

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche Scientifique



Université 08 Mai 1945 –Guelma-

Faculté des sciences et de l'ingénierie

Département de Chimie

Laboratoire de Chimie Appliquée(LCA)

Mémoire de Magistère

**Recherche des stilbènes et des flavonoïdes
dans diverses variétés de tomate et effet de la
transformation en conserve de tomate sur la
composition chimique de celle-ci.**

Filière : Chimie

Option : Chimie appliquée

Intitulé : Chimie des Hétérocycles et des Substances naturelles

Présenté par : Hammamdia Fatima Zohra

Jury de Soutenance :

<i>Mme H. Amira-Guebailia</i>	<i>MC. à l'université 08 mai 1945-Guelma</i>	<i>Rapporteur</i>
<i>MERDES Rachid</i>	<i>Pr. à l'université 08 mai 1945-Guelma</i>	<i>Président</i>
<i>TEGUICHE Mabrouk</i>	<i>Pr. à l'université 08 mai 1945-Guelma</i>	<i>Examineur</i>
<i>ABDAOUI Mohamed</i>	<i>Pr. à l'université 08 mai 1945-Guelma</i>	<i>Examineur</i>

Année Universitaire 2009-2010

Abréviations utilisées

AcOEt :	Acétate d'éthyle
CCM :	Chromatographie sur couche Mince
CHCl ₃ :	Chloroforme
HPLC :	Chromatographie liquide à Haute performance
MeOH :	Méthanol
P ₁₂	Quercétine
P _{j2}	Quercétine
THF :	Tetrahydrofurane

ملخص

في هذه الدراسة قمنا باستخلاص مركبات بوليفينولية من الطماطم الطازجة، كما تم تحديد تركيز كل من هذه المركبات في العديد من أصناف الطماطم المحلية (الحمراء و الخضراء) طرق الاستخلاص المتبعة في هذه الدراسة هي الطرق الكروماتوغرافية القديمة هذه المركبات تمت معاينتها بالأشعة الطيفية تحت الحمراء.

معايرة المركبات المستخلصة و كذلك بعض المركبات المستخدمة كشواهد (رازفراترول، روتين، حمض الغاليك، حمض الاسكوربيك) تمت في: نوعين من الطماطم الخضراء و نوع واحد من الطماطم الطازجة المزروعة في الحقول نوع من الطماطم الحمراء المزروعة في البيوت البلاستيكية في قشرة الطماطم و في خمس عينات من الطماطم المصبرة (كاب، ازدهار، جودة، محبوبة، فيد). الطريقة المنتهجة للمعايرة هي الكروماتوغرافية السائلة العالية الضغط.

الكلمات الدالة :

الطماطم ، *Lycopersicon esculentu* ، بوليفينولات ، فلافونويدات ، أحماض

فينولية ، HPLC IR,

SAMMURY

In this study, polyphenolic compounds were isolated from fresh tomato and quantified in various varieties of local tomato (red and green). The methods of purification used were: column chromatography and preparative thin layer chromatography (Prep TLC). These compounds were analyzed by using IR spectroscopic method.

The molecules identified as well as other molecules standards (resveratrol, rutin, gallic acid, ascorbic acid) were quantified in two varieties of green tomato and a red variety cultivated in full field, in a ripe variety of tomato cultivated under greenhouse, in the bark of a ripe variety cultivated under greenhouse as well as in five conserved tomato paste samples available in the market (CAB, Izdihar, Jouda, Mahbouba and Fide). Quantification was carried out by the means of an analytical HPLC. The results of quantification showed that two molecules exist in almost all tomato samples studied (fresh tomato or conserved ones): ascorbic acid and rutin. The conserved tomato paste contains more amounts of vitamin C and gallic acid. Resveratrol is present in green tomatoes and in tomato skin. Quercetin was detected only in red tomato.

Key words: tomato, *Lycopersicon esculentum*, Polyphenols, flavonoids, analytical HPLC, IR.

RÉSUMÉ

Dans cette étude, des composés polyphénoliques ont été isolés à partir de la tomate fraîche et quantifiés dans diverses variétés de tomate locale (mûre et verte). Les méthodes de purification utilisées sont: la chromatographie sur colonne et la chromatographie sur couche mince préparative (CCM-prép). Les composés isolés ont été analysés par spectroscopie infrarouge(IR).

Les molécules identifiées ainsi que d'autres molécules standards (resvératrol, rutine, acide gallique, acide ascorbique) ont été dosées dans deux variétés de tomate verte et une variété rouge cultivées en plein champ, dans une variété mûre de tomate cultivée sous serre, dans l'écorce d'une variété mûre cultivée sous serre ainsi que dans cinq échantillons de tomate en conserve disponibles dans le marché (CAB, Izdihar, Jouda, Mahbouba et Fide). Le dosage a été effectué par le moyen d'une HPLC analytique. Les résultats obtenus de dosage par HPLC montrent ; l'existence des deux molécules : acide ascorbique et rutine presque dans tous les échantillons étudiés, de tomate fraîche soient-ils ou de conserve. La tomate de conserve est la plus riche en vitamine C et en acide gallique. Le resvératrol existe dans les tomates vertes ainsi que dans l'écorce de tomate. La quercétine se trouve seulement dans la tomate mûre.

Mots clés: tomate, *Lycopersicon esculentum*, Polyphénols, flavonoïdes, HPLC analytique, IR.

REMERCIEMENTS

Je tiens à exprimer ma gratitude, ma reconnaissance et mes profonds remerciements à ma directrice de recherche Madame Guebailia.Habiba. Je la remercie chaleureusement pour sa confiance, ses conseils précieux et pour le temps qu'elle m'a accordé malgré ses obligations, ses devoirs et ses responsabilités. Je la remercie également pour sa rigueur, sa bonne humeur, sa sympathie et sa modestie.

Mes remerciements les plus respectueux vont au Professeur Merdess. Rachid d'avoir accepté d'être Président du Jury, et aux Professeurs Abdaoui. Muohamed et Teguiiche. Mabrouk qui m'ont fait l'honneur d'être examinateurs de ce travail. Qu'ils trouvent ici l'expression de ma profonde reconnaissance.

Je remercie également madame Bouakaz. Samia pour son aide et ses encouragements.

Un grand merci aussi à tous les membres de ma famille : mes parents, mes trois frères et ma sœur qui m'ont soutenu et encouragé pour poursuivre mes études et réaliser le rêve de la famille.

J'espère n'avoir oublié personne, si c'est le cas je m'en excuse par avance.

Liste des figures

Figures du 1^{er} chapitre

Figure (1.1) : Diffusion de la tomate en Europe et dans le monde.....	5
Figure (1.2): Variété de tomate Green Grape.....	6
Figure (1.3): Variété de tomate Evergreen.....	6
Figure (1.4): Variété de tomate Lime Green Salad.....	7
Figure (1.5): Variété de tomate Thompson Grape.....	7
Figure (1.6): Variété de tomate Roma.....	8
Figure (1.7): Variété de tomate Aroma Red.....	8
Figure (1.8): Variété de tomate King Humbert.....	8
Figure (1.9): Variété de tomate Repreco Paste.....	9
Figure (1.10): Variété de tomate Napoli Pasta.....	9
Figure (1.11) : Variété de tomate Dix Doigts de Naples.....	9
Figure (1.12) : Variété de tomate Marzano Gigante.....	10
Figure (1.13): Variété de tomate Lemon Tree.....	10
Figure (1.14): Variété de tomate Old Yellow Candystriped.....	11
Figure (1.15): Variété de tomate Gele Peer.....	11
Figure (1.16): Variété de tomate Wonderlight.....	12
Figure (1.17): Variété de tomate Marmande Jaune.....	12
Figure (1.18): Variété de tomate Orange King.....	12
Figure (1.19): Variété de tomate Caro Rich.....	13
Figure (1.20): Variété de tomate Orange Banana.....	13
Figure (1.21) : Variété de tomate Jaune Flammé.....	13
Figure (1.22) : Variété de tomate Ida Gold.....	14
Figure (1.23) : Variété de tomate, Tomate olive.....	14
Figure (1.24) : Variété de tomate Japonaise Basse.....	15
Figure (1.25) : Variété de tomate Birdie.....	15
Figure (1.26) : Variété de tomate Millefleur.....	15
Figure (1.27): Variété de tomate Fruty.....	16
Figure (1.28): Variété de tomate Black Cherry.....	16
Figure (1.29): Variété de tomate Black Prince.....	17
Figure (1.30): Variété de tomate De Barro Black.....	17

Figure (1.31): Variété de tomate Black Krim.....	17
Figure (1.32): Variété de tomate White Beauty.....	18
Figure (1.33): Variété de tomate Snowwhite Cherry.....	18
Figure (1.34) : Variété de tomate Garden Peach.....	19
Figure (1.35) : Variété de tomate Poma Amoris Minora Lutea.....	19
Figure (1.36) : Arbrisseau de tomate.....	20
Figure (1.37) : Système racinaire de la tomate.....	20
Figure (1.38) : Feuille de tomate.....	21
Figure (1.39) : Fleur de tomate.....	22

Figures du 2^{ème} chapitre

Figure (2.1) : Les principaux types structuraux de caroténoïdes.....	29
Figure (2.2) : Molécule de canthaxanthine.....	30
Figure (2.3) : Structure chimique de lycopène.....	31
Figure (2.4) : Lycopène pur.....	32
Figure (2.5) : Structure chimique de β -carotène.....	33
Figure (2.6) : Le rétinol et le rétinol.....	34
Figure (2.7) : Différente classes de flavonoïdes.....	35
Figure (2.8) : Structure chimique de la quercétine.....	38
Figure (2.9): Structure chimique de la rutine.....	40
Figure (2.10) Structure chimique du Kaempférol.....	40
Figure (2.11) : Les principaux acides phénoliques	41

Figures du 3^{ème} chapitre

Figure (3.1) : Extraction par solvants.....	52
Figure (3.2): Schéma de principe d'une chaîne HPLC.....	56

Figures du 4^{ème} chapitre

Figure (4.1) : Spectre IR de la quercétine.....	61
Figure (4.2) : Spectre IR du composé PJ ₂	62
Figure (4.3) : Spectre IR du composé P ₁₂	63
Figure (4.4) : Spectre IR du composé (t : 36-46).....	64

Figure (4.5) : Courbe étalon de la quercétine.....	65
Figure (4.6) : Chromatogramme HPLC de la quercétine.....	65
Figure (4.7) : Courbe étalon de la rutine.....	66
Figure (4.8) : Chromatogramme HPLC de la rutine.....	66
Figure (4.9) : Courbe étalon de l'acide gallique.....	67
Figure (4.10) : Chromatogramme HPLC de l'acide gallique.....	67
Figure (4.11) : Courbe étalon du resvératrol.....	68
Figure (4.12) : Chromatogramme HPLC du trans resvératrol.....	68
Figure (4.13) : Courbe étalon de l'acide ascorbique.....	69
Figure (4.14) : Chromatogramme HPLC de l'acide ascorbique.....	69
Figure (4.15) : Chromatogramme HPLC de TV1.....	70
Figure (4.16) : Chromatogramme HPLC de TV2.....	70
Figure (4.17) : Chromatogramme HPLC de la tomate mûre de serre.....	71
Figure (4.18) : Chromatogramme HPLC de l'écorce de tomate.....	71
Figure (4.19) : Chromatogramme HPLC de l'écorce de tomate + resvératrol.....	72
Figure (4.20) : Chromatogramme HPLC de l'écorce de tomate (détection du resvératrol).....	73
Figure (4.21) : Chromatogramme HPLC du resvératrol (nouveau gradient).....	73
Figure (4.22) : Chromatogramme HPLC de la tomate mûre quitta.....	74
Figure (4.23) : Chromatogramme HPLC de TC1.....	74
Figure (4.24) : Chromatogramme HPLC de TC2.....	75
Figure (4.25) : Chromatogramme HPLC de TC3.....	75
Figure (4.26) : Chromatogramme HPLC de TC3 (détection de l'acide gallique).....	76
Figure (4.27) : Chromatogramme HPLC de l'acide gallique.....	76
Figure (4.28) : Chromatogramme HPLC de TC3+ l'acide gallique.....	77
Figure (4.29) : Chromatogramme HPLC de TC4.....	77
Figure (4.30) : Chromatogramme HPLC de TC5.....	78

Liste des tableaux

Tableau 1.1 : Composition de fruit vert et mûr de tomate.....	23
Tableau 1.2 : Teneur en vitamine de fruit vert et mûr de tomate.....	24
Tableau 2.1 : Teneur en lycopène dans différents produits transformés à base de tomate....	32
Tableau 2.2 : Exemples sur les génines.....	36
Tableau 3.1 Les éluants de la colonne.....	54
Tableau 3.2 : Regroupements des fractions de la colonne.....	55
Tableau 3.3 : Gradient HPLC analytique.....	58
Tableau 4.1 : Concentrations des molécules standards dans les divers échantillons de tomate étudiés	79

SOMMAIRE

Chapitre I : Variétés de tomate et composés non polyphénolique

1	La tomate.....	3
1.1	Histoire de la tomate.....	3
➤	<i>Origines</i>	3
➤	<i>Diffusion de la tomate en Europe et dans le monde</i>	3
1.2	Taxinomie.....	5
1.3	Classification.....	5
1.4	Variétés de tomate.....	6
1.4.1	Variétés vertes.....	6
1.4.2	Variétés Italienne (rouges).....	7
1.4.3	Variétés Jaunes et Oranges.....	10
1.4.4	Variétés Petites et Raffinées.....	14
1.4.5	Variétés Noires	16
1.4.6	Variétés blanches.....	18
1.5	Description.....	19
➤	Le système racinaire.....	20
➤	La tige.....	20
➤	Les feuilles.....	21
➤	La graine.....	21
➤	La fleur.....	21
➤	Le fruit.....	22
1.6	Composition et valeur nutritive	23

1.7 Utilisation.....	24
a) Dans la cuisine.....	24
b) Dans l'industrie.....	25
c) Dans la santé.....	25
1.8 Les ennemis de la tomate.....	25
Références bibliographique du 1 ^{er} chapitre.....	27

Chapitre II : Composés biologiquement actifs de la tomate

2.1. Caroténoïdes	28
2.1.1 Sources de caroténoïdes.....	29
2.1.2 Utilisation.....	30
2.1.3 Stabilité des caroténoïdes vis-à-vis les processus de transformation	30
2.1.4 Les caroténoïdes majeurs de la tomate.....	31
2.1.4.1 Le lycopène	31
a) Sources alimentaires.....	32
b) Activités biologiques.....	33
2.1.4.2 Le β -carotène.....	33
a) Sources alimentaires.....	34
b) Activités biologique.....	34
2.2 Les flavonoïdes.....	35
2.2.1 Structure Chimique et Classification	36
2.2.1.1 Les génines.....	36
2.2.1.2 Les hétérosides	37

a) O-hétérosides	37
b) C-Hétérosides (C- glycosylflavonoïdes)	37
2.2. 2 Rôle Ecologique	37
2.2.3 Flavonoïdes dans la tomate.....	38
2.2.3.1 La quercétine.....	38
a) Distribution	39
b) Propriétés.....	39
c) Activités biologiques.....	39
2.2.3.2 la rutine.....	39
a) Distribution.....	40
b) Propriétés.....	40
2.2.3.3 Le kaempférol.....	40
a) Propriétés.....	41
2.3. Les Acides phénols.....	41
2.3.1 Les acides phénols dans la tomate.....	42
2.3.1.1 L'acide caféique.....	42
2.3.1.2 L'acide para-coumarique	42
2.3.1.3 L'acide férulique.....	43
Références du 2ème chapitre.....	44

Chapitre III : Matériels et Méthodes

3.1 Préparation des solutions utilisées.....	45
3.2 Solvants.....	45
3.2.1 Propriétés des solvants utilisés.....	45

➤ Méthanol (CH ₃ OH)	45
➤ Trichlorométhane (chloroforme).....	45
➤ Ether de pétrole.....	46
➤ Acétate D'éthyle.....	46
3.2.2 Matériel de laboratoire.....	46
3.3. Méthodes.....	47
3.3.1 Chromatographie sur colonne.....	47
3.3.1.1 Description et principe.....	47
3.3.1.2 Facteurs dont dépend la séparation.....	47
3.3.1.3 Remplissage de la colonne.....	49
a) Remplissage par voie humide.....	49
b) Remplissage par voie sèche.....	49
3.3.1.4 Dépôt des produits à analyser.....	50
3.3.1.5 Elution.....	50
3.3.2 La chromatographie sur couche mince préparative.....	50
3.4 Protocole de recherche.....	51
3.4.1 Choix de la tomate.....	51
3.4.2 Préparation des échantillons.....	51
3.4.3 Extraction des métabolites secondaires.....	51
3.4.3.1 Macération.....	52
3.4.3.2 Extraction par solvants.....	52
3.4.4 Purification des polyphénols.....	53

3.4.4.1 Chromatographie sur colonne.....	53
3.4.4.2 Chromatographie sur couches minces préparatives.....	54
3.5 Dosage des polyphénols.....	56
3.5.1 Solvants utilisés.....	57
3.5.2 Préparation des échantillons.....	57
a- Préparation des échantillons de tomate fraîche.....	57
b- préparation des échantillons de tomate de conserve.....	57
c- Préparation de l'écorce de tomate.....	57
3.5.3 Injection	57
3.5.3.1 Échantillons de tomate étudiés.....	57
3.5.3.2 Standards.....	58
3.5.3.3 Préparation des gammes étalons.....	58
3.5.3.4 Gradient.....	58
3.5.4 Intégration.....	58
Références du 3ème chapitre.....	60

Chapitre IV : Résultats et discussion

4.1 Caractérisation des composés isolés de la tomate.....	61
4.1.1 Interprétation des spectres IR.....	61
a) Spectre IR de la quercétine.....	61
b) Spectre IR du composé PJ ₂	61
c) Spectre IR du composé P ₁₂	63
d) Spectre IR du composé (t : 36-46).....	64

4.2 Dosage des molécules standards dans diverses variétés de tomate et dans les conserves de tomate.....	64
4.2.1 Quercétine.....	65
4.2.2 Rutine.....	66
4.2.3 Acide gallique.....	67
4.2.4 Resvératrol.....	68
4.2.4 Acide ascorbique.....	69
4.3 Les Chromatogrammes HPLC des échantillons dosés.....	70
4.4 Concentrations des molécules standards dans les divers échantillons de tomate étudiés.....	79
4.5 Discussion	80
Conclusion.....	82

INTRODUCTION

Des études épidémiologiques récentes suggèrent que la forte consommation de fruits et de légumes est associée à la réduction du risque de maladies cardiovasculaires et à la prévention de plusieurs types de cancers¹.

Les effets bénéfiques des légumes et des fruits ou de leurs extraits sur la santé humaine, observés lors d'études *in vitro*, sont également attribués aux produits naturels tels que les vitamines (Vitamine C, antioxydant), les caroténoïdes, les phyto-estrogènes et les polyphénols². Les plus communs parmi les polyphénols sont les acides hydroxycinnamiques, les flavonoïdes et les anthocyanes. La plupart des flavonoïdes existant dans les plantes sont conjugués avec des sucres, des pectines, des acides organiques ou sont sous forme de polymères. Les polyphénols sont largement distribués dans le règne végétal.

L'objectif du travail entrepris dans le cadre de ce mémoire de Magister est de connaître la teneur de certains composés polyphénoliques (Flavonoïdes, acides phénols, et un stilbène, le resvératrol) dans l'un des légumes les plus consommés à travers le monde ; la tomate (fraîche ainsi que les tomates de conserve).

La première partie de ce travail concerne la chromatographie préparative. Deux variétés de tomate fraîche (verte et rouge) ont été récoltées de la région de (Belkhir) et ont été soumises à l'extraction et à la purification par chromatographie sur colonne et chromatographie sur couche mince préparative en vue de purifier des polyphénols majoritaires de la tomate. Deux molécules appartenant à la famille des flavonoïdes ont été purifiées et leurs structures ont été analysées par IR.

La deuxième partie de ce travail de mémoire consiste à chercher ces deux molécules en plus d'autres molécules dont nous possédons les standards (acides phénols : acide gallique, caféique et p-coumarique, un stilbène : le resvératrol), d'une part dans d'autres variétés de tomates fraîches de saison et de serre de différentes régions et de l'autre part dans des tomates de conserve de différentes marques disponibles dans le marché. Ce travail a été réalisé au moyen d'une technique HPLC analytique sur une Shimadzu avec une colonne RP-C18, en mode dual.

Le but de ce travail est de connaître le taux de molécules ayant un intérêt biologique (autres que les vitamines et oligo-éléments longuement investigués) dans un produit de consommation courante qui est la tomate. En plus, on voulait savoir l'effet de la transformation en conserve de tomate, sur sa composition chimique, côté polyphénols. Le fait de prendre des échantillons de différentes régions rend possible l'investigation des facteurs climat, nature du sol et l'utilisation ou non des engrais, sur la composition chimique de la tomate.

. Ce mémoire contient 4 chapitres :

Le premier chapitre est consacré à la présentation des diverses variétés de tomate qui existent dans le monde, ainsi que leurs composés naturels non polyphénolique.

Le chapitre 2 est consacré aux composés biologiquement actifs de la tomate, leur structure et leurs effets biologiques.

Dans le troisième chapitre, nous présentons le matériel et les méthodes utilisés dans ce travail.

Les résultats et les discussions seront présentés au chapitre 4.

Nous finirons par une conclusion.

Références

1. Craig .W. Hadley, Steven J. Schwartz, and Steven K. Clinton, Tomato-Based Beverages, *journal of Beverages in nutrition and health*, éd Humana Press Inc. 2003.

2. H. Amira-Guebailia, *Polyphénols des sarments et des rafles de vigne et de vin, purification, dosage et activités biologiques*, Université de Annaba. 2006.

1. LA TOMATE

1.1 Histoire de la tomate

➤ *Origines*

La tomate est originaire des régions andines côtières du nord-ouest de l'Amérique du Sud (Colombie, Équateur, Pérou, nord du Chili). C'est en effet seulement dans ces régions qu'on a retrouvé des plantes spontanées de diverses espèces de l'ancien genre *Lycopersicon*, notamment *Solanum lycopersicum cerasiforme*, la tomate cerise. Cette dernière est actuellement répandue dans toutes les régions tropicales du globe mais il s'agit d'introductions récentes.

La première domestication de la tomate à gros fruits est vraisemblablement intervenue dans le Mexique actuel. Cette domestication s'est probablement produite après celle de la coquerelle (*Physalis philadelphica*)¹, mais sa culture s'est marginalisée par la suite. L'hypothèse d'une domestication parallèle au Pérou ne peut toutefois être définitivement écartée.

