

LES CAROTÉNOÏDES DES FRUITS

par

G. MACKINNEY

Department of Nutritional Sciences, University of California, Berkeley (U. S. A.).

INTRODUCTION

Il nous semble utile de commencer cet article par une présentation générale des caroténoïdes comprenant des sujets tels que l'extraction à partir des tissus végétaux, la séparation d'avec les autres matières colorantes, leurs propriétés, les moyens d'identification, leurs fonctions, etc. La documentation provient de monographies et de revues récentes ; nous les mentionnons à la fin de cette première partie.

Vient ensuite une seconde partie traitant spécialement des caroténoïdes des fruits.

Cette partie comporte la documentation habituelle et en outre l'auteur y expose ses vues personnelles. Le mélange de caroténoïdes dans un fruit peut être extrêmement complexe ; il n'est pas rare d'y trouver 15 ou 20 composés. Et l'on s'étonne du métabolisme nécessaire à une élaboration si complexe. Dans les quelques cas qui ont été approfondis, il est évident que des changements très importants peuvent apparaître dans la composition du mélange.

Il est donc toujours intéressant de connaître d'une part les bases génétiques et, d'autre part, les conditions de milieu pour la croissance qui permettent à un phéno-type particulier d'accumuler son mélange de caroténoïdes, souvent hautement caractéristique.

Les matières colorantes des plantes sont divisées en groupes de composés qui n'ont qu'un seul caractère commun : elles apparaissent colorées pour l'œil humain. Elles sont très différentes de fonctions et de structure. Il y a trois catégories principales qui se trouvent virtuellement associées dans les végétaux supérieurs. Ce sont : les caroténoïdes, les chlorophylles et les flavo-

noïdes. Ces derniers comprennent les pigments floraux communs : les anthocyanines et anthoxanthines. D'autres types se rencontrent soit de façon sporadique, comme la plupart des anthraquinones et des naphthoquinones, soit à des concentrations si basses qu'ils ne contribuent pas de façon significative à la couleur, par exemple, la riboflavine ou la vitamine K.

SÉPARATION DES MATIÈRES COLORANTES

La majeure partie des flavonoïdes se trouvent dans la nature sous forme d'hétérosides. En raison de la présence de sucre, ils sont normalement modérément solubles dans l'eau. Les chlorophylles et les caroténoïdes ne le sont pas. Si donc le tissu de la plante est traité à l'acétone ou à l'alcool, et si l'extrait est alors réparti entre deux solvants non miscibles, comme

l'éther de pétrole et l'eau, les chlorophylles et les caroténoïdes se trouveront dans la phase supérieure non polaire et les flavonoïdes dans la phase aqueuse inférieure plus polaire.

Dans la nature, les chlorophylles sont estérifiées. Lors d'une saponification par la potasse alcoolique, il y aura formation de sels de potassium hydrosolubles.

Ainsi les caroténoïdes passeront dans la couche supérieure d'éther de pétrole séparés des chlorophylles et des flavonoïdes.

Parfois, cependant, certains problèmes particuliers se posent. Pour des raisons que nous exposerons plus loin, il faut éviter l'emploi de la chaleur pendant l'extraction. Or le pigment d'une tomate bien rouge n'a qu'une solubilité limitée dans l'acétone. Pour éviter tout retard inutile dans l'extraction du pigment, il est parfois préférable de broyer d'abord le fruit avec de l'alcool ou de l'acétone, d'éliminer ainsi l'eau et probablement un peu de pigment puis de compléter l'extraction avec un autre solvant, tel que le benzène.

Certains caroténoïdes existent sous forme d'esters. Dans ce cas, le traitement alcalin entraîne des changements dans le partage. L'ester épiphase (de la phase supérieure) devient hypophase (de la phase inférieure) après saponification. D'autres caroténoïdes ont un caractère acide dû soit à un groupe carboxyle soit à un groupe carbonyle énolisable. Cependant les tissus contenant de tels caroténoïdes sont habituellement dépourvus de chlorophylle.

En général, donc, le procédé indiqué ci-dessus permet d'extraire le caroténoïde et de le séparer des autres matières colorantes dès le premier extrait à l'alcool ou à l'acétone. La solution dans l'éther de pétrole, ainsi obtenue, variera du jaune au rouge selon les caroténoïdes en présence et leur concentration.

La solution peut contenir un mélange très compliqué de caroténoïdes, avec vingt constituants ou plus ; il se peut également qu'un seul des consti-

tuants du mélange représente 90 ou 95 % du total.

Les méthodes de séparation comprennent la division en deux phases, par exemple l'éther de pétrole et l'alcool aqueux. Les techniques d'extraction à contre-courant ont permis la mise au point d'une méthode efficace pour séparer les caroténoïdes en classes : par exemple les hydrocarbures, monols, diols, céto-caroténoïdes, epoxymonols et diols, polyols, etc.

Les composants individuels d'une même classe, ainsi obtenue, sont alors séparés par chromatographie d'adsorption. Dans le procédé-type de Tswett une colonne est partiellement remplie d'un adsorbant convenable, par exemple CaO, MgO, MgCO₃ selon les besoins. La solution à analyser est versée sur la colonne et une aspiration est appliquée à la base. Des zones colorées apparaissent, et le chromatogramme est « développé » en ajoutant du solvant nouveau. Chaque pigment du mélange qui est adsorbé descend dans la colonne selon un ordre caractéristique. Si l'adsorbant et le solvant ont été judicieusement choisis, et les quantités correctement mesurées, chacun des caroténoïdes présents peut être recueilli lorsqu'il sort de la colonne, débarrassé de tous les autres composants plus faiblement adsorbés qui l'ont précédé, ainsi que de tous ceux plus fortement adsorbés qui descendent plus lentement dans la colonne.

