



REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE  
MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR  
ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE



UNIVERSITÉ EL HADJ LAKHDER – BATNA  
FACULTÉ DES SCIENCES  
DÉPARTEMENT D'AGRONOMIE

# MEMOIRE

DE MAGISTER EN SCIENCES AGRONOMIQUES  
SPECIALITE : Technologie Alimentaire  
OPTION : Qualité et Sécurité Alimentaire

## Extraction et appréciation des pectines à partir des écorces d'oranges et de dattes.

Présenté par :  
*LEKBIR Adel*

Soutenu publiquement le : 20/09/2008

devant le jury :

**Président** : M. LAROUÏ S. M.C. - Université de Batna  
**Rapporteur** : M. GHENNAM E.H. Docteur - Université de Batna  
**Examineurs** : M. BELATTAR N. Professeur - Université de Sétif  
Mme. ROUABAH L. M.C. - Université de Batna

Année universitaire 2007 -2008

## ***Remerciements***

Qu'il me soit permis de remercier ici profondément tout d'abord :

- Dieu tout puissant pour m'avoir permis d'arriver à ce stade. Et ensuite,
- Tous ceux qui de près ou de loin, se sont intéressés à ce modeste travail et m'ont aidé à sa réalisation et en particulier :
- Mon promoteur, *M. GHENNAM E.H.*, qui a bien voulu suivre et diriger ce travail, ses conseils précieux, ses justes critiques ont été pour moi un encouragement permanent.
- *M. LAROUI S.*, Maître de Conférence à l'Université de Batna pour avoir accepté de présider le jury.
- *M. BELATTAR N.*, Professeur à l'Université de Sétif qui a accepté de m'accorder une partie de son précieux temps pour lire et juger ce travail.
- *Mme. ROUABAH L.*, Maître de Conférence à l'Université de Batna d'avoir accepté d'examiner ce travail.
- *Mme. MORVIN C. et toute l'équipe de recherche SCUEOR de l'Université de Rouen*, de m'avoir accueilli au sein de leur laboratoire.
- *M. ABDEDDAIM M.* responsable de la poste graduation à l'Université de Batna pour son aide et ses encouragements.
- *M. BOUROUHO*, Directeur de groupe ENAJUC N'Gaous pour son assistance, et de m'avoir permis de réaliser une partie de mon expérimentation au sein de l'unité qu'il dirigeait.
- Je voudrais aussi souligner mon extrême gratitude à l'égard de mes enseignants qui m'ont soutenu tout au long de mon cursus universitaire.

## *Dédicaces*

Je dédie ce modeste travail :

- Aux joyaux de ma vie "mes parents" qui sont la source de ma réussite, je souhaite qu'ils trouvent à travers ce mémoire le faible témoignage de leurs efforts et sacrifices.
- A mes frères.
- A mes sœurs.
- A toute ma famille.
- Je tiens à remercier l'ensemble de tous les étudiants et étudiantes de ma promotion, surtout ceux et celles réalisant un magister sans oublier mes amis, Fouad, Chemseddine, Nabil, Badreddine, Oussama, Ali et Abdelhak.

# TABLE DES MATIERES

## *LISTE DES SYMBOLES ET DES ABREVIATIONS*

|  |    |
|--|----|
| <b>Introduction</b> .....  | 01 |
| <b>Partie 1 : Étude bibliographique</b> .....  | 03 |
| <b>Chapitre 1 : Généralités sur les substances pectiques</b> .....   | 04 |
| 1. Historique.....   | 05 |
| 2. Définition des pectines.....  | 05 |
| 2.1. Les substances pectiques.....   | 07 |
| 2.2. Types de pectines.....  | 07 |
| 3. Localisation et biosynthèse des substances pectiques.....   | 07 |
| 4. Sources des substances pectiques.....   | 11 |
| <b>Chapitre 2 : Structure et caractéristiques des substances pectiques</b> .....   | 12 |
| 1. Structure chimique des substances pectiques.....  | 13 |
| 1.1. La chaîne principale.....   | 13 |
| 1.2. Les coudes pectiques.....   | 14 |
| 1.3. Les chaînes latérales.....  | 14 |
| 2. Caractéristiques des substances pectiques.....  | 16 |
| 2.1. Le poids moléculaire.....   | 16 |
| 2.2. Le degré de méthylation.....  | 16 |
| 2.3. Le degré d'acétylation.....   | 16 |
| 2.4. Le degré d'amidation.....   | 17 |
| 3. Évolution et stabilité des substances pectiques.....  | 18 |
| 3.1. Dégradation par voie enzymatique.....   | 18 |
| 3.1.1. Applications biotechnologiques des pectinases.....  | 20 |
| 3.1.1.1. Extraction de jus de fruits.....  | 20 |
| 3.1.1.2. Traitement des eaux usées.....  | 20 |
| 3.1.1.3. Fermentation de thé et de café.....   | 20 |
| 3.1.1.4. Extraction des huiles.....  | 20 |
| 3.2. Dégradation par voie chimique.....  | 21 |
| <b>Chapitre 3 : Procédés d'extraction et propriétés physico-chimiques des substances pectiques et leurs rôles dans la nutrition et dans le domaine industriel, pharmaceutique, médical et autres</b> ..... | 22 |
| 1. Extractions et précipitations des pectines.....   | 23 |
| 1.1. Extraction enzymatique.....   | 23 |
| 1.2. Extraction des pectines par les agents complexants.....   | 24 |
| Extraction par les sels de précipitation.....  | 24 |
| 1.3. Extraction par l'alcool.....  | 25 |
| 1.4. Extraction physique.....  | 26 |
| 2. Solubilité.....   | 26 |
| 3. Viscosité des pectines.....   | 27 |
| 4. Pouvoir gélifiant.....  | 27 |
| 5. Pouvoir stabilisant et pouvoir épaississant.....  | 32 |
| 6. Pouvoir émulsifiant.....  | 33 |