On ne sait pas comment la tomate a migré du Pérou au Mexique, peut-être par le truchement (l'intermédiaire) d'oiseaux migrants.

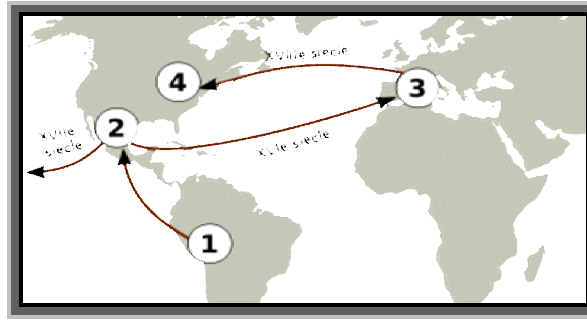
➤ *Diffusion de la tomate en Europe et dans le monde*

Les Italiens furent les premiers en Europe à utiliser les tomates en cuisine. L'Italie possède le climat idéal pour cette culture et vers la fin du XVIe siècle, un mélange salé et poivré de tomate et d'olives cuites devint un plat populaire dans toute la péninsule. La méfiance des Anglais et des Français persista nettement plus longtemps. Assez répandue dans les jardins botaniques, la plante ne devait cette popularité qu'à la curiosité qu'elle éveillait en tant que phénomène botanique étonnant. Les immigrants partis peupler le Nouveau Monde (Amérique) y emmenèrent également leurs préjugés, la réputation simultanément aphrodisiaque et toxique de la tomate ne lui laissait aucune chance. Le Garden Book, livre de jardinage de Thomas Jefferson publié en 1781, mentionne la

tomate en tant que « légume à part entière » mais la majorité de la population s'en tenait à l'appréciation de « fruit diabolique ».

C'est un Américain excentrique, le colonel Robert Gibbon Johnson qui, lassé des préjugés contre la tomate, décida de frapper un grand coup. Le 26 septembre 1820, il s'installa sur les marches du palais de justice de Salem (New Jersey) dans la ferme et décida de manger en public tout un panier de tomates. Plus de deux mille personnes se rassemblèrent pour assister à l'évènement, curieux de voir si, comme le prétendait son médecin personnel, la consommation des fruits allait provoquer l'empoisonnement du colonel. Tandis que celui-ci dégustait avec un plaisir manifeste toutes les tomates du panier, les badauds guettaient l'apparition des symptômes décrits par le médecin: écume aux lèvres, appendicite aiguë, hausse de tension et fièvre. Rien de tel ne se produisit et après avoir éliminé ainsi les préjugés contre les tomates, le colonel vécut jusqu'à l'âge respectable de 76 ans.

En 1820, la Landreth Seed Company proposa les premières semences de tomate et c'est au travers de milliers de petits jardins potagers que leur popularité a grandi. Soutenu par toute une série de qualités positives (la tomate fut utilisée contre l'indigestion, la diarrhée, les maladies du foie et comme remède préventif contre le choléra), son succès fut irrésistible. Vers 1850, des touristes anglais se plaignirent de l'omniprésence des tomates dans la cuisine Américaine. Les capacités de conservation de la tomate fraîche ne sont sans doute pas sans influence sur les raisons de cette utilisation intensive. La créativité et l'esprit d'invention caractéristiques du Nouveau Monde ont élargi l'emploi de la tomate. C'est aux États-Unis que furent inventées, entre autres, les tomates en conserve, le premier ketchup et les célèbres soupes Campbell. Peu à peu la tomate est également devenue populaire en Europe et ailleurs pour être aujourd'hui le légume fruit le plus consommé au monde².



1. Pérou : centre de diversification.
2. Mexique : premier centre de domestication.
3. Europe : deuxième centre de domestication.
4. États-Unis : troisième centre de domestication.

Figure (1.1) : Diffusion de la tomate en Europe et dans le monde

1.2 Taxinomie

Ce sont les Espagnols qui ont répandu la tomate sous son nom actuel, qui provient de « tomatl » en langue Nahuatl (peuple Nahuatl) du Mexique, désignant en fait *Physalis philadelphica*. Le nom italien de « pomodoro » tire probablement son origine des premières introductions arrivées, en Italie qui produisaient des fruits jaunes.

Les botanistes attribuèrent différents noms à la tomate : *Solanum lycopersicum*, *S. esculentum*, *Lycopersicon lycopersicum* ; c'est finalement *L. esculentum*, attribué par Miller en 1754, qui a été retenu³.

En effet, on retrouve le nom de tomate dans de nombreuses langues avec de faibles variations phonétiques et orthographiques. On a ainsi dans les langues européennes : *tomato* en anglais, *tomate* en allemand, espagnol, français et portugais, *tomat* en danois, norvégien, suédois et estonien, *tomaat* en néerlandais, à l'exception notable de l'italien *pomodoro*⁴, en arabe *بندوره* ou *طماطم*.

1.3 Classification

Règne : Plantae (Plantes) / section : Angiospermae (Angiospermes) / classe : Dicotyledoneae (dicotylédones) / sous-classe : Sympetalae (aux pétales unis) / ordre :

Solanaceae / genre : Lycopersicon / espèce : esculentum².

1.4 Variétés de tomate

Les tomates sont très populaires, on les cultive de la Sibérie aux régions tropicales. Cette grande diffusion a donné naissance à des milliers de variétés, chacune ayant ses caractéristiques propres. On dénote sept couleurs de tomates différentes, dont la taille peut varier d'à peine 0,5 cm à de grands fruits pesant plus d'un kilo. La combinaison de toutes ces variantes crée une incroyable palette de diversités².

1.4.1 Variétés vertes

Cette couleur est souvent associée à l'idée de fruit immature et insipide. Pourtant, les variétés de tomates qui restent vertes, ne diffèrent de leurs congénères que par la couleur. Elles commencent avec une couleur gris-vert qui passe à un délicat jaune-vert avec la maturité.

- **Green Grape** : pas trop grande, d'un diamètre moyen de 3 cm. Productivité un peu faible mais une jolie forme et un goût divin. Peut former des grappes entièrement mûres. Grimpante ou buissonnante sans ébourgeonnage. À cultiver de préférence sous serre.



Figure (1.2) : Variété de tomate Green Grape

- **Evergreen** : la plus grande des variétés de tomates vertes. Fruit large et charnu, tardif, à saveur sucrée. Bien adaptée à la culture sous serre. Mûrit en septembre. Productivité moyenne.

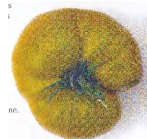


Figure (1.3) : Variété de tomate Evergreen

- **Lime Green Salad** : un port compact avec des feuilles recourbées et rugueuses. Fruits précoces, de taille moyenne. Bien adaptée à la culture en pleine terre et parfaite pour la culture en pot.



Figure (1.4) : Variété de tomate Lime Green Salad

- **Thompson Grape** : une variante de la « Green Grape »; les grappes sont un peu plus grandes avec des fruits aux formes plus irrégulières. Grimpante sous serre. Saveur très fruitée.



Figure (1.5) : Variété de tomate Thompson Grape

1.4.2 Variétés Italiennes (rouges)

Toutes les tomates italiennes semblent avoir la même forme allongée typique, mais le pays de la pizza et des pâtes recèle une tradition riche de variétés très diverses qui restent toutes cependant farouchement fidèles au rouge.

- **Roma** : probablement la plus connue de toutes. Plante d' hauteur moyenne avec une bonne productivité et un goût raffiné. Populaire à juste titre. Sa culture à l'extérieur demande une protection dans les régions où le climat est moins favorable.



Figure (1.6): Variété de tomate Roma

- ***Aroma Red*** : une des nombreuses améliorations de la Roma, récolte un peu plus abondante et goût un peu plus prononcé. Plante de hauteur moyenne.



Figure (1.7) : Variété de tomate Aroma Red

- ***King Humbert*** : une des variétés les plus anciennes, très souvent mentionnée. Plante petite et productive. Idéale pour les sauces. Culture sous serre ou sous abri.



Figure (1.8) : Variété de tomate King Humbert

- ***Repreco Paste*** : les milliers d'émigrants italiens ont évidemment produit de

nouvelles variétés, comme cette Repreco Paste très productive et dont le fruit est un peu plus juteux. Très utilisé aussi bien en sauce qu'en salade.



Figure (1.9) : Variété de tomate Repreco Paste

- **Napoli Pasta** : chaque région, ville ou village d'Italie possède sa propre variété. C'est le nom qui en révèle l'origine et l'utilisation.

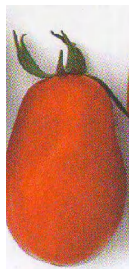


Figure (1.10) : Variété de tomate Napolis Pasta

- **Dix Doigts de Naples** : malgré son nom français, il s'agit de la plus Italienne des variétés de type oblong. Extra longue, très ferme, extra productive. Un peu plus exigeante en ce qui concerne la richesse de la terre et la température, elle produit de magnifiques grappes de sept à douze fruits en forme de doigts.



Figure (1.11) : Variété de tomate Dix Doigts de Naples

- **Marzano Gigante** : la 'San Marzano' est aussi réputée que la 'Roma', Cette géante produit des fruits plus volumineux sur un plant plus robuste et plus important.



Figure (1.12) : Variété de tomate Marzano Gigante

1.4.3 Variétés Jaunes et Oranges

Deux couleurs, qui tout en se rapprochant du rouge classique, font pourtant l'originalité de ces tomates singulières. La tomate jaune est moelleuse et un peu moins sucrée, la tomate orange est fruitée, juteuse et délicieuse. Ces variétés sont en général plus fruitées et plus sucrées que les variétés classiques, elles sont très appréciées pour la préparation de salades.

- **Lemon Tree** : plante productive, grandes grappes aux fruits moyens. Saveur fraîche, sucrée et fruitée. Grimpante. Culture sous serre.



Figure (1.13) : Variété de tomate Lemon Tree

- **Old Yellow Candystriped** : forte croissance, fruits moyens et plats, parfois avec une rayure rose. Saveur fruitée et légèrement acide. Grimpante. Culture sous serre.

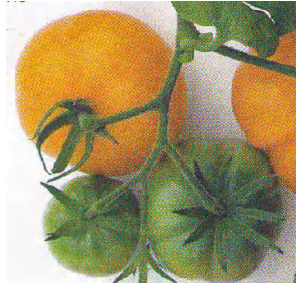


Figure (1.14): Variété de tomate Old Yellow Candystriped

- **Gele Peer** : (variante) les petites variétés en forme de poire ne sont pas toujours stables et donnent souvent des plantes avec des fruits aux formes inattendues. Cette variété aux fruits dont la forme s'apparente à une larme est plus productive que la « Gele Peer» originale. Récolte à mi-saison, grimpante, bonne productivité.



Figure (1.15) : Variété de tomate Gele Peer

- **Wonderlight** : tomates d'un jaune vif étonnant, une saveur sucrée et savoureuse, récolte à mi-saison, grimpante, uniquement sous serre.



Figure (1.16) : Variété de tomate Wonderlight

- **Marmande Jaune** : une version jaune clair de la classique Marmande française. Très productive. Juteuse et sucrée. Récolte précoce ou à mi-saison. Variété Grimpante de hauteur moyenne.



Figure (1.17) : Variété de tomate Marmande Jaune

- **Orange King** : de grands fruits larges et plats d'une belle couleur orange. Agréable saveur sucrée. Productivité moyenne. Récolte à la mi-saison ou tardive. Grimpante.



Figure (1.18) : Variété de tomate Orange King

- **Caro Rich** : la tomate orange la plus connue. Sa couleur orange vif trahit la haute teneur en carotène. Goût excellent. Récolte à la mi-saison; moyennement productive. Grimpante sous serre. « Caro Rich » et « Carotina » contiennent dix

fois plus de carotène qu'une tomate ordinaire.



Figure (1.19) : Variété de tomate Caro Rich

- **Orange Banana** : une des plus belles tomates couleur abricot. Belle forme ovale. Consistance moelleuse et fruitée et très juteuse. Grimpante, productive. Récolte à la mi-saison.



Figure (1.20) : Variété de tomate Orange Banana

- **Jaune Flammé**: tomate précoce d'origine française pour culture sous serre. Remarquablement productive, très juteuse et fruitée. Grimpante.
-



Figure (1.21) : Variété de tomate Jaune Flammé

- **Ida Gold** : Forme buissonnante désordonnée. Variété pouvant être plantée en

rangées à un écartement de 30 cm. Récolte de fruits mûrs dès le mois de juillet.
Fruits sucrés acidulés de 4 à 5 cm.



Figure (1.22) : Variété de tomate Ida Gold

1.4.4 Variétés Petites et Raffinées :

Ces tomates bénéficient aujourd'hui d'un immense succès. Le choix est large. On remarquera particulièrement les tomates groseille ou pimpinellifolias assez primitives et désordonnées qui donnent des centaines de fruits minuscules. Sous serre, leur croissance est impressionnante et elles produisent des grappes portant des centaines de fruits. Les variétés plus compactes sont idéales pour la culture sur un balcon ou sur une terrasse.

- **Tomate olive** : un buisson amusant à croissance vigoureuse. Peu d'entretien, il suffit de le laisser pousser dans le jardin le long d'un grillage. Grande résistance à la pluie. Excellente productivité. Des petits fruits ovales et juteux, à déguster sans modération.



Figure (1.23) : Variété de tomate, tomate olive

- **Japonaise Basse**: petit buisson compact, parfait pour la culture en pot. Chair ferme à saveur sucrée. Bonne croissance. Variété précoce pour la culture en pleine

terre².



Figure (1.24) : Variété de tomate Japonaise Basse

- **Birdie** : Des buissons super compacts adaptés à la culture en petits pots, bacs ou petits paniers suspendus. Fruits jaunes et sucrés. Espèce précoce en plein champ.

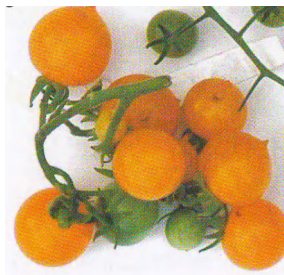


Figure (1.25) : Variété de tomate Birdie

- **Millefleur** : grappes rassemblant de petits fruits jaunes et succulents. Croissance vigoureuse. Variété très productive à récolter à la mi-saison. Grimpante, culture sous serre.



Figure (1.26) : Variété de tomate Millefleur

- **Fruty** : goût moins prononcé que les tomates cerise fines et sucrées. Variété précoce et productive. Belles grappes mûrissant intégralement. Variété grimpante.



Figure (1.27) : Variété de tomate Fruty

1.4.5 Variétés Noires

Le noir des tomates noires est évidemment relatif, bien qu'elles soient vraiment très foncées. Tous ces fruits « noirs », petits ou grands, possèdent un arôme spécifique et un goût très riche que chacun appréciera. Leur couleur foncée en fait la parfaite alliée de recettes aux couleurs sombres, de sauces et de potages riches ou, évidemment, de salades originales.

- **Black Cherry** : plante, très productive, chargée de belles grappes de tomates cerise. Variété grimpante, culture sous serre.

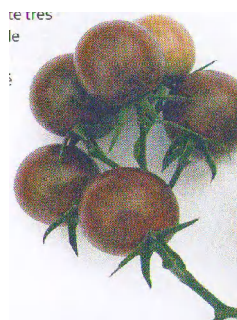


Figure (1.28) : Variété de tomate Black Cherry

- **Black Prince** : la tomate noire standard. Belle et productive. Fruits de calibre

moyen sur des grappes peu volumineuses. Un goût parfait. Récolte à la mi-saison.

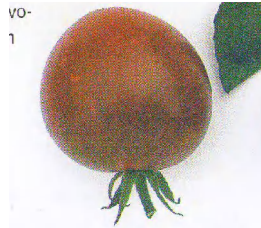


Figure (1.29) : Variété de tomate Black Prince

- **De Barro Black** : forte croissance jusqu'aux premières gelées. Fruits en forme de prunes, de couleur rouge-marron, goût raffiné et abondante productivité.



Figure (1.30) : Variété de tomate De Barro Black

- **Black Krim** : Cette variété foncée et originale fera le bonheur des amateurs de fruits volumineux. Culture sous serre. Les fruits ne sont pas nombreux mais leur goût et leur arôme sont plus prononcés que ceux des variétés noires à fruits plus petits.

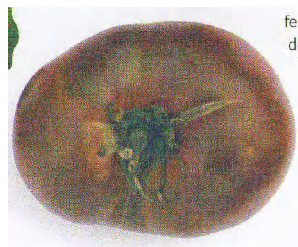


Figure (1.31) : Variété de tomate Black Krim

1.4.6 Variétés blanches

Les tomates blanches complètent l'éventail du kaléidoscope. Plutôt que blanches, certains les qualifient d'incolores. Leur goût est aussi raffiné que la teinte des fruits. Cette douceur permet des combinaisons habiles avec d'autres saveurs plus corsées dont elles prennent facilement le goût dans un plat².

- **White Beauty** : un nom séducteur pour une variété magnifique. De grands fruits plats, profondément incisés. Récolte tardive à partir de fin août. À cultiver uniquement sous serre.



Figure (1.32): Variété de tomate White Beauty

- **Snowwhite Cherry**: Petites tomates cerises. Variété très productive. Goût agréable et fin. À cultiver sous serre.



Figure (1.33): Variété de tomate Snowwhite Cherry

- ***Garden Peach*** : Une tomate étonnante en forme de pêche. La peau est mate et velue. Arrivée à pleine maturité, elle prend une teinte jaune légèrement rosée.

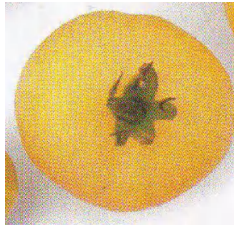


Figure (1.34) : Variété de tomate Garden Peach

- ***Poma Amoris Minora Lutea***: Une ancienne variété Italienne dont l'origine remonte au début du XVIIe siècle. Transparente, jaune clair et ronde. Succulente.

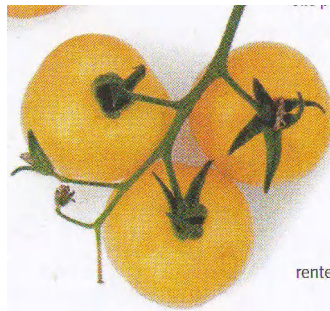


Figure (1.35) : Variété de tomate Poma Amoris Minora Lutea

1.5 Description

La tomate est une plante herbacée annuelle à port rampant, aux tiges ramifiées. Il existe trois ports : retombant, semi retombant et horizontal. De nos jours, il est difficile de déterminer la taille de la tomate puisqu'on utilise exclusivement des hybrides à croissance indéterminée. Il est nécessaire de les palisser car la tige est très peu ligneuse et a une section creuse. Pour palisser, on entoure un lien autour de la tige, lien que l'on accroche à un support ou à une bobine reliée à la charpente de la serre^{5,6}.



Figure (1.36) : Arbrisseau de tomate

➤ **Le système racinaire**

Chez la tomate, le système racinaire est très puissant et ramifié sur les trente premiers centimètres; les racines sont très nombreuses et ramifiées. On dit que ce système racinaire est pivotant.



Figure (1.37) : Système racinaire de la tomate

➤ **La tige**

Elle est poilue, épaisse aux entre-nœuds. On trouve deux sortes de poils sur la tige et les feuilles : des poils simples et des poils glanduleux qui contiennent une huile essentielle, qui donne l'odeur de la tomate et la coloration verte.

➤ **Les feuilles**

Indispensables pour la photosynthèse. Elles sont persistantes. Les vieilles feuilles perdent leur pouvoir photosynthétique et deviennent même nuisibles pour la plante, responsables du retard de croissance des fruits. Les professionnels les coupent, ce qui est problématique en main-d'œuvre puisque cette opération doit se renouveler toutes les semaines (feuilles au-dessus des prochains fruits à récolter). Les feuilles sont composées, de 5 à 7 folioles et sont alternes sur la tige.



Figure (1.38) : Feuille de tomate

➤ **La graine**

La graine est petite (250 à 350 graines par gramme) et poilue ; sa germination est épigée. Après le stade cotylédonaire, la plante produit de 7 à 14 feuilles composées avant de fleurir.

➤ **La fleur**

La fleur est hermaphrodite. Le pistil est entouré d'un cône de 5 à 7 étamines à déhiscence introrse et longitudinale. Les fleurs, à corolles soudées en forme d'étoile à cinq pointes sont jaune vif. Elles sont réunies en cymes et s'épanouissent de fin mai à septembre⁵.



Figure (1.39) : Fleur de tomate

- Chez les variétés à port indéterminé, chaque bouquet floral est séparé par 3 feuilles et la plante peut croître ainsi indéfiniment.
- Chez les variétés à port déterminé, les inflorescences sont séparées par deux feuilles, puis une feuille, avant de se retrouver en position terminale sur la tige.

D'un point de vue anatomique, la fleur de la tomate comprend 5 sépales, 5 pétales, 5 étamines et 2 carpelles.

➤ **Le fruit**

Les fruits charnus sont des baies à 2 ou 3 loges, à graines très nombreuses, de taille, de forme et de couleur très variées :

- la taille va de quelques grammes (tomate groseille) à près de 2 kg ;
- la forme est généralement sphérique, plus ou moins aplatie, plus ou moins côtelée, mais il en existe en forme de cœur ou de poire.
- la couleur, d'abord verte, vire généralement au rouge à maturité, mais il en existe des blanches, des jaunes, des noires, des roses, des vertes, des violettes, des oranges et des bicolores.

1.6 Composition et valeur nutritive

La tomate est un aliment diététique, très riche en eau (93 à 95 %) et très pauvre en calories (18 à 20 kcal pour 100 grammes), riche en éléments minéraux et en vitamines. Les glucides, sont constitués principalement de fructose et de glucose.

Les sels minéraux, dont la teneur dépend aussi du sol et des apports d'engrais, sont composés pour moitié de potassium, environ 210 mg pour 100 g de tomate (Tableau 1.1)

Tableau 1.1 composition de fruit vert et mûr de tomate

Tableau 1.1		
Constituants	mûrs	verts
	%	
L'eau	94	93
Graisse	0.2	0.2
	(quantité par 100 g)	
Protéine, g	0.9	1.2
Hydrates de carbone, g	4.3	5.1
Fibre, g	0.8	0.5
Fer, g	0.5	0.5
Calcium, mg	7	13
Phosphore, mg	23	28
Sodium, mg	8	13
Potassium, mg	207	204

La tomate contient plusieurs vitamines hydrosolubles dont la principale est la vitamine C (Acide ascorbique). La teneur, de 20 à 40 mg/100g, dans la tomate crue est fortement réduite dans la tomate cuite (environ 16 mg). La teneur en vitamines est montrée dans le (Tableau 1.2)⁷.

