates fraîches broyées, qui est fortement améliorée par le traitement thermique. Au cours de la préparation de sauces, les teneurs en composés phénoliques sont relativement constantes puisque ces composés sont déjà très accessibles dans le concentré. On notera que les composés phénoliques ne semblent pas affectés par les procédés de transformation.

Parmi tous les microconstituants étudiés, deux étaient systématiquement dégradés au cours de la transformation: l'acide ascorbique et le (*E*)- β -carotène. L'acide ascorbique, un composé très sensible aux conditions aérobies est dégradé par l'intermédiaire de réactions d'oxydation. Le (*E*)- β -carotène s'oxyde également et a tendance à s'isomériser en (*13Z*)- β -carotène dans certaines conditions (préparation de la sauce A notamment).

L'essai de vieillissement accéléré réalisé a permis de conclure que les réactions initiées lors des traitements thermiques se poursuivent pendant la conservation. Les conditions des procédés jouent ainsi directement sur l'évolution des microconstituants au cours du stockage.

Les travaux présentés dans ce chapitre ont permis d'obtenir des informations pertinentes sur les microconstituants dans les produits à base de tomates. Si leur évolution au cours de la transformation est elle aussi mieux connue, des interrogations subsistent toutefois. Certains résultats divergent; les effets de la présence d'huile n'ont pas été déterminés et les réactions conduisant à la dégradation des différents microconstituants n'ont pas été identifiées précisément. Dans le but de mieux connaître les réactions et les mécanismes impliqués lors de la préparation de la sauce tomate, la stabilité des microconstituants majoritaires et d'intérêt nutritionnel sera étudiée en systèmes modèles. Ces travaux font l'objet du chapitre suivant.

Références bibliographiques

1. Leonardi, C., Ambrosino, P., Esposito, F., and Fogliano, V. (2000) Antioxidative activity and carotenoid and tomatine contents in different typologies of fresh consumption tomatoes, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 48, 4723-4727.
2. Moco, S., Capanoglu, E., Tikunov, Y., Bino, R. J., Boyacioglu, D., Hall, R. D., Vervoort, J., and De Vos, R. C. H. (2007) Tissue specialization at the metabolite level is perceived during the development of tomato fruit, *Journal of Experimental Botany*.
3. Nguyen, M., Francis, D., and Schwartz, S. (2001) Thermal isomerisation susceptibility of carotenoids in different tomato varieties, *Journal of the Science of Food and Agriculture* 81, 910-917.
4. Ben-Aziz, A., Britton, G., and Goodwin, T. W. (1973) Carotene epoxides of *Lycopersicon esculentum*, *Phytochemistry* 12, 2759-2764.
5. Lessin, W. J., Catigani, G. L., and Schwartz, S. J. (1997) Quantification of cis-trans isomers of provitamin A carotenoids in fresh and processed fruits and vegetables, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 45, 3728-3732.
6. Koh, E., Wimalasiri, K. M. S., Renaud, E. N. C., and Mitchell, A. E. (2008) A comparison of flavonoids, carotenoids and vitamin C in commercial organic and conventional marinara pasta sauce, *Journal of the Science of Food and Agriculture* 88, 344-354.
7. Tonucci, L. H., Holden, J. M., Beecher, G. R., Khachik, F., Davis, C. S., and Mulokozi, G. (1995) Carotenoid content of thermally processed tomato-based food-products, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 43, 579-586.
8. Khachik, F., Goli, M. B., Beecher, G. R., Holden, J., Lusby, W. R., Tenorio, M. D., and Barrera, M. R. (1992) Effect of food preparation on qualitative and quantitative distribution of major carotenoid constituents of tomatoes and several green vegetables, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 40, 390-398.
9. Abushita, A. A., Daood, H. G., and Biacs, P. A. (2000) Change in carotenoids and antioxidant vitamins in tomato as a function of varietal and technological factors, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 48, 2075-2081.
10. Takeoka, G. R., Dao, L., Flessa, S., Gillespie, D. M., Jewell, W. T., Huebner, B., Bertow, D., and Ebeler, S. E. (2001) Processing effects on lycopene content and antioxidant activity of tomatoes, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 49, 3713-3717.
11. Kopec, R. E., Riedl, K. M., Harrison, E. H., Curley, R. W., Hruszkewycz, D. P., Clinton, S. K., and Schwartz, S. J. (2010) Identification and quantification of apo-lycopenals in fruits, vegetables, and human plasma, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 58, 3290-3296.
12. Khachik, F., Steck, A., Niggli, U. A., and Pfander, H. (1998) Partial synthesis and structural elucidation of the oxidative metabolites of lycopene identified in tomato paste, tomato juice, and human serum, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 46, 4874-4884.
13. Yokota, T., Etoh, H., Ukai, N., Oshima, S., Sakamoto, H., and Ishiguro, Y. (1997) 1,5-Dihydroxyiridanyl-lycopene in tomato puree, *Bioscience Biotechnology and Biochemistry* 61, 549-550.
14. Yokota, T., Etoh, H., Oshima, S., Hayakawa, K., and Ishiguro, Y. (2003) Oxygenated lycopene and dehydrated lutein in tomato puree, *Bioscience Biotechnology and Biochemistry* 67, 2644-2647.

15. Britton, G., and Goodwin, T. W. (1969) The occurrence of phytoene 1,2-oxide and related carotenoids in tomatoes, *Phytochemistry* 8, 2257-2258.
16. Capanoglu, E., Beekwilder, J., Boyacioglu, D., Hall, R., and De Vos, R. (2008) Changes in antioxidant and metabolite profiles during production of tomato paste, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 56, 964-973.
17. Moco, S., Bino, R. J., Vorst, O., Verhoeven, H. A., Groot, J. d., Beek, T. A. v., Vervoort, J., and Vos, C. H. R. d. (2006) A liquid chromatography-mass spectrometry-based metabolome database for tomato, *Plant Physiology* 141, 1205-1218.
18. Sliemstad, R., Fossen, T., and Verheul, M. J. (2008) The flavonoids of tomatoes, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 56, 2436-2441.
19. le Gall, G., DuPont, M. S., Mellon, F. A., Davis, A. L., Collins, G. J., Verhoeven, M. E., and Colquhoun, I. J. (2003) Characterization and content of flavonoid glycosides in genetically modified tomato (*Lycopersicon esculentum*) fruits, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*: 51 (9) 2438-2446 51, 2438-2446.
20. Torres, C. A., Davies, N. M., Yanez, J. A., and Andrews, P. K. (2005) Disposition of selected flavonoids in fruit tissues of various tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) Genotypes, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 53, 9536-9543.
21. Yahara, S., Uda, N., and Nohara, T. (1996) Lycopersides A-C, three stereoisomeric 23-acetoxyspirosolan-3beta-ol beta-lycotetraosides from *Lycopersicon esculentum*, *Phytochemistry* 42, 169-172.
22. Ono, M., Takara, Y., Egami, M., Uranaka, K., Yoshimitsu, H., Matsushita, S., Fujiwara, Y., Ikeda, T., and Nohara, T. (2006) Steroidal alkaloid glycosides, esculeosides C and D, from the ripe fruit of cherry tomato, *Chemical and Pharmaceutical Bulletin* 54, 237-239.
23. Fujiwara, Y., Takaki, A., Uehara, Y., Ikeda, T., Okawa, M., Yamauchi, K., Ono, M., Yoshimitsu, H., and Nohara, T. (2004) Tomato steroidal alkaloid glycosides, esculeosides A and B, from ripe fruits, *Tetrahedron* 60, 4915-4920.
24. Re, R., Bramley, P. M., and Rice-Evans, C. (2002) Effects of food processing on flavonoids and lycopene status in mediterranean tomato variety, *Free Radical Research* 36, 803-810.
25. USDA/CNPP. (2007) USDA National nutrient database for standard reference, p <http://www.nal.usda.gov/fnic/foodcomp/Data/SR16/reports/sr16fg11.pdf>, U.S. Agricultural Research service.
26. Podsedek, A., Sosnowska, D., and Anders, B. (2003) Antioxidative capacity of tomato products, *European Food Research and Technology* 217, 296-300.
27. Seybold, C., Frohlich, K., Bitsch, R., Otto, K., and Bohm, V. (2004) Changes in contents of carotenoids and vitamin E during tomato processing, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 52, 7005-7010.
28. Pérez-Conesa, D., García-Alonso, J., García-Valverde, V., Iniesta, M.-D., Jacob, K., Sánchez-Siles, L. M., Ros, G., and Periago, M. J. (2009) Changes in bioactive compounds and antioxidant activity during homogenization and thermal processing of tomato puree, *Innovative Food Science & Emerging Technologies* 10, 179-188.
29. Anese, M. F., P.; Fogliano, V.; Nicoli, M.C.; Massini, R. (2002) Effect of equivalent thermal treatments on the color and the antioxidant activity of tomato purees, *Journal of Food Science* 67, 3442-3446.
30. Tibäck, E. A., Svelander, C. A., Colle, I. J. P., Altskär, A. I., Alminger, M. A. G., Hendrickx, M. E. G., Ahrné, L. M., and Langton, M. I. B. C. (2009) Mechanical and thermal pretreatments of crushed tomatoes: effects on consistency and in vitro accessibility of lycopene, *Journal of Food Science* 74, E386-E395.

31. Mayeaux, M., Xu, Z., King, J. M., and Prinyawiwatkul, W. (2006) Effects of cooking conditions on the lycopene content in tomatoes, *Journal of Food Science* 71, C461-C464.
32. Sahlin, E., Savage, G. P., and Lister, C. E. (2004) Investigation of the antioxidant properties of tomatoes after processing, *Journal of Food Composition and Analysis* 17, 635-647.
33. Lavelli, V., and Giovanelli, G. (2003) Evaluation of heat and oxidative damage during storage of processed tomato products. II. Study of oxidative damage indices, *Journal of the Science of Food and Agriculture* 83, 966-971.
34. Ordóñez-Santos, L. E., Vázquez-Odériz, L., Arbones-Maciñeira, E., and Romero-Rodríguez, M. Á. (2009) The influence of storage time on micronutrients in bottled tomato pulp, *Food Chemistry* 112, 146-149.
35. Garcia-Alonso, F. J., Bravo, S., Casas, J., Perez-Conesa, D., Jacob, K., and Periago, M. J. (2009) Changes in antioxidant compounds during the shelf life of commercial tomato juices in different packaging materials, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 57, 6815-6822.
36. Dewanto, V., Wu, X. Z., Adom, K. K., and Liu, R. H. (2002) Thermal processing enhances the nutritional value of tomatoes by increasing total antioxidant activity, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 50, 3010-3014.
37. Apaiah, R. K., and Barringer, S. A. (2001) Quality loss during tomato paste production versus sauce storage, *J. Food Process Preserv.* 25, 237-250.
38. Singh, S., Singh, J., and Rai, M. (2008) Nutritional attributes of processed tomatoes, *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* 7, 335-339.
39. Hengartner, U., Bernhard, K., Meyer, K., Englert, G., and Glinz, E. (1992) Synthesis, isolation, and NMR-spectroscopic characterization of fourteen (Z)-isomers of lycopene and some acetylenic didehydro- and tetrahydrolycopenes *Helvetica Chimica Acta* 75, 1848-1865.
40. Breitenbach, J., Braun, G., Steiger, S., and Sandmann, G. (2001) Chromatographic performance on a C30-bonded stationary phase of monohydroxycarotenoids with variable chain length or degree of desaturation and of lycopene isomers synthesized by various carotene desaturases, *Journal of Chromatography A* 936, 59-69.
41. Britton, G., Liaaen-Jensen, S., and Pfander, H., (Eds.) (2004) *Carotenoids: Handbook*, Birkhäuser Verlag, Basel.
42. Bohm, V., Puspitasari-Nienaber, N. L., Ferruzzi, M. G., and Schwartz, S. J. (2002) Trolox equivalent antioxidant capacity of different geometrical isomers of alpha-carotene, beta-carotene, lycopene, and zeaxanthin, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 50, 221-226.
43. Liu, S.-C., Lin, J.-T., and Yang, D.-J. (2009) Determination of cis- and trans- alpha- and beta-carotenoids in Taiwanese sweet potatoes (*Ipomoea batatas* (L.) Lam.) harvested at various times, *Food Chemistry* 116, 605-610.
44. Clifford, M. N., Johnston, K. L., Knight, S., and Kuhnert, N. (2003) Hierarchical scheme for LC-MSn identification of chlorogenic acids, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 51, 2900-2911.
45. Gahler, S., Otto, K., and Bohm, V. (2003) Alterations of vitamin C, total phenolics, and antioxidant capacity as affected by processing tomatoes to different products, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 51, 7962-7968.
46. Rickman, J. C., Barrett, D. M., and Bruhn, C. M. (2007) Nutritional comparison of fresh, frozen and canned fruits and vegetables. Part 1. Vitamins C and B and phenolic compounds, *Journal of the Science of Food and Agriculture* 87, 930-944.

47. Shi, J., and Le Maguer, M. (2000) Lycopene in tomatoes: chemical and physical properties affected by food processing, *Critical Reviews in Biotechnology* 20, 293-334.

ANNEXE

Caractéristiques des méthodes d'analyses des différents microconstituants

I. Acide ascorbique

Des droites de calibration ont été mises en place pour l'analyse de l'acide ascorbique dans les produits à base de tomate. Elles ont été réalisées en triplicats. Les moyennes des trois répétitions sont présentées ci-dessous.

Droite d'étalonnage (à 254 nm):

1) Sur [4-40 $\mu\text{mol/L}$]

$$\text{Aire} = 5,0907 \times [\text{ac. ascorbique}] + 8,2465$$

$$R^2 = 0,9984$$

2) Sur [40-400 $\mu\text{mol/L}$]

$$\text{Aire} = 6,6863 \times [\text{ac. ascorbique}] + 62,472$$

$$R^2 = 0,999$$

Domaine d'étalonnage : [4-400 $\mu\text{mol/L}$]

Domaine d'étude : [20-400 $\mu\text{mol/L}$]

II. Composés phénoliques

Des droites de calibration ont été mises en place pour l'analyse des composés phénoliques dans les produits à base de tomate. Elles ont été réalisées en triplicats pour l'acide chlorogénique, la rutine, la 7-O-glucosyl-naringénine et la naringénine. Les droites d'étalonnage établies pour l'acide 4-O-glucosyl-caféique, l'acide 4-O-glucosyl-*p*-coumarique et l'ériodictyolchalcone n'ont été réalisées qu'une fois.

II.1. Acide chlorogénique

Droite d'étalonnage (à 280 nm) :

1) Sur [1,9-19 µmol/L]

Aire = 6,8751 x [ac. chlorogénique] + 4,3951

$R^2 = 0,9607$

2) Sur [19-190 µmol/L]

Aire = 9,2847 x [ac. chlorogénique] - 11,085

$R^2 = 0,9967$

Domaine d'étalonnage : [1,9-190 µmol/L]

Domaine d'étude : [10-101 µmol/L]

II.2. Rutine

Droite d'étalonnage (à 280 nm) :

1) Sur [1-9,5 µmol/L]

Aire = 4,9701 x [rutine] - 1,5384

$R^2 = 0,9772$

2) Sur [9,5-95 µmol/L]

Aire = 5,1511 x [rutine] - 1,3799

$R^2 = 0,999$

Domaine d'étalonnage : [1-95 µmol/L]

Domaine d'étude : [15-92 µmol/L]

II.3. 7-O-glucosyl-naringénine

Droite d'étalonnage (à 280 nm) :

1) Sur [1-10 $\mu\text{mol/L}$]

Aire = 13,55 x [prunine] – 1,4275

$R^2 = 0,9971$

2) Sur [10-100 $\mu\text{mol/L}$]

Aire = 12,552 x [prunine] – 0,0186

$R^2 = 0,9996$

Domaine d'étalonnage : [1-100 $\mu\text{mol/L}$]

Domaine d'étude : [3-16 $\mu\text{mol/L}$]

II.4. Naringénine

Droite d'étalonnage (à 280 nm) :

Sur [1-100 $\mu\text{mol/L}$]

Aire = 11,84 x [naringénine] – 1,4065

$R^2 = 0,9999$

Domaine d'étalonnage : [1-100 $\mu\text{mol/L}$]

Domaine d'étude : [30-77 $\mu\text{mol/L}$]

II.5. Acide 4-O-glucosyl-caféique

Droite d'étalonnage (à 280 nm) :

Sur [10-100 $\mu\text{mol/L}$]

Aire = 12,668 x [ac. 4-O-glucosyl-caféique] + 10,961

$R^2 = 0,9996$

Domaine d'étalonnage : [10-100 $\mu\text{mol/L}$]

Domaine d'étude : [18-92 $\mu\text{mol/L}$]

II.6. Acide 4-O-glucosyl-*p*-coumarique

Droite d'étalonnage (à 280 nm) :

1) sur [4,6-46 µmol/L]

Aire = 18,649 x [ac. 4-O-glucosyl-*p*-coumarique] - 4,2926

$R^2 = 0,9998$

2) sur [46-460 µmol/L]

Aire = 20,34 x [ac. 4-O-glucosyl-*p*-coumarique] - 70,944

$R^2 = 0,9993$

Domaine d'étalonnage : [4,6-460 µmol/L]

Domaine d'étude : [14-155 µmol/L]

II.7. Eriodictyolchalcone

Droite d'étalonnage (à 365 nm) :

Sur [2,2-22 µmol/L]

Aire = 11,152 x [ériodictyolchalcone] + 5,2238

$R^2 = 0,9939$

Domaine d'étalonnage : [2,2-22 µmol/L]

Domaine d'étude : [17-20 µmol/L]

III. Caroténoïdes

Des droites de calibration ont été mises en place pour l'analyse des caroténoïdes ((*E*)-lycopène et (*E*)- β -carotène) dans les produits à base de tomate. Elles n'ont été réalisées qu'une seule fois.

III.1. (*E*)-lycopène

Droite d'étalonnage (à 472 nm) :

1) Sur [0,4-13,7 $\mu\text{mol/L}$]

$$\text{Aire} = 683,44 \times [(\textit{E})\text{-lycopène}] + 89,922$$

$$R^2 = 0,9982$$

2) Sur [5-200 $\mu\text{mol/L}$]

$$\text{Aire} = 700,08 \times [(\textit{E})\text{-lycopène}] + 3694$$

$$R^2 = 0,9985$$

Domaine d'étalonnage : [0,4-200 $\mu\text{mol/L}$]

Domaine d'étude : [0,4-160 $\mu\text{mol/L}$]

III.2. (*E*)- β -carotène

Droite d'étalonnage (à 4520 nm) :

1) Sur [0-0,2 $\mu\text{mol/L}$]

$$\text{Aire} = 336,93 \times [(\textit{E})\text{-}\beta\text{-carotène}] + 6$$

$$R^2 = 0,9776$$

2) Sur [0,05-2,00 $\mu\text{mol/L}$]

$$\text{Aire} = 489,23 \times [(\textit{E})\text{-}\beta\text{-carotène}] + 4,0379$$

$$R^2 = 0,9993$$

3) Sur [1,0-20,5 $\mu\text{mol/L}$]

$$\text{Aire} = 580,61 \times [(\textit{E})\text{-}\beta\text{-carotène}] + 50,938$$

$$R^2 = 0,9994$$

Domaine d'étalonnage : [0-20,5 $\mu\text{mol/L}$]

Domaine d'étude : [0,2-3,5 $\mu\text{mol/L}$]

Chapitre III

*Etude de la stabilité de
microconstituants dans des
systèmes modèles mimant le
procédé industriel de
préparation de sauce tomate à
partir de concentré de tomate*

SOMMAIRE

I. INTRODUCTION	179
I.1. CARACTERISTIQUES PHYSICO-CHIMIQUES DE LA SAUCE TOMATE.....	180
I.2. ETUDES DE LA STABILITE DE MICROCONSTITUANTS DE LA TOMATE EN MILIEUX MODELES	181
I.2.1. Les caroténoïdes	181
I.2.2. Les composés phénoliques	183
I.2.3. L'acide ascorbique	184
I.2.4. L'α-tocophérol	186
I.2.5. Interactions entre différents microconstituants en milieux modèles	187
II. MATERIELS ET METHODES	189
II.1. MATERIELS	189
II.1.1. Produits chimiques.....	189
II.1.2. Equipements.....	193
II.2. METHODES.....	195
II.2.1. Purification de l'huile de tournesol.....	195
II.2.2. Préparation des systèmes modèles	196
II.2.3. Caractérisation des particules dans la sauce tomate et l'émulsion.....	197
II.2.4. Suivis cinétiques	199
III. MODELISATION D'UN PROCEDE DE TRANSFORMATION DE CONCENTRE EN SAUCE TOMATE	208
III.1. STRUCTURE DE LA SAUCE TOMATE	208
III.1.1. Etude en granulométrie laser	208
III.1.2. Etude en microscopie optique.....	209
III.2. CHOIX DES MARQUEURS DE LA QUALITE NUTRITIONNELLE DES PRODUITS A BASE DE TOMATE	211
III.3. LES MARQUEURS DE L'OXYDATION LIPIDIQUE	212
III.4. MISE EN PLACE DES SYSTEMES MODELES	212
III.4.1. Le système modèle émulsionné.....	212
III.4.2. Les systèmes modèles aqueux et lipidique	216
III.4.3. Quantités de marqueurs étudiés dans les systèmes modèles.....	216
III.5. DISPOSITIF EXPERIMENTAL MODELISANT LE PROCEDE DE TRANSFORMATION.....	219
IV. EVOLUTION DES MODELES ET DE LEURS CONSTITUANTS AU COURS DU TEMPS	222
IV.1. PRELIMINAIRES AUX SUIVIS CINETIQUES	222
IV.2. SUIVIS CINETIQUES.....	224
IV.2.1. Caractéristiques et stabilité des modèles	224
IV.2.2. Evolution des marqueurs	232
IV.2.3. Expériences complémentaires	255
IV.2.4. Produits de dégradation des marqueurs	266
V. CONCLUSION.....	279
RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	281
ANNEXES.....	285

I. Introduction

La stabilité des microconstituants végétaux a été étudiée dans des produits à base de tomate à de nombreuses reprises. Au cours de ces études, les produits étaient analysés soit en entrée et en sortie de process soit à chaque étape de la préparation. Des données sur la sensibilité des microconstituants et leur évolution au cours des traitements thermiques sont disponibles. Cependant, les réactions à l'origine de leur dégradation n'ont pas toutes été identifiées avec précision. De même, les paramètres relatifs à ces réactions sont mal connus (ordres des réactions, constantes cinétiques, etc).

Dans le cadre du projet REACTIAL, les travaux présentés dans ce chapitre consistent en l'étude de microconstituants de la tomate dans des systèmes chimiques modélisant le procédé de transformation du concentré en sauce tomate. Après la mise en place de ces systèmes modèles, les microconstituants choisis comme marqueurs de la qualité nutritionnelle des produits à base de tomate y seront étudiés. Leur stabilité sera évaluée dans le cadre de suivis cinétiques. Les néoformés seront identifiés et suivis, ce qui permettra d'élucider leurs mécanismes de formation. Ainsi, les réactions ayant lieu pendant la préparation de la sauce tomate seront mieux connues.

A terme, les cinétiques réactionnelles impliquées dans l'évolution des microconstituants de la tomate seront déterminées dans le but de mettre en place un modèle stoechio-cinétique. La modélisation des résultats obtenus en systèmes modèles sera traitée dans le chapitre IV de ce manuscrit.

I.1. Caractéristiques physico-chimiques de la sauce tomate

Au niveau structural, la sauce tomate est composée de particules solides dispersées dans une phase aqueuse. Une analyse granulométrique a révélé que ce produit serait constitué de deux types de particules: des granules d'amidon et des particules solides, respectivement de diamètres moyens 50 et 200 μm environ (1). Ces particules solides correspondraient aux résidus de cellules de tomates provenant du concentré. La sauce, préparée à partir d'huile végétale, pourrait également contenir des gouttelettes d'huile. Cependant, la littérature ne fait pas état de ces éléments.

Au niveau rhéologique, le comportement de la sauce tomate serait le même que celui du concentré de tomate et pourrait être assimilé à celui d'un gel faible. Ces produits présentent des propriétés viscoélastiques linéaires qui dépendent de leur teneur en solides insolubles et de la taille des particules qu'ils contiennent (1-2). La viscosité de la sauce augmente avec la teneur et la taille des particules. Les variétés de tomates et les températures appliquées (lors de la préparation du concentré et de la sauce) ont, elles aussi, une influence sur la structure de la sauce. En effet, l'action des enzymes pectinolytiques est directement liée aux conditions appliquées lors de la préparation du concentré (hot break ou cold break). Ainsi, un produit plus fluide sera obtenu lorsque les enzymes ne sont pas inactivées lors d'un procédé cold break. Par ailleurs, au cours de l'étape d'homogénéisation, la taille des particules est réduite, jouant ainsi sur les propriétés rhéologiques du produit (3).

Le pH des produits à base de tomate est acide, souvent proche de 4. Les données de la littérature donnent des valeurs de pH comprises entre 3,7 et 4,7 pour des sauces tomate du commerce (4-5).

I.2. Etudes de la stabilité de microconstituants de la tomate en milieux modèles

Des milieux modèles mimant le produit "sauce tomate" n'ayant jamais été mis en place d'après la littérature, le comportement des microconstituants de la tomate dans ce type de milieu n'a donc jamais été décrit. En revanche, ils ont été étudiés sous forme solide ou en solution, seuls ou en mélange. Leur suivi a permis d'en savoir plus sur leur comportement dans des conditions de température semblables à celles employées lors des traitements thermiques industriels.

I.2.1. Les caroténoïdes

La stabilité du (*E*)- β -carotène a été étudiée dans de la matière grasse d'origine végétale (oléine de palme et Végétaline[®]) à des températures comprises entre 120 et 180 °C et à l'abri de la lumière (6). La dégradation de ce composé a tendance à s'accélérer lorsque la température augmente. Parmi les composés néoformés, les isomères (9*Z*)- et (13*Z*)- β -carotène ont été observés et quantifiés. Il apparaît que l'ensemble des isomères E et Z se dégrade, probablement par des réactions d'oxydation et de coupure. Les tocots, présents principalement dans l'oléine de palme, semblent protéger efficacement de l'oxydation.

Ce composé a également été testé dans différents systèmes modèles contenant des lipides en présence de chlorophylle *a* (7). Les expériences ont été réalisées à l'abri de la lumière. Sa disparition est plus rapide à 120 qu'à 60 °C. La vitesse d'apparition des isomères (9*Z*)-, (15*Z*)- et (13*Z*,15*Z*)- β -carotène est également accélérée avec la température. Parmi les esters d'acides gras testés, la dégradation du (*E*)- β -carotène est plus importante en présence de stéarate de méthyle que d'oléate de méthyle et est plus importante en présence d'oléate de méthyle qu'en présence de linoléate de méthyle. La disparition plus lente en présence de linoléate de méthyle peut s'expliquer par le fait que ce dernier entrerait en compétition avec le β -carotène vis-à-vis de l'oxygène et des radicaux présents.

Le (*E*)- β -carotène et le (*E*)-lycopène ont été étudiés dans un système aqueux à faible température (30 °C) (8). Ces caroténoïdes, adsorbés sur une phase stationnaire, ont été exposés à un flux continu d'eau saturée en oxygène ou en azote. Environ 90 % du (*E*)-lycopène initial a disparu en 2 heures tandis que le (*E*)- β -carotène disparaît plus lentement. L'analyse des produits de dégradation du (*E*)- β -carotène révèle la présence de (13*Z*)- et (9*Z*)-

β -carotène, de 13-apo- β -carotène-13-one, de 14'-apo- β -carotène-14'-al et d'époxydes (le 5,8-époxy-5,8-dihydro- β,β -carotène et le 5,8-épi-dioxy-5,8-dihydro- β,β -carotène). La sensibilité des caroténoïdes à l'oxydation serait fonction du nombre de doubles liaisons conjuguées et de la présence de groupements fonctionnels. Ainsi, le lycopène capte efficacement les espèces oxygénées réactives grâce à ses 11 doubles liaisons conjuguées et l'absence de groupement fonctionnel sur cette molécule.

Le (*E*)- β -carotène et le (*E*)-lycopène ont été étudiés en milieux émulsionnés. Boon *et al.* (9) ont suivi la dégradation du lycopène dans des milieux constitués de 5 % d'huile dans un tampon à pH 7,0. Ceux-ci étaient stabilisés par du SDS (sodium dodecyl sulfate), du Brij 35 (polyoxyéthylène lauryl ether) ou du DTAB (dodecyltriméthylammonium bromide) et les milieux maintenus à 15°C à l'abri de la lumière. Différentes huiles ont été utilisées: huile de maïs brute, huile de maïs débarrassée de son tocophérol et hexadécane. Les teneurs en lycopène diminuent dans tous les milieux testés. La vitesse d'oxydation est influencée par le surfactant et le type d'huile utilisé, c'est en présence d'une huile débarrassée de son tocophérol, dans un milieu stabilisé par le surfactant négativement chargé (SDS), que la disparition de ce composé est la plus rapide.

Yuan *et al.* (10) se sont intéressés à l'évolution du β -carotène dans des nanoémulsions stabilisées par du Tween 20 (monolaurate de polyéthoxysorbitane), du Tween 40 (monomyristate de polyéthoxysorbitane), du Tween 60 (monostéarate de polyéthoxysorbitane) ou du Tween 80 (monooléate de polyéthoxysorbitane). La matière grasse utilisée est de l'huile contenant des acides gras estérifiés à courtes chaînes (6 à 12 carbones). Les milieux ont été maintenus à 4 ou à 25 °C durant 4 semaines. Le β -carotène se dégrade dans tous les milieux étudiés. En quatre semaines, 14 à 25 % de la teneur initiale ont disparu. Les pertes sont légèrement plus importantes à 25 qu'à 4 °C. Les produits de dégradation n'ayant pas été identifiés, il n'est donc pas possible de déterminer les types de réaction ayant mené à sa dégradation (oxydation ou isomérisation).

Parmi les caroténoïdes de la tomate, le lycopène a finalement été peu étudié en milieux modèles. Ceci est certainement lié aux difficultés relatives à la manipulation de ce composé. En revanche, les études sur la stabilité du (*E*)- β -carotène sont plus courantes. Globalement, elles révèlent que ce composé s'isomérisé plus ou moins facilement selon le solvant dans lequel il est présent (7, 11-12). Les isomères les plus fréquemment retrouvés sont le (9Z)- et le

(13Z)- β -carotène (6-7, 12-13). La stabilité du (*E*)- β -carotène est par ailleurs influencée par les températures, durées de chauffage et teneurs en oxygène dans le milieu (11).

I.2.2. Les composés phénoliques

Les études sur les composés phénoliques en milieux modèles concernent essentiellement la détermination de leur capacité antioxydante. Leur évolution a rarement été étudiée et leurs produits de dégradation sont encore mal connus. Seuls quelques articles présentent le suivi de certains composés phénoliques dans des milieux modèles.

Buchner *et al.* (14) ont étudié l'évolution de la quercétine et de la rutine en milieux aqueux, dans des conditions semblables à celles employées lors de la cuisson d'aliments. Les composés étaient dans des solutions à pH 5 ou 8, et la température appliquée était de 100 °C. La présence d'oxygène était également un paramètre étudié. Une dégradation relativement rapide a lieu à pH 5 et en présence d'oxygène, alors qu'à pH 8 les composés étudiés sont assez stables. Les espèces oxygénées réactives formées à partir de l'oxygène dissous sont captées par les flavonols, entraînant ainsi leur oxydation. Par ailleurs, la rutine se montre plus résistante à l'oxydation que la quercétine. Ceci s'explique par la présence d'un sucre à la place du groupement -OH en position 3 sur le cycle C. Des produits d'oxydation ont été identifiés, comme par exemple l'acide protocatéchique qui est majoritaire.

Makris et Rossiter (15) ont étudié les mêmes composés à pH 8 et à 97 °C, et observé les mêmes phénomènes. Par ailleurs, l'impact de la présence de métaux de transition (Fe^{2+} et Cu^{2+}) a été étudié. Elle accélère grandement l'oxydation des flavonols, et de façon plus marquée pour la quercétine que pour la rutine. Cette dernière pourrait chélater les métaux plus efficacement que la quercétine, prévenant ainsi son oxydation.

Les composés phénoliques ont plutôt été étudiés en milieux modèles émulsionnés. Toutefois, les auteurs ne se sont intéressés qu'à leurs propriétés antioxydantes. L'évolution de leurs teneurs dans ces milieux modèles n'a pas été suivie. Huber *et al.* (16) ont évalué l'oxydation lipidique dans un milieu émulsionné à pH 7 constitué d'huile de poisson, de linoléate de méthyle ou d'acide docosahexanoïque et chauffé à 50 °C. Ils ont observé qu'en présence de quercétine et de quercétine-3-glucoside cette oxydation est ralentie.

Au cours d'une autre étude, la naringénine, la rutine et les acides caféique et *p*-coumarique ont été solubilisés dans des milieux émulsionnés à 10 % d'huile (17). Les milieux sont maintenus à 20°C pendant plusieurs jours. L'utilisation d'émulsifiants de nature différente (Tween 80 ou

Citrem) dans des conditions de pH variables (pH 3 ou 6) semblent impacter directement les capacités antioxydantes des polyphénols testés. A pH 3 l'acide caféique apparaît comme un pro-oxydant efficace capable de réduire le Fe^{3+} en Fe^{2+} alors qu'à pH 6, c'est un inhibiteur de l'oxydation lipidique. A ce pH, les composés phénoliques formeraient des complexes avec le métal à l'origine de cet effet antioxydant observé.

L'activité antioxydante d'acides hydroxycinnamiques (acides caféique, férulique et *p*-coumarique) a été évaluée dans un système modèle composé d'une dispersion d'acide gras polyinsaturés d'origine marine sous forme de liposomes. L'oxydation lipidique était induite par du fer ou de l'hémoglobine. Les résultats montrent que le pouvoir antioxydant des acides dépend de l'initiateur utilisé. Par exemple, l'acide caféique inhibe efficacement l'oxydation lipidique en présence d'hémoglobine alors qu'il devient pro-oxydant en présence de fer libre à pH 3 et 5,5 (18).

Les composés phénoliques n'ont finalement jamais été étudiés dans des milieux modèles proches de la sauce tomate (pH acide, température de l'ordre de 60 à 100 °C et en présence d'huile d'origine végétale). Par ailleurs, de nombreux facteurs semblent influencer la stabilité des composés phénoliques de la tomate et leur capacité antioxydante.

I.2.3. L'acide ascorbique

Le comportement de l'acide ascorbique en milieux modèles est mieux connu que celui des composés phénoliques et des caroténoïdes.

Ce composé hydrosoluble a été étudié dans un milieu aqueux chauffé à 100 °C pendant deux heures (19). Différents pH ont été testés (1, 2, 3, 4, 5, 7, 9 et 10) afin de déterminer les voies de dégradation de l'acide ascorbique influencées par ce paramètre. Il apparaît qu'à pH acide et en présence d'oxygène cet acide est converti en acide 2-furoïque et 3-hydroxy-pyrone par l'intermédiaire de l'acide déhydroascorbique (voir Figure III-1). Une autre voie n'impliquant pas l'oxygène est possible: la dégradation de l'acide ascorbique en furfural. Celle-ci semble favorisée en conditions très acides (pH 1). Certaines conditions appliquées lors de cette étude (pH 3-5) pourraient se rapprocher d'un milieu modèle de sauce tomate très simplifié.

Au cours d'une autre étude, le milieu modèle aqueux acide (pH 3,5) contenant de l'acide ascorbique a été complexifié: des électrolytes (NaCl et KCl) et des sucres ont été ajoutés (fructose, xylitol et un mélange glucose/mannitol) (20). Le milieu a été porté à plusieurs températures (24, 33, 45, 70, 80 et 90 °C). La présence des sucres et des électrolytes

accélérerait la dégradation de l'acide ascorbique. Par ailleurs, un brunissement non enzymatique, impliquant les sucres réducteurs se développe lorsque les températures sont supérieures ou égales à 45 °C. L'acide ascorbique peut intervenir en tant que substrat de ces réactions.

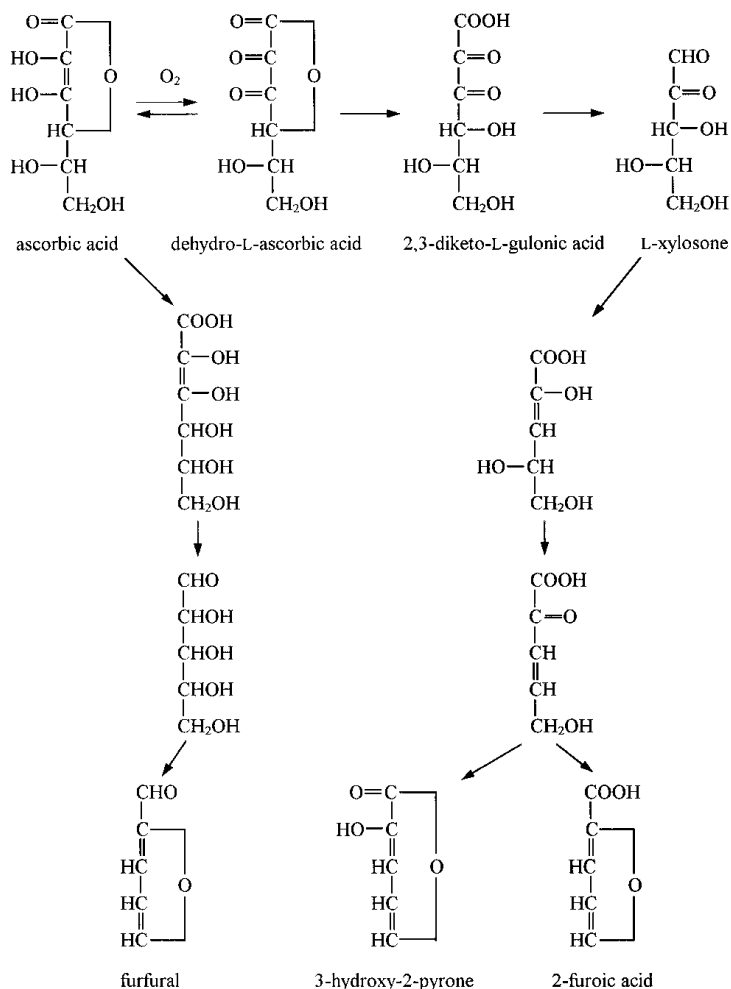


Figure III-1. Voies de dégradation possibles de l'acide ascorbique en milieu aqueux. Par Yuan et Chen, 1998 (19).

L'acide ascorbique a aussi été étudié en milieux émulsionnés. Gallarate *et al.* (21) ont mis en place des émulsions de type H/E (huile dans eau), E/H (eau dans huile) et E/H/E (eau dans huile dans eau) et y ont suivi la stabilité de l'acide ascorbique à 45 °C. Après comparaison avec les résultats obtenus en milieux aqueux, il apparaît que la structure des émulsions permettrait de protéger ce composé. Selon les auteurs, l'interface des émulsions E/H pourrait jouer un rôle de barrière physique limitant la diffusion de l'oxygène de l'huile vers la phase aqueuse. Dans les émulsions H/E, la dégradation de l'acide ascorbique est plus rapide à pH 7

qu'à pH 5. D'autre part, cette dégradation est plus lente dans ces émulsions qu'en milieu aqueux aux mêmes pH. Le pH est donc un paramètre influençant grandement la vitesse de disparition de l'acide ascorbique; la stabilité de ce composé diminue lorsque le pH augmente.

D'autres auteurs ont mis en place des milieux modèles de structure proche de produits alimentaires. Wegrzyn *et al.* (22) ont étudié le comportement de l'acide ascorbique dans des systèmes modèles constitués de lait et contenant des polyphénols de la pomme à différentes concentrations. Ce milieu était d'abord chauffé 5 minutes à 120 °C puis stocké à 20 ou 38 °C. La teneur en acide ascorbique a été suivie au cours de ce stockage. Les résultats montrent que sa disparition s'accélère avec la température. Par ailleurs, la présence des polyphénols, même en forte concentration (2 g/L) ne semble pas protéger l'acide ascorbique de l'oxydation dans ce milieu modèle.

Owczarek-Fentor *et al.* (23) ont étudié l'apparition de furane formé à partir de vitamine C dans un système modèle à base d'amidon de maïs modifié mimant un aliment pour bébé. Le traitement thermique du produit consistait en un chauffage de 20 minutes à 120 °C. Selon les résultats, il apparaît que la présence d'amidon accroît considérablement la quantité de furane produit dans le milieu. En revanche l'ajout de métaux de transition (Fe^{2+} , Fe^{3+} , Cu^{2+}) n'a pas d'impact sur la quantité d'acide ascorbique dégradé.

La disparition de l'acide ascorbique semble être influencée par de nombreux paramètres relatifs à la structure et la composition du milieu modèle. Il est alors difficile de prévoir le comportement de ce composé dans un milieu modèle mimant la sauce tomate, celui-ci pouvant être assez complexe.

I.2.4. L' α -tocophérol

Cet antioxydant lipophile a été étudié dans des huiles d'origine végétale. Soumis à des températures de 50 ou 90 °C, ce composé se dégrade plus rapidement à forte température (24-25). Il protège efficacement les lipides de l'oxydation en jouant son rôle d'antioxydant briseur de chaîne. Les produits issus de sa dégradation ont été identifiés dans de l'huile de germe de maïs chauffé plusieurs heures à 90 °C (24). Il s'agit de l' α -tocophérolquinone, de l' α -tocophérolquinone-2,3-époxyde et de l' α -tocophérolquinone-5,6-époxyde.

L' α -tocophérol a également été étudié en émulsion. Nogala-Kalucka *et al.* (26) ont mis en place des émulsions préparées à partir d'acide linoléique et d'acide linoléique. A 60 °C et en

présence de lipoxygénase, ils ont observé un effet fortement inhibiteur de l' α -tocophérol vis-à-vis de l'oxydation lipidique.

Selon Frankel (27) le pouvoir antioxydant du tocophérol serait meilleur en émulsion que dans l'huile. En émulsion, ce pouvoir antioxydant est grandement influencé par des phénomènes interfaciaux complexes. D'autre part la teneur en tocophérol joue sur l'oxydation lipidique. Dans certains cas, ce composé peut devenir pro-oxydant. Notamment lorsqu'il est présent dans l'huile d'olive en concentration supérieure à 250 $\mu\text{g/g}$.

Le pouvoir antioxydant de l' α -tocophérol a ainsi été étudié à plusieurs reprises. En revanche, sa stabilité en milieu émulsionné n'est pas connue puisque sa disparition dans ce type de système modèle n'est pas relatée dans la littérature.

I.2.5. Interactions entre différents microconstituants en milieux modèles

Les caroténoïdes peuvent interagir avec la vitamine C et l' α -tocophérol (28-30). Ils pourraient protéger ou être protégés par le tocophérol. Quant à la vitamine C, elle pourrait réduire les radicaux cations de caroténoïdes en caroténoïdes.

Ces interactions ont été observées en milieux modèles émulsionnés. Dans une émulsion H/E préparée à partir de Tween 20 et d'huile de tournesol, chauffée à 60 °C pendant 4 heures, la présence de tocophérol augmente significativement le pouvoir antioxydant de la lutéine et du β -carotène (31). Dans ce même milieu contenant des caroténoïdes, l'ajout d'acide ascorbique améliore également leur pouvoir antioxydant mais de façon non significative.

Les composés phénoliques sont impliqués dans des mécanismes de synergie avec l' α -tocophérol. Des polyphénols du thé ont été mis en présence d' α -tocophérol dans une solution contenant de l'acide linoléique (32). Ces solutions micellaires ont été préparées à partir de Tween 20 (monolaurate de polyéthoxysorbitane), de Tween 40 (monomyristate de polyéthoxysorbitane), de Tween 60 (monostéarate de polyéthoxysorbitane) ou de Tween 80 (monooléate de polyéthoxysorbitane) en présence d'huile contenant des acides gras estérifiés à courtes chaînes. Dans ce milieu, la peroxydation lipidique a été amorcée par de l'AAPH (2,2'-azo(2-amidinopropane)dihydrochloride). La présence d' α -tocophérol, en plus des polyphénols, montre un effet antioxydant fortement accentué. Ces deux types de composés agissant en synergie. Zhou *et al.* (33) ont observé le même phénomène en milieu micellaire préparé à partir de SDS (Sodium Dodecyl Sulfate). Les polyphénols du thé agiraient en réduisant les radicaux α -tocophéroxyles en α -tocophérol.

Enfin, il existerait un effet protecteur de la vitamine C vis-à-vis du tocophérol. La vitamine E, en agissant comme briseur de chaîne, est oxydé en radical α -tocophéroxyle. Ces radicaux sont ensuite régénérés par la vitamine C. Ceci a été observé dans une solution contenant du linoléate de méthyle et portée à 37 et 50 °C (34).

Toutes ces interactions pourraient être observées dans un milieu modèle modélisant la sauce tomate et contenant ces différents microconstituants.

II. Matériels et méthodes

II.1. Matériels

II.1.1. Produits chimiques

II.1.1.1. Produits nécessaires à la préparation des systèmes modèles

- **Modèle lipidique**

Le modèle lipidique est préparé à partir d'huile de tournesol provenant du commerce (Carrefour) et de phospholipides de soja (L- α -phosphatidylcholine, pureté = 40 %) provenant de chez Fluka (St Louis, MO, USA).

L'huile a été analysée en CPG-SM (chromatographie phase gaz couplée à la spectrométrie de masse) par Christian Giniès au sein de l'unité SQPOV de l'Inra d'Avignon. La composition en acides gras est présentée dans le Tableau III-1.

Tableau III-1. Composition de l'huile de tournesol utilisée pour la préparation du milieu lipidique

Acides gras	% des acides gras totaux
C14:0	0,05
C16:0	5,96
C16:1	0,06
C17:0	0,04
C18:0	3,82
C18:1	30,13
C18:2	59,44
C20:0	0,12
C20:1	0,07
C22:0	0,31

D'après les indications données par le fournisseur, cette huile a une teneur garantie en vitamine E (50 mg pour 100 g d'huile). Une analyse en CLHP-fluo (chromatographie liquide haute performance couplée à un détecteur fluorimétrique) a permis de détecter l' α -tocophérol et des traces de γ - et de δ -tocophérol. La teneur en α -tocophérol mesurée est de 51 mg pour 100 mL soit 55,68 mg/100g.

Au début de ces travaux, plusieurs bouteilles d'huile de tournesol, provenant d'un même lot, ont été achetées. L'huile a été aliquotée en fractions d'environ 45 g et conservée sous N₂ à -20 °C.

Une partie de l'huile est purifiée par chromatographie d'adsorption sur alumine neutre (Aluminium oxyde 90 activé neutre, Merck, Darmstadt, Allemagne) pour la débarrasser de sa vitamine E. Le protocole de purification est présenté dans la partie « II.2. Méthodes ».

Les phospholipides de soja ont également été analysés. La pureté du produit donné par le fournisseur est de 40 %, nous avons donc cherché à identifier les autres composés présents dans ce produit. Une analyse par CLHP en phase normale, couplée à un détecteur évaporatif à diffusion de lumière (DDL Sédex 55) a été réalisée par Michèle Viau au sein de l'unité BIA de l'INRA de Nantes. Le chromatogramme obtenu est présenté sur la Figure III-2.

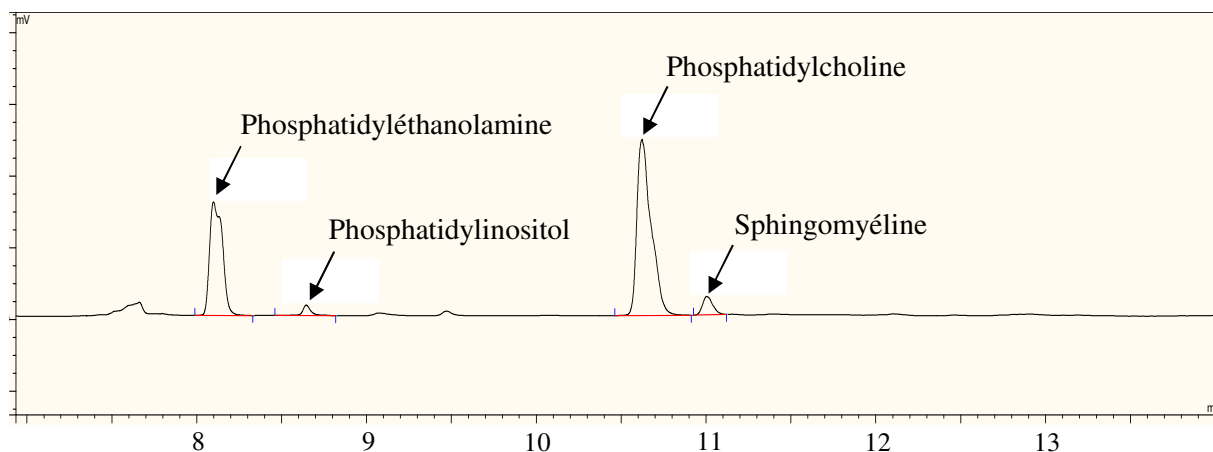


Figure III-2. Chromatogramme CLHP de la L- α -phosphatidylcholine (Sigma, 40 %)

Ce chromatogramme révèle deux pics majoritaires, correspondant à de la phosphatidyléthanolamine et de la phosphatidylcholine. Celles-ci représenteraient respectivement 30,8 et 53,3 % des phospholipides totaux. La phosphatidylinositol et la

sphingomyéline ont également été détectées. Elles sont présentes dans de faibles proportions: respectivement 3,5 et 12,4 % des phospholipides totaux. La L- α -phosphatidylcholine utilisée est donc constituée d'un mélange de phospholipides, portant une ou deux chaînes d'acide gras. Cette analyse n'a pas révélé la présence de triglycérides libres ni d'acides gras libres dans l'échantillon de phospholipides.

L'analyse des acides gras présents dans ce produit a été réalisée. Cette analyse a été effectuée en CPG-SM par Christian Giniès au sein de l'unité SQPOV de l'INRA d'Avignon. La composition de la L- α -phosphatidylcholine commerciale en acides gras est présentée dans le Tableau III-2.

Tableau III-2. Composition en acides gras de la L- α -phosphatidylcholine de soja (Sigma, 40 %)

Acides gras	% des acides gras totaux
C16:0	17,41
C18:0	4,29
C18:1	12,97
C18:2	58,31
C18:3	7,03

La majorité des chaînes d'acides gras portées par les phospholipides sont des chaînes d'acide linoléique (C18:2). Ces chaînes d'acides gras sont également majoritairement présentes dans l'huile utilisée (voir Tableau III-1).

○ **Modèle aqueux**

Le milieu aqueux est préparé à partir d'un tampon acétate de sodium au pH 3,8 à 5 mM préparé à partir d'acide acétique (C₂H₄O₂, 100 %, Prolabo, Fontenay sous Bois, France) et d'acétate de sodium (CH₃CO₂Na-3H₂O, 99 %, Merck, Darmstadt, Allemagne). Ce tampon a été préparé avec de l'eau de qualité milliQ. Le pH a été ajusté à l'aide d'un pH-mètre électronique MetrOhm 744, préalablement étalonné avec des solutions tampons du commerce (pH 4 et pH 7).

Ce milieu contient également 0,3 mg d'amidon modifié de type Resistamyl 347 (Adipate de di-amidon acétylé E1422, non gélifié, Tate & Lyle, London, UK) fourni par le CTCPA d'Avignon.

○ **Emulsion**

Une émulsion huile dans eau (H/E) a été choisie pour modéliser le produit sauce tomate. La phase aqueuse est constituée d'un tampon au pH 3,8 (5 mM) et d'amidon modifié comme pour le modèle aqueux. La phase lipidique est de l'huile de tournesol. L'huile utilisée est la même que pour la préparation du modèle lipidique. L'émulsifiant choisi pour la préparation de l'émulsion est la L- α -phosphatidylcholine de soja (même produit que celui entrant dans la composition du modèle lipidique).

II.1.1.2. Antioxydants

○ **Antioxydants testés dans les milieux modèles**

L'acide chlorogénique (PM = 354,32 g.mol⁻¹, 95 %), la rutine (monohydrate, PM = 610,53 g.mol⁻¹, 95 %), l'acide L-ascorbique (PM = 176,12 g.mol⁻¹, 99 %) et le (*E*)- β -carotène (PM = 536,89 g.mol⁻¹, 95 %), proviennent de chez Sigma-Aldrich (St Louis, MO, USA). La prunine (PM = 434,40 g.mol⁻¹, 94 %) provient de chez Extrasynthèse (Genay, France). Le (*E*)-lycopène a été extrait à partir d'oléorésine de tomate par Yann Leblanc en 2007 dans l'Equipe Chimie des Antioxydants de l'UMR SQPOV de l'INRA d'Avignon.

○ **Antioxydants utilisés comme témoins**

L' α -tocophérol (PM = 430,72 g.mol⁻¹, 96 %) et l'acide déhydroascorbique (PM = 174,11, 90 %) proviennent de chez Sigma-Aldrich (St Louis, MO, USA) et le (*E*)- β -carotène (PM = 536,89 g.mol⁻¹, 97 %) provient de chez Fluka (St Louis, MO, USA). Le (5*Z*)-lycopène et le (13*Z*)-lycopène ont été fournis par Kati Fröhlich et Volker Böhm de l'Université Friedrich Schiller de Jena (Allemagne). Le (*E*)-lycopène, a été synthétisé par Eric Reynaud au sein de l'Equipe Chimie des Antioxydants de l'UMR SQPOV de l'INRA d'Avignon. Les standards d'acide chlorogénique, de rutine, d'acide L-ascorbique et de prunine sont les mêmes que ceux testés dans les milieux modèles et présentés dans le paragraphe précédent.

II.1.1.3. Autres

Tous les solvants sont de qualité analytique (>99,4 %). L'isopropanol ((CH₃)₂CHOH), le *n*-pentane (CH₃(CH₂)₃CH₃), l'acétonitrile (CH₃CN), le méthanol (CH₃OH), l'éther de pétrole, l'éthanol (C₂H₅OH) et l'éther tert-butylméthylique ((CH₃)₃COCH₃) proviennent de chez Fisher Scientific (Illkirch, France). L'acétone (CH₃COCH₃) provient de Prolabo (Leuven, Belgique). L'acide formique (98-100 %) provient de chez Merck (Darmstadt, Allemagne). L'acide orthophosphorique (85 %) et l'acide acétique (100%) proviennent de Prolabo (Leuven, Belgique). Le formiate d'ammonium (NH₄COOH, 99,995 %) et le chlorure de sodium (NaCl, 99,5 %) proviennent de chez Sigma Aldrich (St Louis, MO, USA). Le sulfate de sodium anhydre, Na₂SO₄ (99 %) provient de chez Fluka (St Louis, MO, USA). L'acétate de sodium trihydraté (NaOOCCH₃, 3H₂O) a été fourni par Prolabo (Leuven, Belgique). L'eau de qualité milliQ a été obtenue à l'aide d'un système Millipore[®] QPak 2 (Millipore Corporation, Bedford, USA).

La trilinoléine utilisée comme étalon (PM = 878,7 g.mol⁻¹, 95 %) provient de chez Sigma Aldrich (St Louis, MO, USA).

Le nitrate de fer (III) nonahydrate (Fe(NO₃)₃, 9H₂O, PM = 404,0 g.mol⁻¹), le BHT (Butylated HydroxyToluène, C₁₅H₂₄O, PM = 220,4 g.mol⁻¹) et le xylénol orange (sel tétrasodium, C₃₁H₂₈N₂Na₄O₁₃S, PM = 760,58 g.mol⁻¹) ont été fournis par Sigma-Aldrich (St Louis, MO, USA). Le sulfate d'ammonium ferreux hexahydrate ((NH₄)₂Fe(SO₄)₂, 6H₂O, PM = 392,14 g.mol⁻¹, 99 %) provient de chez Merck (Darmstadt, Allemagne) et le peroxyde d'hydrogène (H₂O₂, PM = 34,01 g.mol⁻¹, >60 % en poids) de chez Fisher Scientific (Illkirch, France).

II.1.2. Equipements

II.1.2.1 Dispositif expérimental mis en place pour modéliser l'étape unitaire du procédé de transformation

L'agitateur magnétique chauffant utilisé pour la préparation de l'émulsion (Radleys RR98072) est également utilisé pour réaliser le chauffage des milieux modèles. Il est relié à une sonde de température Pt1000 de marque Radleys et de type RR98073.

II.1.2.2. Mesure de la teneur en oxygène dans les milieux modèles

La pression partielle en oxygène dans les milieux aqueux été déterminée grâce à une sonde optique à oxygène (micro-sensor, Presens, Neuburg, Allemagne). Cette sonde est de type "Needle-type oxygen microsensors". Il s'agit d'une fibre optique de diamètre 140 µm incluse dans une seringue afin qu'elle soit protégée. Lors des mesures, l'extrémité de cette sonde doit être sortie (quelques mm sont alors en contact avec le milieu). Cette sonde est reliée à une base de type MicroX TX3 (Presens) qui donne la valeur de la teneur en oxygène dans le milieu à partir du signal luminescent capté par la sonde. Cette sonde fonctionne sur une plage de température allant de 0 à 50 °C.

II.2. Méthodes

II.2.1. Purification de l'huile de tournesol

L'huile de tournesol utilisée contient naturellement de la vitamine E. Or, pour certaines expériences, elle doit en être dépourvue. Une partie de l'huile est alors purifiée afin d'éliminer toute trace de tocophérol.

La purification s'effectue par chromatographie d'adsorption sur alumine neutre par une méthode adaptée du protocole de Hamilton *et al.* (35). L'huile brute (75 g) est dissoute dans 50 mL de pentane puis transférée dans une colonne en verre contenant 150 g d'alumine neutre imprégnée de pentane. L'élution s'effectue avec environ 400 mL de pentane. Les échantillons sont collectés dans des tubes en verre puis bouchés une fois remplis.

Les fractions sont diluées dans de l'isopropanol puis analysées en CLHP-UV. L'appareil utilisé est un chromatographe HP 1100 de Hewlett Packard couplé à un détecteur à barrettes de diodes (190-950 nm) et la colonne est de type Alltima silice greffée C18 (5 μ m, 150 mm x 4,6 mm) munie d'une colonne de garde. Celle-ci est placée dans un compartiment thermostaté à 30 °C et munie d'une colonne de garde (7,5 mm x 4,6 mm).

La phase mobile est constituée d'un gradient d'acétonitrile (CH₃CN) et d'isopropanol (iPrOH) décrit dans le Tableau III-3. Le débit est de 1 mL.min⁻¹.

Tableau III-3. Gradient d'élution utilisé pour vérifier l'absence de tocophérol dans l'huile

Temps (minutes)	CH ₃ CN (%)	iPrOH (%)
0	100	0
20	20	80
25	20	80

L'absence de tocophérol est confirmée par comparaison avec un standard injecté dans les mêmes conditions.

Les fractions contenant des triglycérides sont regroupées dans un ballon préalablement taré. Le solvant est éliminé par évaporation rotative sous vide à température ambiante pendant

plusieurs heures, jusqu'à ce que le point du ballon soit stable. L'huile purifiée est conditionnée en petits aliquots (environ 12 g) et conservée sous azote, à -20 °C.

II.2.2. Préparation des systèmes modèles

II.2.2.1. Préparation du milieu lipidique

Dans un tricol de 50 mL, 9,25 g d'huile sont mélangés à 0,26 g de phospholipides (PL) de soja.

Pour préparer un milieu contenant les caroténoïdes, les quantités souhaitées de (*E*)-lycopène et de (*E*)- β -carotène sont diluées dans du dichlorométhane (CH_2Cl_2). Ce solvant est mélangé à l'huile et aux PL puis évaporé sous vide grâce à un évaporateur rotatif. Les caroténoïdes sont ainsi solubilisés dans le milieu lipidique.

II.2.2.2. Préparation du milieu aqueux

Dans un tricol de 50 mL, 0,3 g d'amidon est dilué dans 30 mL de tampon acétate (5 mM, pH 3,8). Les composés phénoliques en solution dans du méthanol et l'acide ascorbique en solution dans du tampon, sont ensuite ajoutés au milieu aqueux. Le volume de tampon contenant l'acide ascorbique et/ou de méthanol contenant les composés phénoliques doit être pris en compte afin que le volume final du milieu soit de 30 mL.

II.2.2.3. Préparation de l'émulsion

L'émulsion est préparée dans un tricol de 50 mL et les différents ingrédients sont ajoutés dans cet ordre:

- 0,6 g d'huile de tournesol
- 0,1875 g de PL
- 30 mL de tampon acétate (5 mM, pH 3,8)
- 0,3 g d'amidon

Les caroténoïdes sont solubilisés dans du CH_2Cl_2 puis cette solution est ajoutée dans le tricol contenant uniquement l'huile et les PL. Le CH_2Cl_2 est ensuite évaporé à l'évaporateur rotatif puis le tampon et l'amidon sont ajoutés. L'émulsion est préparée en deux étapes. Dans un

premier temps, le mélange subit une agitation magnétique (5 minutes à 1200 tr.min⁻¹) permettant d'obtenir une pré-émulsion. L'agitateur magnétique utilisé est de marque Radleys et de type RR98072 (Essex, UK). Il est muni d'un bloc en aluminium intégrant deux ballons de 50 mL à mi-corps. Dans une seconde étape, le mélange est finement émulsifié aux ultrasons. Ce traitement aux ultrasons consiste en 6 cycles de 30 s intercalés par des pauses de 30 s au cours desquelles le ballon est placé dans de la glace afin d'éviter l'échauffement. Le sonificateur utilisé est de type Bioblock Vibracel (75022, 20 kHz, 130 W) et est équipé d'une sonde à ultrasons de diamètre 6 mm.

L'ajout des composés hydrophiles se fait après la préparation de l'émulsion. Comme pour le milieu aqueux, le volume de méthanol et de tampon contenant les composés à ajouter doit être pris en compte afin d'avoir un volume final de tampon + méthanol égal à 30 mL.

Pour l'expérience en présence de fer III, environ 0,2 g de nitrate de fer est dilué dans 25 mL de tampon acétate (pH 3,8). Environ 210 µL de cette solution sont ajoutés au milieu émulsionné au temps t₀ de la cinétique de façon à avoir une teneur en fer III dans le milieu égale à 135 µmol.L⁻¹.

II.2.3. Caractérisation des particules dans la sauce tomate et l'émulsion

II.2.3.1. En granulométrie laser

○ Objectifs et principes

La granulométrie a pour objet la détermination de la distribution de la taille de particules de natures diverses présentes dans des matériaux comme des poudres, des suspensions ou des émulsions. Cette technique est basée sur l'analyse des spectres de diffraction et de diffusion de particules lors de leur excitation par un laser (Figure III-3). Elle s'appuie sur les théories de Fraunhofer et de Mie selon la taille et la nature des particules étudiées.

Selon Fraunhofer, l'intensité du rayonnement diffracté et l'angle de diffraction sont fonction de la taille des particules. Cette théorie s'applique à des particules sphériques, non poreuses, opaques et d'un diamètre supérieur à la longueur d'onde de la lumière incidente. Pour des particules de diamètre inférieur à 1 µm, il faut utiliser la théorie de Mie. Pour de telles particules, la lumière est diffractée mais aussi réfléchi et diffusée. Pour appliquer la théorie

de Mie, il faut alors connaître les indices de réfraction des particules analysées et du milieu dispersant.

En pratique, l'analyse est faite sur l'ensemble des particules circulant devant le faisceau laser. Un traitement mathématique complexe donne le diamètre moyen et la distribution de taille des particules selon une distribution en nombre, en surface ou en volume. Le $d[4,3]$ correspond au diamètre de volume, c'est-à-dire au diamètre moyen d'une sphère qui aurait le même volume que les particules. Le $d[3,2]$ est le diamètre de surface, correspondant au diamètre moyen d'une sphère ayant la même surface que les particules.