|   |           |
|---|-----------|
| 7. Pouvoir moussant.....  | 34        |
| 8. Le rôle des pectines dans la nutrition et dans l'industrie alimentaire.....          | 34        |
| 8.1. Leur rôle comme additif alimentaire.....   | 34        |
| 8.2. Leur rôle comme produit pharmaceutique.....  | 34        |
| 8.3. Autres applications des pectines.....  | 36        |
| 9. Effets de la pectine sur la biodisponibilité en minéraux et en vitamines.....        | 36        |
| 9.1. Effets de la pectine sur la biodisponibilité en minéraux.....                      | 37        |
| 9.2. Effets de la pectine sur la biodisponibilité en vitamines.....                     | 37        |
| 10. Normes relatives aux pectines.....  | 38        |
| <b>Partie 2 : Partie expérimentale.....</b>   | <b>40</b> |
| <b>Chapitre 1 : Extractions des pectines et déterminations de leurs rendements.....</b> | <b>41</b> |
| 1. Échantillons de matières premières.....  | 42        |
| 2. Blanchiment et lavage.....   | 42        |
| 3. Pressage.....  | 42        |
| 4. Séchage.....   | 42        |
| 5. Extraction des pectines.....   | 43        |
| 5.1. Solubilisation.....  | 43        |
| 5.2. Filtration.....  | 43        |
| 5.3. Purification.....  | 43        |
| 5.4. Précipitations.....  | 43        |
| 5.4.1. Précipitation par les sels minéraux.....   | 43        |
| 5.4.1.1. Précipitation par le sulfate d'aluminium ( $Al_2(SO_4)_3 \cdot 18H_2O$ ).....  | 43        |
| 5.4.1.2. Précipitation par le chlorure d'aluminium ( $AlCl_3$ ).....                    | 44        |
| 5.4.2. Séchage et stockage des pectines.....  | 44        |
| <b>Chapitre 2 : Caractérisation et propriétés des pectines.....</b>                     | <b>46</b> |
| 1. Rendements.....  | 47        |
| 2. Caractérisation des oses.....  | 47        |
| 2.1. Dosage colorimétrique.....   | 47        |
| 2.1.1. Dosages des oses totaux.....   | 48        |
| 2.1.2. Dosages des acides uroniques par la méthode du MétaHydroxyDiPhényl... ..         | 48        |
| 2.1.3 Détermination du degré de méthylation estérification (DM).....                    | 48        |
| 2.2. Chromatographie phase gazeuse « composition osidique des polymères ».....          | 49        |
| 2.2.1. Méthanolyse et silylation des polysaccharides : analyse par CPG.....             | 49        |
| 3. Dosage des protéines (azote total) par la méthode de Kjeldhal.....                   | 49        |
| 4. Taux de cendres.....   | 50        |
| 5. Activité émulsifiante et stabilité d'émulsification.....                             | 50        |
| 6. Pouvoir gélifiant.....   | 51        |
| <b>Chapitre 3 : Résultats et discussions.....</b>                                       | <b>52</b> |
| 1. Rendements et teneurs en humidité des pectines extraites.....                        | 53        |
| 2. Teneurs en sucres totaux, protéines et cendres des pectines extraites.....           | 57        |
| 3. Teneurs en acides galacturoniques des pectines extraites.....                        | 59        |
| 4. Composition en sucres neutres des pectines extraites.....                            | 62        |
| 5. Degré de méthylestérification (DM) des pectines extraites.....                       | 65        |
| 6. Activité émulsifiante et stabilité d'émulsification des pectines extraites.....      | 67        |
| 7. Pouvoir gélifiant des pectines extraites.....  | 69        |

|   |           |
|---|-----------|
| <b>Conclusion générale.....</b>         | <b>73</b> |
| <b>Références bibliographiques.....</b> | <b>77</b> |
| <b><i>ANNEXE</i>.....</b>               | <b>88</b> |

## LISTE DES SYMBOLES ET DES ABREVIATIONS

|  |   |
|--|---|
| Al <sub>2</sub> (SO <sub>4</sub> ) <sub>3</sub> 18H <sub>2</sub> O | Sulfate d'aluminium   |
| AlCl <sub>3</sub>  | Chlorure d'aluminium  |
| CDTA   | <i>trans</i> -1,2-diaminocyclo-hexane- <i>N,N,N',N'</i> -tetraacetic acid                                 |
| DA   | Degré d'Amidation   |
| DAc  | Degré d'Acétylation   |
| DM   | Degré de Méthylation  |
| DO   | Densité Optique   |
| EDTA   | Acide éthylène-diamine-tétraacétique ( <b>E</b> thylène <b>d</b> iamine <b>t</b> etraacetic <b>a</b> cid) |
| Fuc  | Fucose  |
| GalA   | Acide Galacturonique  |
| GlcA   | Acide Glucuronique  |
| HG   | Homogalacturonanes  |
| HMP  | Pectines Hautement Méthylées ou ( <b>H</b> igh <b>M</b> ethoxyl <b>P</b> ectin)                           |
| HPLC   | Chromatographie Liquide Haute Performance   |
| kD   | kilo Dalton = 1000 Dalton = 1 g/mol   |
| LMAP   | Pectine Faiblement Méthylée Amidée ( <b>L</b> ow <b>M</b> ethoxyl <b>A</b> midated <b>P</b> ectin)        |
| LMP  | Pectines faiblement méthylées ou ( <b>L</b> ow <b>M</b> ethoxyl <b>P</b> ectin)                           |
| MHDP   | Meta-hydroxydiphenyle   |
| MHS  | modèle de Mark-Houwink-Sakurada   |
| MWCOs  | Molecular Weight Cut-Offs   |
| PE   | Pectinesterase  |
| PG   | Polygalacturonases  |
| PL   | Pectine lyase   |
| PMG  | Polymethylgalacturonases  |
| RG   | Rhamnogalacturonanes  |
| Rha  | Rhamnose  |
| TFA  | Trifluoroacétique   |
| UF   | Ultrafiltration   |
| [η]  | Viscosité intrinsèque   |