Dans la majorité des cas, on obtiendra séparément les composants individuels débarrassés de tous les autres pigments présents dans l'extrait original.

DÉFINITION ET CLASSIFICATION DES CAROTÉNOÏDES

La figure I donne la représentation schématique de plusieurs caroténoïdes bien connus ; leurs ressemblances fondamentales comme leurs différences relativement mineures y apparaissent nettement. Tous sont de longues chaînes d'hydrocarbures polyènes ou leurs dérivés oxygénés, et le groupe chromophore est constitué par la double liaison C = C en conjugaison avec d'autres doubles liaisons. Par « conjugaison » on entend qu'il y a alternativement dans la chaîne une simple liaison et une double liaison. Jusqu'ici, ceci définit simplement un polyène. Les traits caractéristiques qui font des caroténoïdes une classe naturelle de polyènes sont doubles :

1° On retrouve fréquemment dans sa chaîne la configuration carbonée de l'isoprène (méthylbutadiène).

2° A chaque extrémité de la molécule, la configuration est celle d'une liaison de tête à queue des résidus d'isoprène vers le centre. Ceci signifie qu'il existe au centre une liaison queue à queue.

Les isoprénoïdes comprennent un extraordinaire groupe de composés naturels : les caoutchoucs, les terpènes, les caroténoïdes ; de plus, on trouve dans des composés tels que la chlorophylle, le tocophérol, la vitamine K, l'ubiquinone etc., des chaînes latérales isoprénoïdes de longueurs variées.

La majorité des caroténoïdes ont huit résidus d'isoprène et donc 40 atomes de carbone dans la chaîne de polyène. On a réalisé des composés de synthèse dans lesquels la limite naturelle de 40 atomes de carbone a été dépassée ; mais ces composés n'ont pas encore de signification biologique. Quelques caro-

ténoïdes naturels ont moins de 40 atomes de carbone. On suppose généralement qu'ils dérivent d'un pré-curseur en C_{40} par scission de l'une ou des deux extrémités de la molécule d'origine.

La figure I.A représente la molécule de β -carotène afin d'illustrer la répétition de la configuration de l'isoprène. Les chaînes latérales méthylées sont séparées de 1 à 5 à l'exception des deux centrales qui sont séparées de 1 à 6.

En *B* les carbones de la chaîne ont été numérotés, et en *C* on suppose que l'une des extrémités de la molécule a été coupée au carbone 8'. La chaîne résiduelle devient un apo-8' caroténoïde. En *D*, les deux extrémités ont été enlevées. On peut supposer que certains caroténoïdes rares, comme la crocétine et la bixine, se forment ainsi. La vitamine A, *E*, ne peut pas être rangée avec les caroténoïdes, car elle est incolore. Sa relation avec le β -carotène n'en est pas moins évidente.

Les caroténoïdes constituent une classe particulière de composés isoprénoïdes. Ils sont hautement insaturés. Pour la clarté de l'exposé il sera nécessaire d'y inclure deux hydrocarbures, le phytoène et le phytofluène qui ont respectivement trois et cinq doubles liaisons conjuguées, bien qu'ils soient incolores.

Les hydrocarbures (carotènes) peuvent être classés en deux groupes :

1^o aliphatiques, par exemple le lycopène, *F*, le neurosporène, le ζ -carotène.

2^o alicycliques, par exemple les α -, β - et γ - carotènes (*G*, *A*, *H*).

Normalement seuls les alicycliques sont rencontrés dans les feuilles vertes mais les uns et les autres peuvent apparaître dans les fruits.

Les dérivés oxygénés de ces types fréquemment désignés sous le nom collectif de xanthophylles peuvent être des alcools, des esters, des cétones des dérivés 5-6 époxy ou 5-8 époxy (furanes) ou des acides. Les caroténoïdes aliphatiques oxygénés sont relativement rares dans les plantes supérieures, mais on peut les trouver en quantités dans quelques champignons. Comme ils semblent n'être que des constituants mineurs des plantes supérieures, nous n'en parlerons pas davantage.

1. *Les dérivés hydroxylés* : Le plus commun des mono-alcools est la cryptoxanthine, *J*, 3-hydroxy- β -carotène ; deux diols, la lutéine, *K* et la zéaxanthine, *L*, dérivés 3,3'-dihydroxylés des carotènes α et β respectivement apparaissent fréquemment dans les fruits. La lutéine est le principal composant caroténoïde des feuilles vertes. On a décelé des traces d'un mono-hydroxy- α -carotène dans divers fruits. On ne peut

encore affirmer qu'il soit identique à la zéinoxanthine du maïs, *Zea mays*.

2. *Dérivés époxy* : Ils sont de deux types : les dérivés en 5-6 qui se réarrangeront facilement pour donner les types 5-8 époxy (ou furano). Alors que l'hydroxyle en position 3 n'affecte pas le système conjugué, et donc que le spectre d'absorption du dérivé hydroxylé est virtuellement identique à celui de l'hydrocarbure apparenté, ceci n'est pas vrai dans le cas d'oxygène fixé sur la double liaison 5-6 (fig. I, *M*), ni dans celui du réarrangement subséquent en 5-8. Le spectre se déplace progressivement vers les plus courtes longueurs d'ondes et la couleur en est d'autant plus atténuée, c'est-à-dire d'une jaune plus pâle.