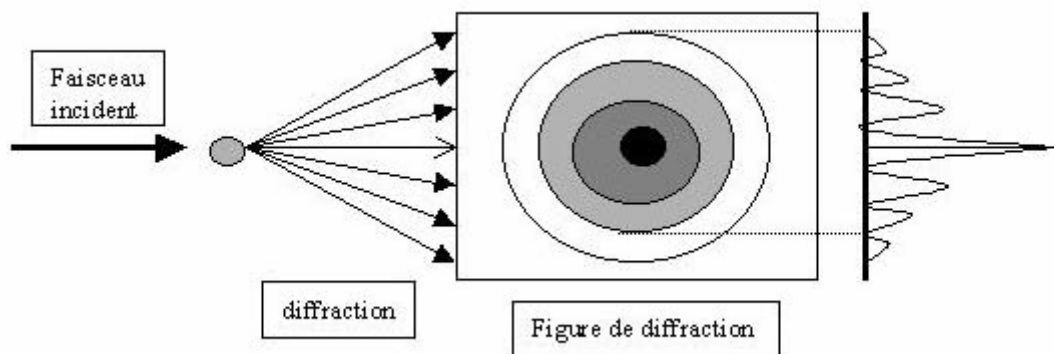


Figure III-3. Schéma de principe de la granulométrie laser. La mesure est basée sur l'analyse des spectres de diffraction et de diffusion de gouttelettes d'huile placées dans la lumière émise par un laser. Le rayon des particules que l'on cherche à caractériser est fonction de l'angle de diffraction.

○ Appareillage

L'appareil utilisé est un granulomètre laser Mastersizer 2000 (Malvern Instruments, Orsay, France) en mode liquide équipé d'un échantillonneur permettant l'ajout du dispersant (eau distillée). Pour chaque échantillon analysé, une goutte de sauce ou trois gouttes d'émulsion sont dispersées dans l'eau distillée et analysée à trois reprises par l'appareil. L'analyse des tailles de particules de l'émulsion se fait selon la théorie de Mie. Les indices de réfraction utilisés sont de 1,475 pour l'huile de tournesol et 1,333 pour l'eau. Pour l'analyse de la sauce tomate, la théorie de Fraunhofer est utilisée.

II.2.3.2. En microscopie optique

L'analyse des particules de la sauce tomate en microscopie optique a été réalisée grâce à un microscope Olympus BX50 équipé d'une réglette graduée dans l'un des deux oculaires et d'un appareil photo numérique. Une goutte d'échantillon est observée entre lame et lamelle après avoir déposé une goutte d'huile sur la lamelle. Les observations se font aux grossissements x100 et x1000.

Cette technique permet d'avoir un aperçu visuel de la structure des particules et une estimation de leur taille. Elle complète les analyses en granulométrie laser qui donnent des valeurs précises sur la taille de l'ensemble des particules mais ne permettent pas de connaître la forme ni la nature de ces différentes particules (granules d'amidon, gouttelettes lipidiques, etc).

II.2.4. Suivis cinétiques

Pour toutes les cinétiques, exceptée l'expérience où le fer est ajouté, les prélèvements sont effectués aux temps t0, t2h, t4h, t6h et t8h (le premier jour) puis t22h, t24h, t26h, t28h et t30h (le deuxième jour). L'acide ascorbique se dégradant rapidement, les prélèvements destinés à l'analyse de ce composé se feront à intervalles plus rapprochés.

Pour l'expérience réalisée en présence de fer, les prélèvements se font toutes les heures pendant 8 heures.

II.2.4.1. Suivi de l'apparition des diènes conjugués

- **en milieu lipidique**

Un volume de 40 μL est prélevé puis dilué dans 1,96 mL d'isopropanol (dilution au 1/50). Après centrifugation ($5600 \text{ tr}\cdot\text{min}^{-1}$, 4 minutes, 4 °C), 200 μL de surnageant sont ajoutés à 1,8 mL d'isopropanol directement dans la cuve en quartz (dilution au 1/10). Le spectre UV du mélange est acquis et l'absorbance relevée à 234 nm. Au cours des expériences, la dilution peut être modifiée, allant jusqu'à 10 μL de surnageant dilué dans 1,99 mL d'isopropanol, afin d'obtenir des valeurs d'absorbance à 234 nm inférieures à 2 (valeur limite de linéarité pour l'application de la loi de Beer-Lambert).

La teneur en diènes conjugués dans le milieu est obtenue en utilisant le coefficient d'extinction molaire des hydroperoxydes de l'acide linoléique dans l'isopropanol ($\epsilon = 27000 \text{ L.mol}^{-1}.\text{cm}^{-1}$) et en corrigeant par la dilution totale effectuée (1/500 à 1/10000).

L'appareil utilisé pour les mesures d'absorbance est un spectrophotomètre à barrettes de diode de type Hewlett-Packard 8453. La cuve utilisée est en quartz (longueur du trajet optique: 1 cm) et est maintenue à 25 °C à l'aide d'un bain thermostaté. L'agitation magnétique dans cette cuve est constante (1400 tr.min⁻¹) et réglée à l'aide d'un agitateur Variomag (Telemodul 20C).

○ **en émulsion**

Un volume de 400 μL est prélevé puis dilué dans 3,6 mL d'isopropanol (dilution 1/10). Après centrifugation (5600 tr.min⁻¹, 4 minutes, 4 °C) le surnageant est dilué au 1/4 dans l'isopropanol directement dans une cuve en quartz ($l = 1 \text{ cm}$). Le spectre UV du mélange est acquis et l'absorbance mesurée à 234 nm relevée. Au cours de l'expérience la seconde dilution peut être amenée à 1/20 (0,1 mL de surnageant dans 1,9 mL d'isopropanol) afin d'obtenir des valeurs d'absorbance à 234 nm inférieures à 2. Comme pour l'analyse à partir du milieu lipidique, la teneur en diènes conjugués dans le milieu est obtenue en utilisant le coefficient d'extinction molaire des hydroperoxydes de l'acide linoléique dans l'isopropanol ($\epsilon = 27000 \text{ L.mol}^{-1}.\text{cm}^{-1}$) et en corrigeant par la dilution totale effectuée (1/40 à 1/200)

II.2.4.2. Suivi de l'apparition du peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) en milieu aqueux

Une solution de Fox II est préparée dans une fiole jaugée de 50 mL à partir de:

- 3,8 mg de sel de xylénol orange tétrasodium
- 44 mg de BHT (Butylated HydroxyToluène)
- 5 mL d'une solution de sel de Mohr (sulfate d'ammonium ferreux) à 3,52 mol.L⁻¹.
- méthanol, à remplir jusqu'au trait de jauge de la fiole

Une gamme étalon d' H_2O_2 est réalisée. Plusieurs solutions étalons d' H_2O_2 sont préparées, leurs concentrations étant comprises entre 0 et 500 $\mu\text{mol/L}$. Pour chacune de ces solutions, un volume de 250 μL est mélangé à 750 μL de réactif (Fox II). La lecture au spectrophotomètre à 559 nm se fait 15 minutes après le mélange de ces deux solutions. Une droite d'étalonnage est obtenue.

La détermination de la teneur en H₂O₂ dans le milieu aqueux se fait en mélangeant 250 µL de milieu à 750 µL de réactif. Le mélange réagit 15 minutes à l'abri de la lumière puis est centrifugé (10000 tr.min⁻¹, 5 minutes, 4 °C). Le surnageant est prélevé puis son absorbance à 559 nm est mesurée. La teneur en H₂O₂ est déterminée grâce à la droite d'étalonnage préalablement établie.

II.2.4.3. Suivi de l'apparition des hydroperoxydes en émulsion

Un volume de 400 µL de milieu est prélevé puis dilué dans 3,6 mL d'isopropanol (dilution 1/10). Après centrifugation (5600 tr.min⁻¹, 4 minutes, 4 °C), 250 µL de surnageant sont mélangés à 750 µL d'une solution de Fox II (même solution que pour le dosage de l'H₂O₂ en milieu aqueux). Le mélange réagit 15 minutes à l'abri de la lumière puis est centrifugé (10000 tr.min⁻¹, 5 minutes, 4 °C) avant lecture au spectrophotomètre à 559 nm. La quantification se fait comme décrit dans le paragraphe précédent.

II.2.4.4. Suivi de la teneur en acide ascorbique

- **en milieu aqueux**

Un volume de 250 µL est prélevé puis dilué dans 750 µL d'acide phosphorique (2 %), dans un tube Eppendorf de 1,5 mL. Après homogénéisation au vortex, le tube est centrifugé (10000 tr.min⁻¹, 5 minutes, 4 °C). Le surnageant est filtré (filtre UPTIDISC, Interchim, Interchrom, PTFE 13 mm, 0,45 µm) puis immédiatement injecté en CLHP-UV.

L'analyse CLHP-UV est réalisée à l'aide du même chromatographe et de la même colonne que décrit dans le paragraphe « II.2.1. Purification de l'huile de tournesol ». La colonne est placée dans un compartiment thermostaté à 24 °C. La phase mobile est constituée d'un gradient d'acide formique en solution aqueuse à 0,05 % et de méthanol présenté dans le Tableau III-4. Le volume d'injection est de 10 µL. L'intégration du pic d'acide ascorbique se fait à 254 nm. La quantification est obtenue après calibration avec des solutions comprises dans la gamme [5-504 µmol/L]. Les caractéristiques de la méthode d'analyse de l'acide ascorbique sont présentées en annexe.

Tableau III-4. Gradient d'élution utilisé pour l'analyse de l'acide ascorbique provenant des milieux modèles

Temps (minutes)	Acide formique (%)	Méthanol (%)	Débit (mL.min ⁻¹)
0	95	5	1
5	90	10	1

○ **en émulsion**

Les méthodes d'extraction et d'analyse de l'acide ascorbique en milieu émulsionné sont strictement les mêmes qu'en milieu aqueux.

II.2.4.5. Suivi des teneurs en caroténoïdes

○ **en milieu lipidique**

Un volume de 20 µL est prélevé puis dilué dans 1 mL d'éther de pétrole. Ce mélange constitue l'extrait de caroténoïdes.

L'analyse CLHP-UV-SM de cet extrait est réalisée à l'aide d'un chromatographe HP 1050 de Hewlett Packard couplé à un détecteur à barrettes de diodes et un spectromètre de masse Micromass LCZ 4000. La colonne utilisée est de type YMC, phase inverse C30 (3 µm, 250 mm x 4,6 mm); elle est munie d'une colonne de garde (7,5 mm x 4,6 mm) et placée dans un compartiment thermostaté à 30°C. La phase mobile est constituée de 3 solvants:

- Formiate d'ammonium 25 mmol.L⁻¹ dans de l'eau: A
- Formiate d'ammonium 25 mmol.L⁻¹ dans du méthanol: B
- MTBE (éther tert-butylméthylique): C

Le gradient d'élution est présenté dans le Tableau III-5. Le débit est de 1 mL.min⁻¹ et le volume d'injection de 5 µL.

Tableau III-5. Gradient d'éluion utilisé pour l'analyse des caroténoïdes

Temps (minutes)	A (%)	B (%)	C (%)
0,00	40	60	0
5,00	40	60	0
10,00	30	70	0
15,00	25	70	5
20,00	20	70	10
60,00	4	11	85
70,00	4	11	85
70,10	0	100	0
72,00	0	100	0
72,01	40	60	0
80,00	40	60	0

Les analyses en spectrométrie de masse ont été réalisées selon le mode d'ionisation positif (ESP+) et les tensions des cônes étaient de 17 et 32 volts. Elles permettront l'identification de produits de dégradation des caroténoïdes.

Le programme Masslynx a été utilisé pour l'analyse des données. La quantification des composés d'intérêt se fait à 452 nm pour le β -carotène (formes *E* et *Z*) et à 472 nm pour le lycopène (*E* et *Z*). La quantification est obtenue après calibration avec des solutions comprises dans la gamme [0,4-200 $\mu\text{mol/L}$] pour le (*E*)-lycopène et [0-20,5 $\mu\text{mol/L}$] pour le (*E*)- β -carotène. Les caractéristiques des méthodes d'analyse de ces caroténoïdes sont présentées en annexe.

○ **en émulsion**

Un volume de 400 μL de milieu est prélevé puis dilué dans 400 μL d'un mélange acétone/éther de pétrole (25:75 vol) dans un tube Eppendorf de 1,5 mL. Après homogénéisation au vortex, le tube est centrifugé (10000 $\text{tr}\cdot\text{min}^{-1}$, 5 minutes, 4 °C) et la phase éther de pétrole contenant les caroténoïdes est récupérée. Une seconde extraction est réalisée dans les mêmes conditions. Pour la troisième extraction, quelques grammes de chlorure de sodium sont ajoutés à la phase acétone/eau des 2 premières extractions et au solvant acétone/éther de pétrole. Les 3 phases éther de pétrole sont regroupées et séchées sur Na_2SO_4 . Cet extrait de caroténoïdes est injecté le jour même en CLHP-UV-SM dans les mêmes conditions que les extraits provenant du milieu lipidique.

Suite à cette extraction, la phase acétone/eau est conservée. Elle constitue l'extrait phénolique.

II.2.4.6. Suivi de la teneur en α -tocophérol

○ en milieu lipidique

L'extrait de caroténoïdes contient également l' α -tocophérol, molécule lipophile, et a donc été utilisé pour la quantification de l' α -tocophérol. Après l'analyse des caroténoïdes, il est conservé à -20 °C puis injecté plus tard en CLHP-fluo.

L'analyse CLHP-UV-fluo des extraits d' α -tocophérol est réalisée au CTCPA à l'aide d'un chromatographe HP 1200 de Hewlett Packard couplé à un détecteur à barrettes de diodes (190-950 nm) et un fluorimètre. La colonne utilisée est de type ACE silice greffée C18 (3 μ m, 250 mm x 4,6 mm). Elle est munie d'une colonne de garde (7,5 mm x 4,6 mm) et placée dans un compartiment thermostaté à 30 °C. La phase mobile est constituée d'un gradient de méthanol et d'acétonitrile présenté dans le Tableau III-6. Le débit est de 1 mL.min⁻¹. Le volume d'injection est de 80 μ L.

Tableau III-6. Gradient d'élution utilisé pour l'analyse de l' α -tocophérol

Temps (minutes)	Méthanol (%)	Acétonitrile (%)
0	65	35
5	65	35
10	60	40
15	57	43
20	55	45
25	50	50
30	40	60
35	25	75
40	100	0
50	100	0

La détection de l' α -tocophérol se fait grâce à sa fluorescence. L'excitation a lieu à 295 nm et l'émission se fait à 330 nm. L'intégration du pic d' α -tocophérol se fait à cette longueur d'onde. La quantification est obtenue après calibration avec des solutions comprises dans la gamme [0,26-25,65 μ mol/L]. Les caractéristiques de la méthode d'analyse de l' α -tocophérol sont présentées en annexe.

- **en émulsion**

L'extrait de caroténoïdes est injecté en CLHP-UV-fluo dans les conditions décrites dans le paragraphe précédent.

II.2.4.7. Suivi de la teneur en trilinoléine

- **en milieu lipidique**

L'extrait de caroténoïdes permet également la quantification de la trilinoléine et l'analyse se fait dans les mêmes conditions que pour les caroténoïdes. La quantification de la trilinoléine se fait à 210 nm. La quantification est obtenue après calibration avec des solutions comprises dans la gamme [0,47-4,65 mmol/L]. Les caractéristiques de la méthode d'analyse de la trilinoléine sont présentées en annexe.

L'identification de produits issus de l'oxydation de la trilinoléine pourra se faire grâce aux données obtenues par la spectrométrie de masse.

- **en émulsion**

Comme pour le milieu lipidique, la trilinoléine est extraite et analysée en même temps que les caroténoïdes. La quantification de ce composé se fait à 210 nm.

II.2.4.8. Suivi des teneurs en composés phénoliques

- **en milieu aqueux**

Un volume de 400 µL de milieu est prélevé puis dilué dans 400 µL d'un mélange acétone/éther de pétrole (25:75 vol) dans un tube Eppendorf de 1,5 mL. Après homogénéisation au vortex, le tube est centrifugé (10000 tr.min⁻¹, 5 minutes, 4 °C) et la phase éther de pétrole est retirée. La seconde extraction est réalisée dans les mêmes conditions. Pour la troisième extraction, quelques grammes de chlorure de sodium sont ajoutés à la phase acétone/eau des deux premières extractions avant l'ajout du solvant acétone/éther de pétrole.

La phase acétone/eau constitue l'extrait phénoliques. Elle est filtré (filtre UPTIDISC, Interchim, Interchrom, PTFE 13 mm, 0,45 µm) puis conservée à -20 °C pour être analysée plus tard en CLHP-UV.

L'analyse en CLHP-UV est réalisée à l'aide d'un chromatographe Modèle HP 1100 (Hewlett Packard), couplé à un détecteur spectrophotométrique à barrettes de diodes. La colonne est une colonne Alltima silice, greffée C18 (5µm, 150 mm x 4,6 mm) munie d'une colonne de garde; elle est placée dans un compartiment thermostaté à 30°C. La phase mobile est un gradient d'acide formique en solution aqueuse à 0,05% et de méthanol, présenté dans le Tableau III-7. Le débit est de 1 mL.min⁻¹. Le volume d'injection est de 10 µL. L'intégration des composés phénoliques se fait à 280 nm. La quantification est obtenue après calibration avec des solutions étalons d'acide chlorogénique, de rutine et de prunine. Les caractéristiques des méthodes d'analyse de ces trois composés phénoliques sont présentées en annexe.

Tableau III-7. Gradient d'élution utilisé pour l'analyse des composés phénoliques

Temps (minutes)	Acide formique (%)	Méthanol (%)
0	95	5
20	60	40
40	0	100
45	0	100

L'identification des produits de dégradation se fait en fast-CLHP-SM à l'aide d'un chromatographe Waters Acquity Ultra Performance LC couplé à un détecteur à barrettes de diodes et un spectromètre de masse Bruker Daltonics HCT Ultra. Les analyses en spectrométrie de masse ont été réalisées selon le mode d'ionisation négatif (ESP-). La colonne utilisée est une colonne HSST3 (waters®) C18 (1,8 µm, 50 mm x 2,1 mm) munie d'une colonne de garde (VanGuard, 1,8 µm) et maintenue à 30 °C. La phase mobile est constituée d'un gradient d'acide formique en solution aqueuse à 0,05 % et de méthanol avec un débit de 0,4 mL.min⁻¹. Il est présenté dans le Tableau III-8. Le volume d'injection est de 1 µL.

Tableau III-8. Gradient d'éluion utilisé pour l'identification des produits de dégradation des composés phénoliques en fast-CLHP-SM

Temps (minutes)	Acide formique (%)	Méthanol (%)
0,00	85	15
1,13	85	15
2,27	79	21
3,63	79	21
4,76	77	23
5,90	77	23
12,20	40	60
13,60	40	60
15,00	0	100
16,00	85	15
20,00	85	15

Les spectres de masse ont été générés grâce au mode Ultrascan sur une plage m/z allant de 100 à 1300. Les paramètres d'ionisation étaient les suivants: une pression de nébulisation de 40 psi, un débit de gaz de $9 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ et une température du gaz de $365 \text{ }^\circ\text{C}$. La tension appliquée aux capillaires était de 2 kvolts.

Le programme Bruker Daltonics DataAnalysis a été utilisé pour l'analyse des données.

○ **en émulsion**

L'extrait phénolique est la phase acétone/eau récupérée après extraction des caroténoïdes. Elle est filtrée (filtre UPTIDISC, Interchim, Interchrom, PTFE 13 mm, $0,45 \mu\text{m}$) puis conservée à $-20 \text{ }^\circ\text{C}$. Elle est injectée en CLHP-UV et en fast-CLHP-SM selon les conditions décrites dans le paragraphe précédent.

III. Modélisation d'un procédé de transformation de concentré en sauce tomate

III.1. Structure de la sauce tomate

III.1.1. Etude en granulométrie laser

Une sauce tomate du commerce (Casino) a été analysée en granulométrie ce qui permet de comparer les tailles de particules de ce produit aux données de la littérature.

La distribution des tailles de particules (Figure III-4) met en évidence trois populations différentes dont deux similaires à celles retrouvées par Valencia *et al.*, (1). Les plus grosses particules ont un diamètre de 200 à 400 μm et seraient des éléments solides. Des particules de 50 à 60 μm , qui constituent une seconde population, seraient des granules d'amidon. Enfin, la dernière population est représentée par des particules de tailles relativement petites (4 à 15 μm). Il est possible que ces éléments soient des gouttelettes lipidiques puisque la sauce analysée contient de l'huile de colza.

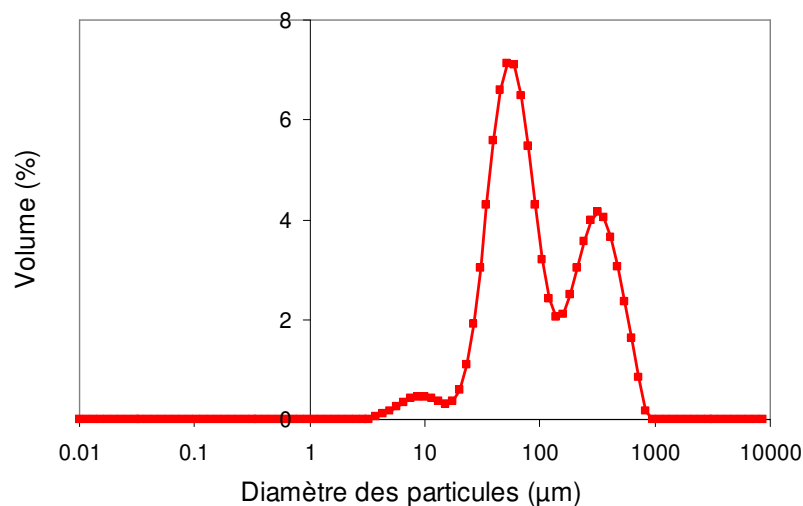


Figure III-4. Distribution de taille des particules d'une sauce tomate du commerce

Le $d[4,3]$ moyen mesuré pour cette sauce est égal à 194,2 μm et le $d[3,2]$ moyen est égal à 63,6 μm . Si on ne prend en compte que les particules correspondant aux gouttelettes lipidiques, leur $d[4,3]$ est de 7,713 μm et leur $d[3,2]$ de 7,030 μm .

Afin de caractériser avec précision ces constituants, la sauce est étudiée en microscopie optique.

III.1.2. Etude en microscopie optique

La sauce préalablement analysée en granulométrie laser est observée au microscope optique entre lame et lamelle (grossissement x100 et x1000).

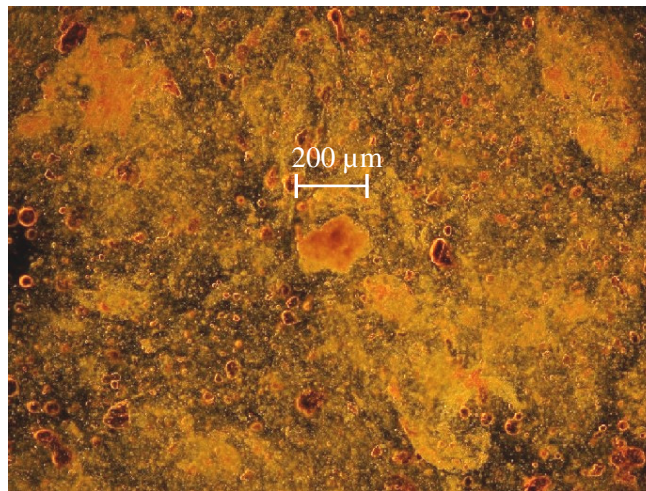


Figure III-5. Observation au microscope optique (grossissement x 100) d'une sauce tomate

De petits objets oranges au pourtour jaune et de diamètre 200 μm environ sont visibles (Figure III-5). La taille, la forme et l'apparence de ces particules font penser à des particules solides provenant des tomates. Des éléments plus petits sont observés, ceux-ci sont bruns, parfois de forme arrondie et leur taille est inférieure à 60 μm . Il est difficile de déterminer leur origine ou leur composition. Le même échantillon est observé à un plus fort grossissement.

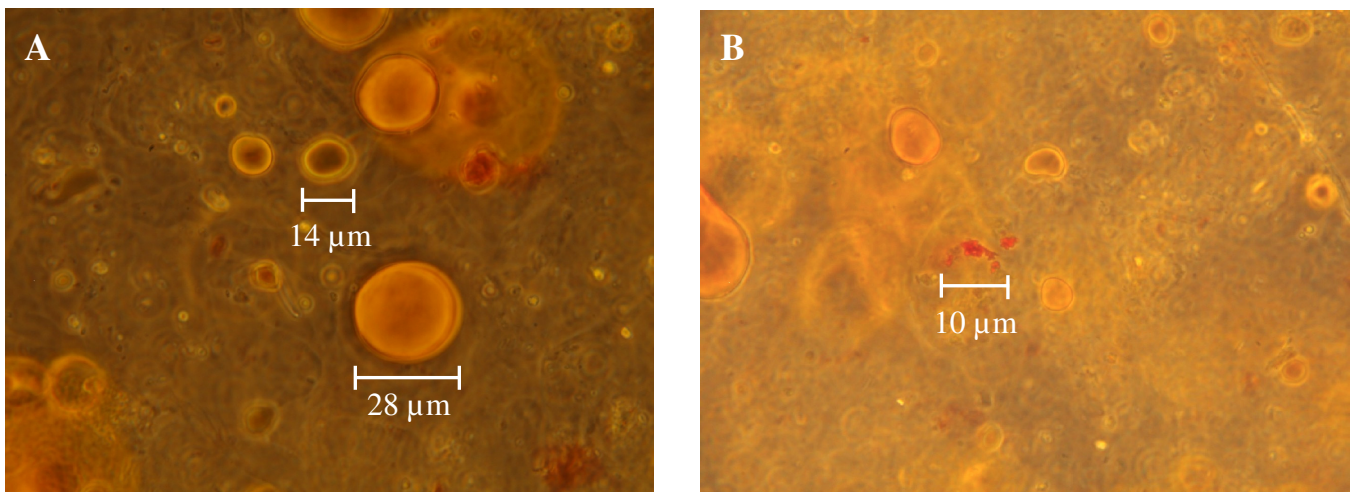


Figure III-6. Observation au microscope optique (grossissement x 1000) de la sauce tomate

Au grossissement x1000, deux types de particules sont observables: des objets ronds et oranges dont la taille est de 20 à 30 µm et des éléments plus petits (10 à 15 µm) aux bords jaunes (Figure III-6, photo A). Certaines de ces particules sont peut-être des gouttelettes lipidiques mais ces observations au microscope ne nous permettent pas de le confirmer. Des petits objets rouges vifs, à l'aspect granuleux sont également visibles (photo B). Leur couleur indique qu'ils proviennent de la tomate, ce sont probablement des résidus de cellules de tomates riches en caroténoïdes. Les particules d'amidon n'ont pas été observées car incolores.

III.2. Choix des marqueurs de la qualité nutritionnelle des produits à base de tomate

Afin de choisir les microconstituants qui seront étudiés dans les milieux modèles, il faut déterminer les marqueurs de la qualité nutritionnelle des produits à base de tomate. Ces derniers correspondent aux composés antioxydants présents de façon relativement abondante dans ces produits.

Les analyses des microconstituants de concentrés, pulpe et sauce, en complément d'une étude bibliographique, ont permis de déterminer ces marqueurs. Ce travail est présenté dans le chapitre II de ce manuscrit. L'acide ascorbique et le (*E*)-lycopène ont toujours été retrouvés dans des proportions importantes dans les produits étudiés. Les composés phénoliques de la tomate et des produits à base de tomate sont principalement des acides hydroxycinnamiques, des flavonols et des flavanones. Ainsi, trois composés phénoliques appartenant à chacune de ces classes sont sélectionnés comme marqueurs: l'acide chlorogénique (= acide 5-O-caféoylquinique), la rutine (= 3-O-rhamnosylglucosylquercétine) et la prunine (= 7-O-glucosylnaringénine). Un autre caroténoïde retrouvé dans tous les produits à base de tomate est choisi: le (*E*)- β -carotène.

Différentes huiles végétales peuvent être utilisées pour la préparation de la sauce tomate. Nous avons sélectionné l'huile de tournesol parce que c'est une des huiles les plus riches en acides gras polyinsaturés. L' α -tocophérol, antioxydant endogène de cette huile, est également choisi comme marqueur de la qualité nutritionnelle.

III.3. Les marqueurs de l'oxydation lipidique

L'évolution de l'oxydation dans les milieux préparés à partir d'huile de tournesol est évaluée grâce à deux marqueurs: la trilinoléine et les diènes conjugués. La trilinoléine est le triglycéride majoritaire de l'huile de tournesol. Il est constitué de trois chaînes d'acide linoléique qui sont susceptibles de s'oxyder. Quant aux diènes conjugués, ce sont les produits issus de l'oxydation des chaînes en C18:2.

III.4. Mise en place des systèmes modèles

Nous avons vu que la sauce tomate est constituée d'un milieu aqueux contenant des particules solides, des granules d'amidon et des gouttelettes lipidiques. Un système émulsionné est alors choisi pour modéliser ce produit.

III.4.1. Le système modèle émulsionné

III.4.1.1. Composition du milieu

Ce système modèle est constitué d'une phase aqueuse dans laquelle se trouve des gouttelettes lipidiques et de l'amidon. Le pH de ce milieu est fixé à 3,8 comme dans certaines sauces tomate du commerce. La quantité d'amidon représente 1 % (poids/poids) du milieu, comme pour certains produits industriels. L'huile utilisée est l'huile de tournesol qui représente 2 % (poids/poids) du milieu. Cette quantité a été choisie car les sauces industrielles sont préparées avec 0,5 à 2 % d'huile végétale.

L'émulsion est stabilisée par des phospholipides de soja (L- α -phosphatidylcholine, Sigma). La quantité d'émulsifiant à introduire dépend de la taille souhaitée des particules lipidiques et donc de la stabilité désirée pour l'émulsion. Elle est fonction de la quantité d'huile et un ratio $m_{\text{huile}}/m_{\text{phospholipides}}$ de 3,2 a été choisi.

Dans 30 mL de tampon acétate à pH 3,8 sont dispersés 0,3 g d'amidon et 0,6 g d'huile. La quantité de phospholipides à ajouter est alors de 0,1875 g (mélange de PL analysé dans la partie "II.1.1.1. Produits nécessaires à la préparation des systèmes modèles"). Le volume de l'émulsion obtenue est de 30,66 mL.

La préparation de l'émulsion se fait comme expliqué dans la partie « II.2.2 Préparation des systèmes modèles ». Le milieu obtenu, ne contenant pas d'antioxydant, est présenté sur la figure III-7.



Figure III-7. Milieu modèle émulsionné ne contenant pas d'antioxydant

III.4.1.2. Taille des particules présentes dans le milieu

○ Analyse granulométrique

Une émulsion a été préparée puis analysée en granulométrie. La distribution de taille des particules obtenue est présentée sur la Figure III-8.

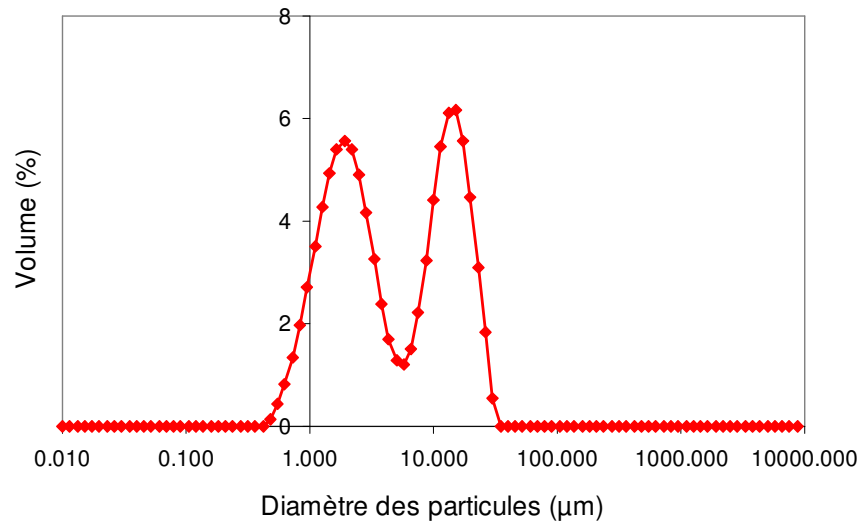


Figure III-8. Distribution des tailles de particules de l'émulsion

L'analyse granulométrique révèle une distribution bimodale des particules. Les particules les plus petites dont la taille est comprise entre 0,5 et 5 μm correspondent à des gouttelettes lipidiques. Les autres particules dont le diamètre moyen est proche de 13 μm sont les granules d'amidon.

Le $d[4,3]$ mesuré est égal à 7,468 μm pour un $d[3,2]$ de 2,323 μm. En ne prenant en compte que les particules de taille comprise entre 0 et 6,35 μm, on obtient respectivement 2,162 μm et 1,524 μm comme $d[4,3]$ et $d[3,2]$ pour les gouttelettes lipidiques.

Si l'on compare les données granulométriques obtenues pour la sauce industrielle et l'émulsion modèle, on remarque que les particules de la sauce (gouttelettes lipidiques et amidon) sont de tailles plus importantes. Il est connu qu'en présence d'eau les particules d'amidon se gonflent sous l'effet de la chaleur. Or, à ce stade, l'émulsion modèle n'a pas encore subi de traitement thermique, ce qui explique que leur taille soit 5 fois plus importante dans la sauce que dans le milieu modèle. Les gouttelettes lipidiques sont elles aussi plus grosses dans la sauce que dans l'émulsion ($d[4,3]$ respectivement égaux à 7,7 et 2,2 μm).

Malgré cette différence, on peut considérer que la structure de l'émulsion est assez proche de celle de la sauce tomate.

○ **Caractéristique de l'interface**

D'après les analyses réalisées, le $d[3,2]$ moyen mesuré est égal à 1,524 μm . La surface volumique déployée par les gouttelettes d'huile est alors de 4,303 m^2/g .

Nous voulons savoir si les phospholipides (PL) recouvrent toutes les gouttelettes lipidiques de l'émulsion.

La quantité de PL dans le milieu est de 0,1875 g soit 0,241 mmole (PM moyen calculé = 777,84 Da). La surface moyenne d'une tête de phospholipide serait d'environ 50 \AA^2 soit $50 \cdot 10^{-20} \text{ m}^2$ (36). En supposant qu'une monocouche de PL est présente en surface de toutes les gouttelettes de l'émulsion, le nombre de moles de PL nécessaire pour recouvrir toutes les gouttelettes est égale à:

$$\frac{\text{Surface totale de gouttelettes}}{\text{Taille d'une tête de PL} \times N_A} = \frac{4,303}{50 \cdot 10^{-20} \times 6,0221353 \cdot 10^{23}} = 0,0143 \cdot 10^{-3}$$

(N_A = Nombre d'Avogadro = $6,0221353 \cdot 10^{23} \text{ mol}^{-1}$)

Ainsi, 0,0143 mmole de PL sont nécessaires pour recouvrir l'ensemble des gouttelettes dans une émulsion préparée avec 1 g d'huile. Pour une émulsion préparée avec 0,6 g d'huile, la quantité de PL nécessaire pour couvrir les gouttelettes est égale à **8,58 μmoles** .

L'apport de PL dans l'émulsion étant de 241 μmoles , la totalité des gouttelettes d'huile est donc recouverte. Les PL en surface des gouttelettes ne représentent finalement que 3,56 % de l'ensemble des PL de l'émulsion. L'excédent des PL est probablement sous forme de liposomes dans la phase aqueuse.

III.4.2. Les systèmes modèles aqueux et lipidique

En plus du modèle émulsionné, deux autres systèmes modèles sont choisis :

- un milieu aqueux
- un milieu lipidique

Ils correspondent aux deux phases de l'émulsion modèle. Les marqueurs hydrophiles de la qualité nutritionnelle seront étudiés dans la phase aqueuse et les marqueurs lipophiles dans la phase lipidique en lien avec leur distribution probable dans ces phases au sein de l'émulsion.

Le milieu aqueux est constitué de 30 mL de tampon acétate (pH 3,8) et de 0,3 g d'amidon.

Le milieu lipidique est constitué de 9,25 g d'huile de tournesol et 0,26 g de phospholipides de soja (PL). La masse d'huile utilisée correspond à un volume de 10,11 mL, la densité de l'huile de tournesol étant de 0,915 (37).

III.4.3. Quantités de marqueurs étudiés dans les systèmes modèles

Les quantités à introduire dans les milieux modèles ont été choisies en fonction des teneurs mesurées dans des concentrés de tomate et des données de la littérature (tables USDA). Dans l'industrie, la quantité de concentré de tomate représente environ 25 % de la recette de la sauce tomate. Les teneurs moyennes observées pour chaque microconstituant dans le concentré sont alors divisées par 4 pour déterminer les quantités à introduire dans le milieu modèle émulsion. Les quantités de chaque marqueur à introduire dans le milieu émulsionné sont présentées dans le Tableau III-9. Les teneurs sont également précisées. Les teneurs en α -tocophérol ne sont pas présentées dans ce tableau. Ce composé est apporté par l'huile de tournesol brute, qui en contient 0,51 mg.mL⁻¹. Le milieu émulsionné contient 0,6 g d'huile et la densité de cette huile est égale à 0,915, la quantité d' α -tocophérol dans ce milieu est alors égale à :

$$0,6 / 0,915 \times 0,51 = 0,334 \text{ mg}$$

Le volume total de ce milieu étant égal à 30,66 mL, la teneur en α -tocophérol est alors de 10,91 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ soit 25,32 $\mu\text{mol.L}^{-1}$.

Tableau III-9. Quantités d'antioxydants à solubiliser dans le milieu modèle émulsionné

Composé	Quantité (mg)	Teneur dans l'émulsion	
		en $\mu\text{mol.L}^{-1}$	en $\mu\text{g.mL}^{-1}$
Acide ascorbique	1,65	305,56	53,82
Acide chlorogénique	0,54	49,71	17,61
Rutine	0,73	39,00	23,81
Prunine	0,26	19,52	8,48
(E)-lycopène	2,7	164,02	88,06
(E)-β-carotène	0,3	18,22	9,78

Le volume du milieu aqueux est le même que celui de la phase aqueuse de l'émulsion (30 mL). Les quantités d'antioxydants dans le milieu aqueux sont alors les mêmes qu'en milieu émulsionné. Les teneurs varient légèrement puisque le volume de ces deux milieux n'est pas strictement le même (30,00 mL pour le milieu aqueux et 30,66 mL pour le milieu émulsionné). Les teneurs dans le milieu aqueux sont présentés dans le Tableau III-10.

Tableau III-10. Quantités d'antioxydants à solubiliser dans le milieu modèle aqueux

Composé	Quantité (mg)	Teneur dans le milieu aqueux	
		en $\mu\text{mol.L}^{-1}$	en $\mu\text{g.mL}^{-1}$
Acide ascorbique	1,65	312,29	55,00
Acide chlorogénique	0,54	50,80	18,00
Rutine	0,73	39,86	24,33
Prunine	0,26	19,95	8,67

Le volume du milieu lipidique est de 10,11 mL. Les teneurs en caroténoïdes à introduire dans ce milieu sont recalculés pour avoir des teneurs en caroténoïdes dans le milieu lipidique qui soient les mêmes que dans les gouttelettes lipidiques de l'émulsion. Ces quantités sont présentées dans le Tableau III-11.

Tableau III-11. Quantités d'antioxydants à solubiliser dans le milieu modèle lipidique

Composé	Quantité (mg)	Teneur dans l'huile	
		en mmol.L ⁻¹	en mg.mL ⁻¹
(E)-lycopène	41,63	7,67	4,12
(E)-β-carotène	4,63	0,85	0,46

La quantité d'α-tocophérol dans le milieu lipidique correspond à la quantité apportée par l'huile de tournesol. Cette quantité est égale à 5,16 mg ce qui correspond à une teneur égale à 0,51 mg.mL⁻¹ dans le milieu lipidique.

Toutes les quantités indiquées dans ces tableaux sont théoriques. Les caroténoïdes étant peu solubles dans l'huile, les teneurs réellement solubilisées dans le milieu lipidique et dans l'émulsion seront certainement plus faibles que celles annoncées dans les Tableau III-9 et III-11.

Les différents milieux sont préparés selon le protocole présenté dans le paragraphe « II-2-2. Préparation des systèmes modèles ».

III.5. Dispositif expérimental modélisant le procédé de transformation

L'équipement de type cuve ouverte comme celui utilisé par un des transformateurs de tomate en Région PACA est modélisée par un dispositif expérimental constitué d'un tricol de 50 mL équipé d'un réfrigérant et d'une sonde reliée à un régulateur de température. Le tricol contenant le milieu modèle est maintenu dans un bloc en aluminium sur lequel peuvent être conduites deux expériences simultanées. Ce bloc est placé sur un agitateur magnétique chauffant qui joue aussi le rôle de régulateur de la température du milieu modèle. Les ballons sont clos par des septums amovibles qui vont être ôtés lors des prélèvements. Ce système est présenté sur la Figure III-9.

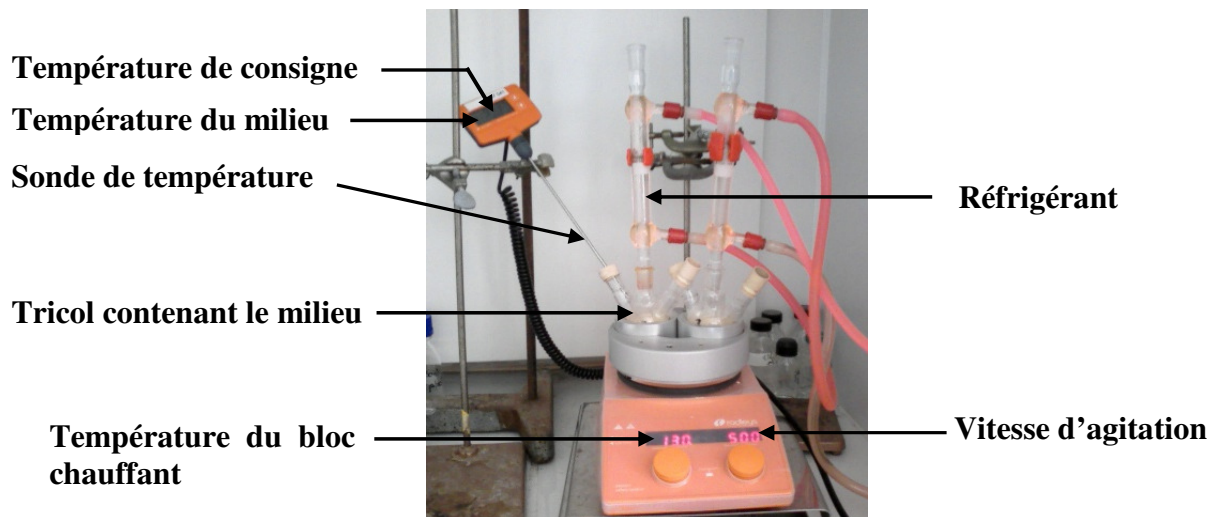


Figure III-9. Système modélisant le procédé de transformation de la sauce tomate

Au cours des procédés de transformation de la tomate, les températures employées sont généralement proches de 90 - 95 °C pour un procédé de type Hot Break. Alors que pour un procédé de type Cold Break les températures sont comprises entre 60 et 70 °C. Nous choisissons de travailler à 95 °C pour modéliser le procédé Hot Break. Le procédé Cold Break sera modélisé à 50 °C. Cette température est faible par rapport aux températures employées dans l'industrie. Elle a été choisie car nous disposons de sondes à oxygène fonctionnant jusqu'à 50 °C qui nous permettront de déterminer les teneurs en oxygène dans les milieux aqueux et émulsionnés.

Des expériences en milieu émulsionné seront également réalisées à 70 et à 80 °C.

La vitesse d'agitation des milieux est fixée à 500 rpm. Cette agitation simule la rotation effectuée par les pales des cuves lors de la fabrication industrielle de la sauce. Initialement, les milieux sont à température ambiante; ils subissent une montée en température jusqu'à atteindre la température de consigne en 20 minutes environ. Cette durée est la même quel que soit le milieu modèle et la température imposée comme le montre les Figures IV-10 et IV-11.

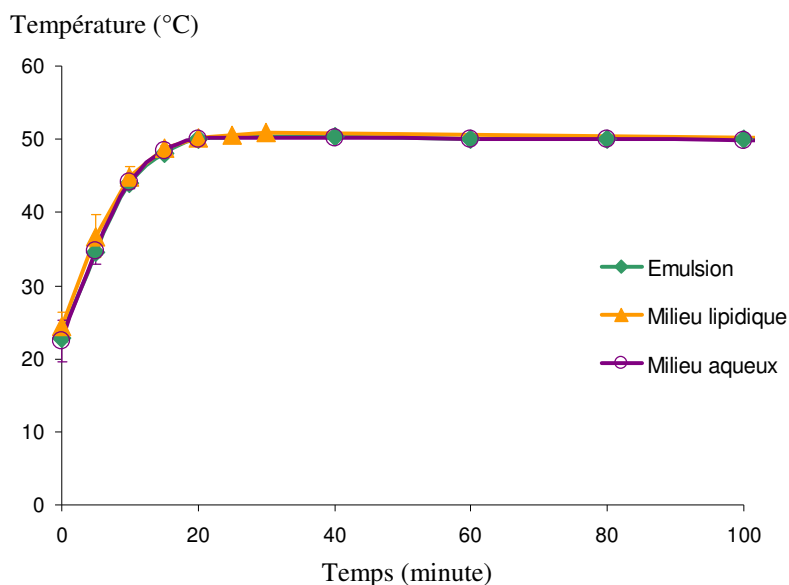


Figure III-10. Historique des températures pour une consigne à 50 °C
(pour le milieu émulsion, n = 13; pour le milieu lipidique, n = 5 et pour le milieu aqueux n = 79)

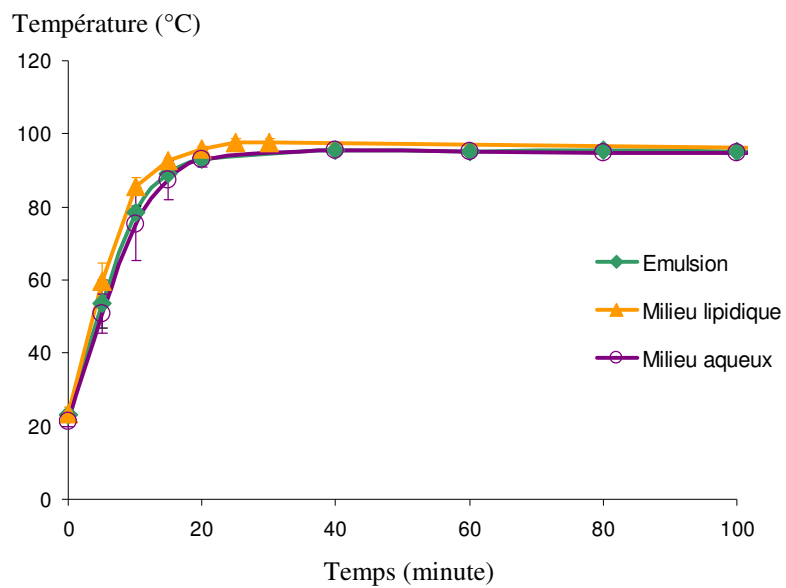


Figure III-11. Historique des températures pour une consigne à 95 °C
(pour le milieu émulsion, n = 17; pour le milieu lipidique, n = 6 et pour le milieu aqueux n = 64)

IV. Evolution des modèles et de leurs constituants au cours du temps

IV.1. Préliminaires aux suivis cinétiques

Les cinétiques sont habituellement suivies sur 30 heures. Des prélèvements sont réalisés au temps t0, t2h, t4h, t6h, t8h le premier jour et t22h, t24h, t26h, t28h et t30h le deuxième jour afin de mesurer les teneurs des différents marqueurs. L'acide ascorbique se dégradant rapidement, les prélèvements destinés à l'analyse de ce composé sont plus rapprochés (toutes les 20 minutes ou toutes les heures).

Les cinétiques réalisées en présence de fer III (à 50 °C) sont réalisées sur 8 heures, avec un prélèvement toutes les heures, la disparition des microconstituants étant accélérée dans ces conditions.

Les méthodes d'extractions et d'analyses utilisées pour chaque marqueur sont présentées dans le paragraphe « II-2-4. Suivis cinétiques ».

Les expériences réalisées en milieux modèles sont les suivantes:

- **En milieu aqueux:**

- Acide ascorbique (AA) seul
- Composés phénoliques seuls (acide chlorogénique, rutine et prunine) (3 PP)
- Acide ascorbique + les 3 composés phénoliques

- **En milieu lipidique:**

- Huile sans α -tocophérol
- Huile + α -tocophérol (TOCO)
- Huile sans tocophérol + caroténoïdes (CAR)
- Huile + caroténoïdes + α -tocophérol

- **En émulsion:**

- Tous les marqueurs
- Sans antioxydant
- Tous les marqueurs + fer III
- Fer III sans antioxydant

Le Tableau III-12 présente l'ensemble des expériences réalisées aux différentes températures testées. Le nombre de répétitions réalisées pour chaque expérience est précisé.

Tableau III-12. Récapitulatif des expériences réalisées en milieux modèles

Milieu modèle	Expérience	T (°C)	Nombre de répétitions	
Aqueux	AA seul	50	4	
		95	6	
	3 PP	50	3	
		95	3	
	AA + 3 PP	50	3	
		95	3	
Lipidique	Huile	50	3	
		95	3	
	Huile + TOCO	50	3	
		95	3	
	Huile +CAR	50	2	
		95	2	
	Huile + CAR + TOCO	50	2	
		95	2	
	Emulsion	Tous les marqueurs	50	3
			70	2
80			2	
95			3	
Sans antioxydant		50	3	
		70	2	
		80	2	
		95	2	
Tous les marqueurs+ fer		50	2	
Sans antioxydant + fer		50	2	

Abréviations: AA = acide ascorbique, PP = composés phénoliques, TOCO = α -tocophérol, CAR = caroténoïdes

Pour les expériences en milieu émulsionné sans antioxydant, seuls les teneurs en diènes conjugués seront mesurées.

IV.2. Suivis cinétiques

IV.2.1. Caractéristiques et stabilité des modèles

IV.2.1.1. Teneurs en oxygène et kLa

- **Mesure de la solubilité et du kLa**

L'oxygène intervient dans de nombreuses réactions impliquant les lipides et microconstituants antioxydants au sein de nos milieux modèles. Sa présence dans les milieux a alors été étudiée. A l'aide d'une sonde à oxygène (Presens) nous avons cherché à déterminer la solubilité de l'oxygène dans nos différents milieux ainsi que le coefficient de transfert de cet espèce aussi appelé "kLa". Le principe de fonctionnement de cette sonde est expliqué en annexe 1. Elle permet des mesures de la teneur en oxygène uniquement sur une plage de température comprise entre 0 et 50 °C. Les mesures seront alors réalisées à 25 et 50 °C. Par ailleurs, elle est uniquement calibrée en milieu aqueux. Les données en milieu lipidique seront alors relatives et analysables uniquement en terme de tendances.

La solubilité de l'oxygène est donnée directement par la sonde alors que la détermination du kLa requiert quelques calculs. Le milieu dont on souhaite déterminer ce paramètre est mis à buller sous azote jusqu'à ce que la teneur en oxygène soit nulle. Puis la reprise en oxygène est mesurée au cours du temps (Ct), permettant de déterminer la valeur du kLa. Le suivi de la teneur en oxygène au cours de cette expérience dans le milieu aqueux à 25°C est présenté sur la Figure III-12. C0 correspond à la teneur minimale en oxygène dissous dans le milieu (après le bullage à l'azote) et C* à la solubilité de l'oxygène à saturation dans le milieu.

Grâce aux données mesurées une droite peut être tracée :

$$\ln \frac{C^* - C_0}{C^* - C_t} = f(t-t_0)$$

La pente de cette droite donne la valeur du kLa (en minute⁻¹).

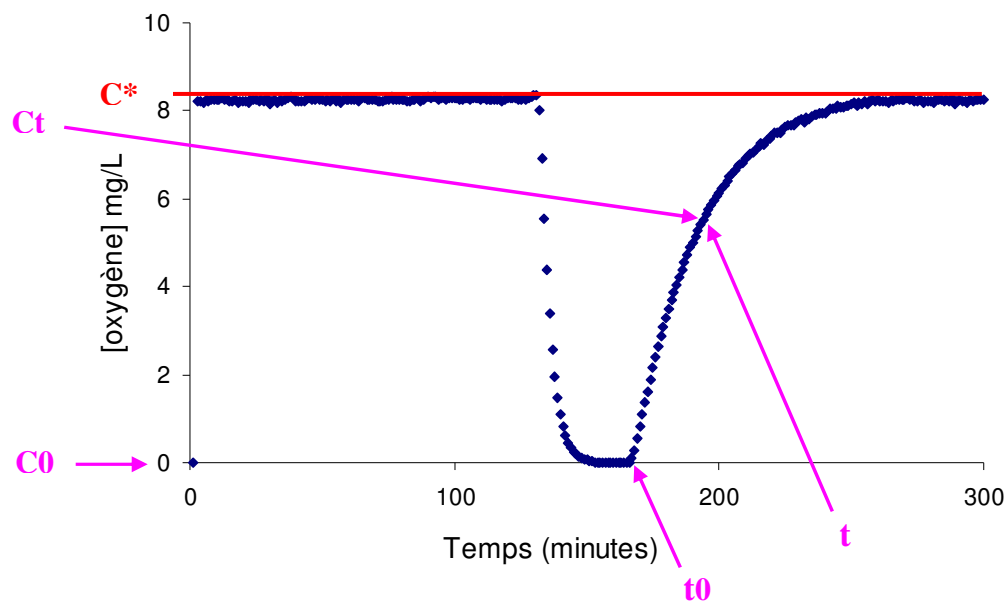


Figure III-12. Mesure de la teneur en oxygène dans le milieu aqueux à 25 °C lors de l'expérience destinée à la mesure du kLa (agitation = 500 rpm)

L'ensemble des mesures réalisées dans les trois milieux modèles est présenté dans le Tableau III-13. Le kLa dépendant de la vitesse d'agitation du milieu, les mesures ont alors été réalisées à 300, 500 et 700 rpm.

Tableau III-13. Solubilité de l'oxygène et kLa mesurés dans les milieux modèles à 25 et 50 °C

Milieu modèle	Température	Agitation	kLa (min ⁻¹)	Solubilité de l'O ₂ (mg/L)
Aqueux	25 °C	300 rpm	0,182 – 0,208	8,555 – 8,418
		500 rpm	0,101 – 0,170	8,625 – 8,252
		700 rpm	0,176 – 0,230	8,775 – 8,854
	50 °C	300 rpm	0,149 – 0,265	6,071 – 5,171
		500 rpm	0,218 – 0,241	6,042 – 5,075
		700 rpm	0,289 – 0,373	5,956 – 5,318
Lipidique	25 °C	300 rpm	0,042	8,530
		500 rpm	0,052	8,833
		700 rpm	0,087	8,797
	50 °C	300 rpm	0,141	6,067
		500 rpm	0,132	6,051
		700 rpm	0,149	6,040
Emulsion	25 °C	300 rpm	0,132	8,585
		500 rpm	0,131	8,261
		700 rpm	0,136	9,442
	50 °C	300 rpm	0,250	5,325
		500 rpm	0,201	5,372
		700 rpm	0,289	5,481

En milieu aqueux, les mesures ont été réalisées deux fois, ce qui explique la présence de deux valeurs.

Les valeurs de solubilités mesurées dans les trois milieux sont sensiblement les mêmes à une température donnée. Les valeurs obtenues en milieu aqueux sont proches de celles données par la table de Winkler (Tableau III-14) à 25 et 50 °C. Cette table sert de référence concernant la solubilité de l'oxygène dans l'eau. L'oxygène se comporte alors dans le milieu modèle aqueux de la même façon que dans l'eau.

Il n'est pas possible d'interpréter les données concernant l'huile puisque la sonde utilisée n'est pas calibrée pour fonctionner dans ce milieu. Les données de la littérature donnent des valeurs de solubilité dans les huiles bien plus importantes que celles que nous avons mesurées. En effet, l'oxygène serait trois à cinq fois plus soluble dans les huiles alimentaires que dans l'eau à des températures comprises entre 20 et 50°C (38-39). Aho et Wahlroos (40) ont mesuré la teneur en oxygène dans de l'huile de tournesol brute et raffinée à 22-23 °C en utilisant une électrode de Clark. Les valeurs obtenues sont de 26 mg/L pour l'huile raffinée et 39 mg/L pour l'huile brute. D'après ces données, la solubilité de l'oxygène serait 3 fois plus importante dans l'huile raffinée que dans l'eau et 4,5 fois plus importante dans l'huile brute que dans l'eau (à 23 °C, la teneur en oxygène donnée par la table de Winkler est égale à 8,6 mg/L). A l'heure actuelle, il est encore difficile de déterminer la solubilité de l'oxygène dans les corps gras. Il

nous est donc impossible de connaître précisément la solubilité de l'oxygène dans le milieu modèle lipidique. De même, l'évolution de cette solubilité au cours de variations de température nous est inconnue.

Tableau III-14. Solubilité de l'oxygène dans l'eau en fonction de la température d'après la table de Winkler (41).

Température (°C)	Solubilité de l'oxygène (mg/L)	Solubilité de l'oxygène (µmol/L)
0	14,56	455
10	11,25	352
20	9,09	284
25	8,26	258
30	7,49	234
40	6,41	200
50	5,50	172
60	4,69	147
70	3,81	119
80	2,81	88
90	1,59	50
95	0,86	27
100	0,00	0

Les mesures de kLa montrent que cette valeur est peu affectée par la vitesse d'agitation dans la gamme 300-700 rpm. L'effet de la température est plus marquée: les valeurs de kLa sont plus importantes à 50 qu'à 25 °C. On remarque que les valeurs de kLa sont plus faibles pour l'huile, indiquant une reprise en oxygène lente pour ce milieu. Pour le milieu émulsion, ces valeurs sont similaires à celles obtenues en milieux aqueux; ainsi les 2 % d'huile au sein du milieu émulsionné ne semblent pas impacter la diffusion de l'oxygène de la phase gazeuse vers ce milieu.

○ **Suivi de la teneur en oxygène dans les milieux au cours du temps**

Dans un premier temps, la teneur en oxygène a été suivie dans le milieu modèle émulsionné maintenu à 50 °C. Ce milieu a été préparé à partir d'huile de tournesol brute, il contient donc l' α -tocophérol. Le suivi de l'oxygène est présenté en Figure III-13. Le milieu, initialement à 25 °C, est chauffé pour atteindre 50°C. Lors de cette montée en température, la teneur en oxygène diminue progressivement puis se stabilise une fois que la température désirée a été atteinte. On peut considérer que la teneur en oxygène dans le milieu à 50 °C est égale à 5,6 mg/L (soit 175 μ mol/L) pendant toute la durée de la cinétique. Cette valeur est proche de celle donnée par la table de Winkler à cette température: 5,5 mg/L (soit 172 μ mol/L). Ne disposant pas de sonde capable de fonctionner au delà de 50 °C, nous utiliserons les valeurs de cette table comme référence à 70, 80 et 95 °C.

La teneur en oxygène reste la même au cours du temps, alors que celui ci est consommé lors de réactions d'oxydation. En effet, l'acide ascorbique s'oxyde dans ce milieu comme le montre la Figure III-38 présentée plus loin dans ce chapitre. Notre réacteur peut alors être considéré comme un système ouvert dans lequel l'oxygène consommé est rafraîchi en permanence.

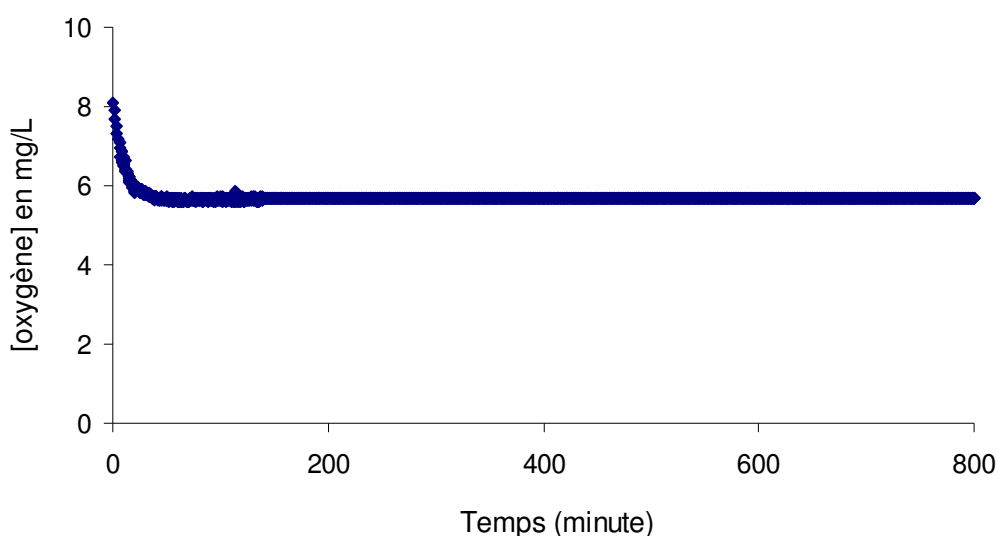


Figure III-13. Suivi de la teneur en oxygène dissous dans le milieu émulsionné à 50 °C

La même expérience a été réalisée sur de l'huile brute (contenant de l' α -tocophérol). Bien que les sondes ne nous donnent pas des valeurs absolues de la teneur en oxygène, nous obtenons tout de même une tendance de son évolution au cours du temps. Cette évolution est présentée sur la Figure III-14. La teneur diminue lorsque la température du milieu passe de 25 à 50 °C,

plus rapidement que pour le milieu modèle émulsionné. La solubilité de l'oxygène dans l'huile se comporterait alors comme en milieu aqueux: elle diminue quand la température augmente. Une fois que la température de 50 °C est atteinte, la valeur de solubilité mesurée est égale à 6,17 mg/L. Elle s'abaisse légèrement en 800 minutes, atteignant 6,07 mg/L.

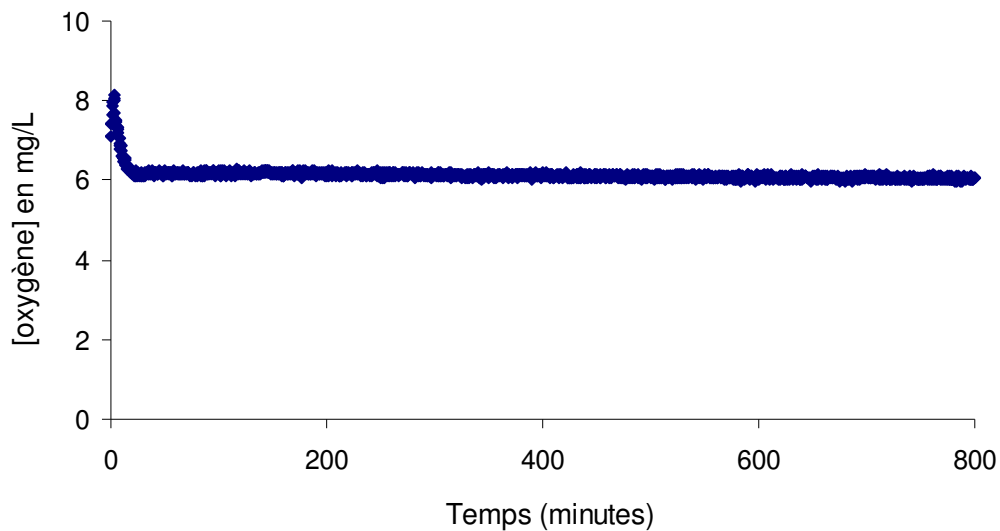


Figure III-14. Suivi de la teneur en oxygène dissous dans le milieu lipidique à 50 °C

IV.2.1.2. Taille des gouttelettes lipidiques dans le milieu modèle émulsionné

Les émulsions sont des systèmes thermodynamiquement instables. Spontanément, elles tendent à retrouver l'état le plus stable pour lequel la surface de contact entre les deux liquides est la plus faible, c'est-à-dire deux phases homogènes séparées. La déstabilisation physique des émulsions peut se faire selon différents mécanismes: la coalescence, la sédimentation ou le crémage. La présence d'agents de texture (comme l'amidon) et/ou d'émulsifiants (phospholipides par exemple) limite ces mécanismes. En revanche, le chauffage a tendance à accélérer la déstructuration des émulsions.