# Introduction

Les activités agricoles et agro-industrielles génèrent d'importantes quantités de déchets. Ces derniers constituent une nuisance certaine pour l'environnement et un gaspillage de matières organiques utiles.

Ces déchets, peuvent créer des problèmes écologiques, en particulier la pollution de l'eau, puisque la présence des matières biologiques dans les écorces d'oranges comme les huiles essentielles, les pectines, aussi bien que les sucres, stimulent les bactéries aérobies qui décomposent les composés organiques biodégradables en produits tels que l'anhydride carbonique, les nitrates, les sulfates et les phosphates dans l'eau.

Ces déchets pourraient être transformés en capitaux, si des bio-produits potentiellement commercialisables tel que la pectine peuvent être extraites à partir des écorces et fruits de faibles valeurs marchandes ; les déchets après extraction, peuvent être vendues sous forme d'alimentation de bétails sèche après enrichissement en protéine. Cette activité annexe réduirait aussi la charge de pollution de l'environnement.

De nombreuses études ont montré que les déchets des industries agroalimentaires sont considérés comme des produits nobles et sources de nouvelles matières premières pour de nombreuses industries.

L'Algérie possède un grand potentiel de biomasse exprimé en déchets qui sont fournis par les unités de transformations (conserveries, huileries, etc.).

Ces déchets peuvent être valorisés à leur tour en matières premières telles que les pectines, les huiles essentielles et les alcools demandés par différents secteurs de transformation ou de production.

Cette opération de valorisation, permet d'éviter les importations aux prix imposés par les pays producteurs et une meilleure exploitation des produits agricoles.

La pectine additif naturel utilisé intensivement dans l'industrie alimentaire est l'un des fruits de la valorisation des sous produits. Ça demande sur le marché mondial est au-dessus de 30.000 tonnes annuellement et se développe d'environ 4 – 5 % par an (Yeoh et al., 2008).

Les pectines sont des polysaccharides dits Polyacides ou polymères anioniques ; Ce sont des biopolymères dont le motif de base est l'acide galacturonique. Les groupes chargés les plus communs sont les groupes carboxyliques ( $-\text{COO}^-$ ) (Walstra, 2003).

La chaîne de l'acide polygalacturonique peut être estérifiée en position C<sub>6</sub> par des groupements méthyles (---OCH<sub>3</sub>) et acétylées en position C<sub>2</sub> par des groupements acétyles (---COCH<sub>3</sub>).

La pectine est présente dans la paroi de tous les végétaux supérieurs. Elle est obtenue par différents types de méthodes de solubilisation et de précipitation. Après séchage et broyage, le produit fini une fois obtenu doit être standardisé pour répondre aux caractéristiques prévues du produit commercial.

Ce polysaccharide est largement utilisé dans l'industrie agroalimentaire comme agent gélifiant, épaississant, stabilisant et émulsifiant. La quantité ainsi que la qualité de celui-ci dépend de la variété, du stade de développement et des conditions d'extraction.

Notre présente contribution à cet axe de valorisation d'actualité est structurée comme suit :

- Étude de la possibilité d'extraction des pectines selon des conditions préconisées en bibliographie à partir de différents matériaux végétaux (fruits de faible valeur marchande : dattes et sous produits : écorces d'orange) disponible en grande quantité dans notre région ;
- Caractérisation biochimique des pectines extraites ;
- Évaluation de leur caractéristiques techno-fonctionnelles.

Partie I :

Recherche bibliographique

Chapitre 1 :

Généralités sur  
les substances pectiques

## 1. Historique

Le composé chimique réel a été découvert par Vauquelin en 1790, mais il n'a pas été vraiment caractérisé. C'est en 1825 que le chimiste français Braconnot donna le nom de « pectine » (du grec  $\phi\acute{\alpha}\tau\omicron\nu$  'pektos' signifiant « prise en gelée, rigide ») aux substances extraites de fruits et qui gélifient en milieu sucré et acide (Glicksman, 1969).

Smolenski rapporta en 1924 que la pectine est une substance de polymère d'acides galacturoniques. En 1930, Meyer et Marc ont découvert la formation en chaînes de la molécule de pectine. Schneider et Bock ont en établi la formule en 1937 ([www.herbstreith-fox.de/fileadmin/tmp/pdf/broschueren/Naturprodukt\\_englisch.pdf](http://www.herbstreith-fox.de/fileadmin/tmp/pdf/broschueren/Naturprodukt_englisch.pdf) : consulter le 12/02/2007).