Tableau 1.2 Teneur en vitamine de fruit vert et mûr de tomate

quantité par 100 g		
Vitamines	Mûr	vert
Vitamine A (UI)	642	1133
	mg	
Vitamine B ₁	0.06	0.06
Vitamine B ₂	0.04	0.05
Niacine	0.50	0.60
Vitamine C	23	40
Vitamine B ₆	0.05	0.38
Note: IU, unités internationales.		

1.7 Utilisation

b) Dans la cuisine

La tomate (le fruit) tient une place importante dans l'alimentation humaine. C'est un légume qui se consomme soit cru, en salade, souvent en mélange avec d'autres ingrédients, ou en jus, soit cuit dans d'innombrables préparations culinaires, et qui se prépare à partir de produits frais ou transformés industriellement en conserves sous forme de purée, de concentré, de sauces et de plats préparés.

Crue, la tomate peut se manger nature à la croque au sel, mais elle entre le plus souvent dans la composition de salades simples ou composées

Cuite, la tomate se prépare de diverses manières : sautée, farcie, en sauce... C'est aussi un ingrédient de diverses sauces. Les tomates vertes ou incomplètement mûres peuvent servir à la confection de confiture, ce qui est une manière d'utiliser les tomates cueillies en fin de saison qui ne peuvent atteindre une maturité complète⁸.

b) Dans l'industrie

La tomate fait l'objet d'une importante industrie de transformation, qui fournit au consommateur des tomates séchées, des tomates pelées en boîte, du coulis de tomate, du concentré de tomate (simple ou « double » et même triple concentration), des sauces (dont la sauce tomate, les sauces aigres-douces et le ketchup)... et une boisson saine, le jus de tomate.

c) Dans la santé

La tomate aurait un usage traditionnel de phytothérapie notamment grâce à sa teneur en lycopène et en pigments caroténoïdes antioxydants (cf. chapitre 2 pour plus de détails).

1.8 Les ennemis de la tomate

Les cultures de tomates peuvent être affectées par diverses attaques de ravageurs (insectes, acariens, nématodes, etc.) et de maladies bactériennes ou virales.

Les ravageurs et les maladies de la tomate sont souvent communs à d'autres espèces de *Solanacées* cultivées, comme l'aubergine ou le tabac.

Les principaux ravageurs de la tomate sont des insectes, en particulier thrips, aleurodes, pucerons, noctuelles et mouches mineuses, ainsi que des acariens et des nématodes.

Les principales maladies bactériennes sont, Le chancre bactérien de la tomate qui est dû à une bactérie connue sous le nom de *Corynebacterium michiganense*. Les symptômes en serre sont une marbrure du fruit et un flétrissement du feuillage⁴.

Le flétrissement bactérien dû à *Ralstonia solanacearum* est la maladie la plus importante en zone tropicale.

Les principales maladies virales sont :

La mosaïque du tabac, qui malgré son nom, touche plus souvent les cultures de tomates, le virus qui en est responsable est connu sous le nom TMV (*Tobacco mosaic virus*).

La maladie des feuilles jaunes de la tomate, dû au virus TYLCV (*Tomato Yellow Leaf-Curl Virus*).

La « maladie filiforme », produite par le virus de la mosaïque du concombre, CMV (*Cumcumber Mosaic Virus*)⁹.

Références bibliographique

1. J. R. Harlan, *Les plantes cultivées et l'homme*, éd. ACCT/CILF/PUF, 1987, p. 299-300.
2. P.Bauwens, *Tomates, piment et aubergines*, éd. Edisud, mars 2008, p. 13.
3. G.Marchoux, P.Gognalons, K.Gébré Sélassié, coord, *Virus des solanacées*, éd. Quae, 2008, p. 19.
4. URL: <http://www.ars-grin.gov/misc/mmpnd/Lycopersicon.html>
5. URL : <http://culture.tomate.free.fr/description.php>
6. URL: <http://www.fr.Tomate - Wikipédia.htm>
7. URL: [http://www.culture.tomate.free.fr/valeurs nutritionnelles.php](http://www.culture.tomate.free.fr/valeurs_nutritionnelles.php)
8. URL: <http://www.culture.tomate.free.fr/utilisation.php>
9. URL :<http://www.fr.deruiterseeds.com/files/Files/France%20PDF/pb%20physio%20Maladies/corynebacterie%20FR.pdf>

Des études épidémiologiques ont montré que la consommation de tomate et des produits transformés à base de tomate peut aider à la prévention de plusieurs types de cancer, surtout le cancer de prostate, et les maladies cardiaques, et ça revient aux composés biologiquement actifs qui entrent dans la composition chimique de la tomate notamment : les caroténoïdes, l'acide ascorbique, les acides phénoliques et les flavonoïdes ¹.

2.1 Caroténoïdes

Les caroténoïdes sont des tétraterpènes (40 atomes de carbones). On en connaît plus de 300. Jaunes, oranges, bruns ou rouges, leurs couleurs sont dues à la présence dans les molécules de nombreuses doubles liaisons conjuguées responsables de la forte absorption lumineuse des caroténoïdes qui diffèrent par le nombre de liaisons conjuguées. En automne lorsque la chlorophylle est détruite, ce sont eux qui, avec les anthocyanes, sont responsables de la coloration des feuilles. On les rencontre souvent dans les tissus non chlorophylliens (champignon), dans les bactéries et dans les algues. Les caroténoïdes participent à la coloration des fleurs, des fruits, des racines, etc., en jaune, orange ou en rouge. Ex : la racine de la carotte est riche en carotène, la tomate est riche en lycopène.

Les caroténoïdes sont le plus souvent des molécules symétriques, les doubles liaisons permettent de nombreuses configurations *cis-trans*, mais les caroténoïdes ont, dans leur ensemble, une configuration entièrement *trans*.

Les principaux types structuraux de caroténoïdes (Figure 2.1) comprennent:

- Des hydrocarbures comme le lycopène. Dont les unités isopréniques terminales ne sont pas cyclisées et les carotènes, avec un ou deux cycles non oxygénés.
- Les xanthophylles, dérivés cyclisés ou oxygénés des carotènes (lutéine, zéaxantine); les hydroxyles confèrent à ces dernières une polarité plus marquée que celle du β - carotène ou du lycopène.
- Des époxydes comme la violaxanthine².

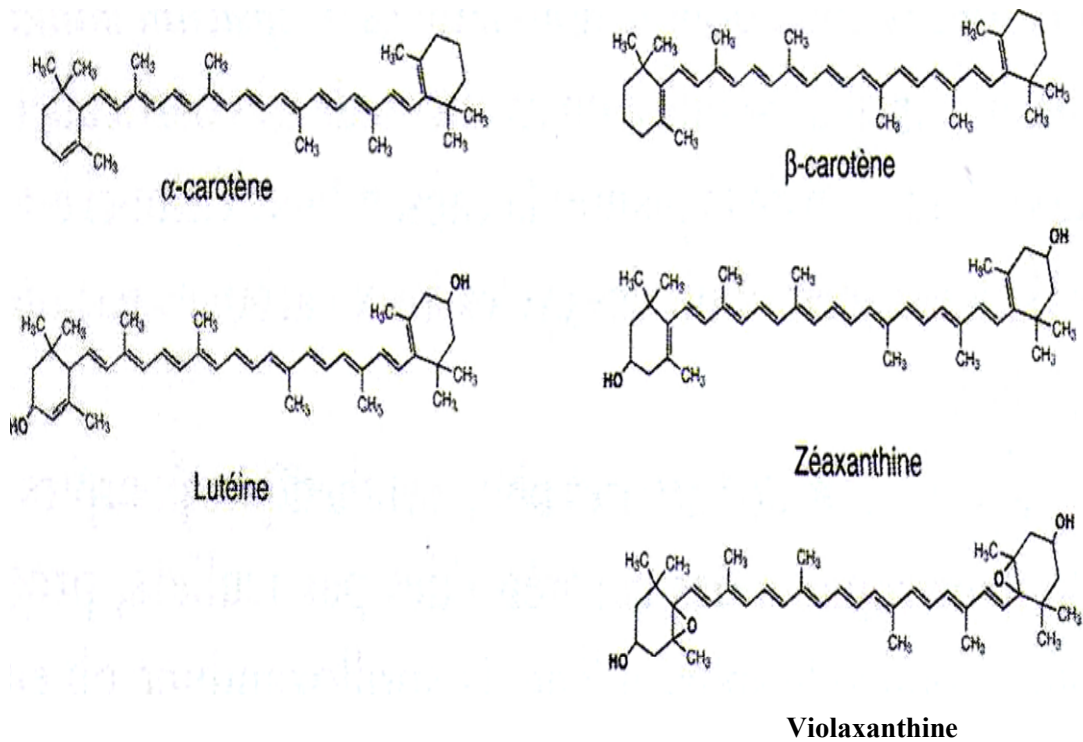


Figure (2.1) : Les principaux types structuraux de caroténoïdes.

2.1.1 Sources de caroténoïdes

Les biologistes admettent à l'heure actuelle qu'il y a des caroténoïdes animaux et végétaux. Les animaux ne fabriquent pas leurs caroténoïdes, ils sont simplement capables d'utiliser ou de transformer les caroténoïdes végétaux. Les animaux ont ainsi leurs propres familles de caroténoïdes dont les principales sont: les oxocaroténoïdes et les xanthophylles des canaris. Comme nous l'avons déjà précisé, ils ne transforment pas toujours les caroténoïde de leurs aliments, ils peuvent les utiliser bruts. C'est le cas de la lutéine qu'ils utilisent sans modification, l'accumulant dans leurs plumes, écailles ou autres structures de peau³.

Les caroténoïdes animaux sont encore plus oxygénés que ceux des végétaux. Le caroténoïde le plus typique des animaux est la canthaxanthine (Figure 2.2).

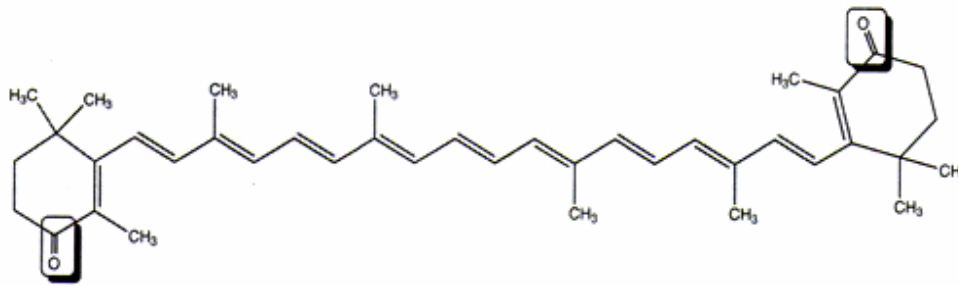


Figure (2.2) : Molécule de canthaxanthine montrant l'intégration d'oxygène sur les deux cycles.

2.1.2 Utilisation

L'intérêt des caroténoïdes est multiple. Certes, ils ne possèdent pas d'activité thérapeutique mais certains (qui possèdent au moins une moitié β -carotène non substituée) sont dégradés par l'organisme en rétinol et rétinol (vitamine A). L'activité vitaminique A du β -carotène est de 1.667.000 u. i. /g.

En pharmacie l'intérêt majeur des caroténoïdes est être des colorants naturels, efficaces et non toxiques. Rappelons que la coloration des médicaments a non seulement pour but de faciliter la prise du médicament par le malade mais aussi et surtout de faciliter l'identification : c'est alors un facteur de sécurité dans la fabrication, dans l'emploi familial ou hospitalier, dans la pharmacovigilance.

Outre le domaine du médicament, les caroténoïdes sont alimentaires : margarines, huiles, jus de fruits (ils sont stables en présence d'acide ascorbique), fromages, potages sauces et desserts⁴.

2.1.3 Stabilité des caroténoïdes vis-à-vis des processus de transformation

La consommation de tomate sous forme de produits transformés, comme le jus de tomate, sauce, pâte, purée, ketchup compte plus de 80% de la production de tomate.

Les traitements thermique ou mécanique sont parfois entraînés dans la transformation de tomate et peut affecter la stabilité de certains composés phytochimiques.

Des études précoces ont montré que les caroténoïdes hydrocarbonés comme le lycopène, l' α -carotène et le β -carotène ont une bonne résistance à la chaleur pendant la transformation des fruits et des légumes.

Dans une étude récente, aucun changement majeur n'a été observé dans le phytofluène, le phytoène et ζ -carotène pendant la transformation de la tomate. Cependant l'échauffement induit l'isomérisation de la β -carotène lors de la transformation de la tomate fraîche en conserve. Au plus, une évaluation récente sur l'effet de la transformation de différentes variétés de tomate a montré que l'acide ascorbique, l' α -tocophérol, la quinone et le β -carotène sont les plus susceptibles de dégradation thermique. Le changement dans la structure et la quantité de lycopène lors de la transformation de la tomate résulte de l'isomérisation et de l'oxydation. Par contre, d'autres auteurs ont reporté que la transformation des aliments n'affecte pas la stabilité du lycopène⁵.

2.1.4 Les caroténoïdes majeurs de la tomate

2.1.4.1 Le lycopène

Le lycopène (Figure 2.3) est un tétraterpène de la famille des caroténoïdes. C'est un pigment liposoluble rouge que l'on trouve surtout dans la tomate et dans le pastèque, mais également dans d'autres fruits rouges, comme le pamplemousseetc.

Il doit son nom au nom latin de la tomate (*Solanum lycopersicum*). Le lycopène est le caroténoïde prédominant de la tomate (31-77mg/kg de tomate fraîche), suivi du bêta-carotène. Le lycopène est la substance qui confère à la tomate sa couleur rouge caractéristique (Figure 2.4). Les tomates jaunes ou orangées n'en renferment pratiquement pas. Il est le centre de plusieurs études récentes puisque il est trouvé à haute concentration dans la tomate et ses produits^{6,7}.

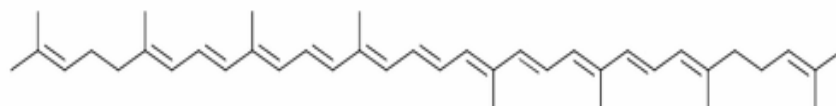


Figure (2.3) : Structure chimique du lycopène



Figure (2.4) : Lycopène pur

a) Sources alimentaires

Les fruits et légumes qui contiennent le plus de lycopène sont: la pastèque, la tomate, le pamplemousse rose, la goyave, et la papaye.

Contrairement aux autres nutriments contenus dans les fruits et les légumes dont la quantité diminue pendant la cuisson (comme par exemple la vitamine C), la cuisson augmente la quantité de lycopène biodisponible (la chaleur libère des cellules de la tomate). Ainsi, il y a environ quatre fois plus de lycopène dans la sauce tomate que dans la tomate fraîche. Pour cette raison, les aliments courants contenant le plus de lycopène biodisponible sont les produits transformés à base de tomate : jus, soupe, sauce tomate ou ketchup. Comme le montre le Tableau 2.1.

Tableau 2.1 : Teneur en lycopène dans différents produits transformés à base de tomate

Produits à base de tomate	Portion	Teneur en lycopène
Purée de tomates en conserve	125 ml	27 mg
Pâte de tomates en conserve	75 ml	23 mg
Jus de légumes ou de tomate	250 ml	de 22 mg à 23 mg
Sauce tomate en conserve	125 ml	17 mg
Soupe de tomate en conserve	250 ml	13 mg
Tomates en conserve	125 ml	5 mg
Tomate crue	1 (123 g)	3 mg
Ketchup	1 c. à soupe	2,5 mg

b) Activités biologiques

Le lycopène fait l'objet d'une attention toute particulière. Celle-ci vient des résultats de plusieurs recherches sur les vertus de ce caroténoïde comme agent de prévention de maladies cardio-vasculaires ainsi que de certains cancers (en particulier celui de l'utérus et de la prostate).

Plusieurs études épidémiologiques semblent en montrer aussi un effet protecteur contre l'artériosclérose. Il diminuerait également le mauvais cholestérol des vaisseaux sanguins. Le lycopène interviendrait aussi dans la régulation de certaines de nos hormones. Il inhiberait un facteur de croissance cellulaire portant le nom d'IGF1 (pour Insulin like Growth Factor 1) impliqué dans le développement du cancer de l'utérus. Ces activités seraient en premier lieu liées à ses propriétés antioxydantes. Il est capable de piéger les radicaux libres et les formes actives de l'oxygène, il protège ainsi de l'oxydation les molécules essentielles au bon fonctionnement de cellules (comme certains lipides) qui deviendraient dangereuses une fois oxydées. Il faut néanmoins souligner que les études réalisées sur ce caroténoïde «miracle» ne sont pas toutes concordantes, en particulier sur son effet préventif sur le cancer de la prostate⁸.

2.1.4.2 Le β -carotène

Le β -carotène $C_{40}H_{56}$ est une chaîne constituée de huit unités isopréniques, avec une série de onze doubles liaisons conjuguées. Elle peut absorber la lumière bleu-indigo et donc apparaître orange comme dans la carotte.

C'est lui qui donne la couleur aux carottes et aux feuilles d'automne et joue un rôle essentiel dans la croissance et dans le mécanisme de vision⁹.

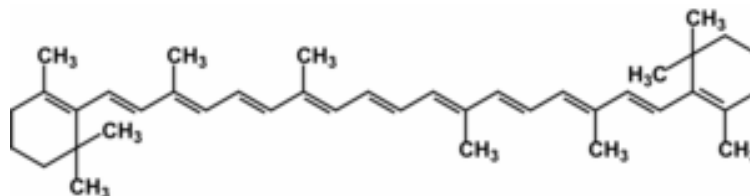


Figure (2.5) : Structure chimique du β -carotène

a) Sources alimentaires

Le β -carotène se trouve dans certains fruits et végétaux : poivron, carotte, épinard, tomate, brocoli, cantaloup, courge, abricot. Le taux record est cependant détenu par la spiruline (*Arthrospira platensis*), puisque son contenu en β -carotène est dix à quinze fois supérieur à celui de la carotte. En première approximation, plus le fruit (ou la feuille) est coloré, plus elle contient de β -carotène.

b) Activités biologique

Le β -carotène est un composé anticancéreux, il prévient de plusieurs maladies héréditaires.

Quand nous mangeons des aliments contenant du β -carotène, notre organisme le transforme en vitamine A puis en rétinol nécessaire à notre vision. En résumé, un manque en vitamine A est la cause d'une maladie des yeux qu'on appelle l'héméralopie (du grec hêméra, « jour ») ou cécité nocturne et qui a comme effet de diminuer fortement notre vision dans l'obscurité. Cette affection est réversible en administrant sans trop tarder de la vitamine A. En effet une carence prolongée de cette vitamine peut conduire à une dégénérescence irréversible des bâtonnets (organe constituant des yeux)³.

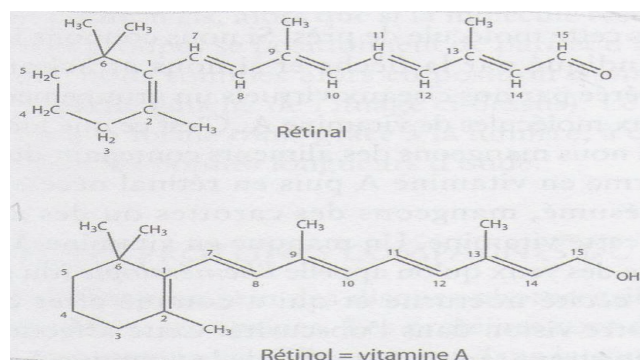


Figure (2.6) : Le rétinol et le rétinol

Dans le domaine pharmaceutique, il est incorporé à certaines crèmes solaires en raison de ses propriétés d'agent filtrant contre le soleil.

Outre le lycopène et le β - carotène la tomate contient d'autres caroténoïdes mais à faible concentration tels que : Le phytofluène, le phytoène et le neurosporène⁵.

2.2 Flavonoïdes

Les flavonoïdes sont des composés phénoliques dont beaucoup sont des pigments responsables de la coloration de nombreuses fleurs et de certains fruits. L'élément commun de ces composés- dont plusieurs milliers ont été décrits- est d'être rattaché à un noyau de base: le phényl-2 chromane. Le terme de flavonoïde pris dans son sens le plus large s'applique à des structures très diverses (figure 2.7) :

- phényl- 2 chromones: flavones, flavonols, flavanones et formes dimères (bi-flavonoïde).
- phényl- 2 chromanes (flavannes) : flavan-3 ols (catéchols) et flavan- 3,4 diols.
- flavyliums : anthocyanes.
- chalcones : formes isomères ouvertes des flavanones
- aurones, homologues des flavones à hétérocycle pentagonal.