Les exemples d'époxy-caroténoïdes fréquemment rencontrés comprennent la violaxanthine, *M*, ainsi appelée parce qu'elle fut d'abord extraite des pétales de la *Viola tricolor*, et la flavoxanthine. La première est une di-époxy zéaxanthine. La dernière est une mono-époxy lutéine.

Les époxy-caroténoïdes courants se trouvent être également hydroxylés. Bien que l'on connaisse des époxy-hydro-carbures, ils ne constituent qu'une fraction mineure du mélange de caroténoïdes.

Les caroténoïdes hydroxylés et leurs dérivés époxy sont souvent estérifiés dans les fruits et les pétales de fleurs. Le composant acide est habituellement palmitique. Le pétale du tournesol contient de l'héline (dipalmitate de lutéine) ; la lanterne chinoise du *Phytolacca* contient du dipalmitate de zéaxanthine.

Avant saponification ces esters se comportent comme épiphasiques quand ils sont répartis entre l'éther de pétrole et l'alcool éthylique à 80 ou 85°. Après saponification ils se comportent comme hypophasiques.

Pour distinguer entre la cryptoxanthine, $C_{40}H_{56}O$, la lutéine ou zéaxanthine, $C_{40}H_{56}O_2$, et la violaxanthine $C_{40}H_{56}O_4$ d'après leurs coefficients de partage, il faut soit changer le taux de concentration de l'alcool, soit préciser le mouvement (numéro du tube) dans le cas d'un appareil à contre-courant. Un peu de cryptoxanthine passera dans l'alcool à 95°. La lutéine et la zéaxanthine sont complètement hypophasiques dans l'alcool à 85° mais épiphasiques dans l'alcool à 70°, tandis que la violaxanthine est hypophasique lorsqu'elle est répartie entre de l'éther de pétrole et une phase alcoolique à 70°.

3. *Dérivés cétoniques* : Les mieux connus des céto-caroténoïdes sont la capsanthine, *N*, la capso-rubine des poivres rouges (*Capsicum* species), l'astaxanthine (des crustacés etc), et il y a des éléments récents appuyant l'existence d'une hydroxycanthaxanthine dans quelques fruits. On a d'abord trouvé de la

canthaxanthine dans une espèce de *Cantharellus*, un champignon. Cependant, il ne constitue dans les fruits qu'un composant relativement mineur du mélange de caroténoïdes.

Il existe probablement entre cent et deux cents

caroténoïdes différents. Nombreux sont ceux qui n'ont pas été décrits complètement de sorte qu'il peut parfois y avoir une double dénomination. Mais nous avons décrit un nombre suffisant de composants caractérisés pour cet exposé.

ISOMÈRES CI-STRANS

La figure I représente des structures entièrement développées. Elles ont une configuration entièrement trans, et peuvent être considérées comme ayant plus ou moins la forme allongée. D'autres formes sont possibles ; quelques-unes se rencontrent dans la nature et d'autres sont artificielles. Le changement le plus simple est d'opérer une rotation sur *une seule liaison* passant ainsi d'une position *trans*, ,

à une position *cis* . Si l'on opère cette rotation sur une double liaison centrale la molécule aura une forme de V. Par contraste avec une molécule poly-cis qui semblera repliée, . La forme de la molécule a une grande influence sur sa couleur. La forme entièrement trans est extrêmement colorée et la forme poly-cis est la plus pâle. Ceci sera traité ci-après.

LA COULEUR DES CAROTÉNOÏDES

Les hydrocarbures aliphatiques peuvent être classés comme une série de composés, commençant par le phytoène, $C_{40}H_{64}$ et donc un octahydrolycopène, passant par le phytofluène, le ζ -carotène, le neurosporène et ainsi jusqu'au lycopène. Ces composés ont respectivement 3, 5, 9, 9 et 11 doubles liaisons conjuguées. Les spectres d'absorption des deux premiers sont situés dans l'ultra violet. Ils sont donc incolores, et, techniquement, ne peuvent pas être compris dans la définition admise des caroténoïdes. Le ζ -carotène absorbe dans le violet extrême ; il est donc jaune pâle. Le lycopène absorbe dans le bleu et le bleu-vert. Sa solution est donc rougeâtre. Le neurosporène est intermédiaire et de couleur plus orangé-rouge en solutions de concentrations comparables.