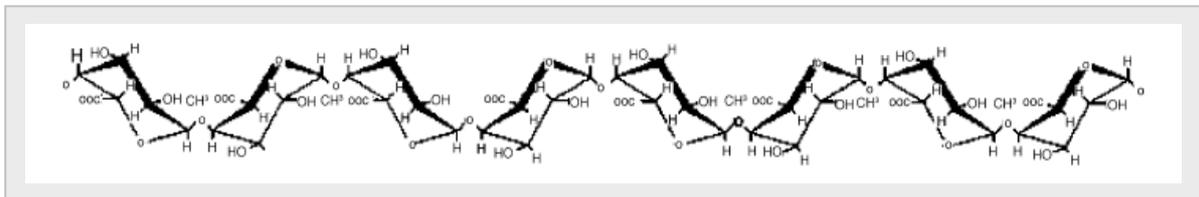
Depuis le début du XX<sup>ème</sup> siècle, les pectines sont extraites industriellement du marc de pommes et sont utilisées comme agent gélifiant des denrées alimentaires (elle portent comme additif alimentaire le numéro de code européen : E 440) (Clément, 1978).

## 2. Définition des pectines

Les pectines sont des polysides complexes entrant dans la composition des parois cellulaires de la plupart des végétaux supérieurs. Elles sont majoritairement présentes dans la lamelle moyenne et la paroi primaire. Elles participent à la cohésion de la cellule et au maintien des parois par le biais d'interactions mécaniques et chimiques avec les autres constituants de la paroi (Donato, 2004).

La quantité de substances pectiques dans le végétal varie fortement en fonction de son origine botanique et de son histoire (mode de culture, période de croissance...) (Michel, 2002).

La structure des pectines est influencée par des réactions enzymatiques et des modifications chimiques pendant la croissance, la maturation et le stockage des fruits et des légumes (Shuryo, 2003).



**Figure 1** n Structure primaire des substances pectiques (Ranveer et al., 2005).

La pectine est un hydrocolloïde présent dans tous les végétaux, constituée d'une chaîne principale d'acides galacturoniques liés en  $\alpha$  (1 $\rightarrow$ 4) et dont la fonction acide est plus ou

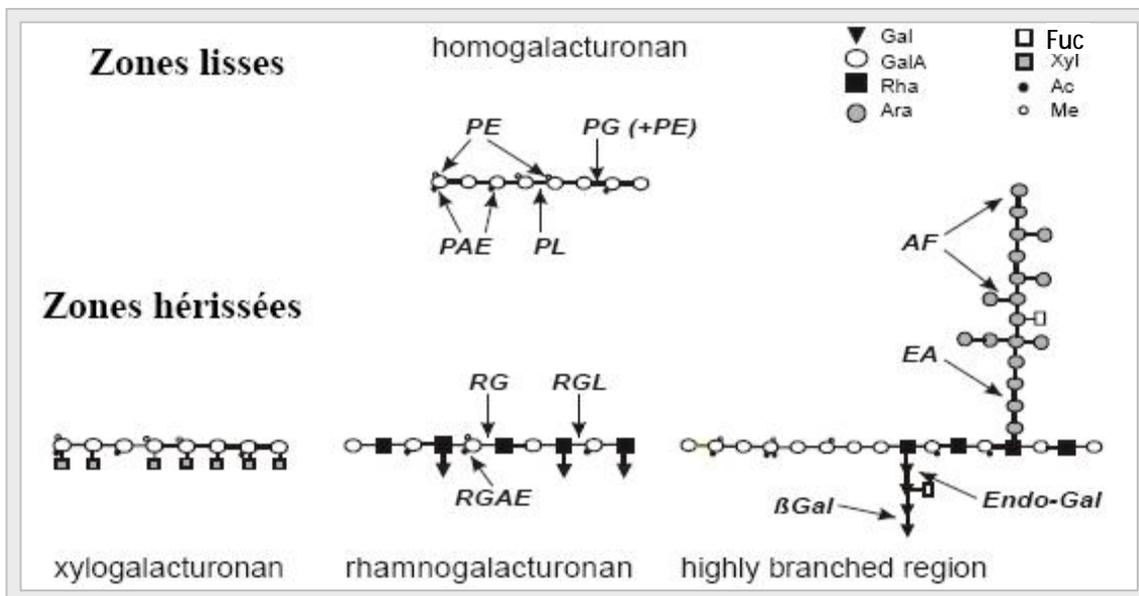
moins estérifiée par du méthanol (pectines hautement méthylées et pectines faiblement méthylées).

Les pectines normales (E 440i) et les pectines amidées (E 440ii) ont des applications variées dans les desserts, crèmes, plats cuisiniers, etc., et sont des substituts des graisses (Manfred, 2002).

Selon Alais et al. (1994) les pectines sont des polygalacturonides plus ou moins méthylés, en chaînes linéaires, qui sont des constituants des parois cellulaires végétales. C'est une structure relativement simple, avec des liaisons régulières  $\alpha$  (1 $\rightarrow$ 4).

Généralement, les pectines sont constituées essentiellement de trois unités structurales distinctes : (Schols et Voragen, 2002) voir *Figure 2*.

- 1- Les **homogalacturonanes** : sont composés principalement de chaînes d'acides D - galacturonique liés en  $\alpha$  (1 $\rightarrow$ 4).
- 2- Les **rhamnogalacturonanes (RG)**: les RG représentent la liaison entre l'acide galacturonique et le rhamnose, ce dernier est suivi de chaînes d'arabinane et d'arabinogalactane.
- 3- Les **xylogalacturonanes** : sont des résidus de xyloses liés à l'acide galacturonique.