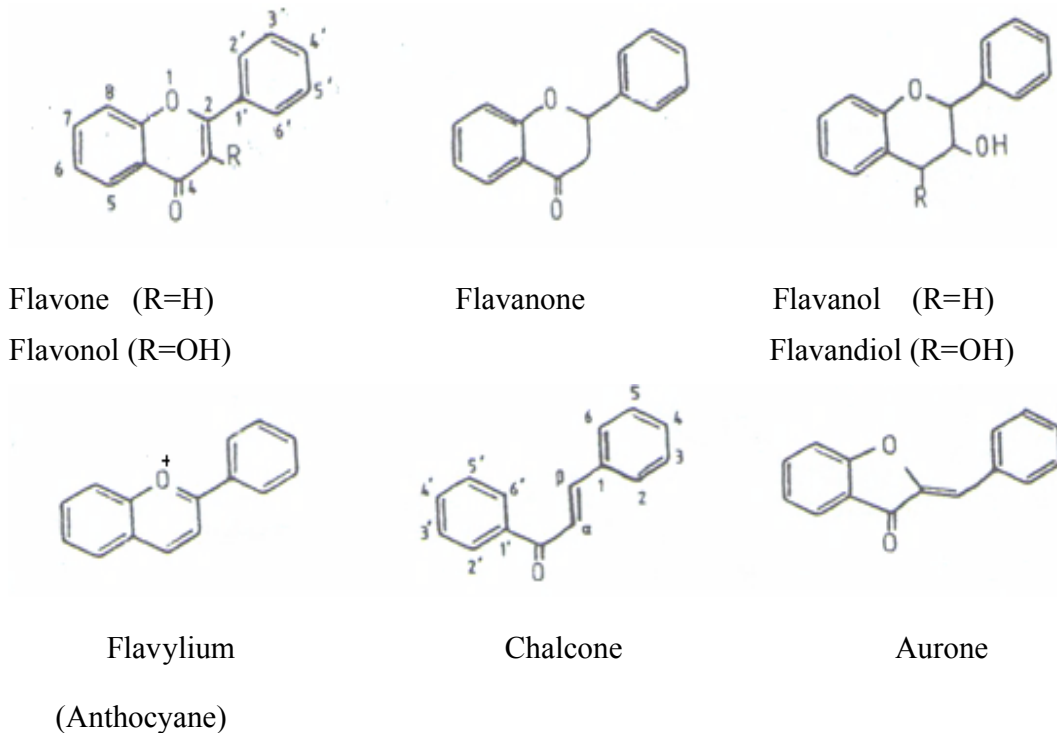


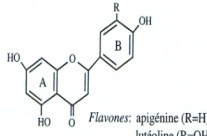
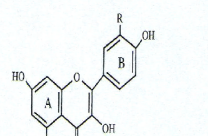
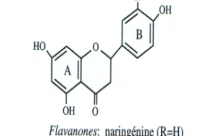
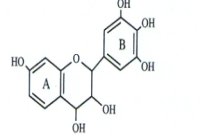
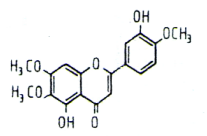
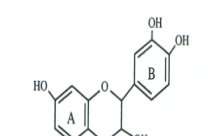
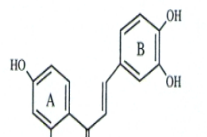
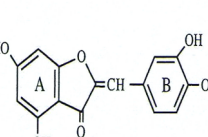
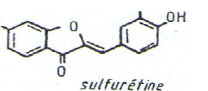
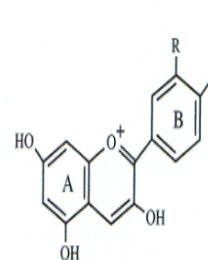
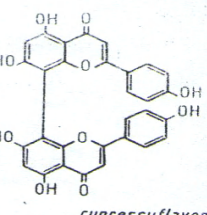
Figure (2.7) : Différentes classes de flavonoïdes

2.2.1 Structure Chimique et Classification

2.2.1.1 Les génines

Dans toutes les séries mentionnées dans la (figure 1), les noyaux aromatiques sont substitués par l'un des substituants suivants : - OH - OCH₃ - O- CH₂- O (très rare) ou alkylé par un ose (o-oside).

Tableau 2.2: Exemples de génines de flavonoïdes

Flavones	Flavonols	Flavanones	Flavandiols
 <p>Flavones: apigénine (R=H) lutéoline (R=OH)</p>	 <p>Flavonols: kaempférol (R=H) quercétine (R=OH)</p>	 <p>Flavanones: naringénine (R=H) ériodictyol (R=OH)</p>	 <p>Flavane-3,4-diols: leucorobinétidine</p>
 <p>euparoline</p>	 <p>Flavane-3-ols: catéchine, épicatechine</p>		
Chalcones	Aurones	Anthocyanes	Biflavonoïdes
 <p>Chalcone, lutéine</p>	 <p>Aureudisine</p>  <p>sulfurétine</p>	 <p>Anthocyanidines Pélagonidine (R=H) Cyanidine (R=OH)</p>	 <p>cupressuflavone</p>

Le noyau A (tableau 2.2) est habituellement substitué en 5 et en 7, plus rarement il est monosubstitué ou au contraire il est polysubstitué, comme il peut être alkylé par un ose (C-hétéroside).

Le noyau B, dans la majorité des cas, est substitué par une fonction oxygénée (en para) ou par deux (en Meta et en para). Une troisième substitution n'est pas rare (une en para, deux en Meta) mais l'absence de substituant est exceptionnelle⁴.

Chez les biflavonoïdes les variations principales résident dans le mode de liaison des deux monomères : carbone- carbone 8-6, 8-8, 8-4, 8-3, 6-4, carbone- oxygène 6-0-3'...

2.2.1.2 Les hétérosides :

La partie osidique peut être très simple, réduite à un ose banal (glucose, rhamnose, xylose,...) ou oligosidique :

- disaccharidique (rutinose = α -L- rhamnosyl (1→6) β - D -glucose, sophorose= β - D -glucosyl (1→2) β -D-glucose.

c) O-hétérosides :

Ce sont, de loin, les plus fréquents. La liaison entre la génine et la partie osidique se fait préférentiellement par l'intermédiaire de l'hydroxyle en 7 chez les flavones et les flavanones, par celui en 3 chez les flavonols, ce qui n'exclut pas d'autres possibilités. C'est chez les flavonols que la diversité structurale des hétérosides est la plus grande: on connaît plus d'une centaine d'hétérosides ayant comme génine le quercétol et autant pour le kaempférol.

d) C-Hétérosides (C- glycosylflavonoïdes) :

Ces composés ne sont pas rares ; la liaison s'établit entre le carbone anomérique de l'ose le plus souvent c'est le glucose- et le carbone 8 ou 6 de la génine laquelle est, le plus souvent, une flavone.

2.2.2 Rôle Ecologique

Comme pour beaucoup d'autres métabolites secondaires, la fonction physiologique des flavonoïdes est loin d'être connue. Antioxydants pour certains

d'entre eux ou bien encore écrans vis-à-vis des radiations nocives : les hypothèses ne manquent pas. La fonction écologique de ces pigments est plus évidente:

- responsables de la coloration des fleurs mais aussi guides à nectar,
- motifs visibles par les seuls insectes, en UV,
- ils attirent et guident les pollinisateurs favorisant ainsi la reproduction de l'espèce.

Chez les orchidacées le marquage flavonoïdique disparaît après la pollinisation incitant ainsi l'insecte à ne visiter que des fleurs non pollinisées. Certains sont des phytoalexines⁴.

2.2.3 Flavonoïdes de la tomate

Outre les caroténoïdes, les tomates sont aussi une source de plusieurs composés phytochimiques comme les flavonols (quercétine, rutine, kaempférol) et les phénylpropanoïdes (acides phénols).

2.2.3.1 La quercétine

La quercétine est la plus abondante des flavonoïdes. Elle est constituée de 3 cycles et 5 groupements hydroxyles. La quercétine est aussi un élément constitutif des autres flavonoïdes. Elle se produit dans les aliments comme aglycone (attaché à une molécule de sucre). Seul un petit pourcentage de quercétine ingérée sera absorbé dans le sang¹⁰.

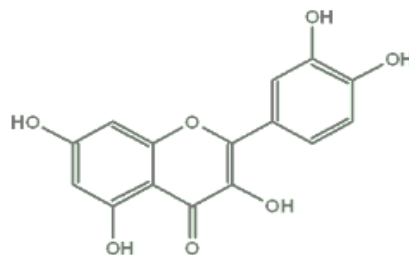


Figure (2.8) : Structure chimique de la quercétine

a) Distribution

La quercétine est trouvée dans de nombreux aliments, y compris les pommes, le thé, l'oignon, les noix, les baies, le chou-fleur et le chou.

b) Propriétés

La quercétine, un membre de la famille des flavonoïdes, exerce de nombreux effets bénéfiques pour la santé, y compris l'amélioration de la santé cardiovasculaire, la réduction du risque de cancer. Ce produit phytochimique a des propriétés anti-inflammatoires et anti allergiques. La plupart de ces propriétés sont liées à sa forte activité antioxydante.

c) Activités biologiques

- Diabète

Une étude a montré que la quercétine réduit le niveau du glucose sanguin et permet d'améliorer les niveaux plasmatiques d'insuline dans le sang. Une autre étude *in vitro* a conclu que la quercétine peut avoir une application pharmacologique dans le traitement des maladies cardiovasculaires chez les patients atteints de diabète.

- Les maladies cardiaques

Comme beaucoup d'autres flavonoïdes, la quercétine inhibe l'oxydation des LDL (mauvais cholestérol), abaisse la pression artérielle et réduit le risque de maladies cardiaques.

- Anti-cancer

Des études ont démontré que la quercétine réduit le risque de cancer de la prostate, des ovaires, du sein, de l'estomac et des cellules du côlon.

2.2.3.2 la rutine

La rutine est un flavonoïde de couleur jaune ou jaune-vert, c'est un cristal en forme d'aiguille. Elle est composée de la quercétine et du rutinose, un disaccharide composé de deux oses simples (rhamnose et glucose).

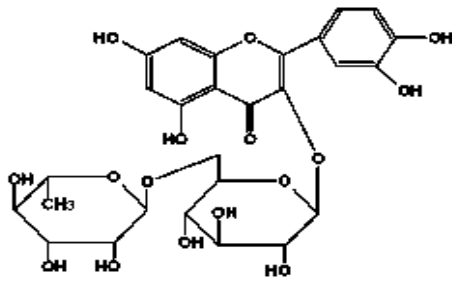


Figure (2.9): Structure chimique de la rutine

a) Distribution

La rutine se trouve dans de nombreuses plantes, fruits et légumes, dont la plus riche est le sarrasin. Elle se trouve aussi dans les agrumes, le thé noir. Pendant la digestion une grande partie de la rutine est métabolisée en son aglycone, la quercétine.

b) Propriétés

La rutine possède des propriétés antioxydantes puissantes. Elle a des effets anti-inflammatoires. Il semblerait que la rutine peut inhiber certaines affections cancéreuses et précancéreuses.

2.2.3.3 Le kaempférol

Le kaempférol pur est une poudre de couleur jaune. Le kaempférol est un flavonoïde présent dans diverses sources naturelles, y compris les pommes, les oignons, les poireaux, les agrumes, les raisins et les vins rouges¹⁰.

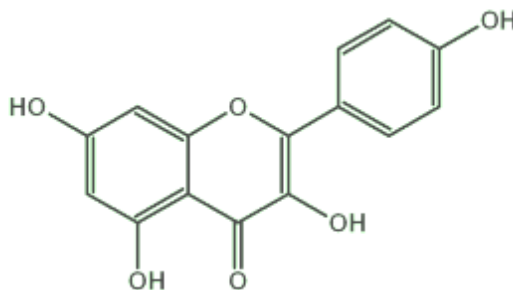


Figure (2.10) : Structure chimique du kaempférol

a) Propriétés

Le kaempférol est un antioxydant très efficace qui contribue à empêcher l'oxydation de nos cellules, des lipides et d'ADN. Des études ont également confirmé que le kaempférol agit en tant qu'agent de chimio-prévention, ce qui signifie qu'il inhibe la formation de cellules cancéreuses.

2.3 Les acides phénols

Les acides hydroxycinnamiques représentent une classe très importante dont la structure de base (C6-C3) dérive de celle de l'acide cinnamique. Le degré d'hydroxylation du cycle benzénique et son éventuelle modification par des réactions secondaires (par méthylation chez les acides férulique ou sinapique) sont un des éléments importants de la réactivité chimique de ces molécules. De plus, l'existence d'une double liaison dans la chaîne latérale conduit à deux séries isomères (*cis* ou *Z* et *trans* ou *E*) dont les propriétés biologiques peuvent être différentes. Les formes *trans* sont cependant naturellement prépondérantes et il est possible que les formes *cis* ne correspondent qu'à des artefacts d'extraction¹¹.

Les molécules de base de la série hydroxycinnamique sont : l'acide *p*-coumarique (et ses isomères, les acides *o*- et *m*-coumarique), l'acide caféique, l'acide férulique et son dérivé 5-hydroxylé, et enfin l'acide sinapique (figure 2.11). L'ensemble est souvent rapporté sous le vocable commun de *phénylpropanoïdes*.

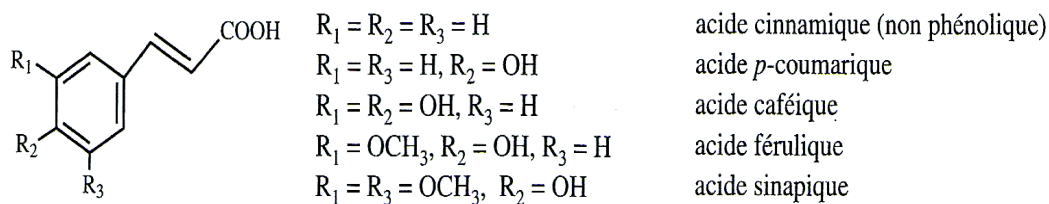


Figure (2.11) : Les principaux acides phénoliques

Ces acides sont rarement présents à l'état libre et ils sont en général combinés à d'autres molécules organiques. Les liaisons impliquent souvent la fonction carboxylique conduisant alors à des esters (avec le glucose ou avec différents alcools-

acides: comme les acides quinique, tartrique, shikimique, malique...) ou à des phénolamides (avec des mono ou des di-amines : tyramine, putrescine, spermidine...). Les liaisons avec les sucres peuvent également se faire par l'intermédiaire de l'une des fonctions phénoliques, conduisant alors à des glucosides (par exemple le glucoside de l'acide p-coumarique).

2.3.1 Les acides phénols dans la tomate

L'acide caféique, l'acide férulique et l'acide p-coumarique sont les acides phénols les plus répandus dans la tomate.

2.3.1.1 L'acide caféique

Parmi les acides hydroxycinnamiques, l'acide caféique a une répartition quasi universelle chez les végétaux. Initialement isolé dès le XIXe siècle à partir des fruits et des graines du caféier où il est très abondant, il est souvent présent sous forme d'esters dont l'acide chlorogénique (= 5-caféoylquinique) est le plus fréquemment rencontré, par exemple dans la pomme ou le café. Mais on le retrouve également sous forme d'acide caféoyltartrique (désigné quelquefois sous le nom d'acide caftarique) dans le raisin, d'acide caféoylshikimique dans la datte, d'acide caféoylmalique dans le radis.

a) Activité biologique

L'acide caféique a des propriétés antioxydantes puissantes, donc il peut jouer un rôle très important dans la prévention de plusieurs maladies et surtout le cancer.

2.3.1.2 L'acide para-coumarique

L'acide para-coumarique se trouve dans une grande variété de plantes comestibles, comme les cacahouètes, les tomates, les carottes et l'ail.

a) Activité biologique

L'acide para-coumarique a des propriétés antioxydantes et pourrait avoir un rôle dans la réduction de risque de cancer de l'estomac en réduisant la formation des nitrosamines cancérigènes¹².

2.3.1.3 L'acide férulique

L'acide férulique est un acide organique présent, lui ou ses esters, dans de nombreuses plantes. Ce dérivé de l'acide cinnamique participe à la synthèse de la lignine qui forme les parois des cellules végétales et est un précurseur de molécules aromatiques¹³. Son nom provient de *Ferula*, un genre de plantes herbacées de la famille des *Apiacées*.

a) Activité biologique

L'acide férulique, comme de nombreux polyphénols, est un antioxydant dans le sens où il est réactif avec les radicaux libres comme les dérivés réactifs de l'oxygène (DRO). Des études sur des animaux *in vitro* montreraient que l'acide férulique pourrait avoir une activité anti-tumorale directe dans le cas du cancer du sein ou du foie. L'acide férulique aurait aussi des effets préventifs sur les cancers induits par l'exposition à certains cancérigènes comme le benzopyrène. Ces études ne portent cependant pas sur des essais cliniques aléatoires faits sur des humains et par conséquent les résultats de ces études peuvent ne pas être directement applicables aux humains.

Références

1. R. K. Toor, G. P. Savage, *effect of semi-drying on the antioxidant components of tomatoes*, Food Chemistry, 2006.
2. A. Hunt, *La chimie de A à Z*, éd. Dunod, 2006, p. 40.
3. J. Jeanfils, *Pigments et Biosphère les couleurs de la vie*, éd. Vuibert, 2008, p. 83.
4. J. Bruneton, *Éléments de phytochimie et de pharmacognosie*, éd. Tec et Doc, 1987.
5. C. W. Hadley, S. J. Schwartz, *Tomato-Based Beverages*, Beverages in Nutrition and Health, 2003.
6. URL: <http://fr.wikipedia.org/wiki/Fichier:Lycopene.png>
7. URL: <http://en.wikipedia.org/wiki/Beta-Carotene#head>
8. URL: <http://www.phytochemecals.info/phytochemecals/quercetin/antioxi-dant.php>
9. URL: <http://www.phytochemecals.info/phytochemecals/rutin/antioxi-dant.php>
10. URL: <http://www.phytochemecals.info/phytochemecals/kaempferol/antioxi-dant.php>
11. J.J .Macheix, A. Fleuriet, C.J. Allemand, *Composés phénoliques des végétaux*, éd. Presses polytechniques et universitaires Roman, 2005.
12. URL: http://fr.wikipedia.org/wiki/Acide_paracoumarique
13. URL: http://fr.wikipedia.org/wiki/Acide_f%C3%A9rulique

3.1 Préparation des solutions utilisées

- Éluants pour CCM préparative et analytique : ils sont à base de CH₃Cl/ MeOH acidulé.
- La révélation des CCM analytiques se fait avec de l'anisaldéhyde ou de la vanilline.

3.2 Solvants

Tous les solvants que nous avons utilisés en chromatographie analytique étaient de grade HPLC, ceux utilisés pour la préparative étaient d'une pureté > 99%. L'eau est distillée et filtrée. Les solvants deutérés utilisés pour l'RMN étaient le D₂O et DMSO-d₆.

Le critère le plus important pour l'extraction des métabolites secondaires à partir de plantes est le choix des solvants.

À chacune des classes de composés naturels, correspond un type de solvant ou mélange de solvants. Le critère de choix entre les solvants est la polarité.

Les polyphénols étant des composés polaires, leur extraction nécessite le choix de solvants polaires comme les alcools tels que le méthanol, l'éthanol et l'acétone.

3.2.1 Propriétés des solvants utilisés

➤ Méthanol (CH₃OH)

- Température de fusion: T_{fus} = -97.8°C.
- Température d'ébullition: T_{eb} = 65°C.
- Densité: d = 0.790.
- Point d'inflammabilité: PE = 12.2°C.
- Moment dipolaire: Er = 32.7.

Le méthanol est un composé toxique. Cet effet est bien connu car il cause des intoxications chroniques présentant des symptômes similaires, l'organe le plus sévèrement atteint c'est l'oreille (cornée et nerf optique).

➤ Trichlorométhane (chloroforme)

- Température de fusion: T_{fus} = -63.5°C.
- Température d'ébullition: T_{eb} = 61.7°C.
- Densité: d = 1.43.
- Point d'inflammabilité: PE = non inflammable.
- Moment dipolaire Er = 4.3.

L'ingestion accidentelle produit des troubles hépatorénaux, les intoxications se manifestent par une atteinte des muqueuses du système nerveux central, du foie et parfois des reins. Le chloroforme induit le cancer du foie (rats) et des reins (souris), il faut essayer de remplacer le chloroforme par des solvants moins-toxiques.

➤ **Ether de pétrole**

- Densité : $d = 0.65$.
- Température d'ébullition: $T_{eb} = 30-60\text{ °C}$.

L'éther de pétrole correspond à un certain nombre de solvants produits par les unités de raffinage. Ces produits sont caractérisés par leurs normes de distillation par exemple: l'essence a un point initial de distillation de 60 °C et un point final de 80 °C .

➤ **Acétate D'éthyle**

- Indice de polarité: 4,1.
- Point de fusion: 77 °C .
- Viscosité: 0,45.
- Solubilité dans l'eau: insoluble.

Il est très volatil et très inflammable, il possède une odeur caractéristique forte et piquante. L'acétate d'éthyle est pratiquement insoluble dans l'eau, il est soluble en toute proportion dans la plupart des liquides organiques, tels que les alcools. C'est l'un des solvants organiques les plus importants. Il est largement utilisé en laboratoire comme solvant pour les huiles, les hydrocarbures et les composés moyennement polaires.

3.2.2 Matériel de laboratoire

- La verrerie utilisée est: Bêchers, Erlenmeyers, Micropipettes ou pipettes pasteur, Ballons, Ampoules à décanter, Éprouvettes (taille variable), verres de montres, Entonnoirs, et cristallisoirs ...

- HPLC analytique, évaporateur sous pression réduite, étuve, balance analytique, agitateur, centrifugeuse.

3.3. Méthodes

3.3.1 Chromatographie sur colonne

La chromatographie sur colonne peut être une méthode préparative; elle permet en effet la séparation des constituants d'un mélange et leur isolement, à partir d'échantillons dont la masse peut atteindre plusieurs grammes. Elle présente cependant plusieurs inconvénients:

- De grandes quantités de solvant sont nécessaires à l'élution.
- La durée de l'élution est généralement très grande.
- La détection des composés exige une attention constante.

Elle est adaptée à la purification de faibles quantités de produit, lorsque les conditions opératoires sont au point. Cependant, la méthode étant très empirique, sa mise au point nécessite souvent de nombreux essais.

3.3.1.1 Description et principe:

C'est une technique basée sur des phénomènes d'adsorption. La phase solide, le plus souvent l'alumine ou la silice, l'échantillon en solution concentrée, est déposé en haut de la colonne, la séparation des composants résulte de l'écoulement continu d'un éluant traversant la colonne par gravité ou sous l'effet d'une faible pression. On peut utiliser comme éluant un solvant unique ou bien accroître progressivement la polarité de l'éluant de façon à accélérer le déplacement des composés¹.

Les molécules sont entraînées vers le bas à des vitesses variables selon leur affinité pour l'absorbant et leur solubilité dans l'éluant. Le chromatogramme se développe en formant une succession de zones cylindriques qui se séparent en migrant vers le bas. Au fur et à mesure que chaque zone s'écoule de la colonne, on la recueille.

3.3.1.2 Facteurs dont dépend la séparation

Quatre facteurs interviennent:

1. L'adsorbant.
2. L'éluant.
3. La dimension de la colonne
4. La vitesse d'élution.

➤ **Adsorbant**

Le plus utile est l'alumine; cependant, on la limitera aux composés organiques stables car, sous sa forme basique, elle peut provoquer la déshydratation des esters par exemple. Le gel de silice est également fréquemment utilisé pour la séparation des composés qui n'ont pas une stabilité suffisante pour être traités par l'alumine.

La granulométrie de l'adsorbant doit être supérieure à celle des adsorbants utilisés en CCM. Leur taille est habituellement comprise entre 50 et 200 μm . La quantité d'adsorbant dépend de la difficulté de la séparation et de la masse d'échantillon. On peut considérer que pour chaque gramme d'échantillon, il faut 30 à 50g d'adsorbant si la polarité des composants à séparer est très différente et jusqu'à 200g si la séparation est difficile.

➤ **Eluant**

L'éluant est en général un mélange de deux solvants. Au début de l'élution, on commence par le solvant le moins polaire qui entraîne les substances les moins retenues par l'adsorbant (les moins polaires). Ensuite, on fait varier la composition de l'éluant en additionnant graduellement le solvant le plus polaire. Ainsi les composés les plus polaires, retenus sur l'adsorbant, ne migreront que graduellement vers le bas de la colonne.