Si nous ne considérons que la seule configuration entièrement *trans*, nous pouvons préparer le tableau suivant qui montre les positions approximatives des maxima pour les bandes d'absorption dans un solvant tel que l'hexane :

Maximum des bandes en m μ

	I	II	III
Phytoène	(295)	286	(275)
Phytofluène	368	348	335
ζ -carotène	425	400	380
Neurosporène . . .	468	438	415
Lycopène	502	472	445

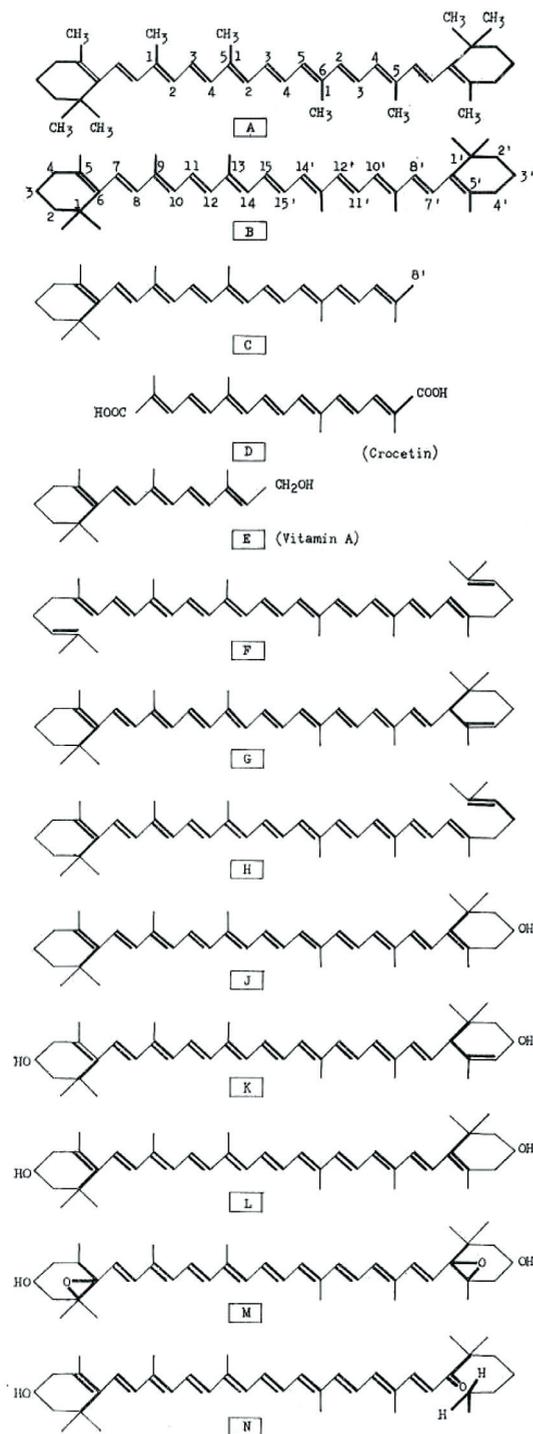
L'intensité d'absorption suit l'ordre II, I, III. Le spectre d'absorption donne ainsi une indication pour le nombre de doubles liaisons conjuguées dans la série aliphatique. On remarquera cependant que le β -carotène a lui aussi 11 doubles liaisons conjuguées mais que ses absorptions maximales sont à 480, 450, 425 m μ alors qu'elles sont à 502, 472, 445 pour le lycopène. Les doubles liaisons dans le cycle ont un certain effet sur la chaîne conjuguée mais chacune d'elles n'a, approximativement, que la moitié de l'effet d'une double liaison « libre ».

En conséquence, lorsque l'on examine les structures de la figure I, on peut estimer que les α -, β -, γ -carotènes et le lycopène ont respectivement l'équivalent de 9,5, 10, 10,5 et 11 doubles liaisons véritablement efficaces. On peut expliquer ainsi le déplacement progressif de l'absorption de cette série vers de plus grandes longueurs d'onde.

Les carottes et les tomates mûres normalement colorées ont à peu près la même concentration de caroténoïdes par unité de poids frais, environ 100 p. p. m. La carotte qui contient essentiellement du β -carotène avec 10 doubles liaisons efficaces est orangé-rouge ; la tomate avec du lycopène et 11 doubles liaisons conjuguées est rouge-rosé.

De même, la formation de dérivés époxy diminuera le nombre de liaisons conjuguées, le déplacement de l'absorption pour un dérivé di-époxy sera double de celui d'un mono-époxy, et plus grand pour le 5-8 époxy (furano) que pour le dérivé 5-6. Lorsque les

Lu dans *Fruits*, il y a 50 ans ...



dérivés époxy sont prédominants, la couleur est franchement jaune, comme dans les pétales de la pensée jaune.

Les groupes cétoniques contiennent la double liaison carbone-oxygène. Celle-ci est susceptible de s'ajouter au système conjugué s'il est situé à proximité de la chaîne.

On peut distinguer sur cette base que les céto-caroténoïdes dans lesquels le carbonyle est en résonance avec le système chromophore n'ont qu'un pic bien défini. Lors de la réduction du carbonyle par l'hydrure de bore, cependant, un spectre caractéristique à trois bandes apparaîtra, le pic principal quelque peu déplacé, puisque la double liaison carbone-oxygène a été éliminée, et qu'elle ne peut donc pas contribuer au nombre total des liaisons conjuguées.

L'effet d'une rotation trans-cis est de déplacer le spectre vers les longueurs d'ondes plus courtes. Pour les caroténoïdes mono- ou di-cis, l'ordre des hauteurs entièrement trans $II > I > III$ se changera en $II > III > I$. A mesure que le nombre des liaisons cis augmente, la bande I disparaît virtuellement et le pic II devient mal défini. On peut comparer ainsi le lycopène et le prolycopène (forme poly-cis) : 502, 470, 445 ; ..., 468 (plateau), 438 (pic principal).

Deux questions se posent : Comment s'opèrent ces rotations trans-cis ? et : Comment peut-on les détecter ? Elles apparaissent en présence de la lumière, d'acide ou comme conséquence du chauffage.