**Figure 2** n Structure des trois principales unités des pectines (Schols et Voragen 2002)

## 2.1. Les substances pectiques

Les substances pectiques sont un groupe de polysaccharides colloïdaux et complexes de l'acide galacturonique.

Selon Prasanna et al. (2007), dans la paroi cellulaire présentant de nombreuses natures chimiques de ces substances, on trouve :

- **Les protopectines:** qui sont des pectines insolubles dans l'eau.
- **Les acides pectiniques (pectines):** ce sont des acides polygalacturoniques, partiellement ou entièrement estérifiés.
- **Les pectinates:** ce sont des sels d'acide pectinique (pectines).
- **Les acides pectiques:** qui sont essentiellement des acides polygalacturoniques non estérifiés.
- **Les pectates:** ce sont les sels d'acide pectique.

## 2.2. Types de pectines

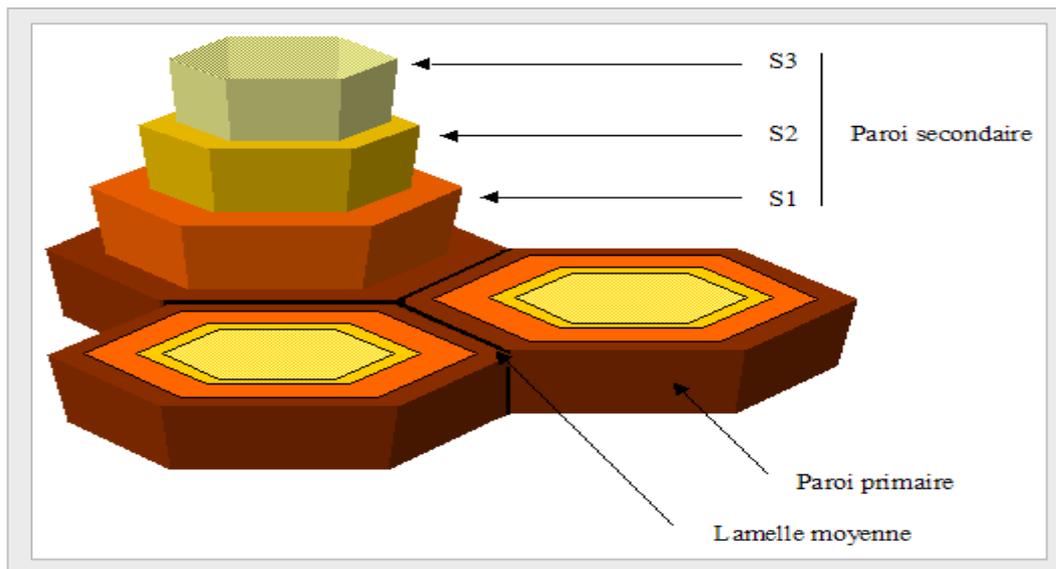
Selon Leroux et Schubert (1983), les pectines sont divisées en référence à leur degré de méthylation en deux catégories :

- **Les pectines hautement méthylées** ou H.M (High Methoxyl), ce sont les pectines dont plus de 50% des groupements carboxyles sont estérifiés avec le méthanol.
- **Les pectines faiblement méthylées** ou L.M (Low Methoxyl), ce sont les pectines dont moins de 50% de groupements carboxyles sont estérifiés.

Chez certaines pectines LM, les fonctions acides sont neutralisées par de l'ammoniac ( $\text{NH}_3$ ) et forment une fonction amide. Ce sont les pectines amidées ou pectines LMA (Low Methylated Amidated Pectins).

## 3. Localisation et biosynthèse des substances pectiques

La paroi cellulaire des végétaux est généralement présentée sous la forme de trois éléments : la lamelle moyenne (riche en substances pectiques), la paroi primaire et la paroi secondaire (*voir figure 3*) :



**Figure 3** n Représentation schématique de la paroi de cellules du sclérenchyme ([http://www.spectrosciences.com/article.php3?id\\_article=51](http://www.spectrosciences.com/article.php3?id_article=51): consulter le 17/02/2008)

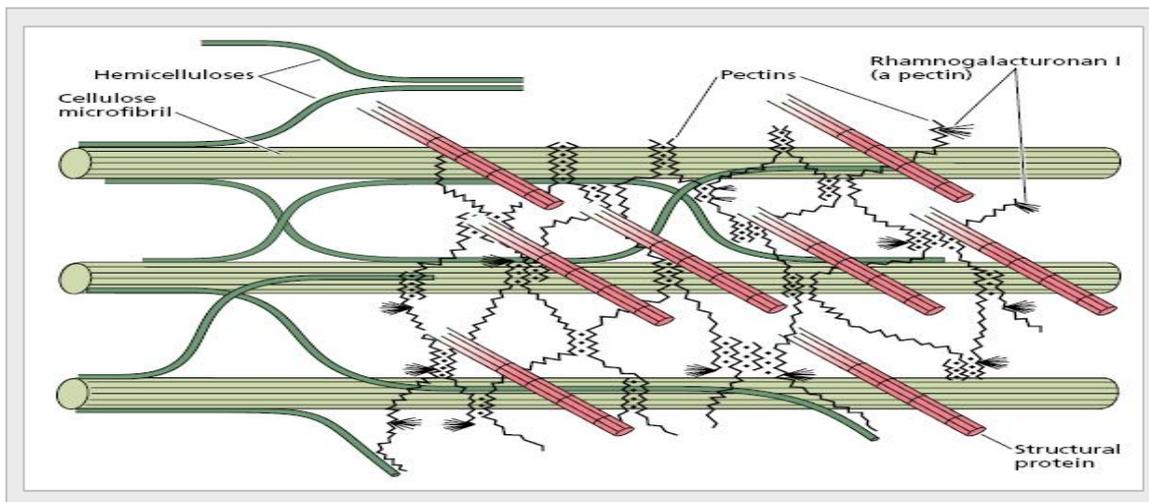
La paroi primaire se présente comme un réseau lâche de micro fibrilles de cellulose, englobées dans une matrice amorphe fortement hydratée de pectines et d'hémicelluloses.