➤ **Dimension de la colonne**

Les colonnes spécialement conçues pour cet usage ont à leur base une plaque de verre fritté ou de porcelaine qui permet l'écoulement libre de l'éluant tout en empêchant le passage de l'adsorbant. On peut aussi utiliser une burette, au fond de laquelle on place un tampon de laine de verre et du sable.

La quantité d'adsorbant est telle qu'il occupe une hauteur égale à environ 10 fois le diamètre de la colonne. Il faut également prévoir un espace de 10cm environ au-dessus de l'adsorbant pour placer le solvant.

➤ **Vitesse d'élution**

Elle doit être la plus constante possible. Il faut qu'elle soit suffisamment lente pour que le soluté soit au plus près de l'équilibre entre les phases liquide et adsorbée. Elle ne doit pas être trop lente car sinon les substances diffusent dans le solvant et on obtient des bandes plus larges et une séparation médiocre.

3.3.1.3 Remplissage de la colonne

C'est l'opération la plus délicate, car le remplissage doit être le plus homogène possible et exempt de bulles d'air. Les surfaces inférieures et supérieures de l'adsorbant doivent être parfaitement horizontales. La colonne étant verticale, le remplissage peut être réalisé selon deux méthodes au choix.

a) Remplissage par voie humide:

On prépare dans un bécher un mélange homogénéisé de l'adsorbant et du moins polaire des solvants utilisés pour le développement en ajoutant par petites quantités l'adsorbant dans le solvant pour obtenir une bouillie suffisamment fluide pour couler facilement à l'aide d'un entonnoir, on verse suffisamment de bouillie pour que l'adsorbant qui se dépose progressivement forme une couche d'environ 2cm. On tapote les parois de la colonne pour favoriser le tassement de l'adsorbant. On ouvre alors le robinet pour que le solvant successives. Quant tout l'adsorbant est introduit, on laisse décanter jusqu'à ce que le liquide qui surnage soit limpide.

Pendant l'opération, on doit veiller à ce que le niveau de solvant soit toujours supérieur à celui de l'adsorbant.

b) Remplissage par voie sèche:

La colonne est remplie au deux tiers par moins polaire des solvants et l'adsorbant en poudre est ajouté en portion successives dans la colonne à l'aide d'un entonnoir; pendant l'addition, on frappe continuellement sur les parois pour obtenir un tassement maximal.

Lorsque la première portion forme une couche d'environ 2cm ; on ouvre le robinet pour faire coller lentement le solvant. On termine comme précédemment.

3.3.1.4 Dépôt des produits à analyser:

Ils doivent former une zone cylindrique étroite dans le haut de la colonne. Un liquide est déposé tel quel. Un solide sera dissous dans le minimum du mois polaire des deux solvants.

On ajuste d'abord le niveau de solvant pour qu'il soit Juste au-dessus de celui de l'adsorbant. A l'aide d'une pipette, on coule l'échantillon au sommet de la colonne de façon uniforme sur toute la surface de la colonne sans la déformer. Si nécessaire, on ajuste à nouveau, comme précédemment, le niveau de liquide de la colonne.

L'échantillon est ainsi adsorbé uniformément au sommet de la colonne. On peut placer un verre fritté ou une rondelle de papier filtre au-dessus de l'adsorbant pour prévenir une remise en suspension de l'adsorbant.

3.3.1.5 Elution :

On peut alimenter la colonne en continu à l'aide d'une ampoule de coulée ou bien ajouter manuellement l'éluant. Dans tous les cas, la surface de l'adsorbant ne doit jamais être au contact de l'air. En quelques minutes, une colonne laissée à se détériorer: des fissures apparaissent dans la phase fixe et toute élution ultérieure se transforme en ruissellement.

Pour la plupart des opérations, une vitesse de 5 à 50 gouttes à la minutes convient (la limite inférieure correspond aux séparations difficiles).

Lorsque l'analyse des fractions est terminée on réunit celles qui correspondent à des produits identiques. En prenant soin d'éliminer celles qui correspondent à des recouvrements de zones. Les substances obtenues de cette façon sont généralement d'une très grande pureté.

3.3.2 La chromatographie sur couche mince préparative

La Chromatographie sur Couche Mince (CCM) préparative est une technique classique, simple et peu coûteuse, utilisée au cours de la séparation et de la purification des métabolites. Elle repose principalement sur le phénomène d'adsorption. Elle s'applique aux extraits (mélange complexes de métabolites ou une fraction du mélange). La mise en œuvre d'une CCM préparative nécessite plusieurs matériels tel que:

- Une cuve chromatographique : c'est un récipient en verre, fermé par un couvercle maintenu étanche.

- Une phase stationnaire : c'est une couche d'absorbant étalé uniformément sur un support en verre de dimensions (20 x 20 cm), avec une épaisseur comprise entre 0.5 et 2 mm.

L'adsorbant que nous avons utilisé est le gel de silice (Merck) qui permet la séparation de substances lipophiles et hydrophiles d'un mélange.

- La phase mobile : c'est l'éluant, il est composé d'un solvant unique ou d'un mélange de solvants qui migrent lentement le long de la plaque en entraînant les composants de l'échantillon déposé.

- Les échantillons : ils sont le plus souvent solubilisés dans un solvant volatil qui n'est pas forcément le même que l'éluant. Les échantillons à analyser sont appliqués en trait continu sous forme de bandes sur l'adsorbant. La plaque est déposée verticalement dans la phase mobile constituée, comme on a préalablement indiqué, par un ou plusieurs solvants organiques. Pour une bonne élution, la cuve contenant le solvant d'élution doit être saturée par la vapeur de solvants.

Une fois le développement du chromatogramme effectué, la plaque est séchée à température ambiante puis examinée à l'UV (longueurs d'ondes $\lambda = 254$ nm et 365 nm) pour la séparation des bandes.

3.4 Protocole de recherche

3.4.1 Choix de la tomate

Le choix de la tomate a été basé sur trois facteurs : la variété de tomate, la région de cultivation et le degré de maturité du fruit de la tomate. Nous avons sélectionné deux variétés (Roma, Orange King) de façon qu'on ait pris deux échantillons (verte et mûre) de chacune des variétés prises de différentes régions. Les échantillons de la variété Roma sont :

- Tomate verte et mûre de la région de Belkhir.
- Tomate verte et mûre de la région de Bouaati.
- Tomate verte et mûre de la région de Dréan.

Les échantillons de la variété Orange King sont :

- Tomate verte et mûre de la région de Rasselma
- Tomate mûre disponible dans le marché.

3.4.2 Préparation des échantillons

Un kilogramme de chaque échantillon de tomate a été mixé à l'aide d'un mixeur et congelé jusqu'au moment d'utilisation.

3.4.3 Extraction des métabolites secondaires

L'extraction des métabolites secondaires a été faite en deux étapes.

3.4.3.1 Macération

Après décongélation, environ 1kg de matière fraîche a été utilisé pour l'extraction dans une ampoule à décanter de 2L à l'aide d'un mélange de solvants acétone/eau (80/20). La macération a duré environ 24 heures à température ambiante. Filtré, l'extrait obtenu est concentré sous vide à l'aide d'un évaporateur rotatif, en vue d'éliminer l'acétone, cette manipulation a été répétée plusieurs fois afin d'extraire le maximum de métabolites secondaires existant dans notre échantillon.

Après évaporation, nous avons obtenu un résidu aqueux contenant les composés phénoliques mais malheureusement accompagnés d'autres substances tels que la chlorophylle, les lipides, les sucres ... etc.

3.4.3.2 Extraction par solvants

L'extrait aqueux obtenu est soumis à une délipidation à l'éther de pétrole en vue de le débarrasser de la chlorophylle, des lipides, des xanthophylles...etc.

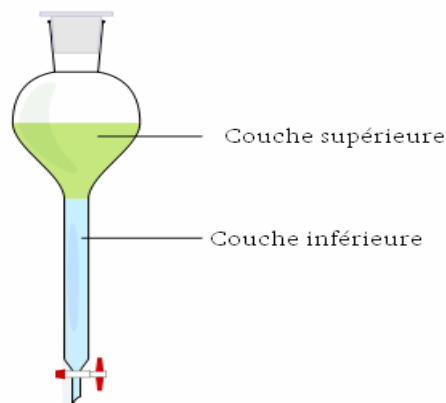


Figure (3.1) : Extraction par solvants

Nous avons mélangé le même volume de l'éther de pétrole à celui de la phase aqueuse dans une ampoule à décanter (figure 3.1), cette manipulation a été répétée plusieurs fois jusqu'à ce que la phase éther de pétrole aie une couleur transparente. Après séparation des deux phases, nous avons évaporé la phase éther de pétrole sous vide à une température de

37°C au rota- vap pour éliminer le solvant organique.

L'extrait aqueux issu de cette opération est soumis à l'extraction plusieurs fois à l'aide de l'acétate d'éthyle. À la fin de cette étape, trois phases ont été obtenues ; deux phases organiques (phase éther de pétrole et phase acétate d'éthyle) et une phase aqueuse. La phase d'acétate d'éthyle a été soumise à la purification pour l'isolation des polyphénols pendant que les deux autres phases ont été stockées au congélateur.

3.4.4 Purification des polyphénols

Deux méthodes chromatographiques, ont été utilisées pour la purification des composés de la phase acétate d'éthyle la chromatographie sur colonne et la chromatographie sur couche mince préparative.

3.4.4.1 Chromatographie sur colonne

Pour la purification des composés de la phase organique (phase acétate d'éthyle) nous avons utilisé la chromatographie sur colonne remplie de Gel de silice par voie humide. L'élution a eu lieu avec trois types d'éluants, chacun a été constitué de deux solvants de polarité différente (Tableau 3.1). Les fractions ont été regroupées après vérification par CCM et repurifiées au moyen de plaques CCM-préparatives .Vingt fractions ont été obtenues après regroupement (Tableau3.2).

Tableau 3.1 Les éluants de la colonne

Eluant	Solvant A (ml)	Solvant B (ml)
Eluant 1	Ether de pétrole	Acétate d'éthyle
	50	50
	90	10
	00	100
Eluant 2	Acétate d'éthyle	Méthanol
	90	10
	70 (2 fois)	30 (2 fois)
	65	35
	60	40
	55	45
	50	50
	45	55
	40	60
	35	65
	30 (4 fois)	70 (4 fois)
	20 (3 fois)	80 (3fois)
	10 (3fois)	90 (3fois)
	00	100
Eluant 3	Méthanol	Eau acidulée
	70	30

A) Regroupement des tubes :

Le suivi de la séparation s'effectue à l'aide de plaques Chromatographique sur Couche Mince (CCM) sur des Polygram silica gel 0.2 mm avec indicateur de fluorescence UV254 (Macherey-Nagel). L'éluant est un mélange de CHCl₃/MeOH/ Acide acétique. La visualisation des plaques CCM est réalisée par pulvérisation d'un réactif à base d'anisaldéhyde².

Tableau 3.2 : Regroupements des fractions de la colonne

t (1-4)	t (5-10)	t (11)	t (12)	t (13)	t (14-18)	t (19-24)	t (25-30)	t (31-35)	t (36-40)
t (41)	t (42-46)	t (47-51)	t (52-56)	t (57-61)	t (62-66)	t (67-71)	t (72-77)	t (78-82)	t (83-85)

B) Purification par solvants :

Les CCM analytiques des fractions issues de la colonne ont montré l'existence de composés de polarité très différente (composés attachés à la ligne de base et d'autres qui tendent vers le front de solvant), et pour les séparer, les vingt fractions sont soumises à l'extraction par l'hexane. Notant que cette étape a permis l'obtention d'un composé pur selon la CCM analytique (t: 36-46 de la phase hexane).

3.4.4.2 Chromatographie sur couches minces préparatives:

Les fractions qui contiennent peu de composés selon les CCM analytiques (un nombre limité de taches) ont été repurifiées au moyen de chromatographie sur couche mince préparative. Après élution et séchage de la plaque, les composés sont grattés et récupérés dans des béchers. À ce stade, nos composés sont attachés à la silice et pour se débarrasser de cette dernière, une quantité de méthanol a été ajoutée dans chaque bécher pour dissoudre les composés. Une agitation mécanique est nécessaire pour la dissolution complète des composés grattés. Finalement, le tout est filtré sur du papier filtre, qui retient la silice alors que le filtrat est soumis à l'évaporation sous vide.

Les fractions qui ont été repurifiées par CCM préparatives sont les suivantes :

- La fraction (tubes 14-18, phase méthanol).

Après isolement des bandes de cette fraction, nous avons obtenus 17 composés qui ont été quantifiés par pesée au moyen d'une balance analytique. N'étant pas sûr ni de la masse ni de la pureté des composés obtenus, une répurification a mené au composé P₁₂.

- La fraction (tubes 62-66, phase hexane)

Cette fraction comme la précédente contient peu de composés de polarité très différente selon la CCM, donc nous avons joué sur ce point (la différence de polarité) pour la repurifier. Ceci a permis l'obtention de deux autres fractions ; l'une soluble dans le méthanol et l'autre soluble dans l'hexane.

L'analyse de ces deux nouvelles fractions par CCM analytique a montré la pureté de la du composé (PJ₂).

3.5 Dosage des polyphénols

Les polyphénols de la tomate ont été dosés dans deux variétés de tomate fraîche (verte et mûre) cultivées en plein champ ainsi que dans différentes marques de conserve de tomate disponibles dans le marché par le moyen d'une HPLC analytique. L'appareil utilisé était du type Shimadzu (Japan) équipé de :

- Une colonne garnie de silice greffée au C18 de type Nucleosil 100, diamètre des billes de silice de 5µm.

- Un détecteur à lampe UV/vis de type SPD-10Avp.

- Deux pompes (Scl-10AVP) A et B.

- Dégazeur (modèle DGU-14A).

- Un system de control de type SCL-10Avp.

L'ensemble est piloté par un logiciel appelé CLASS-VP 5.0

- Débit : 1mL/mn.

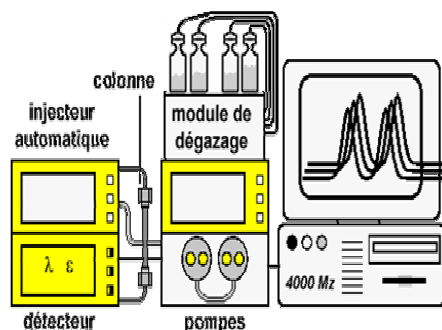


Figure (3.2): Schéma de principe d'une chaîne HPLC

3.5.1 Solvants utilisés

Les solvants utilisés sont A: H₂O/ (TFA (1%)), (97,5/2,5 V/V) et le solvant B était le méthanol grade HPLC.

3.5.2 Préparation des échantillons

a- Préparation des échantillons de tomate fraîche

Les échantillons de tomate fraîche cultivée en plein champ ou sous serre ont été préparés de la même manière. 20 ml de méthanol ont été ajoutés à 4g de matière fraîche pour l'extraction des métabolites secondaires pendant 24 heures avec agitation, le mélange est ensuite filtré.

b- préparation des échantillons de tomate de conserve

Les variétés de tomate de conserve suivantes (CAB, Izdihar, Jouda, Mahbouba et Fide) ont été préparées de la même façon, 10 ml d'acétone plus 5 ml d'eau distillée ont été ajoutés à 1g de conserve de tomate pour l'extraction pendant 2 heures avec agitation, ensuite le mélange est filtré, la matière résiduelle dans le papier filtre a été rincée par 10 ml d'acétone plus 5 ml d'eau distillée afin de dissoudre tous les métabolites existant dans ces échantillons.

c- Préparation de l'écorce de tomate

2g d'écorce de tomate séchée et broyée ont été soumis à l'extraction par 20 ml de méthanol pendant 24 heures avec agitation, l'extraction est répétée 2 fois pendant 48 heures.

3.5.3 Injection

10 µl de l'extrait préparé par le procédé ci-dessus est additionné de 10 µl d'H₂O et sont injectés manuellement dans la boucle d'injection de l'appareil HPLC. La détection se fait à ; 286 et 306 nm (longueurs d'ondes caractéristiques de la plupart des polyphénols).

3.5.3.1 Échantillons de tomate étudiés

- Cinq échantillons de conserve de tomate dans le commerce à Guelma (2009 et 2010). Noms des échantillons de conserve (CAB, Izdihar, Jouda, Mahbouba, Fide).

- Trois échantillons de tomate fraîche cultivée en plein champ, deux verts (Bouaati, Rasselma) et un échantillon de tomate mûre disponible dans le marché.

- Un échantillon de tomate fraîche de serre et un autre de l'écorce de tomate de serre.

3.5.3.2 Standards

Les composés que nous avons dosés sont : la vitamine C, l'acide gallique, la rutine, la quercétine et le reveratrol.

Les acides phénoliques ont été fournis par le groupe GESVAB (France) et sont; l'acide férulique, l'acide sinapique, l'acide gallique, l'acide p-coumarique et l'acide caféique.

3.5.3.3 Préparation des gammes étalons

La solution mère est préparée à la base d'une masse connue de chacun des standards purs dans un volume précis de mélange de solvants (méthanol/DMSO) (v/v). De cette solution mère nous avons fait les injections suivantes : 10, 7,5, 5 et 2,5 µl. Les courbes étalons sont ensuite tracées pour chacun des standards.

3.5.3.4 Gradient

Le gradient utilisé en HPLC analytique est donné dans le (tableau 3.3).

Tableau 3.3 : Gradient HPLC analytique.

Temps (mn :sec)	A%	B%	Débit (ml/min)
1	84	16	1
15	50	50	1
30	30	70	1
45	0	100	1
50	0	100	1
55	84	16	1
60	0	0	1

3.5.4 Intégration

Une intégration consiste à mesurer la surface sous un pic. La détection d'un pic chromatographique par l'intégrateur, dépend de 2 paramètres:

- la largeur attendue des pics
- le seuil d'intégration (sensibilité)

La largeur de pic est à peu près prévisible en fonctions de la technique d'analyse et des conditions opératoires. Elle détermine la fréquence d'échantillonnage du signal. Le pic est alors découpé en tranches. Le seuil d'intégration est la valeur du signal à partir de laquelle le calculateur repère un début de pic. Nous présenterons au chapitre 4, les données d'intégration pour les échantillons de jus étudiés.

Références

1. Chavanne, M, *chimie organique expérimentale*, Belin, 1991
2. Paterson. R, Bridge. P. D. (1994). *Biochemical techniques for filamentous fungi. IMI Technical Handbooks: No1*, International Mycological Institute: U.K.

4. RESULTATS ET DISCUSSION

4.1 Caractérisation des composés isolés de la tomate

A partir de la tomate fraîche, nous avons isolé 03 molécules, qui ont été analysées par spectroscopie infrarouge (IR).

4.1.1 Interprétation des spectres IR

a) Spectre IR de la quercétine

La quercétine pure (témoin) a été analysée par spectroscopie IR afin de comparer son spectre avec les spectres IR des composés isolés à partir de la tomate fraîche pour faciliter l'identification de ces molécules.

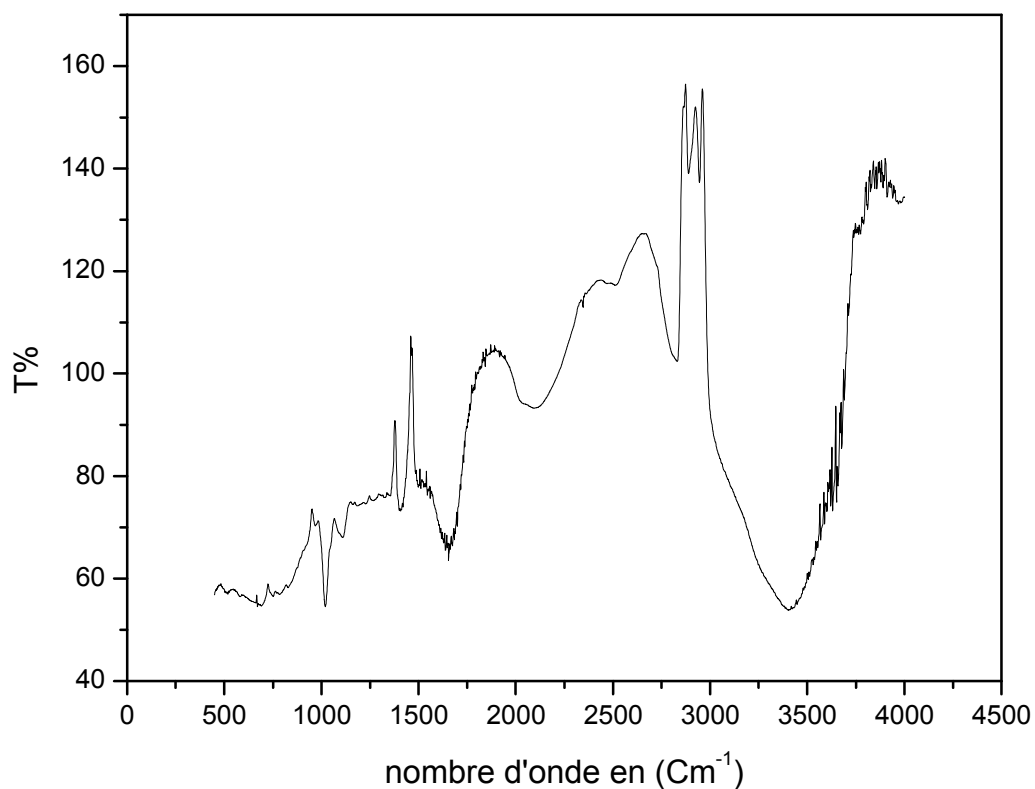


Figure (4.1) : Spectre IR de la quercétine

b) Spectre IR du composé PJ₂

Ce spectre contient essentiellement :

- ❖ Une bande à 1000 cm^{-1} : élongation C-O.

- ❖ Une bande à 1400 cm^{-1} : déformation O-H dans le plan.
- ❖ Une bande à 1500 cm^{-1} : ce qui correspond aux liaisons C=C présente dans le cycle aromatique.
- ❖ Une bande à 2900 cm^{-1} : élongation des C-H aromatique.
- ❖ Une bande large à 3300 cm^{-1} : élongation O-H.