Le milieu modèle émulsionné mis en place va subir un chauffage à 50, 70, 80 ou 90 °C pendant 30 heures. Nous devons alors nous assurer que la structure de ce milieu reste relativement stable au cours de cette période.

Un milieu modèle émulsionné préparé à partir d'une huile brute (contenant de l' α -tocophérol) mais sans l'ajout des marqueurs est chauffé pendant 30 heures à 95 °C. Des prélèvements sont réalisés toutes les 2 heures pour être analysés en granulométrie laser. Les tailles moyennes des gouttelettes lipidiques sont présentées sur la Figure III-15. Les valeurs de $d[4,3]$ et $d[3,2]$ varient peu au cours de la cinétique. L'émulsion semble donc stable sur la période d'étude.

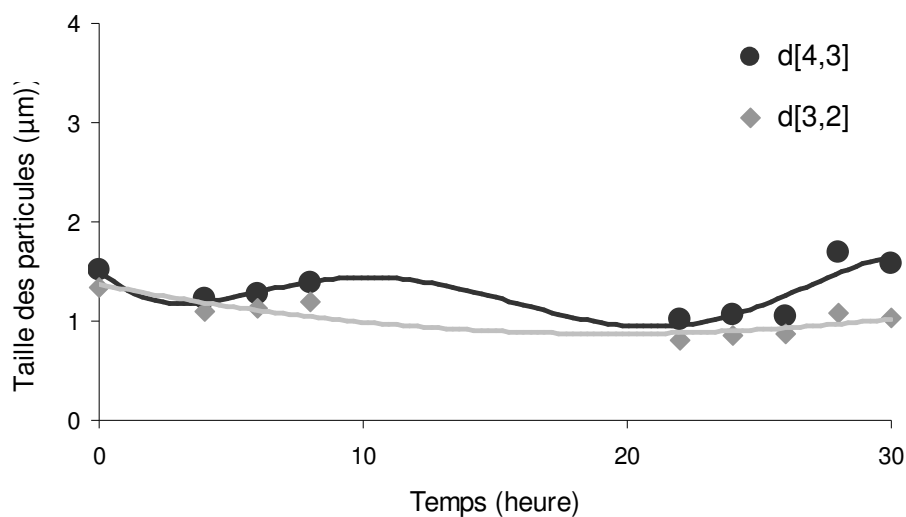


Figure III-15. Evolution du $d[4,3]$ et du $d[3,2]$ des gouttelettes lipidiques dans l'émulsion maintenue à 95 °C pendant 30 heures.

La distribution de taille des particules est également étudiée. La distribution de volume en fonction des tailles des particules est présentée sur la Figure II-16. Dans un souci de clarté,

seules les données correspondant aux prélèvements t0, t4h, t8h, t22h et t30h sont visibles. La distribution de taille évolue fortement au cours du temps. Les deux populations visibles à t0 correspondent aux gouttelettes lipidiques et à l'amidon. Au bout de 4 heures de chauffage, l'amidon a gonflé, ce qui explique la présence de particules de tailles comprises entre 10 et 100 μm . Ces particules sont toujours présentes à t8h, mais la prolongation du chauffage entraîne l'éclatement des granules gonflés. Ainsi, le deuxième jour de la cinétique, les particules retrouvent des tailles proches de celles observées à t0.

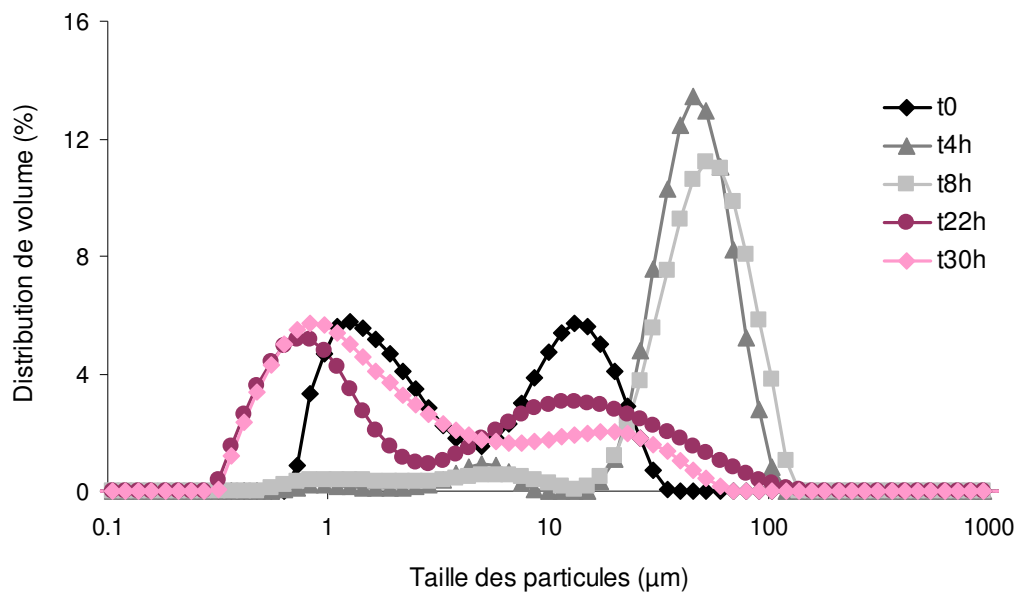


Figure III-16. Evolution de la distribution de volume de l'émulsion maintenue à 95 °C pendant 30 heures.

IV.2.2. Evolution des marqueurs

Les résultats des expériences listées dans le Tableau III-12 sont présentés dans ce paragraphe. Le nombre de données obtenues pour chaque composé étant très important, seules les moyennes des répétitions apparaissent.

La présentation des résultats se fait de cette façon: les cinétiques d'apparition ou de disparition sont présentées pour chaque marqueur d'abord en milieu lipidique (pour les molécules lipophiles: diènes conjugués, trilinoléine, α -tocophérol et caroténoïdes) ou en milieu aqueux (pour les molécules hydrophyles: composés phénoliques et acide ascorbique) puis en émulsion pour tous les marqueurs.

IV.2.2.1. Apparition des diènes conjugués

○ En milieu lipidique

Les cinétiques d'apparition des diènes conjugués en milieu lipidique à 50 °C sont présentées sur la Figure III-17.

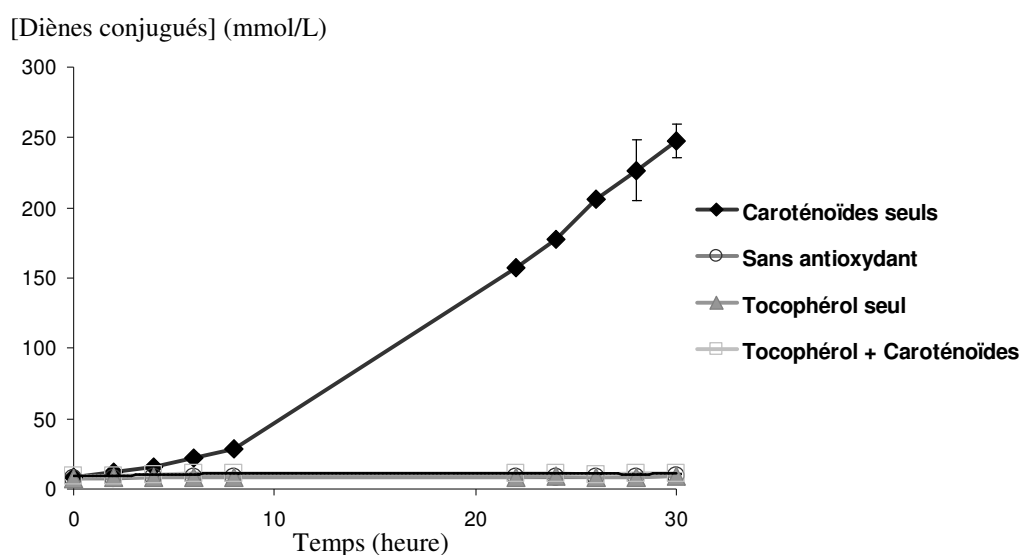


Figure III-17. Apparition des diènes conjugués à 50 °C dans le milieu lipidique.

L'évolution de la teneur en diènes conjugués est similaire à 50 °C dans toutes les conditions étudiées sauf pour l'huile contenant uniquement les caroténoïdes. Ces résultats indiquent que l'oxydation des lipides est très lente ou inexistante à 50 °C sauf quand les caroténoïdes sont seuls dans l'huile. On peut supposer que le (*E*)-lycopène et/ou le (*E*)- β -carotène sont à l'origine de produits aux effets pro-oxydants à cette température ou sont eux-mêmes pro-oxydants. En présence d' α -tocophérol, la production de ces produits ou l'action pro-oxydante de ces produits issus des caroténoïdes est inhibée. Cet effet pro-oxydant a déjà été relaté dans la littérature. Selon les auteurs, les caroténoïdes se comportent comme des antioxydants quand la pression partielle en oxygène du milieu est inférieure à 150 mm Hg (soit $20 \cdot 10^3$ Pa). Mais lorsque les teneurs en oxygène augmentent, ils deviennent pro-oxydants (42-43). Il est probable que ce phénomène a lieu dans le milieu lipidique puisque la teneur en oxygène dans les huiles alimentaires est relativement importante (voir le paragraphe "IV.2.1.1. Teneurs en oxygène et kLa").

La Figure III-18 présente les cinétiques d'apparition des diènes conjugués en milieu lipidique à 95 °C. Nous remarquons que pour toutes les expériences réalisées en milieu lipidique, les diènes conjugués s'accumulent dans le milieu plus rapidement à 95 °C qu'à 50 °C. Une élévation de la température a alors un effet accélérateur sur la vitesse d'oxydation des lipides. En l'absence d'antioxydant, les diènes conjugués apparaissent très rapidement, en particulier au cours des 8 premières heures. Quand les caroténoïdes sont présents, la vitesse d'apparition des diènes conjugués est ralentie en début de cinétique. C'est en présence d' α -tocophérol que la vitesse d'apparition des diènes conjugués est le plus fortement ralentie. Ce composé semble être un bon inhibiteur de l'oxydation lipidique. Quand les caroténoïdes et le tocophérol sont présents, un effet additif de leurs capacités à inhiber l'oxydation lipidique est visible en fin de cinétique.

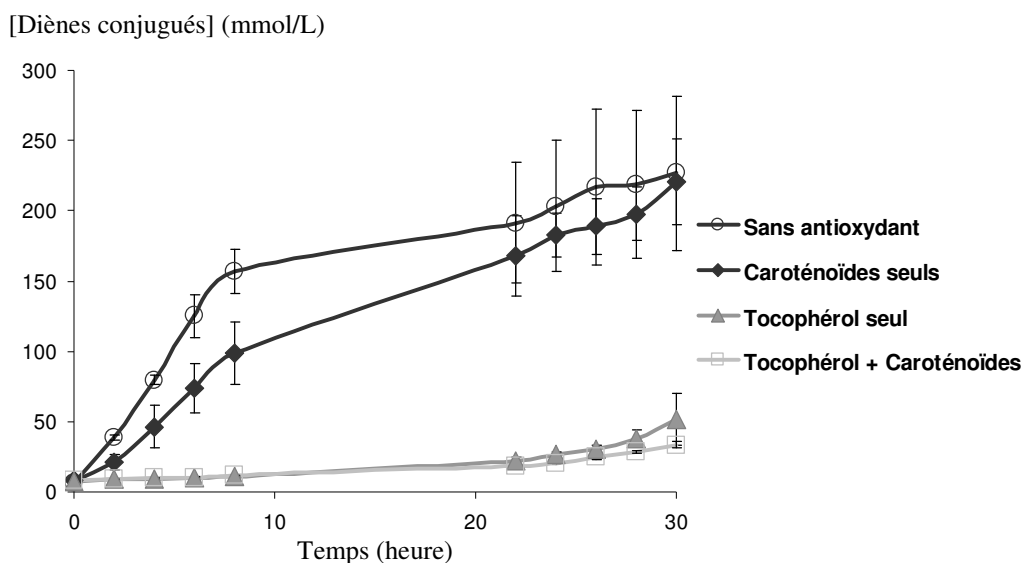


Figure III-18. Apparition des diènes conjugués à 95 °C dans le milieu lipidique.

○ En émulsion

La Figure III-19 présente l'évolution de la teneur en diènes conjugués dans l'émulsion contenant tous les marqueurs, et chauffée à 50, 70, 80 et 95 °C. Les teneurs sont données en mmol/L de gouttelettes lipidiques afin de pouvoir les comparer directement avec les teneurs dans le milieu lipidique. Comme observé en milieu lipidique, l'oxydation est très lente en émulsion à 50 °C. Quand la température augmente, l'oxydation s'accélère. Plus la température est élevée et plus la phase de latence est courte. Mais une fois démarrée, l'oxydation à 70 °C paraît plus rapide qu'à 80 °C, qui elle-même est plus rapide qu'à 95 °C. Des teneurs en oxygène plus importantes à basse température peuvent expliquer ce phénomène. La décomposition des diènes conjugués, plus rapide à haute température, peut également y participer. A 50 °C la teneur en oxygène est plus importante qu'à 70 °C mais, l'énergie apportée par le chauffage n'est probablement pas suffisante pour activer les réactions d'oxydation.

A 95 °C, après une courte phase de latence (2 heures) l'accumulation des diènes conjugués se fait de manière quasi-linéaire jusqu'au dernier prélèvement (t30h). Ce n'est pas le cas à 70 et 80 °C. A ces deux températures, les diènes conjugués apparaissent rapidement après la phase de latence mais leur teneur décline en fin de cinétique. Ce déclin pourrait résulter de leur dégradation en composés secondaires comme des volatils.

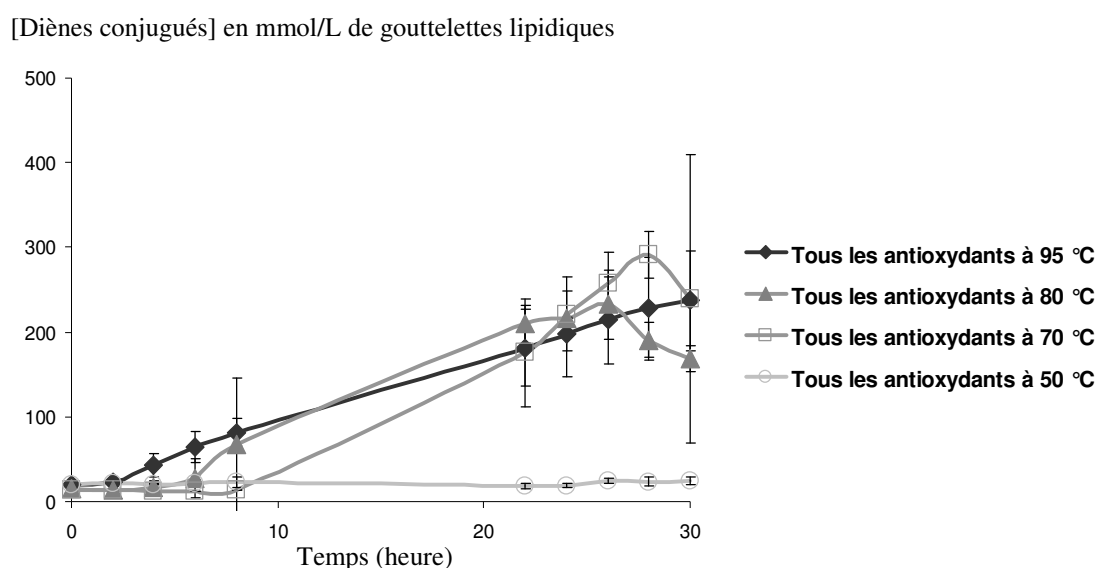


Figure III-19. Apparition des diènes conjugués dans l'émulsion contenant tous les marqueurs.

La Figure III-20 présente l'évolution de la teneur en diènes conjugués dans l'émulsion modèle sans antioxydant chauffée à 50, 70, 80 et 95 °C. A 50 °C, l'oxydation des lipides est aussi lente qu'en présence de tous les antioxydants. Aux températures plus élevées, les phases de latence sont plus courtes qu'en présence de tous les antioxydants et l'oxydation est plus rapide le premier jour. A 70 et 80 °C le déclin des diènes conjugués observé le deuxième jour a lieu plus tôt en l'absence des antioxydants. Ainsi, la présence des microconstituants présents dans le milieu modèle émulsionné semble ralentir l'apparition des diènes conjugués et la dégradation de ceux-ci en composés volatils.

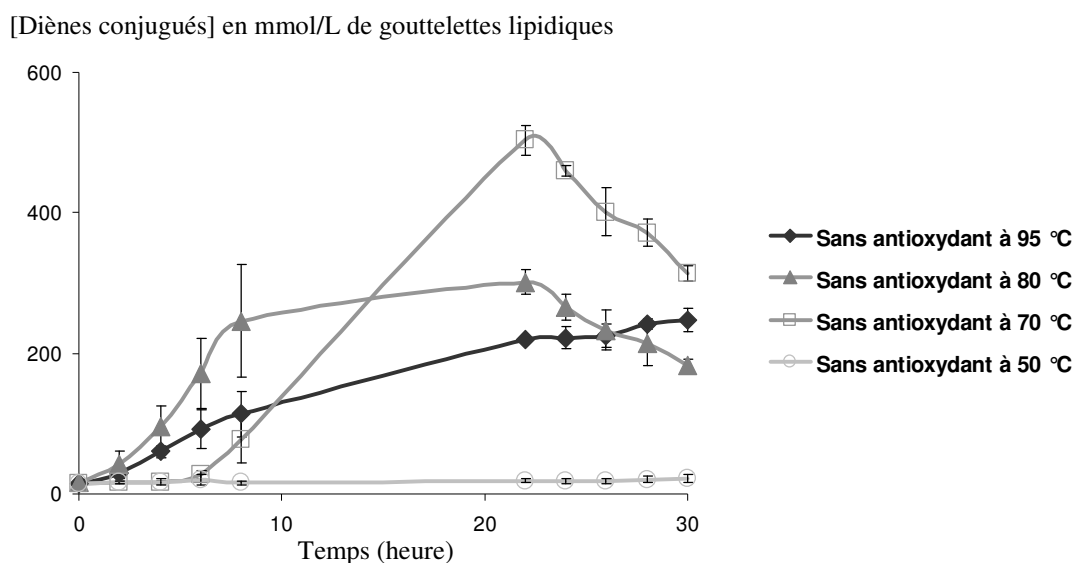


Figure III-20. Apparition des diènes conjugués dans l'émulsion sans antioxydant.

○ **Comparaison milieu lipidique/ milieu émulsionné**

A 50 °C, en émulsion comme en milieu lipidique, l'oxydation est très lente. A 95 °C, en présence de tous les antioxydants lipophiles, l'oxydation lipidique est plus rapide en émulsion qu'en milieu lipidique. La présence de fines gouttelettes lipidiques dans l'émulsion multiplie les surfaces d'échanges pour l'oxygène (ou un autre pro-oxydant) entre les phases aqueuse et lipidique. Des réactions supplémentaires entre constituants lipophiles et composés de la phase aqueuse peuvent donc se dérouler à l'interface.

IV.2.2.2. Evolution de la teneur en trilinoléine

○ En milieu lipidique

Les cinétiques de dégradation de la trilinoléine en milieu lipidique à 50 °C sont présentées sur la Figure III-21. La teneur en trilinoléine est stable sur 30 heures à cette température sauf pour l'huile en présence de caroténoïdes uniquement. Ces résultats sont en accord avec ceux obtenus par le suivi des diènes conjugués dans les mêmes conditions. L'oxydation lipidique est très lente à 50 °C sauf en présence de caroténoïdes seuls car ces composés auraient un pouvoir pro-oxydant dans l'huile à cette température.

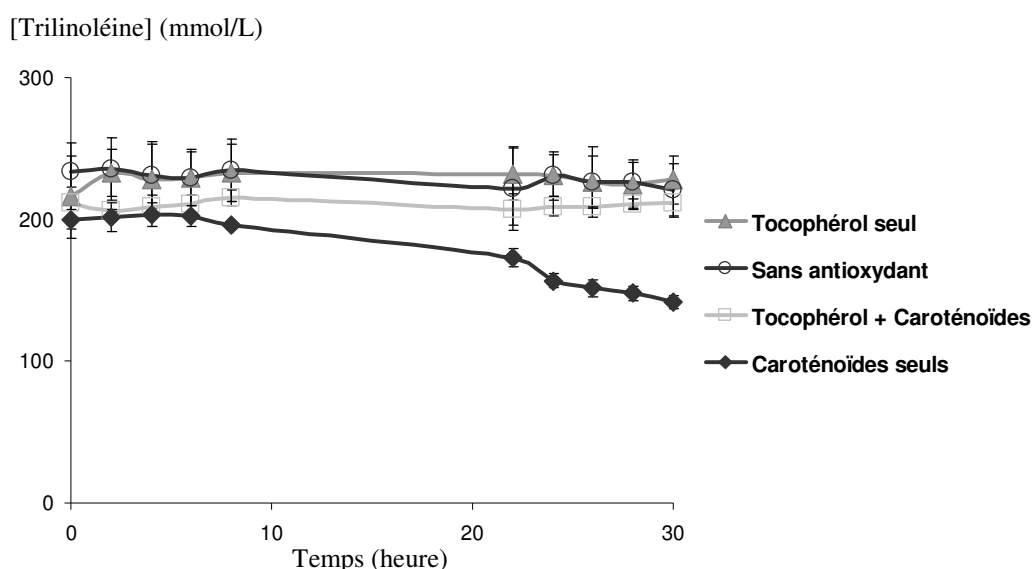


Figure III-21. Disparition de la trilinoléine à 50 °C dans le milieu lipidique.

La Figure III-22 présente les cinétiques de dégradation de la trilinoléine en milieu lipidique à 95 °C. A cette température, ce composé se dégrade significativement dans les milieux sans antioxydant ou en présence de caroténoïdes seuls. Quand l' α -tocophérol est présent, la teneur en trilinoléine est stable au cours du temps. Ces résultats, avec ceux obtenus sur les diènes conjugués (Fig. III-18) confirment que l' α -tocophérol est un bon protecteur des lipides vis-à-vis de l'oxydation.

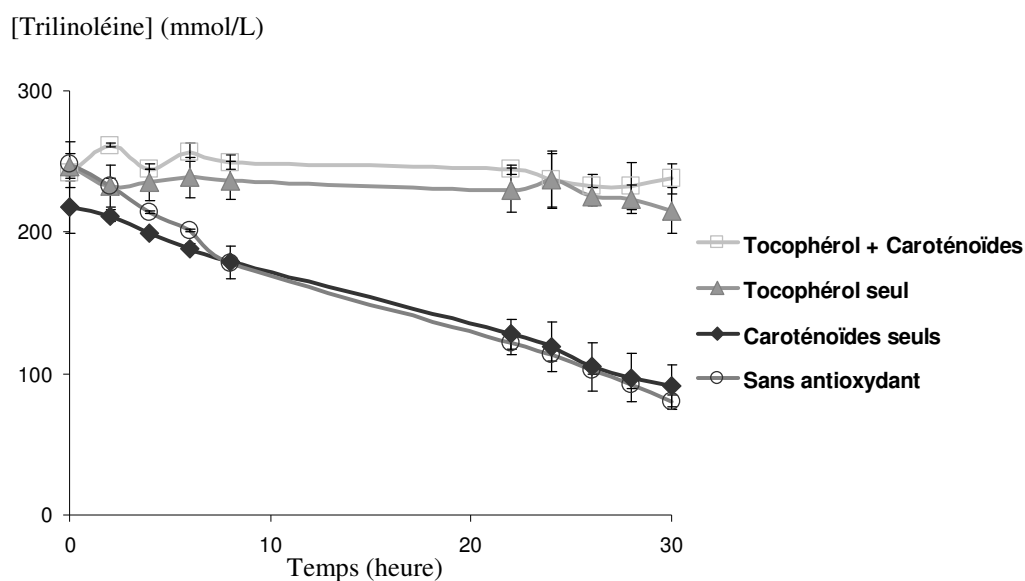


Figure III-22. Disparition de la trilinoléine à 95 °C dans le milieu lipidique.

○ En émulsion

Le suivi de la teneur en trilinoléine dans l'émulsion est présenté sur la Figure III-23.

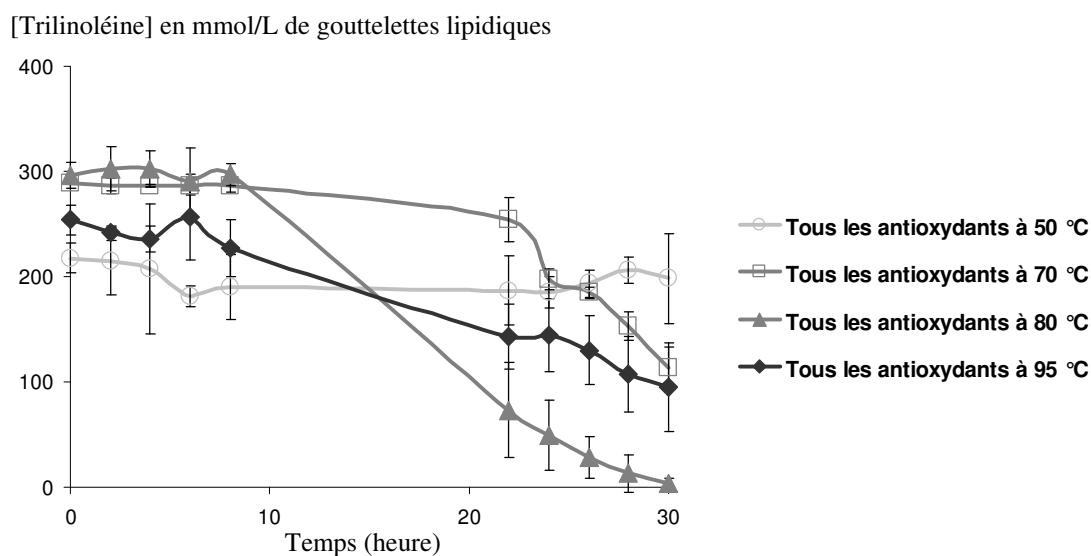


Figure III-23. Disparition de la trilinoléine dans l'émulsion contenant tous les antioxydants.

A 50 °C, la trilinoléine n'est pas dégradée, même après 30 heures de chauffage. Quand la température du milieu est fixée à 70 et 80 °C, elle commence à s'oxyder après respectivement 20 et 8 heures de chauffage. Ce mécanisme d'oxydation semble long à se mettre en place mais est rapide une fois enclenché. Néanmoins à 95 °C, l'oxydation lipidique est moins rapide qu'à 80 °C. Une teneur en oxygène plus faible à haute température peut expliquer ce phénomène. En effet, selon Winkler, la quantité d'oxygène soluble dans l'eau est 3,3 fois plus importante à 80 qu'à 95 °C. L'oxygène serait alors le paramètre limitant l'oxydation de la trilinoléine à 95 °C.

○ **Comparaison milieu lipidique/ milieu émulsionné**

A 95 °C, en présence de tous les antioxydants lipophiles, le comportement de la trilinoléine n'est pas le même en milieu lipidique et en émulsion. Le composé est stable en milieu lipidique alors qu'il se dégrade relativement rapidement dans l'émulsion.. Un parallèle peut-être fait avec les résultats obtenus pour les diènes conjugués puisqu'une oxydation beaucoup plus rapide en émulsion avait été observée. Ce phénomène serait du à la structure du milieu émulsionné qui augmente les interactions éventuelles entre les différents acteurs impliqués dans les réactions d'oxydation des lipides.

IV.2.2.3. Evolution de la teneur en α -tocophérol

○ En milieu lipidique

L'évolution de la teneur en α -tocophérol dans le milieu lipidique à 50 °C est présentée sur la Figure III-24. Cette teneur reste stable sur 30 heures à cette température en présence comme en absence de caroténoïdes.

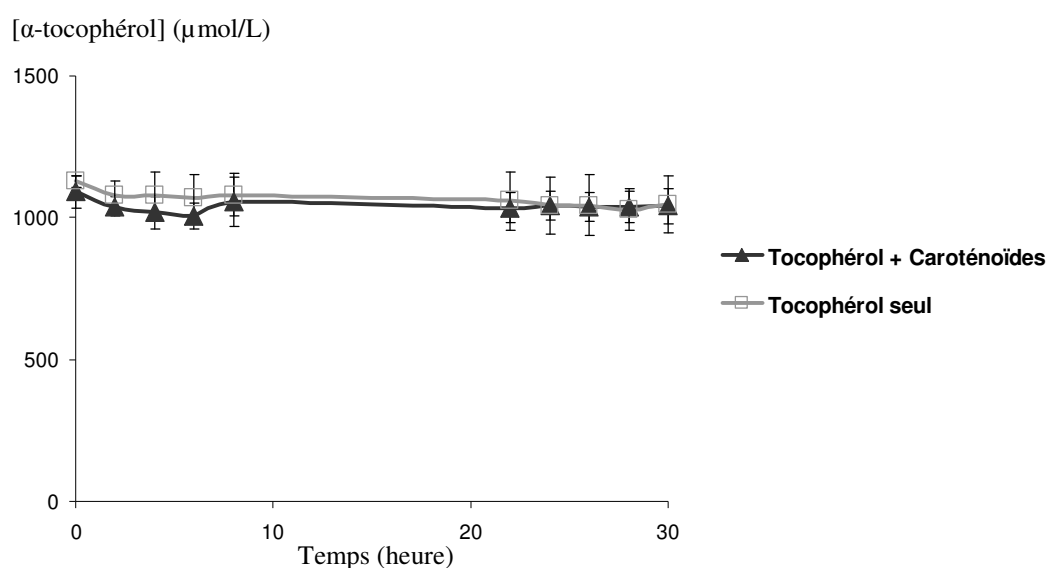


Figure III-24. Evolution de la teneur en α -tocophérol à 50 °C dans le milieu lipidique.

A 95 °C la teneur en α -tocophérol décroît lentement au cours des 8 premières heures de la cinétique pour accélérer le second jour. Cette dégradation serait plus précoce lorsque les caroténoïdes sont absents du milieu. La présence du (*E*)-lycopène et /ou du (*E*)- β -carotène dans le milieu lipidique pourrait limiter l'oxydation de l' α -tocophérol.

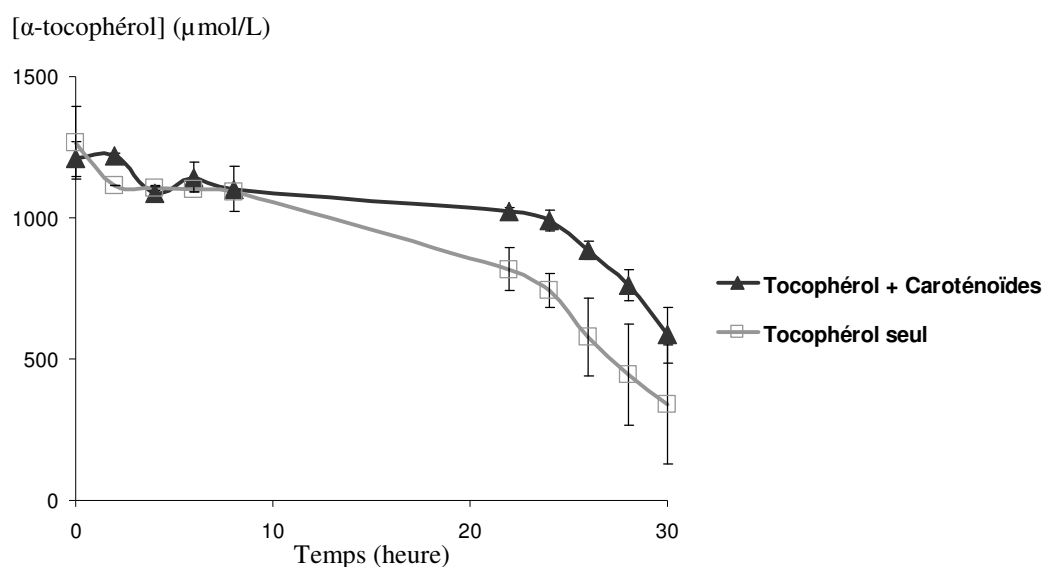


Figure III-25. Evolution de la teneur en α -tocophérol à 95 °C dans le milieu lipidique.

○ **En émulsion**

L'évolution de la teneur en α -tocophérol dans l'émulsion contenant tous les antioxydants est présentée sur la Figure III-26. A 50 °C, la teneur en α -tocophérol décline très lentement. On observe également que plus la température augmente et plus ce composé se dégrade rapidement. Une grande partie de la teneur initiale a disparu en moins de 20 h à 70 °C, en 8 h à 80 °C et en 4 h à 95 °C. Aux températures les plus élevées, la dégradation démarre dès le début de la cinétique, sans pseudo phase de latence.

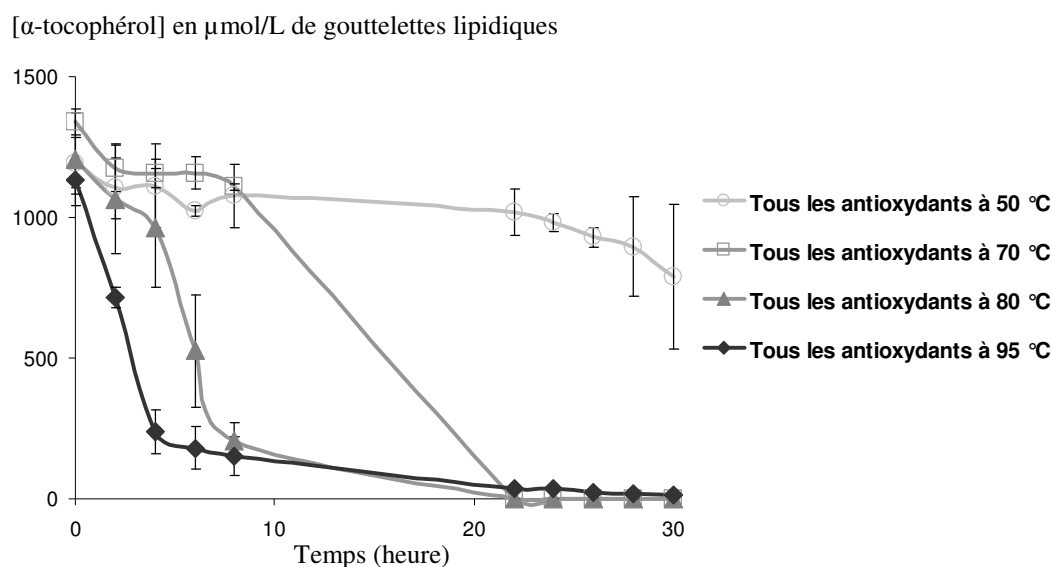


Figure III-26. Evolution de la teneur en α -tocophérol dans l'émulsion contenant tous les antioxydants

○ Comparaison milieu lipidique/ milieu émulsionné

A 95 °C, en présence de tous les antioxydants lipophiles, l'évolution de la teneur en α -tocophérol n'est pas la même en milieu lipidique et en émulsion. La dégradation de ce composé se fait de façon nettement plus rapide en émulsion qu'en milieu lipidique.

IV.2.2.4. Evolution des teneurs en caroténoïdes

○ En milieu lipidique

Le suivi de la teneur en caroténoïdes dans le milieu lipidique à 50 °C est présenté sur la Figure III-27. Les caroténoïdes étant peu solubles dans l'huile, les concentrations initiales mesurées pour les différentes expériences peuvent être très variables. Afin de pouvoir comparer les expériences avec et sans α -tocophérol, les teneurs initiales en (*E*)-lycopène et (*E*)- β -carotène ont été ramenées à la même valeur. Les coefficients multiplicatifs utilisés pour t_0 ont été pris en compte pour les autres points des cinétiques.

En présence d' α -tocophérol, le (*E*)-lycopène et le (*E*)- β -carotène se dégradent bien plus lentement que lorsqu'ils sont seuls dans le milieu. Par ailleurs, la vitesse de disparition du (*E*)- β -carotène est moins importante que celle du (*E*)-lycopène. Le (*E*)- β -carotène semble être moins sensible à l'isomérisation et/ou à l'oxydation.

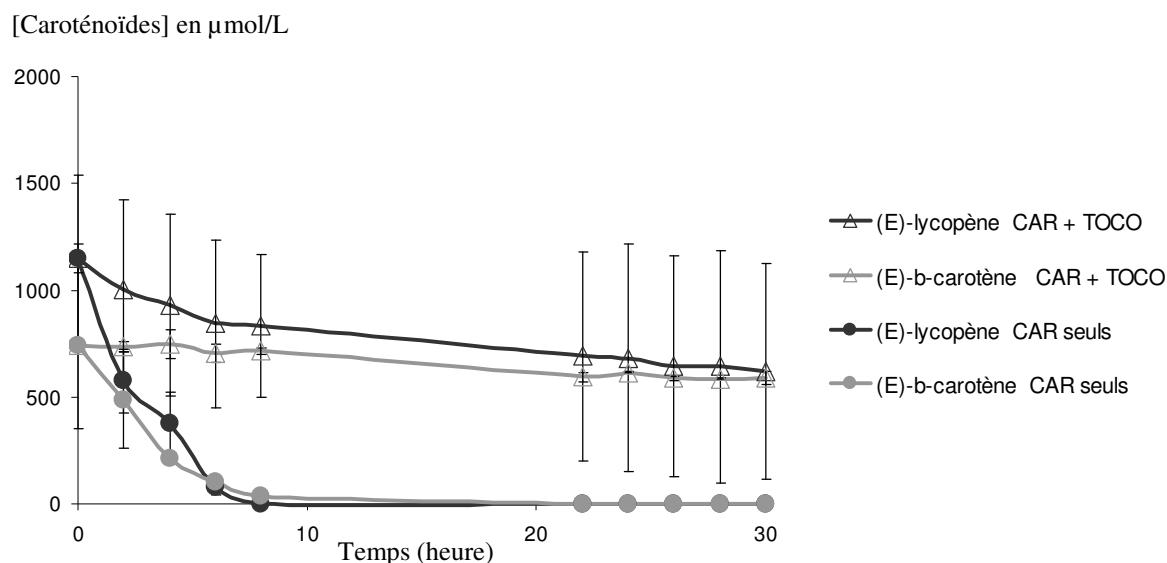


Figure III-27. Evolution des teneurs en caroténoïdes à 50 °C dans le milieu lipidique.

Abréviations : "CAR + TOCO" = milieu lipidique contenant les deux caroténoïdes et l' α -tocophérol, "CAR seuls" = milieu lipidique contenant uniquement les deux caroténoïdes

La Figure III-28 présente l'évolution de la teneur en caroténoïdes dans le milieu lipidique à 95 °C. Comme pour la Figure III-27, les teneurs initiales en (*E*)-lycopène et (*E*)- β -carotène ont été ramenées à la même valeur.

A 95 °C, les caroténoïdes se dégradent plus rapidement qu'à 50 °C et la présence d' α -tocophérol dans le milieu ralentit fortement leur dégradation. Comme observé à faible température, le (*E*)- β -carotène disparaît plus lentement que le (*E*)-lycopène.

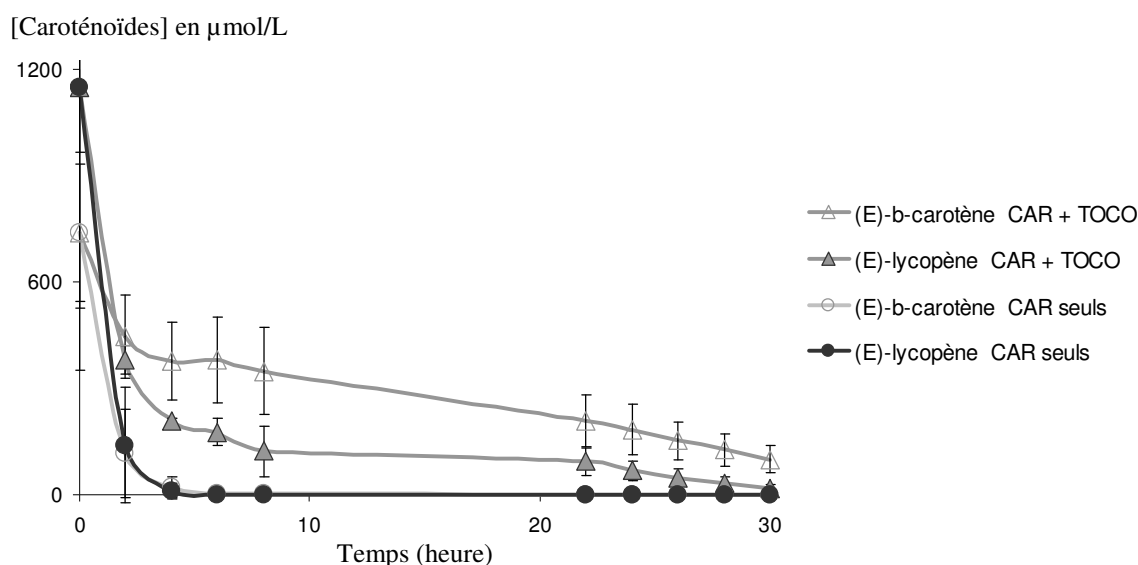


Figure III-28. Evolution des teneurs en caroténoïdes à 95 °C dans le milieu lipidique.

Abréviations : "CAR + TOCO" = milieu lipidique contenant les deux caroténoïdes et l' α -tocophérol, "CAR seuls" = milieu lipidique contenant uniquement les deux caroténoïdes

○ En émulsion

Les résultats obtenus en émulsion concernant l'évolution du (*E*)-lycopène sont présentés sur la Figure III-29 et ceux concernant l'évolution du (*E*)- β -carotène sont présentés sur la Figure III-30. Les vitesses de disparition de ces composés s'accroissent lorsque la température augmente sauf pour le (*E*)-lycopène entre 50 et 70 °C. Par ailleurs, le (*E*)- β -carotène semble légèrement plus stable que le (*E*)-lycopène.

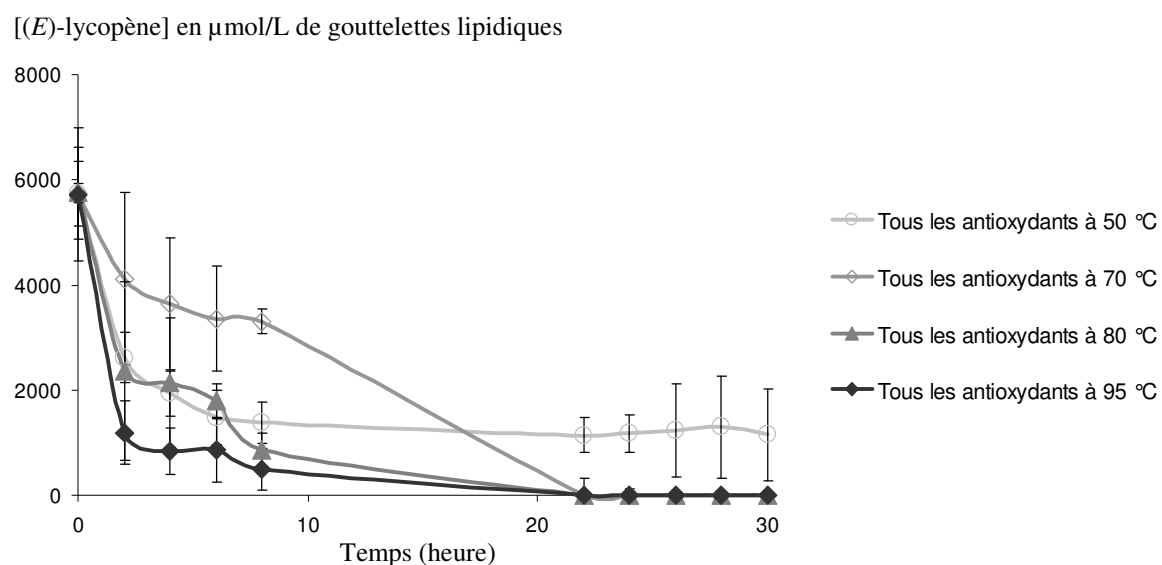


Figure III-29. Evolution des teneurs en (E)-lycopène dans l'émulsion contenant tous les antioxydants.

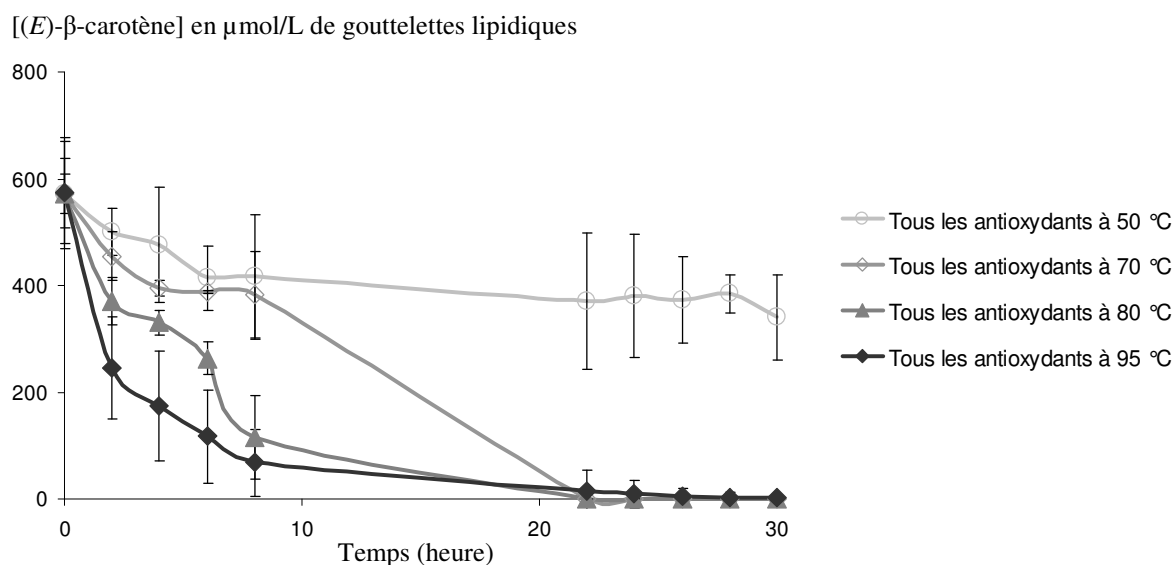


Figure III-30. Evolution des teneurs en (E)- β -carotène dans l'émulsion contenant tous les antioxydants.

○ **Comparaison milieu lipidique/ milieu émulsionné**

A 95 comme à 50 °C, la disparition des caroténoïdes est plus rapide en émulsion qu'en milieu lipidique contenant tous les antioxydants lipophiles. Comme évoqué pour la disparition de la trilinoléine, la structure du milieu émulsionné augmenterait les interactions entre les composés impliqués dans les réactions d'oxydation.

IV.2.2.5. Evolution des teneurs en composés phénoliques

○ En milieu aqueux

L'évolution des teneurs en composés phénoliques dans le milieu aqueux à 50 °C est présentée sur la Figure III-31. En présence ou non d'acide ascorbique, les teneurs restent quasi-stables sur 30 heures à cette température.

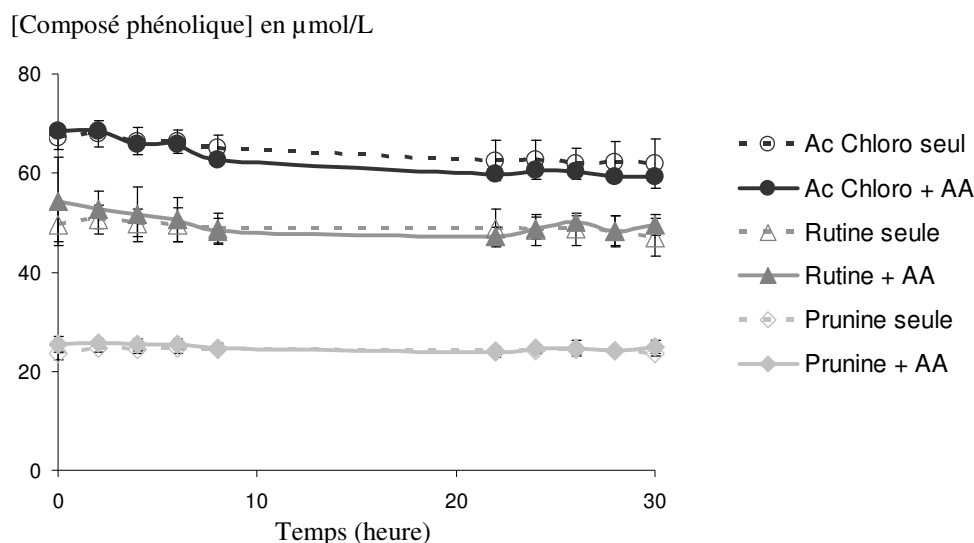


Figure III-31. Evolution des teneurs en acide chlorogénique, en rutine et en prunine à 50 °C dans le milieu aqueux en présence ou non d'acide ascorbique (AA).

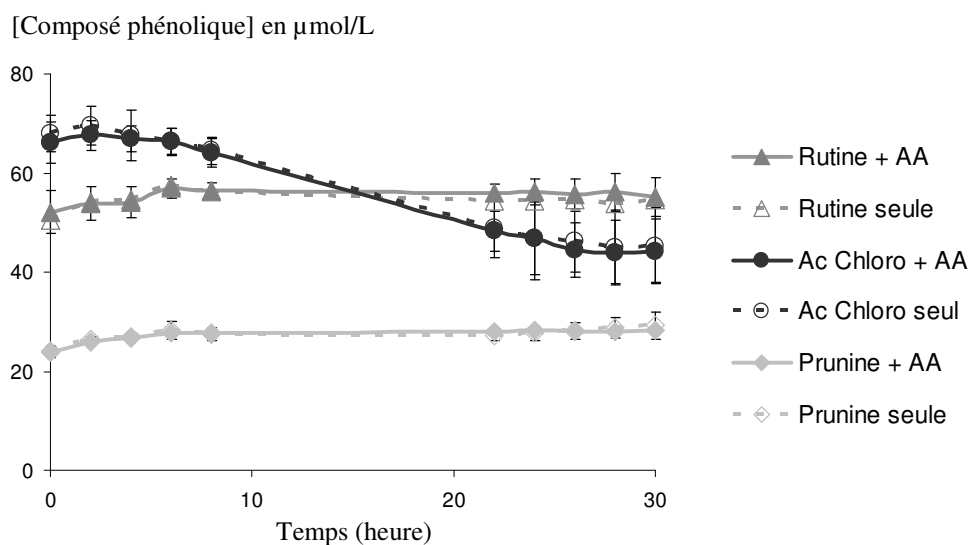


Figure III-32. Evolution des teneurs en acide chlorogénique, en rutine et en prunine à 95 °C dans le milieu aqueux en présence ou non d'acide ascorbique (AA).

L'évolution des teneurs en composés phénoliques dans le milieu aqueux à 95 °C est présentée sur la Figure III-32. A cette température, les teneurs en prunine et rutine restent stables pendant les 30 heures de la cinétique. Les teneurs en acide chlorogénique diminuent d'environ 33 % après un chauffage de 30 heures à 95 °C. Ces données sont les mêmes en présence ou non d'acide ascorbique. Ce composé n'a donc aucune influence sur la stabilité des composés phénoliques dans le milieu aqueux à 95 °C comme à 50 °C.

○ **En émulsion**

L'évolution des teneurs en acide chlorogénique, rutine et prunine en émulsion est présentée sur les Figures III-33, III-34 et III-35, respectivement. A 50 °C, les teneurs sont stables sur 30 heures pour les trois composés. Aux autres températures, la vitesse de disparition des composés s'accélère quand la température augmente. Parmi les composés phénoliques étudiés, l'acide chlorogénique est plus sensible à l'oxydation que la rutine. La prunine est un composé très stable, pour lequel une dégradation significative a été observée uniquement à 95 °C. La faible réactivité de ce composé s'explique par sa structure chimique monophénolique très peu oxydable.

Les différentes sensibilités à l'autooxydation de ces trois composés sont directement liées à leurs potentiels redox. En effet, le potentiel redox de la rutine ($E^\circ = 0,6 \text{ V}$) est plus élevé que celui de l'acide chlorogénique ($E^\circ = 0,54 \text{ V}$) (44). Le potentiel redox de la prunine n'est pas disponible dans la littérature.

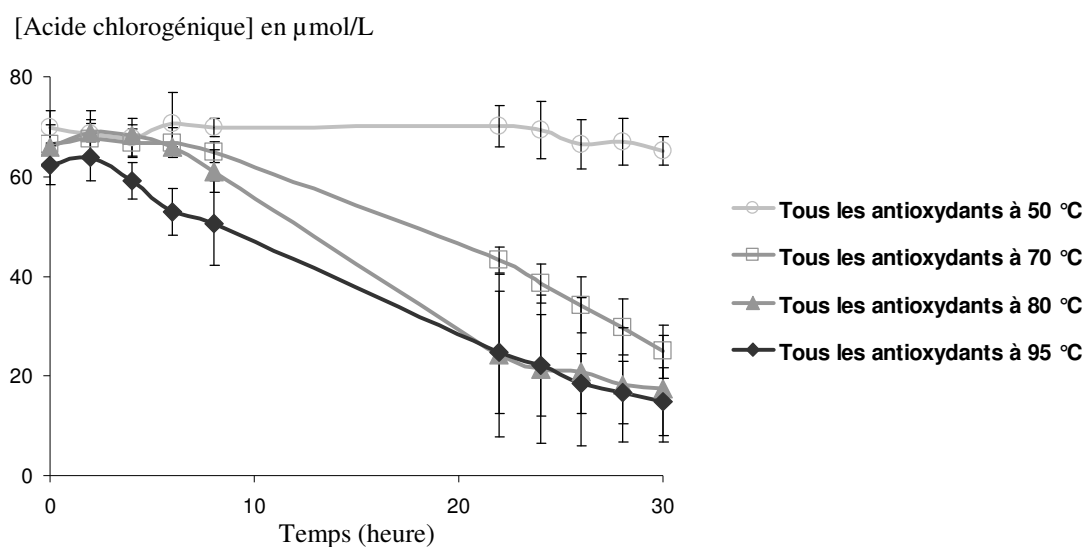


Figure III-33. Evolution des teneurs en acide chlorogénique dans l'émulsion contenant tous les antioxydants.

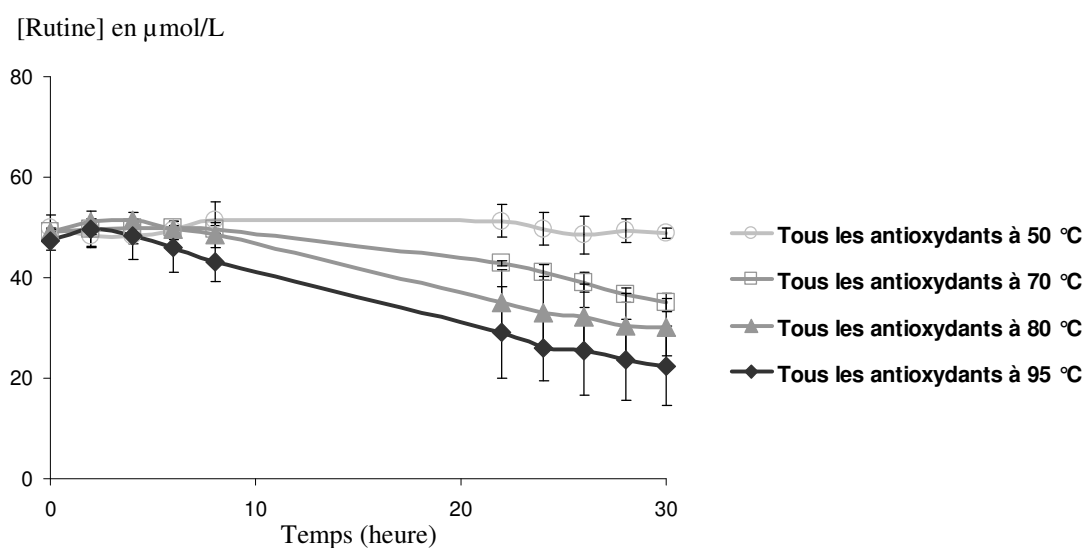


Figure III-34. Evolution des teneurs en rutine dans l'émulsion contenant tous les antioxydants.

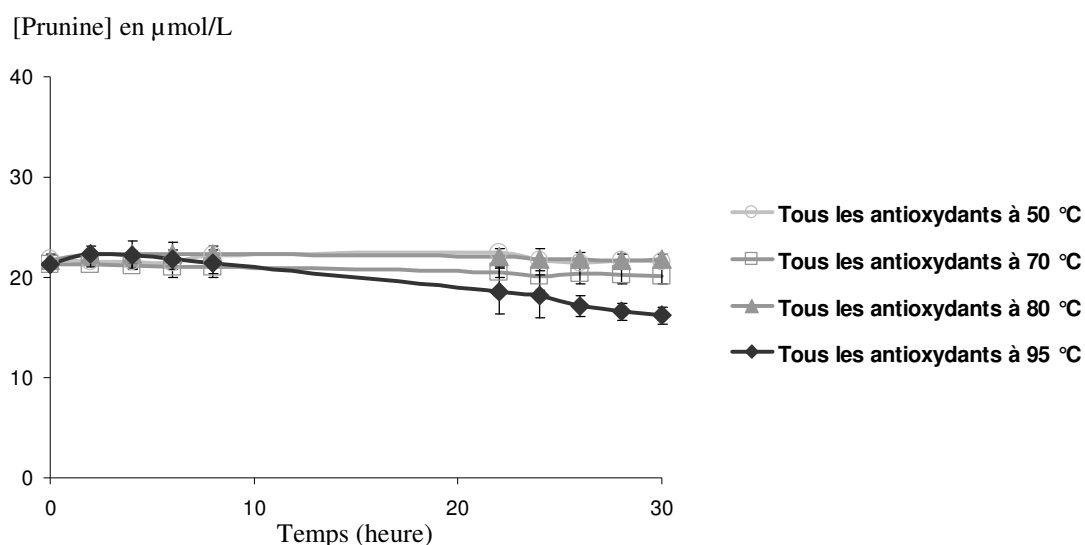


Figure III-35. Evolution des teneurs en prunine dans l'émulsion contenant tous les antioxydants.

○ Comparaison milieu lipidique/ milieu émulsionné

A 50 °C, aucune dégradation des composés phénoliques n'a été observée en émulsion et en milieu aqueux. A 95 °C, les composés se dégradent bien plus rapidement en émulsion qu'en milieu aqueux. Le suivi des teneurs en trilinoléine et en diènes conjugués a révélé que les réactions d'oxydation des lipides dans l'émulsion étaient quasi-inexistantes à 50 °C mais bien présentes à des températures supérieures. Ainsi, même si les lipides et les polyphénols ne se situent pas dans les mêmes phases de l'émulsion, l'oxydation lipidique influence la dégradation des composés phénoliques.

IV.2.2.6. Evolution de la teneur en acide ascorbique

○ En milieu aqueux

L'évolution de la teneur en acide ascorbique dans le milieu aqueux à 50 °C est présentée sur la Figure III-36. Ce composé se dégrade rapidement à cette température et disparaît totalement du milieu en 5 heures. La présence des polyphénols dans le milieu n'a pas d'impact sur la vitesse de dégradation de l'acide ascorbique.

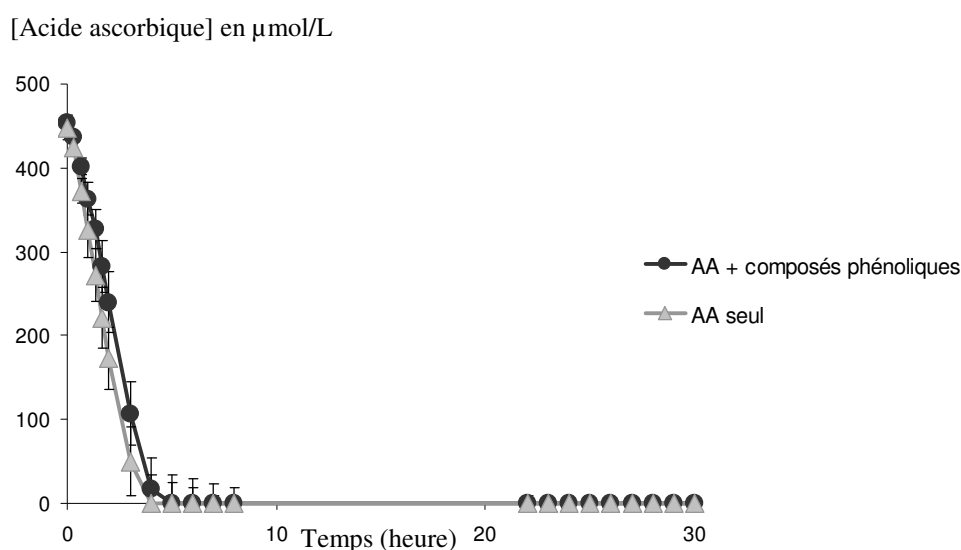


Figure III-36. Evolution de la teneur en acide ascorbique à 50 °C dans le milieu aqueux en présence ou non des 3 composés phénoliques.

La Figure III-37 présente l'évolution de la teneur en acide ascorbique dans le milieu aqueux à 95 °C. A cette température, ce composé se dégrade moins rapidement qu'à 50 °C. En effet, il est toujours présent dans le milieu après 8 heures de chauffage à 95 °C. Ce phénomène est inattendu car une augmentation de la température accélère généralement les réactions chimiques. Dans ce cas, la vitesse de réaction dépend donc également de la teneur en oxygène dans le milieu. Or, cette teneur s'amenuise quand la température augmente dans les milieux aqueux. D'après la table de Winkler (Tableau III-14), la teneur en oxygène dans l'eau est de 172 µmol/L (soit 5,50 mg/L) à 50 °C et n'est que de 27 µmol/L (soit 0,86 mg/L) à 95°C. L'oxygène est alors présent dans des quantités 6 fois plus importantes à 50 °C qu'à 95 °C où il apparaît réellement comme un réactif limitant par rapport à l'acide ascorbique (présent dans

des concentrations proches de 450 μM). Ceci expliquerait la disparition plus rapide de l'acide ascorbique à 50 °C qu'à 95 °C dans le milieu aqueux.

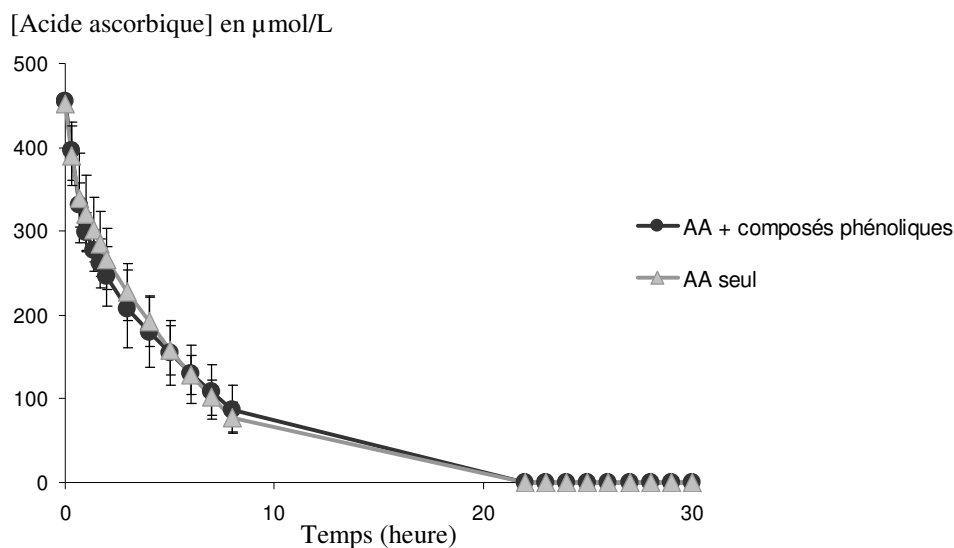


Figure III-37. Evolution de la teneur en acide ascorbique à 95 °C dans le milieu aqueux en présence ou non des 3 composés phénoliques.