Certains fruits sauvages et quelques génotypes de fruits cultivés contiennent normalement des formes poly-cis. Il y a apparemment impossibilité à réaliser la synthèse de la forme entièrement trans.

Dans tous les cas cités on peut utiliser une méthode artificielle pour produire un changement et vérifier la forme sous laquelle un caroténoïde est présent, c'est la catalyse par l'iode. On ajoute à une solution de caroténoïdes dans l'éther de pétrole ou le benzène une goutte de solution d'iode dans le même solvant et l'on expose un moment ce mélange à la lumière.

Que l'on parte avec un isomère entièrement trans ou poly-cis on obtient le même mélange équilibré d'isomères. S'il s'agissait à l'origine d'entièrement trans, la couleur sera plus pâle. S'il s'agissait de poly-cis elle sera plus foncée. S'il ne se produit pas de changement remarquable, il est probable qu'il s'agissait à l'origine d'un mélange.

On peut déduire énormément a) en examinant le spectre d'absorption avant et après la catalyse par l'iode et, b) en faisant des tests de séparation avant et après saponification.

CONCENTRATION DANS LES TISSUS

Dans de nombreux cas la concentration de caroténoïdes dans un tissu est si basse que tout ce qui a été fait ne l'a été que pour vérifier si la substance recélait de la provitamine A. La pomme de terre, la pomme, la cerise, la fraise ou la framboise ne contiennent que très peu de caroténoïde. Sans doute existe-t-il des différences variétales mais la concentration s'étagera entre 0,1 et 5 p. p. m. sur la base du produit frais et la contribution du caroténoïde à la couleur est négligeable.

La concentration la plus élevée qu'ait jamais relevée l'auteur se trouva dans un feutrage mycélien, spécialement traité, d'un champignon de l'espèce *Phycomyces*, où elle était de 3 500 p. p. m. sur produit sec.

Dans la plupart des fruits, cette teneur variera depuis des traces, comme dans les pommes jusqu'à 300-400 p. p. m. sur la même base. Le prélèvement analysé, a une grande importance. La peau d'une orange, par exemple, consiste en un fin flavedo très pigmenté et un albedo blanc cassé beaucoup plus épais. La pulpe contient des membranes carpellaires et des poches à jus. Diviser une orange en pulpe et peau contenant beaucoup de matière non pigmentée peut fausser les résultats analytiques en ce qui concerne les concentrations réelles en caroténoïdes. Mais, tout compte fait, ceci est malheureusement inévitable.

LES FONCTIONS DES CAROTÉNOÏDES

Les fonctions des caroténoïdes dans les plantes et chez les animaux dépendent évidemment de leurs propriétés. Celles-ci sont nettement les propriétés de la chaîne polyène modifiées par sa forme et également par les groupes de substitution lorsque la molécule est oxygénée.

La propriété la plus caractéristique de tous les polyènes est leur aptitude à former des ions carbonium en présence d'un donneur de proton ou d'un accepteur d'électron. La coloration bleue foncée que donnent les caroténoïdes traités par l'acide sulfurique concentré en est une manifestation. Les dérivés époxy donneront eux aussi une coloration bleue foncée avec de l'acide chlorhydrique concentré.

La stabilité du complexe variera beaucoup et la présence d'un oxygène fortement électro-négatif, comme dans les groupes cétoniques ou aldéhydiques aura nécessairement un effet marqué. Le rétinène, par exemple (plus correctement le rétinol), aldéhyde de la vitamine A est jaune pâle avec une absorption maximale à environ 370 m μ . Il formera un complexe avec la protéine opsine pour donner le pourpre rétinien (rhodopsine), pigment des bâtonnets de la rétine humaine. Ainsi une protéine incolore et un pigment jaune forment-ils un complexe de couleur pourpre avec un important déplacement de l'absorption de 370 à environ 500 m μ .

Il y a quelque preuve à l'appui de l'existence de complexes carotène-protéine dans les feuilles bien que leur mise en évidence soit rendue plus difficile par la présence de chlorophylle.

Biologiquement, la fonction caroténoïde doit dépendre de l'aptitude à former de tels complexes. Ici, l'aptitude à s'adapter à la forme de la surface devient de première importance car, dans toute unité biologique organisée, les limitations dans l'espace ont une importance cruciale. Dans le cas du pourpre rétinien les éléments sont orientés de façon rigide dans les bâtonnets. Ceci est également vrai, bien sûr, dans les chloroplastes. Et l'on voit ici l'inaappréciable aptitude de la molécule de caroténoïde à subir des rotations *trans-cis*, pour modifier sa forme afin de s'adapter à une surface protéique et d'éviter une désorientation d'une unité biologiquement active que ce soit un bâtonnet, un plastide ou quelque autre unité fonctionnelle. En fait dans le cas du pourpre rétinien, le rétinol doit subir une rotation *cis-trans* en un point particulier et en aucun autre pour être à même de former un complexe utile (1).

(1) Le lecteur qui désirerait une documentation plus complète sur ces points se référera à des monographies telles que celles de Zechmeister (1), Strain (2), Karrer et Jucker (3), Goodwin (4) et diverses revues récentes (5, 6, 7).

