

Projet AQS 00 P 04



Augmentation de la teneur en antioxydants et de leur biodisponibilité dans les dérivés de la tomate par une meilleure valorisation des peaux et pépins

RAPPORT FINAL

Avec la participation de

- Mmes :
- MJ. Amiot (INSERM U476, Marseille depuis 2002, UMR A408 INRA Avignon)
 - E. Reboul (INSERM U476, Marseille)
 - M. Charbonnier (INSERM U476, Marseille)
 - C. Juhel (INSERM U476, Marseille)
 - C. Caris (UMR A408 INRA Avignon)
 - P. Goupy (UMR A 408 INRA Avignon)
 - C. Mikail (Faculté de Pharmacie, Marseille)
 - L. Abou ((Faculté de Pharmacie, Marseille)
 - S. Colvine (AMITOM, Avignon)
- Mrs :
- P. Borel (UMMM INRA-Clermont)
 - D. Lairon (INSERM U476, Marseille)
 - G. Bartholin (CTCPA, Avignon)
 - S. Georgé (CTCPA, Avignon)
 - B. Bièche (AMITOM, Avignon)

RESUME

Des études épidémiologiques ont montré que la consommation de tomates, et de produits dérivés, est associée à une diminution du risque de développer certains cancers, en particulier les cancers des voies aéro-digestives supérieures et le cancer de la prostate (Giovannucci E 1999; De Stefani E *et al.* 2000). La particularité de la tomate et de ses produits dérivés repose sur son contenu en divers microconstituants antioxydants (Beecher GR 1998; Lavelli V *et al.* 2000) : le lycopène, le β -carotène, les vitamines C et E, les polyphénols (acide chlorogénique, rutine, naringénine), le sélénium, le cuivre et le zinc. Les procédés technologiques de la transformation des fruits et légumes peuvent moduler le contenu en antioxydants. Des études récentes ont également montré que les procédés utilisés peuvent influencer sur l'absorption des microconstituants antioxydants : positivement, en augmentant l'absorption du lycopène par des mécanismes thermiques et physiques, ou négativement en diminuant le contenu en antioxydants, notamment lors des opérations de raffinage. Dans le cas de la tomate, le raffinage élimine les peaux et les pépins, éléments particulièrement riches en antioxydants (lycopène pour les peaux et vitamine E pour les pépins). Aussi, la réincorporation d'une partie de ces sous-produits de l'industrie de la tomate pourrait être très intéressante dans l'élaboration d'aliments en restituant leurs contenus en antioxydants de départ susceptibles d'être absorbés par notre organisme.

En 2000, l'AMITOM a monté un projet en partenariat avec plusieurs centres de recherche français (INSERM, INRA & CTCPA) pour explorer les voies technologiques possibles en vue d'augmenter la teneur en micronutriments antioxydants de purées de tomate (notamment lycopène et vitamine E) par réincorporation des peaux ou des pépins et de voir si une augmentation se traduit par une meilleure biodisponibilité de ces microconstituants chez l'homme.

Ce projet a été conduit en trois grandes étapes. Dans un premier temps, différentes purées de tomates ont été préparées en atelier pilote, en exploitant les peaux et les pépins. La teneur en

SUMMARY

*Epidemiological studies have shown that the consumption of tomatoes and of tomato products is associated with a reduction in the risk of developing some cancers, in particular those of the upper aero-digestive tract and of the prostate (Giovannucci E 1999; De Stefani E *et al.* 2000). The particularity of the tomato and of its derivatives comes from its composition in various antioxidant micronutrients (Beecher GR 1998; Lavelli V *et al.* 2000) : lycopene, **b**-carotene, vitamins C and E, polyphenols (chlorogenic acid, rutin, naringenin), selenium, copper and zinc. The technological processes can modify the antioxidant content. Recent studies have also shown that the processes used can have an effect on the absorption of antioxidant micronutrients: positively, by increasing the absorption of lycopene by thermal and physical mechanisms, or negatively by decreasing the antioxidant content, notably through refining. In the case of tomatoes, refining eliminates the peel and the seeds, which are particularly rich in antioxidants (lycopene for the skin and vitamin E for the seeds). Thus part of these by-products of the tomato processing industry could be used in food by reintroducing the antioxidants contained in them which are susceptible to be absorbed by our organism.*

In 2000, AMITOM set up a project in partnership with several French research centers (INSERM, INRA & CTCPA) to explore the possible technological ways to increase the antioxidant content (and notably that of lycopene and vitamin E) of tomato puree by reincorporating peel and seeds and establish whether such an increase would lead to a better bioavailability of these micronutrients in the human body.