○ **En émulsion**

En milieu émulsionné, la disparition de l'acide ascorbique est fortement accélérée quand la température augmente, comme le montre la Figure III-38. A 50 °C, sa dégradation est très lente puisque après 30 heures de chauffage, seulement 31 % de la teneur initiale a disparu.

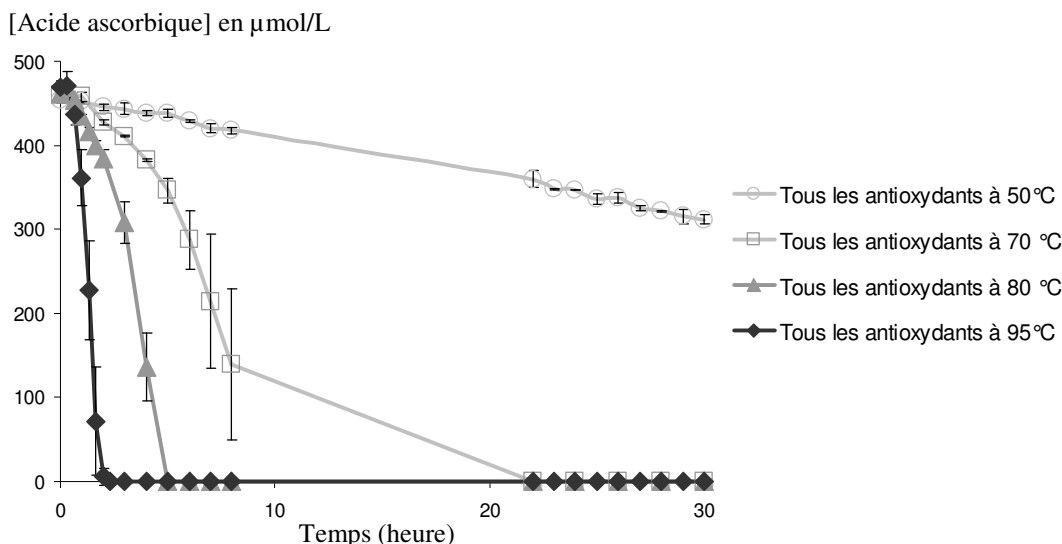


Figure III-38. Evolution de la teneur en acide ascorbique dans l'émulsion contenant tous les antioxydants.

○ **Comparaison milieu lipidique/ milieu émulsionné**

Les évolutions observées en milieu aqueux et en émulsion sont très différentes. En milieu aqueux la disparition de ce composé est plus rapide à 50 qu'à 95 °C alors que le phénomène inverse a lieu en milieu émulsionné. L'oxydation lipidique qui a lieu dans les gouttelettes de l'émulsion (à 70, 80 et 95 °C) est certainement responsable de la dégradation rapide de l'acide ascorbique en émulsion à température élevée. A 50 °C, l'oxydation lipidique est quasi-inexistante mais ceci n'explique pas une dégradation plus lente en émulsion qu'en milieu aqueux. Il est possible qu'un élément provenant de l'huile prévient l'oxydation de l'acide ascorbique ou régénère l'acide déhydroascorbique en acide ascorbique. L'huile utilisée contient naturellement de l' α -tocophérol. Or, des interactions entre acide ascorbique et tocophérol ont été évoquées par certains auteurs (45). Ceci pourrait expliquer en partie le phénomène observé à 50 °C en émulsion. Dans les milieux modèles, la dégradation de l'acide ascorbique semble dépendre de plusieurs paramètres. Elle est influencée par la teneur en oxygène dans le milieu, la température, l'oxydation lipidique en émulsion et la présence

éventuelle d' α -tocophérol. D'autres part, la structure de l'émulsion et la présence de phospholipides à l'interface et en liposomes pourraient être à l'origine de la protection observée à 50 °C. Dans ce cas, il s'agirait d'une protection physique.

En comparaison des composés phénoliques, l'acide ascorbique se dégrade bien plus vite en milieu aqueux et en émulsion. Ceci s'explique par son fort pouvoir réducteur. En effet, son potentiel redox est de -0,29 V alors que ceux de l'acide chlorogénique et de la rutine sont respectivement de 0,54 et 0,6 V (44).

D'après les résultats obtenus concernant l'acide ascorbique et les composés phénoliques, il apparaît qu'en émulsion les composés hydrophiles interagissent avec des éléments de la phase lipidique. L'interface entre les deux phases semble être un lieu où les échanges et les réactions sont intenses.

IV.2.3. Expériences complémentaires

IV.2.3.1. Evolution des antioxydants en présence de fer

D'après la littérature, la présence de métaux de transitions (fer, cuivre) initie l'oxydation lipidique et entraîne une accélération de la dégradation des microconstituants antioxydants (15, 17, 46). Par ailleurs, ces métaux sont présents dans les tomates fraîches et les produits à base de tomate. Selon la base de données USDA, ce fruit contiendrait 0,27 mg/100 g de fer (en matière fraîche) et 0,059 mg/100g de cuivre (en matière fraîche); une sauce tomate contiendrait environ 0,75 mg/100g de fer et 0,20 mg/100g de cuivre (en matière fraîche) (47). Il est alors intéressant d'étudier l'impact de la présence de fer dans notre milieu modèle émulsionné.

Des traces de métaux sont susceptibles d'être présentes dans le tampon et l'huile utilisés pour les milieux modèles. Une analyse des teneurs en fer, cuivre, manganèse et zinc a été réalisée par le laboratoire Galys sur le milieu émulsion et l'huile. Les résultats (présentés en Annexe 2) révèlent des teneurs inférieures aux seuils de détection pour ces quatre métaux dans les deux milieux (0,05 mg/kg et 0,02 mg/kg pour le fer et le cuivre respectivement). Pour le milieu aqueux, il est possible de déterminer les teneurs approximatives en fer et en cuivre dans le tampon d'après les données disponibles sur les emballages de l'acide acétique et de l'acétate de sodium. Les concentrations maximales dans le tampon sont les suivantes:

$$[\text{Fer}] = 1,91.10^{-4} \text{ mg.L}^{-1}$$

$$[\text{Cuivre}] = 4,14.10^{-4} \text{ mg.L}^{-1}$$

Il n'est pas possible de déterminer précisément les quantités de métaux apportées par l'huile de tournesol. Selon des données de la littérature, l'huile de tournesol contiendrait environ 2 ppb (soit 2 $\mu\text{g.kg}^{-1}$) de cuivre et 94 ppb de fer (soit 94 $\mu\text{g.kg}^{-1}$) (48).

En prenant en compte ces valeurs, il est possible de déterminer les teneurs théoriques en fer et cuivre dans le milieu émulsionné:

$$[\text{Fer}] = 2,03 \mu\text{g.L}^{-1} \text{ soit } 36,29.10^{-3} \mu\text{mol.L}^{-1}$$

$$[\text{Cuivre}] = 0,44 \mu\text{g.L}^{-1} \text{ soit } 6,99.10^{-3} \mu\text{mol.L}^{-1}$$

Les milieux modèles contiennent donc des quantités de métaux extrêmement faibles. Ces éléments ont toutefois pu intervenir dans les réactions observées au sein des trois milieux modèles.

Afin d'étudier l'impact de la présence de fer dans le milieu émulsionné, une quantité proche de celle existante dans une sauce tomate industrielle est ajoutée. Le milieu modèle testé contient ainsi $135 \mu\text{mol.L}^{-1}$ de nitrate de fer III ($\text{Fe}(\text{NO}_3)_3$). Cette teneur a été déterminée d'après la teneur en fer dans les sauces tomate donnée par la base de données USDA qui est égale à environ $0,75 \text{ mg}/100\text{g}$ de produit frais (47).

Le milieu modèle contenant tous les antioxydant ou aucun antioxydant est chauffé à $50 \text{ }^\circ\text{C}$. La cinétique est suivie sur 8 heures. Les prélèvements se font toutes les heures, sauf pour l'acide ascorbique. Ce composé se dégrade rapidement, sa teneur sera alors déterminée toutes les 20 minutes au cours des deux premières heures.

○ **Apparition des diènes conjugués**

L'évolution des diènes conjugués dans l'émulsion contenant tous les antioxydants ou aucun antioxydant, en présence de fer(III), est présentée sur la Figure III-39. Les données obtenues en l'absence de fer, déjà présentées dans le paragraphe "IV.2.2.1. Apparition des diènes conjugués" sont indiquées sur cette même figure.

En présence de fer(III), les diènes conjugués apparaissent rapidement. Ces résultats montrent l'effet initiateur du fer vis-à-vis de l'oxydation lipidique dans le milieu émulsionné. Le pouvoir antioxydant des microconstituants présents semble très léger. En effet, l'apparition des diènes conjugués n'est que très peu ralentie en leur présence.

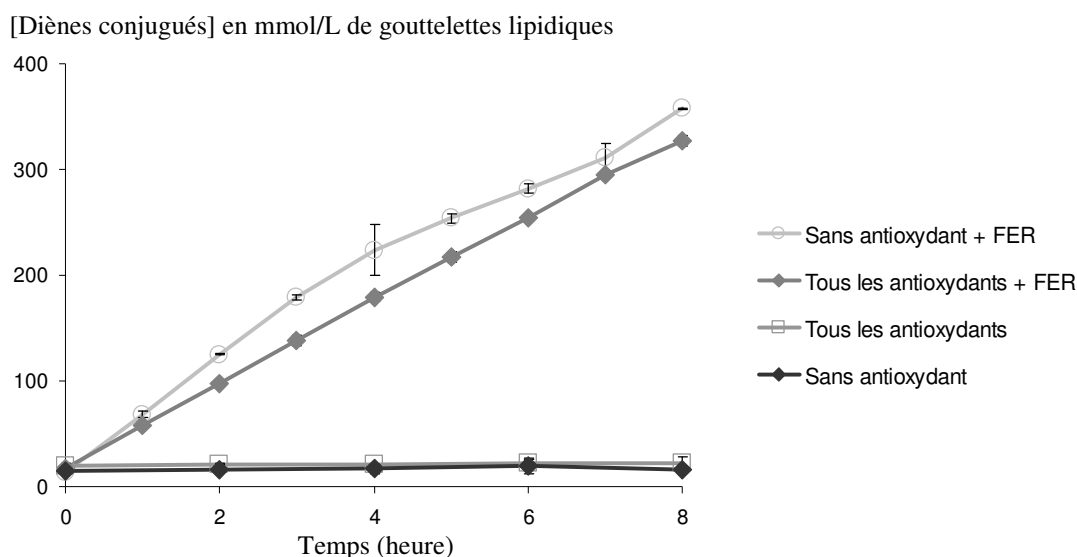


Figure III-39. Apparition des diènes conjugués dans l'émulsion à 50 °C.

○ **Evolution de la teneur en trilinoléine**

Le suivi de la teneur en trilinoléine dans le milieu émulsionné à 50 °C est présenté sur la Figure III-40. Bien que la teneur en trilinoléine soit relativement stable sur 8 heures, la présence de fer(III) entraîne une dégradation deux fois plus rapide de ce composé. En effet, au bout de 8 heures de chauffage, la perte en trilinoléine est de 30 % en présence de fer et de 13 % seulement en l'absence d'ions métalliques.

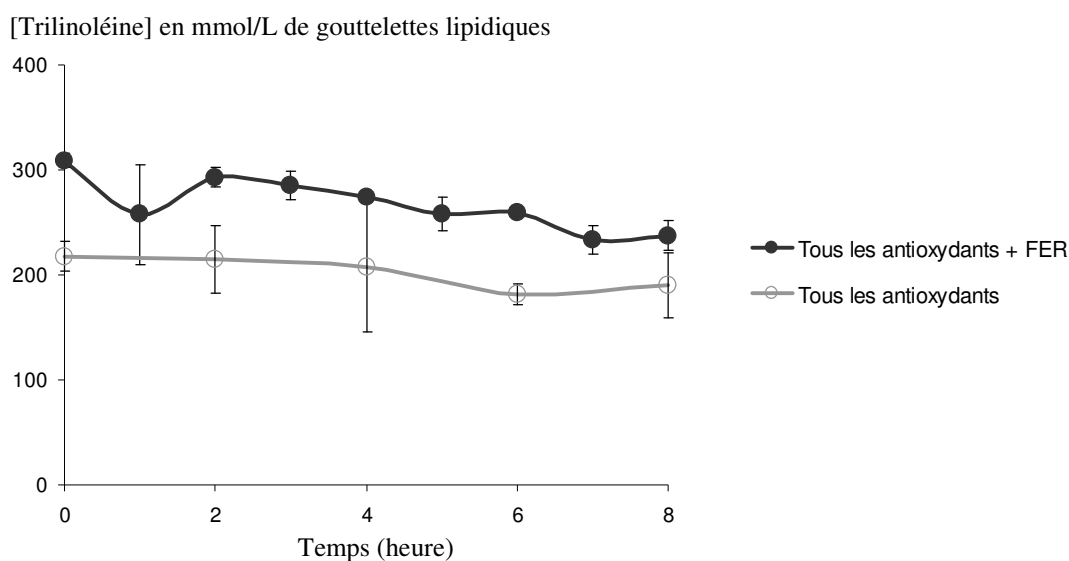


Figure III-40. Evolution de la teneur en trilinoléine dans l'émulsion à 50 °C contenant tous les antioxydants.

○ **Evolution de la teneur en α -tocophérol**

La Figure III-41 présente l'évolution de la teneur en α -tocophérol dans l'émulsion contenant tous les antioxydants à 50 °C en présence ou non de fer(III). Il apparaît clairement que l'ajout de fer dans le milieu accélère la dégradation de cet antioxydant. En effet, il disparaît rapidement au cours de la première heure de chauffage puis sa dégradation est ralentie.

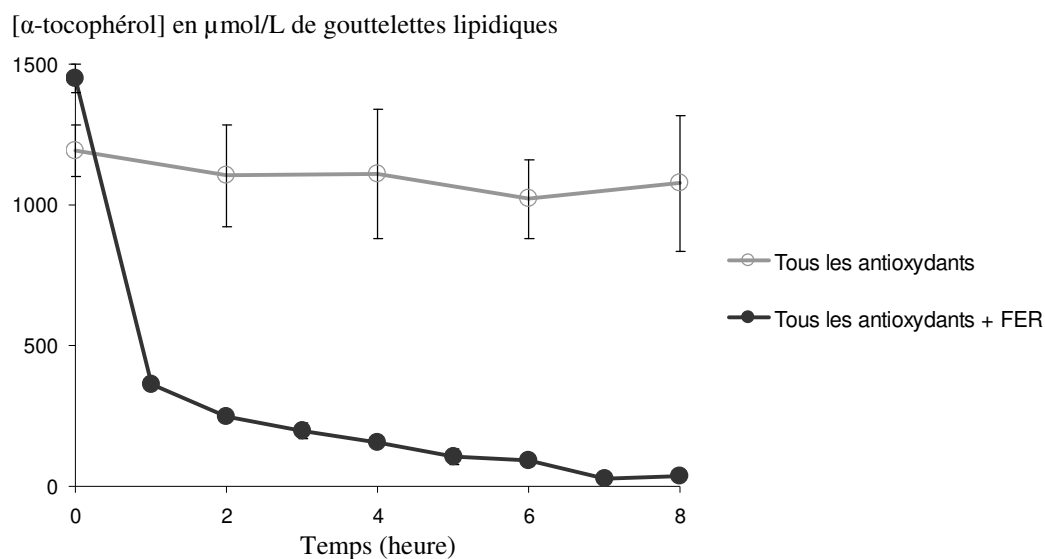


Figure III-41. Evolution de la teneur en α -tocophérol dans l'émulsion à 50 °C contenant tous les antioxydants.

○ **Evolution des teneurs en caroténoïdes**

L'évolution des teneurs en caroténoïdes dans l'émulsion en présence de fer(III) et de tous les antioxydants étudiés est présentée en Figure III-42. L'ajout de fer dans le milieu accélère la dégradation de ces microconstituants. Après 8 heures de chauffage à 50 °C, le (*E*)- β -carotène a presque totalement disparu alors qu'en absence de fer, il subsiste encore 73 % de la teneur initiale dans le milieu. Concernant le (*E*)-lycopène, 92 % de la teneur initiale est dégradée au bout de 8 heures en présence de fer, contre 76 % en l'absence d'ions métalliques.

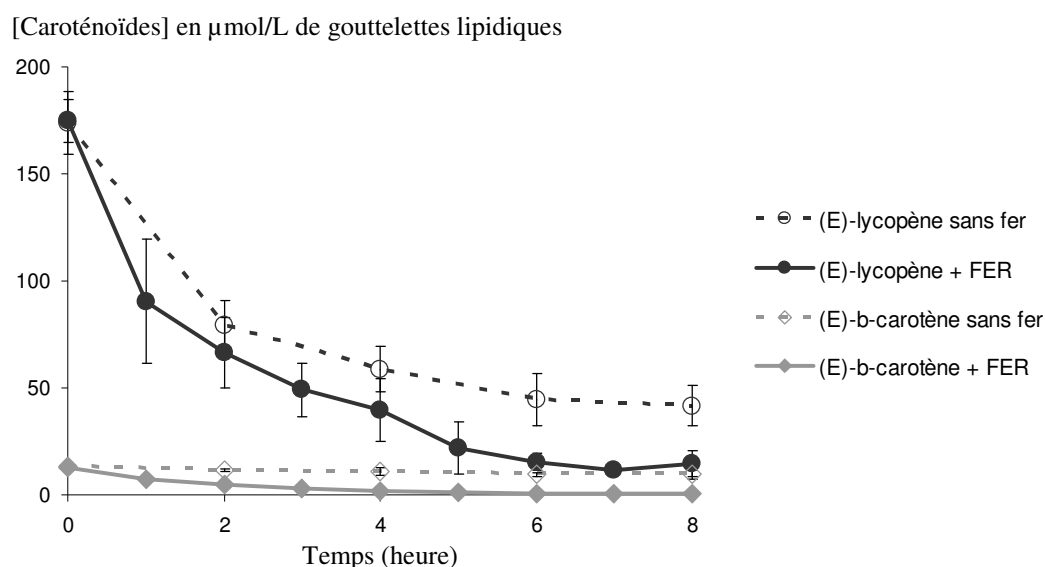


Figure III-42. Evolution des teneurs (*E*)-lycopène et (*E*)- β -carotène dans l'émulsion à 50 °C contenant tous les antioxydants.

○ **Evolution des teneurs en composés phénoliques**

La Figure III-43 présente l'évolution des teneurs en composés phénoliques dans l'émulsion à 50 °C en présence ou non de fer(III). En l'absence d'ions métalliques, les teneurs en acide chlorogénique, rutine et prunine sont constantes sur 30 heures à cette température. L'ajout de fer(III) dans le milieu induit une dégradation de l'acide chlorogénique et de la rutine, très rapide au cours de la première heure de chauffage puis ralentie. Ce phénomène avait déjà été observé pour la rutine par Makris et Rossiter (15) dans un milieu aqueux à pH 8 chauffé à 97 °C. La prunine, très peu oxydable de part sa structure chimique, n'est absolument pas affectée par la présence du fer(III).

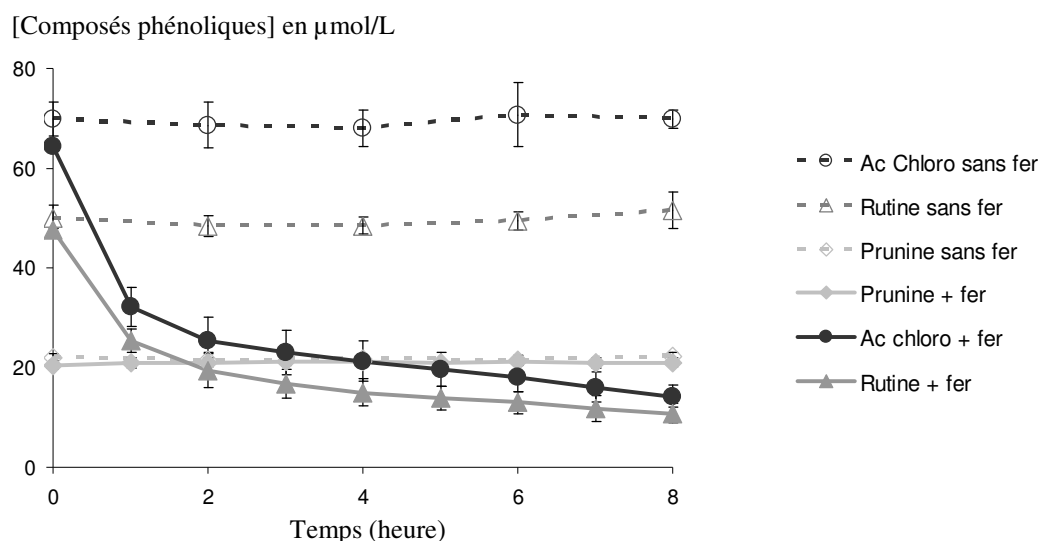


Figure III-43. Evolution des teneurs en acide chlorogénique, rutine et prunine dans l'émulsion à 50 °C contenant tous les antioxydants.

○ **Evolution de la teneur en acide ascorbique**

L'évolution de la teneur en acide ascorbique dans l'émulsion à 50 °C est présentée sur la Figure III-44. La présence de fer(III) dans ce milieu entraîne une disparition très rapide de ce composé. En effet, la totalité de l'acide ascorbique disparaît en moins de 20 minutes alors qu'en absence de fer cet antioxydant n'est quasiment pas dégradé après un chauffage de 8 heures.

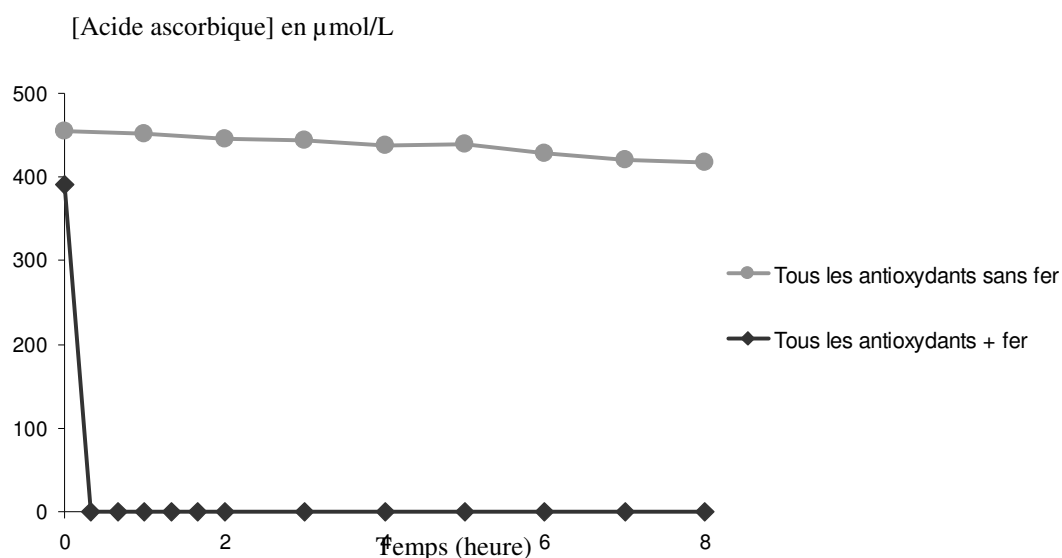
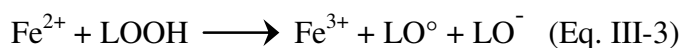
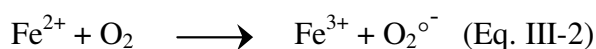


Figure III-44. Evolution de la teneur en acide ascorbique dans l'émulsion à 50 °C contenant tous les antioxydants (n=2).

La présence de nitrate de fer III dans le milieu émulsionné à 50 °C entraîne une accélération de l'oxydation lipidique et de la dégradation de tous les microconstituants sauf de la prunine. L'accélération la plus brutale concerne la dégradation de l'acide ascorbique. Elle s'explique par une réduction du fer III en fer II comme indiquée ci-dessous:



Le fer II ainsi produit réagit rapidement avec l'oxygène et le peroxyde d'hydrogène du milieu pour donner des espèces oxygénées réactives:



Le fer III régénéré par ces réactions est à l'origine de la disparition totale de l'acide ascorbique dans le milieu (Eq. III-1). Les espèces oxygénées réactives formées lors de l'oxydation du fer II (Eq. III-2 et III-3) attaquent instantanément les lipides et microconstituants du milieu.

Une fois l'ascorbate disparu (en moins de 20 minutes), le fer III régénéré s'accumule. Les vitesses d'oxydation des microconstituants ralentissent, comme observé pour l'acide chlorogénique, la rutine et l' α -tocophérol après 1h. En effet, le fer III est bien moins agressif que le fer II vis-à-vis des lipides; il est ainsi à l'origine de plus faibles quantités d'espèces oxygénées réactives susceptibles d'oxyder ces microconstituants.

IV.2.3.2. Suivi de l'apparition du peroxyde d'hydrogène au cours de l'oxydation de l'acide ascorbique

La dégradation de l'acide ascorbique peut se faire selon différents mécanismes en fonction des conditions du milieu dans lequel ce composé est solubilisé (pH, température,...) et la présence d'autres espèces chimiques (métaux de transition, I_2 , SO_3^{2-} ,...) (49). Dans les conditions de notre milieu modèle aqueux, il apparaît que ce composé est oxydé en présence d'oxygène. En effet, ce constituant s'est avéré être limitant vis-à-vis de l'oxydation de l'acide ascorbique. Cette oxydation peut se faire selon le mécanisme ci-dessous:



Le dosage de H_2O_2 dans le milieu aqueux contenant uniquement l'acide ascorbique va permettre de confirmer que ce mécanisme d'oxydation a lieu dans ce milieu.

L'évolution de la teneur en acide ascorbique et en H_2O_2 dans le milieu modèle à 50°C est présentée sur la Figure III-45. Dès les premières minutes de la cinétique, l'acide ascorbique se dégrade et H_2O_2 apparaît dans le milieu. La teneur en H_2O_2 atteint un plateau après 100 minutes de chauffage alors que la teneur en acide ascorbique continue à décroître de façon constante. A $t = 140$ minutes, 65 % de la teneur initiale en acide ascorbique a disparu, soit environ 315 μM , quand la teneur en H_2O_2 commence à décliner. Les teneurs accumulées relativement faibles (inférieures à 60 μM) démontrent l'instabilité de l' H_2O_2 .

D'après les résultats obtenus, l'acide ascorbique semble donc s'oxyder selon la réaction Eq.III-3.

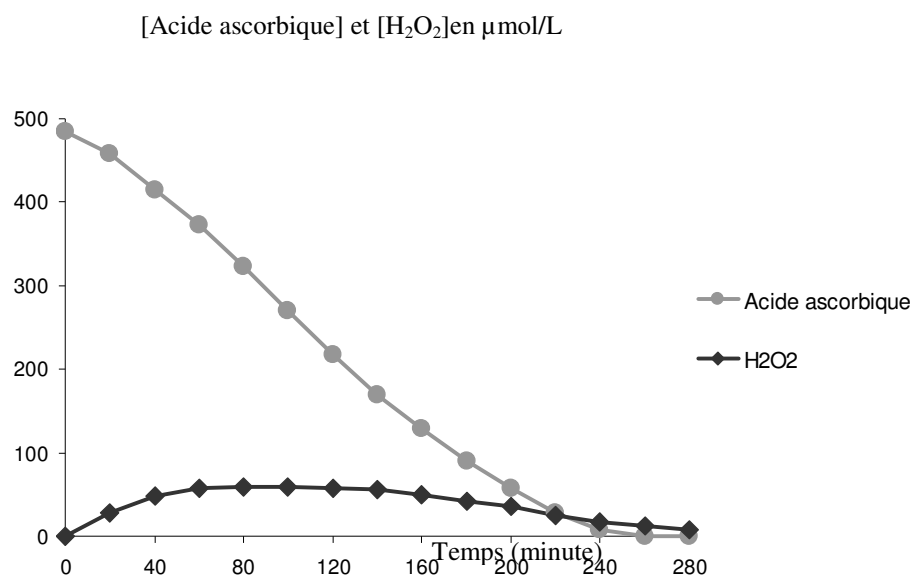


Figure III-45. Evolution de la teneur en acide ascorbique et H₂O₂ dans le milieu aqueux à 50 °C (n=1).

IV.2.3.3. Suivi de l'apparition des hydroperoxydes dans le milieu modèle émulsionné

Les diènes conjugués mesurés à 234 nm correspondent probablement à un mélange de molécules de fonctionnalités diverses (LOOH, LOH, ...) possédant un motif diénique commun. Afin de déterminer la proportion d'hydroperoxydes parmi les diènes conjugués, ces deux espèces vont être dosées simultanément dans l'émulsion chauffée 8 heures à 95 °C. L'expérience a été réalisée dans une émulsion contenant tous les antioxydants étudiés et dans une émulsion sans antioxydant. La méthode de dosage utilisée permet de quantifier les hydroperoxydes présents dans l'ensemble du milieu émulsionné (phase aqueuse et phase lipidique confondues).

L'évolution des teneurs en diènes conjugués et hydroperoxydes, mesurés par la méthode au Fox II, dans les émulsions est présentée sur la Figure III-46. La présence des antioxydants dans le milieu semble influencer l'apparition des hydroperoxydes. En effet, il apparaît que les diènes conjugués peuvent être assimilés à des hydroperoxydes dans un milieu sans antioxydant alors qu'en présence des antioxydants, les hydroperoxydes ne représentent plus qu'une partie des diènes conjugués. Ce phénomène pourrait être expliqué par la réduction des

LOOH en présence des antioxydants. Toutefois ce type de mécanisme n'est pas évoqué dans la littérature. Le phénomène observé lors de cette expérience nécessiterait d'être conforté par des répétitions (n=1) avant d'aborder une analyse structurale plus fine des composés.

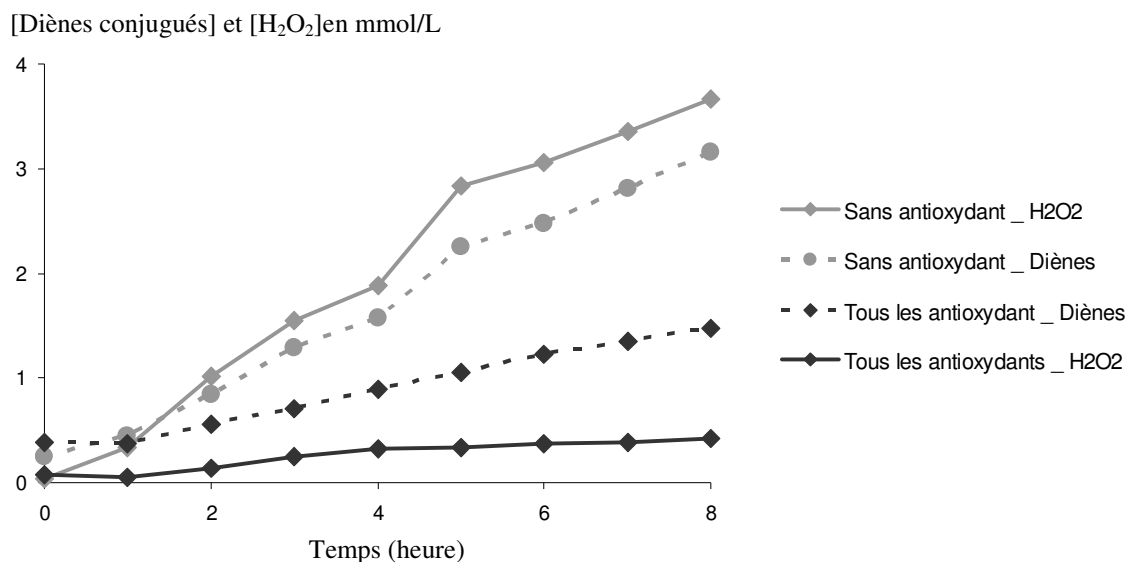


Figure III-46. Evolution de la teneur en diènes conjugués et hydroperoxydes dans le milieu émulsionné à 95 °C (n=1).

IV.2.4. Produits de dégradation des marqueurs

IV.2.4.1. Produits de dégradation des lipides

○ Identification des produits issus de l'oxydation des triglycérides

La Figure III-47 montre le profil des triglycérides de l'huile au cours de la cinétique "caroténoïdes seuls, 50 °C" à t0 et après un chauffage de 30 heures. Le suivi des marqueurs dans ce milieu a montré une oxydation lipidique intense et une diminution de la teneur en trilinoléine au cours du temps. Cette figure révèle l'apparition de nouveaux pics correspondant à des produits d'oxydation des triglycérides de l'huile.

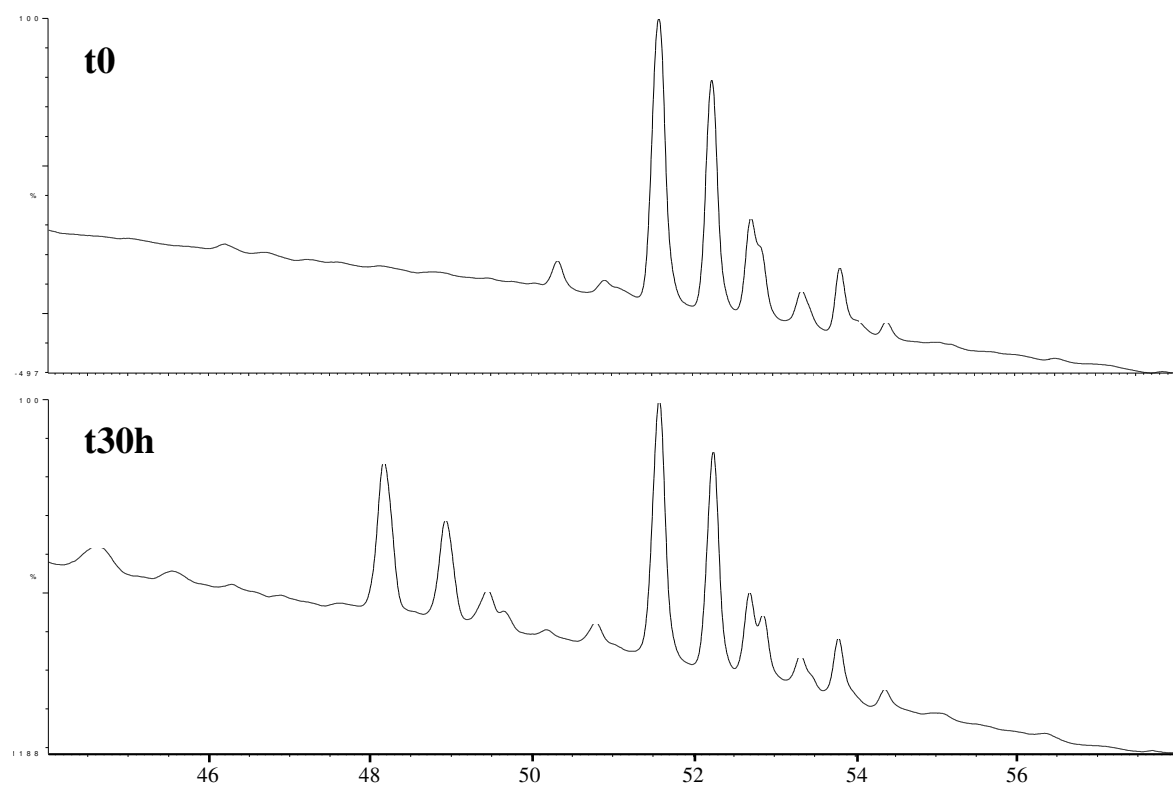


Figure III-47. Chromatogrammes (à 210 nm) des extraits de triglycérides aux temps t0 et t30h de la cinétique en milieu lipidique contenant les caroténoïdes seuls à 50 °C.

L'analyse par spectrométrie de masse a permis l'identification de tous les triglycérides natifs et oxydés, en milieu lipidique comme en émulsion. Les produits identifiés sont strictement les mêmes dans ces deux milieux. Ne disposant pas de standard de ces composés (excepté la

trilinoléine), leur identification reste hypothétique. L'ensemble des triglycérides natifs et oxydés sont présentés dans les Tableaux III-15 et III-16, respectivement.

Tableau III-15. Triglycérides natifs identifiés dans les milieux modèles lipidiques et émulsionnés

Tr (min)	m/z [M+H] ⁺	Ions après fragmentation (m/z)	λ_{\max} (nm)	PM (Da)	Structure proposée (composition en AG sur le glycérol)
51,7	880	599	210	878,7	(C18:2) x 3 (trilinoléine)
52,4	882	601, 599	210	880,7	(C18:2) x 2 + (C18:1)
52,8	856	599, 575	210	854,7	(C18:2) x 2 + (C16:0)
53,0	884	603, 601	210	882,8	(C18:2) + (C18:1) x 2
53,5	858	601, 577, 575	210	856,8	(C18:2) + (C18:1) + (C16:0)
53,6	886	603	210	884,7	(C18:1) x 3
53,9	884	603, 599	210	882,7	(C18:2) x 2 + (C18:0)
54,1	832	575, 551	210	830,7	(C18:2) + (C16:0) x 2
54,5	860	603, 579, 575	210	858,8	(C18:2) + (C16:0) + (C18:0)

Les triglycérides majoritaires de l'huile sont la trilinoléine et un triglycéride constitué de deux résidus d'acide linoléique et d'un résidu d'acide oléique (Tr = 51,7 et 52,4 min, respectivement). Les proportions de chaque acide gras de l'huile ont été déterminées (Tableau III-1). L'acide linoléique (C18:2) et l'acide oléique (C18:1) représentent respectivement 59 et 30 % des acides gras totaux tandis que les acides stéarique (C18:0) et palmitique (C16:0) représentent respectivement 4 et 6 %.

Tableau III-16. Triglycérides oxydés identifiés dans les milieux modèles lipidiques et émulsionnés en fin de cinétique

Tr (min)	m/z [M+H] ⁺	Ions issus de la fragmentation (m/z)	λ_{\max} (nm)	PM (Da)	Structure proposée (composition en AG sur le glycérol)
48,3	894	878, 613, 599	232	892,7	(C18:2) x 2 + (C18:2 + O)
49,1	896	880, 615, 613, 601	232	894,7	(C18:2) + (C18:1) + (C18:2 + O)
49,6	870	854, 613, 589, 575	232	868,7	(C18:2) + (C16:0) + (C18:2 + O)
49,8	898	882, 617, 615, 603	232	896,7	(C18:1) x 2 + (C18:2 + O)
50,3	872	856, 615, 589, 577	232	870,7	(C18:1) + (C16:0) + (C18:2 + O)
50,9	898	882, 617, 613, 603	232	896,7	(C18:2) + (C18:0) + (C18:2 + O)

L'analyse en spectrométrie de masse et en UV des pics correspondant aux triglycérides oxydés révèle la présence d'époxydes di-insaturés uniquement. La détection d'époxydes est due à un réarrangement qui a eu lieu au niveau du spectromètre de masse. Les produits d'oxydation présents dans l'huile et l'émulsion après 30 heures de chauffage sont en fait des hydroperoxydes. Le mécanisme de formation de ces hydroperoxydes à partir d'une chaîne d'acide linoléique est présenté sur la Figure III-48.

Les produits majoritairement présents sont la trilinoléine oxydée et le triglycéride composé d'une chaîne d'acide oléique et de deux chaînes d'acide linoléique dont une a été oxydée (Tr = 48,3 et 49,1 min, respectivement).

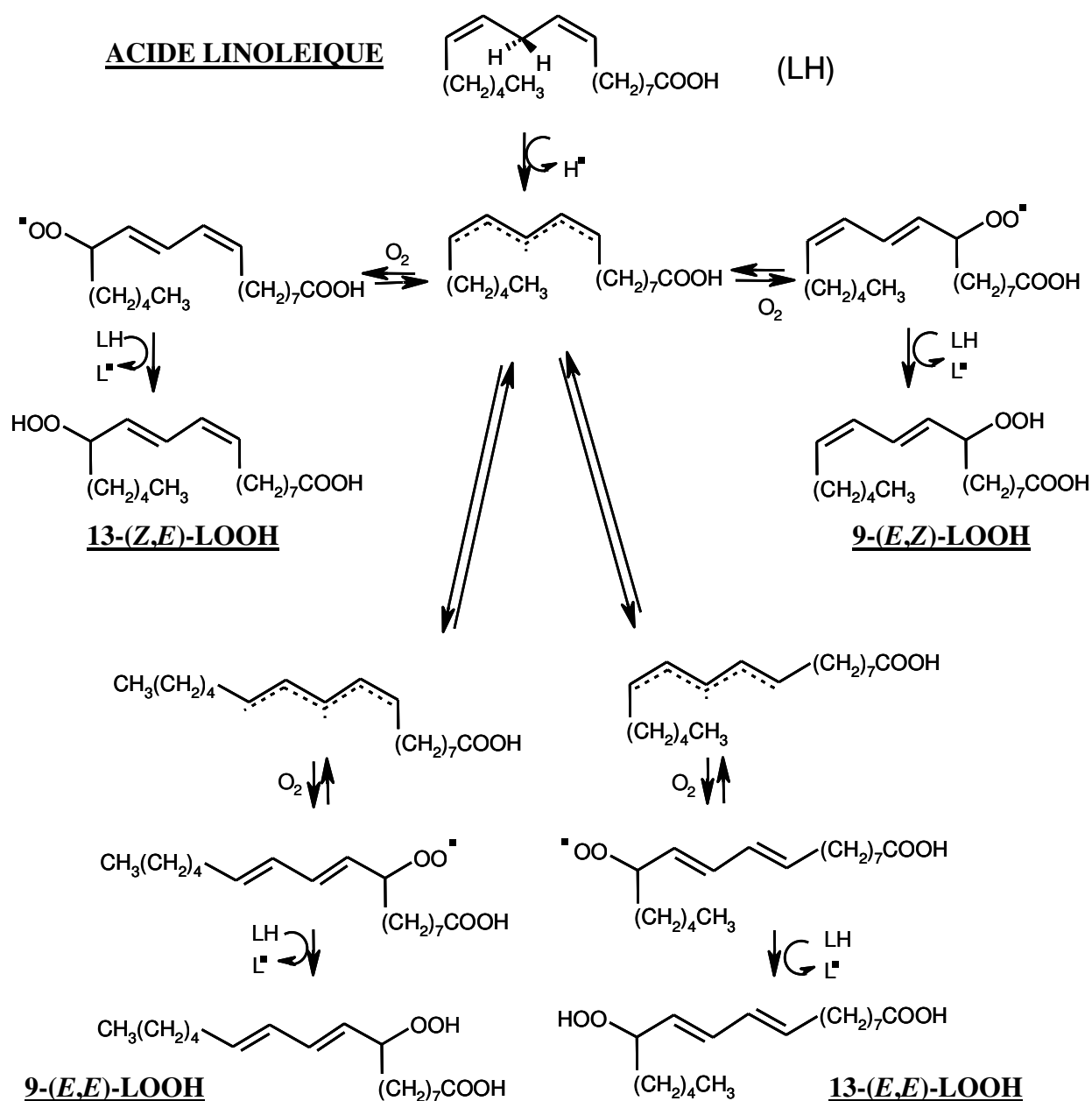


Figure III-48. Mécanisme de formation des hydroperoxydes issus de l'acide linoléique.

○ **Evolution des produits d'oxydation de la trilinoléine au cours du temps**

L'évolution de la teneur en trilinoléine oxydée dans le milieu lipidique contenant les caroténoïdes seuls à 95 °C est présentée sur la Figure III-49. L'évolution de ce composé dans le milieu émulsionné en présence de tous les antioxydants à 95 °C est présentée sur la Figure III-50.

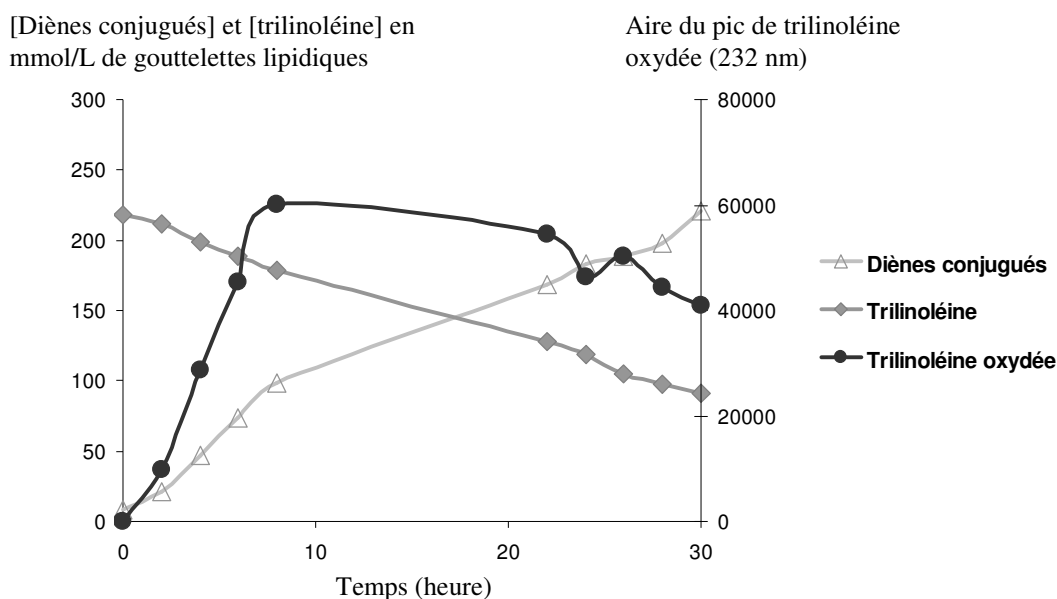


Figure III-49. Evolution de la trilinoléine oxydée, de la trilinoléine et des diènes conjugués dans le milieu modèle lipidique en présence des caroténoïdes seuls à 95 °C.

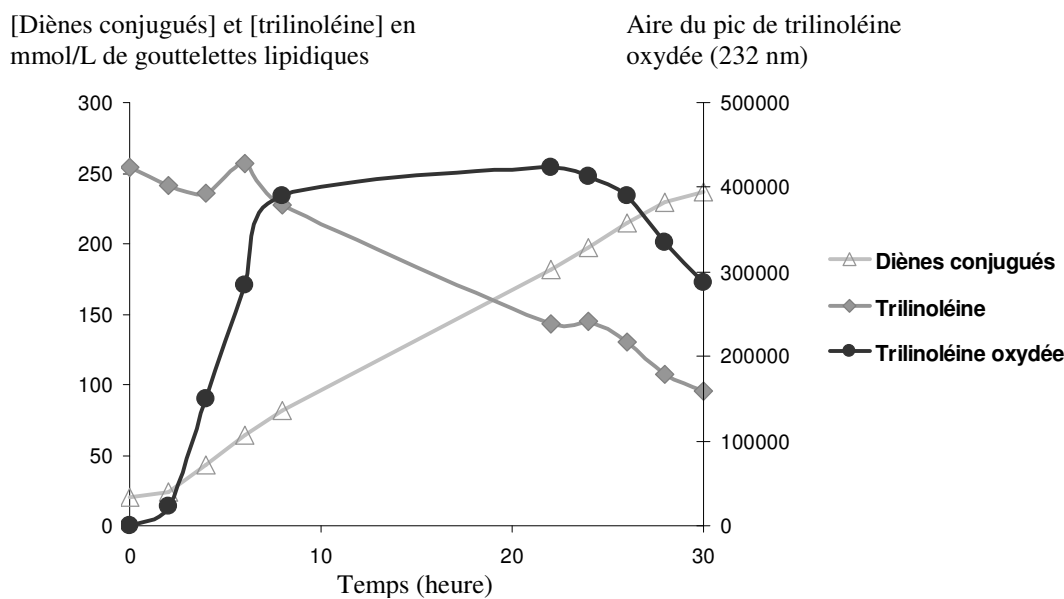


Figure III-50. Evolution de la trilinoléine oxydée, de la trilinoléine et des diènes conjugués dans le milieu modèle émulsionné contenant tous les antioxydants à 95 °C.

Les évolutions des trois espèces mesurées présentent des profils similaires en milieu lipidique et en émulsion. Au cours des huit premières heures de la cinétique, l'apparition de la trilinoléine oxydée suit celle des diènes conjugués parallèlement à la décroissance de la trilinoléine. Entre t8h et t22h, la teneur en trilinoléine oxydée se stabilise alors que la teneur en diènes conjugués continue à croître quasi-linéairement. En fin de cinétique, la teneur en trilinoléine oxydée diminue tandis que les diènes conjugués apparaissent toujours dans le milieu. Ces évolutions indiquent que les composés regroupés sous le terme de "diènes conjugués" impliquent les hydroperoxydes mais aussi d'autres espèces chimiques qui sont détectables à 234 nm. Parmi ces espèces on retrouve des produits de réductions (LOH), des produits de réarrangement tels que les époxydes et des produits de coupure. Ces composés seraient issus de la dégradation de la trilinoléine oxydée.

IV.2.4.2. Produits de dégradation de l' α -tocophérol

Selon Murkovic *et al.* (24) l' α -tocophérol est susceptible de s'oxyder en α -tocophérolquinone, 2,3-époxy- α -tocophérolquinone- ou encore en 5,6-époxy- α -tocophérolquinone dans de l'huile végétale chauffée à 90 °C. Les chromatogrammes obtenus, montrant la dégradation du pic d' α -tocophérol au cours des cinétiques ne présentent pas de nouveau pic. Les produits d'oxydation de l' α -tocophérol n'ont pas été retrouvés dans les milieux lipidiques et émulsionnés, même lorsque l' α -tocophérol disparaît totalement.

IV.2.4.3. Produits de dégradation des caroténoïdes

○ Identification des produits de dégradation des caroténoïdes

Sur la Figure III-51 sont présentés les chromatogrammes au temps t0 et t8 heures de la cinétique réalisée sur un milieu modèle émulsionné contenant tous les antioxydants à 95 °C. A t0, seuls les pics correspondant au (*E*)- β -carotène et au (*E*)-lycopène sont visibles. Quelques heures plus tard, ces composés se sont en partie dégradés et de nouveaux pics sont apparus. La plupart de ces pics correspondent à des produits issus de l'isomérisation des deux caroténoïdes introduits initialement dans le milieu. Les produits de dégradation des caroténoïdes identifiés dans les milieux lipidique et émulsionné sont présentés dans le Tableau III-17.

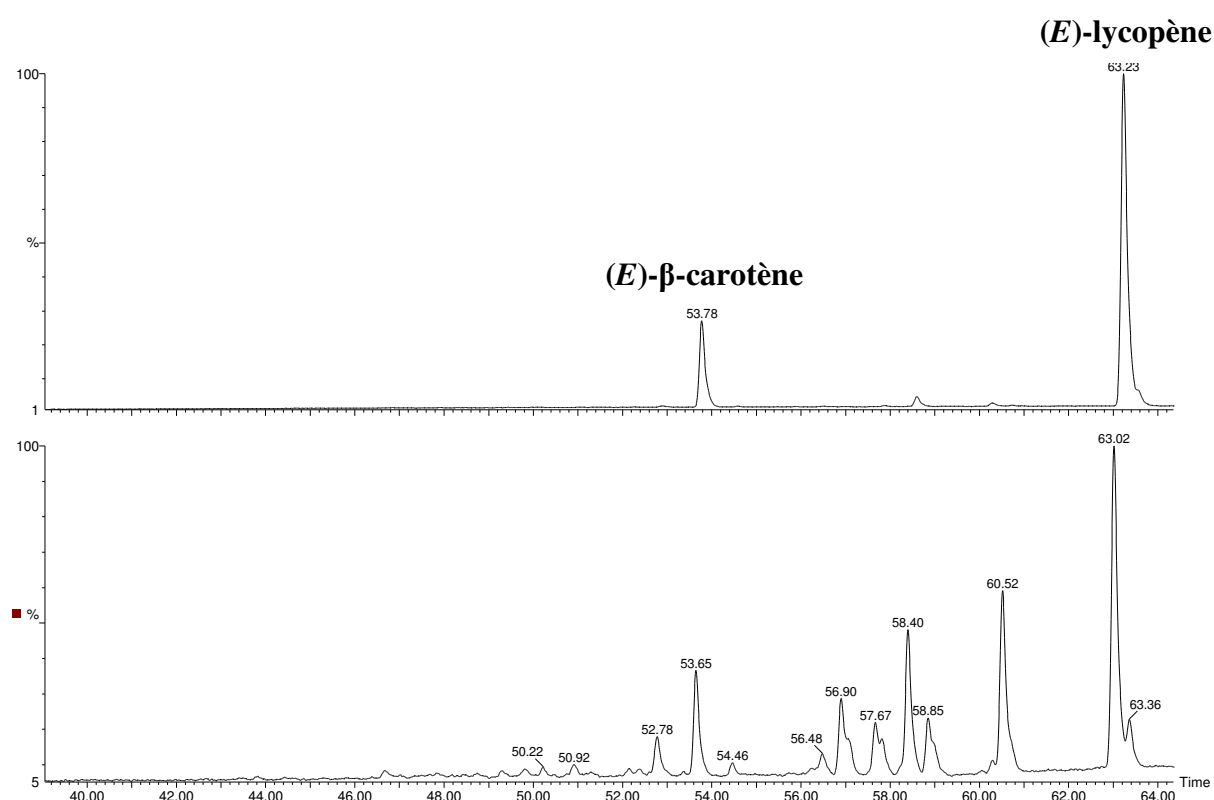


Figure III-51. Chromatogrammes (à 450 nm) des extraits de caroténoïdes aux temps t0 et t30h de la cinétique en milieu émulsionné à 95 °C.

L'identification des produits issus de la dégradation des caroténoïdes, révèle la présence de trois isomères *Z* de β -carotène, de neuf isomères *Z* de lycopène et d'un produit d'oxydation du lycopène. La présence du 5*Z*- et du 13*Z*-lycopène a pu être confirmée après une co-injection

des témoins de ces composés et un extrait de caroténoïdes provenant du milieu émulsionné. L'identification des autres produits a été réalisée grâce aux données obtenues par spectrométrie de masse, aux spectres UV-visibles et temps de rétention des pics ainsi qu'en utilisant les données disponibles dans la littérature. L'identification des différents isomères Z de lycopène et de β -carotène a été effectuée grâce à la mesure de l'intensité du pic "cis", noté $\%A_B/A_{II}$ (explication sur la mesure de l'intensité de ce pic dans le chapitre II, paragraphe "III.1.1.1. Caroténoïdes"). Les isomères identifiés présentent une ou deux isomérisations. Le di-(Z)- β -carotène observé et deux di-(Z)-lycopène n'ont pas pu être totalement identifiés puisque les caractéristiques de ces composés (spectres UV-visibles et intensités du pic "cis") ne sont pas décrites dans la littérature. D'autres produits qui ne sont pas répertoriés dans le Tableau III-17 peuvent être présents mais dans des quantités trop faibles pour être détectés.

Le produit d'oxydation du lycopène a été hypothétiquement identifié comme étant le 5,6-époxy-lycopène. En effet, sa masse et sa longueur d'onde maximale d'absorption correspondent à celles données par la littérature (50-51). Toutefois, d'autres métabolites du lycopène présentent les mêmes caractéristiques (m/z et λ_{max}). C'est le cas du 1,5-époxy-2,6-cyclolycopène et du 1,16-didéhydro-2,6-cyclo-5-hydroxy-lycopène qui pourraient aussi être présents dans les milieux modèles (52).

Les produits de dégradation des caroténoïdes observés sont principalement des isomères Z. Le seul produit d'oxydation identifié est présent en très faible quantité. Il est possible que les réactions de formation de ces produits soient lentes ou que ces produits soient instables et donc rapidement dégradés par l'intermédiaire de réactions de coupure.

Tableau III-17. Produits identifiés dans les extraits de caroténoïdes dans les milieux émulsionné et lipidique chauffés 8 heures à 95 °C.

Tr. (min)	λ_{max} (nm)	% $A_{\text{B}}/A_{\text{II}}$	m/z [M+H] ⁺	Composé
52,14	428, <u>456</u> , 488	-	553	5,6-époxy-lycopène ^a (?)
52,36	418, <u>442</u> , 470	0,273	537	Di-(Z)- β -carotène
52,78	420, <u>446</u> , 474	0,463	537	(13Z)- β -carotène ^b
53,65	426, <u>452</u> , 478	-	537	(E)- β -carotène
54,46	424, <u>448</u> , 476	-	537	(9Z)- β -carotène ^b
56,25	440, <u>468</u> , 496	0,619	537	(15Z)-lycopène ^c
56,90	436, <u>458</u> , 488	0,296	537	Di-(Z)-lycopène
57,67	438, <u>462</u> , 490	0,407	537	Di-(Z)-lycopène
58,40	440, <u>466</u> , 496	0,630	537	(13Z)-lycopène
58,85	434, <u>458</u> , 488	0,167	537	(5Z,13'Z)-lycopène ^d (?)
60,29	442, <u>466</u> , 498	0,130	537	(5Z,9Z)-lycopène ^d
60,52	440, <u>466</u> , 496	0,148	537	(9Z)-lycopène ^d
60,66	442, <u>466</u> , 496	0,132	537	(5Z,9'Z)-lycopène ^d
63,02	446, <u>472</u> , 502	-	537	(E)-lycopène
63,36	446, <u>472</u> , 502	-	537	(5Z)-lycopène

^a identification selon les travaux de Khachik *et al.* (50)

^b identification selon les travaux de Böhm *et al.* (53)

^c identification selon les travaux de Hengartner *et al.* (54)

^d identification selon les travaux de Breitenbach *et al.* (55)

Les milieux chauffés à 50 °C et au cours desquels une oxydation intense a été observée (milieu lipidique en présence de caroténoïdes seuls et émulsion en présence de fer) contiennent les mêmes produits de dégradation des caroténoïdes qu'à 95 °C.

○ **Evolution des produits de dégradation des caroténoïdes**

L'évolution des teneurs en caroténoïdes et isomères de caroténoïdes dans les milieux émulsionné et lipidique à 95 °C est présentée sur les Figures III-52 et III-53, respectivement.

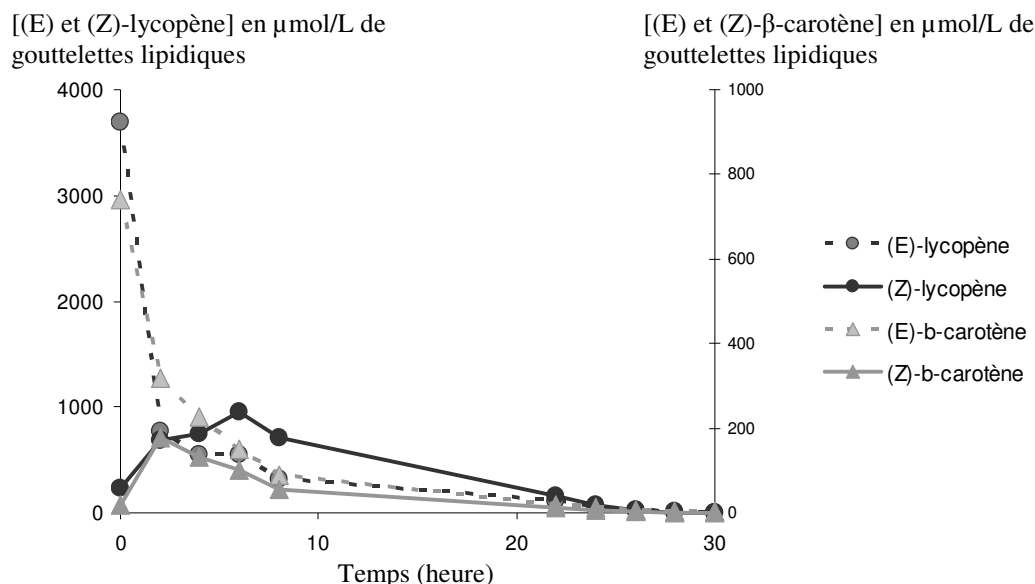


Figure III-52. Evolution des teneurs en caroténoïdes et isomères de caroténoïdes dans le milieu modèle émulsionné en présence des caroténoïdes seuls à 95 °C.

Dans l'émulsion, les isomères Z de lycopène et de β-carotène apparaissent rapidement au cours des deux premières heures de chauffage, parallèlement à la dégradation des formes E. La somme des teneurs en (Z)-lycopène continue à augmenter jusqu'à 6h puis commence à décroître alors que la décroissance des isomères Z de β-carotène commence dès 2h. La totalité du (Z)-lycopène a disparu du milieu après 30 heures de chauffage à 95 °C et celle du (Z)-β-carotène en 28 heures. Shi *et al.* (56) ont suivi l'évolution de la teneur en (Z)-lycopène dans une purée de tomate chauffée à des températures comprises entre 90 et 150 °C. Cette évolution ressemble fortement au phénomène que nous avons observé en milieu émulsionné. Au cours de leur étude, la teneur maximale en (Z)-lycopène était atteinte au bout d'une ou deux heures de chauffage selon la température.

En milieu lipidique, l'évolution de la teneur en (Z)-lycopène est la même que celle observée pour le (Z)-β-carotène (Figure III-53). Ces composés apparaissent rapidement dans le milieu, au cours des deux premières heures de chauffage puis se dégradent tout aussi rapidement. Ils disparaissent totalement du milieu avant 6h.

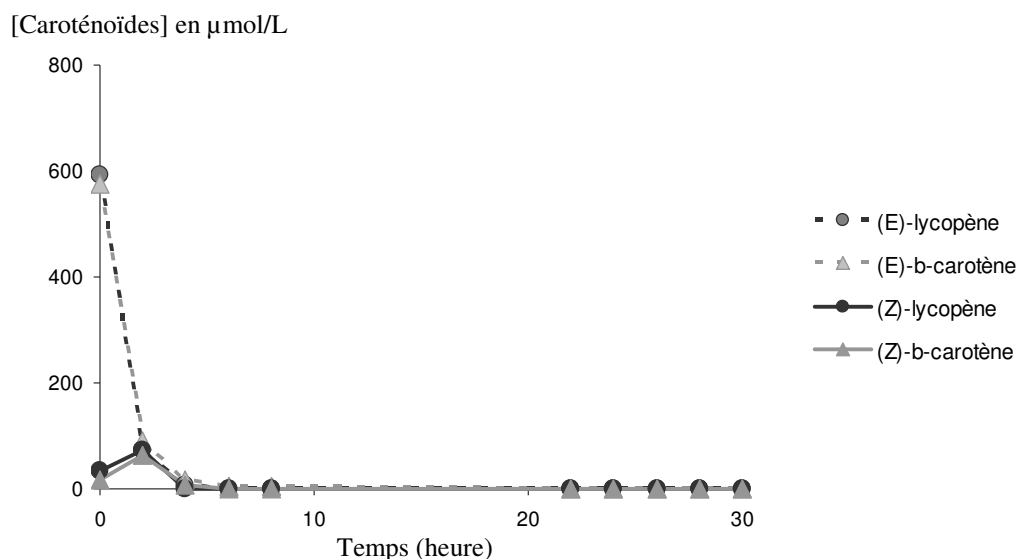


Figure III-53. Evolution des teneurs en caroténoïdes et isomères de caroténoïdes dans le milieu modèle lipidique en présence des caroténoïdes seuls à 95 °C.

Le produit d'oxydation identifié, présent sous forme de traces, n'a pas été quantifié. Il est présent dans le milieu émulsionné (à 95 °C) à partir de t2h et jusqu'à t28h, comme les isomères Z de lycopène. En milieu lipidique, il apparaît entre t0 et t2h puis se dégrade rapidement, avant t6h. Dans ces deux milieux, sa présence est concomitante à celle des (Z)-lycopène.

La dégradation des caroténoïdes initialement introduits dans les milieux peut se faire selon deux voies principales. Dans un premier temps les formes E s'isomérisent facilement. L'oxydation des formes E et Z peut alors avoir lieu simultanément ou ne concerner que les formes Z préalablement formées. Les produits d'oxydation se dégradent ensuite par des réactions de coupure. Un tel mécanisme a été proposé pour l'oxydation du lycopène en présence d'une métalloporphyrine modèle (57). De même, il est possible que le lycopène et le β -carotène (formes E et Z) se dégradent directement en donnant des produits de coupure. Ces produits de coupure n'ont jamais été identifiés dans les milieux. Si ces composés sont volatils, il faudrait alors mettre en œuvre des techniques d'analyse différentes comme la chromatographie gazeuse.