LES CAROTÉNOÏDES DANS LES FRUITS

Quelques suggestions ont été faites dans la partie précédente sur les rôles possibles des caroténoïdes *in vivo*. En mûrissant, de nombreux fruits perdent leur chlorophylle et, dans ce changement et les suivants, rien ne prouve de façon satisfaisante que les caroténoïdes continuent à jouer quelque rôle biochimique essentiel. Ceci ne signifie pas que la présence des caroténoïdes ne puisse pas avoir quelque valeur écologique dans la survivance de l'espèce.

Ce qui se passe est fréquemment sous contrôle génétique. Une variété peut ne produire aucun caroténoïde ; une autre peut synthétiser principalement des xanthophylles ; une troisième encore peut-être du lycopène ou du β -carotène. Chacune de ces variétés peut ne différer que par un seul gène, qui suffit cependant pour déterminer comment les métabolites disponibles devront être utilisés.

Dans le cas des tomates, on peut prélever des graines viables dans un fruit non encore assez mûr pour produire une importante quantité de caroténoïdes additionnels de sorte que l'on ne peut leur attribuer aucun rôle biochimique essentiel après la désorganisation de l'unité biologiquement efficace qui, dans les plantes vertes, est le chloroplaste.

Le fruit pendant la maturation : Le fruit immature est vert, et en mûrissant perd fréquemment sa chlorophylle. Ce n'est pas toujours le cas. Il faut, par exemple, à une orange si l'on veut que sa peau devienne orangée, une période de temps froid. On peut hâter cela par un traitement « dé-verdissant » au gaz éthylène. En de nombreuses régions tropicales la peau reste verte alors que la pulpe est complètement mûre et d'une couleur orangée normale.

Lorsque les fruits mûrissent, il y a deux possibilités, sans tenir compte si la chlorophylle disparaît, des couches externes de cellules vertes.

1. Il n'y a virtuellement pas de caroténoïde synthétisé. Les exemples portent sur les pommes, les poires, les pêches blanches. Les pigments principaux des fraises, des framboises et des mûres sont des anthocyanines. Dans ces exemples aussi il y a très peu de caroténoïdes et l'on peut sans risque estimer à 5 p. p. m la limite supérieure possible, et il est probable qu'elle est sensiblement plus basse. En d'autres termes, la contribution des caroténoïdes à la couleur de ces fruits est négligeable.

2. Les caroténoïdes sont synthétisés *de novo*. Il ne s'agit pas de caroténoïdes résiduels associés, à l'origine, à la chlorophylle dans le fruit vert immature. L'un de ces quatre cas est possible :

a) Le mélange est de caractère presque exclusivement xanthophylle.

b) Les hydrocarbures aliphatiques prédominent, le lycopène étant normalement le plus abondant.

c) Le pigment prédominant est le β -carotène.

d) On trouve quelques caroténoïdes rares ou inhabituels, tels que les caroténoïdes cétoniques caractéristiques de l'espèce *Capsicum* par exemple.

Or on a fait remarquer plus haut que l'un de ces quatre cas était possible. La base génétique et les conditions de maturation peuvent déterminer si la possibilité s'accomplira ou pas. Par exemple la synthèse dans la tomate rouge du lycopène totalement *trans* exige que les deux gènes *r* et *t* soient dominants, c'est-à-dire r^+ et t^+ . Faut de quoi la synthèse du lycopène entièrement *trans* ne se réalise pas. Cependant, même dans les bonnes conditions, la quantité de lycopène synthétisé sera beaucoup réduite si l'on maintient la température de maturation au-dessus de 30° C. L'apparition dans le phénotype des potentialités inhérentes à un génotype donné dépend donc de facteurs propres au milieu.

Dans de trop nombreux cas on ne possède qu'une documentation réduite ou nulle sur l'héritage des différences de pigmentation en caroténoïdes. Il est peut-être mieux de mentionner quelques-uns des mélanges séparés ces dernières années. On sait depuis longtemps que les caroténoïdes de l'orange, *Citrus sinensis*, sont un mélange compliqué ; mais il a fallu l'application de techniques à contre-courant complétées par la chromatographie d'adsorption de Curl (8) pour démontrer combien ce mélange est réellement compliqué. Il y a maintenant, venant de son laboratoire des études détaillées sur les oranges Valencia et Navel, les tangerines (9, 10, 11), les pêches à noyaux adhérents (12), les abricots (13), les kakis (14) et la fraction de xanthophylle de la tomate (15).

La première remarque à faire est que, que les xanthophylles prédominent (c'est-à-dire représentent 60 à 90 % des caroténoïdes totaux), ou qu'ils ne représentent qu'un petit pourcentage du total (environ 5 % ou moins), il est vraisemblable que l'on trouvera dans le mélange un minimum de 15 ou 20 composants, sinon plus. Curl et Bailey (16) ont eu cette idée intéressante de comparer les xanthophylles des fruits et celles des feuilles pour vérifier si elles étaient toutes deux qualitativement semblables.

Les conclusions sont radicalement différentes pour les xanthophylles du jus d'orange Valencia et celles de la tomate. Dans cette dernière, la fraction de xantho-

phylle est normalement un très petit pourcentage du total, tandis que chez la première il y a une importante synthèse de nouveau pigment et les xanthophylles représentent environ 90 % des caroténoïdes totaux. Les xanthophylles de la tomate sont généralement semblables à celles des feuilles vertes et celles de l'orange en diffèrent de façon frappante.