La paroi secondaire, quant à elle, est une structure inextensible et faiblement hydrophobe, constituée de cellulose et de lignines. Elle présente trois couches successives (exemple des parois de sclérenchyme), S1, S2 et S3, se distinguant par l'orientation de leurs fibres de cellulose, et conférant une grande résistance de la paroi. Les cellules peu différenciées ou en cours de croissance présentent surtout une paroi primaire. Cette dernière est assez élastique et remodelable pour assurer l'élongation des cellules.

La paroi primaire de cellules se compose de micro fibrilles de cellulose incorporé dans une matrice de polysaccharide.

Dans la paroi primaire de la cellule, des micro fibrilles de cellulose sont inclus dans une matrice fortement hydratée (*figure 4*). Cette structure fournit la rigidité et la flexibilité. Dans la paroi cellulaire, la matrice se compose de deux groupes principaux de polysaccharides, l'hémicellulose et les pectines, plus un peu de protéines structurales. Les polysaccharides de matrice se composent d'une variété de polymères qui peuvent changer selon le type de cellules et l'espèce (Taiz et al., 2002).

Des micro fibrilles de cellulose sont recouvertes des hémicelluloses (telles que le xyloglucane), qui peuvent également assurer la réticulation des micro fibrilles les uns aux autres. Les pectines forment un gel enclenchant de matrice, peut-être agissant l'un sur l'autre avec les protéines structurales (*figure 4*).



**Figure 4 n** Schéma des principaux éléments structuraux de la paroi primaire de la cellule végétale et leur arrangement probable (Taiz et al., 2002)

Le mur primaire se compose approximativement de 25% d'hémicelluloses, 25% de cellulose et 35% de pectines, avec 1- 8% de protéine structurale, sur une base de poids sec. Cependant, selon l'espèce et le stade, de grandes déviations de ces valeurs peuvent être trouvées.

Mazliak (1981) a montré que l'augmentation des composés pectiques figure parmi les principales transformations biochimiques au cours de la maturation des fruits charnus.

La détermination des activités enzymatiques a prouvé que la biosynthèse de pectine prend endroit dans l'appareil de Golgi.

La pectine est le polysaccharide cellulaire de la paroi végétale le plus compliqué structurellement, par exemple, au moins 14 activités enzymatiques distinctes sont exigées pour synthétiser les substrats actifs de sucres et 58 glycosyl, méthyl et acétyltransférases distinctes sont exigées lors de la synthèse des pectines (Shuryo, 2003).

La matrice polymères sont synthétisés dans l'appareil de Golgi et sécrétés dans les vésicules. Les principaux polysaccharides de la matrice sont synthétisés par des enzymes membranaires dans l'appareil de Golgi et sont livrés au mur de cellules dans des minuscules vésicules par l'intermédiaire de l'exocytose (*figure 5*). Les enzymes responsables de la synthèse sont les glycosyltransferases. Ces enzymes transfèrent des monosaccharides à partir des nucléosides à l'extrémité croissante de la chaîne de polysaccharide (Taiz et al., 2002).

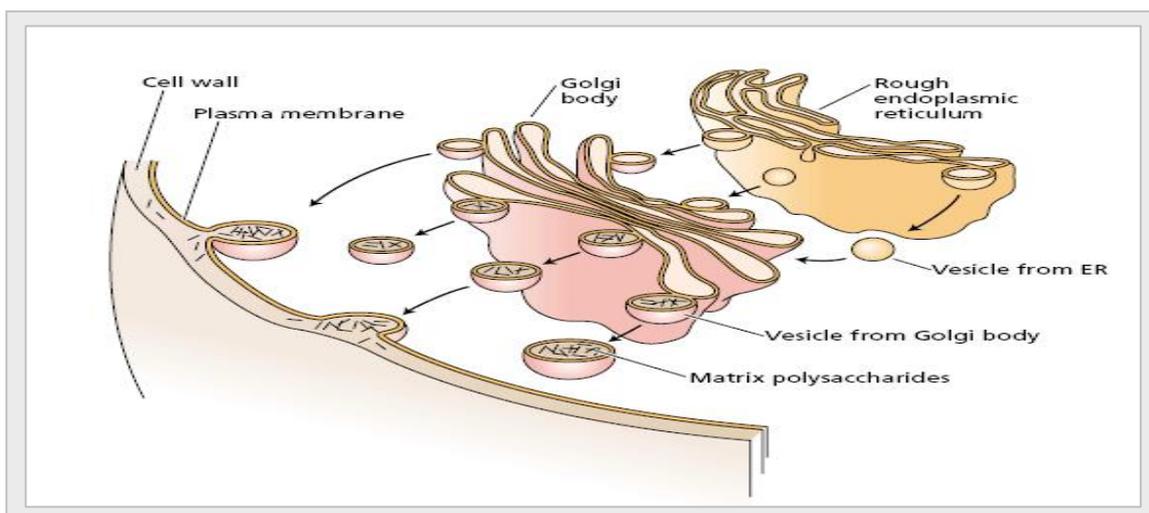
L'acide galacturonique est incorporé à l'UDP-acide galacturonique par les galacturonosyltransferases. Plusieurs de celles-ci, y compris l'acide polygalacturonique synthétase qui transfèrent successivement l'acide galacturonique à partir de l'UDP-acide galacturonique à l'acide oligogalacturonique, sont censées être impliquées dans la biosynthèse de pectine (Ohashi et al., 2006).