IV.2.4.4. Produits de dégradation des composés phénoliques

Sur la Figure III-54 sont présentés les chromatogrammes aux temps t0 et t30 heures d'une cinétique en milieu modèle émulsionné à 95°C. A t0, seuls l'acide chlorogénique (tr = 16,3 min), la prunine (tr = 24,7 min) et la rutine (tr = 26,0 min) sont visibles; trente heures plus tard, de nouveaux pics sont apparus pendant que les produits initialement présents se sont plus ou moins dégradés. Une tentative d'identification des produits de dégradation a été effectuée sans succès. Les spectres et les masses sont disponibles mais ne correspondent pas à ceux de produits connus. Les dimères ou trimères de composés phénoliques recherchés ne sont pas présents dans les extraits phénoliques, même à l'état de traces. L'acide chlorogénique et la rutine se sont pourtant dégradés en milieu émulsionné à 95 °C dans des proportions relativement importantes. Ces dégradations impliquent certainement la formation de quinones issues de la rutine et de l'acide chlorogénique mais l'évolution de ces espèces transitoires n'a pu être caractérisée.

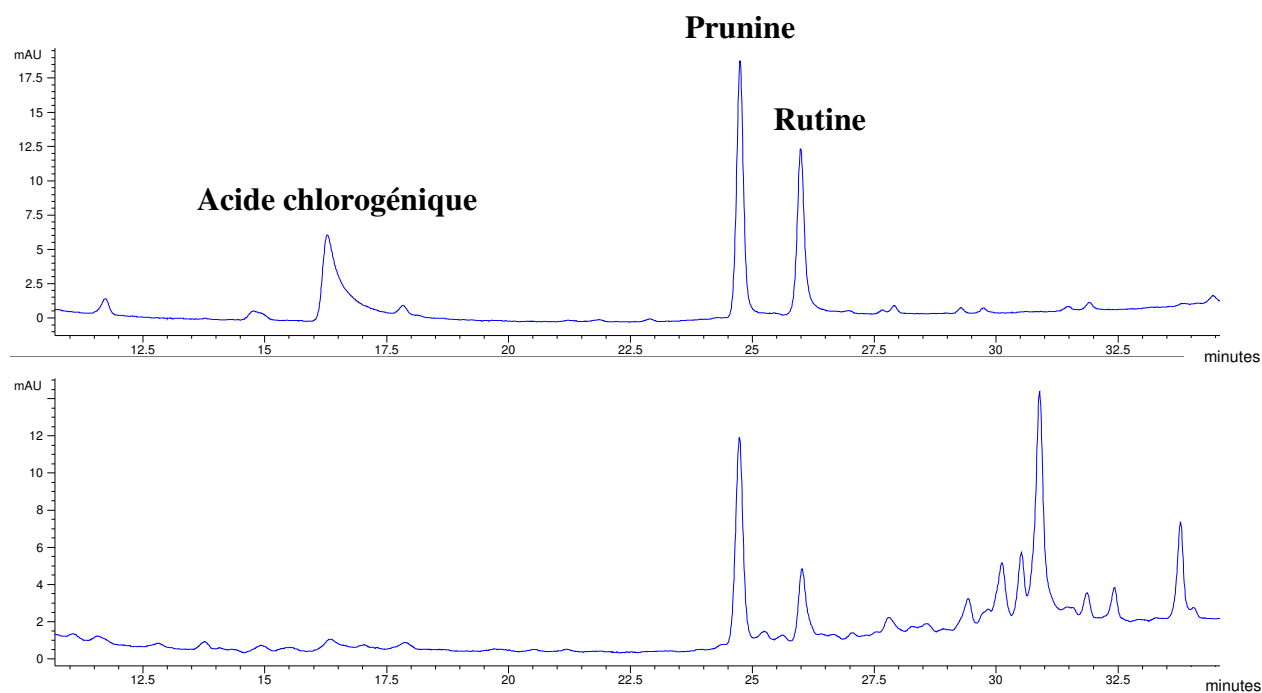


Figure III-54. Chromatogrammes des extraits phénoliques aux temps t0 et t30h de la cinétique en milieu émulsionné à 95 °C.

IV.2.4.5. Produits de dégradation de l'acide ascorbique

D'après la littérature, l'acide ascorbique en conditions acides est susceptible de s'oxyder en acide déhydroascorbique puis en acide-2-furoïque et 3-hydroxypyrrone, il peut également donner du furfural (19, 49).

L'injection d'un étalon d'acide déhydroascorbique dans les mêmes conditions que les extraits provenant des milieux modèle a permis d'identifier ce composé dans nos extraits. La Figure III-55 présente un chromatogramme sur lequel les pics d'acide ascorbique (AA) et d'acide déhydroascorbique (DHAA) sont visibles.

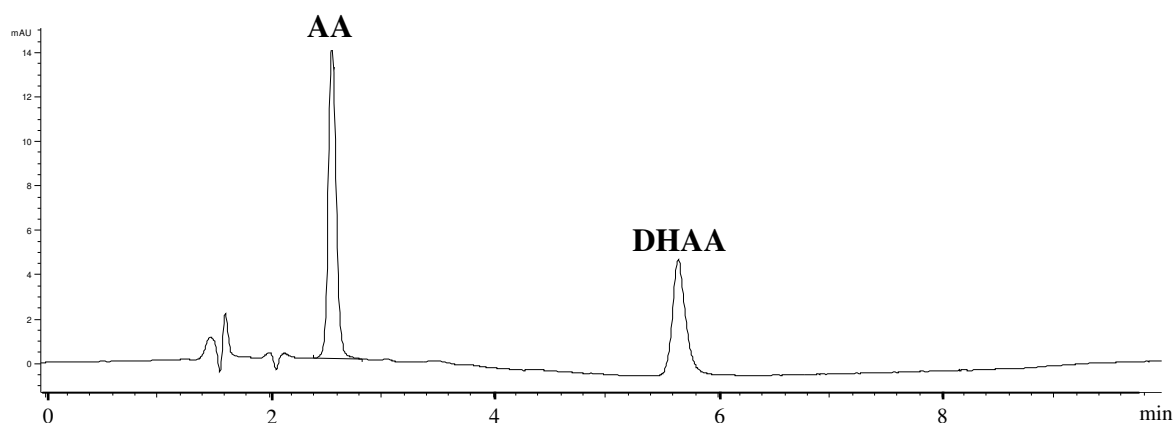


Figure III-55. Chromatogramme d'un extrait acidifié provenant du milieu aqueux en présence d'acide ascorbique seul chauffé à 50 °C pendant 3 heures.

Les autres produits susceptibles de se former dans les milieux modèles n'ont pas été retrouvés dans les extraits analysés. L'évolution de la teneur en acide déhydroascorbique n'a pas pu être suivie car la présence de ce composé dans les milieux est peu reproductible indiquant par là même sa propre instabilité.

V. Conclusion

Les trois milieux modèles mis en place ont permis d'évaluer la stabilité des microconstituants étudiés dans les conditions de préparation des produits à base de tomate. Parmi les antioxydants lipophiles, les caroténoïdes s'isomérisent rapidement quelles que soient les conditions appliquées et sont probablement dégradés par des réactions d'oxydation et de coupure. La présence d' α -tocophérol semble les protéger. De plus, ce composé inhiberait efficacement l'oxydation lipidique, ce qui n'est pas le cas des antioxydants hydrophiles. Les caroténoïdes apparaissent comme de faibles inhibiteurs de l'oxydation lipidique en comparaison au tocophérol.

Au sein des phases aqueuses, l'acide ascorbique est très sensible à l'oxydation alors que les composés phénoliques se dégradent lentement à haute température. La dégradation de l'acide ascorbique en milieu aqueux est fonction de la teneur en oxygène dans le milieu, ainsi il s'oxyde plus rapidement à 50 qu'à 95 °C. Le phénomène contraire a été observé en milieu émulsionné; ce composé pourrait être protégé par des éléments contenus dans les gouttelettes lipidiques ou par des phénomènes physiques. A température élevée (95 °C), les réactions sont toujours accélérées en milieu émulsionné par comparaison avec les deux autres milieux modèles. Ainsi, l'oxydation des lipides semble influencer sur la dégradation des composés phénoliques et de l'acide ascorbique alors que ces éléments ne sont pas présents dans les mêmes phases au sein de ce milieu modèle. L'interface des gouttelettes lipidiques serait un lieu où les échanges et les réactions sont intenses.

L'oxygène joue, par ailleurs, un rôle primordial puisqu'il intervient dans presque toutes les réactions ayant lieu au sein des trois milieux. Sa teneur est un paramètre limitant de l'oxydation des lipides et de l'acide ascorbique. Il est d'autre part responsable du possible effet pro-oxydant des caroténoïdes dans l'huile à 50 °C.

Seuls des produits issus de la dégradation des triglycérides et des caroténoïdes ont pu être identifiés. Les triglycérides se sont oxydés pour donner les monohydroperoxydes correspondants. Les caroténoïdes se sont isomérisés et oxydés. Ces derniers ont vraisemblablement subi des réactions de coupure suggérant que des efforts de caractérisation doivent être poursuivis dans cette direction.

Les expériences réalisées en présence de Fe^{3+} à 50 °C ont montré une accélération de toutes les réactions. La présence des antioxydants ne ralentit que très peu l'oxydation lipidique, comme observé en l'absence de fer.

Les données cinétiques obtenues en milieux modèles ont permis de mieux connaître la réactivité des microconstituants de la tomate. Une analyse qualitative a pu être réalisée dans ce chapitre. Néanmoins, pour que ces données soient généralisables à d'autres conditions de température et de teneur en oxygène, il nous faut maintenant conduire une analyse quantitative. Pour cela, les ordres et les constantes de vitesse des différentes réactions peuvent être évalués soit individuellement, soit globalement par une approche de type « génie de la réaction ». Pour cette dernière approche, un modèle stoechio-cinétique intégrant la globalité des données cinétiques et basé sur le schéma réactionnel correspondant à chacun de ces systèmes sera mis en place. Sa validation se fera dans un premier temps sur la fabrication d'une sauce réelle dans le dispositif expérimental avant d'être conduite en milieu industriel. Les grandes avancées de ces approches sont présentées dans le chapitre IV de ce manuscrit.

Références bibliographiques

1. Valencia, C., Sanchez, M. C., Ciruelos, A., Latorre, A., Franco, J. M., and Gallegos, C. (2002) Linear viscoelasticity of tomato sauce products: influence of previous tomato paste processing, *European Food Research and Technology* 214, 394-399.
2. Sanchez, M. C., Valencia, C., Ciruelos, A., Latorre, A., and Gallegos, C. (2003) Rheological properties of tomato paste: Influence of the addition of tomato slurry, *Journal of Food Science* 68, 551-554.
3. Bayod, E., Mansson, P., Innings, F., Bergenstahl, B., and Tornberg, E. (2007) Low shear rheology of concentrated tomato products. Effect of particle size and time, *Food Biophysics* 2, 146-157.
4. Apaiah, R. K., Goodman, C. L., and Barringer, S. A. (2001) Quality differences between fresh pack and remanufactured tomato sauce, *Journal of Food Processing and Preservation* 25, 431-445.
5. Koh, E., Wimalasiri, K. M. S., Renaud, E. N. C., and Mitchell, A. E. (2008) A comparison of flavonoids, carotenoids and vitamin C in commercial organic and conventional marinara pasta sauce, *Journal of the Science of Food and Agriculture* 88, 344-354.
6. Achir, N., Randrianatoandro, V. A., Bohuon, P., Laffargue, A., and Avallone, S. (2010) Kinetic study of beta-carotene and lutein degradation in oils during heat treatment, *European Journal of Lipid Science and Technology* 112, 349-361.
7. Liu, M. H., and Chen, B. H. (1998) Relationship between chlorophyll a and -carotene in a lipid-containing model system during heating, *Food Chemistry* 61, 41-47.
8. Henry, L. K., Puspitasari-Nienaber, N. L., Jaren-Galan, M., van Breemen, R. B., Catignani, G. L., and Schwartz, S. J. (2000) Effects of ozone and oxygen on the degradation of carotenoids in an aqueous model system, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 48, 5008-5013.
9. Boon, C. S., Xu, Z., Yue, X., McClements, D. J., Weiss, J., and Decker, E. A. (2008) Factors affecting lycopene oxidation in oil-in-water emulsions, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 56, 1408-1414.
10. Yuan, Y., Gao, Y., Zhao, J., and Mao, L. (2008) Characterization and stability evaluation of beta-carotene nanoemulsions prepared by high pressure homogenization under various emulsifying conditions, *Food Research International* 41, 61-68.
11. Qiu, D., Chen, Z.-R., and Li, H.-R. (2009) Effect of heating on solid beta-carotene, *Food Chemistry* 112, 344-349.
12. Pesek, C. A., Warthesen, J. J., and Taoukis, P. S. (1990) A kinetic model for equilibration of isomeric .beta-carotenes, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 38, 41-45.
13. Pesek, C. A., and Warthesen, J. J. (1990) Kinetic model for photoisomerization and concomitant photodegradation of .beta-carotenes, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 38, 1313-1315.
14. Buchner, N., Krumbein, A., Rohn, S., and Kroh, L. W. (2006) Effect of thermal processing on the flavonols rutin and quercetin, *Rapid Communications in Mass Spectrometry* 20, 3229-3235.
15. Makris, D. P., and Rossiter, J. T. (2000) Heat-induced, metal-catalyzed oxidative degradation of quercetin and rutin (quercetin 3-O-rhamnosylglucoside) in aqueous model systems, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 48, 3830-3838.

16. Huber, G. M., Vasantha Rupasinghe, H. P., and Shahidi, F. (2009) Inhibition of oxidation of omega-3 polyunsaturated fatty acids and fish oil by quercetin glycosides, *Food Chemistry* 117, 290-295.
17. Sorensen, A. D. M., Haahr, A. M., Becker, E. M., Skibsted, L. H., Bergenstahl, B., Nilsson, L., and Jacobsen, C. (2008) Interactions between iron, phenolic compounds, emulsifiers, and pH in omega-3-enriched oil-in-water emulsions, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 56, 1740-1750.
18. Kristinova, V., Mozuraityte, R., Storro, I., and Rustad, T. (2009) Antioxidant activity of phenolic acids in lipid oxidation catalyzed by different prooxidants, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 57, 10377-10385.
19. Yuan, J.-P., and Chen, F. (1998) Degradation of ascorbic acid in aqueous solution, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 46, 5078-5082.
20. Rojas, A. M., and Gerschenson, L. N. (2001) Ascorbic acid destruction in aqueous model systems: an additional discussion, *Journal of the Science of Food and Agriculture* 81, 1433-1439.
21. Gallarate, M., Carlotti, M. E., Trotta, M., and Bovo, S. (1999) On the stability of ascorbic acid in emulsified systems for topical and cosmetic use, *International Journal of Pharmaceutics* 188, 233-241.
22. Wegrzyn, T. F., Farr, J. M., Hunter, D. C., Au, J., Wohlers, M. W., Skinner, M. A., Stanley, R. A., and Sun-Waterhouse, D. (2008) Stability of antioxidants in an apple polyphenol-milk model system, *Food Chemistry* 109, 310-318.
23. Owczarek-Fendor, A., De Meulenaer, B., Scholl, G., Adams, A., Van Lancker, F., Yogendrarajah, P., Eppe, G., De Pauw, E., Scippo, M.-L., and De Kimpe, N. (2010) Furan formation from vitamin C in a starch-based model system: Influence of the reaction conditions, *Food Chemistry* 121, 1163-1170.
24. Murkovic, M., Wiltschko, D., and Pfannhauser, W. (1997) Formation of alpha-tocopherolquinone and alpha-tocopherolquinone epoxides in plant oil, *Fett/Lipid* 99, 165-169.
25. Player, M. E., Kim, H. J., Lee, H. O., and Min, D. B. (2006) Stability of alpha-, gamma-, or delta-tocopherol during soybean oil oxidation, *Journal of Food Science* 71, C456-C460.
26. Nogala-Kalucka, M., Kupczyk, B., Polewski, K., Siger, A., and Dwiecki, K. (2007) Influence of native antioxidants on the formation of fatty acid hydroperoxides in model systems, *European Journal of Lipid Science and Technology* 109, 1028-1037.
27. Frankel, E. N. (1996) Antioxidants in lipid foods and their impact on food quality, *Food Chemistry* 57, 51-55.
28. Mortensen, A., Skibsted, L. H., and Truscott, T. G. (2001) The interaction of dietary carotenoids with radical species, *Archives of Biochemistry and Biophysics* 385, 13-19.
29. Krinsky, N. I., and Yeum, K. J. (2003) Carotenoid-radical interactions, *Biochemical and Biophysical Research Communications* 305, 754-760.
30. Edge, R., and Truscott, T. G. (1997) Prooxidant and antioxidant reaction mechanisms of carotene and radical interactions with vitamins E and C, *Nutrition* 13, 992-994.
31. Kiokias, S., and Oreopoulou, V. (2006) Antioxidant properties of natural carotenoid extracts against the AAPH-initiated oxidation of food emulsions, *Innovative Food Science & Emerging Technologies* 7, 132-139.
32. Jia, Z.-S., Zhou, B., Yang, L., Wu, L.-M., and Liu, Z.-L. (1998) Antioxidant synergism of tea polyphenols and alpha-tocopherol against free radical induced peroxidation of linoleic acid in solution, *Journal of Chemical Society, Perkin Transaction* 2, 911-915.

33. Zhou, B., Wu, L.-M., Yang, L., and Liu, Z.-L. (2005) Evidence for alpha-tocopherol regeneration reaction of green tea polyphenols in SDS micelles, *Free Radical Biology and Medicine* 38, 78-84.
34. Niki, E., Saito, T., Kawakami, A., and Kamiya, Y. (1984) Inhibition of oxidation of methyl linoleate in solution by vitamin E and vitamin C, *Journal of Biological Chemistry* 259, 4177-4182.
35. Hamilton, R. J., Kalu, C., Prisk, E., Padley, F. B., and Pierce, H. (1997) Chemistry of free radicals in lipids, *Food Chemistry* 60, 193-199.
36. Pathirana, S., Neely, W. C., and Vodyanoy, V. (1998) Condensing and expanding effects of the odorants (+)- and (-)-carvone on phospholipid monolayers, American Chemical Society (*Langmuir*) 14, 679-682.
37. Villière, A. (2005) Approche physico-chimique et sensorielle de l'oxydation des lipides dans des émulsions stabilisées par des protéines, Thèse de *Chimie Biologie*, Université de Nantes, Nantes.
38. Ke, P. J., and Ackman, R. G. (1973) Bunsen coefficient for oxygen in marine oils at various temperatures determined by an exponential dilution method with a polarographic oxygen electrode, *Journal of the American Oil Chemists' Society* 50, 429-435.
39. Battino, R., Evans, F. D., and Danforth, W. F. (1968) The solubilities of seven gases in olive oil with reference to theories of transport through the cell membrane, *Journal of the American Oil Chemists' Society* 45, 830-833.
40. Aho, L., and Wahlroos, O. (1967) A comparison between determinations of the solubility of oxygen in oils by exponential dilution and chemical methods, *Journal of the American Oil Chemists' Society* 44, 65-66.
41. Winkler, L. W. (1888) Die bestimmung des im wasser gelösten sauerstoffes, *Berichte der Deutschen Chemischen Gesellschaft* 21, 2843-2855.
42. Young, A. J., and Lowe, G. M. (2001) Antioxidant and prooxidant properties of carotenoids, *Archives of Biochemistry and Biophysics* 385, 20-27.
43. El-Agamey, A., Lowe, G. M., McGarvey, D. J., Mortensen, A., Phillip, D. M., Truscott, T. G., and Young, A. J. (2004) Carotenoid radical chemistry and antioxidant/pro-oxidant properties, *Archives of Biochemistry and Biophysics* 430, 37-48.
44. Jovanovic, S. V., Steenken, S., Tosic, M., Marjanovic, B., and Simic, M. G. (1994) Flavonoids as antioxidants, *Journal of the American Chemical Society* 116, 4846-4851.
45. Sarni-Manchado, P., and Cheynier, V., (Eds.) (2006) *Les polyphénols en agroalimentaire*, Lavoisier.
46. Pryor, W. A., (Ed.) (1982) *Free Radicals in Biology*, Academic Press, Londres.
47. USDA/CNPP. (2007) USDA National nutrient database for standard reference, p <http://www.nal.usda.gov/fnic/foodcomp/Data/SR16/reports/sr16fg11.pdf>, U.S. Agricultural Research service.
48. De Leonardis, A., Macciola, V., and De Felice, M. (2000) Copper and iron determination in edible vegetable oils by graphite furnace atomic absorption spectrometry after extraction with diluted nitric acid, *International Journal of Food Science & Technology* 35, 371-375.
49. Heldman, D. R., and Lund, D. B., (Eds.) (2006) *Handbook of Food Engineering, Second Edition*, CRC Press, San Marcos.
50. Khachik, F., Goli, M. B., Beecher, G. R., Holden, J., Lusby, W. R., Tenorio, M. D., and Barrera, M. R. (1992) Effect of food preparation on qualitative and quantitative

- distribution of major carotenoid constituents of tomatoes and several green vegetables, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 40, 390-398.
51. Ben-Aziz, A., Britton, G., and Goodwin, T. W. (1973) Carotene epoxides of *Lycopersicon esculentum*, *Phytochemistry* 12, 2759-2764.
 52. Khachik, F., Steck, A., Niggli, U. A., and Pfander, H. (1998) Partial synthesis and structural elucidation of the oxidative metabolites of lycopene identified in tomato paste, tomato juice, and human serum, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 46, 4874-4884.
 53. Bohm, V., Puspitasari-Nienaber, N. L., Ferruzzi, M. G., and Schwartz, S. J. (2002) Trolox equivalent antioxidant capacity of different geometrical isomers of alpha-carotene, beta-carotene, lycopene, and zeaxanthin, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 50, 221-226.
 54. Hengartner, U., Bernhard, K., Meyer, K., Englert, G., and Glinz, E. (1992) Synthesis, isolation, and NMR-spectroscopic characterization of fourteen (Z)-isomers of lycopene and some acetylenic dihydro- and tetrahydrolycopenes *Helvetica Chimica Acta* 75, 1848-1865.
 55. Breitenbach, J., Braun, G., Steiger, S., and Sandmann, G. (2001) Chromatographic performance on a C30-bonded stationary phase of monohydroxycarotenoids with variable chain length or degree of desaturation and of lycopene isomers synthesized by various carotene desaturases, *Journal of Chromatography A* 936, 59-69.
 56. Shi, J., Le Maguer, M., Bryan, M., and Kakuda, Y. (2003) Kinetics of lycopene degradation in tomato puree by heat and light irradiation, *Journal of Food Process Engineering* 25, 485-498.
 57. Caris-Veyrat, C., Schmid, A., Carail, M., and Böhm, V. (2003) Cleavage products of lycopene produced by in vitro oxidations: characterization and mechanisms of formation, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 51, 7318-7325.

ANNEXES

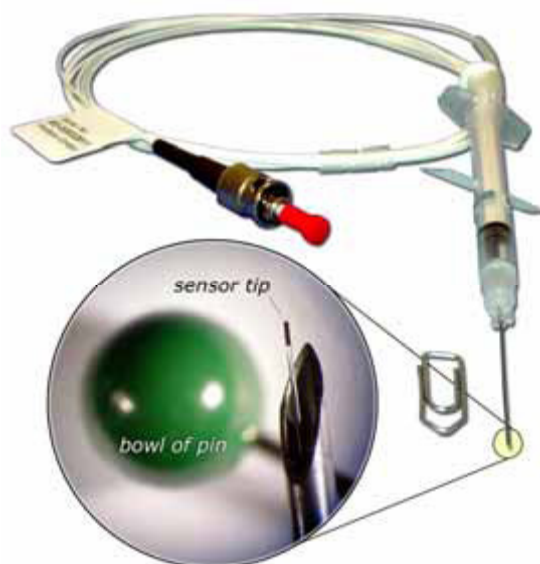
ANNEXE III-1 : Présentation de l'oxymètre MicroxTX3 (Presens) et de son principe de fonctionnement.

Cet appareil permet de mesurer la concentration en oxygène dissous en phase gazeuse ou en solution aqueuse dans un milieu indépendant ou dans la cellule du spectrophotomètre grâce à une sonde d'oxymétrie à fibre optique (Microx) avec une compensation de la température. Pour visualiser les mesures, l'appareil est connecté à un ordinateur.

Limite de détection : 20 ppb soit de 0 à 50 % d'oxygène.



Les sondes à connecter à l'appareil sont des fibres optiques de 140 μm de diamètre présentées ci-dessous :



Les fibres permettent une mesure invasive de la pression partielle en oxygène sans consommer d'oxygène et avec une haute résolution spatiale.

Le principe de mesure est basé sur l'extinction de luminescence. Des molécules photosensibles situées sur un support inerte sont excitées par une lumière bleue. Le complexe réagit en émettant de la lumière rouge (phénomène appelé luminescence). On mesure alors le

déphasage entre la lumière bleue et rouge, celle-ci étant proportionnelle à la concentration en oxygène dans le milieu.

The principle of measurement is based on the effect of dynamic luminescence quenching by molecular oxygen. The following scheme explains the principle of dynamic luminescence quenching by oxygen.

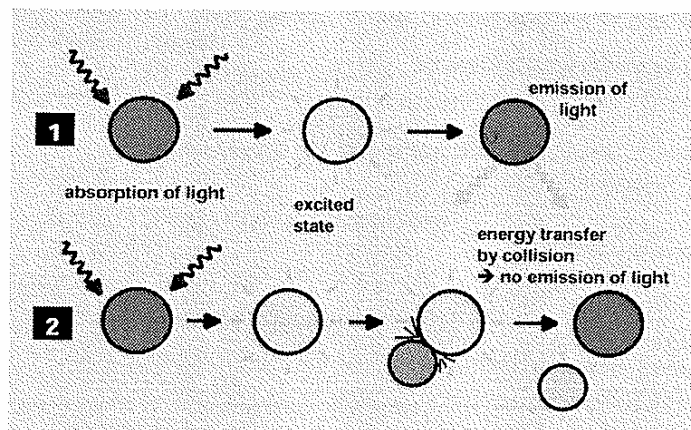


Figure 13.1 Principle of dynamic quenching of luminescence by molecular oxygen

(1) Luminescence process in absence of oxygen

(2) Deactivation of the luminescent indicator molecule by molecular oxygen

The collision between the luminophore in its excited state and the quencher (oxygen) results in radiationless deactivation and is called collisional or dynamic quenching. After collision, energy transfer takes place from the excited indicator molecule to oxygen which consequently is transferred from its ground state (triplet state) to its excited singlet state. As a result, the indicator molecule does not emit luminescence and the measurable luminescence signal decreases.

La luminescence diminue en présence d'oxygène. On mesure un angle de déphasage qui est proportionnel à la concentration en oxygène. Plus l'angle diminue, plus la concentration en oxygène augmente.

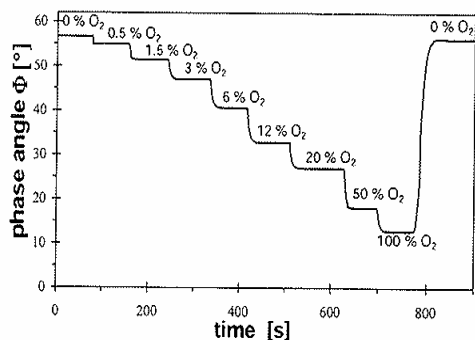


Figure 5.1 Response of an oxygen microsensor toward changes in the oxygen concentration.

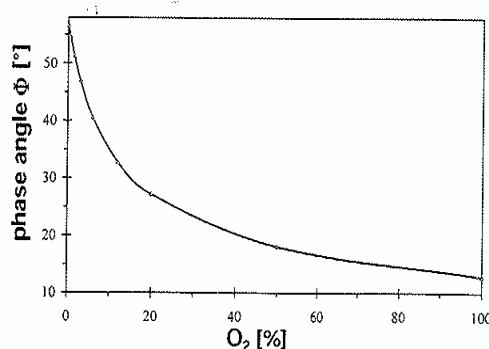
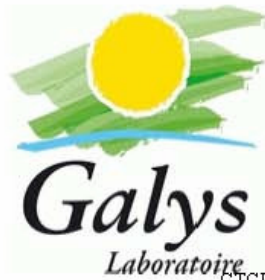


Figure 5.2 Effect of the phase angle of an oxygen microsensor on different oxygen contents.

ANNEXE III-2 : Résultats de l'analyse de la teneur en métaux dans l'huile de tournesol et l'émulsion préparée à partir de cette huile.



CTCPA D'AVIGNON
SITE AGROPARC
Z.A. DE L'AÉROPORT
BP 21203
84911 AVIGNON CEDEX 9

Réception: 29/03/2010 Date de mise en analyse: 12/04/2010 Édition du rapport: 20/04/2010	Nos références : Echantillon N° : 2010090754 Code Rapport : RADM-2010090754-11067921
--	--

RAPPORT D'ANALYSE

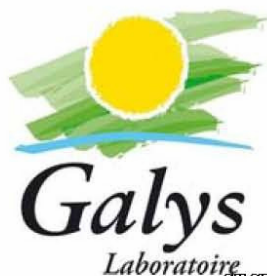
Vos références : HUILE DE TOURNESOL		
DETERMINATION	Résultat	Unité
Cuivre (Cu) <small>NF EN 13805 / NF EN ISO 11885</small>	<0.02	m g/kg
Fer (Fe) <small>NF EN 13805 / NF EN ISO 11885</small>	<0.05	m g/kg
Manganèse (Mn) <small>NF EN 13805 / NF EN ISO 11885</small>	<0.02	m g/kg
Zinc (Zn) <small>NF EN 13805 / NF EN ISO 11885</small>	<0.50	m g/kg

Le signe < signifie valeur comprise entre 0 et la valeur indiquée derrière le signe.

Hervé Pillon
Responsable Laboratoire

Pour tout renseignement concernant ces résultats contactez MR DAVID PARIS

Ce rapport d'analyse ne concerne que les objets soumis à l'analyse. Sauf indication contraire, les conclusions et les avis et interprétations ne tiennent pas compte des incertitudes de mesures associées aux résultats des essais. La reproduction de ce document n'est autorisée que sous sa forme intégrale.



CTCPA D'AVIGNON
SITE AGROPARC
Z.A. DE L'AÉROPORT
BP 21203
84911 AVIGNON CEDEX 9

Réception: 29/03/2010 Date de mise en analyse: 12/04/2010 Edition du rapport : 20/04/2010	Nos références : Echantillon N° : 2010090755 Code Rapport : RADM-2010090755-11067922
---	--

RAPPORT D'ANALYSE

Vos références : EMULSION		
DETERMINATION	Résultat	Unité
Cuivre (Cu) <i>NF EN 13805 / NF EN ISO 11885</i>	<0.02	mg/kg
Fer (Fe) <i>NF EN 13805 / NF EN ISO 11885</i>	<0.05	mg/kg
Manganèse (Mn) <i>NF EN 13805 / NF EN ISO 11885</i>	<0.02	mg/kg
Zinc (Zn) <i>NF EN 13805 / NF EN ISO 11885</i>	<0.5	mg/kg

Le signe < signifie valeur comprise entre 0 et la valeur indiquée derrière le signe.

Hervé Pillon
Responsable Laboratoire

Pour tout renseignement concernant ces résultats contactez MR DAVID PARIS.

Ce rapport d'analyse ne concerne que les objets soumis à l'analyse. Sauf indication contraire, les conclusions et les avis et interprétations ne tiennent pas compte des incertitudes de mesures associées aux résultats des essais. La reproduction de ce document n'est autorisée que sous sa forme intégrale.

ANNEXE III-3 : Caractéristiques des méthodes d'analyses des différents microconstituants

I. Acide ascorbique

Des droites de calibration ont été mises en place pour la quantification de l'acide ascorbique dans les milieux modèles (HP1100). Elles ont été réalisées en triplicats. Les moyennes des trois répétitions sont présentées ci-dessous.

Droite d'étalonnage (à 254 nm):

1) Sur [5,0-50,4 µmol/L]

Aire = 2,8163 x [ac. ascorbique] + 4,9215

$R^2 = 0,9975$

2) Sur [50,4-504 µmol/L]

Aire = 3,3651 x [ac. ascorbique] + 50,274

$R^2 = 0,9991$

Domaine d'étalonnage : [5-504 µmol/L]

Domaine d'étude : [5-120 µmol/L]

II. Composés phénoliques

Des droites de calibration ont été mises en place pour l'analyse de l'acide chlorogénique, de la rutine et de la 7-O-glucosyl-naringénine (= prunine) (HP1100). Elles ont été réalisées en triplicats.

II.1. Acide chlorogénique

Droite d'étalonnage (à 280 nm) :

Sur [0,062-0,619 µmol/L]

Aire = 4,4244 x [ac. chlorogénique] – 5,3379

$R^2 = 0,9995$

Domaine d'étalonnage : [4,66-46,6 µmol/L]

Domaine d'étude : [5-45 µmol/L]

II.2. Rutine

Droite d'étalonnage (à 280 nm) :

Sur [0,065-0,654 $\mu\text{mol/L}$]

Aire = 3,9098 x [rutine] + 1,3788

$R^2 = 0,9988$

Domaine d'étalonnage : [9,38-93,8 $\mu\text{mol/L}$]

Domaine d'étude : [12-51 $\mu\text{mol/L}$]

II.3. 7-O-glucosyl-naringénine

Droite d'étalonnage (à 280 nm) :

Sur [0,86-8,62 $\mu\text{mol/L}$]

Aire = 10,51 x [prunine] – 4,2596

$R^2 = 1$

Domaine d'étalonnage : [9,18-91,8 $\mu\text{mol/L}$]

Domaine d'étude : [10-23 $\mu\text{mol/L}$]

III. Caroténoïdes

Des droites de calibration ont été mises en place pour la quantification des caroténoïdes ((*E*)-lycopène et (*E*)- β -carotène) dans les milieux modèles (HP1050). Elles n'ont été réalisées qu'une seule fois.

III.1. (*E*)-lycopène

Droite d'étalonnage (à 472 nm) :

1) Sur [0,4-13,7 $\mu\text{mol/L}$]

Aire = 683,44 x [(*E*)-lycopène] + 89,922

$R^2 = 0,9982$

2) Sur [5-200 $\mu\text{mol/L}$]

Aire = 700,08 x [(*E*)-lycopène] + 3694

$R^2 = 0,9985$

Domaine d'étalonnage : [0,4-200 µmol/L]

Domaine d'étude : [0,4-51 µmol/L]

III.2. (E)-β-carotène

Droite d'étalonnage (à 4520 nm) :

1) Sur [0-0,2 µmol/L]

$$\text{Aire} = 336,93 \times [(E)\text{-}\beta\text{-carotène}] + 6$$

$$R^2 = 0,9776$$

2) Sur [0,05-2,00 µmol/L]

$$\text{Aire} = 489,23 \times [(E)\text{-}\beta\text{-carotène}] + 4,0379$$

$$R^2 = 0,9993$$

3) Sur [1,0-20,5 µmol/L]

$$\text{Aire} = 580,61 \times [(E)\text{-}\beta\text{-carotène}] + 50,938$$

$$R^2 = 0,9994$$

Domaine d'étalonnage : [0-20,5 µmol/L]

Domaine d'étude : [0,03-19 µmol/L]

IV. α-Tocophérol

Des droites de calibration ont été mises en place pour la quantification de l'α-tocophérol dans les milieux modèles (HP1200-fluo). Elles n'ont été réalisées qu'une seule fois.

Droite d'étalonnage (Excitation à 295 nm et émission à 330 nm) :

1) Sur [0,26-2,57 µmol/L]

$$\text{Aire} = 95,262 \times [\alpha\text{-tocophérol}] - 7,2688$$

$$R^2 = 0,9993$$

2) Sur [2,57-25,65 µmol/L]

$$\text{Aire} = 92,775 \times [\alpha\text{-tocophérol}] - 25,798$$

$$R^2 = 0,9995$$

Domaine d'étalonnage : [0,26-25,65 µmol/L]

Domaine d'étude : [0,29-24,85 µmol/L]

V. Trilinoléine

Une droite de calibration a été mise en place pour la quantification de la trilinoléine dans les milieux modèles (HP1050). Elle n'a été réalisée qu'une seule fois.

Droite d'étalonnage (210 nm) :

Sur [0,47-4,65 mmol/L]

Aire = 37894 x [trilinoléine] - 5713,2

$R^2 = 0,9983$

Domaine d'étalonnage : [0,26-25,65 µmol/L]

Domaine d'étude : [0,51-4,50 µmol/L]

Chapitre IV

*Mise en place d'un modèle
stoechio-cinétique et validation
sur un produit réel*

SOMMAIRE

I. INTRODUCTION	297
II. MATERIELS ET METHODES	300
II.1. OUTILS UTILISES POUR LA MODELISATION	300
II.2. MATERIELS ET METHODES POUR LA VALIDATION SUR SAUCE TOMATE	300
II.2.1. Matériels	300
II.2.2. Méthodes	302
III. MISE EN PLACE DE LA MODELISATION.....	305
III.1. DESCRIPTION DU SYSTEME MODELE PHYSIQUE	305
III.2. LES CONSTITUANTS DES MODELES	307
III.3. LES REACTIONS AU SEIN DES MODELES.....	310
III.4. LE SCHEMA REACTIONNEL	312
IV. MODELISATIONS DES DONNEES OBTENUES EN MILIEUX MODELES.....	313
IV.1. IDENTIFICATION DES CONSTANTES DE VITESSES PAR UNE APPROCHE INDIVIDUELLE	313
IV.1.1. Modélisation des données concernant les composés hydrophiles	313
IV.1.2. Modélisation des données concernant les composés lipophiles	336
IV.2. MODELE INTEGRE POUR L' OXYDATION LIPIDIQUE	355
IV.3. VERS UN MODELE STOECHIO-CINETIQUE INTEGRE	355
IV.3.1. Identification paramétrique en milieu aqueux	363
IV.3.2. Identification paramétrique en milieu lipidique et en émulsion	370
V. VALIDATION DU SYSTEME MODELE EMULSIONNE PAR COMPARAISON AVEC UN PRODUIT REEL	371
IV.1. APPARITION DES DIENES CONJUGUES	371
IV.2. EVOLUTION DE LA TENEUR EN TRILINOLEINE	372
IV.3. EVOLUTION DE LA TENEUR EN α -TOCOPHEROL	373
IV.4. EVOLUTION DES TENEURS EN CAROTENOÏDES	374
IV.5. EVOLUTION DES TENEURS EN COMPOSES PHENOLIQUES	376
IV.6. EVOLUTION DE LA TENEUR EN ACIDE ASCORBIQUE.....	377
V. CONCLUSION.....	379
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	381
ANNEXES.....	383

I. Introduction

La modélisation de réactions faisant intervenir les microconstituants de la tomate a été réalisée à plusieurs reprises en solutions ou au sein de produits à base de tomate; les résultats obtenus au cours de ces différentes études ont été répertoriés dans le Tableau IV-1. Dans les produits à base de tomate, ce sont essentiellement l'acide ascorbique et le lycopène qui ont été étudiés. Ces deux composés se dégraderaient selon un ordre 1 au cours de la transformation et du stockage (1-4). Concernant la dégradation du β -carotène et de l' α -tocophérol, les paramètres cinétiques de ces réactions ont été déterminés dans des milieux modèles ou dans des produits alimentaires ne contenant pas de tomate. Dhuique-Mayer *et al.* (5) ont évalué les paramètres de dégradation du β -carotène dans un jus d'orange porté à 75, 80, 90, 95 et 100 °C. La disparition de ce composé suit une cinétique d'ordre 1 et l'énergie d'activation de la réaction a été évaluée à 110 kJ.mol⁻¹. Ce composé a également été étudié dans de l'huile provenant d'un fruit vietnamien appelé "Gac" (6). Une cinétique d'ordre 1 a également été observée lors de sa dégradation entre 45 et 60 °C. Selon Heldman (7), l' α -tocophérol a été étudié dans différentes formules entérales à des températures comprises entre 4 et 30 °C et dans du lait entre 20 et 45 °C. La dégradation de ce composé suit une cinétique d'ordre 1 dans tous ces produits. Les énergies d'activation calculées sont égales à 10,5 kJ.mol⁻¹ dans les formules entérales et 39,4 kJ.mol⁻¹ dans le lait. Les paramètres cinétiques relatifs à la dégradation des composés phénoliques ont rarement été caractérisés. Récemment, Lavelli et Giovanelli (4) se sont intéressés à l'évolution de la teneur en rutine et en composés phénoliques totaux dans de la pulpe et du concentré de tomate chauffés à 40 et 50 °C pendant 90 jours. La dégradation de la rutine suit une cinétique d'ordre zéro tandis que la teneur en composés phénoliques totaux s'accroît au cours du traitement thermique.

L'étude des microconstituants de la tomate en milieux modèles a permis d'évaluer leur stabilité à différentes températures. Grâce à l'identification de certains produits de dégradation, des réactions faisant intervenir les microconstituants antioxydants et les lipides peuvent être proposées. Un schéma réactionnel regroupant l'ensemble de ces réactions a été mis en place en fonction du milieu étudié. Les données cinétiques obtenues expérimentalement seront traitées par des outils de modélisation afin de caractériser les constantes de vitesse des réactions. La modélisation des données sera effectuée en utilisant différents outils. Tout d'abord une identification des paramètres de manière individuelle (modèle "identification individuelle") peut être conduite dans l'équipe chimie des

antioxydants de l'unité SQPOV (INRA Avignon) à l'aide du logiciel Scientist[®]. Il s'agit de déterminer la constante de vitesse et la stœchiométrie pour chacun des enregistrements cinétiques. Puis, un modèle intégré ne prenant en considération que l'oxydation lipidique et son inhibition sera également proposé (modèle SQPOV). Enfin, l'identification des paramètres de manière globale (modèle stoechio-cinétique) sera réalisée en collaboration avec Cédric Brandam, Xuan Meyer et Marie Roland du LGC (Laboratoire de Génie Chimique) de Toulouse dans le cadre du programme ANR Réactial. Ce développement se fait sous Matlab[®] et utilise l'outil Modélight développé par le LGC.

Le milieu modèle émulsionné a été mis en place dans le but de simuler le produit sauce tomate au cours de sa fabrication et du stockage. Afin de valider ce modèle, une sauce tomate préparée à partir d'un concentré, d'eau, d'huile de tournesol et d'amidon sera chauffée dans les mêmes conditions, à l'aide du dispositif expérimental présenté dans le chapitre III. L'évolution des microconstituants issus du concentré de tomate sera suivie puis comparée aux données obtenues en émulsion.

Tableau IV-1. Constantes cinétiques de dégradation de l'acide ascorbique et du lycopène dans des produits à base de tomate

	T(°C)	Conditions de traitement thermique et de stockage	k (jour ⁻¹)	Ea (kJ.mol ⁻¹)	Référence	
Acide ascorbique	30	Pulpe de tomate conservée en boîte 90 jours	0,0015	105,2	(4)	
	40		0,0050			
	50		0,0215			
	30	Pulpe de tomate conservée en tube 90 jours	0,0075	23,6		
	40		0,0096			
	50		0,0137			
	25	Ketchup conditionné à chaud sans pasteurisation puis conservé 460 heures	0,0096	73,6	(1)	
	50		0,0600			
	75		0,6432			
	90		1,7592			
	25	Ketchup conditionné, pasteurisé puis conservé 460 heures	0,0696	16,8		
	50		0,1224			
75	0,1512					
90	0,2040					
Lycopène	-20	Pulpe de tomate chauffée à 100 °C puis exposé à la lumière et à l'air à différentes températures	0,0057	19,87		(3)
	5		0,0092			
	25		0,0250			
	5	Sauce conservée dans un flacon en verre à l'abri de l'air et de la lumière	0,0014	-		(2)
		Sauce conservée dans un flacon en polyéthylène	0,0022			
		Sauce conservée dans un flacon en polypropylène	0,0024			
	25	Ketchup conditionné à chaud sans pasteurisation puis conservé 460 heures	0,0456	26,8	(1)	
	50		0,0624			
	75		0,1056			
	90		0,4032			
	25	Ketchup conditionné, pasteurisé puis conservé 460 heures	0,0096	30,1		
	50		0,0144			
	75		0,0192			
	90		0,1296			

II. Matériels et méthodes

II.1. Outils utilisés pour la modélisation

Le logiciel Scientist[®] (MicroMath, Inc., Saint Louis, MO, USA) a été utilisé pour la détermination des constantes pour le modèle "identification individuelle". Ce même logiciel a servi au traitement mathématique des données d'oxydation lipidique en présence et absence d'antioxydants (modèle développé au sein de l'unité SQPOV de l'INRA d'Avignon).

L'outil Modélight a été développé par Sébastien Pommier en 2002 au LGC (Laboratoire de Génie Chimique) de Toulouse. Il sera utilisé pour l'identification individuelle et globale des paramètres cinétiques dans les trois milieux modèles. Il fonctionne sous un environnement Matlab[®] (the Mathworks, Inc., Natick, MA, USA).

II.2. Matériels et méthodes pour la validation sur sauce tomate

II.2.1. Matériels

II.2.1.1. Produits entrant dans la composition de la sauce

- **Concentré de tomate**

Le concentré de tomate utilisé pour la préparation de la sauce a été fourni par une usine de la région PACA en 2009. Il s'agit d'un concentré de tomate à 30 % de matière sèche.

- **Huile végétale**

L'huile utilisée pour la préparation de la sauce est de l'huile de tournesol provenant du commerce (Auchan). Il s'agit du même lot que celui utilisé pour la préparation des milieux modèles dans le chapitre III.

- **Amidon modifié**

L'amidon utilisé est de l'amidon modifié Resistamyl 347 (Adipate de di-amidon acétylé E1422, non gélifié, Tate & Lyle, Londres, Angleterre) fourni par le CTCPA d'Avignon.

○ **Eau**

L'eau utilisé pour la préparation de la sauce est de l'eau de qualité milliQ obtenue à l'aide d'un système Millipore® QPak 2 (Millipore Corporation, Bedford, USA).

II.2.1.2. Produits chimiques

○ **Antioxydants utilisés comme standard**

L'acide chlorogénique (PM = 354,32 g.mol⁻¹, 95 %), la rutine (monohydrate, PM = 610,53 g.mol⁻¹, 95 %), la naringénine (PM = 272,26 g.mol⁻¹, 95 %) et l'acide L-ascorbique (PM = 176,12 g.mol⁻¹, 99 %) proviennent de chez Sigma-Aldrich (St Louis, MO, USA). Le (*E*)-β-carotène (PM = 536,89 g.mol⁻¹, 97 %) provient de chez Fluka (St Louis, MO, USA). La prunine (PM = 434,40 g.mol⁻¹, 94 %) provient de chez Extrasynthèse (Genay, France). Le (*E*)-lycopène a été synthétisé par Eric Reynaud dans l'équipe Chimie des Antioxydants de l'UMR Sécurité et Qualité des Produits d'Origine Végétale (INRA, Université d'Avignon, Avignon).

○ **Autres**

Parmi les solvants, l'éther de pétrole, le dichlorométhane (CH₂Cl₂), l'isopropanol ((CH₃)₂CHOH), le méthanol (CH₃OH) et l'éther tert-butylméthylique proviennent de chez Fisher Scientific (Illkirch, France). L'acétone (CH₃COCH₃) provient de Prolabo (Leuven, Belgique).

L'acide formique (98-100 %) provient de chez Merck (Darmstadt, Allemagne) et l'acide orthophosphorique (85 %) de chez Prolabo (Leuven, Belgique).

Le chlorure de sodium (NaCl, 99,5 %) provient de chez Sigma Aldrich (St Louis, MO, USA).

Le sulfate de sodium anhydre, Na₂SO₄ (99 %) provient de chez Fluka (St Louis, MO, USA).

La trilinoléine utilisée comme étalon (PM = 878,7 g.mol⁻¹, 95 %) provient de chez Sigma Aldrich (St Louis, MO, USA).

L'eau de qualité milliQ a été obtenue à l'aide d'un système Millipore® QPak 2 (Millipore Corporation, Bedford, USA).

II.2.1.3. Equipements

○ Modélisation du procédé de transformation

Le dispositif expérimental utilisé au laboratoire et permettant de modéliser le procédé de transformation de la sauce tomate est le même que celui utilisé au cours des cinétiques présentées dans le chapitre III. Il s'agit d'un agitateur magnétique chauffant (Radleys RR98072, Essex, UK) équipé d'un contrôleur de température et d'une sonde de température Pt1000 (Radleys RR98073).

○ Spectres d'absorption

L'appareil utilisé pour l'analyse des spectres d'absorption est le même que celui décrit dans le paragraphe « II.1.2.6. Spectres d'absorption » du chapitre III.

II.2.2. Méthodes

II.2.2.1. Préparation de la sauce tomate

La sauce est préparée dans un tricol de 50 mL. Les différents ingrédients y sont ajoutés dans cet ordre :

- 7,8 g de concentré de tomate
- 0,6 g d'huile de tournesol
- 0,3 g d'amidon de maïs modifié
- 22,2 mL d'eau milli Q

Ces ingrédients sont mélangés par agitation magnétique durant 5 minutes à 1400 tr.min⁻¹.

II.2.2.2. Suivis cinétiques

Pour toutes les cinétiques, les prélèvements sont effectués aux temps t₀, t_{2h}, t_{4h}, t_{6h} et t_{8h} (le premier jour) puis t_{22h}, t_{24h}, t_{26h}, t_{28h} et t_{30h} (le deuxième jour). L'acide ascorbique se dégradant rapidement, les prélèvements destinés à l'analyse de ce composé se feront à intervalles plus rapprochés (toutes les 20 minutes pendant les 3 premières heures puis toutes les heures).

○ **Suivi de l'apparition des diènes conjugués**

Un volume de 400 μL est prélevé puis dilué dans 3,6 mL d'isopropanol (dilution 1/10). Après centrifugation ($5600 \text{ tr. min}^{-1}$, 4 minutes, 4 °C) le surnageant est dilué au 1/20 directement dans une cuve en quartz ($l = 1 \text{ cm}$). Le spectre UV du mélange est acquis et l'absorbance mesurée à 234 nm relevée. La teneur en diènes conjugués dans le milieu est obtenue en utilisant le coefficient d'extinction molaire des hydroperoxydes de l'acide linoléique dans l'isopropanol ($\epsilon = 27000 \text{ L. mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$) et en corrigeant par la dilution totale effectuée (1/200).

○ **Suivi des teneurs en caroténoïdes et trilinoléine**

Un volume de 400 μL de milieu est prélevé puis dilué dans 400 μL d'un mélange acétone/éther de pétrole (25:75 vol) dans un tube Eppendorf de 1,5 mL. Après homogénéisation au vortex, le tube est centrifugé ($10000 \text{ tr. min}^{-1}$, 5 minutes, 4 °C) et la phase éther de pétrole contenant les caroténoïdes est récupérée. Une seconde extraction est réalisée dans les mêmes conditions. Pour la troisième extraction, quelques grammes de chlorure de sodium sont ajoutés à la phase acétone/eau des deux premières extractions et au solvant acétone/éther de pétrole. Les trois phases éther de pétrole sont regroupées et séchées sur Na_2SO_4 . Un volume de 300 μL de cet extrait est évaporé à sec. Il sera repris dans 150 μL d'un mélange $\text{MeOH}/\text{CH}_2\text{Cl}_2$ avant injection en CLHP-UV.

La phase acétone/eau obtenue après extraction est conservée. Elle constitue l'extrait phénolique. L'analyse CLHP-UV de cet extrait est réalisée à l'aide d'un chromatographe HP 1200 Hewlett Packard couplé à un détecteur à barrettes de diodes (190-950 nm). La colonne utilisée est une colonne YMC, phase inverse C30 (3 μm , 250 mm x 4,6 mm) munie d'une colonne de garde (7,5 mm x 4,6 mm) et placée dans un compartiment thermostaté à 30°C. La phase mobile est constituée de trois solvants:

- Eau
- Méthanol
- MTBE (éther tert-butylméthylque)

Le gradient d'élution est le même que celui présenté dans le Tableau III-5 (chapitre III). Le débit est de 1 mL. min^{-1} et le volume d'injection de 5 μL .

La quantification des composés d'intérêt se fait à 452 nm pour le β -carotène (formes *E* et *Z*), à 472 nm pour le lycopène (*E* et *Z*) et à 210 nm pour la trilinoléine.

○ **Suivi de la teneur en α -tocophérol**

L'extrait de caroténoïdes et trilinoléine contient également l' α -tocophérol. Après extraction, la phase éther de pétrole est conservé à -20 °C avant injection en CLHP-fluo.

L'analyse CLHP-UV-fluo est réalisée dans les conditions décrites dans le paragraphe "II.2.4.6. Suivi de la teneur en α -tocophérol" du chapitre III.

La détection de l' α -tocophérol se fait par fluorimétrie. L'excitation a lieu à 295 nm et l'émission se fait à 330 nm. L'intégration du pic d' α -tocophérol se fait à cette longueur d'onde.

○ **Suivi de la teneur en composés phénoliques**

L'extrait phénolique est la phase acétone/eau récupérée après extraction des caroténoïdes. Elle est filtrée (filtre UPTIDISC, Interchim, Interchrom, PTFE 13 mm, 0,45 μ m) puis conservée à -20 °C. Elle est injectée en CLHP-UV selon les conditions décrites dans le paragraphe "II.2.2.2. Extraction et analyse des composés phénoliques" du chapitre II.

○ **Suivi de la teneur en acide ascorbique**

Un volume de 250 μ L est prélevé puis dilué dans 750 μ L d'acide phosphorique (2 %), dans un tube Eppendorf de 1,5 mL. Après homogénéisation au vortex, le tube est centrifugé (10000 tr.min⁻¹, 5 minutes, 4 °C). Le surnageant est filtré (filtre UPTIDISC, Interchim, Interchrom, PTFE 13 mm, 0,45 μ m) puis immédiatement injecté en CLHP-UV.

L'analyse CLHP-UV est réalisée dans les mêmes conditions que celles décrites dans le paragraphe "II.2.2.1. Extraction et analyse de l'acide ascorbique" du chapitre II.

III. Mise en place de la modélisation

La mise en place du schéma réactionnel des réactions ayant lieu au sein des systèmes modèles nécessite une documentation du modèle. Une description du modèle physique doit être réalisée puis une liste des marqueurs constitués, avec leurs concentrations initiales et les réactions dans lesquels ils sont impliqués. Tous ces éléments serviront également à déterminer les paramètres cinétiques des réactions.

III.1. Description du système modèle physique

Le système émulsionné modélisant la sauce tomate est décrit dans le tableau ci-dessous.

Tableau IV-2. Description du système modèle émulsion

Désignation	Description	Hypothèses
Phase aqueuse	Phase liquide Homogène système multi constituants : <ul style="list-style-type: none"> - Eau - Acétate de sodium - Amidon - Acide ascorbique - Composés phénoliques - Oxygène - Produits d'oxydation des phénols et de l'acide ascorbique - Phospholipides sous forme de liposomes 	$[O_2]$ dans eau < $[O_2]$ dans huile
Gouttelettes lipidiques	Phase liquide Homogène système multi constituants : <ul style="list-style-type: none"> - Lipides - Caroténoïdes - α-tocophérol - Oxygène - Produits d'oxydation des lipides - Produits d'oxydation des caroténoïdes et de l'α-tocophérol 	Les produits provenant de la coupure des LOOH, LOH et L=O peuvent passer dans la phase aqueuse
Interface entre les 2 phases	Constituée de phospholipides	Présence de lipides polyinsaturés apportés par les phospholipides

Le milieu modèle est un système ouvert dans un dispositif expérimental qui peut être assimilé à un batch parfaitement agité. La température du milieu peut-être considérée comme homogène dans le milieu et égale à la température mesurée expérimentalement.

Le niveau de complexité retenu pour ce système implique deux compartiments (phase aqueuse et lipidique). Un transfert d'oxygène a lieu entre ces deux compartiments et avec l'air. On s'intéresse aux réactions chimiques ayant lieu dans ces deux phases. Une représentation schématique de ce système physique est présentée sur la figure ci-dessous. Seuls les constituants et produits issus de la dégradation des microconstituants identifiés lors des expériences sont indiqués.

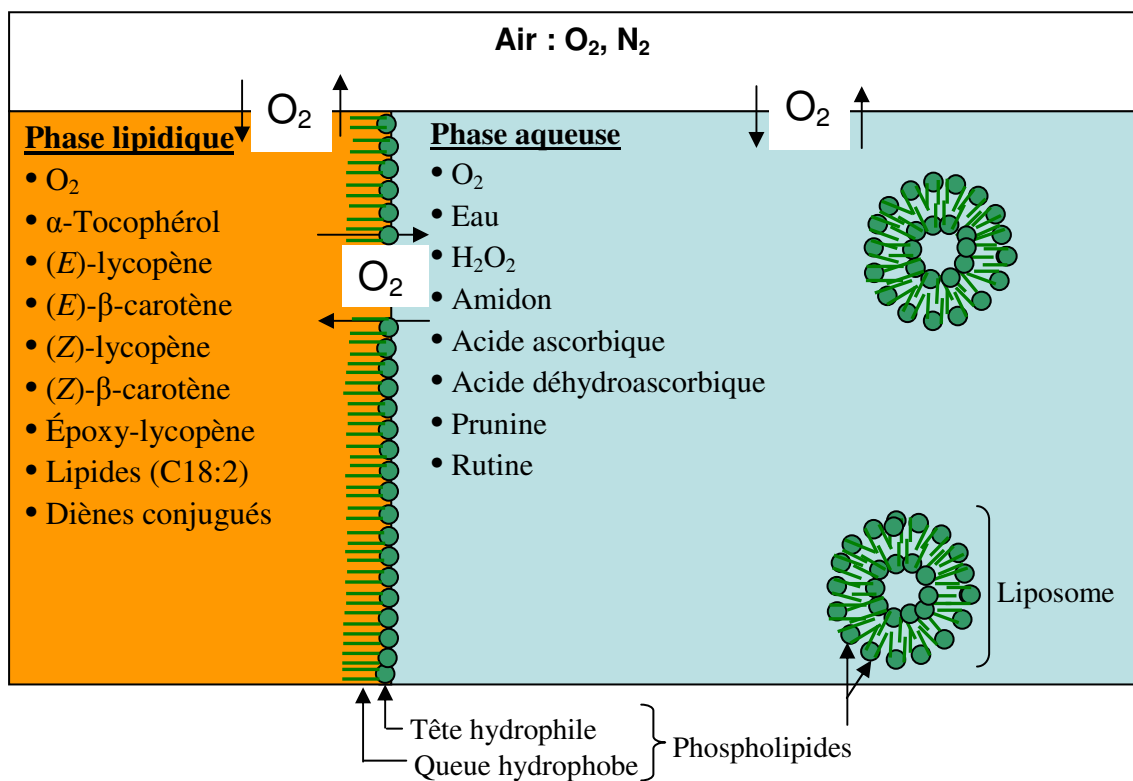


Figure IV-1 : Représentation physique du système sauce tomate à deux compartiments

III.2. Les constituants des modèles

Les constituants identifiés dans le modèle émulsion sont listés dans le tableau ci-dessous.

Tableau IV-3. Liste des constituants du système modèle émulsionné

Type	Constituants	Formule brute	Localisation	Dosage
Vitamines	α -Tocophérol	C ₂₉ H ₅₀ O ₂	Gouttelettes lipidiques	Extraction CLHP
	Acide ascorbique	C ₆ H ₈ O ₆	Phase aqueuse	Extraction CLHP
	Acide déhydroascorbique	C ₆ H ₆ O ₆		-
Autre	Eau oxygénée	H ₂ O ₂	Phase aqueuse	Spectro UV
Caroténoïdes	(E)-lycopène	C ₄₀ H ₅₆	Gouttelettes lipidiques	Extraction CLHP
	(Z)-lycopène	C ₄₀ H ₅₆		
	Epoxy-lycopène	C ₄₀ H ₅₆ O		
	(E)-carotène	C ₄₀ H ₅₆		
	(Z)-carotène	C ₄₀ H ₅₆		
	Epoxy- β -carotène	C ₄₀ H ₅₆ O		
Composés phénoliques	Acide chlorogénique	C ₁₆ H ₁₈ O ₉	Phase aqueuse	Extraction CLHP
	Prunine	C ₂₁ H ₂₂ O ₁₀		
	Rutine	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₆		
Lipides	Trilinoléine	C ₅₇ H ₉₈ O ₆	Gouttelettes lipidiques et interface	Extraction CLHP
Diènes conjugués	Trilinoléine hydroperoxyde	C ₅₇ H ₉₈ O ₈		Extraction CLHP
	LOOH	C ₁₈ H ₃₂ O ₄		Spectro UV
	LOH	C ₁₈ H ₃₂ O ₃		
Oxygène	Oxygène	O ₂	Phase aqueuse, gouttelettes lipidiques et interface	-
Eau	Eau	H ₂ O	Phase aqueuse	-

Les concentrations initiales des différents constituants des modèles sont des paramètres nécessaires à la modélisation des données. Ces concentrations dans les milieux émulsionné, aqueux et lipidique sont répertoriées dans les Tableaux IV-4, IV-5 et IV-6, respectivement.

Tableau IV-4. Concentration théorique des différents constituants dans le système modèle émulsionné

Marqueurs	En $\mu\text{mol/L}$
Acide ascorbique	305,56
Acide chlorogénique	49,71
Rutine	39,01
Prunine	19,52
(E)-lycopène	164,03
(E)- β -carotène	18,23
α -tocophérol	15,04
Trilinoléine	5000
Chaînes en C18:2	apportées par huile : 39,860 mmol/L. apportées par PL : 8,600 mmol/L Total: 48,460 mmol/L

Remarque : les teneurs en antioxydants indiquées dans les tableaux IV-4, IV-5 et IV-6 sont les teneurs que l'on a souhaité solubiliser. Pour les caroténoïdes, les teneurs qui ont réellement été solubilisées sont moins importantes car ces composés sont peu solubles dans l'huile.

Le volume du milieu modèle émulsionné est de 30,66 mL. La composition exacte des trois milieux modèles est décrite dans le chapitre III.

Tableau IV-5. Concentration théorique des différents constituants dans le système modèle aqueux

Marqueurs	En $\mu\text{mol/L}$
Acide ascorbique	312,28
Acide chlorogénique	50,804
Rutine	39,868
Prunine	19,949

Le volume du milieu modèle aqueux est de 30 mL.

Tableau IV-6. Concentration théorique des différents constituants dans le système modèle lipidique

Marqueurs	En $\mu\text{mol/L}$
(E)-lycopène	4143,88
(E)- β -carotène	855,82
α -tocophérol	707,035
Trilinoléine	250000
Chaînes en C18:2	apportées par huile : 1,8739 mol/L. apportées par PL : 36,168 mmol/L Total: 38,042 mol/L

Le milieu lipidique est constitué de 9,25 g d'huile et de 0,26 g de PC de soja. Son volume est de 10,055 mL.