Or dans quelques génotypes de tomate, la xanthophylle apparaît en proportion tout à fait minime mais

ceci n'est pas dans la bonne perspective. La quantité de xanthophylle totale n'est jamais élevée et dans quelques espèces elle peut être absente. Dans la tomate jaune où la synthèse du lycopène a été supprimée, la même quantité de xanthophylle que celle qui peut se trouver dans un fruit rouge apparaîtra comme un pourcentage mesurable dans le fruit jaune. Dans d'autres mutants encore la xanthophylle semble être complètement absente.

ORIGINE DE L'OXYGÈNE DANS LES XANTOPHYLLES

La preuve est maintenant faite, grâce à l' O_{18} , que l'oxygène des groupes hydroxylés de composés tels que la cryptoxanthine, la lutéine et la zéaxanthine, vient de l'oxygène moléculaire et non de l'eau et, de façon assez surprenante, que l'oxygène de l'époxy vient de l'eau (17). Le premier résultat est sous beaucoup d'aspects analogues à l'oxydation du squalène dans la formation des stérols et par conséquent était jusqu'à un certain point prévisible. Tout ce qu'il est nécessaire d'admettre dans le cas de tomates contenant peu ou pas de xanthophylles est que cette fraction disparaît avec la chlorophylle et que ce mutant particulier manque du pouvoir d'oxyder les caroténoïdes synthétisés pendant la maturation.

Le rapport lutéine-zéaxanthine : un autre aspect intéressant examiné par Curl est de déterminer si le rapport lutéine-zéaxanthine dans un fruit est similaire à celui qui existe dans les feuilles, environ 25 à 1, ou si les termes du rapport sont plus proches (3 à 1 dans les abricots) ou même s'il est inverse comme dans la variété Hachiya de kaki et aussi dans de nombreux autres fruits. Puisque l'abricot produit principalement du β -carotène, cela peut tout simplement signifier qu'il n'est pas produit de nouvelle xanthophylle, que la lutéine est plus instable et que les termes du rapport deviendront nécessairement plus proches. Cette explication ne peut suffire pour le kaki dans lequel la xanthophylle prédomine.

CONFIGURATION DES CAROTÉNOÏDES

Il faut maintenant poser la question de savoir quelles configurations peuvent être discernées dans les mélanges que le fruit d'une espèce donnée peut contenir. La prune et la pêche produisent principalement de la xanthophylle, bien que l'on ait maintenant décelé des traces de lycopène dans la pêche, et que de précédents rapports sur des variétés européennes citent des isomères *-cis* de lycopène. L'abricot donne principalement du β -carotène et un peu de lycopène ; la tomate rouge du lycopène principalement et un peu de β -carotène.

La plus grosse difficulté est dans l'absence de documentation sur les bases génétiques en rapport avec les caroténoïdes.

Pour le kaki, *Diospyros kaki*, quelque trente variétés ont maintenant été étudiées. La composition du mélange de caroténoïdes varie depuis 95 % de xanthophylle sans trace de lycopène jusqu'à environ 55 %

de xanthophylle et 40 % de lycopène. La couleur du fruit mûr change de l'orangé au rouge à mesure que la teneur en lycopène croît. Il y a évidence, dans certains cas, que les types orange prédominent sur les rouges.

Le kaki-pois (mamegaki) et le *D. Lotus* sont l'un et l'autre dépourvus de lycopène. Le kaki est d'origine chinoise et les variétés chinoises sont nettement de couleur jaune-orangé. Les sélections faites pendant des siècles au Japon avaient certainement d'abord pour but de réduire l'astringence et ensuite, la couleur rouge fut favorisée. Il y a peu de doute que dans ce schéma les xanthophylles se formaient d'abord et que dans les variétés contenant du lycopène les pré-curseurs étaient déviés vers la formation et l'accumulation de lycopène aux dépens de la xanthophylle.

La même situation existe presque certainement entre la *Viola* jaune et une variété connue comme

abricot à cause de sa couleur très caractéristique. Le mélange est complexe dans les deux cas mais les pétales jaunes contiennent de la violaxanthine, sans trace de lycopène ; les pétales de la variété *abricot* contiennent aussi de la xanthophylle, mais en outre le lycopène est présent en quantité suffisante pour modifier la couleur.

Dans le cas de la tomate, il est plus difficile de faire un choix judicieux. Beaucoup d'espèces de *Lycopersicon* ont des fruits verts. Ils perdent très lentement leur chlorophylle et quelques-uns acquièrent une couleur gris blanchâtre souvent avec des taches violacées d'anthocyanine.

Les fruits de ces espèces (*L. hirsutum*, *L. peruvianum*, *L. chilense*, etc.) ne synthétisent pas de nouveaux caroténoïdes au cours de la maturation. L'espèce sauvage *L. pimpinelli folium* possède des fruits rouges (lycopène) sur le plateau sud-américain et des fruits orangés (β -carotène) aux îles Galapagos. L'introduction d'un gène B venant d'une quelconque espèce à fruit vert ou des îles Galapagos dans *L. esculentum* à fruits rouges, produit un fruit orangé dans lequel le β -carotène remplace le lycopène. Un seul gène est responsable de cette différence. L'énigme est que le schéma normal pour *L. esculentum* comporte la formation de lycopène et que le but du gène B dans l'espèce à fruit vert n'est pas de synthétiser des caroténoïdes pendant la maturation.