Cependant, selon Henrik et al. (2007) il ne peut être exclu que quelques premières parties de biosynthèse de pectine ont lieu dans le réticulum endoplasmique, ou, que quelques étapes de maturation ont lieu au niveau de la membrane cytoplasmique ou même dans le mur de cellules.

Les pectines synthétisées voyagent dans les vésicules de Golgi. Les polysaccharides sont déchargés dans l'espace extracellulaire pour être incorporés, hors de la cellule, dans la paroi cellulaire (Gerhard, 1993). Dans certains tissus végétaux et cellules, une partie de la pectine n'est pas incorporée au mur mais est sécrétée comme polysaccharide hydrosoluble (O'Neill et al., 2001).

Pendant la maturation de beaucoup de fruits climactériques, les polymères homogalacturonane et rhamnogalacturonane de la matrice de pectine du mur de cellules subissent une série de changements structuraux et chimiques.

Ces changements incluent le clivage des groupes ester méthyliques de biopolymère de pectine et le déclenchement du calcium liant pour former les ponts interioniques de calcium entre les chaînes adjacentes de pectine (Watson, 1994).



**Figure 5 n** Schéma de synthèse et de la distribution des polysaccharides de matrice dans la paroi cellulaire. (Taiz et al., 2002)

#### 4. Sources des substances pectiques :

Les substances pectiques sont des polymères de l'acide galacturonique avec des groupements carbonyles plus ou moins estérifiés par des radicaux méthyles.

La pectine est contenue naturellement dans l'endocarpe des fruits sous forme de protopectines qui sont libérées sous forme de pectines lors de la cuisson. La teneur en pectines des fruits est variable en fonction de la nature de fruits et de leur maturité (Michel, 2002).

**Tableau 1 n** *Teneurs en pectines des principaux fruits utilisés pour les confitures.*  
(Michel, 2002)

|                           |  |
|---------------------------|--|
| Fruits pauvres            | cerises, pêches, myrtilles, raisins          |
| Fruits moyennement riches | fraises, framboises, mûres                   |
| Fruits riches             | coings, groseilles, prunes, cassis, abricots |
| Fruits très riches        | citrons, pommes, oranges                     |

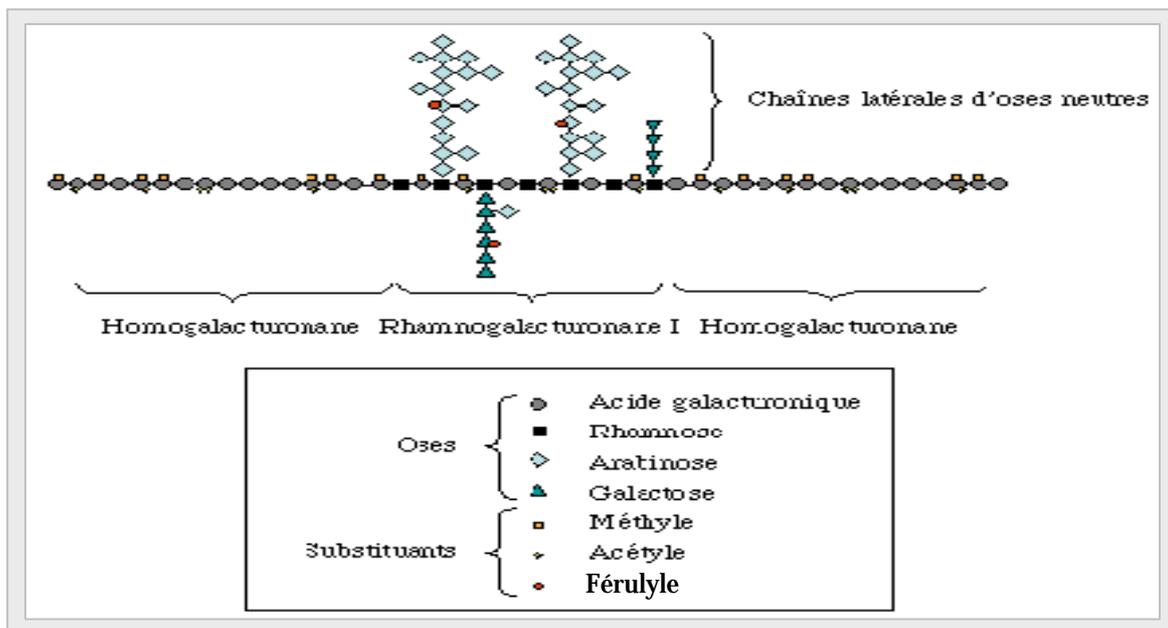
## Chapitre 2 :

# Structure et caractéristiques des substances pectiques

## 1. Structure chimique des substances pectiques

La pectine est un composant de la paroi cellulaire de tous les végétaux supérieurs (N'BeMiller, 2001). La pectine est abondamment présente dans matières végétales comme constituant important des lamelles moyennes et des parois primaires de cellules (Van Rijssel, 1993).