III.3. Les réactions au sein des modèles

Tableau IV-7. Réactions ayant lieu en émulsion

Nom	Réaction	Réaction formules brutes	Phase
R1 : oxydation de l'AA	Ac. ascorbique → ac. déhydroascorbique	$C_6H_8O_6 + O_2 \rightarrow C_6H_6O_6 + H_2O_2$	AQUEUSE
R13 : oxydation de l'acide chlorogénique	Ac. chlorogénique → quinone d'ac. chlorogénique	$C_{16}H_{18}O_9 + O_2 \rightarrow C_{16}H_{16}O_9 + H_2O_2$	
R15 : oxydation de la rutine	Rutine → Quinone de rutine	$C_{27}H_{30}O_{16} + O_2 \rightarrow C_{27}H_{28}O_{16} + H_2O_2$	
R14 : oxydation de la prunine	Prunine → Dimère de prunine	$2 C_{21}H_{22}O_{10} + O_2 \rightarrow C_{42}H_{42}O_{20} + H_2O_2$	
R3 : isomérisation du (E)-lycopène	(E)-lycopène → (Z)-lycopène		LIPIDIQUE
R4 : oxydation du lycopène	Lycopène → époxy-lycopène	$C_{40}H_{56} + LOO^\circ \rightarrow C_{40}H_{56}O + LO^\circ$	
		$C_{40}H_{56} + LOO^\circ \rightarrow {}^\circ C_{40}H_{56}-OOL$	
R6 : isomérisation du (E)-β-carotène	(E)-β-carotène → (Z)-β-carotène		
R7 : oxydation du β-carotène	β-carotène → époxy-β-carotène	$C_{40}H_{56} + LOO^\circ \rightarrow C_{40}H_{56}O + LO^\circ$	
		$C_{40}H_{56} + LOO^\circ \rightarrow {}^\circ C_{40}H_{56}-OOL$	
R16 : oxydation de l'α-tocophérol	α-Tocophérol + 2 LOO [°] → α-tocophérone-OOL + LOOH	$C_{29}H_{50}O_2 + 2 LOO^\circ \rightarrow C_{29}H_{49}O_2-OOL + LOOH$	
R9 : Etapes de l'oxydation lipidique. Formation des diènes conjugués à partir des chaînes en C18:2 (C18:2 noté LH)	1) Initiation $LOOH + M^{(n+1)} \rightarrow LOO^\circ + M^{n+} + H^+$	$C_{18}H_{32}O_4 + M^{(n+1)} \rightarrow C_{18}H_{31}O_4^\circ + M^{n+} + H^+$	
	2) Propagation $LOO^\circ + LH \rightarrow LOOH + L^\circ$ et $L^\circ + O_2 \rightarrow LOO^\circ$	$C_{18}H_{31}O_4^\circ + C_{18}H_{32}O_2 \rightarrow C_{18}H_{32}O_4 + C_{18}H_{31}O_2^\circ$ et $C_{18}H_{31}O_2^\circ + O_2 \rightarrow C_{18}H_{31}O_4^\circ$	
	3) Terminaison $2 LOO^\circ \rightarrow LOO-OOL$ ou $LOO-OOL \rightarrow 2 L=O + H_2O_2$ ou $L^\circ + L^\circ \rightarrow L-L (?)$	$2 C_{18}H_{31}O_4^\circ \rightarrow C_{36}H_{62}O_8$ ou $C_{36}H_{62}O_8 \rightarrow 2 C_{18}H_{30}O_3 + H_2O_2$ ou $C_{18}H_{31}O_2^\circ + C_{18}H_{31}O_2^\circ \rightarrow C_{36}H_{62}O_4 (?)$	

Les réactions en milieu aqueux sont strictement les mêmes que celles existantes dans la phase aqueuse de l'émulsion.

On considère que $d[\text{LOO}^\circ]/dt = -d[\text{LOO}^\circ]/dt$, de même $d[\text{LO}^\circ]/dt = -d[\text{LO}^\circ]/dt$ et $d[\text{L}^\circ]/dt = -d[\text{L}^\circ]/dt$ (hypothèse de l'état stationnaire pour les espèces radicalaires)

En milieu lipidique à 50°C, les caroténoïdes ont démontré un effet pro-oxydant. Pour en tenir compte, des réactions différentes sont proposées dans lesquelles une espèce Car-OO° prooxydante est générée en équilibre avec Car° et O₂. Ce radical oxygéné est très réactif et est capable de réagir avec les hydrogènes bis-allyliques des lipides, amorçant ainsi l'oxydation lipidique. Ces réactions sont décrites dans le Tableau IV-8.

Tableau IV-8. Réactions ayant lieu en milieu lipidique

Nom	Réaction	Réaction formules brutes
R3 : isomérisation du (E)-lycopène	(E)-lycopène → (Z)-lycopène	
R4 : oxydation du lycopène	Lycopène → époxy-lycopène	$\text{C}_{40}\text{H}_{56} + \text{LOO}^\circ \rightarrow \text{C}_{40}\text{H}_{56}^\circ + \text{LOOH}$
		$\text{C}_{40}\text{H}_{56}^\circ + \text{O}_2 \rightleftharpoons \text{C}_{40}\text{H}_{56}\text{-OO}^\circ$
		$\text{C}_{40}\text{H}_{56}\text{-OO}^\circ + \text{C}_{18}\text{H}_{32}\text{O}_2 (\text{LH}) \rightarrow \text{C}_{40}\text{H}_{56}\text{-OOH} + \text{C}_{18}\text{H}_{31}\text{O}_2^\circ (\text{L}^\circ)$
R6 : isomérisation du (E)-β-carotène	(E)-β-carotène → (Z)-β-carotène	
R7 : oxydation du β-carotène	β-carotène → époxy-β-carotène	$\text{C}_{40}\text{H}_{56} + \text{LOO}^\circ \rightarrow \text{C}_{40}\text{H}_{56}^\circ + \text{LOOH}$
		$\text{C}_{40}\text{H}_{56}^\circ + \text{O}_2 \rightarrow \text{C}_{40}\text{H}_{56}\text{-OO}^\circ$
		$\text{C}_{40}\text{H}_{56}\text{-OO}^\circ + \text{C}_{18}\text{H}_{32}\text{O}_2 \rightarrow \text{C}_{40}\text{H}_{56}\text{-OOH} + \text{C}_{18}\text{H}_{31}\text{O}_2^\circ$
R16 : oxydation de l'α-tocophérol	α-Tocophérol + 2 LOO° → α-tocophérone-OOL + LOOH	$\text{C}_{29}\text{H}_{50}\text{O}_2 + 2 \text{LOO}^\circ \rightarrow \text{C}_{29}\text{H}_{49}\text{O}_2\text{-OOL} + \text{LOOH}$
R9 : Etapes de l'oxydation lipidique. Formation des diènes conjugués à partir des chaînes en C18:2 (C18:2 noté LH)	1) Initiation $\text{LOOH} + \text{M}^{(n+1)} \rightarrow \text{LOO}^\circ + \text{M}^{n+} + \text{H}^+$	$\text{C}_{18}\text{H}_{32}\text{O}_4 + \text{M}^{(n+1)} \rightarrow \text{C}_{18}\text{H}_{31}\text{O}_4^\circ + \text{M}^{n+} + \text{H}^+$
	2) Propagation $\text{LOO}^\circ + \text{LH} \rightarrow \text{LOOH} + \text{L}^\circ$ et $\text{L}^\circ + \text{O}_2 \rightarrow \text{LOO}^\circ$	$\text{C}_{18}\text{H}_{31}\text{O}_4^\circ + \text{C}_{18}\text{H}_{32}\text{O}_2 \rightarrow \text{C}_{18}\text{H}_{32}\text{O}_4 + \text{C}_{18}\text{H}_{31}\text{O}_2^\circ$ et $\text{C}_{18}\text{H}_{31}\text{O}_2^\circ + \text{O}_2 \rightarrow \text{C}_{18}\text{H}_{31}\text{O}_4^\circ$
	3) Terminaison $2 \text{LOO}^\circ \rightarrow \text{LOO-OOL}$ et $\text{L}^\circ + \text{L}^\circ \rightarrow \text{L-L} (?)$	$2 \text{C}_{18}\text{H}_{31}\text{O}_4^\circ \rightarrow \text{C}_{36}\text{H}_{62}\text{O}_8$ et $\text{C}_{18}\text{H}_{31}\text{O}_2^\circ + \text{C}_{18}\text{H}_{31}\text{O}_2^\circ \rightarrow \text{C}_{36}\text{H}_{62}\text{O}_4 (?)$

III.4. Le schéma réactionnel

Le schéma réactionnel ci-dessous présente l'ensemble des réactions étudiées au sein de l'émulsion modèle.

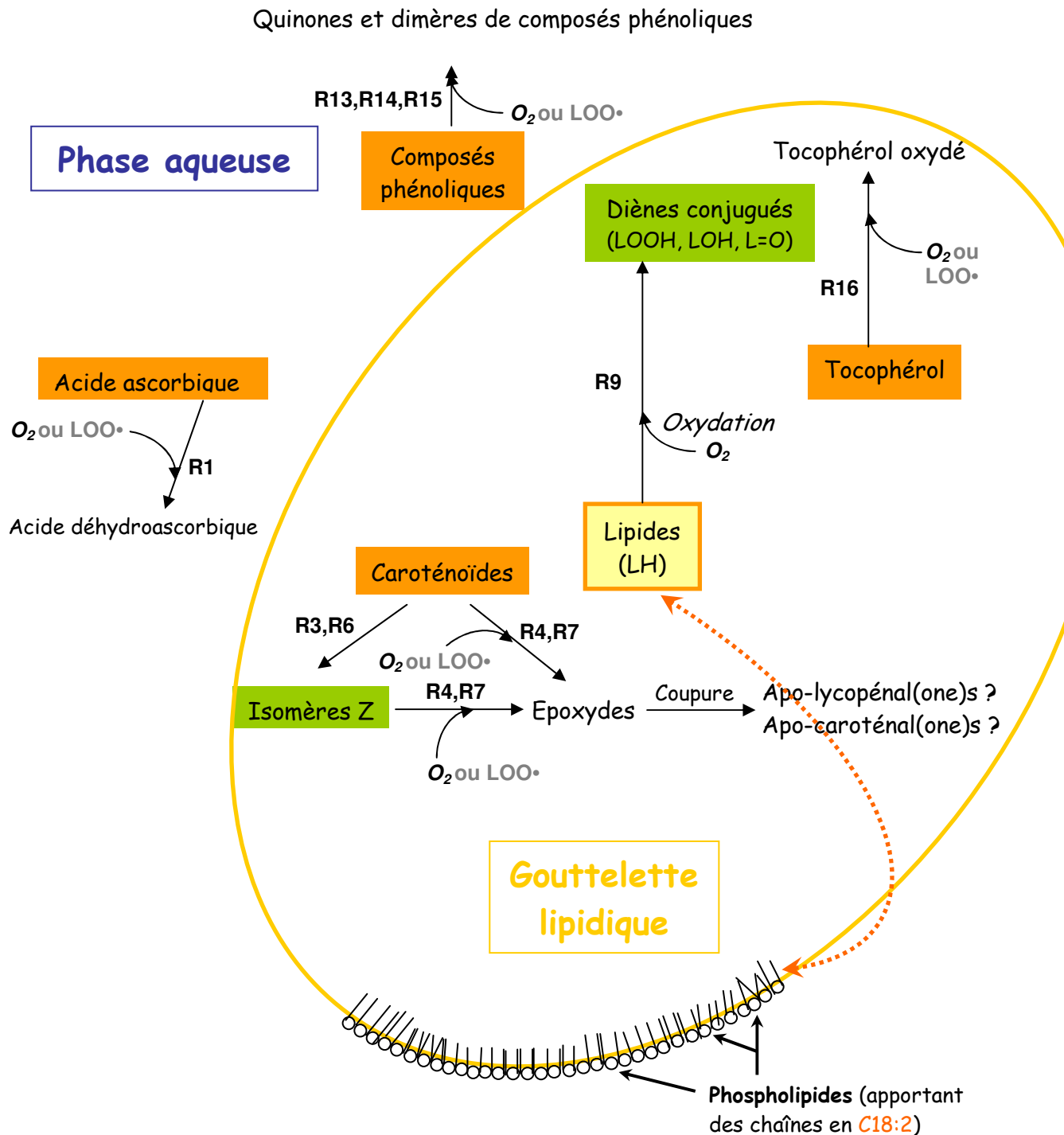


Figure IV-2. Schéma réactionnel théorique des réactions ayant lieu au sein du milieu modèle émulsionné

Les composés surlignés en vert et orange sont ceux qui ont été dosés dans les milieux modèles.

IV. Modélisations des données obtenues en milieux modèles

IV.1. Identification des constantes de vitesses par une approche individuelle

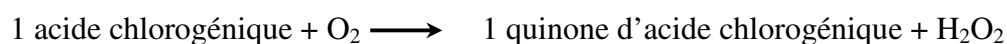
IV.1.1. Modélisation des données concernant les composés hydrophiles

Les réactions prises en compte sont les suivantes :

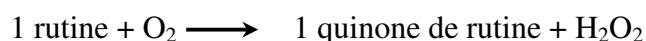
1) Oxydation de l'acide ascorbique



2) Oxydation de l'acide chlorogénique



3) Oxydation de la rutine



4) Oxydation de la prunine



Ces réactions suivent un ordre 1 apparent, la concentration en O_2 étant constante au cours du temps. On peut écrire :

$$1) r_{\text{AASC}} = k_{\text{AASC}} [\text{AASC}][\text{O}_2] \text{ avec } [\text{O}_2] \text{ constant soit } r_{\text{AASC}} = k_{\text{app AASC}} [\text{AASC}]$$

$$2) r_{\text{ACHL}} = k_{\text{ACHL}} [\text{ACHL}][\text{O}_2] \text{ avec } [\text{O}_2] \text{ constant soit } r_{\text{ACHL}} = k_{\text{app ACHL}} [\text{ACHL}]$$

$$3) r_{\text{RUT}} = k_{\text{RUT}} [\text{RUT}][\text{O}_2] \text{ avec } [\text{O}_2] \text{ constant soit } r_{\text{RUT}} = k_{\text{app RUT}} [\text{RUT}]$$

$$4) r_{\text{PRU}} = k_{\text{PRU}} [\text{PRU}][\text{O}_2] \text{ avec } [\text{O}_2] \text{ constant soit } r_{\text{PRU}} = k_{\text{app PRU}} [\text{PRU}]$$

A partir des données expérimentales, les paramètres relatifs à ces réactions vont être déterminés en utilisant le logiciel Scientist[®].

IV.1.1.1. En milieu aqueux

En milieu aqueux, seuls les acides ascorbique et chlorogénique se dégradent sur 30 heures à 50 et à 95 °C. Les constantes de vitesses relatives à leur dégradation ont alors été déterminées. Sur les figures ci-dessous, seront présentés la moyenne des points expérimentaux et la moyenne des points obtenue après la modélisation. Le premier point (t0) n'a pas été pris en compte pour la modélisation puisque la température du milieu n'est pas constante au cours des 20 premières minutes (voir l'historique thermique présenté dans la partie « III.5. Dispositif expérimental modélisant le procédé de transformation » du chapitre III).

○ Dégradation de l'acide ascorbique

• A 50 °C

➤ Acide ascorbique seul en milieu aqueux

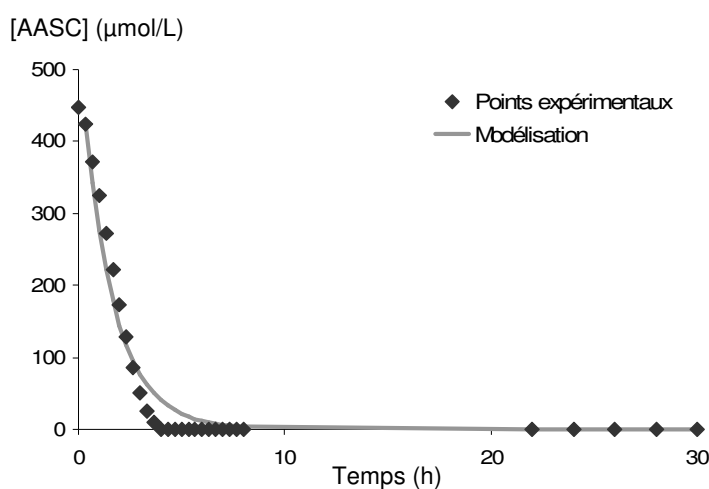


Figure IV-3. Evolution de la teneur en acide ascorbique seul en milieu aqueux à 50 °C

MODELISATION :

➤ $r^2 = 0,979; 0,986; 0,989; 0,992$ (4 répétitions)

➤ Constante de vitesse obtenue: **kapp_{AASC} = 6,51 (± 0,92).10⁻¹ heure⁻¹**

D'après la table de Winkler (Tableau III-14 du chapitre III), la teneur en oxygène dans l'eau est de 172 µmol/L à 50 °C.

$$\text{Or } k_{\text{AASC}} [\text{AASC}][\text{O}_2] = \text{kapp}_{\text{AASC}} [\text{AASC}]$$

$$\text{D'où } k_{\text{AASC}} = \text{kapp}_{\text{AASC}} / [\text{O}_2]$$

$$\mathbf{k_{\text{AASC}} = 3,79 (\pm 0,54).10^3 \text{ M}^{-1}.\text{heure}^{-1}}$$

➤ **Acide ascorbique + composés phénoliques en milieu aqueux**

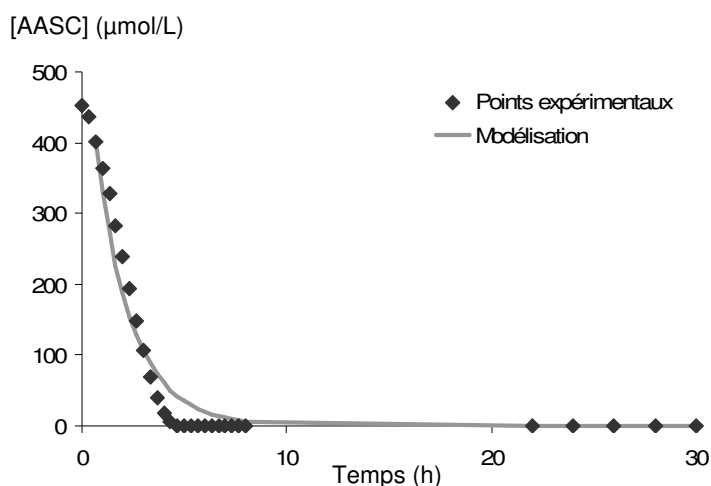


Figure IV-4. Evolution de la teneur en acide ascorbique à 50 °C, en présence de composés phénoliques en milieu aqueux

MODELISATION :

- $r^2 = 0,983; 0,981; 0,987$ (3 répétitions)
- Constante de vitesse obtenue: $k_{app\ AASC} = 5,76 (\pm 0,74) \cdot 10^{-1} \text{ heure}^{-1}$

Or $k_{AASC} [AASC][O_2] = k_{app\ AASC} [AASC]$ avec $[O_2] = 172 \mu\text{mol/L}$ à 50 °C

D'où $k_{AASC} = 3,35 (\pm 0,43) \cdot 10^3 \text{ M}^{-1} \cdot \text{heure}^{-1}$

• **A 95°C**

➤ **Acide ascorbique seul en milieu aqueux**

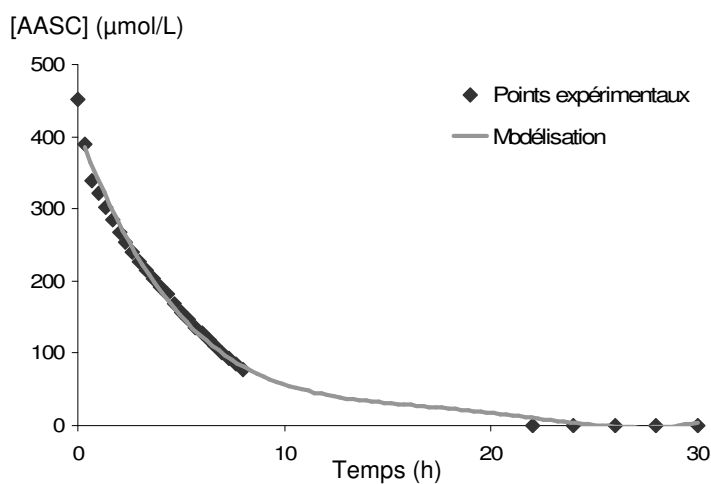


Figure IV-5. Evolution de la teneur en acide ascorbique seul en milieu aqueux à 95 °C

MODELISATION :

- $r^2 = 0,995; 0,998; 0,999$ (3 répétitions)
- Constante de vitesse obtenue: **$k_{\text{AASC}} = 2,04 (\pm 0,19).10^{-1} \text{ heure}^{-1}$**

Or $k_{\text{AASC}} [\text{AASC}][\text{O}_2] = k_{\text{AASC}} [\text{AASC}]$ avec $[\text{O}_2] = 27 \mu\text{mol/L}$ à $95 \text{ }^\circ\text{C}$

D'où **$k_{\text{AASC}} = 7,56 (\pm 0,72).10^3 \text{ M}^{-1} \text{ heure}^{-1}$**

➤ **Acide ascorbique + composés phénoliques en milieu aqueux**

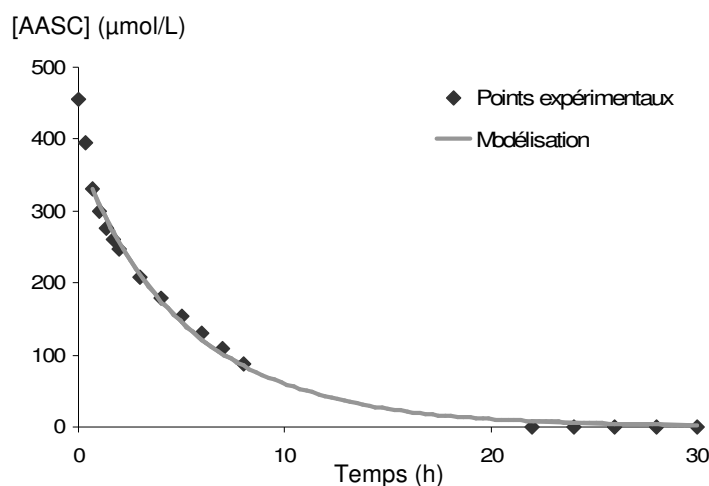


Figure IV-6. Evolution de la teneur en acide ascorbique à $95 \text{ }^\circ\text{C}$, en présence de composés phénoliques en milieu aqueux

MODELISATION :

- $r^2 = 0,999; 0,998; 0,996$ (3 répétitions)
- Constante de vitesse obtenue: **$k_{\text{AASC}} = 1,96 (\pm 0,71).10^{-1} \text{ heure}^{-1}$**

Or $k_{\text{AASC}} [\text{AASC}][\text{O}_2] = k_{\text{AASC}} [\text{AASC}]$ avec $[\text{O}_2] = 27 \mu\text{mol/L}$ à $95 \text{ }^\circ\text{C}$

D'où **$k_{\text{AASC}} = 7,26 (\pm 2,64).10^3 \text{ M}^{-1} \text{ heure}^{-1}$**

D'après les tracés obtenus, la disparition de l'acide ascorbique ne paraît pas suivre une cinétique d'ordre 1. En effet, sur les Figures IV-3 et IV-4 (dégradation de l'acide ascorbique à $50 \text{ }^\circ\text{C}$) les valeurs obtenues après modélisation ne sont pas en accord avec les valeurs expérimentales, en particulier sur la fin de la dégradation où le déclin est clairement non exponentiel. Un autre essai de modélisation pour cette réaction est présenté dans le paragraphe "IV.3. Vers un modèle stoechio-cinétique intégré".

○ **Détermination de l'énergie d'activation pour la dégradation de l'acide ascorbique en milieu aqueux**

En milieu aqueux, les constantes de vitesse d'oxydation de l'acide ascorbique ont été déterminées à deux températures différentes. La valeur de la constante de vitesse croît quand la température augmente et pourrait donc suivre la loi d'Arrhenius.

L'équation d'Arrhenius relie la constante de vitesse et la température :

$$k = k_0 \cdot e^{-E_a/RT} \quad \text{soit} \quad \ln k = \ln k_0 - E_a/RT$$

Le paramètre k est la constante de vitesse de la réaction qui est fonction de la température T (exprimée en kelvin). E_a est l'énergie d'activation de la réaction, qui est supposée constante sur un large intervalle de température et k_0 est le facteur de fréquence de la réaction qui tient compte de la fréquence des collisions et des effets stériques (8).

Afin de déterminer l'énergie d'activation, les logarithmes népériens des valeurs de k sont tracés en fonction de $-1/RT$, avec $R = 8,314 \text{ J} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{K}^{-1}$ et T en kelvin. La pente de la droite obtenue correspond à la valeur de l'énergie d'activation de la réaction et l'ordonnée à l'origine au facteur de fréquence.

• **Acide ascorbique seul en milieu aqueux**

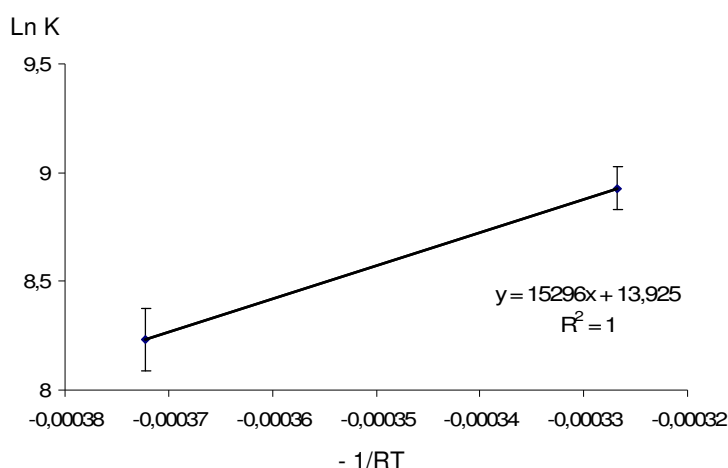


Figure IV-7. Détermination de l'énergie d'activation pour l'oxydation de l'acide ascorbique seul en milieu aqueux

D'après la Figure IV-7, les paramètres k_0 et E_a pour l'oxydation de l'acide ascorbique (seul en milieu aqueux) sont les suivants :

- $\ln k_0 = 13,925$ soit $k_0 = 1,116 \cdot 10^6 \text{ M}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ soit $310 \text{ M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$
- $E_a = 15,3 \text{ kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$

• **Acide ascorbique + composés phénoliques en milieu aqueux**

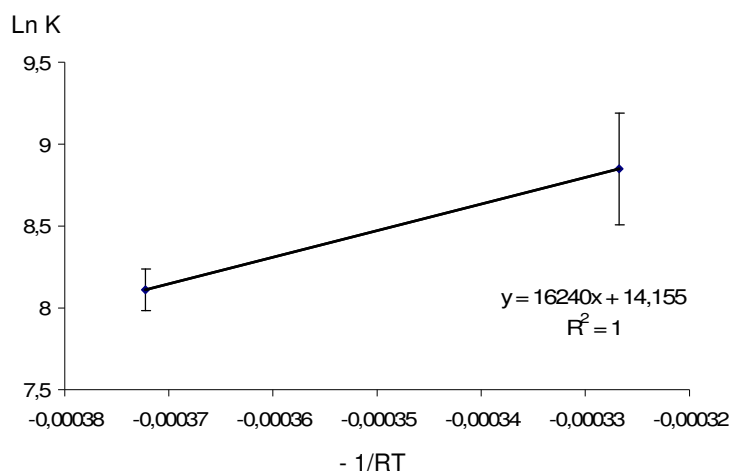


Figure IV-8. Détermination de l'énergie d'activation pour l'oxydation de l'acide ascorbique en milieu aqueux

D'après la Figure IV-8, les paramètres k_0 et E_a pour l'oxydation de l'acide ascorbique (en milieu aqueux en présence des composés phénoliques) sont les suivants :

- $\ln k_0 = 14,155$ soit $k_0 = 1,404 \cdot 10^6 \text{ M}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ soit $390 \text{ M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$
- $E_a = 16,2 \text{ kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$

L'énergie d'activation de la réaction d'oxydation de l'acide ascorbique a été déterminée à de nombreuses reprises dans des produits alimentaires. Dans des jus de fruit, cette énergie est généralement de l'ordre de 40 à 80 $\text{kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$ (9-11). Selon une étude réalisée dans de l'eau pure (12), l'énergie d'activation de cette réaction serait de 93 $\text{kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$, ce qui est 6 fois plus important que les valeurs identifiées dans le milieu aqueux. La barrière énergétique à franchir par les réactifs au sein de ce milieu modèle serait alors faible par rapport à un milieu constitué d'eau pure ou des jus de fruit. Cette différence peut également être due au fait que l'étude en milieux modèles a été réalisée sur une gamme de températures relativement élevées par rapport aux autres études qui concernaient des températures de stockage (inférieures à 50 °C).

Quelques études sur des produits à base de tomate ont permis de déterminer des énergies d'activation proches de celles identifiées dans le milieu modèle aqueux. Par exemple, Rajch *et al.* (1) ont identifié une énergie d'activation de 16,8 kJ.mol⁻¹ dans un ketchup et Lavelli et Giovanelli (4) une énergie de l'ordre de 23,6 kJ.mol⁻¹ dans de la pulpe.

○ Dégradation de l'acide chlorogénique

• A 50 °C

➤ **Composés phénoliques seuls en milieu aqueux**

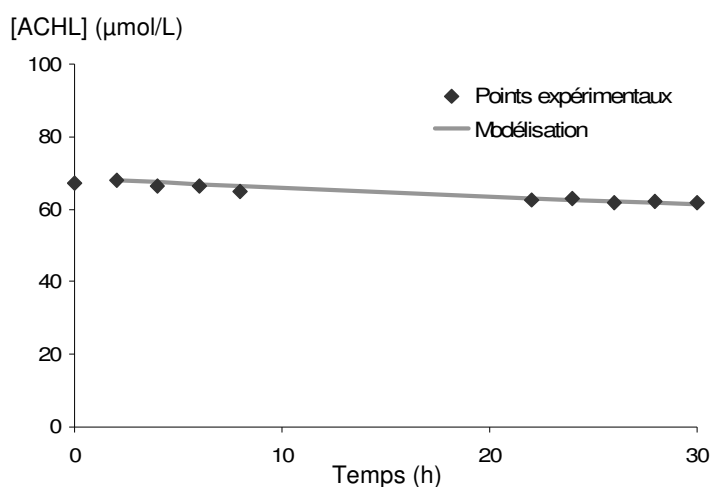


Figure IV-9. Evolution de la teneur en acide chlorogénique à 50 °C, en présence des composés phénoliques seuls en milieu aqueux

MODELISATION :

➤ $r^2 = 0,987; 0,913; 0,874$ (3 répétitions)

➤ Constante de vitesse obtenue: **kapp_{ACHL} = 3,71 (± 2,06).10⁻³ heure⁻¹**

D'après la table de Winkler (Tableau III-14 du chapitre III), la teneur en oxygène dans l'eau est de 172 µmol/L à 50 °C.

$$\text{Or } k_{ACHL} [ACHL][O_2] = k_{app\ ACHL} [ACHL]$$

$$\text{D'où } k_{ACHL} = k_{app\ ACHL}/[O_2]$$

$$\mathbf{k_{ACHL} = 21,5 (\pm 12,0) M^{-1}.heure^{-1}}$$

➤ **Composés phénoliques + acide ascorbique en milieu aqueux**

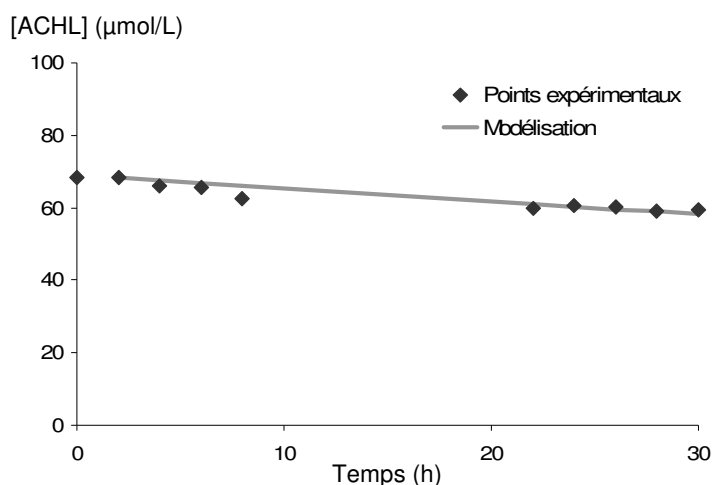


Figure IV-10. Evolution de la teneur en acide chlorogénique à 50 °C, en présence des composés phénoliques et de l'acide ascorbique en milieu aqueux

MODELISATION :

- $r^2 = 0,827; 0,798; 0,976$ (3 répétitions)
- Constante de vitesse obtenue: $k_{app\ ACHL} = 5,78 (\pm 1,86).10^{-3} \text{ heure}^{-1}$

Or $k_{ACHL} [ACHL][O_2] = k_{app\ ACHL} [ACHL]$ avec $[O_2] = 172 \mu\text{mol/L}$ à 50 °C

D'où $k_{ACHL} = 33,6 (\pm 10,8) \text{ M}^{-1}.\text{heure}^{-1}$

• A 95°C

➤ **Composés phénoliques seuls en milieu aqueux**

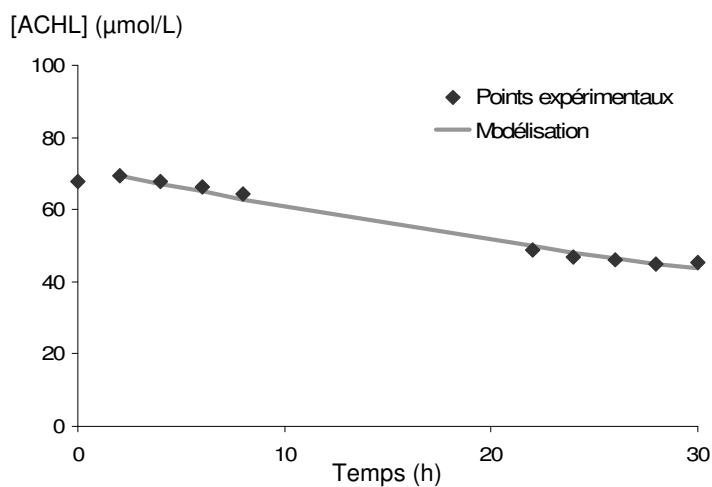


Figure IV-11. Evolution de la teneur en acide chlorogénique à 95 °C, en présence des composés phénoliques seuls en milieu aqueux

MODELISATION :

- $r^2 = 0,990; 0,988; 0,995$ (3 répétitions)
- Constante de vitesse obtenue: $k_{app\ ACHL} = 1,69 (\pm 0,58).10^{-2} \text{ heure}^{-1}$

Or $k_{ACHL} [ACHL][O_2] = k_{app\ ACHL} [ACHL]$ avec $[O_2] = 27 \mu\text{mol/L}$ à 95°C

D'où $k_{ACHL} = 6,27 (\pm 2,13).10^2 \text{ M}^{-1}.\text{heure}^{-1}$

➤ **Composés phénoliques + acide ascorbique en milieu aqueux**

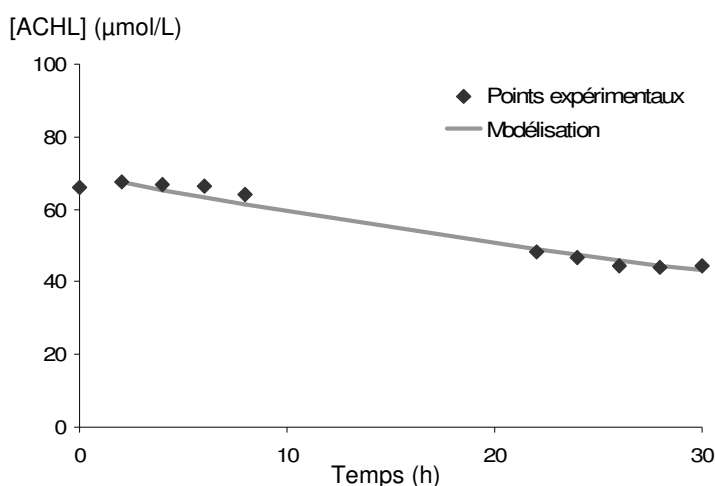


Figure IV-12. Evolution de la teneur en acide chlorogénique à 95°C , en présence des composés phénoliques et de l'acide ascorbique en milieu aqueux

MODELISATION :

- $r^2 = 0,989; 0,974; 0,986$ (3 répétitions)
- Constante de vitesse obtenue: $k_{app\ ACHL} = 1,63 (\pm 0,69).10^{-2} \text{ heure}^{-1}$

Or $k_{ACHL} [ACHL][O_2] = k_{app\ ACHL} [ACHL]$ avec $[O_2] = 27 \mu\text{mol/L}$ à 95°C

D'où $k_{ACHL} = 6,03 (\pm 2,54).10^2 \text{ M}^{-1}.\text{heure}^{-1}$

D'après les tracés obtenus, la disparition de l'acide chlorogénique semble bien suivre une cinétique d'ordre 1 en milieu aqueux puisque les valeurs obtenues après modélisation sont en accord avec les données expérimentales. L'hypothèse de l'ordre 1 formulée pour la réaction d'oxydation de l'acide chlorogénique en milieu aqueux est ainsi validée.

○ **Détermination de l'énergie d'activation pour la dégradation de l'acide chlorogénique en milieu aqueux**

En milieu aqueux, les constantes de vitesse d'oxydation de l'acide chlorogénique ont été déterminées à deux températures différentes. Il est alors possible de déterminer l'énergie d'activation et le facteur de fréquence k_0 pour cette réaction.

• **Composés phénoliques seuls en milieu aqueux**

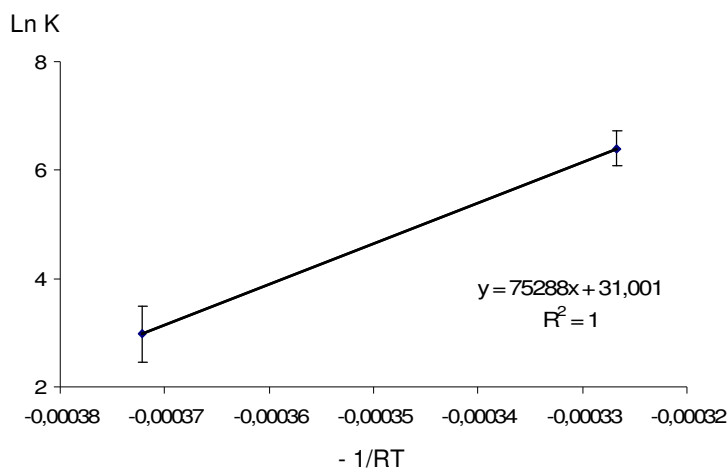


Figure IV-13. Détermination de l'énergie d'activation pour l'oxydation de l'acide chlorogénique dans le milieu aqueux contenant les composés phénoliques seuls

D'après la Figure IV-13, les paramètres k_0 et E_a pour l'oxydation de l'acide chlorogénique (en milieu aqueux ne contenant que les composés phénoliques) sont les suivants :

- $\text{Ln } k_0 = 31,001$ soit $k_0 = 2,908 \cdot 10^{13} \text{ M}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ soit $8,077 \cdot 10^9 \text{ M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$
- **$E_a = 75,3 \text{ kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$**

• **Composés phénoliques + acide ascorbique en milieu aqueux**

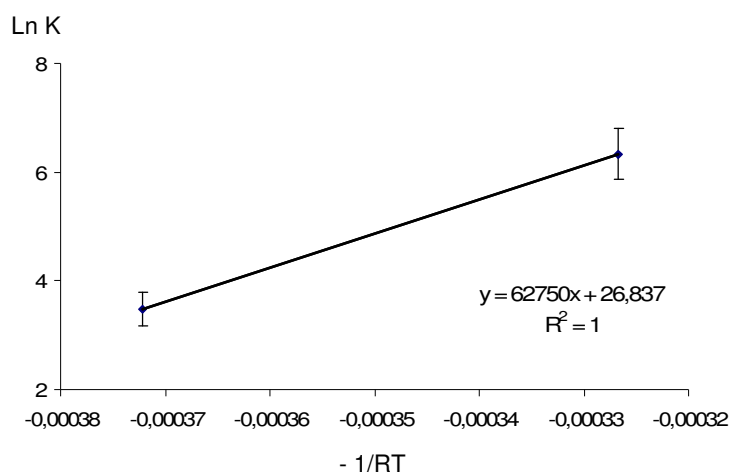


Figure IV-14. Détermination de l'énergie d'activation pour l'oxydation de l'acide chlorogénique dans le milieu aqueux contenant les composés phénoliques et l'acide ascorbique

D'après la Figure IV-14, les paramètres k_0 et E_a pour l'oxydation de l'acide chlorogénique sont les suivants :

- $\text{Ln } k_0 = 26,837$ soit $k_0 = 4,520 \cdot 10^{11} \text{ M}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ soit $1,256 \cdot 10^8 \text{ M}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$
- **$E_a = 62,8 \text{ kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$**

Des valeurs de l'énergie d'activation de la réaction d'oxydation de l'acide chlorogénique ne sont pas disponibles dans la littérature. Les valeurs déterminées dans le milieu aqueux ne peuvent alors pas être comparées. On remarque simplement que l'énergie d'activation de l'acide chlorogénique est 4 à 5 fois plus importante que celle de l'acide ascorbique ($15,3 - 16,2 \text{ kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$) identifiée dans le même milieu. Ce résultat est en accord avec le fait que la vitesse de dégradation de l'acide chlorogénique est bien plus lente que la vitesse de dégradation de l'acide ascorbique dans ce milieu à 50 comme à 95 °C.

IV.1.1.2. En milieu émulsionné

En émulsion tous les microconstituants hydrophiles se dégradent sur 30 heures à 70, 80 et 95 °C. Les constantes de vitesse relatives à leur dégradation ont alors été déterminées. Sur les figures ci-dessous, seront présentés la moyenne des points expérimentaux et la moyenne des points obtenus après la modélisation. Le premier point (t_0) a été retiré pour la modélisation puisque la température des milieux n'est pas constante au cours des 20 premières minutes.

○ Dégradation de l'acide ascorbique

• A 50 °C

MODELISATION :

- $r^2 = 0,994; 0,997$ (2 répétitions)
- Constante de vitesse obtenue: **$k_{app\ AASC} = 1,21 (\pm 0,02).10^{-2} \text{ heure}^{-1}$**

D'après la table de Winkler (Tableau III-14 du chapitre III), la teneur en oxygène dans l'eau est de 172 $\mu\text{mol/L}$ à 50 °C.

$$\text{Or } k_{AASC} [AASC][O_2] = k_{app\ AASC} [AASC]$$

$$\text{D'où } k_{AASC} = k_{app\ AASC}/[O_2]$$

$$k_{AASC} = 70,6 (\pm 1,2) \text{ M}^{-1}.\text{heure}^{-1}$$

• 70 °C

MODELISATION :

- $r^2 = 0,989; 0,959$ (2 répétitions)
- Constante de vitesse obtenue: **$k_{app\ AASC} = 1,12 (\pm 0,20).10^{-1} \text{ heure}^{-1}$**

D'après la table de Winkler (Tableau III-14 du chapitre III), la teneur en oxygène dans l'eau est de 119 $\mu\text{mol/L}$ à 70 °C.

$$\text{Or } k_{AASC} [AASC][O_2] = k_{app\ AASC} [AASC]$$

$$\text{D'où } k_{AASC} = k_{app\ AASC}/[O_2]$$

$$k_{AASC} = 9,43 (\pm 1,72).10^2 \text{ M}^{-1}.\text{heure}^{-1}$$

• **80 °C**

MODELISATION :

- $r^2 = 0,965; 0,961$ (2 répétitions)
- Constante de vitesse obtenue: **$k_{AASC} = 2,94 (\pm 0,30).10^{-1} \text{ heure}^{-1}$**

D'après la table de Winkler (Tableau III-14 du chapitre III), la teneur en oxygène dans l'eau est de 88 $\mu\text{mol/L}$ à 80 °C.

Or $k_{AASC} [AASC][O_2] = k_{app} AASC [AASC]$

D'où $k_{AASC} = k_{app} AASC / [O_2]$

$k_{AASC} = 3,34 (\pm 0,34).10^3 \text{ M}^{-1}.\text{heure}^{-1}$

• **A 95 °C**

MODELISATION :

- $r^2 = 0,961; 0,979; 0,976$ (3 répétitions)
- Constante de vitesse obtenue: **$k_{app} AASC = 1,44 \pm 0,29 \text{ heure}^{-1}$**

D'après la table de Winkler (Tableau III-14 du chapitre III), la teneur en oxygène dans l'eau est de 27 $\mu\text{mol/L}$ à 95 °C.

Or $k_{AASC} [AASC][O_2] = k_{app} AASC [AASC]$

D'où $k_{AASC} = k_{app} AASC / [O_2]$

$k_{AASC} = 5,35 \pm (1,09).10^4 \text{ M}^{-1}.\text{heure}^{-1}$

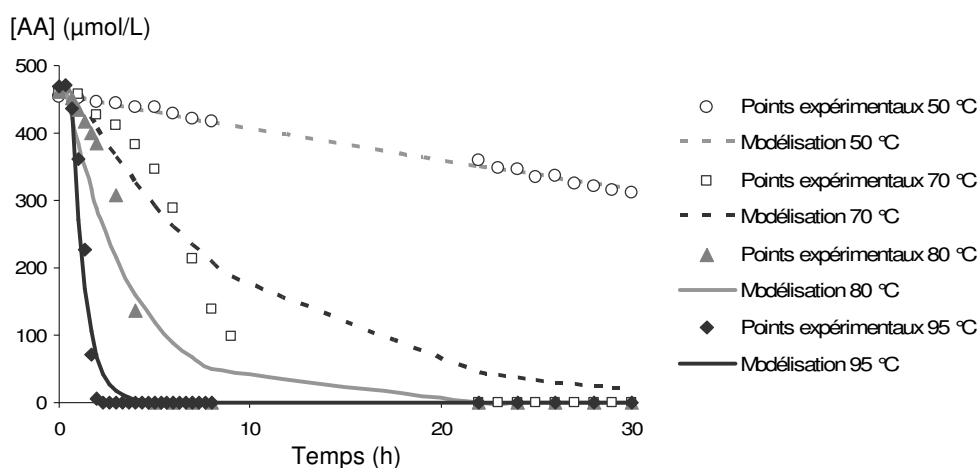


Figure IV-15. Evolution de la teneur en acide ascorbique à 50, 70, 80 et 95 °C en émulsion

D'après la Figure IV-15, les valeurs obtenues après modélisation ne semblent pas en accord avec les valeurs expérimentales, en particulier à 70, 80 et 95 °C. La disparition de l'acide ascorbique ne suit pas une cinétique d'ordre 1 en émulsion.

○ **Détermination de l'énergie d'activation pour la dégradation de l'acide ascorbique en émulsion**

En milieu émulsionné, les constantes de vitesse d'oxydation de l'acide ascorbique ont été déterminées à quatre températures différentes, il est alors possible de déterminer l'énergie d'activation et le facteur de fréquence k_0 pour cette réaction.

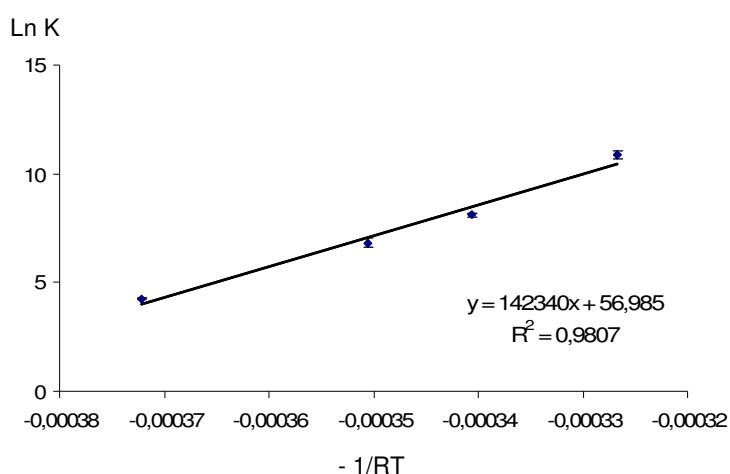


Figure IV-16. Détermination de l'énergie d'activation pour l'oxydation de l'acide ascorbique en émulsion

D'après la Figure IV-16, les paramètres k_0 et E_a pour l'oxydation de l'acide ascorbique sont les suivants :

- $\text{Ln } k_0 = 56,99 (\pm 4,91)$ soit $k_0 \in [4,15 \cdot 10^{22} - 7,64 \cdot 10^{26}] \text{ M}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$
- **$E_a = 142,3 (\pm 14,1) \text{ kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$**

L'énergie d'activation identifiée pour la réaction d'oxydation de l'acide ascorbique dans l'émulsion est environ 9 fois plus importante que les valeurs préalablement déterminées dans le milieu aqueux (15,3 et 16,2 $\text{kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$). Ceci indique que la réaction se fait plus facilement en milieu aqueux. Une protection physique de l'acide ascorbique due à la structure du milieu émulsionné peut expliquer ce résultat. D'autre part, ceci est en accord avec la disparition très lente de ce composé observée en émulsion à 50 °C.

○ Dégradation de l'acide chlorogénique

• 50 °C

L'acide chlorogénique ne se dégrade pas à cette température.

• 70 °C

MODELISATION :

- $r^2 = 0,977; 0,980$ (2 répétitions)
- Constante de vitesse obtenue: **$k_{ACHL} = 2,74 (\pm 0,75).10^{-2} \text{ heure}^{-1}$**

D'après la table de Winkler (Tableau III-14 du chapitre III), la teneur en oxygène dans l'eau est de 119 $\mu\text{mol/L}$ à 70 °C.

Or $k_{ACHL} [ACHL][O_2] = k_{app} ACHL [ACHL]$

D'où $k_{ACHL} = k_{app} ACHL/[O_2]$

$k_{ACHL} = 2,30 (\pm 0,63).10^2 \text{ M}^{-1}.\text{heure}^{-1}$

• 80 °C

MODELISATION :

- $r^2 = 0,985; 0,988$ (2 répétitions)
- Constante de vitesse obtenue: **$k_{ACHL} = 4,91 (\pm 2,40).10^{-2} \text{ heure}^{-1}$**

D'après la table de Winkler (Tableau III-14 du chapitre III), la teneur en oxygène dans l'eau est de 88 $\mu\text{mol/L}$ à 80 °C.

Or $k_{ACHL} [ACHL][O_2] = k_{app} ACHL [ACHL]$

D'où $k_{ACHL} = k_{app} ACHL/[O_2]$

$k_{ACHL} = 5,58 (\pm 2,73).10^2 \text{ M}^{-1}.\text{heure}^{-1}$

• 95 °C

MODELISATION :

- $r^2 = 0,998; 0,998; 0,982$ (3 répétitions)
- Constante de vitesse obtenue: **$k_{ACHL} = 5,11 (\pm 1,42).10^{-2} \text{ heure}^{-1}$**

D'après la table de Winkler (Tableau III-14 du chapitre III), la teneur en oxygène dans l'eau est de 27 $\mu\text{mol/L}$ à 95 °C.

Or $k_{ACHL} [ACHL][O_2] = k_{app} ACHL [ACHL]$

D'où $k_{ACHL} = k_{app} ACHL/[O_2]$

$k_{ACHL} = 1,89 (\pm 0,53).10^3 \text{ M}^{-1}.\text{heure}^{-1}$

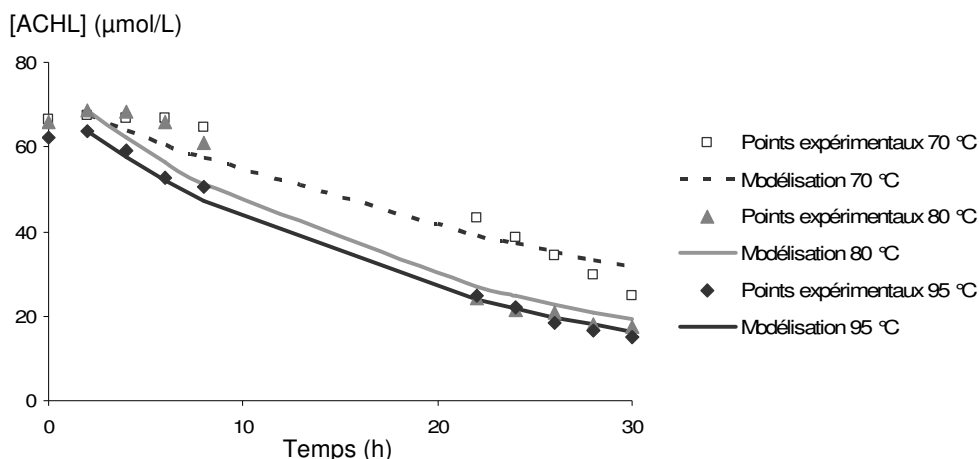


Figure IV-17. Evolution de la teneur en acide chlorogénique à 70, 80 et 95 °C en émulsion

D'après les tracés présentés sur la Figure IV-17, la disparition de l'acide chlorogénique ne semble pas suivre une cinétique d'ordre 1. En effet, les valeurs obtenues après modélisation ne sont pas en accord avec les valeurs expérimentales à 70 et 80 °C. L'hypothèse d'un ordre 1 concernant la dégradation de l'acide chlorogénique, validée en milieu aqueux, n'est pas valable en émulsion. L'oxydation lipidique qui a lieu dans le milieu émulsionné et la structure de ce milieu influencent probablement la vitesse de disparition de ce composé.

○ **Détermination de l'énergie d'activation pour la dégradation de l'acide chlorogénique en émulsion**

Comme pour l'acide ascorbique, il est possible de déterminer l'énergie d'activation E_a et le facteur de fréquence k_0 de la réaction d'oxydation des composés phénoliques étudiés. Pour l'acide chlorogénique, les constantes de vitesse k ont été déterminées à 70, 80 et 95 °C en émulsion.

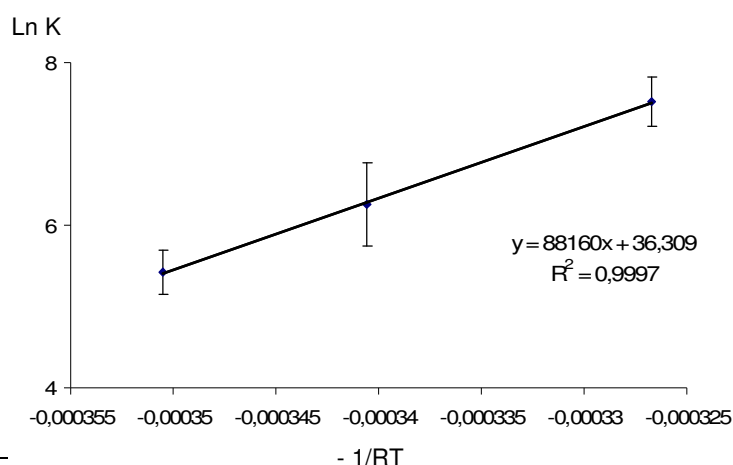


Figure IV-18. Détermination de l'énergie d'activation pour l'oxydation de l'acide chlorogénique en émulsion

D'après la Figure IV-18, les paramètres k_0 et E_a pour l'oxydation de l'acide chlorogénique sont les suivants :

- $\text{Ln } k_0 = 36,31 (\pm 0,54)$ soit $k_0 \in [3,43 \cdot 10^{15} - 1,01 \cdot 10^{16}] \text{ M}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$
- **$E_a = 88,16 (\pm 1,59) \text{ kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$**

La valeur de l'énergie d'activation identifiée pour la réaction d'oxydation de l'acide chlorogénique en émulsion est légèrement supérieure à celles obtenues en milieu aqueux (75,3 et 62,8 $\text{kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$). Il est possible que la structure physique de l'émulsion ait un effet protecteur vis-à-vis de ce composé phénolique, comme cela a été évoqué pour l'acide ascorbique.

○ **Dégradation de la rutine**

• **50 °C**

La rutine ne se dégrade pas à cette température.

• **70 °C**

MODELISATION :

- $r^2 = 0,962; 0,975$ (2 répétitions)
- Constante de vitesse obtenue: **$k_{app\ RUT} = 1,01 (\pm 0,24).10^{-2} \text{ heure}^{-1}$**

D'après la table de Winkler (Tableau III-14 du chapitre III), la teneur en oxygène dans l'eau est de 119 $\mu\text{mol/L}$ à 70 °C.

Or $k_{RUT} [RUT][O_2] = k_{app\ RUT} [RUT]$

D'où $k_{RUT} = k_{app\ RUT}/[O_2]$

$k_{RUT} = 84,6 (\pm 20,3) M^{-1}.heure^{-1}$

• **80 °C**

MODELISATION :

- $r^2 = 0,995; 0,990$ (2 répétitions)
- Constante de vitesse obtenue: **$k_{app\ RUT} = 1,94 (\pm 0,87).10^{-2} \text{ heure}^{-1}$**

D'après la table de Winkler (Tableau III-14 du chapitre III), la teneur en oxygène dans l'eau est de 88 $\mu\text{mol/L}$ à 80 °C.

Or $k_{RUT} [RUT][O_2] = k_{app\ RUT} [RUT]$

D'où $k_{RUT} = k_{app\ RUT}/[O_2]$

$k_{RUT} = 2,20 (\pm 0,99).10^2 M^{-1}.heure^{-1}$

• **95 °C**

MODELISATION :

- $r^2 = 0,988; 0,999; 0,995$ (3 répétitions)
- Constante de vitesse obtenue: **$k_{app\ RUT} = (2,89 \pm 0,95).10^{-2} \text{ heure}^{-1}$**

D'après la table de Winkler (Tableau III-14 du chapitre III), la teneur en oxygène dans l'eau est de 27 $\mu\text{mol/L}$ à 95 °C.

Or $k_{RUT} [RUT][O_2] = k_{app\ RUT} [RUT]$

D'où $k_{RUT} = k_{app\ RUT}/[O_2]$

$k_{RUT} = 1,07 (\pm 0,35).10^3 M^{-1}.heure^{-1}$

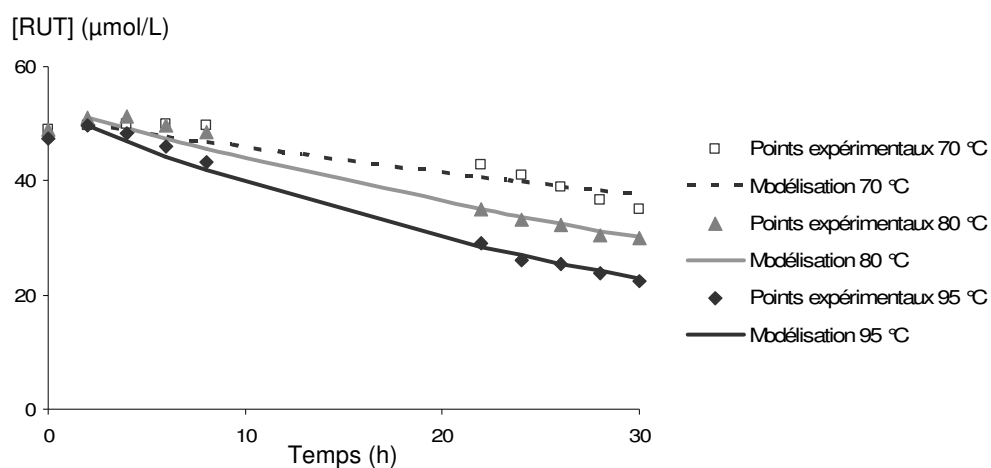


Figure IV-19. Evolution de la teneur en rutine à 70, 80 et 95 °C en émulsion

D'après la Figure IV-19, la disparition de la rutine ne parait pas suivre une cinétique d'ordre 1. En effet, les valeurs obtenues après modélisation ne sont pas en accord avec les valeurs expérimentales, en particulier à 70 °C. L'hypothèse d'un ordre 1 concernant la dégradation de ce composé en émulsion n'est donc pas validée.

○ **Détermination de l'énergie d'activation pour la dégradation de la rutine en émulsion**

L'énergie d'activation E_a et le facteur de fréquence k_0 de la réaction d'oxydation de la rutine sont déterminés comme décrit pour l'acide ascorbique.

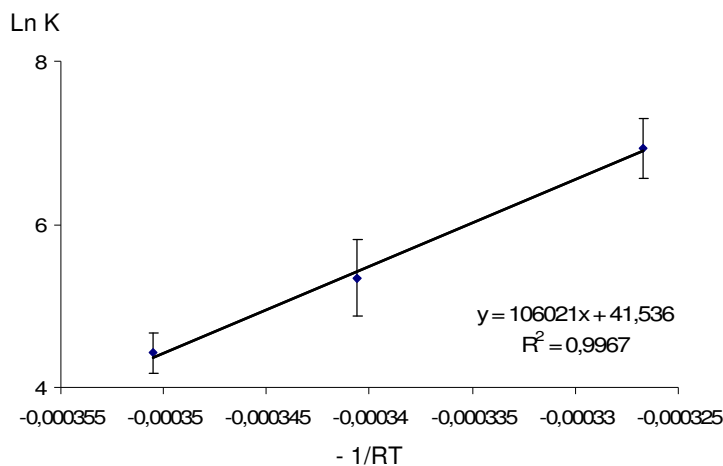


Figure IV-20. Détermination de l'énergie d'activation pour l'oxydation de la rutine en émulsion

D'après la Figure IV-20, les paramètres k_0 et E_a pour l'oxydation de la rutine sont les suivants :

- $\ln k_0 = 41,54 (\pm 2,08)$ soit $k_0 \in [1,37.10^{17} - 8,79.10^{18}] \text{ M}^{-1}.\text{h}^{-1}$
- **$E_a = 106,0 (\pm 6,12) \text{ kJ.mol}^{-1}$**

○ **Dégradation de la prunine**

• **50 °C**

La prunine ne se dégrade pas à cette température.

• **70 °C**

MODELISATION :

➤ $r^2 = 0,780; 0,938$ (2 répétitions)

➤ Constante de vitesse obtenue: **$k_{app\ PRU} = 2,15 (\pm 2,50).10^{-3}\ \text{heure}^{-1}$**

D'après la table de Winkler (Tableau III-14 du chapitre III), la teneur en oxygène dans l'eau est de 119 $\mu\text{mol/L}$ à 70 °C.

Or $k_{PRU} [PRU][O_2] = k_{app\ PRU} [PRU]$

D'où $k_{PRU} = k_{app\ PRU}/[O_2]$

$k_{PRU} = 18,1 (\pm 21,0)\ \text{M}^{-1}.\text{heure}^{-1}$

• **80 °C**

MODELISATION :

➤ $r^2 = 0,938; 0,656$ (2 répétitions)

➤ Constante de vitesse obtenue: **$k_{app\ PRU} = 1,01 (\pm 1,04).10^{-3}\ \text{heure}^{-1}$**

D'après la table de Winkler (Tableau III-14 du chapitre III), la teneur en oxygène dans l'eau est de 88 $\mu\text{mol/L}$ à 80 °C.

Or $k_{PRU} [PRU][O_2] = k_{app\ PRU} [PRU]$

D'où $k_{PRU} = k_{app\ PRU}/[O_2]$

$k_{PRU} = 11,4 (\pm 11,8)\ \text{M}^{-1}.\text{heure}^{-1}$

• **95 °C**

MODELISATION :

➤ $r^2 = 0,920; 0,993; 0,998$ (3 répétitions)

➤ Constante de vitesse obtenue: **$k_{app\ PRU} = 1,07 (\pm 0,23).10^{-2}\ \text{heure}^{-1}$**

D'après la table de Winkler (Tableau III-14 du chapitre III), la teneur en oxygène dans l'eau est de 27 $\mu\text{mol/L}$ à 95 °C.

Or $k_{PRU} [PRU][O_2] = k_{app\ PRU} [PRU]$

D'où $k_{PRU} = k_{app\ PRU}/[O_2]$

$k_{PRU} = 3,98 (\pm 0,83).10^2\ \text{M}^{-1}.\text{heure}^{-1}$

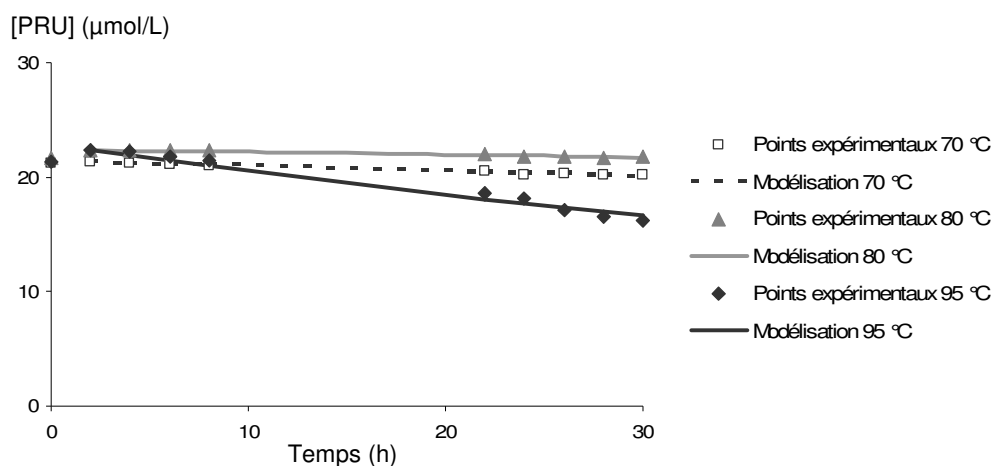


Figure IV-21. Evolution de la teneur en prunine à 70, 80 et 95 °C en émulsion

La disparition de la prunine ne semble pas suivre une cinétique d'ordre 1 puisque les valeurs des coefficients de corrélation (r^2) sont inférieures à 0,99 à 70 et 80 °C. L'hypothèse d'un ordre 1 concernant la dégradation de la prunine n'est donc pas validée en émulsion.

