

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 naphtoquinones, 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.

*Several parts of that article
cannot be presented because of their length
They are titled:*

- **Séparation des matières colorantes**
- **Définition et classification des caroténoïdes**
 - **Isomères cis-trans**
- **La couleur des caroténoïdes**

*see them on « Read in Fruits, 50 years ago » of Fruits 67 (5)
<http://www.fruits-journal.org>*

Article published by EDP Sciences

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'inaffranchissable 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^+ . Faute 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 XANTHOPHYLLES

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 précurseurs 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 (Hlex) 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

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. MOSELLIS S. P. and Halevy A. H. *Sciences* **133**, 1478 (1961).