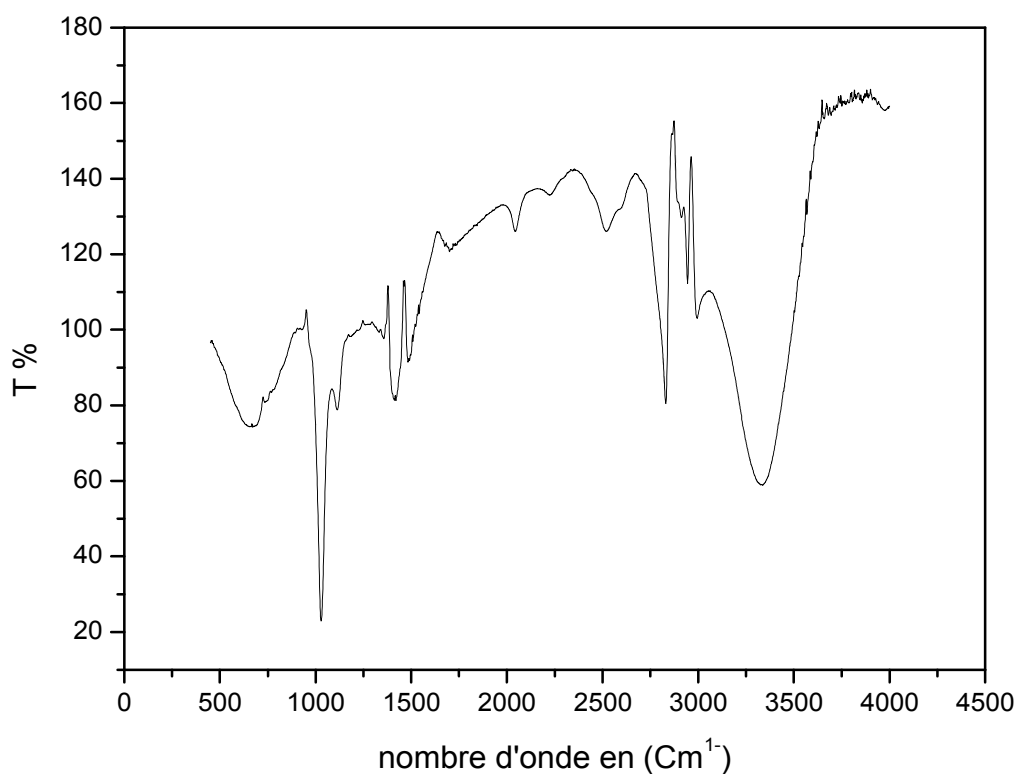


Figure (4.2) : Spectre IR du composé PJ₂

La comparaison de ce spectre avec celui de la quercétine montre que les bandes du composé PJ₂ se superposent parfaitement avec celles de la quercétine, ce qui confirme l'information donnée par CCM analytique (PJ₂ et la quercétine ont le même R_F), donc nous pouvons conclure que le composé PJ₂ ne peut être que la quercétine.

- Formule brute : C₁₅H₁₀O₇.

. Masse moléculaire : 302,24 g/mol.

c) Spectre IR du composé P₁₂

A partir de ce spectre, nous lisons les informations suivantes :

- ❖ Une bande à 1000 cm⁻¹ : élongation C-O.
- ❖ Une bande à 1400 cm⁻¹ : déformation O-H dans le plan.
- ❖ Une bande à 1500 cm⁻¹ : ce qui correspond aux liaisons C=C présente dans le cycle aromatique.
- ❖ Une bande à 2900 cm⁻¹ : élongation des C-H aromatique.
- ❖ Une bande large à 3300 cm⁻¹ : élongation O-H.

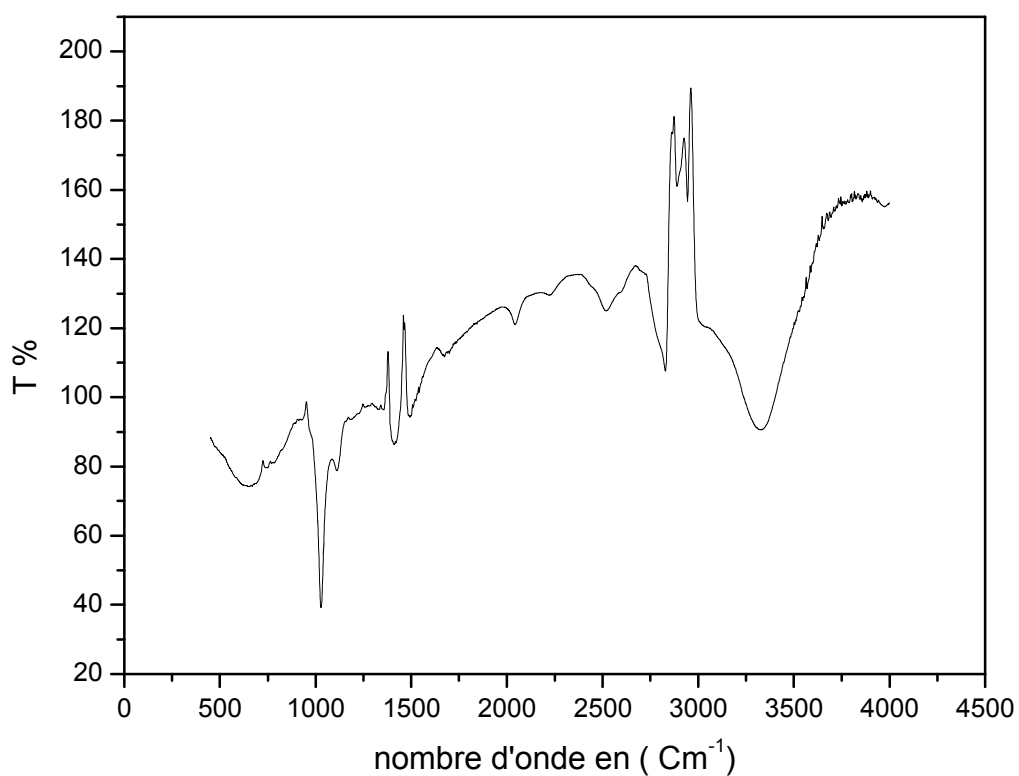


Figure (4.3) : Spectre IR du composé P₁₂

Le composé P₁₂ présente les mêmes bandes que celles du composé PJ₂ et de la quercétine, la conclusion qu'on peut tirer est la suivante : P₁₂= PJ₂=quercétine.

d) Spectre IR du composé (t : 36-46)

- ❖ Une bande à 1000 cm^{-1} : élongation C-O.
- ❖ Une bande à 1400 cm^{-1} : déformation O-H dans le plan.
- ❖ Une bande à 1625 cm^{-1} : élongation C=C des cycles aromatiques.
- ❖ Une bande à 3000 cm^{-1} : élongation C-H des cycles aromatiques.
- ❖ Une bande forte à 3400 cm^{-1} : élongation O-H (fonction alcool).

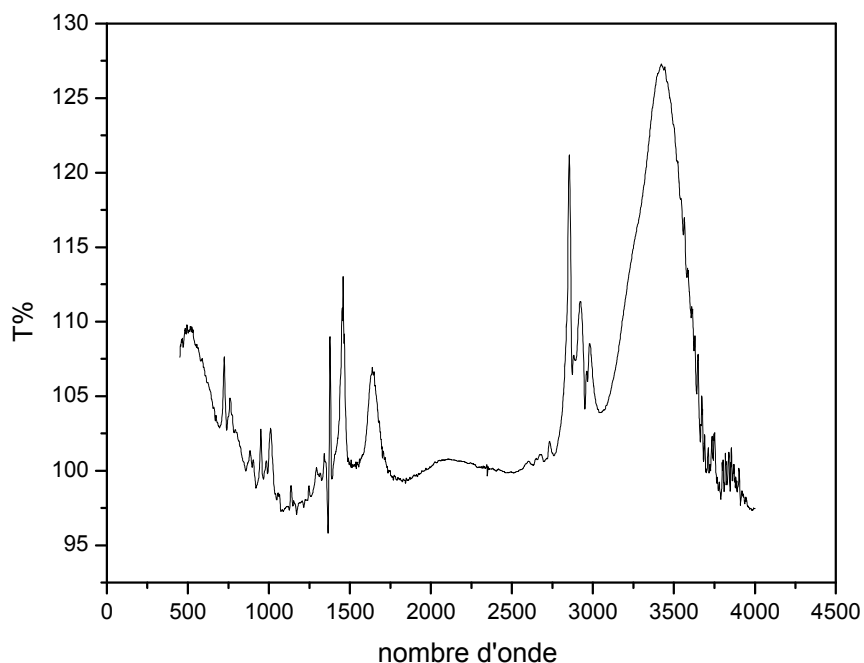


Figure (4.4) : Spectre IR du composé (t : 36-46)

Avec l'IR seule, on ne peut proposer une structure d'un composé inconnu, ce composé a été envoyé en RMN, on est en attente du résultat.

4.2 Dosage des molécules standards dans diverses variétés de tomate fraîche et de conserve

Les molécules qui ont été dosées par HPLC analytique dans les échantillons de tomate fraîche et dans d'autres échantillons de tomate de conserve (cités dans le 3^{ème} chapitre) sont ; un stilbène : Le *trans* resvératrol, deux flavonoïdes : la rutine et la quercétine, un acide phénolique : l'acide gallique et un acide organique : l'acide

ascorbique.

Les spectres HPLC de ces molécules standards ainsi que leurs courbes étalons sont représentés sur les figures ci-dessous.

4.2.1 Quercétine :

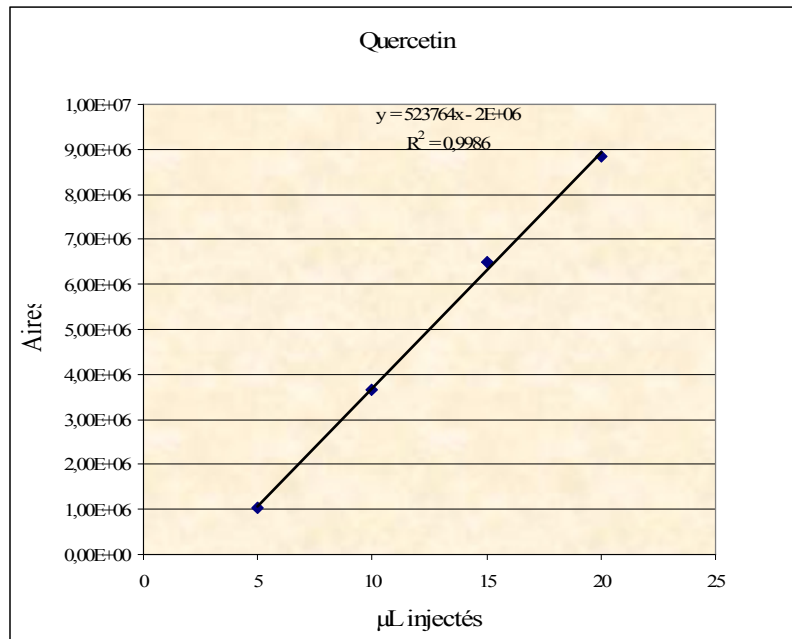


Figure (4.5) : Courbe étalon de la quercétine (quercetin)