○ **Détermination de l'énergie d'activation pour la dégradation de la prunine en émulsion**

L'énergie d'activation E_a et le facteur de fréquence k_0 de la réaction d'oxydation de la prunine sont déterminés comme décrit pour l'acide ascorbique.

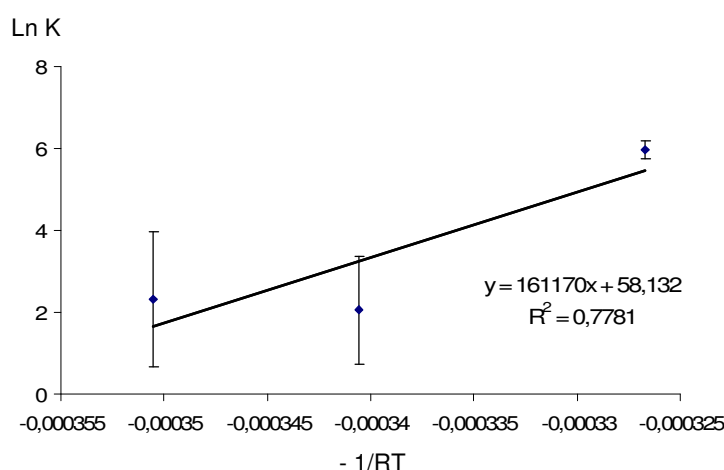


Figure IV-22. Détermination de l'énergie d'activation pour l'oxydation de la prunine en émulsion

D'après la Figure IV-22, les paramètres k_0 et E_a pour l'oxydation de la prunine sont les suivants :

- $\ln k_0 = 58,13 (\pm 29,21)$ soit $k_0 \in [3,63.10^{12} - 8,54.10^{37}] \text{ M}^{-1}.\text{h}^{-1}$
- **$E_a = 161,2 (\pm 86,1) \text{ kJ.mol}^{-1}$**

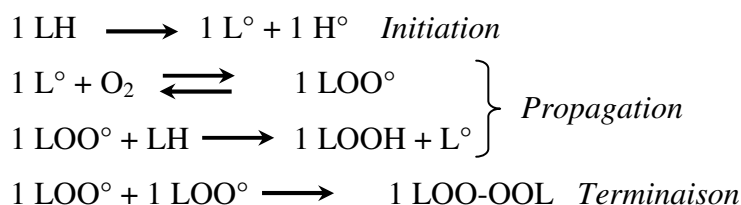
Les valeurs des énergies d'activation identifiées pour la dégradation des composés phénoliques en émulsion ne peuvent pas être comparées à d'autres valeurs puisque aucune donnée de ce type n'est disponible dans la littérature.

En émulsion, l'énergie d'activation identifiée pour l'acide ascorbique est supérieure à la valeur identifiée pour la rutine, elle-même supérieure à l'énergie d'activation de l'acide chlorogénique. Ainsi, la réaction d'oxydation de l'acide ascorbique nécessiterait une énergie plus importante que l'oxydation de la rutine et de l'acide chlorogénique. Ce composé est pourtant reconnu comme étant très sensible à l'oxydation. Son importante stabilité en émulsion à 50 °C démontre une protection, ce qui est en lien avec une valeur d'énergie d'activation relativement importante.

IV.1.2. Modélisation des données concernant les composés lipophiles

Les réactions prises en compte sont les suivantes :

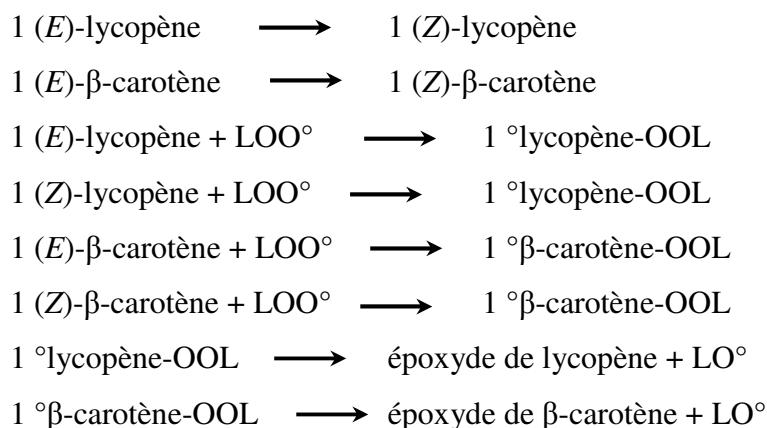
1) Oxydation des chaînes d'acide linoléique (LH)



2) Oxydation de l' α -tocophérol



3) Dégradation des caroténoïdes



On fait les hypothèses suivantes:

- les réactions de disparition de la trilinoléine, de l' α -tocophérol, du (E)-lycopène et du (E)- β -carotène suivent un ordre 1 apparent,
- les radicaux suivent l'hypothèse de l'état stationnaire.

On peut écrire :

- $r_{\text{TL}} = k_{\text{TL}} [\text{TL}][\text{O}_2]$ avec $[\text{O}_2]$ constant soit $r_{\text{TL}} = k_{\text{app TL}} [\text{TL}]$
- $r_{\text{TOCO}} = k_{\text{TOCO}} [\text{TOCO}][\text{LOO}^\circ]$ avec $[\text{LOO}^\circ]$ constant soit $r_{\text{TOCO}} = k_{\text{app TOCO}} [\text{TOCO}]$
- $r_{\text{(E)-LYOC}} = k_{\text{(E)-LYCO}} [(\text{E})\text{-LYCO}][\text{LOO}^\circ] + k_{\text{ISOM}} [(\text{E})\text{-LYCO}]$

Si l'on suppose que la vitesse d'apparition des isomères Z de lycopène est bien supérieure à la vitesse de formation des époxydes de lycopène, on peut écrire :

$$k_{\text{ISOM}}[(E)\text{-LYCO}] \gg k_{(E)\text{-LYCO}} [(E)\text{-LYCO}][\text{LOO}^\circ]$$

$$\text{d'où } r_{(E)\text{-LYCO}} = k_{\text{ISOM}}[(E)\text{-LYCO}]$$

$$4) r_{(E)\text{-}\beta\text{-CAR}} = k_{(E)\text{-}\beta\text{-CAR}} [(E)\text{-}\beta\text{-CAR}][\text{LOO}^\circ] + k_{\text{ISOM}}[(E)\text{-}\beta\text{-CAR}]$$

Si l'on suppose que la vitesse d'apparition des isomères Z de β -carotène est bien supérieure à la vitesse de formation des époxydes de β -carotène, on peut écrire :

$$k_{\text{ISOM}}[(E)\text{-}\beta\text{-CAR}] \gg k_{(E)\text{-}\beta\text{-CAR}} [(E)\text{-}\beta\text{-CAR}][\text{LOO}^\circ]$$

$$\text{d'où } r_{(E)\text{-}\beta\text{-CAR}} = k_{\text{ISOM}}[(E)\text{-}\beta\text{-CAR}]$$

A partir des données expérimentales, les paramètres relatifs à ces réactions vont être déterminées en utilisant le logiciel Scientist[®].

IV.1.2.1. En milieu lipidique

○ Evolution de la teneur en α -tocophérol

• A 50 °C

La teneur en α -tocophérol restant constante sur 30 heures à cette température, aucune modélisation n'est alors réalisée.

• A 95 °C

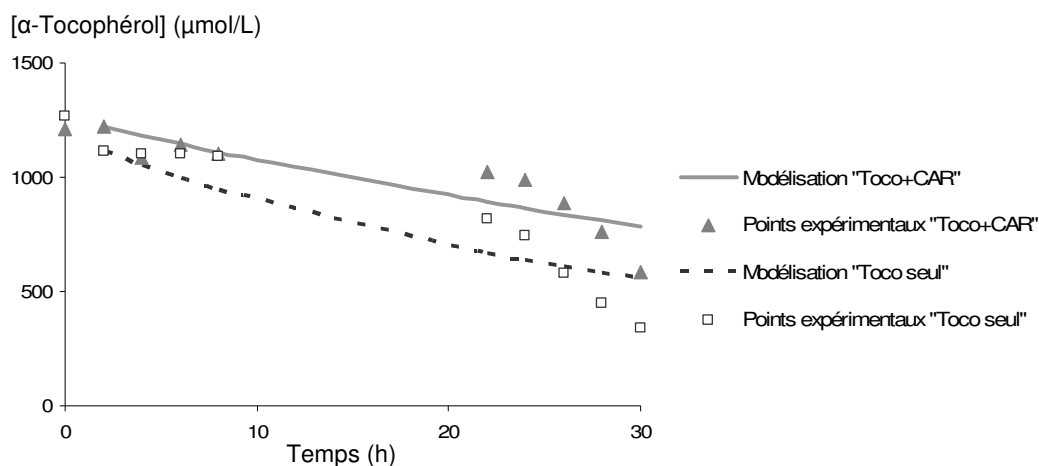


Figure IV-23. Evolution de la teneur en α -tocophérol à 95 °C en milieu lipidique

➤ **α -Tocophérol seul en milieu lipidique**

MODELISATION :

- $r^2 = 0,933; 0,904; 0,910$ (3 répétitions)
- Constante de vitesse obtenue: **$k_{app\ TOCO} = 1,57 (\pm 0,06).10^{-2} \text{ heure}^{-1}$**

Ne connaissant pas la teneur en LOO° dans le milieu lipidique, il est impossible de déterminer la constante de vitesse réelle.

➤ **α -Tocophérol en présence des caroténoïdes en milieu lipidique**

MODELISATION :

- $r^2 = 0,838; 0,866$ (2 répétitions)
- Constante de vitesse obtenue: **$k_{app\ TOCO} = 2,88 (\pm 2,13).10^{-2} \text{ heure}^{-1}$**

Ne connaissant pas la teneur en LOO° dans le milieu lipidique, il est impossible de déterminer la constante de vitesse réelle.

D'après les tracés présentés sur la Figure IV-23, la disparition de l' α -tocophérol ne semble pas suivre une cinétique d'ordre 1. Les valeurs obtenues après modélisation ne sont pas en accord avec les valeurs expérimentales, comme le montre les valeurs des coefficients de corrélation (r^2) toutes inférieures à 0,99. L'hypothèse d'un ordre 1 concernant la dégradation de l' α -tocophérol est à revoir.

○ **Evolution de la teneur en trilinoléine**

• **A 50 °C**

La teneur en trilinoléine reste la même sur 30 heures à cette température sauf pour l'expérience "Caroténoïdes seuls".

➤ **Expérience "Caroténoïdes seuls" en milieu lipidique**

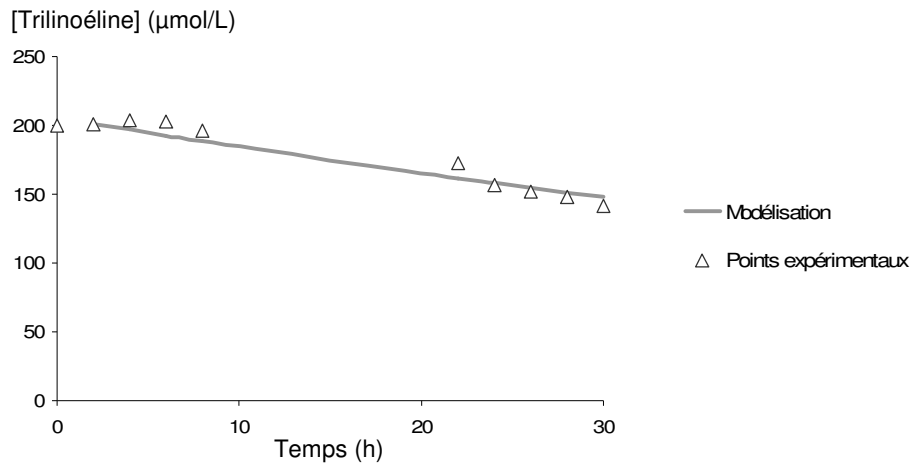


Figure IV-24. Evolution de la teneur en trilinoléine à 50 °C en milieu lipidique contenant uniquement les caroténoïdes

MODELISATION :

- $r^2 = 0,969; 0,976$ (2 répétitions)
- Constante de vitesse obtenue: $k_{app\ TL} = 1,10 (\pm 0,12) \cdot 10^{-2} \text{ heure}^{-1}$

• A 95 °C

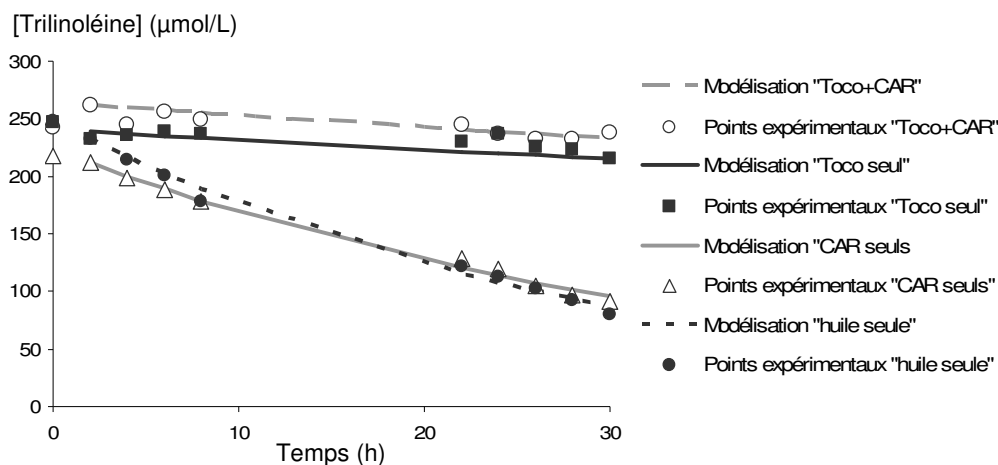


Figure IV-25. Evolution de la teneur en trilinoléine à 95 °C en milieu lipidique

➤ **Expérience "Huile seule"**

MODELISATION :

- $r^2 = 0,996; 0,992; 0,997$ (3 répétitions)
- Constante de vitesse obtenue: $k_{app\ TL} = 3,50 (\pm 0,27) \cdot 10^{-2} \text{ heure}^{-1}$

➤ **α -Tocophérol seul en milieu lipidique**

MODELISATION :

- $r^2 = 0,846; 0,812$ (2 répétitions)
- Constante de vitesse obtenue: $k_{app\ TL} = 3,66 (\pm 2,51) \cdot 10^{-3} \text{ heure}^{-1}$

➤ **Expérience "Caroténoïdes seuls" en milieu lipidique**

MODELISATION :

- $r^2 = 0,994; 0,994$ (2 répétitions)
- Constante de vitesse obtenue: $k_{app\ TL} = 2,86 (\pm 0,68) \cdot 10^{-2} \text{ heure}^{-1}$

➤ **Expérience " α -Tocophérol et caroténoïdes" en milieu lipidique**

MODELISATION :

- $r^2 = 0,670; 0,889$ (2 répétitions)
- Constante de vitesse obtenue: $k_{app\ TL} = 4,26 (\pm 2,37) \cdot 10^{-3} \text{ heure}^{-1}$

D'après les tracés présentés sur les Figures IV-24 et IV-25, la disparition de la trilinoléine paraît suivre une cinétique d'ordre 1 apparent. Par ailleurs, les valeurs des coefficients de corrélation (r^2) sont correctes (supérieures à 0,99) à 95 °C pour les expériences "huile seule" et "caroténoïdes seuls". L'hypothèse de l'ordre 1 apparent peut alors être confirmée dans ces conditions. En revanche, cette hypothèse devient fausse quand l' α -tocophérol est présent dans le milieu lipidique comme le montre les valeurs de r^2 inférieures à 0,9. Ce résultat indique que ce composé perturbe l'oxydation lipidique contrairement aux caroténoïdes qui ne semblent pas influencer sur cette oxydation.

○ Evolution de la teneur en (E)-lycopène

• A 50 °C

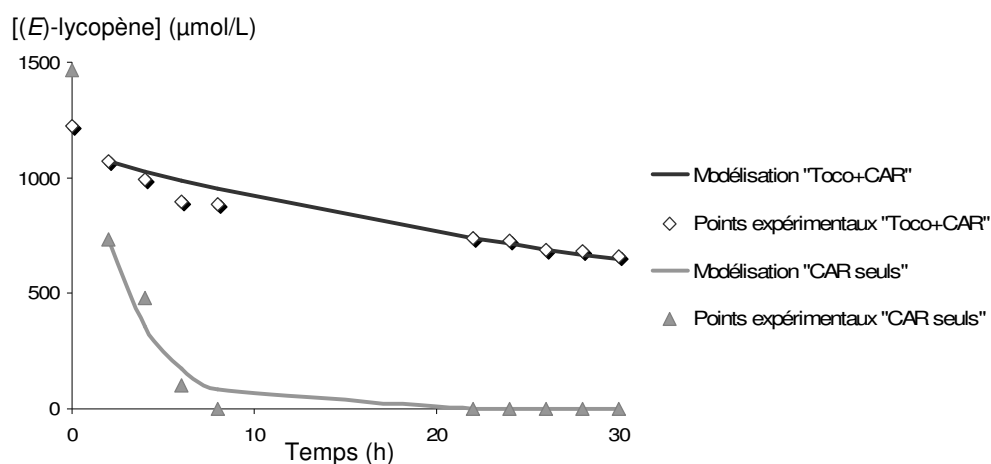


Figure IV-26. Evolution de la teneur en (E)-lycopène à 50 °C en milieu lipidique

➤ **Expérience "Caroténoïdes seuls" en milieu lipidique**

MODELISATION :

- $r^2 = 0,984; 0,973$ (2 répétitions)
- Constante de vitesse obtenue: $k_{app} (E)\text{-LYCO} = 3,70 (\pm 0,40) \cdot 10^{-1} \text{ heure}^{-1}$

➤ **Expérience "Caroténoïdes + α -tocophérol" en milieu lipidique**

MODELISATION :

- $r^2 = 0,993; 0,874$ (2 répétitions)
- Constante de vitesse obtenue: $k_{app} (E)\text{-LYCO} = 2,41 (\pm 1,92) \cdot 10^{-2} \text{ heure}^{-1}$

• A 95 °C

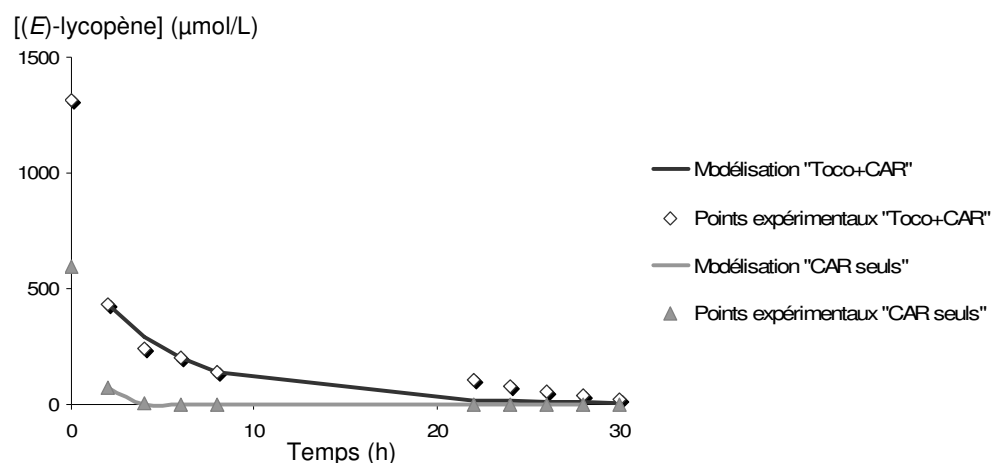


Figure IV-27. Evolution de la teneur en (E)-lycopène à 95 °C en milieu lipidique

➤ **Expérience "Caroténoïdes seuls" en milieu lipidique**

MODELISATION :

- $r^2 = 0,991$ (2 répétitions mais le r^2 n'a pas pu être déterminé pour une des deux cinétiques)
- Constante de vitesse obtenue: **kapp_{(E)-LYCO} = 29,97 ± 0,02 heure⁻¹**

➤ **Expérience "Caroténoïdes + α-tocophérol" en milieu lipidique**

MODELISATION :

- $r^2 = 0,983; 0,953$ (2 répétitions)
- Constante de vitesse obtenue: **kapp_{(E)-LYCO} = 1,99 (± 1,14).10⁻¹ heure⁻¹**

D'après les tracés présentés sur les Figures IV-26 et IV-27 et les valeurs des coefficients de corrélation obtenues, la disparition du (E)-lycopène ne semble pas suivre une cinétique d'ordre 1.

L'hypothèse indiquant que la vitesse d'apparition des isomères Z de lycopène est bien supérieure à la vitesse de formation des époxydes de lycopène est donc fautive. Les vitesses de disparition du (E)-lycopène largement influencées par la présence de l'α-tocophérol le confirment. La réaction d'oxydation du lycopène ne doit pas être négligée.

○ **Evolution de la teneur en (E)-β-carotène**

• **A 50 °C**

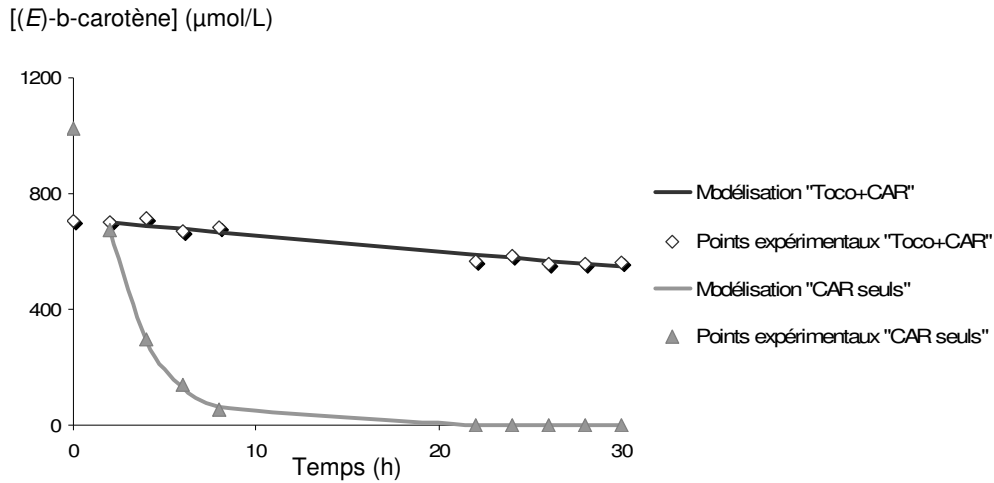


Figure IV-28. Evolution de la teneur en (E)-β-carotène à 50 °C en milieu lipidique

➤ **Expérience "Caroténoïdes seuls" en milieu lipidique**

MODELISATION :

- $r^2 = 0,997; 1,000$ (2 répétitions)
- Constante de vitesse obtenue: $k_{app (E)-\beta-CAR} = 3,95 (\pm 1,45) \cdot 10^{-1} \text{ heure}^{-1}$

➤ **Expérience "Caroténoïdes + α-tocophérol" en milieu lipidique**

MODELISATION :

- $r^2 = 0,945; 0,967$ (2 répétitions)
- Constante de vitesse obtenue: $k_{app (E)-\beta-CAR} = 8,79 (\pm 1,96) \cdot 10^{-3} \text{ heure}^{-1}$

• **A 95 °C**

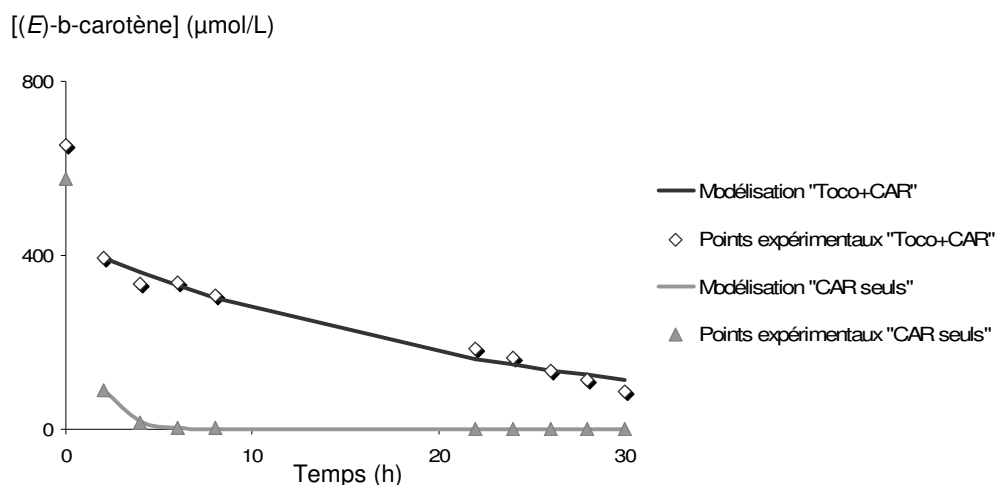


Figure IV-29. Evolution de la teneur en (E)-β-carotène à 95 °C en milieu lipidique

➤ **Expérience "Caroténoïdes seuls" en milieu lipidique**

MODELISATION :

- $r^2 = 0,999; 1,000$ (2 répétitions)
- Constante de vitesse obtenue: **kapp** $_{(E)-\beta-CAR} = 1,00 \pm 0,39 \text{ heure}^{-1}$

➤ **Expérience "Caroténoïdes + α-tocophérol" en milieu lipidique**

MODELISATION :

- $r^2 = 0,986; 0,990$ (2 répétitions)
- Constante de vitesse obtenue: **kapp** $_{(E)-\beta-CAR} = 4,54 (\pm 0,53) \cdot 10^{-2} \text{ heure}^{-1}$

D'après les tracés présentés sur les Figures IV-28 et IV-29, la disparition du (E)-β-carotène paraît suivre une cinétique d'ordre 1. Cependant, il faut prendre en compte le fait que la dégradation de ce composé est grandement influencée par la présence de l'α-tocophérol dans le milieu. Ce dernier joue un rôle d'inhibiteur de l'oxydation lipidique (comme cela a été montré dans le chapitre III), il semble également prévenir la dégradation des caroténoïdes. La réaction d'oxydation du β-carotène ne doit alors pas être négligée. Comme pour le lycopène, l'hypothèse indiquant que la vitesse d'apparition des isomères Z de β-carotène est bien supérieure à la vitesse de formation des époxydes de lycopène est fautive. La disparition du (E)-β-carotène ne suit pas une cinétique d'ordre 1.

IV.1.2.2.2. En milieu émulsionné

○ Evolution de la teneur en α -tocophérol

• A 50 °C

MODELISATION :

- $r^2 = 0,884; 0,745$ (2 répétitions)
- Constante de vitesse obtenue: **kapp TOCO = (8,86 ± 8,64).10⁻³ heure⁻¹**

• A 70 °C

MODELISATION :

- $r^2 = 0,957; 0,965$ (2 répétitions)
- Constante de vitesse obtenue: **kapp TOCO = 8,41 (± 0,27).10⁻² heure⁻¹**

• A 80 °C

MODELISATION :

- $r^2 = 0,982; 0,974$ (2 répétitions)
- Constante de vitesse obtenue: **kapp TOCO = 1,89 (± 0,40).10⁻¹ heure⁻¹**

• A 95 °C

MODELISATION :

- $r^2 = 0,989; 0,979; 0,983$ (3 répétitions)
- Constante de vitesse obtenue: **kapp TOCO = 4,11 (± 1,20).10⁻¹ heure⁻¹**

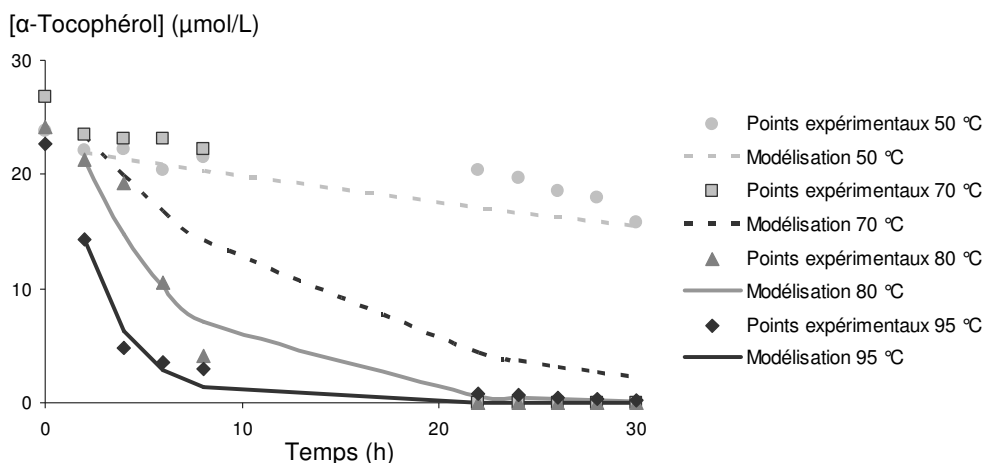


Figure IV-30. Evolution de la teneur en α -tocophérol à 50, 70, 80 et 95°C en milieu émulsionné

D'après la Figure IV-30, la disparition de l' α -tocophérol ne semble pas suivre une cinétique d'ordre 1 puisque les valeurs obtenues après modélisation ne sont pas en accord avec les valeurs expérimentales. L'hypothèse d'un ordre 1 concernant la dégradation de l' α -tocophérol n'est pas validée, ni en émulsion, ni en milieu lipidique.

○ **Evolution de la teneur en trilinoléine**

• **A 50 °C**

La teneur en trilinoléine reste constante sur 30 heures à cette température.

• **A 70 °C**

MODELISATION :

- $r^2 = 0,873; 0,907$ (2 répétitions)
- Constante de vitesse obtenue: **$k_{app\ TL} = 1,90 (\pm 0,32).10^{-2} \text{ heure}^{-1}$**

• **A 80 °C**

MODELISATION :

- $r^2 = 0,961; 0,954$ (2 répétitions)
- Constante de vitesse obtenue: **$k_{app\ TL} = 6,77 (\pm 2,11).10^{-2} \text{ heure}^{-1}$**

• A 95 °C

MODELISATION :

- $r^2 = 0,895; 0,987; 0,979$ (3 répétitions)
- Constante de vitesse obtenue: $k_{app\ TL} = 2,77 (\pm 1,17) \cdot 10^{-2} \text{ heure}^{-1}$

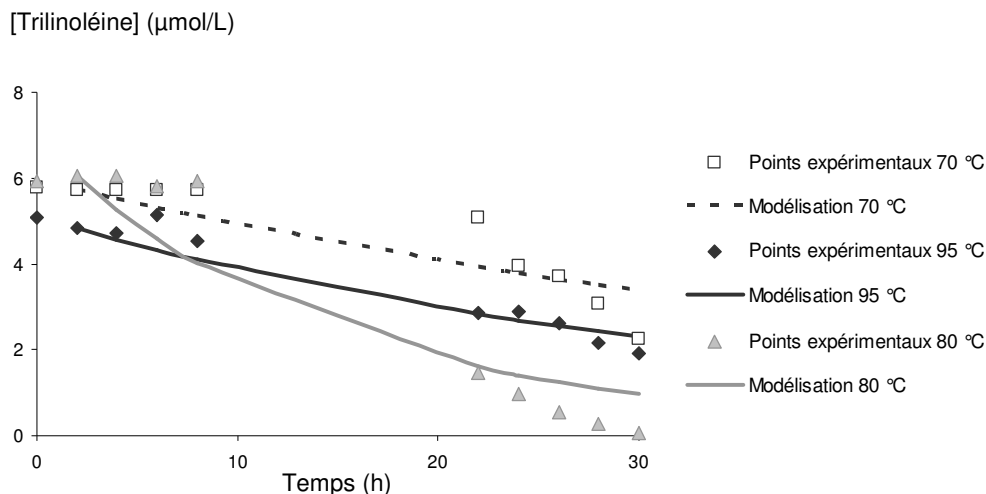


Figure IV-31. Evolution de la teneur en trilinoléine à 70, 80 et 95°C en milieu émulsionné

D'après les tracés présentés sur la Figure IV-31 et les valeurs des coefficients de corrélation obtenues, la disparition de la trilinoléine en émulsion ne semble pas suivre une cinétique d'ordre 1.

○ **Evolution de la teneur en (E)-lycopène**

• **A 50 °C**

MODELISATION :

- $r^2 = 0,446; 0,835; 0,892$ (3 répétitions)
- Constante de vitesse obtenue: $kapp_{(E)\text{-LYCO}} = (4,11 \pm 1,50) \cdot 10^{-2} \text{ heure}^{-1}$

• **A 70 °C**

MODELISATION :

- $r^2 = 0,840; 0,973$ (2 répétitions)
- Constante de vitesse obtenue: $kapp_{(E)\text{-LYCO}} = (8,28 \pm 2,17) \cdot 10^{-2} \text{ heure}^{-1}$

• **A 80 °C**

MODELISATION :

- $r^2 = 0,986; 0,948$ (2 répétitions)
- Constante de vitesse obtenue: $kapp_{(E)\text{-LYCO}} = (1,32 \pm 0,62) \cdot 10^{-2} \text{ heure}^{-1}$

• **A 95 °C**

MODELISATION :

- $r^2 = 0,830; 0,998; 0,999$ (3 répétitions)
- Constante de vitesse obtenue: $kapp_{(E)\text{-LYCO}} = (2,21 \pm 2,18) \cdot 10^{-1} \text{ heure}^{-1}$

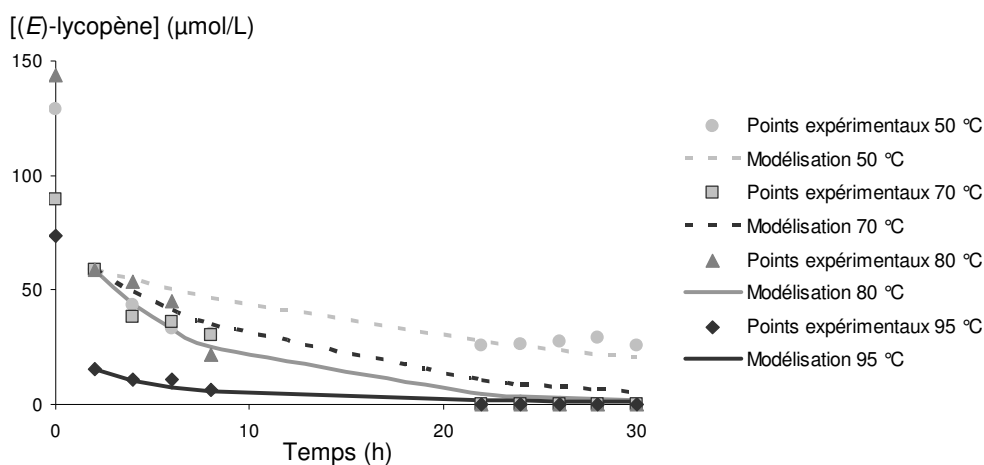


Figure IV-32. Evolution de la teneur en (E)-lycopène à 50, 70, 80 et 95°C en milieu émulsionné

D'après la Figure IV-32 et les valeurs des coefficients de corrélation obtenues, la disparition du (*E*)-lycopène ne semble pas suivre une cinétique d'ordre 1. Comme évoqué pour les données obtenues en milieu lipidique, l'hypothèse d'une vitesse d'isomérisation bien supérieure à une vitesse d'oxydation est fausse.

○ **Evolution de la teneur en (*E*)- β -carotène**

• **A 50 °C**

MODELISATION :

- $r^2 = 0,610; 0,839; 0,934$ (3 répétitions)
- Constante de vitesse obtenue: **$k_{app} (E)\text{-}\beta\text{-CAR} = (1,36 \pm 0,40) \cdot 10^{-2} \text{ heure}^{-1}$**

• **A 70 °C**

MODELISATION :

- $r^2 = 0,914; 0,970$ (2 répétitions)
- Constante de vitesse obtenue: **$k_{app} (E)\text{-}\beta\text{-CAR} = (8,47 \pm 1,31) \cdot 10^{-2} \text{ heure}^{-1}$**

• **A 80 °C**

MODELISATION :

- $r^2 = 0,968; 0,984$ (2 répétitions)
- Constante de vitesse obtenue: **$k_{app} (E)\text{-}\beta\text{-CAR} = (1,39 \pm 0,44) \cdot 10^{-1} \text{ heure}^{-1}$**

• **A 95 °C**

MODELISATION :

- $r^2 = 0,991; 1,000; 0,998$ (3 répétitions)
- Constante de vitesse obtenue: **$k_{app} (E)\text{-}\beta\text{-CAR} = (2,04 \pm 0,67) \cdot 10^{-1} \text{ heure}^{-1}$**

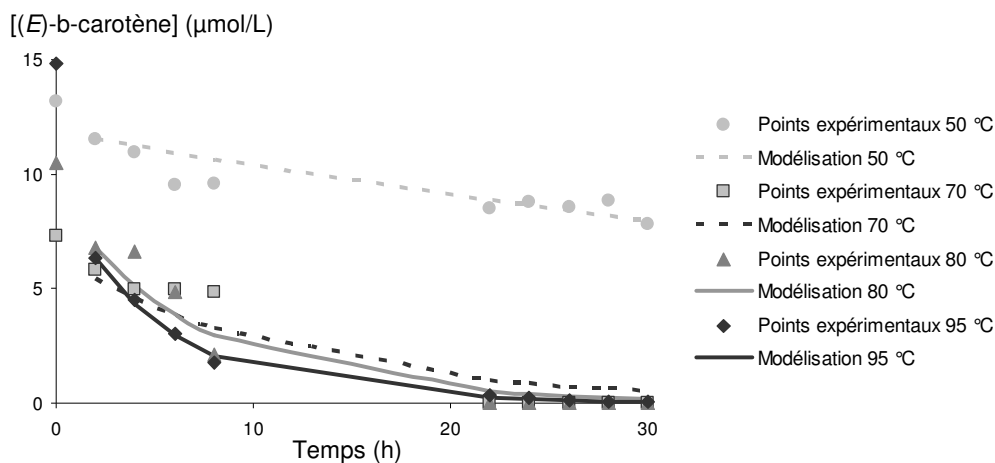


Figure IV-33. Evolution de la teneur en *(E)*-β-carotène à 50, 70, 80 et 95°C en milieu émulsionné

D'après les tracés présentés sur la Figures IV-33, la disparition du *(E)*-β-carotène ne semble pas suivre une cinétique d'ordre 1. De la même façon que pour le *(E)*-lycopène, l'hypothèse indiquant que la vitesse d'isomérisation est bien supérieure à la vitesse d'oxydation est fautive. La disparition du *(E)*-β-carotène ne suit pas une cinétique d'ordre 1, ni en milieu lipidique, ni en émulsion.

Récapitulatif des constantes de vitesse obtenues:

Tableau IV-9. Constantes de vitesses obtenues pour l'oxydation de l'acide ascorbique (k en M⁻¹.h⁻¹).

	50 °C	70 °C	80 °C	95 °C
Milieu aqueux AA +PP	3,35 (± 0,43).10 ³ r ² = 0,983; 0,981; 0,987			7,26 (± 2,64).10 ³ r ² = 0,999; 0,998; 0,996
Milieu aqueux AA seul	3,79 (± 0,54).10 ³ r ² = 0,979; 0,986; 0,989; 0,994			7,56 (± 0,72).10 ³ r ² = 0,995; 0,998; 0,999
Emulsion	70,6 ± 1,22 r ² = 0,994; 0,997	9,43 (± 1,72).10 ² r ² = 0,989; 0,959	3,34 (± 0,34).10 ³ r ² = 0,965; 0,961	5,35 (± 1,09).10 ⁴ r ² = 0,961; 0,979; 0,976

Tableau IV-10. Constantes de vitesses obtenues pour l'oxydation de l'acide chlorogénique (k en M⁻¹.h⁻¹).

	50 °C	70 °C	80 °C	95 °C
Milieu aqueux PP+AA	33,6 (± 10,8) r ² = 0,827; 0,798; 0,976			6,03 (± 2,54).10 ² r ² = 0,989; 0,974; 0,986
Milieu aqueux PP seuls	21,5 (± 12,0) r ² = 0,987; 0,913; 0,874			6,27 (± 2,13).10 ² r ² = 0,990; 0,988; 0,995
Emulsion	-	2,30 (± 0,63).10 ² r ² = 0,977; 0,980	5,58 (± 2,73).10 ² r ² = 0,985; 0,988	1,89 (± 0,53).10 ³ r ² = 0,998; 0,998; 0,982

Tableau IV-11. Constantes de vitesses obtenues pour l'oxydation de la rutine (k en M⁻¹.h⁻¹).

	50 °C	70 °C	80 °C	95 °C
Milieu aqueux PP + AA	-			-
Milieu aqueux PP seuls	-			-
Emulsion	-	84,6 (± 20,3) r ² = 0,962; 0,975	2,20 (± 0,99).10 ² r ² = 0,995; 0,990	1,07 (± 0,35).10 ³ r ² = 0,988; 0,999; 0,995

Tableau IV-12. Constantes de vitesses obtenues pour l'oxydation de la prunine (k en M⁻¹.h⁻¹).

	50 °C	70 °C	80 °C	95 °C
Milieu aqueux PP + AA	-			-
Milieu aqueux PP seuls	-			-
Emulsion	-	18,1 (± 21,0) r ² = 0,780; 0,938	11,4 (± 11,8) r ² = 0,938; 0,656	3,98 (± 0,83).10 ² r ² = 0,920; 0,993; 0,998

Tableau IV-13. Constantes de vitesses apparentes obtenues pour l'oxydation de l'α-tocophérol (kapp en h⁻¹).

	50 °C	70 °C	80 °C	95 °C
Huile + toco + CAR	-			(2,88 ± 2,13).10 ⁻² r ² = 0,838; 0,866
Huile + toco	-			(1,57 ± 0,06).10 ⁻² r ² = 0,933; 0,904; 0,910
Emulsion	(8,86 ± 8,64).10 ⁻³ r ² = 0,884; 0,745	(8,41 ± 0,27).10 ⁻² r ² = 0,957; 0,965	(1,89 ± 0,40).10 ⁻¹ r ² = 0,982; 0,974	(4,11 ± 1,20).10 ⁻¹ r ² = 0,989; 0,979; 0,983

Tableau IV-14. Constantes de vitesses apparentes obtenues pour l'oxydation de la trilinoléine (kapp en h⁻¹).

	50 °C	70 °C	80 °C	95 °C
Huile	-			$(3,50 \pm 0,27) \cdot 10^{-2}$ $r^2 = 0,996; 0,992;$ $0,997$
Huile + toco	-			$(3,66 \pm 2,51) \cdot 10^{-3}$ $r^2 = 0,846; 0,812$
Huile + CAR	$(1,10 \pm 0,12) \cdot 10^{-2}$ $r^2 = 0,969; 0,976$			$(2,86 \pm 0,68) \cdot 10^{-2}$ $r^2 = 0,994; 0,994$
Huile + toco + CAR	-			$(4,26 \pm 2,37) \cdot 10^{-3}$ $r^2 = 0,670; 0,889$
Emulsion	-	$(1,90 \pm 0,32) \cdot 10^{-2}$ $r^2 = 0,873; 0,907$	$(6,77 \pm 2,11) \cdot 10^{-2}$ $r^2 = 0,961; 0,954$	$(2,77 \pm 1,17) \cdot 10^{-2}$ $r^2 = 0,895; 0,987;$ $0,979$

Tableau IV-15. Constantes de vitesses apparentes obtenues pour la dégradation du (E)-lycopène (kapp en h⁻¹).

	50 °C	70 °C	80 °C	95 °C
Huile + CAR + toco	$(2,41 \pm 1,92) \cdot 10^{-2}$ $r^2 = 0,993; 0,874$			$(1,99 \pm 1,14) \cdot 10^{-1}$ $r^2 = 0,983; 0,953$
Huile + CAR	$(3,70 \pm 0,40) \cdot 10^{-1}$ $r^2 = 0,984; 0,973$			$29,97 \pm 0,02$ $r^2 = 0,991$
Emulsion	$(4,11 \pm 1,50) \cdot 10^{-2}$ $r^2 = 0,446; 0,835;$ $0,892$	$(8,28 \pm 2,17) \cdot 10^{-2}$ $r^2 = 0,840; 0,973$	$(1,32 \pm 0,62) \cdot 10^{-1}$ $r^2 = 0,986; 0,948$	$(2,21 \pm 2,18) \cdot 10^{-1}$ $r^2 = 0,830; 0,998;$ $0,999$

Tableau IV-16. Constantes de vitesses apparentes obtenues pour la dégradation du (E)-β-carotène (kapp en h⁻¹).

	50 °C	70 °C	80 °C	95 °C
Huile + CAR + toco	$(8,79 \pm 1,96) \cdot 10^{-3}$ $r^2 = 0,945; 0,967$			$(4,54 \pm 0,53) \cdot 10^{-2}$ $r^2 = 0,986; 0,990$
Huile + CAR	$(3,95 \pm 1,45) \cdot 10^{-1}$ $r^2 = 0,997; 1,000$			$1,00 \pm 0,39$ $r^2 = 0,999; 1,000$
Emulsion	$(1,36 \pm 0,40) \cdot 10^{-2}$ $r^2 = 0,610; 0,839;$ $0,934$	$(8,47 \pm 1,31) \cdot 10^{-2}$ $r^2 = 0,914; 0,970$	$(1,39 \pm 0,44) \cdot 10^{-1}$ $r^2 = 0,968; 0,984$	$(2,04 \pm 0,67) \cdot 10^{-1}$ $r^2 = 0,991; 1,000;$ $0,998$

Les valeurs des constantes de vitesses identifiées pour les composés hydrophiles augmentent toutes avec la température (sauf pour la prunine en émulsion à 70 et 80 °C). Pour les acides chlorogénique et ascorbique, les constantes de vitesse sont plus importantes en milieu aqueux à 50 °C alors qu'elles sont plus importantes en émulsion à 95 °C. L'accélération des vitesses d'oxydation de ces composés en émulsion serait en lien avec l'oxydation lipidique observée à 95 °C (voir chapitre III).

Les constantes apparentes identifiées pour les composés lipophiles croient avec la température sauf pour l'oxydation de la trilinoléine en émulsion entre 80 et 95 °C. La teneur en oxygène influencerait l'oxydation de ce composé, or celle-ci s'amenuise à 95 °C, ce qui explique une vitesse plus rapide à 80 qu'à 95 °C.

En milieu lipidique, la présence du tocophérol abaisse d'un facteur 10 la constante de la vitesse d'oxydation de la trilinoléine en l'absence de caroténoïdes et d'un facteur 7 lorsqu'ils sont présents. De même la présence du tocophérol limite la dégradation des caroténoïdes. A 95 °C, la constante de vitesse de disparition du (*E*)- β -carotène est réduite d'un facteur 22 et d'un facteur 150 pour le (*E*)-lycopène. Ces données confirment l'effet antioxydant de l' α -tocophérol préalablement évoqué dans le chapitre III.

Les hypothèses formulées, supposant un ordre 1 pour les réactions étudiées, ont rarement été vérifiées. Seules les dégradations des composés phénoliques semblent suivre une cinétique d'ordre 1. La complexité des milieux modèles nécessite une étude des réactions de manière globale afin d'identifier au mieux tous les paramètres cinétiques. Cette approche sera présentée dans la partie "IV.3. Vers un modèle stoechio-cinétique intégré " de ce chapitre.

IV.2. Modèle intégré pour l'oxydation lipidique

Le travail présenté dans cette partie a été réalisé en collaboration avec le Pr. Olivier DANGLES. Il vise à mettre en place un traitement mathématique prenant en considération uniquement l'oxydation lipidique initiée par la chaleur. Il permettra la détermination de paramètres relatifs à l'oxydation lipidique et à l'efficacité antioxydante (AE) des microconstituants lipophiles étudiés.

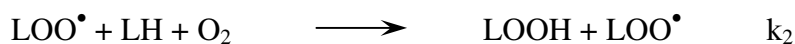
Les réactions impliquées dans la peroxydation lipidique induites par la chaleur en présence des antioxydants sont regroupées ci-dessous avec les constantes de vitesse correspondantes.

Abréviations: LH = lipides, LOOH = hydroperoxydes lipidiques, X[•] = radicaux initiateurs (intégrant LO[•] et LOO[•]), AH = antioxydant)

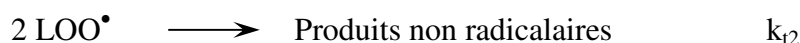
Initiation



Propagation



Terminaison



Inhibition de l'initiation



Inhibition de la propagation



En faisant l'hypothèse de l'état stationnaire pour X[•], on obtient:

$$R_i = k_i(\text{LOOH}) = k_1(\text{LH})(\text{X}^{\bullet}) + k_{t1}(\text{X}^{\bullet}) + k_{a1}(\text{AH})(\text{X}^{\bullet})$$

$$\text{Puis } R_1 = \frac{k_i(\text{LOOH})}{1 + C_t/(\text{LH}) + AE_1(\text{AH})/(\text{LH})}$$

Avec $R_1 = k_1(LH)(X^\bullet)$, $C_t = k_{t1}/k_1$, $AE_1 = k_{a1}/k_1$ (Efficacité antioxydante lors de l'inhibition de l'initiation).

La vitesse de peroxydation est:

$$R_p = d(LOOH)/dt = k_2(LOO^\bullet)(LH) + k_{a2}(LOO^\bullet)(AH) - k_i(LOOH) = R_2 + R_{a2} - R_i$$

La vitesse de consommation des lipides est: $-d(LH)/dt = R_1 + R_2$

La vitesse de consommation des antioxydants est:

$$R_a = -d(AH)/dt = k_{a1}(X^\bullet)(AH) + k_{a2}(LOO^\bullet)(AH) = R_1 AE_1(AH)/(LH) + R_{a2}$$

En faisant l'hypothèse de l'état stationnaire pour les radicaux peroxydes, on obtient :

$$R_1 = k_{a2}(LOO^\bullet)(AH) + 2k_{t2}(LOO^\bullet)^2$$

En résolvant l'équation pour obtenir (LOO^\bullet) , on obtient:

$$(LOO^\bullet) = \frac{k_{a2}(AH)}{4k_{t2}} \left[\left(1 + \frac{8k_{t2}R_1}{(k_{a2}(AH))^2} \right)^{1/2} - 1 \right]$$

Ainsi, on en déduit:

$$R_{a2} = k_a(AH)^2 \left[\left(1 + \frac{2R_1}{k_a(AH)^2} \right)^{1/2} - 1 \right]$$

$$R_2 = \frac{R_{a2}(LH)}{AE_2(AH)}$$

Avec $k_a = k_{a2}^2/(4k_{t2})$, $AE_2 = k_{a2}/k_2$ (efficacité antioxydante lors de l'inhibition de la propagation).

En l'absence d'antioxydant, nous avons simplement:

$$R_p^0 = k_2(LOO^\bullet)(LH) - k_i(LOOH) = R_2 - R_i$$

$$-d(LH)/dt = R_1 + R_2 \text{ with } R_1 = 2k_{t2}(LOO^\bullet)^2$$

$R_p^0 = R_2 - R_i = r_2(LH) R_1^{1/2} - R_i$ avec $r_2 = k_2/(2k_{t2})^{1/2}$ (r_2 est l'**oxydabilité** de l'huile dans le milieu)

$$\text{Etat stationnaire pour } X^\bullet: R_1 = \frac{R_i}{1 + C_t/(LH)}$$

Les paramètres k_a , r_2 et AE_2 sont aussi reliés par la relation suivante:

$$k_a = (r_2 AE_2)^2 / 2$$

De plus, on définit la concentration apparente en antioxydants comme étant la concentration totale en antioxydants x la stoechiométrie (nombre de radicaux réduits par molécule antioxydante)

- **Analyse cinétique**

Dans l'émulsion

L'huile apporte 39,86 mmol/L de chaînes en C18:2 et les phospholipides 8,60 mmol/L soit un total de 48,46 mmol/L de chaînes en C18:2.

Dans l'huile

L'huile apporte 1,8739 mol/L de chaînes en C18:2 et les phospholipides 36,168 mmol/L soit un total de 1,910 mol/L de chaînes en C18:2.

Hypothèse: $C_t = 0$, $AE_1 = 0$. Ce qui signifie que les radicaux produits par décomposition de LOOH réagissent tous avec LH et que les antioxydants ne sont pas inhibiteurs de l'initiation.

L'ensemble des paramètres calculés est présenté dans le Tableau IV-17. Les graphiques présentant les points expérimentaux et la modélisation des données sont présentés sur les Figures IV-34 à IV-39.

Tableau IV-17. Paramètres cinétiques déterminés pour chaque système

Système	r_2 ($M^{-1/2} s^{-1/2}$) x 10^4	k_i (s^{-1})	AE ₂	R
Emulsion, tous les points	119 (± 3)	2,5 (± 0,2).10 ⁻⁵	-	0,995
Emulsion + AH	97,9 (± 0,8)	1,3 (± 0,2).10 ⁻⁵	-	0,999
Huile, tous les points	27 (± 2)	3,2 (± 0,2).10 ⁻⁵	-	0,954
Huile + Car, tous les points	19,5 (± 1,0)	2,4 (± 0,3).10 ⁻⁵	-	0,986
Huile + Car, 5 1 ^{ers} pts	23 (± 2)	2,4 (± 0,8).10 ⁻⁵	-	0,999
Huile, 5 1 ^{ers} pts	28,3 (± 0,1)	5,3 (± 0,2).10 ⁻⁵	-	0,9998
Huile + Toc ^{a)}	28,3 ^{b)}	2,0 (± 0,1).10 ⁻⁶	175 (± 21)	0,997
Huile + Toc ^{c)} + Car	28,3 ^{b)}	1,4 (± 0,1).10 ⁻⁶	137 (± 17)	0,998

^{a)} Concentration moyenne de Toc = 1,27 mM, stoechiométrie fixée à 2, ^{b)} fixé, ^{c)} Concentration moyenne de Toc = 1,21 mM, stoechiométrie fixée à 2

Abréviations: AH = antioxydants, Car = caroténoïdes, Toc = α -tocophérol

D'après les paramètres mesurés, les constantes de vitesse d'amorçage (k_i) sont du même ordre dans les deux milieux étudiés. En revanche, l'oxydabilité des lipides (r_2) est 4 à 5 fois plus importante dans l'émulsion que dans l'huile. La propagation dans le milieu émulsionné est plus rapide et/ou la terminaison est plus lente. Nos résultats montrent une oxydabilité bien plus faible que celles calculées de la même façon dans des milieux micellaires (13-14). D'après les valeurs de R_p^0 et R_i disponibles dans ces publications, le calcul de l'oxydabilité donne des valeurs proches de 0,087 et 4,5 $M^{-1/2}s^{-1/2}$. Par ailleurs, l'oxydabilité de l'acide linoléique a été identifiée dans différents types de solvants et des micelles de SDS (Sodium Dodecyl Sulfate) par Barclay *et al.* (15). Dans l'acétonitrile et le tertbutanol (portés à 30 °C), les valeurs obtenues sont respectivement de 3,59.10⁻² et 1,72.10⁻² $M^{-1/2}s^{-1/2}$ tandis que dans les micelles de SDS (pH 7, 30°C) l'oxydabilité varie de 4.10⁻² à 5.10⁻² $M^{-1/2}s^{-1/2}$. Toutes ces valeurs montrent une oxydabilité 1 à 2 fois supérieure à celle identifiée dans le milieu émulsion modèle.

Comme cela a déjà été évoqué dans le chapitre III, les paramètres mesurés dans cette partie montrent que les antioxydants inhibent très peu la peroxydation lipidique au sein de l'émulsion. En milieu lipidique, seul l' α -tocophérol inhibe efficacement l'oxydation des lipides. Les caroténoïdes présentent un effet inhibiteur très léger.

En s'intéressant au milieu huile en présence ou absence d' α -tocophérol, il est possible de comparer les constantes de vitesse d'amorçage au cours de la phase de latence:

Pendant la phase de latence, la concentration en LOOH est quasi-stationnaire (et de l'ordre de 1 mM). On peut écrire :

$$R_p = d(\text{LOOH})/dt = R_2 + R_{a2} - R_i = 0$$

Si l'on néglige la propagation, ce qui signifie que les radicaux initiateurs réagissent avec l' α -tocophérol et non avec les lipides, on peut écrire :

$$R_2 = 0$$

On en déduit :

$$R_{a2} = R_i$$

$$\text{Soit : } nC/T = k_i(\text{LOOH})$$

Avec n: stoechiométrie

C: concentration en α -tocophérol

T: durée de la phase de latence $\approx 7 \times 10^4$ s

Si on fixe n à 2 (stoechiométrie usuelle de l' α -tocophérol), on déduit:

$$k_i \approx 2 \times 1,27 \cdot 10^{-3} / 10^{-3} \times 7 \times 10^4 \approx 3,6 \cdot 10^{-5} \text{ s}^{-1}$$

Cette valeur est en accord avec les valeurs déduites de l'analyse en l'absence d'antioxydant ($3,2 (\pm 0,2) \cdot 10^{-5}$ et $5,3 (\pm 0,2) \cdot 10^{-5}$).

L'efficacité antioxydante de l' α -tocophérol dans l'huile est importante. Pourtant la présence de ce composé abaisse fortement la valeur de k_i . Ainsi, l'hypothèse selon laquelle les radicaux produits par décomposition de LOOH réagissent tous avec LH n'est sans doute plus vérifiée.

Entre l'expérience « huile sans antioxydant, 5 1^{ers} points » et l'expérience « huile + α -tocophérol », le k_i diminue d'un facteur 26,5. Dans ce cas, tout se passe comme si seulement environ 4 % des radicaux produits par décomposition de LOOH initiaient la peroxydation par réaction avec LH en présence d' α -tocophérol.