La tomate et le kaki diffèrent essentiellement par la xanthophylle. Dans l'un il ne représente qu'une fraction minime ; dans l'autre, une fraction majeure. Dans la tomate, la répartition des caroténoïdes se fait entre le lycopène et le β -carotène ; dans le kaki, entre la xanthophylle et le lycopène.

Le pomelo Pink présente un problème intrigant. Il tire apparemment son origine de rejets anormaux du Marsh White, plus commun et dont la pulpe ne contient que très peu de caroténoïdes.

Le pamplemousse, *Citrus maxima*, est généralement considéré comme l'ancêtre du pomelo Marsh White du commerce, *Citrus paradisi*. On n'a jamais correctement éclairci les conditions dans lesquelles *Citrus maxima* produit du lycopène. Des spécimens venant de Los Angeles et de Riverside, examinés il y a dix ans, étaient aussi dénués de coloration que le Marsh White.

Néanmoins, une mutation de bourgeon du *Marsh White* avait produit le *Marsh Pink* avec apparition ou réapparition du lycopène. Une deuxième mutation de bourgeon du *Marsh Pink* avait produit *Ruby* d'une couleur encore plus contenue. Les analyses suivantes n'ont d'autre intérêt que d'indiquer ce que l'on peut attendre d'un fruit mûr dans les marchés locaux. Les chiffres sont donnés pour le Marsh White, Marsh Pink et Ruby dans l'ordre, en microgrammes par 100 grammes :

lycopène : 0, 28, 237
 β -carotène : trace, 142, 207.

Les variétés roses sont apparemment moins bien colorées lorsqu'elles ont poussé sur la côte et mieux colorées dans les vallées plus chaudes de l'intérieur. De récentes études (20) ont comporté l'examen des teneurs.

Il est toujours dangereux de généraliser sur des éléments insuffisants. Peu d'espèces sont moins convenables aux études génétiques que les *Citrus*. Jusqu'à présent on n'a pas trouvé de lycopène dans *Citrus sinensis* ou *Citrus aurantium*, et seulement des traces dans la tangerine et dans *Citrus reticulata*, mais récemment Mosellise et Halevy ont examiné une portion de bourgeon de *Shamouti Sarah* (Jaffa) où ils trouvèrent du lycopène.

On peut donc se hasarder d'en prédire l'apparition dans tous les fruits si les conditions génétiques et de croissance le permettent.

C'est un véritable supplice de Tantale que de trouver la variété de houx qui a des baies jaunes (*Ilex*) et de ne pouvoir examiner les baies des générations F_1 et F_2 qui ont dû résulter d'un croisement avec la variété rouge normale.

Comme hypothèse de travail, on peut postuler que, tandis qu'une espèce se développait, ses fruits devenaient incolores par dégénération du chloroplaste en tant qu'unité de photosynthèse fonctionnelle. Il se pourrait trouver des traces, dans ce cas, de caroténoïde résiduel. Plus tard il apparut des caroténoïdes alicycliques orangés en quantité dans le fruit en cours de maturation. On ne peut encore expliquer comment cela se produisit. Le remplacement de ces pigments par le lycopène aliphatique rouge semblerait être le résultat d'une mutation récessive.

Traduit par G. Martarelli.

Nous tenons à remercier chaleureusement le Professeur G. MacKinney qui a bien voulu exposer pour nos lecteurs ses idées sur la question si importante des caroténoïdes des fruits, et exprimer certaines hypothèses qui doivent orienter les chercheurs vers une voie que nous espérons fructueuse.

Le rédacteur en chef, E. NAVELLIER

Lu dans *Fruits*, il y a 50 ans ...

RÉFÉRENCES

1. *Carotinoïde*, Julius Springer, Berlin (1934).
2. *Leaf Xanthophylls*, Carnegie Institution, Washington (1938).
3. *Carotenoids*, Elsevier, New York (1950).
4. *The Comparative Biochemistry of the Carotenoids*, Chapman & Hall, London (1952).
5. Goodwin, T. W., Ann. Review Biochem. **24**, 497 (1955).
6. — Ann. Review Plant Physiol. **12**, 219 (1961).
7. *Metabolic Pathways*, Vol. 1, Chapter 12, Academic Press, New York (1960).
8. CURL, A. L., J. Agr. Food Chem, **1**, 456 (1953).
9. CURL, A. L. et BAILEY, G. F., *ibid.* **2**, 685 (1954).
10. — J. Food Sci. **26**, 422 (1961).
11. — J. Agr. Food Sci. **5**, 605 (1957).
12. CURL, A. L., Food Research. **24**, 413 (1959).
13. — *ibid.* **25**, 190 (1960).
14. — *ibid.* **25**, 670 (1960).
15. — J. Food Sci. **26**, 106 (1961).
16. CURL, A. L. et BAILEY, G. F., Food Research. **22**, 323 (1957).
17. YAMAMOTO, H. Y., CHICHESTER, C. O. et NAKAYAMA, T. O. M., Archives Biochem & Biophys. **96**, 645 (1962).
18. BROSSARD, L., M. S. Thesis, University of California, Berkeley (1961).
19. KHAN, M. D. & MACKINNEY, G., Plant Physiol. **28**, 550 (1952).
20. PURCELL, A. E., Chem. Abstr. **53**, 22273 (1959).
21. MOSSELLIS S. P. and Halevy A. H. Sciences **133**, 1478 (1961).