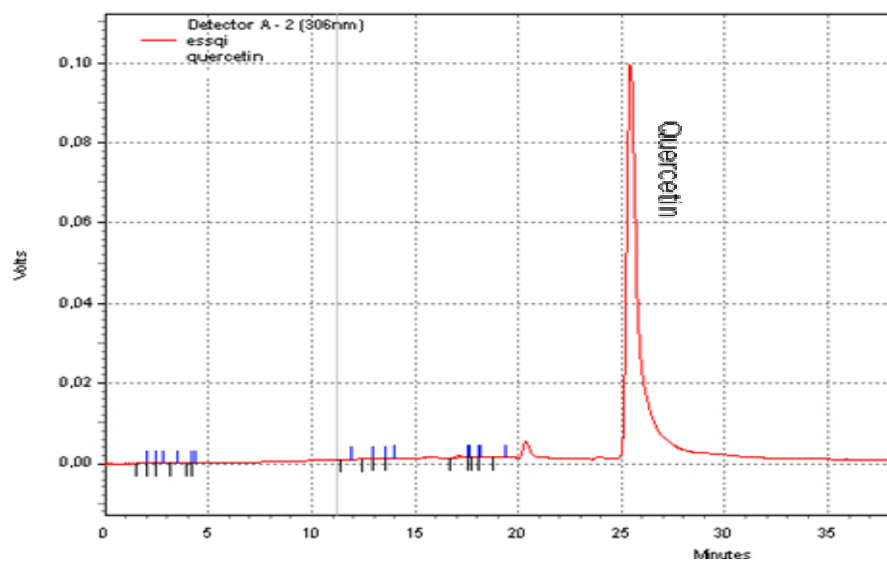


Figure (4.6) : Chromatogramme HPLC de la quercétine

4.2.2 Rutine :

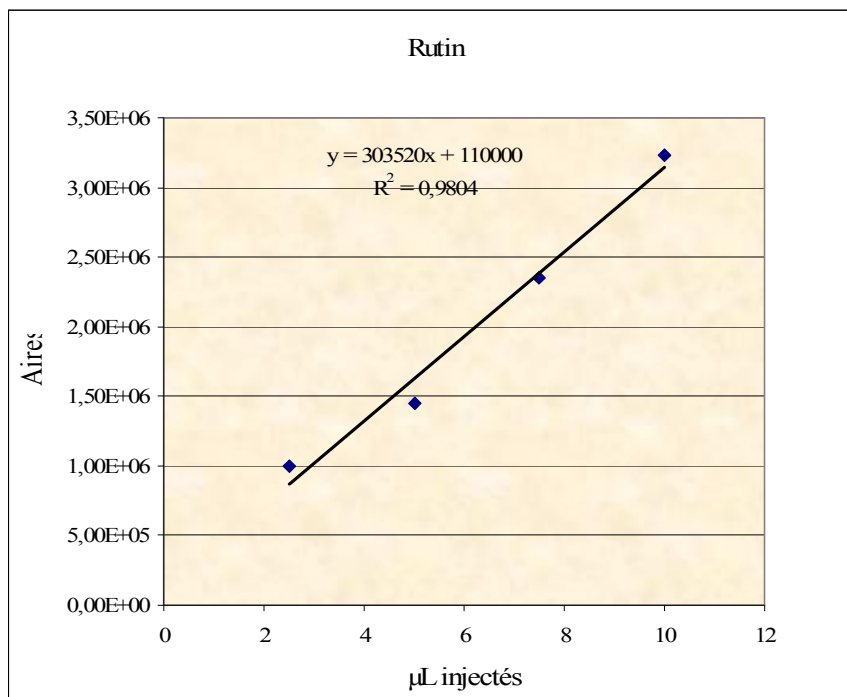


Figure (4.7) : Courbe étalon de la rutine

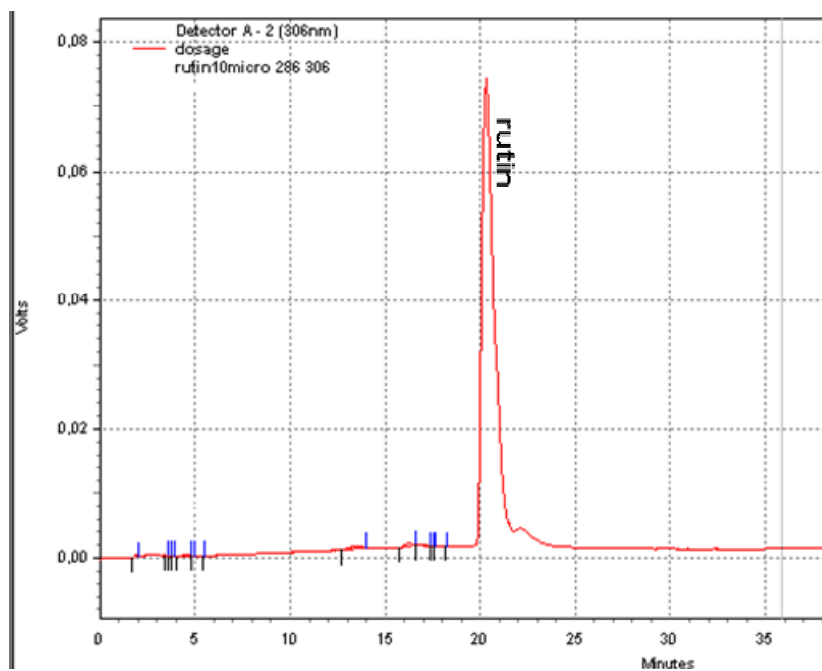


Figure (4.8) : Chromatogramme HPLC de la rutine

4.2.3 Acide gallique :

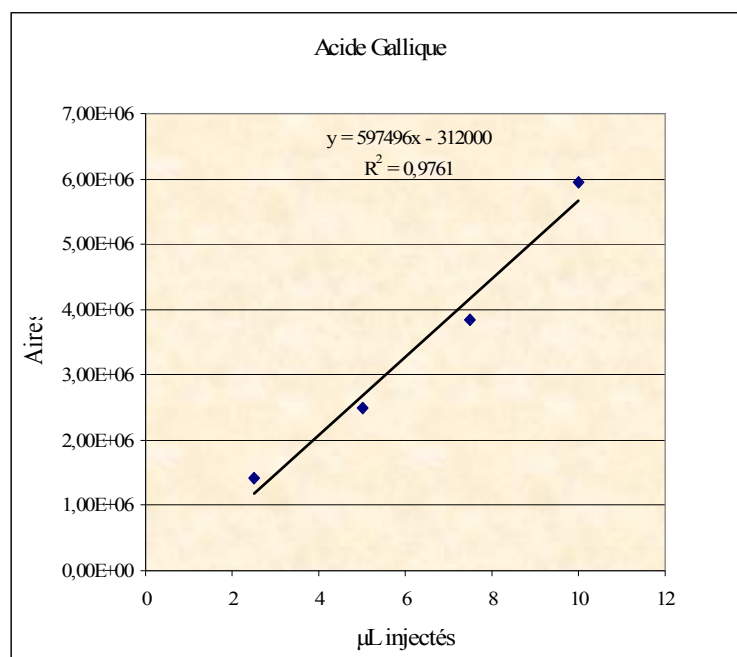


Figure (4.9) : Courbe étalon de l'acide gallique

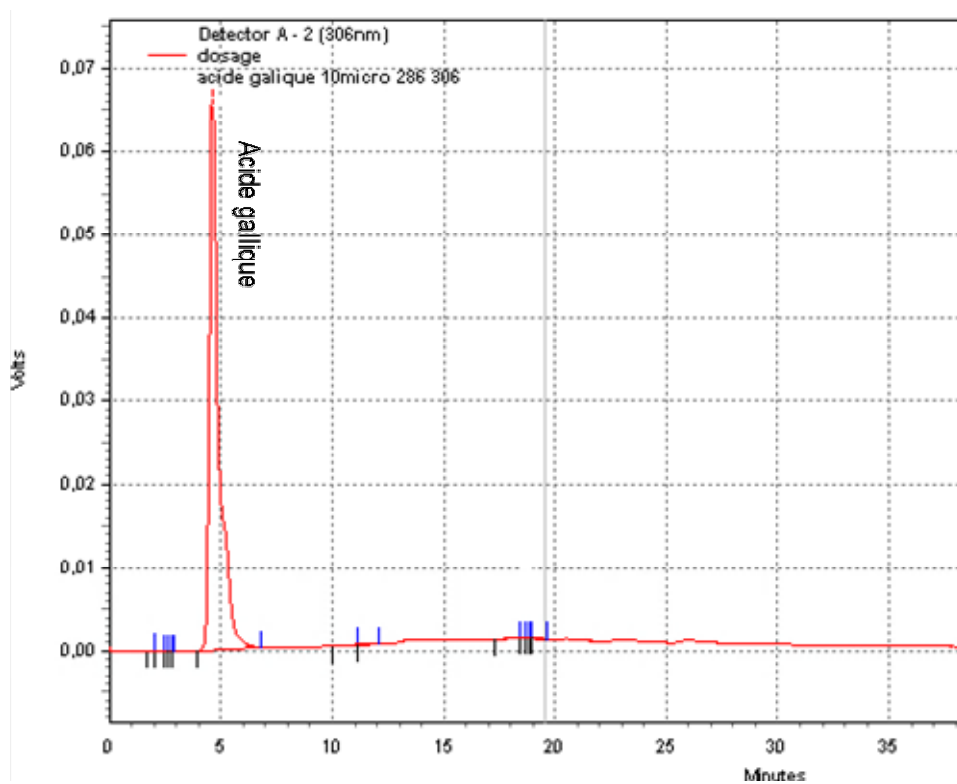


Figure (4.10) : Chromatogramme HPLC de l'acide gallique

4.2.4 Trans resvératrol :

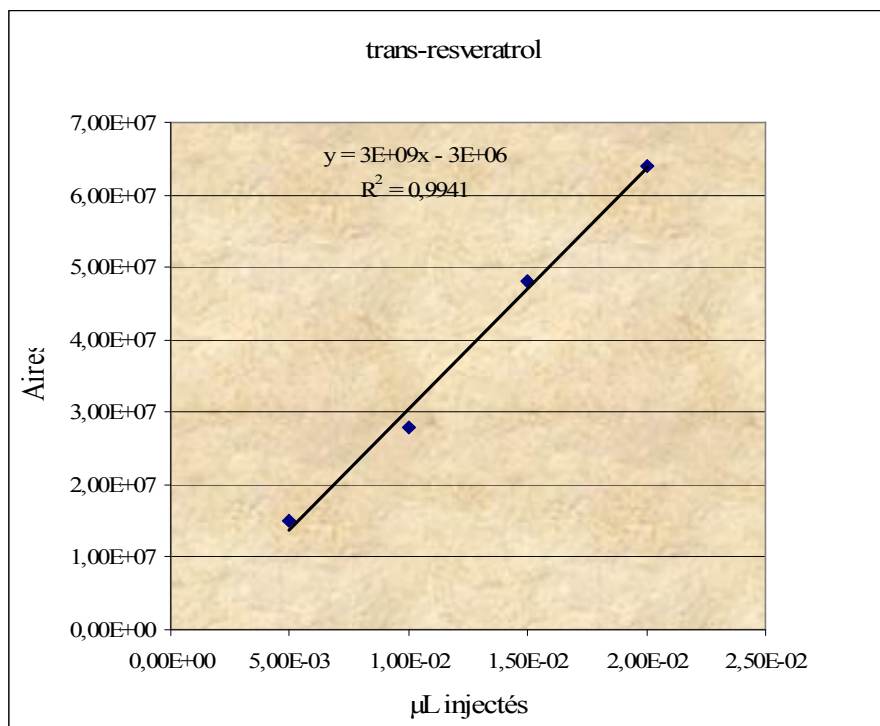


Figure (4.11) : Courbe étalon du *trans* resvératrol

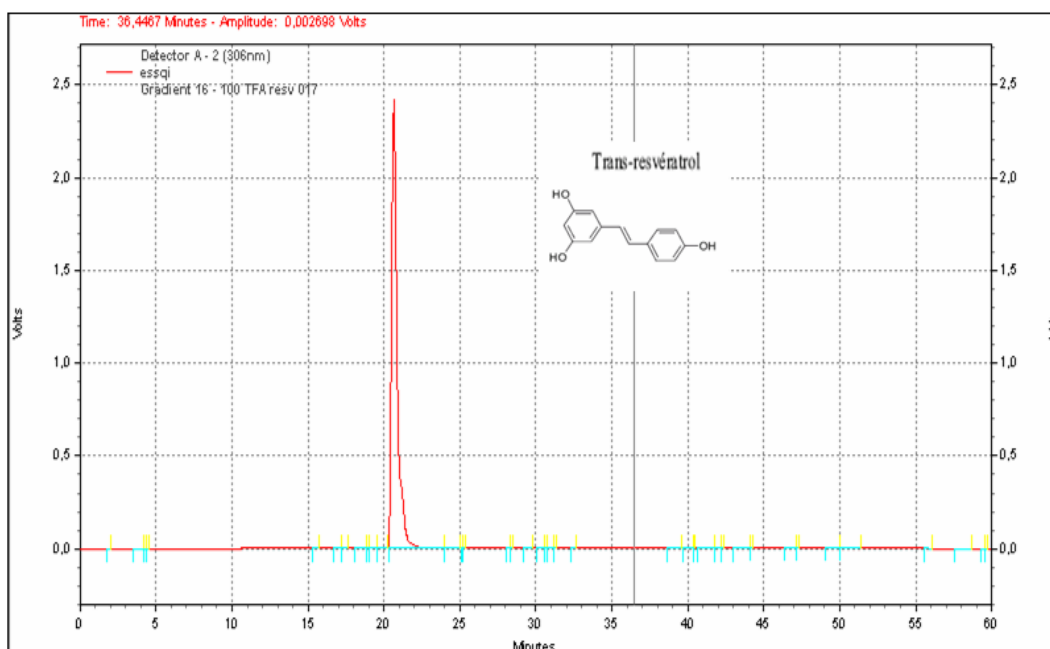


Figure (4.12) : Chromatogramme HPLC du *trans* resvératrol

4.2.4 Acide ascorbique :

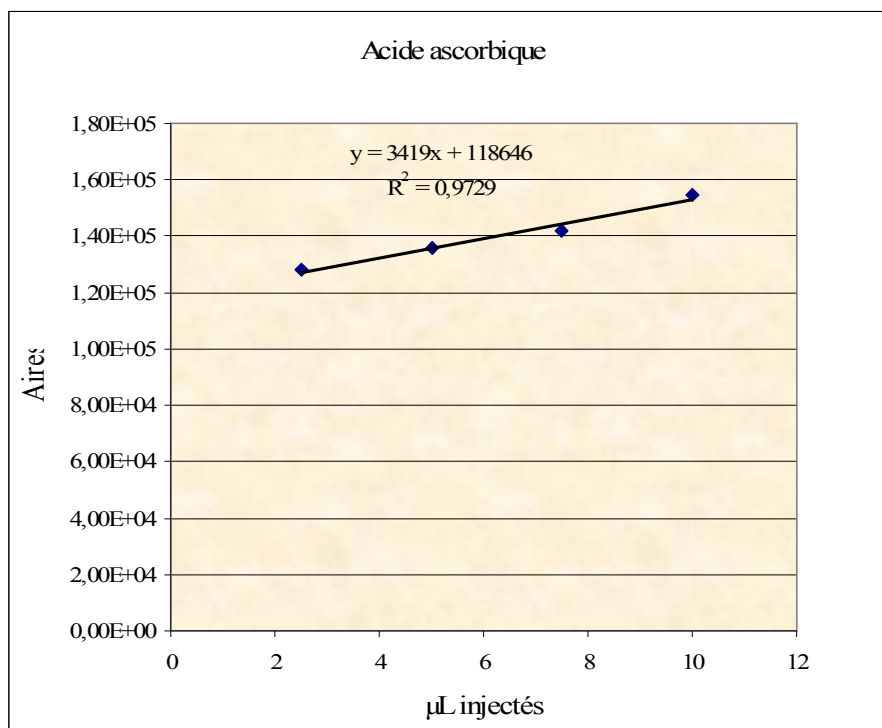


Figure (4.13) : courbe étalon de l'acide ascorbique

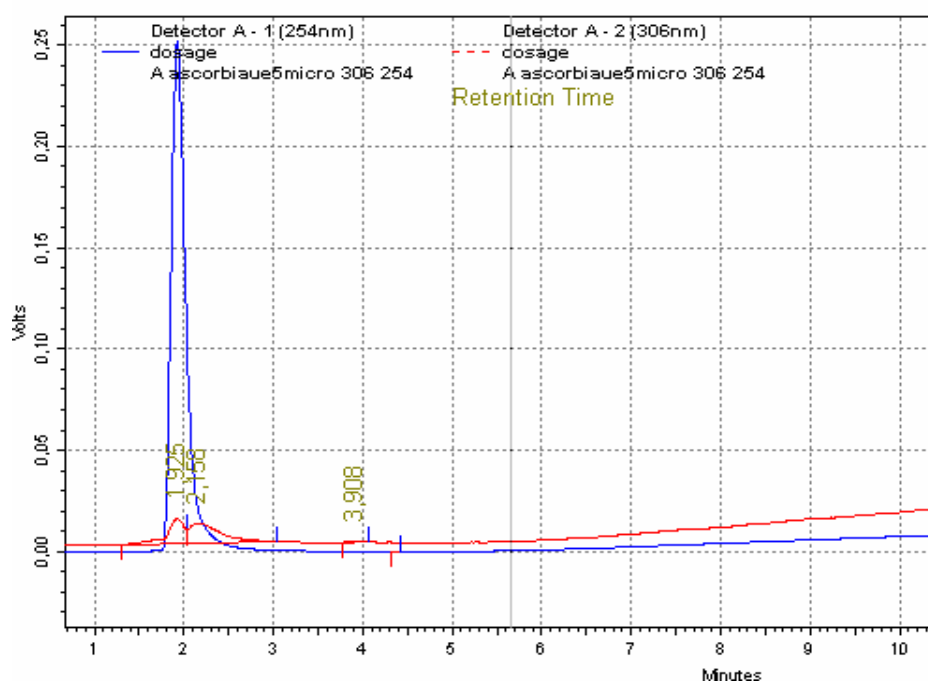


Figure (4.14) : Chromatogramme HPLC de l'acide ascorbique

4.3 Les Chromatogrammes HPLC des échantillons dosés

Nous représentons ci-dessous les chromatogrammes HPLC des différents échantillons de tomate étudiés montrant les temps de rétention et la nature des pics (NI= non identifié).

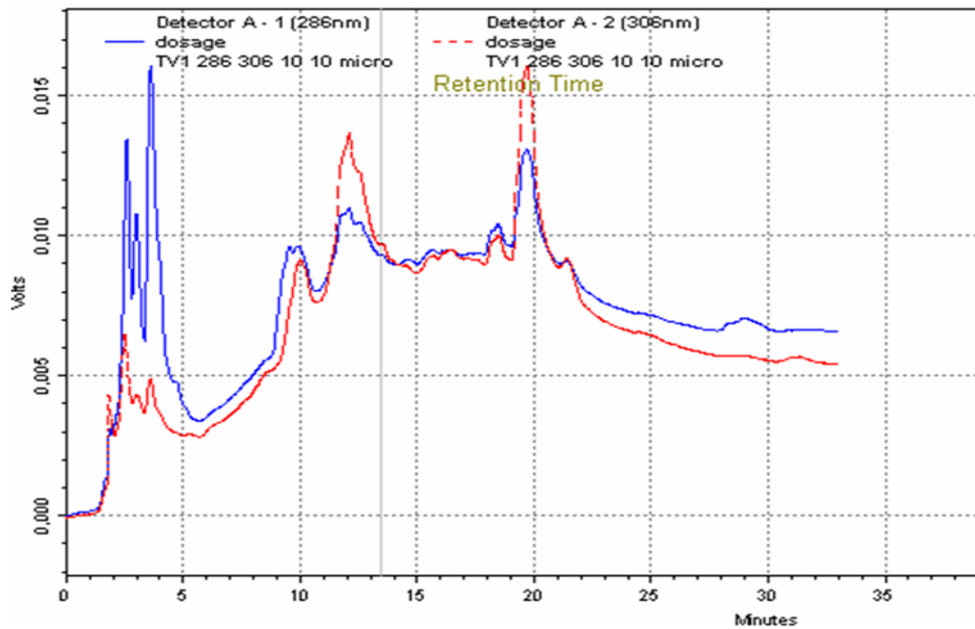


Figure (4.15) : Chromatogramme HPLC de TV1
1(acide ascorbique) ; t_r : 2,96 min, 2 (NI) ; t_r : 10 min, 3 (NI) ; t_r : 12,06 min, 4 (rutine) ; t_r : 19,66 min 5(resvératrol) ; t_r : 21 min.

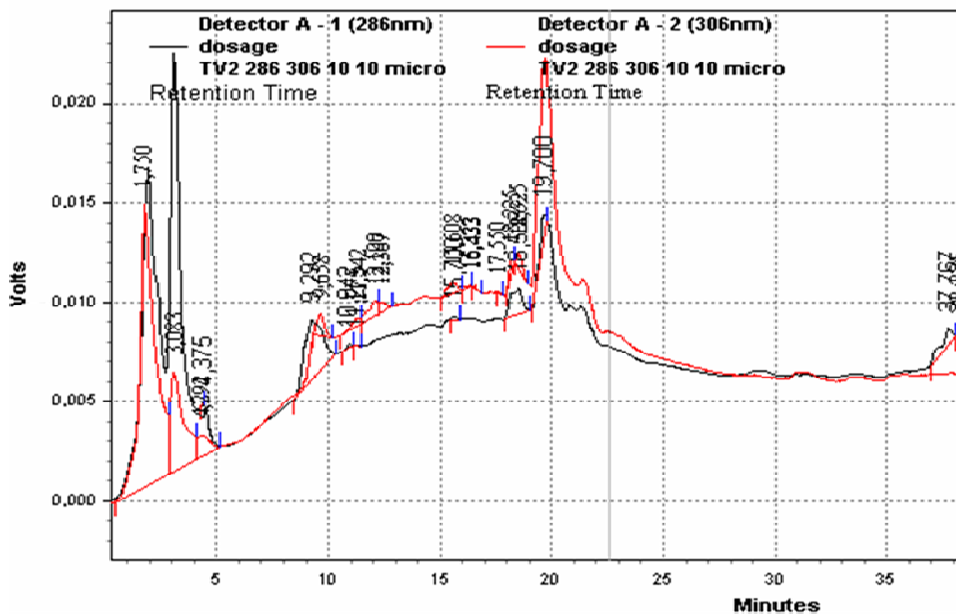


Figure (4.16) : Chromatogramme HPLC de TV2
1(acide ascorbique) ; t_r : 3,08 min, 2 (NI) ; t_r : 9,63 min, 3 (NI) ; t_r : 18,50 min, 4 (rutine) ; t_r : 19,70 min, 5(resvératrol) ; t_r : 21 min.

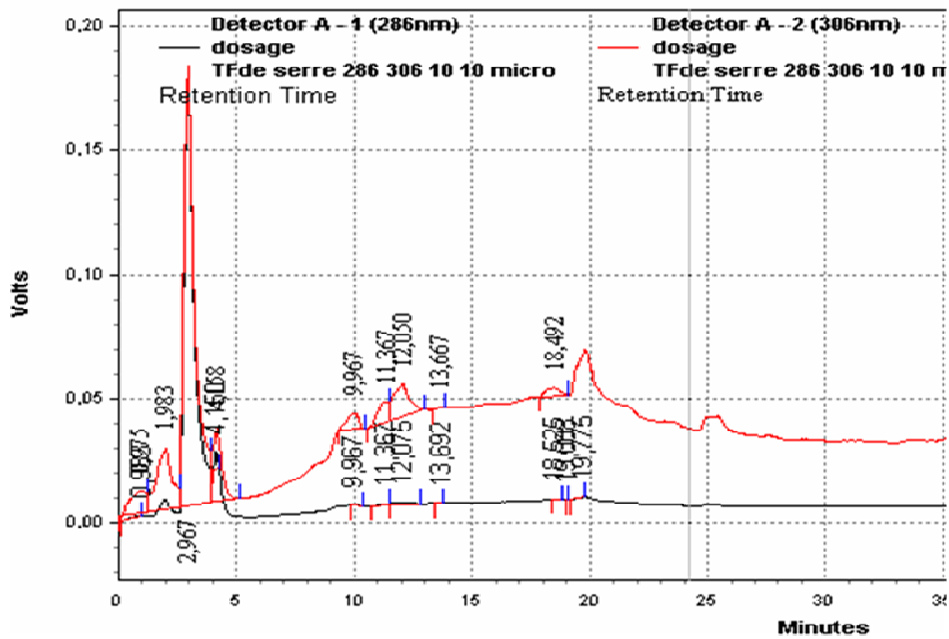


Figure (4.17) : Chromatogramme HPLC de la tomate mûre de serre
 1(acide ascorbique) ; tr : 2.96 min, 2 (acide gallique) ; tr : 4.16 min, 3 (NI) ; tr : 9.96 min, 4 (NI) ; tr : 12.09 min, 5(rutine) ; tr : 19.77 min, 5(quercétine) ; tr : 25 min.

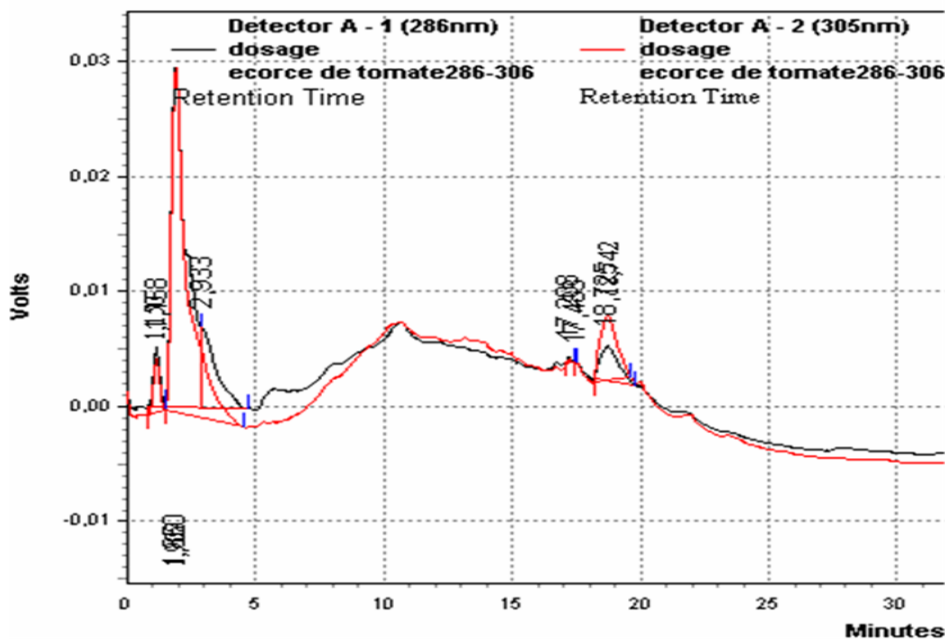


Figure (4.18): Chromatogramme HPLC de l'écorce de tomate
 1(acide ascorbique) ; tr : 2.93 min, 2 (NI) ; tr : 10.60 min, 3 (NI) ; tr : 17.48 min, 4 (NI) ; tr : 18.72 min, 5(resvératrol) ; tr : 21.50 min.

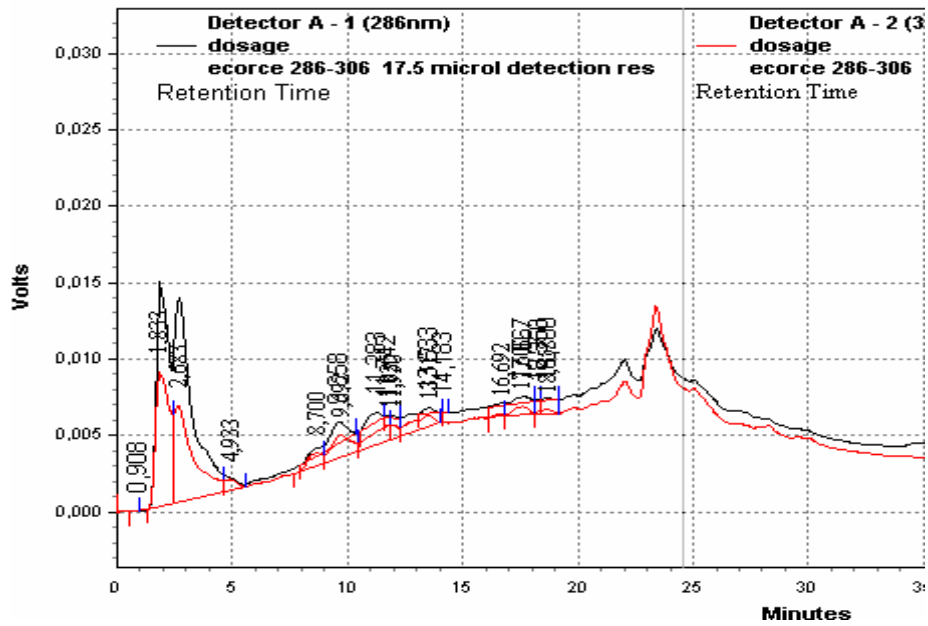


Figure (4.20) : Chromatogramme HPLC de l'écorce de tomate (détection du *trans*-resvératrol)

Dans ce Chromatogramme l'absorbance à $t_r= 23.31$ min est de 0.014.

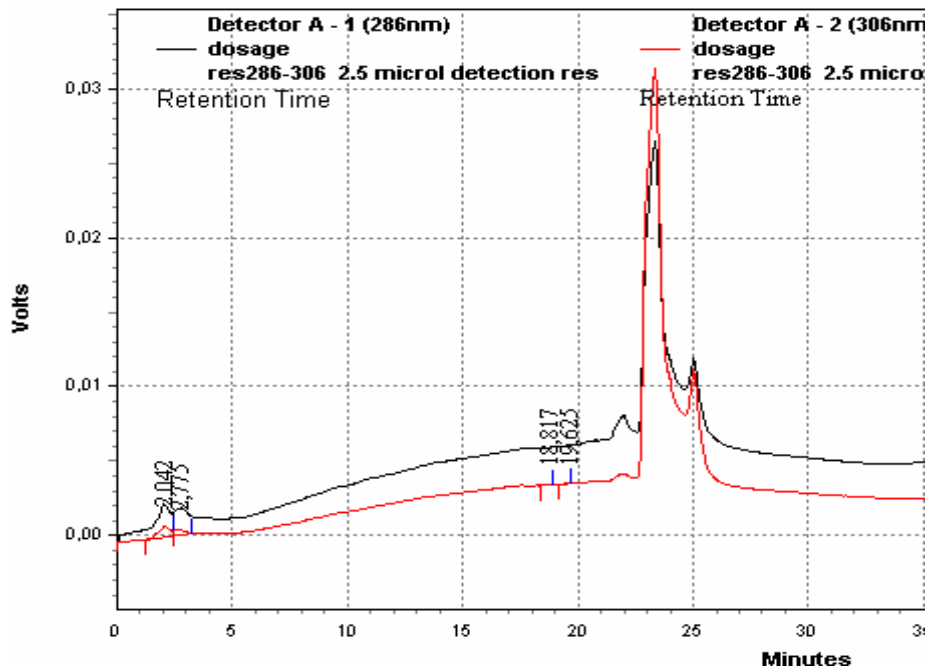


Figure (4.21) : Chromatogramme HPLC du resvératrol (nouveau gradient)

L'absorbance du *trans*-resvératrol pur est de 0.032.

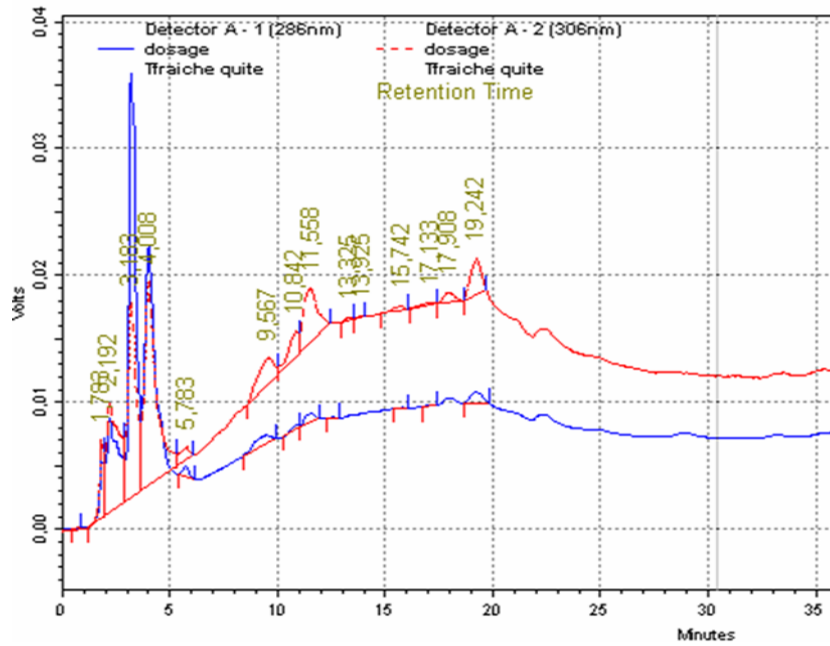


Figure (4.22) : Chromatogramme HPLC de la tomate cuite
 1(acide ascorbique) ; tr: 3.18 min, 2 (acide gallique) ; tr: 4.07 min, 3 (NI) ; tr: 9.56 min, 4 (NI) ; tr: 11.55 min, 5(rutine) ; tr: 19.25 min.