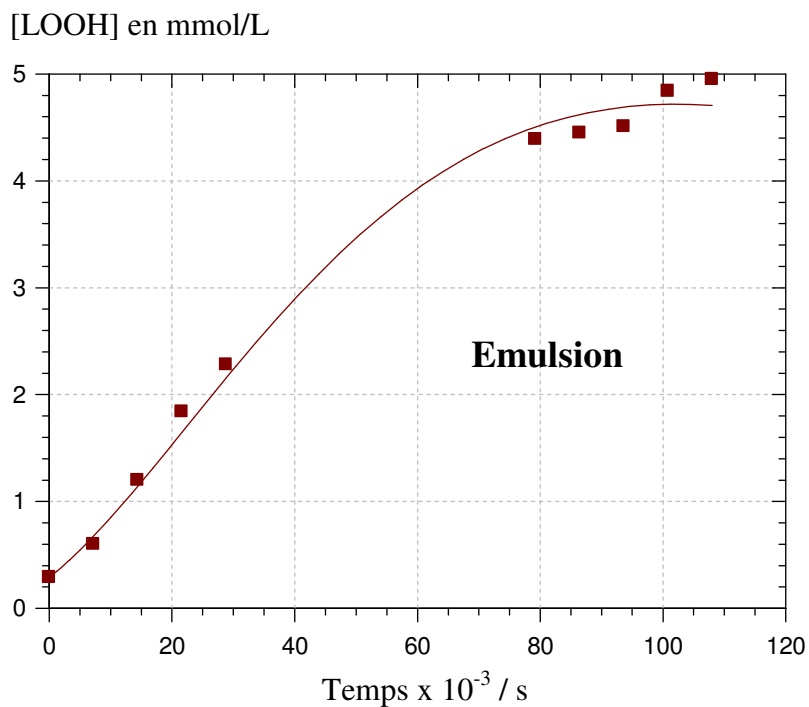


Figure IV-34. Points expérimentaux et modélisation de l'apparition des hydroperoxydes dans l'émulsion sans antioxydant à 95 °C

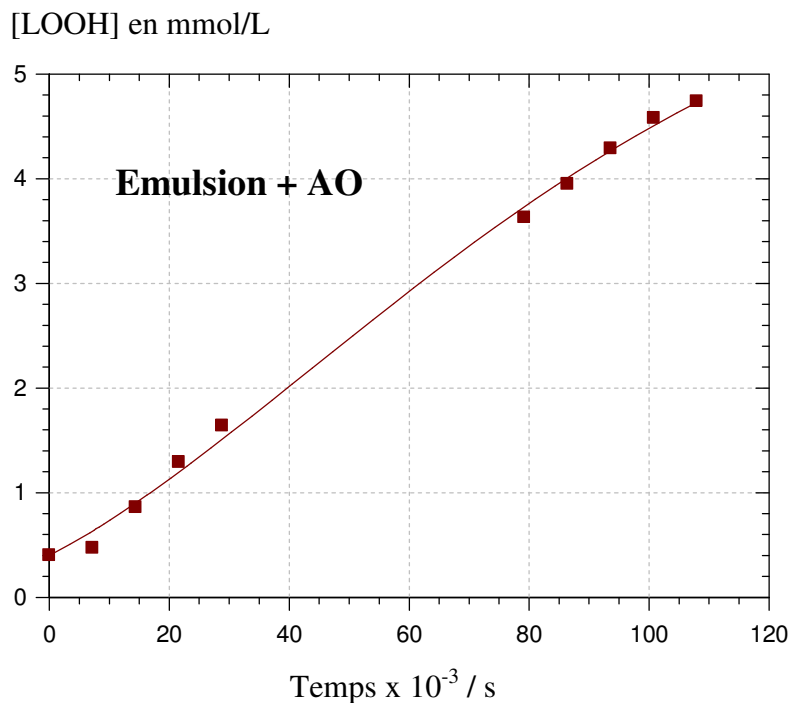


Figure IV-35. Points expérimentaux et modélisation de l'apparition des hydroperoxydes dans l'émulsion contenant tous les antioxydants à 95 °C

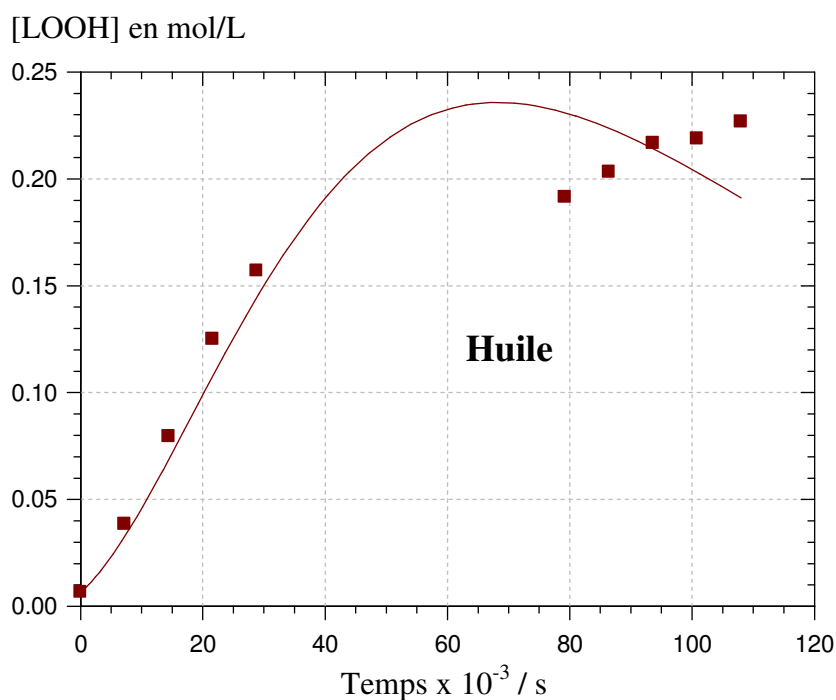


Figure IV-36. Points expérimentaux et modélisation de l'apparition des hydroperoxydes dans le milieu lipidique sans antioxydant à 95 °C

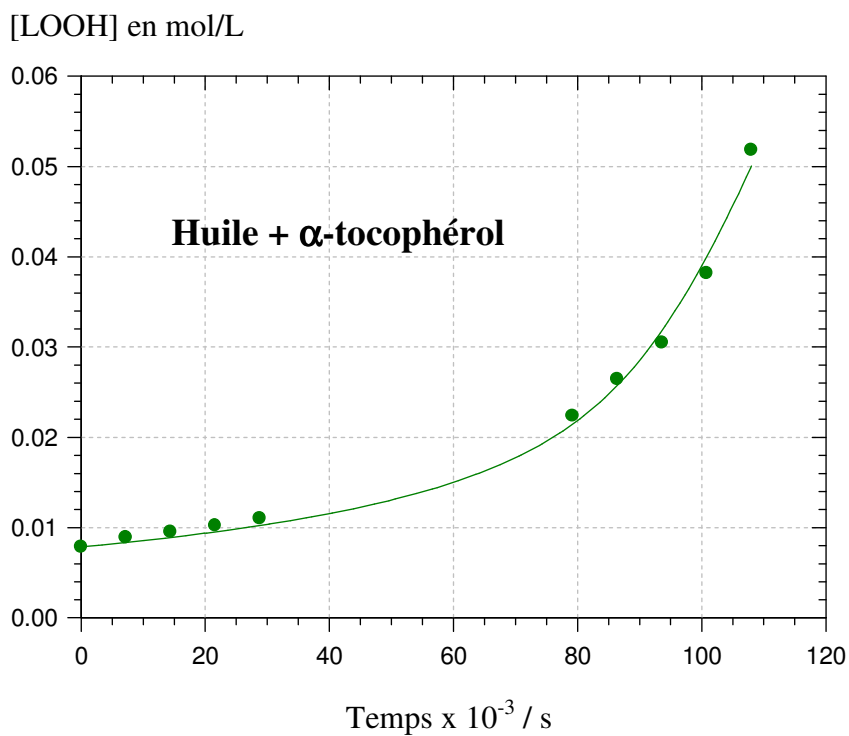


Figure IV-37. Points expérimentaux et modélisation de l'apparition des hydroperoxydes dans le milieu lipidique contenant uniquement l' α -tocophérol à 95 °C

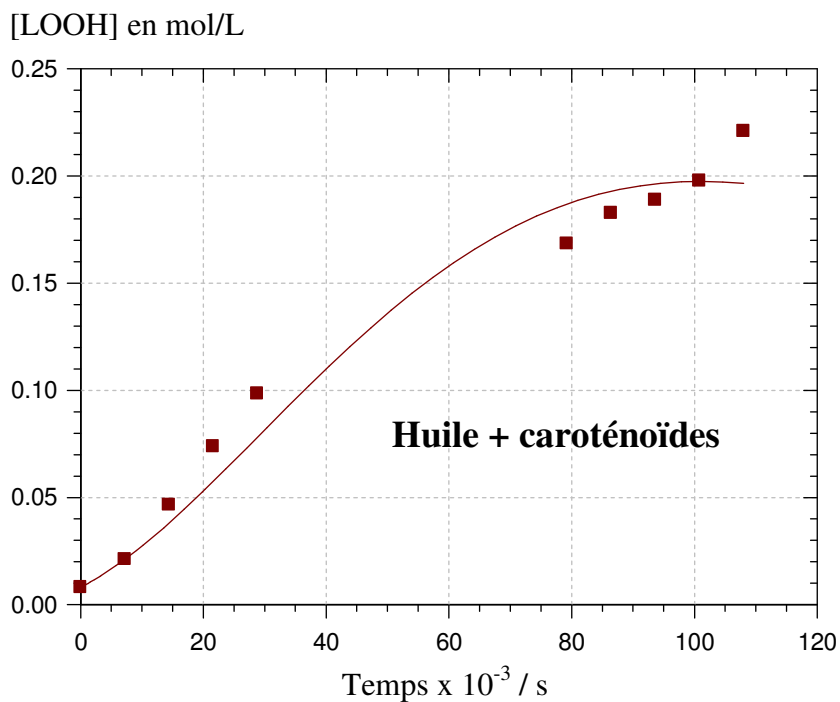


Figure IV-38. Points expérimentaux et modélisation de l'apparition des hydroperoxydes dans le milieu lipidique contenant uniquement les caroténoïdes à 95 °C

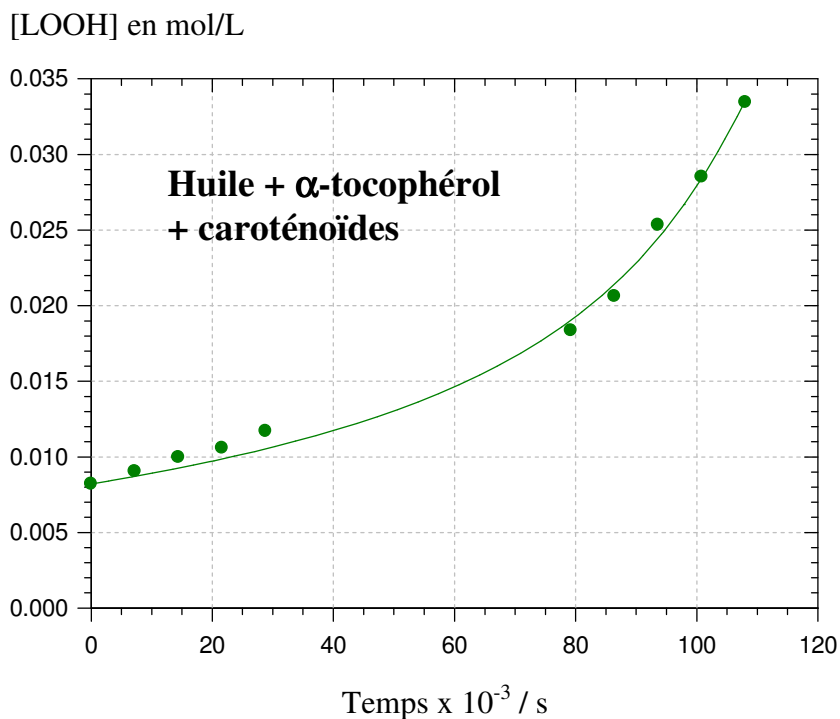


Figure IV-39. Points expérimentaux et modélisation de l'apparition des hydroperoxydes dans le milieu lipidique contenant les caroténoïdes et l' α -tocophérol à 95 °C

IV.3. Vers un modèle stoechio-cinétique intégré

Ce travail a été réalisé en collaboration avec le Dr Cédric BRANDAM et M^{elle} Marie ROLAND du LGC (Laboratoire de Génie Chimique) de Toulouse.

IV.3.1. Identification paramétrique en milieu aqueux

L'identification du modèle pour la phase aqueuse se déroule en deux étapes. D'abord une identification « approximative » des paramètres, en les traitant un par un: acide chlorogénique, acide ascorbique puis transfert d'oxygène. Cette première étape va nous servir, à invalider certains modèles selon les résultats, puis à obtenir des données permettant d'initialiser au plus juste la résolution d'un modèle global pour la phase aqueuse (seconde étape).

IV.3.1.1. Identification des paramètres individuellement

- Oxydation de l'acide chlorogénique:

Réaction étudiée : $\text{ACHL} + \text{O}_2 \rightarrow \text{quinone d'acide chlorogénique} + \text{H}_2\text{O}_2$

ACHL = Acide chlorogénique

Modèle proposé: **ordre 1 par rapport à chacun des réactifs**

d'où $\text{Rachl} = k_{\text{ACHL}} [\text{ACHL}] [\text{O}_2]$

Sans connaître l'évolution de $[\text{O}_2]$, nous pouvons tout de même l'initialiser aux valeurs de saturation en phase aqueuse à savoir :

A 50 °C : O_2 initialisé à $\text{O}_2 \text{ sat} = 171,9 \mu\text{mol/L}$

A 95 °C : O_2 initialisé à $\text{O}_2 \text{ sat} = 26,9 \mu\text{mol/L}$

A partir des données en phase aqueuse "complète" (acide ascorbique + composés phénoliques), nous identifions le coefficient cinétique pour cette réaction :

- A 50 °C :

$$k_{\text{ACHL}} = 33,3 \text{ M}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$$

Coefficient de détermination $R^2 = 0,759$

- A 95 °C :

$$k_{\text{ACHL}} = 601 \text{ M}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$$

Coefficient de détermination $R^2 = 0,965$

Cette identification individuelle se fait par le traitement des trois cinétiques (répétitions) ensemble contrairement à l'identification présentée dans la partie "IV.1. Identification des constantes de vitesses par une approche individuelle" pour laquelle les constantes ont été déterminées pour chaque répétition.

○ **Oxydation de l'acide ascorbique:**

Réaction étudiée : $AASC + O_2 \rightarrow ADHA + H_2O_2$

AASC = Acide ascorbique

ADHA = Acide déhydroascorbique

Un modèle d'ordre 1 par rapport à [AASC] a d'abord été testé. Ce modèle ne semble pas concluant, ni à 50, ni à 95 °C (points expérimentaux éloignés de la modélisation) comme cela a été démontré dans la partie "IV.1. Détermination des constantes de vitesses par une approche individuelle" de ce chapitre.

Une recherche d'ordres supérieurs par rapport à [AASC] a ensuite été effectuée mais aucun de ces modèles ne s'est avéré concluant.

L'analyse de l'évolution de la cinétique de réaction laisse à penser qu'à 95°C, l'oxygène puisse devenir limitant (disparition de l'acide ascorbique plus rapide à 50 qu'à 95 °C). Ainsi [O₂] doit apparaître dans la cinétique et non dans un « k apparent ».

Nous modélisons la cinétique de l'acide ascorbique par un modèle de la forme :

$$r_{AASC} = k_{AASC} \frac{[AASC]}{[AASC] + k_{IA}} [O_2]$$

Avec un modèle de ce type, le paramètre k_{IA} n'est pas dépendant de la température, nous l'identifions alors conjointement à 50 et 95 °C.

Résultats obtenus :

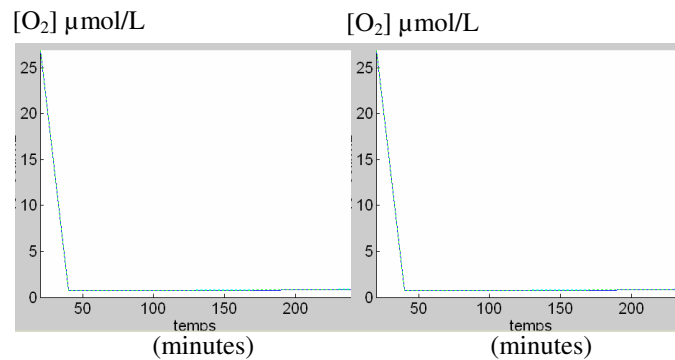


Figure IV-40. Evolution de la teneur en O₂ à 50 et 95 °C

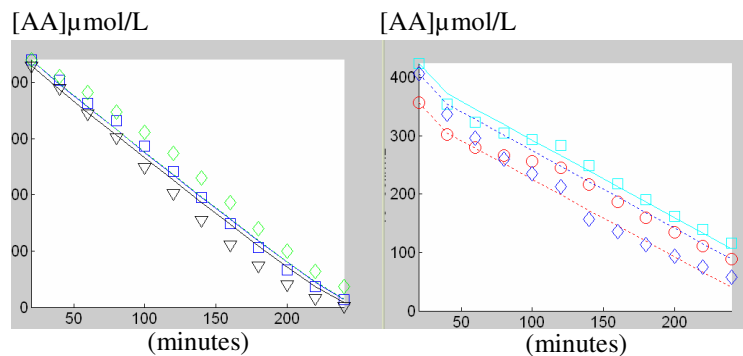


Figure IV-41. Evolution de la teneur en acide ascorbique à 50 et 95 °C

- **A 50 °C :**

$$k_{AASC} = 1,05 \text{ min}^{-1} \text{ soit } 63,0 \text{ h}^{-1}$$

Coefficient de détermination $R^2 = 0,996$

- **A 95 °C :**

$$k_{AASC} = 1,78 \text{ min}^{-1} \text{ soit } 106 \text{ h}^{-1}$$

Coefficient de détermination $R^2 = 0,976$

Grâce à cette identification la valeur du coefficient k_{IA} (commune à 50 et à 95 °C) est déterminée : $k_{IA} = 8,5 \text{ } \mu\text{mol/L}$

Par ailleurs, les valeurs de k_{AASC} obtenues permettront d'initialiser l'identification globale.

Avant de passer à l'identification globale, **il reste à prendre en compte le cas de l'oxygène.**

A 95 °C, l'analyse des données recueillies concernant l'oxydation de l'acide ascorbique laisse supposer qu'un nouveau paramètre entre en jeu lors des réactions, à savoir la présence de l'oxygène qui est limitant. En effet, la réaction d'oxydation de l'acide ascorbique semble bien plus rapide à 95 °C en début de réaction, avant un net ralentissement. De plus, la quantité d'oxygène présente dans la phase aqueuse liquide est bien plus faible à haute température (26,9 µmol/L à saturation à 95 °C et 171,9 µmol/L à 50 °C).

Cette hypothèse nous pousse à identifier le coefficient de transfert de l'oxygène, aussi appelé « kla ». Considérant qu'à partir de t = 60 minutes, la disparition de l'acide ascorbique est contrôlée cinétiquement par le transfert de l'oxygène, le kla peut-être déterminé.

Réaction étudiée : $O_{2\text{ GAZ}} \rightarrow O_{2\text{ LIQUIDE}}$

avec $R_{\text{transf}} = kla (O_{2\text{sat/eau}} - O_{2\text{liq/eau}})$ et $O_{2\text{sat/eau}} = 26,9 \mu\text{mol/L}$ à 95 °C

Ainsi, $d[\text{AASC}]/dt = -R_{\text{transf}} = -kla (O_{2\text{sat/eau}} - O_{2\text{liq/eau}})$

Le kla à 95 °C est identifié:

$$\mathbf{kla = 0,0189 \text{ min}^{-1} \text{ soit } 1,134 \text{ h}^{-1}}$$

Coefficient de détermination $R^2 = 0,995$

Une fois ces paramètres pré-identifiés, nous pouvons passer à l'identification du modèle de manière globale.

Tableau IV-18. Paramètres pré-identifiés individuellement

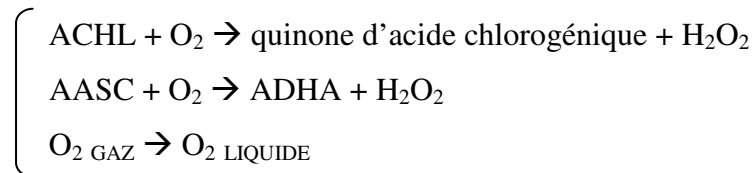
	k_{ACHL}	k_{AASC}	Kla	k_{IA}
50 °C	33,3 $\text{M}^{-1}.\text{h}^{-1}$	63,0 h^{-1}	> 5 h^{-1}	8,5 $\mu\text{mol/L}$
95 °C	601 $\text{M}^{-1}.\text{h}^{-1}$	106 h^{-1}	1,134 h^{-1}	

A 50°C, on considère que $kla > 5 \text{ h}^{-1}$. Dans ce cas, l'oxygène n'est pas limitant.

IV.3.1.2. Identification des paramètres de manière globale

L'identification des paramètres de manière globale implique une résolution prenant en compte conjointement l'oxydation de l'acide chlorogénique, l'oxydation de l'acide ascorbique et le transfert d'oxygène.

○ **Modèle global :**



Ce modèle amène à un **système d'équations** à résoudre :

$$\left\{ \begin{array}{l} d[\text{ACHL}]/dt = -k_{\text{ACHL}} [\text{ACHL}] [\text{O}_2] \\ d[\text{AASC}]/dt = -k_{\text{AASC}} \frac{[\text{AASC}]}{[\text{AASC}] + k_{\text{IA}}} [\text{O}_2] \\ d[\text{O}_2]/dt = d[\text{ASCHL}]/dt + d[\text{AASC}]/dt + k_{\text{la}} (\text{O}_2 \text{ sat/eau} - \text{O}_2 \text{ eau}) \end{array} \right.$$

○ **Résolution globale pour la phase aqueuse à 50 °C :**

L'optimisation nous donne les résultats présentés sur la Figure IV-42. La valeur du k_{IA} fixée lors de la résolution du système avait été déterminée au cours de l'identification des paramètres individuellement.

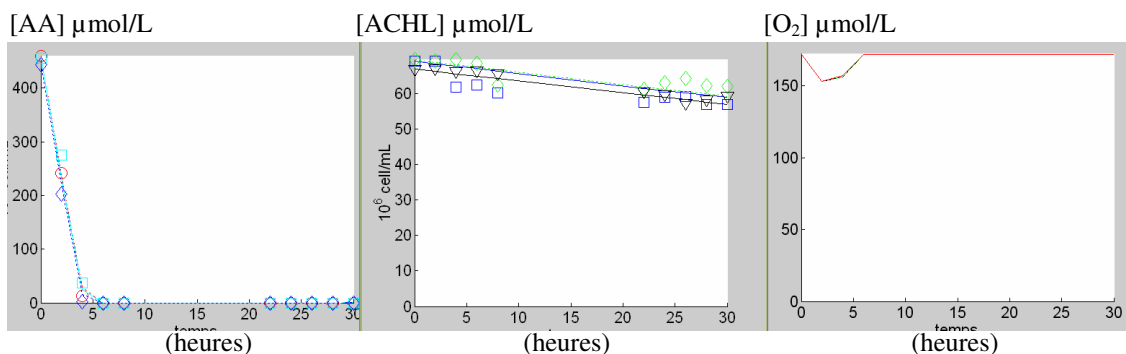


Figure IV-42. Résolution des paramètres de manière globale à 50°C

Paramètres identifiés à 50 °C :

$$k_{ACHL} = 31,4 \text{ M}^{-1} \cdot \text{h}^{-1} \quad (R^2 = 0,973)$$

$$k_{AASC} = 0,738 \text{ h}^{-1} \quad (R^2 = 0,970)$$

$$k_{IA} = 8,5 \text{ } \mu\text{mol/L}$$

$$k_{la} = 5,91 \text{ h}^{-1}$$

Intervalles de confiance (intervalles dans lesquels chaque paramètre peut varier de manière à modifier au maximum de 10 % la valeur du critère de résolution) :

$$\text{Pour } k_{ACHL}, \text{ IC} = [15,4 - 48,3] \text{ M}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$$

$$\text{Pour } k_{AASC}, \text{ IC} = [0,716 - 0,760] \text{ h}^{-1}$$

Remarque : le k_{la} n'est pas « identifiable » a priori dans ces conditions car l'oxygène ne semble pas être limitant. La valeur déterminée est une valeur « minimale ».

○ **Résolution globale pour la phase aqueuse à 95 °C :**

Comme pour la résolution à 50 °C, la valeur de k_{IA} est fixée. Il s'agit de la valeur déterminée lors de l'identification individuelle ($k_{IA} = 8,5 \text{ } \mu\text{mol/L}$). Les autres paramètres sont déterminés lors de cette résolution globale.

Remarque : lors des résolutions, les choix des valeurs d'initialisation et des bornes pour chaque paramètre sont prépondérants pour obtenir un résultat correct.

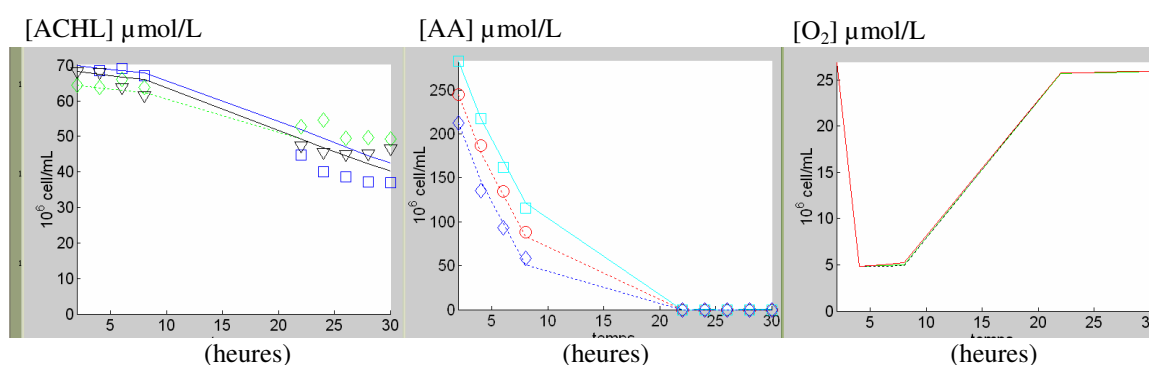


Figure IV-43. Résolution des paramètres de manière globale à 95 °C

Paramètres identifiés à 95 °C :

$$k_{ACHL} = 988 \text{ M}^{-1} \cdot \text{h}^{-1} \quad (R^2 = 0,963)$$

$$k_{AASC} = 5,21 \text{ h}^{-1} \quad (R^2 = 0,998)$$

$$k_{IA} = 8,5 \text{ } \mu\text{mol/L}$$

$$kla = 1,1 \text{ h}^{-1}$$

Intervalles de confiance (intervalles dans lesquels chaque paramètre peut varier de manière à modifier au maximum de 10 % la valeur du critère de résolution) :

$$\text{Pour } k_{ACHL}, \text{ IC} = [840 - 1146] \text{ M}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$$

$$\text{Pour } k_{AASC}, \text{ IC} = [4,585 - 5,991] \text{ h}^{-1}$$

$$\text{Pour } kla, \text{ IC} = [1,045 - 1,155] \text{ h}^{-1}$$

Le tableau ci-dessous regroupe l'ensemble des paramètres identifiés globalement.

Tableau IV-19. Paramètres identifiés globalement en milieu aqueux

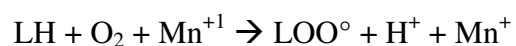
	k_{ACHL}	k_{AASC}	kla	k_{IA}
50 °C	31,4 $\text{M}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$	0,738 h^{-1}	5,91 h^{-1}	8,5 $\mu\text{mol/L}$
95 °C	998 $\text{M}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$	5,21 h^{-1}	1,1 h^{-1}	

IV.3.2. Identification paramétrique en milieu lipidique et en émulsion

La modélisation des données obtenues en milieu lipidique et en émulsion est en cours au LGC. Les résultats ne sont pas disponibles actuellement.

L'identification des paramètres en milieu lipidique implique une détermination de la quantité de LOO° produits. En effet, ces espèces entrent en jeu dans plusieurs réactions et la détermination de cette quantité permettra l'identification de certains paramètres.

La quantité de LOO° produits est déterminée grâce aux données concernant la dégradation de la trilinoléine en milieu lipidique sans antioxydant. D'après l'équation écrite ci-dessous, il est effectivement possible de déterminer cette quantité à partir de la quantité de trilinoléine oxydée.



V. Validation du système modèle émulsionné par comparaison avec un produit réel

Une sauce tomate a été préparée à partir de concentré de tomate dilué au quart et additionné d'amidon (1 %) et d'huile de tournesol (2 %) à température ambiante. Cette sauce modèle a ensuite été chauffée à 95 °C pendant 30 heures dans le dispositif expérimental utilisé pour les suivis cinétiques en milieux modèle. Les mêmes marqueurs de la qualité nutritionnelle que ceux étudiés dans le milieu modèle émulsionné ont été analysés. L'expérience a été réalisée en duplicat, la réalisation d'une troisième répétition est prévue.

IV.1. Apparition des diènes conjugués

L'évolution des teneurs en diènes conjugués dans la sauce modèle et l'émulsion chauffée à 95 °C est présentée sur la Figure IV-44. Dans le milieu modèle émulsionné, leur accumulation est immédiate et quasi-linéaire dans le temps. Leur teneur passe de 0,4 à 4,7 mmol/L en 30 heures de chauffage. Pour la sauce modèle, cette dernière augmente de 2 à 4 mmol/L avec une période de latence de 8h environ. Lorsque l'oxydation lipidique démarre, sa vitesse est très similaire à celle observée dans l'émulsion modèle. Ces résultats montrent que l'oxydation lipidique peut avoir lieu dans une sauce tomate "réelle" même si une forte protection des lipides semble exister au cours des premières heures.

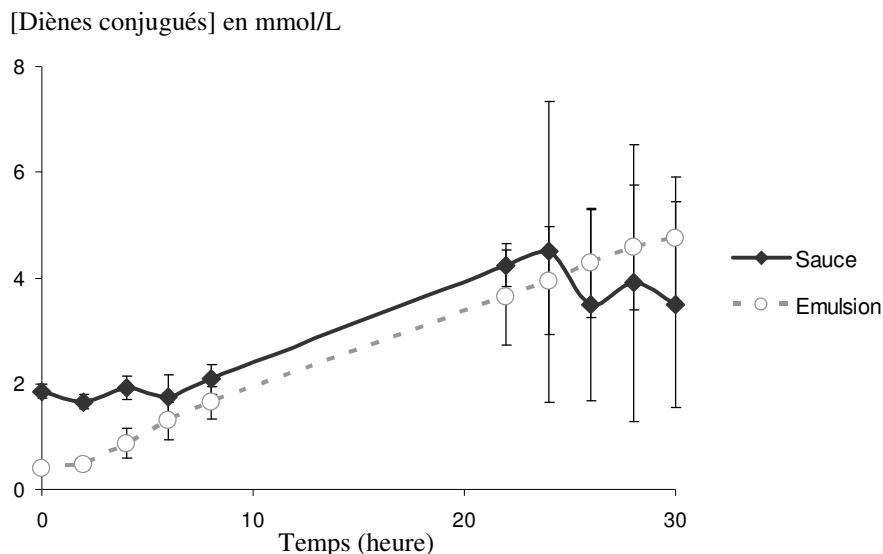


Figure IV-44. Apparition des diènes conjugués dans la sauce tomate modèle (n=2) et le milieu émulsion (n=3).

IV.2. Evolution de la teneur en trilinoléine

L'évolution de la teneur en trilinoléine dans la sauce tomate et dans l'émulsion au cours des cinétiques est présentée sur la Figure IV-45. Environ la moitié de la quantité initiale a disparu après 30 heures de chauffage dans les deux modèles et les vitesses de disparition sont similaires. Par ailleurs, ces résultats concordent avec l'évolution de la teneur en diènes conjugués bien qu'aucune phase de latence n'ait été observée dans le milieu sauce modèle. Il faut noter que ce marqueur est plus fin et indique donc que l'oxydation lipidique démarre immédiatement dans le produit réel indépendamment du temps de chauffage.

Il apparaît que le milieu modèle émulsionné est un bon système pour modéliser les réactions d'oxydation des lipides lors de la fabrication d'une sauce tomate.

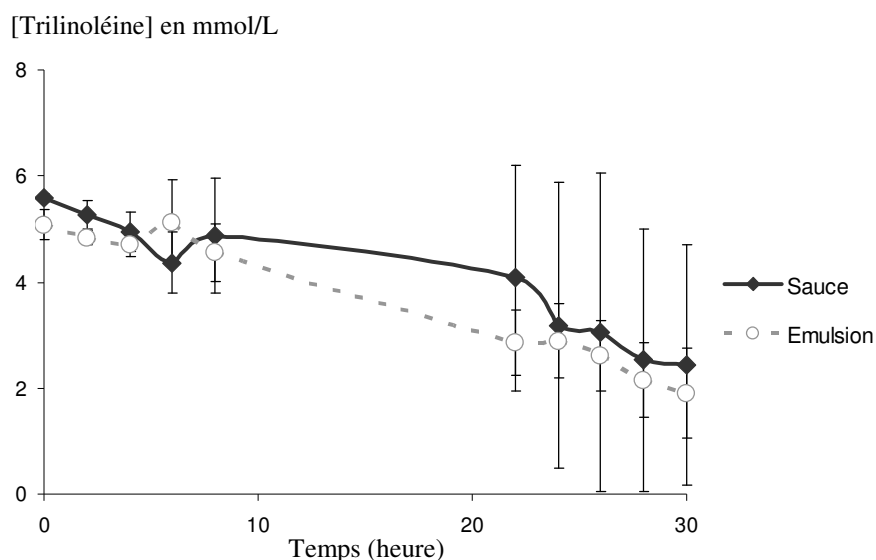


Figure IV-45. Evolution de la teneur en trilinoléine dans la sauce tomate (n=2) et le milieu modèle émulsion (n=3).

IV.3. Evolution de la teneur en α -tocophérol

L'évolution de la teneur en α -tocophérol dans la sauce modèle et l'émulsion chauffées 30 heures à 95 °C est présentée sur la Figure IV-46. Cette teneur semble stable au cours des huit premières heures de la cinétique pour décliner le second jour avec une perte de 55 % environ au bout de 30 heures de chauffage. Ce comportement est proche de celui observé pour l'accumulation des diènes conjugués où il semblait y avoir une grande stabilité de l'huile le premier jour et pourtant diffère de celui observé pour la trilinoléine. Par ailleurs, l'évolution de la teneur en α -tocophérol dans le milieu modèle émulsionné montre une dégradation très rapide de ce composé qui n'est présent qu'à l'état de traces au bout de 30 heures de chauffage.

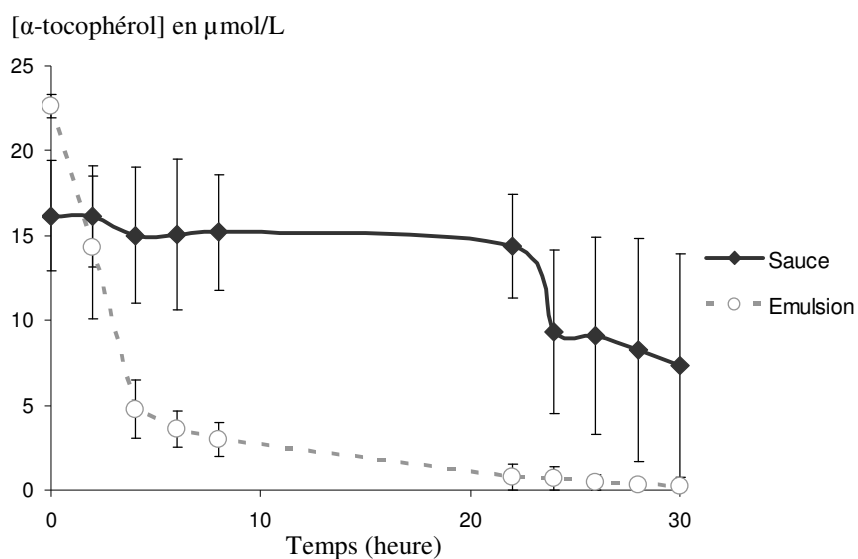


Figure IV-46. Evolution de la teneur en α -tocophérol dans la sauce tomate (n=2) et le milieu émulsion (n=3).

IV.4. Evolution des teneurs en caroténoïdes

Les évolutions des formes *E* et *Z* du lycopène et du β -carotène au cours des cinétiques (dans la sauce modèle et l'émulsion) sont présentées sur les Figures IV-47 et IV-48. Le comportement du (*E*)-lycopène est le même dans la sauce modèle et dans l'émulsion puisqu'il se dégrade très rapidement au cours des deux premières heures de chauffage avec des vitesses similaires. Les isomères *Z* apparaissent immédiatement dans les deux systèmes modèles mais une plus grande stabilité est notée dans la sauce modèle par rapport à l'émulsion dans laquelle ces derniers finissent par disparaître après 30h. La teneur en (*E*)- β -carotène diminue elle aussi, mais sa disparition semble ralentie dans la sauce par rapport à l'émulsion. La présence d'une matrice végétale constituée de particules solides issus des tomates permettrait de protéger ce caroténoïde de l'oxydation et de l'isomérisation.

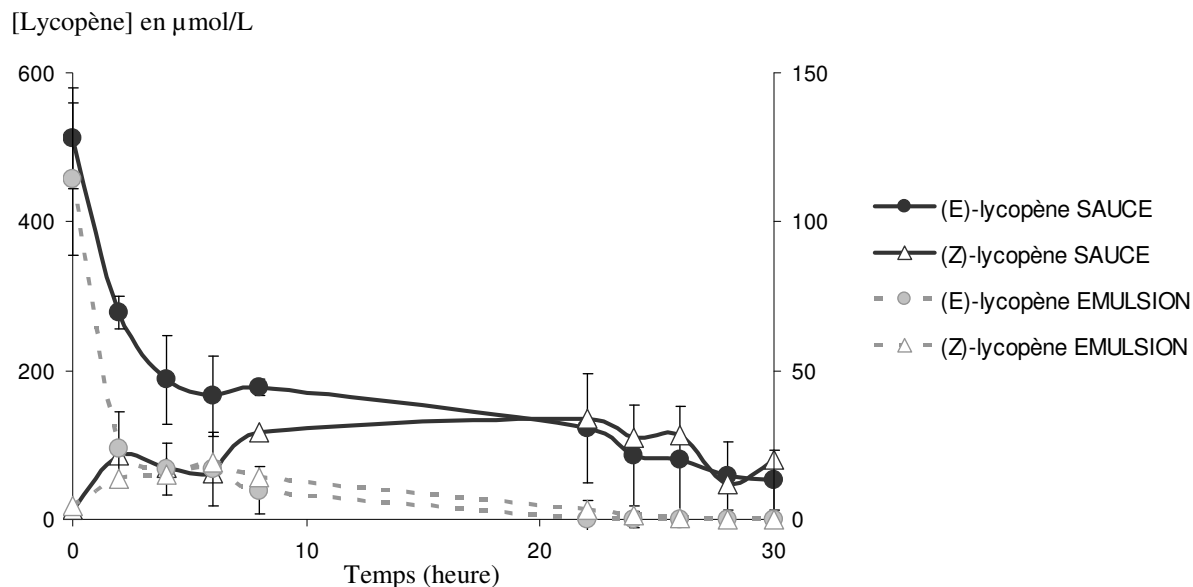


Figure IV-47. Evolution de la teneur en (E)-lycopène et (Z)-lycopène dans la sauce tomate (n=2) et le milieu émulsion (n=3).

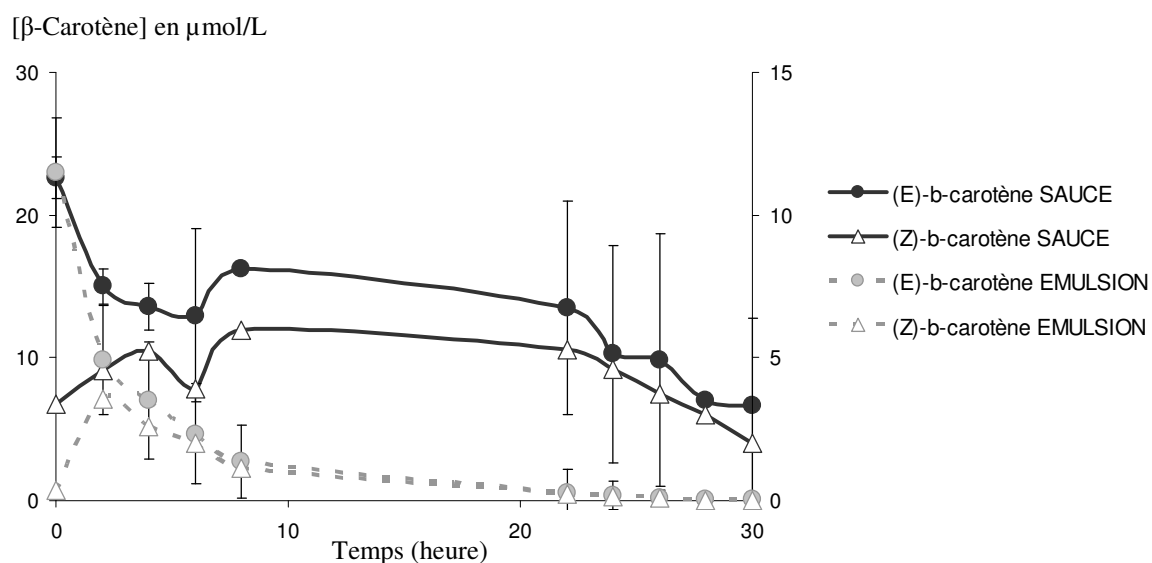


Figure IV-48. Evolution de la teneur en (E)- β -carotène et (Z)- β -carotène dans la sauce tomate (n=2) et le milieu émulsion (n=3).

IV.5. Evolution des teneurs en composés phénoliques

La Figure IV-49 présente l'évolution des teneurs en acide chlorogénique, rutine et naringénine dans la sauce modèle et dans le milieu modèle émulsionné chauffés à 95 °C. Les valeurs des teneurs en acide chlorogénique dans la sauce correspondent à la somme des teneurs en acides 3-O-, 4-O- et 5-O-caféoylquiniques. Parmi ces trois composés, l'acide 5-O-caféoylquinique est majoritairement présent. La disparition des acides caféoylquiniques est légèrement plus lente dans la sauce par rapport à la disparition de l'acide chlorogénique dans l'émulsion modèle. Quant à la rutine et à la naringénine, elles se dégradent plus rapidement que l'acide chlorogénique dans la sauce modèle contrairement à ce qui avait été observé en milieu émulsion modèle. Il faut néanmoins distinguer une première phase (8 premières heures) durant laquelle la stabilité en milieu émulsion et dans la sauce modèle est quasi-identique. La structure du milieu semble avoir un effet sur la réactivité de ces composés. Il est possible que le procédé de transformation des tomates en concentré permette la libération de la naringénine et de la rutine des cellules de l'épiderme (où elles sont exclusivement présentes) vers le milieu aqueux où elles sont moins stables. L'acide chlorogénique, présent dans l'ensemble des tissus végétaux, apparaît davantage protégé lors de la transformation du concentré en sauce. Comme évoqué pour le β -carotène, la matrice végétale pourrait jouer un rôle protecteur vis-à-vis de ce microconstituant.

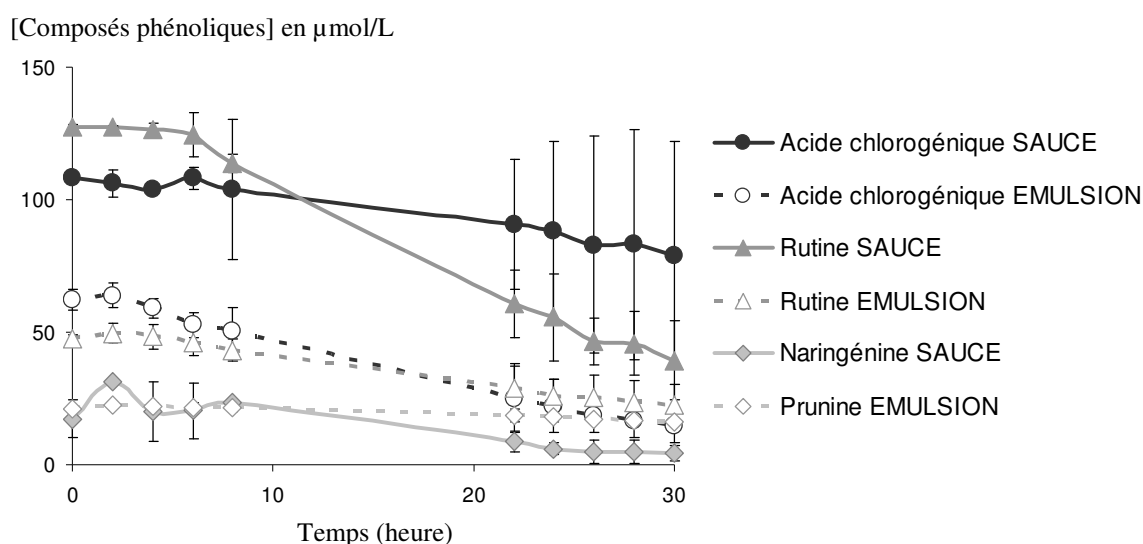


Figure IV-49. Evolution de la teneur en composés phénoliques dans la sauce tomate (n=2) et le milieu émulsion (n=3).

IV.6. Evolution de la teneur en acide ascorbique

L'évolution de la teneur en acide ascorbique dans la sauce modèle et l'émulsion à 95 °C est présentée sur la Figure IV-50. La disparition de ce composé apparaît plus lente dans la sauce modèle où de plus elle suivrait un pseudo-ordre 1, ce qui n'avait pas pu être observé pour le milieu émulsion. En effet, Ce composé est totalement détruit en 2h20 dans le milieu modèle alors qu'il est toujours présent dans la sauce après 8 heures de chauffage. Une légère protection par la matrice est observable pour un long temps de chauffage ce qui n'est pas suffisant pour assurer une protection pour ce composé extrêmement oxydable en conditions réelles.

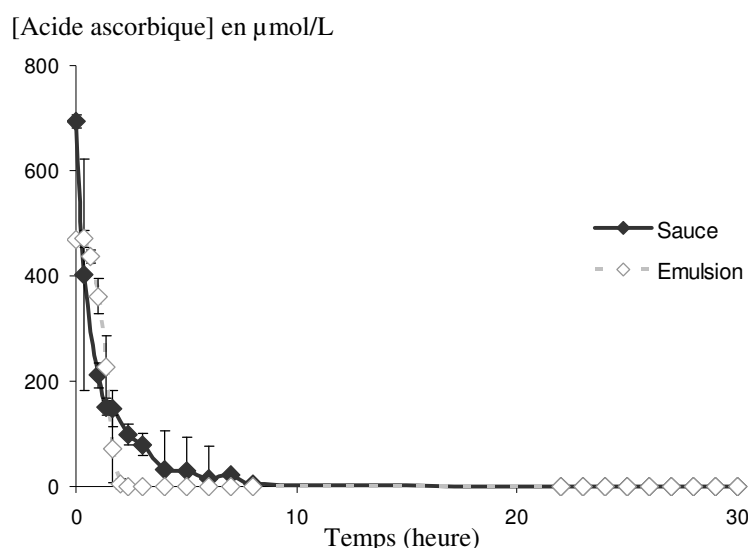


Figure IV-50. Evolution de la teneur en acide ascorbique dans la sauce tomate (n=2) et le milieu émulsion (n=3).

D'après les données obtenues lors du suivi cinétique réalisé sur la sauce modèle, il apparaît que le milieu émulsionné modélise avec autant de précision la stabilité des composés lipophiles que celle des composés hydrophiles. En effet, les comportements de la trilinoléine et du lycopène sont bien décrits par le modèle émulsion, moins bien pour les diènes conjugués et le β -carotène, et pas du tout pour l' α -tocophérol. Les comportements de l'acide ascorbique et de l'acide chlorogénique sont également fort proches de ceux proposés en émulsion modèle. La plus grande différence entre les deux systèmes est observée pour les deux composés hydrophiles localisés initialement dans l'épiderme. Néanmoins, cette différence est

observée pour des temps de chauffage bien supérieurs à ceux appliqués dans l'industrie. Sur les 8 premières heures, la modélisation des composés hydrophiles est probablement plus satisfaisante que celles des composés lipophiles.

Par ailleurs, il est important de noter qu'en fin de cinétique, la sauce est devenue marron et a pris une forte odeur de caramel. Les réactions de Maillard, impliquant les sucres et protéines de la sauce, semblent être importantes au sein du produit pendant son chauffage. Plusieurs auteurs ont relaté la présence de produits issus de la réaction de Maillard dans des produits à base de tomate: 5-(hydroxyméthyl)-2-furfural (HMF), furosine [ϵ -N-(2-furoylméthyl-L-lysine)] et mélanoidines (10-13). Lors du chauffage, ces composés apparaissent dans les produits. Les mélanoidines sont également susceptibles de donner des composés volatils qui contribuent au développement de l'arôme du produit final (10). D'autre part, ces composés peuvent exercer une activité antioxydante (14). En effet, la stabilité de l' α -tocophérol dans la sauce modèle est inhabituellement grande ce qui signifie qu'il existe d'autres composés antioxydants qui le remplacent avantageusement.

V. Conclusion

Le travail de modélisation présenté dans ce chapitre a permis l'identification de nombreux paramètres cinétiques pour des réactions ayant lieu au sein des trois milieux modèles. Par une approche individuelle des cinétiques, des constantes ont pu être déterminées avec précision lorsque les réactions suivaient un pseudo-ordre 1. D'autre part, un modèle intégré ciblant la peroxydation lipidique et son inhibition ont permis d'identifier la constante de vitesse de l'étape d'amorçage (k_i), l'oxydabilité de l'huile ($r_2 = k_{\text{propagation}}/(2k_{\text{terminaison}})^{1/2}$) et l'efficacité antioxydante ($AE_2 = k_{\text{terminaison}}/k_{\text{propagation}}$) des antioxydants lipophiles. Enfin, une identification globale est en cours dans le cadre d'une collaboration avec le Laboratoire de Génie Chimique de Toulouse. Un modèle stoechio-cinétique intégrant 14 réactions devrait être généré à partir des données obtenues en milieu émulsionné. A ce stade, la modélisation des réactions en milieu aqueux a été effectuée et celle des milieux lipidique et émulsionné est en cours.

La validation du système modèle émulsionné, par préparation d'une sauce tomate réelle dans le dispositif expérimental de laboratoire, a permis de conclure qu'il y a une grande similitude entre les modèles pour toutes les réactions excepté pour celle de dégradation de l' α -tocophérol. L'adéquation entre les deux modèles est plus marquée durant la première journée de chauffage (8 h), cette plage couvrant les conditions industrielles habituellement utilisées. Durant la seconde journée, une dégradation accélérée de la rutine et de la naringénine ont été observée dans la sauce modèle, probablement en lien avec des réactions supplémentaires se déroulant dans ce milieu plus complexe et qui implique des réactions entre sucres et protéines comme la réaction de Maillard. Le modèle émulsionné pourrait être complexifié afin de prendre en considération d'autres constituants de la tomate comme les fibres, les sucres et les protéines. Les réactions de Maillard qui ont lieu au sein des produits à base de tomate pourraient, par ailleurs, faire d'objet d'une étude complémentaire.

Références bibliographiques

1. Rajchl, A., Voldrich, M., Cízková, H., Hronová, M., Sevcík, R., Dobiáš, J., and Pivonka, J. (2010) Stability of nutritionally important compounds and shelf life prediction of tomato ketchup, *Journal of Food Engineering* 99, 465-470.
2. Baiano, A., Tamagnone, P., Marchitelli, V., and Del Nobile, M. A. (2005) Quality decay kinetics of semi-preserved sauce as affected by packaging, *Journal of Food Science* 70, E92-E97.
3. Sharma, S. K., and LeMaguer, M. (1996) Kinetics of lycopene degradation in tomato pulp solids under different processing and storage conditions, *Food Research International* 29, 309-315.
4. Lavelli, V., and Giovanelli, G. (2003) Evaluation of heat and oxidative damage during storage of processed tomato products. II. Study of oxidative damage indices, *Journal of the Science of Food and Agriculture* 83, 966-971.
5. Dhuique-Mayer, C., Tbatou, M., Carail, M., Caris-Veyrat, C., Dornier, M., and Amiot, M. J. (2007) Thermal degradation of antioxidant micronutrients in Citrus juice: Kinetics and newly formed compounds, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 55, 4209-4216.
6. Nhung, D. T. T., Bung, P. N., Ha, N. T., and Phong, T. K. (2010) Changes in lycopene and beta carotene contents in aril and oil of gac fruit during storage, *Food Chemistry* 121, 326-331.
7. Heldman, D. R., and Lund, D. B., (Eds.) (2006) *Handbook of Food Engineering, Second Edition*, CRC Press, San Marcos.
8. Chottard, J. C., Depezay, J. C., and Leroux, J. P., (Eds.) (1982) *Chimie Fondamentale III. Réactions Organiques et Enzymatiques* Hermann, Paris.
9. Polydera, A. C., Stoforos, N. G., and Taoukis, P. S. (2003) Comparative shelf life study and vitamin C loss kinetics in pasteurised and high pressure processed reconstituted orange juice, *Journal of Food Engineering* 60, 21-29.
10. Zanoni, B., Pagliarini, E., Galli, A., and Laureati, M. (2005) Shelf-life prediction of fresh blood orange juice, *Journal of Food Engineering* 70, 512-517.
11. Polydera, A. C., Stoforos, N. G., and Taoukis, P. S. (2005) Quality degradation kinetics of pasteurised and high pressure processed fresh Navel orange juice: Nutritional parameters and shelf life, *Innovative Food Science & Emerging Technologies* 6, 1-9.
12. Pénicaud, C. (2009) Etude et modélisation du couplage entre le transfert d'oxygène et les réactions d'oxydation dans les aliments au cours de leur conservation, Thèse de *Biochimie, Chimie et Technologie des aliments*, Université Montpellier II, Montpellier.
13. Roche, M., Dufour, C., Mora, N., and Dangles, O. (2005) Antioxidant activity of olive phenols: mechanistic investigation and characterization of oxidation products by mass spectrometry, *Organic and Biomolecular Chemistry* 3, 423-430.
14. Goupy, P., Vulcain, E., Caris-Veyrat, C., and Dangles, O. (2007) Dietary antioxidants as inhibitors of the heme-induced peroxidation of linoleic acid: Mechanism of action and synergism, *Free Radical Biology and Medicine* 43, 933-946.
15. Barclay, L. R. C., Baskin, K. A., Locke, S. J., and Schaefer, T. D. (1987) Benzophenone-photosensitized autoxidation of linoleate in solution and sodium dodecyl sulfate micelles, *Canadian Journal of Chemistry* 65, 2529-2540.
16. Adams, A., Borrelli, R. C., Fogliano, V., and De Kimpe, N. (2005) Thermal degradation studies of food melanoidins, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 53, 4136-4142.

17. Hidalgo, A., and Pompei, C. (2000) Hydroxymethylfurfural and furosine reaction kinetics in tomato products, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 48, 78-82.
18. Hidalgo, A., Pompei, C., and Zambuto, R. (1998) Heat damage evaluation during tomato products processing, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 46, 4387-4390.
19. Apaiah, R. K., and Barringer, S. A. (2001) Quality loss during tomato paste production versus sauce storage, *Journal of Food Processing and Preservation* 25, 237-250.
20. Manzocco, L., Calligaris, S., Mastrocola, D., Nicoli, M. C., and Lerici, C. R. (2000) Review of non-enzymatic browning and antioxidant capacity in processed foods, *Trends in Food Science & Technology* 11, 340-346.

ANNEXES

ANNEXE IV-1 : Programme Scientist[®] utilisé pour la détermination des constantes de vitesse des cinétiques d'ordre 1 (modèle "identification individuelle")

// modèle declord1.eqn

Independent Variable: T

Dependent Variables: P

Parameters:k

$-P' = k \cdot P$

$0 < P < 0.30$

$k > 0$

// Parameter values:

$k = 1$

// Initial conditions:

$T = 40$

$P = 0.264902095$

ANNEXE IV-2 : Programme Scientist[®] utilisé pour la détermination des paramètres du modèle prenant en compte l'oxydation lipidique et son inhibition (modèle SQPOV)

// Modèle biexp

Independent Variables: T

Dependent Variables: AO

Parameters: k1,DC1,k2,DC2

$$AO=C0+DC1*(1-\exp(-k1*T))+DC2*(1-\exp(-k2*T))$$

$$C0=0.3$$

$$DC1>0$$

$$k1>0$$

$$DC2>0$$

$$k2>0$$

// Parameter values:

$$DC1=1$$

$$DC2=1$$

$$k1=1E-2$$

$$k2=1E-3$$

Conclusion

Ces travaux ont permis d'acquérir de nouvelles connaissances sur les microconstituants contenus dans les produits à base de tomate et leur évolution au cours des procédés industriels.

Dans un premier temps, l'analyse de produits à base de tomates industriels a permis d'identifier et de quantifier de nombreux microconstituants. Certains de ces composés ne sont pas répertoriés dans la littérature ce qui apporte un intérêt particulier à cette étude. De part la quantification des microconstituants dans des produits collectés en entrée et en sortie de process, des hypothèses sur les paramètres influençant la qualité nutritionnelle de produits transformés ont été formulées. Il apparaît que l'évolution des différents microconstituants peut être très variable. La qualité de la matière première et les conditions appliquées lors de la transformation semblent jouer un rôle déterminant sur le devenir des microconstituants pendant la fabrication et le stockage.

La mise au point de systèmes chimiques modélisant la sauce tomate et d'un dispositif expérimental modélisant le procédé au laboratoire a permis d'évaluer la stabilité de microconstituants préalablement identifiés comme marqueurs de la qualité nutritionnelle de la tomate. Parmi ces marqueurs, l'acide ascorbique se montre très sensible à l'oxydation alors que les composés phénoliques paraissent très stables. Les caroténoïdes s'isomérisent rapidement et leur disparition est ralentie en présence d' α -tocophérol. Ce dernier joue, par ailleurs, un rôle d'antioxydant efficace au sein du milieu lipidique. Les études en milieux lipidique et aqueux ont montré des comportements variables qui n'apparaissent pas additifs en milieu émulsionné; la structure de l'émulsion favoriserait certaines réactions, démontrant que le modèle physique à deux compartiments n'est pas adapté. D'autre part, la teneur en oxygène et la présence de métaux de transition (fer par exemple) au sein des milieux influenceraient grandement l'oxydation des lipides et l'évolution des microconstituants

Le traitement mathématique des données obtenues en systèmes modèles, selon différentes approches, a abouti à la mise en place de modèles cinétiques. Un modèle stoechio-cinétique, global présenté dans ce manuscrit pour le milieu aqueux, sera prochainement disponible pour l'ensemble des systèmes modèles. Il permettra d'évaluer quantitativement les interactions entre les différents constituants du modèle émulsionné mimant la sauce tomate. A terme, ce modèle aboutira à la mise au point d'un logiciel prédictif destiné aux industriels de la tomate.

Il leur permettra d'évaluer les pertes en microconstituants au cours de la transformation en fonction des barèmes de température appliqués.

Sans attendre que ce logiciel soit disponible, certaines pratiques qui permettent de limiter les pertes en microconstituants lors des procédés peuvent être évoquées. D'une part, la réduction de la teneur en oxygène au sein des produits limiterait l'oxydation de certains composés, et l'oxydation de l'acide ascorbique en particulier. En effet, cet antioxydant qui est parmi les plus sensibles aux conditions de transformation et de stockage, s'oxyde en présence d'oxygène. Il est possible de concevoir de nouvelles installations et de mettre en place des pratiques limitant la présence de cet oxydant. D'autre part, la présence de tocophérol dans les produits à base de tomate limiterait l'oxydation des lipides et la dégradation d'autres microconstituants antioxydant. Ce composé est présent dans les huiles d'origine végétale, et dans des quantités relativement importantes dans l'huile de tournesol. L'utilisation de cette huile pour la préparation de sauce tomate permettrait ainsi de limiter l'apparition de composés néfastes d'un point de vue nutritionnel.

Au laboratoire, les études en milieux modèles permettent une meilleure compréhension des mécanismes chimiques. Des perspectives sont également envisageables à ce niveau. La validation de ce milieu a montré qu'il modélise correctement une sauce tomate lors d'un traitement thermique. L'essai réalisé pour préparer une sauce tomate réel a toutefois mis en évidence des réactions compétitives comme celle de Maillard au cours du chauffage. Ainsi, l'ajout d'autres constituants de la tomate (sucres, fibres, protéines,...) dans ce milieu modèle peut être envisagé. Cette complexification permettrait d'évaluer des interactions existantes entre différentes voies réactionnelles au sein du produit alimentaire complexe qu'est la sauce tomate.

Publications et communications relatives à ces travaux :

Publications dans des revues à comité de lecture :

Stability of microconstituents during processing: impact on the nutritional quality of tomato.

Céline CHANFORAN, Catherine CARIS-VEYRAT and Claire DUFOUR. 2010. En préparation

Evaluation of the stability of tomato and sunflower oil microconstituents in systems modelling the processing of tomato paste into tomato sauce

Céline CHANFORAN, Catherine CARIS-VEYRAT and Claire DUFOUR. En préparation

Communications orales :

Evaluation of the stability of tomato microconstituents in systems modelling the processing of tomato paste into tomato sauce

Céline CHANFORAN, Catherine CARIS-VEYRAT and Claire DUFOUR. 2009.

3rd International Symposium on Human Health Effects of Fruits and Vegetables (Avignon – France, 18-21/10/2009)

Identification and quantification of carotenoid-derived products in an emulsion modelling the processing of tomato paste into tomato sauce

Céline CHANFORAN, Claire DUFOUR and Catherine CARIS-VEYRAT. 2009.

Tomato, Lycopene and Health Workshop (Avignon – France, 22/10/2009)

Stabilité des microconstituants végétaux (composés phénoïques, caroténoïdes, vitamines) : études en systèmes modèles et application industrielle lors d'un procédé de transformation de la tomate

Céline CHANFORAN. 2009.

Journées doctorales de l'Université d'Avignon (Vaison la Romaine – France, 17 – 18/05/2009). *Prix de la meilleure présentation.*

Communications par voie d'affiche :

REACTIAL PROJECT : Stability of tomato microconstituents, studies in a system modelling tomato sauce and application to industrial tomato processing

Céline CHANFORAN, Catherine CARIS-VEYRAT and Claire DUFOUR. 2008.

Assemblée générale du projet européen Lycocard (Liverpool – England, 03-06/06/2008)
Liverpool)

Impact of the process on tomato antioxidants during preparation of industrial tomato sauce

Céline CHANFORAN, Catherine CARIS-VEYRAT and Claire DUFOUR. 2008.

24th International Conference on Polyphenols (Salamanca – Spain, 8-10/07/2008)

Identification and quantification of carotenoid-derived products in an emulsion modelling the processing of tomato paste in tomato sauce

Céline CHANFORAN, Claire DUFOUR and Catherine CARIS-VEYRAT. 2009.

15th Conference EuroFoodChem – Food for the future (Copenhagen – Denmark, 05-08/07/2009)

Identification and quantification of carotenoid-derived products in an emulsion modelling the processing of tomato paste in tomato sauce

Céline CHANFORAN, Claire DUFOUR and Catherine CARIS-VEYRAT. 2009.

3rd International Symposium on Human Health Effects of Fruits and Vegetables (Avignon – France, 18-21/10/2009)

The processing method of tomato influences the availability of the carotenoids as evaluated through their transfer to the lipid phase of a tomato sauce

David PAGE, Céline CHANFORAN, Maryse REICH, Christian GINIES and Catherine M.G.C. RENARD. 2009.

3rd International Symposium on Human Health Effects of Fruits and Vegetables (Avignon – France, 18-21/10/2009)

Stability of tomato micronutrients in systems modelling the industrial preparation of tomato-based products

Céline CHANFORAN, Catherine CARIS-VEYRAT and Claire DUFOUR. 2008.

25th International Conference on Polyphenols (Montpellier – France, 23-27/08/2010)

Stabilité des microconstituants de la tomate (composés phénoliques, caroténoïdes, vitamines C et E) au cours des procédés de transformation : études en systèmes modèles, mise au point d'un modèle stoechio-cinétique et validation pour l'étape unitaire de préparation de sauce tomate

RESUME - La tomate, fruit largement consommé frais mais aussi sous forme transformée, est reconnue pour ses qualités nutritionnelles. Riche en microconstituants, tels les caroténoïdes (le lycopène en particulier), les composés phénoliques et la vitamine C, sa consommation régulière permettrait de réduire les risques de maladies cardiovasculaires et de certains cancers. Cependant, les traitements thermiques appliqués lors de la préparation industrielle de produits à base de tomate peuvent être à l'origine de réactions chimiques entraînant la dégradation de ces antioxydants. D'autre part, l'ajout d'huile végétale, pour la préparation de la sauce tomate notamment, met en jeu des réactions d'oxydation des lipides pouvant contribuer à l'instabilité de ces microconstituants.

L'objectif principal de cette thèse est la détermination des cinétiques réactionnelles impliquées dans l'évolution des microconstituants de la tomate lors des procédés industriels de transformation.

Dans un premier temps, une étude qualitative et quantitative sur plusieurs produits industriels (concentrés, pulpe, sauces) à base de tomate a été menée afin de déterminer les microconstituants marqueurs de la qualité nutritionnelle: (*E*)-lycopène et (*E*)- β -carotène pour les caroténoïdes, rutine, 7-O-glucosyl-naringénine et acide chlorogénique pour les composés phénoliques ainsi que les vitamines C et E ont été retenus. Cette première étude a permis de déterminer l'impact de procédés industriels sur les teneurs en microconstituants pour des produits collectés en entrée et en sortie de process pour deux usines de la région PACA.

Par la suite, la stabilité des 7 marqueurs sélectionnés a été étudiée dans trois systèmes modèles modélisant la sauce tomate à des températures simulant des conditions de cold et hot breaks. Ces systèmes modèles comprennent un milieu aqueux acide (pH 3,8) contenant de l'amidon, un milieu lipidique constitué d'huile et de phospholipides végétaux et une émulsion H/E (huile dans eau) intégrant ces divers constituants. L'oxydation des lipides et son éventuelle protection par les microconstituants ont été évaluées par détermination de l'évolution des teneurs en diènes conjugués et trilinoléine. Parmi tous les antioxydants, la vitamine C s'est avérée être le moins stable en émulsion comme en milieu aqueux; sa vitesse d'oxydation est influencée par la teneur en oxygène dans le milieu. Les teneurs en composés phénoliques sont peu affectées, même à haute température (95 °C) tandis que les caroténoïdes s'isomérisent rapidement quelles que soient les conditions appliquées. Dans l'émulsion modèle, l'oxydation lipidique est nettement accélérée quand la température s'élève et tous les marqueurs se dégradent plus rapidement qu'en milieu aqueux ou lipidique.

La détermination des constantes de vitesses a été réalisée, soit individuellement pour chaque cinétique, soit par des approches globales (modèle oxydation lipidique et modèle stoechio-cinétique). Ce dernier modèle a pour but de proposer des conditions limitant l'oxydation lipidique et la dégradation des microconstituants de la tomate au cours des procédés.

Stability of tomato microconstituants (phenolic compounds, carotenoids, vitamins C and E) during processing: studies in model systems, development of a stoichio-kinetic model and validation for the unit step of tomato sauce preparation

ABSTRACT - Tomato is a fruit widely consumed either fresh or processed possessing recognized nutritional qualities. Rich in microconstituants like carotenoids (such as lycopene), phenolic compounds and vitamin C, its regular consumption could reduce risks of cardio-vascular diseases and cancers. However, thermal treatments applied during industrial preparation of tomato products may involve various chemical reactions leading to the degradation of these antioxidants. Besides, addition of vegetable oil for the preparation of tomato sauce may lead to lipid oxidation contributing to the microconstituent instability.

The main objective of this thesis is the determination of reaction kinetics for tomato microconstituants during industrial processing.

First, a qualitative and quantitative study on several industrial tomato products (pastes, pulp, sauces) was carried out in order to select markers of the nutritional quality: (*E*)-lycopene and (*E*)- β -carotene for carotenoids, rutin, naringenin-7-O-glucoside and chlorogenic acid for phenolics as well as vitamins C and E. Additionally, an impact of processing was determined for industrial products collected before and after processing in two different plants in the PACA Region. Then, the stability of the selected markers was studied in model systems mimicking tomato sauce at hot and cold break temperatures. For this purpose, three model systems were developed: an aqueous model containing starch, a lipidic model consisting of vegetable oil and phospholipids and an O/W (oil-in-water) emulsion integrating all these constituents. Lipid oxidation and its possible protection by antioxidants were evaluated by the follow-up of conjugated dienes and trilinolein. Among all the antioxidants, vitamin C proved to be the least stable in both the emulsion and aqueous models. Its oxidation rate was found to be oxygen dependent. Phenolic compounds were little affected, even at high temperature (95 °C) whereas carotenoids rapidly isomerised whatever the conditions applied. In the emulsion model, lipid oxidation is clearly accelerated when the temperature increases and all markers are more rapidly degraded than in the aqueous or lipidic model.

Rate constants were determined, either individually for each kinetics, either using global approaches (lipid oxidation model and stoichio-kinetic model). This last model aims at giving process conditions limiting lipid oxidation and microconstituent degradation.

MOTS-CLES : caroténoïdes, composés phénoliques, vitamines C et E, tomate, oxydation lipidique, modélisation chimique, émulsion, modélisation mathématique, procédés