This project was managed in three stages. In a first stage, various tomato purees were prepared on a pilot scale with several combinations of peel and seeds. The

antioxydants a été évaluée pour toutes les purées fabriquées. La bioaccessibilité des micronutriments lipophiles (lycopène, β -carotène et vitamine E), correspondant à la proportion de ces micronutriments transférée dans les micelles mixtes, a été comparée entre les différentes purées à l'aide d'un modèle *in vitro*. Dans un deuxième temps, dans le cas où la bioaccessibilité était significativement améliorée, l'absorption de ces micronutriments a été comparée à travers la barrière intestinale grâce à un modèle cellulaire. Enfin, dans la dernière étape du projet, la biodisponibilité a été comparée chez l'homme (huit sujets sains) pour deux purées, l'une classiquement préparée chez les industriels et l'autre préparée avec un enrichissement en co-produits.

Lors de la première étape, nous avons montré que :

1. le modèle *in vitro* adapté du modèle de Garrett et al (1999) permettait bien de mesurer le transfert des caroténoïdes et de la vitamine E des aliments vers les micelles mixtes, i.e. leur bioaccessibilité.
2. le transfert micellaire était très faible, suggérant une faible biodisponibilité de ces microconstituants à partir des purées de tomates.
3. seul l'enrichissement des purées avec 6% de peaux finement broyées nous permet d'avoir une augmentation de plus de 50% de la bioaccessibilité.
4. L'acceptabilité sensorielle des purées enrichies en peaux a été trouvée similaire à celle des purées classiques.

Lors de la Deuxième étape, nous avons validé que pour les purées enrichies avec 6% de peaux, l'absorption du lycopène à travers les cellules intestinales (cellules Caco-2) était du même ordre de grandeur que les données obtenues sur la bioaccessibilité (mesurée *in vitro*).

Enfin, la réponse post-prandiale en lycopène dosé dans les chylomicrons chez les sujets sains s'est avérée plus importante suite à l'ingestion de la purée enrichie en lycopène (par réincorporation de 6% de peaux) qu'après ingestion de la purée témoin : soit $59,8 \pm 10,7$ versus $39,4 \pm 5,6$ nmol.L⁻¹.h⁻¹. De même, la réponse en β -carotène était supérieure après ingestion de la purée enrichie

*antioxidant content of all the purees was measured. The bioaccessibility of the lipophilic micronutrients (lycopene, **b**-carotene and vitamin E), corresponding to the share of the micronutrients transferred into mixed micelles, was compared between the different purees using an *in vitro* model. In a second stage, when the bioaccessibility had been increased significantly, the absorption of these micronutrients through the intestinal barrier thanks to a cellular model. Finally, in the last stage of the project, the bioavailability was compared in humans (eight healthy volunteers) for two purees, one prepared as it is done in a processing plant, while the second was enriched with by-products.*

In the first stage, we have shown that:

- 1. the *in vitro* model, adapted from the Garrett et al (1999) model indeed enabled to measure the carotenoids and vitamin E transfer into the mixed micelles, i.e. their bioaccessibility.*
- 2. the micellar transfer was very low, suggesting a low bioavailability of these micronutrients from tomato purees.*
- 3. only the enrichment of the purees with 6% of finely milled peel enabled a gain in bioaccessibility of more than 50%*
- 4. the sensory acceptability of purees enriched in milled peel was similar to that of standard purees.*

*In a second stage, we have validated that for purees enriched with 6% peel, the absorption of lycopene through intestinal cells (Caco-2 cells) was in the same order of amplitude that the data obtained on the bioaccessibility (measured *in vitro*).*

*Finally, the post-prandial response in lycopene measured in the chylomicrons in healthy subjects was higher following the consumption of purees enriched in lycopene (through reincorporating 6% peel) than after the consumption of the standard puree at $59,8 \pm 10,7$ versus $39,4 \pm 5,6$ nmol.L⁻¹.h⁻¹. Similarly, the response in **b**-carotène was*

plutôt qu'après ingestion de la purée témoin.

En conclusion, l'enrichissement des purées de tomates en lycopène par l'addition de 6% peaux finement broyées a été validé dans le cas d'un modèle *in vitro* de bioaccessibilité et chez l'homme. Les rapports obtenus pour le lycopène entre purée enrichie et purée témoin étaient de : 1,6 dans les préparations alimentaires, de 1,3 dans les modèles acellulaires (micelles) et de 1,56 chez l'homme. Ces résultats ont montré que le lycopène est bien absorbé à partir des peaux finement broyées et que l'augmentation de 60% de lycopène dans les purées se traduit chez l'homme par une réponse post-prandiale du lycopène presque équivalente.

higher after the ingestion of the enriched puree.

*In conclusion, the enrichment of tomato purees in lycopene through the addition of 6% of finely milled peel was validated in a *in vitro* model of the bioaccessibility and in a human study. The ratios observed for lycopene between the enriched puree and the standard puree were 1.6 in the food preparations, 1.3 in a acellular models (micelles) and 1.56 in humans. These results showed that the lycopene is well absorbed from the finely milled peel and that the 60% increase of the lycopene content of these purees results is human by a nearly equivalent increase in lycopene post-prandrial response.*