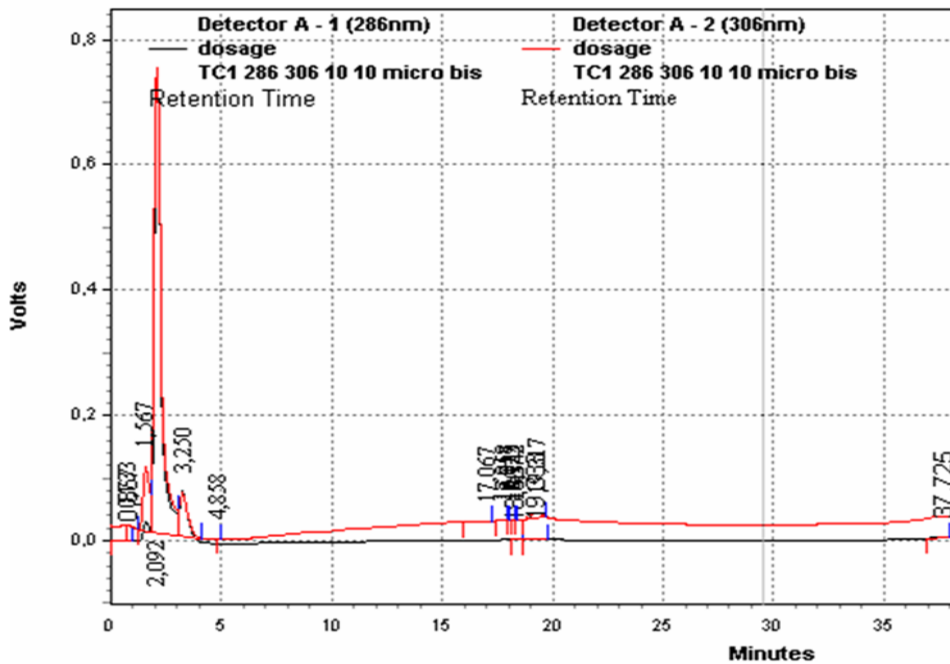


Figure (4.23) : Chromatogramme HPLC de TC1
 1(acide ascorbique) ; tr: 2.09 min, 2 (rutine) ; tr: 19.31 min.

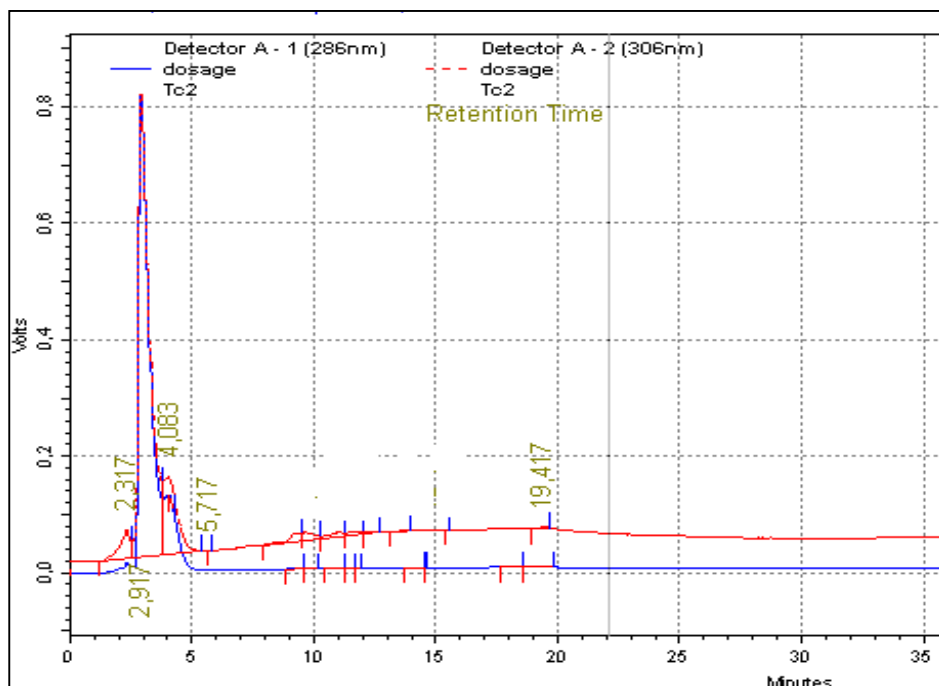


Figure (4.24) : Chromatogramme HPLC de TC2

1(acide ascorbique) ; t_r : 2.91 min, 2 (acide gallique) ; t_r : 4.08 min, 3 (NI) ; t_r : 9.54 min

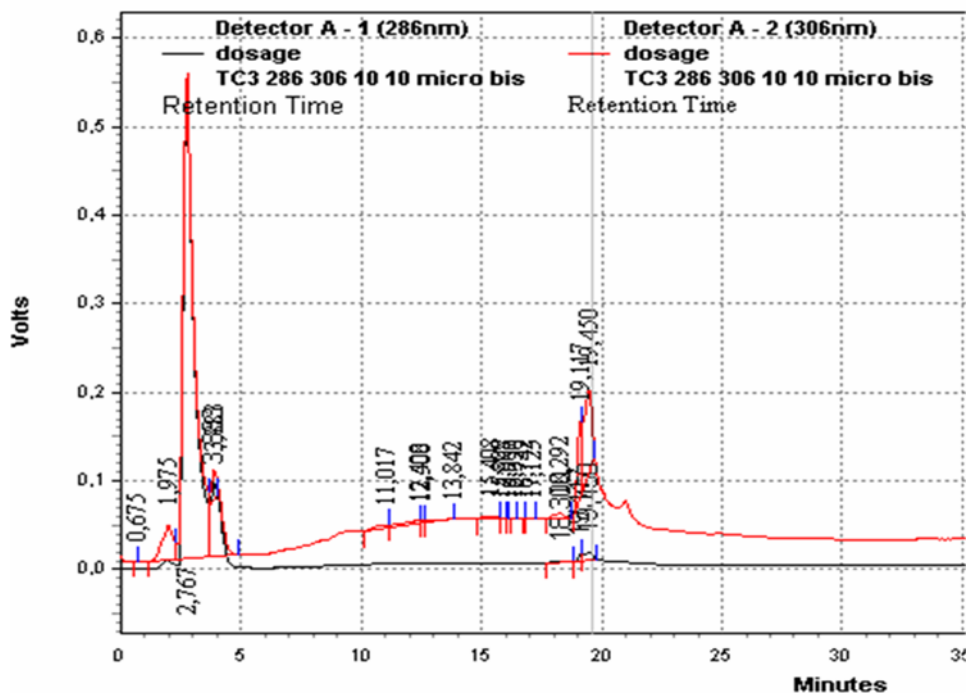


Figure (4.25) : Chromatogramme HPLC de TC3

1(acide ascorbique) ; t_r : 2.76 min, 2 (acide gallique) ; t_r : 3.88 min, 3 (rutine) ; t_r : 19.45.

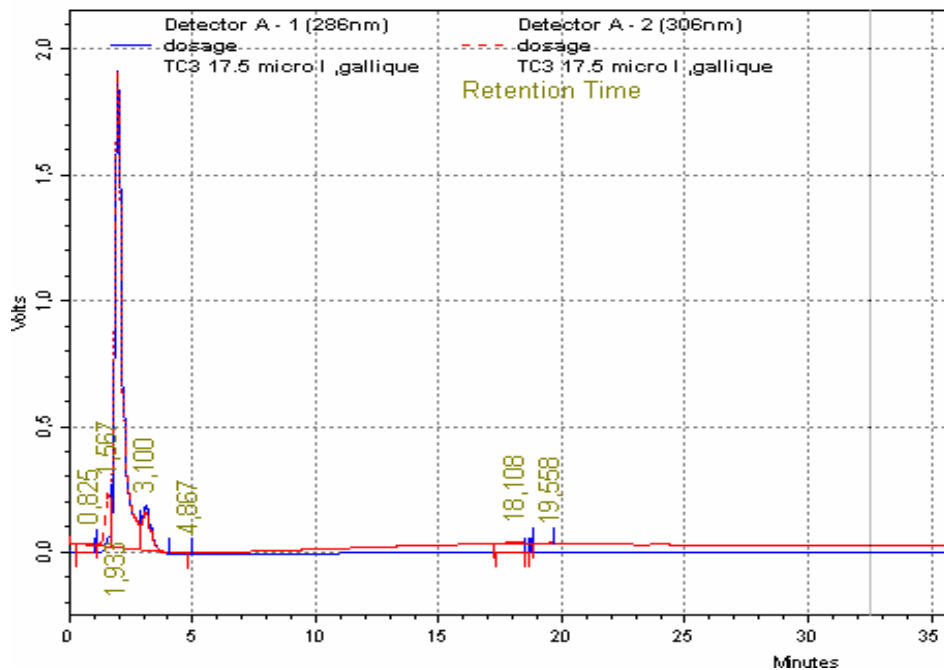


Figure (4.26) : Chromatogramme HPLC de TC3 (détection de l'acide gallique)

Pour confirmer l'existence de l'acide gallique dans la tomate, nous avons procédé à une co-injection de celui-ci avec TC3, nous avons pu confirmer que le pic sortant vers $t_r=4$ min correspond bien à celui de l'acide gallique.

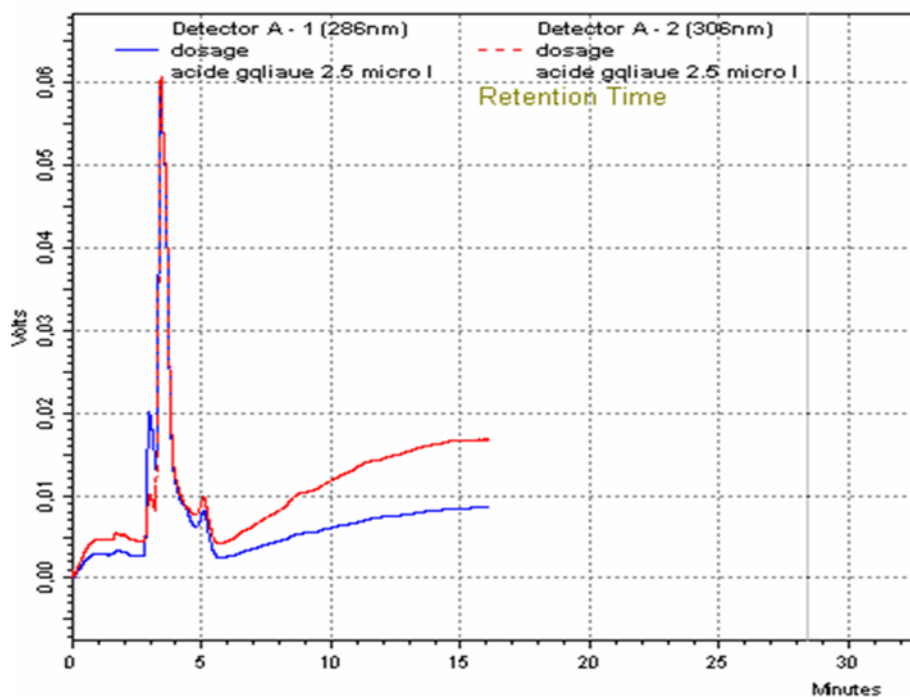


Figure (4.27) : Chromatogramme HPLC de l'acide gallique ($t_r=4$ min).

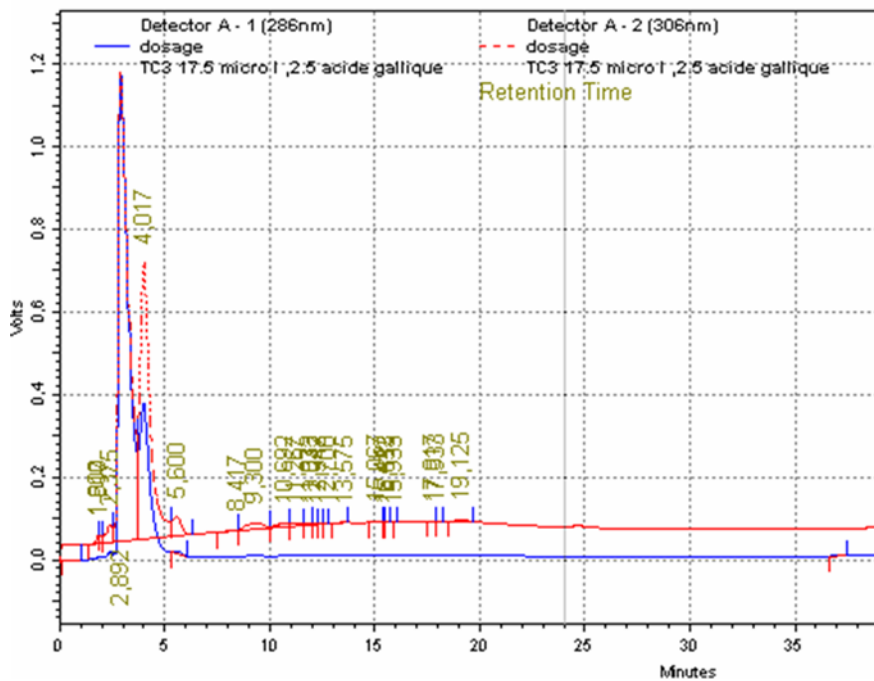


Figure (4.28) : Chromatogramme HPLC de TC3+ l'acide gallique

Ce chromatogramme montre l'augmentation de l'absorbance de l'acide gallique par co-injection avec TC3.

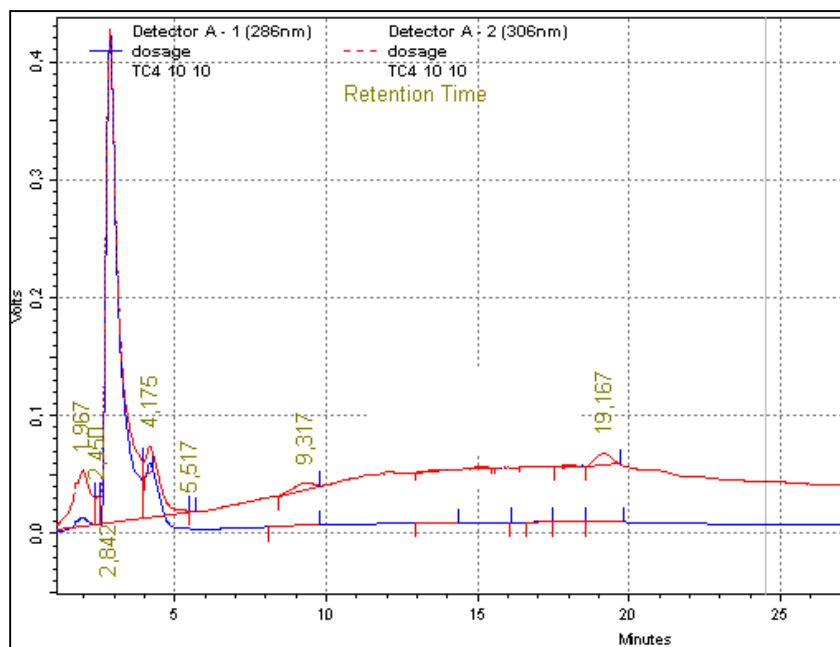


Figure (4.29) : Chromatogramme HPLC de TC4

1(acide ascorbique) ; tr : 2.84 min, 2 (acide gallique) ; tr : 4.17 min, 3 (NI) ; tr : 9.31

min, 4 (rutine) ; t_r : 19.16 min.

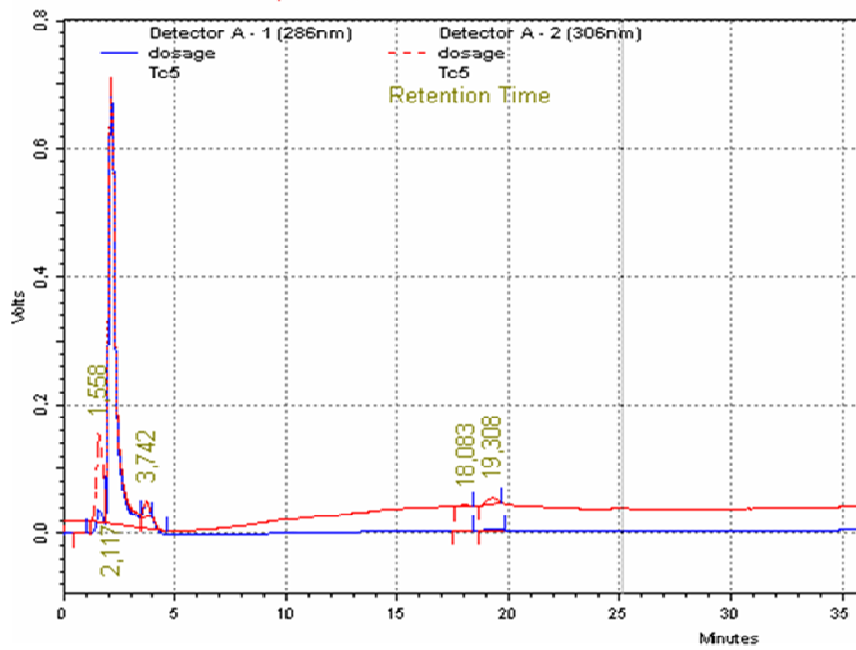


Figure (4.30) : Chromatogramme HPLC de TC5

1(acide ascorbique) ; t_r : 2.11 min, 2 (acide gallique) ; t_r : 3.74 min, 3 (rutine) ; t_r : 19.30min.

4.4 Concentrations des molécules standards dans les divers échantillons de tomate étudiés :

Les concentrations des molécules dosées dans les divers échantillons de tomate sont données dans le (tableau 4.1) ci-dessous :

Tableau 4.1 : Concentration des molécules d'intérêt dans les échantillons de tomate étudiés

Les variétés de tomate fraîche	Concentrations des molécules étudiées (mg/Kg)				
	Acide ascorbique	rutine	Acide gallique	Resvératrol	Quercétine
Tomate verte de la région de Rasselma (TV1)	0.8	0.46	Nd	2	Nd
Tomate verte de la région de Bouaati (TV2)	6.14	0.67	Nd	0.206	Nd
Tomate mûre de serre	136	0.23	0.42	Nd	2.8
Écorce de tomate mûre de serre	20	Nd	Nd	0.227	Nd
Tomate de serre cuite	14	0,13	4.1	Nd	Nd
Les variétés de tomate de conserve					
CAB (TC1)	50	0.15	Nd	Nd	Nd
Izdihar (TC2)	53.4		15	Nd	Nd
Jouda (TC3)	453	0.82	1.52	Nd	Nd
Mahbouba(TC4)	267	0.12	8.6	Nd	Nd
Fide (TC5)	45	0.19	0.7	Nd	Nd

Nd = non détecté.

4.5 Discussion

Les concentrations des composés dosés dans les divers échantillons de tomate étudiés (tableau 4.1) sont calculées à partir des aires des pics des chromatogrammes de l'HPLC analytique et des courbes étalons de chaque composé standard pur.

Comme il est montré dans le tableau (4.1), on peut remarquer que certains composés ne sont pas présents dans certains échantillons de tomate. La première remarque issue de ce tableau est l'existence des deux molécules (l'acide ascorbique et la rutine) presque dans tous les échantillons étudiés, de tomate fraîche soient-ils ou de conserve.

La vitamine C (l'acide ascorbique) trouve sa teneur maximale dans la tomate de conserve notamment dans la marque Jouda avec 453mg/Kg, suivi de la marque Mahbouba, puis dans la tomate mûre avec 136mg/Kg, alors que sa faible teneur se trouve dans les tomates vertes (immatures) surtout celle de la variété Orange King (0.8 mg/Kg).

Concernant la rutine, nous remarquons que les tomates vertes en contiennent les concentrations les plus élevées par rapport à tous les autres échantillons, à l'exception de la tomate de conserve Jouda qui possède la teneur maximale en rutine (0.82 mg/Kg).

En ce qui concerne l'acide gallique nous remarquons que ce dernier est quasiment absent dans les tomates vertes ainsi que dans l'écorce de tomate tandis qu'il est fortement présent dans les conserves de tomate surtout celui de Izdihar (15mg/Kg) et Mahbouba.

Pour ce que est du *trans* resvératrol, il existe seulement dans les tomates vertes, avec une teneur maximale de (2 mg /Kg) trouvée dans la variété de Rasselma et dans l'écorce de tomate mûre (0.227 mg/Kg) mais il n'a été détecté dans aucun échantillon de tomate de conserve. La présence de ce composé dans la peau de tomate ainsi que dans la tomate en véraison explique bien le rôle de phytoalexine de ce composé, qui vise à protéger la plante au cours de sa croissance de divers facteurs de stress, ici, sûrement, il travaille en synergie avec d'autres molécules de la tomate.

La quercétine se trouve seulement dans la tomate mûre avec une teneur comparable aux résultats publiés (3mg/Kg).

Nous avons aussi étudié l'effet de la cuisson (pendant une heure à l'eau et à feu vif) sur la composition chimique de la tomate. Une injection de l'extrait de tomate cuite et un examen du chromatogramme qui en découle nous a permis de remarquer que la cuisson influe sérieusement sur la concentration de la plupart des composés biologiquement actifs.

Particulièrement, pour la quercétine nous remarquons sa disparition complète dans la tomate cuite. Mais nous remarquons l'augmentation de la concentration de l'acide gallique.

Conclusion

Ce mémoire de Magister a été réalisé au laboratoire de chimie appliquée (Université de Guelma) en vue de chercher les polyphénols notamment les stilbènes et les flavonoïdes et de les doser par HPLC analytique dans la tomate (*Lycopersicon esculentum*) fraîche et aussi dans les conserves de tomate pour voir les effets de la transformation de la tomate fraîche en tomate de conserve.

En utilisant la chromatographie sur colonne et la chromatographie sur couche mince préparative nous sommes arrivés à purifier la quercétine et d'autres molécules (pas encore identifiées).

Les résultats obtenus de dosage par HPLC montrent ;

- ❖ L'existence des deux molécules : acide ascorbique et rutine presque dans tous les échantillons étudiés, de tomate fraîche soient-ils ou de conserve.
- ❖ La tomate de conserve est la plus riche en vitamine C et en acide gallique.
- ❖ Le resvératrol existe dans les tomates vertes ainsi que dans l'écorce de tomate.
- ❖ La quercétine se trouve seulement dans la tomate mûre.

Nous pouvons aussi conclure l'effet de la cuisson de la tomate sur sa composition en molécules biologiquement actives, la cuisson de la tomate fait réduire la teneur de tous ses composés qui ont des activités biologiques. Particulièrement, pour la quercétine nous remarquons sa disparition complète dans la tomate cuite, nous remarquons par contre que la quantité d'acide gallique augmente par cuisson de la tomate.

En conclusion, les échantillons de tomate étudiés montrent que ce légume n'est pas particulièrement riche en composés polyphénoliques que nous recherchons, mais plutôt en acide ascorbique (chose connue) mais nous avons remarqué que la tomate renferme des composés dont nous n'avons pas les standards et restent pour le moment non identifiés et non quantifiés. Ceci pourra bien être une perspective pour compléter ce travail.