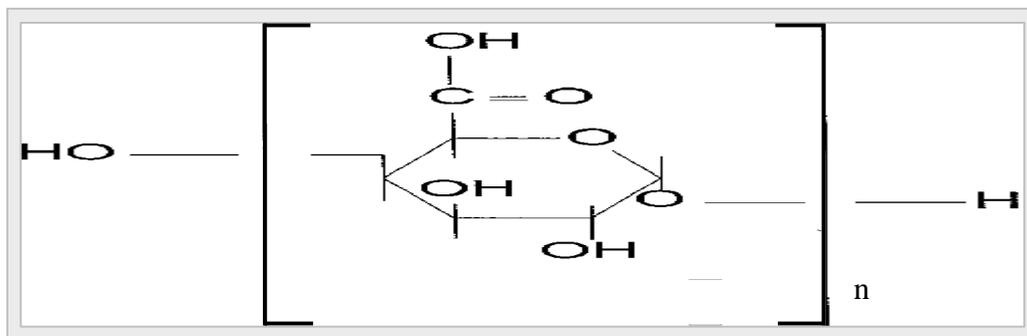
Les polysaccharides pectiques sont formés de chaînes principales constituées de galacturonane et de rhamnogalacturonane, et de chaînes latérales constituées d'arabinane et de galactane (Yamaguchi et al., 1996 ; Schols et Voragen, 2002).



**Figure 6 n** Représentation schématique d'une macromolécule pectique (Ralet, 2006)

### 1.1. La chaîne principale

Les substances pectiques sont des macromolécules dont le motif de base est l'acide galacturonique (Leroux et Schubert, 1983).



**Figure 7 n** Structure chimique de l'acide galacturonique (White et al., 1999).

Les pectines constituent un groupe d'hétéropolysaccharides chargés à teneur élevée en acides  $\alpha$ -D-galacturoniques. Leur structure est souvent idéalisée par la succession de zones dites "lisses" constituées d'homogalacturonanes et de zones dites "hérissées" constituées d'un squelette principal "rhamnogalacturonane I" branché par des chaînes latérales d'oses neutres. Ces trois entités "homogalacturonane", "rhamnogalacturonane I", "chaînes latérales d'oses neutres" forment les domaines constitutifs des pectines.

Les oses constitutifs des pectines sont estérifiés par différents substituants non osidiques. Les acides galacturoniques constitutifs des zones homo- et rhamnogalacturoniques peuvent être estérifiées en C-6 par du méthanol et en C-2 et/ou en C-3 par de l'acide acétique.

Chez certains végétaux, les oses constitutifs des chaînes latérales (arabinose et galactose) sont estérifiés par de l'acide férulique (Ralet, 2006 ; Schols et Voragen, 2002).

### 1.2. Les coudes pectiques

Le L-rhamnose (*figure 6 et 8*), un désoxyose, interrompt la suite des résidus galacturonyles de la chaîne principale à des intervalles plus ou moins réguliers et lui confère sa forme caractéristique en zigzag (*figure 8*). Des polysaccharides neutres, par exemple le galactane, sont rattachés aux unités rhamnose et forment des chaînes latérales (Gerhard, 1993). Ces résidus de rhamnose incorporés au hasard aux chaînes principales forment des coudes pectiques qui ont comme conséquence la modification de la linéarité de la chaîne principale (Morris et al., 2002).

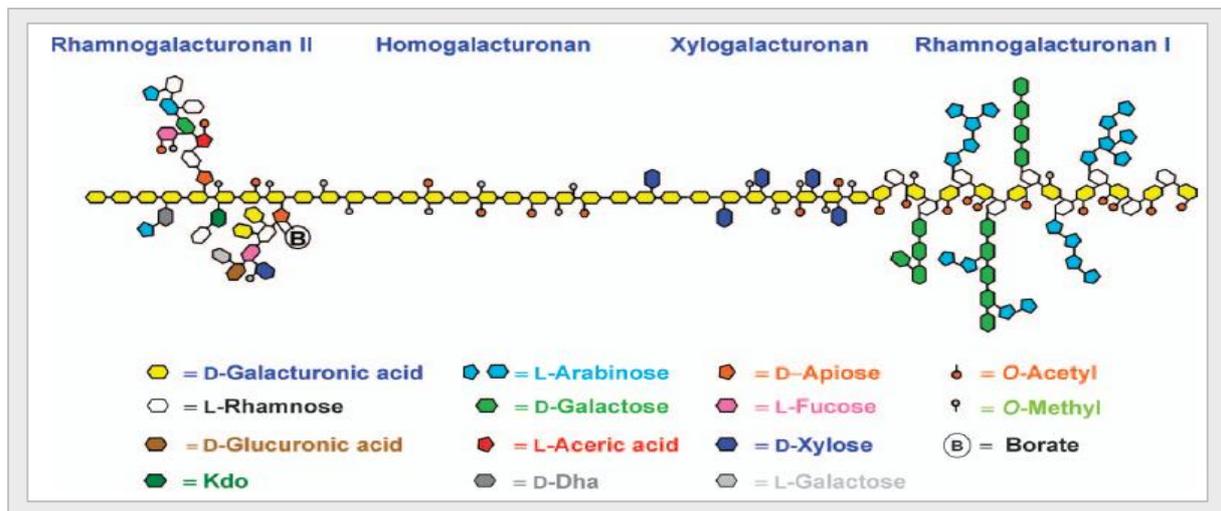
Les rhamnogalacturonanes sont principalement constitués d'une séquence répétée de [ - 2)  $\alpha$ - Rha (1 $\rightarrow$ 4)  $\alpha$  - GalA (1 ], dans laquelle le L - rhamnose porte quelques chaînes latérales neutres d'arabinose et/ou de galactose (Bonnin et al., 2002).

### 1.3. Les chaînes latérales

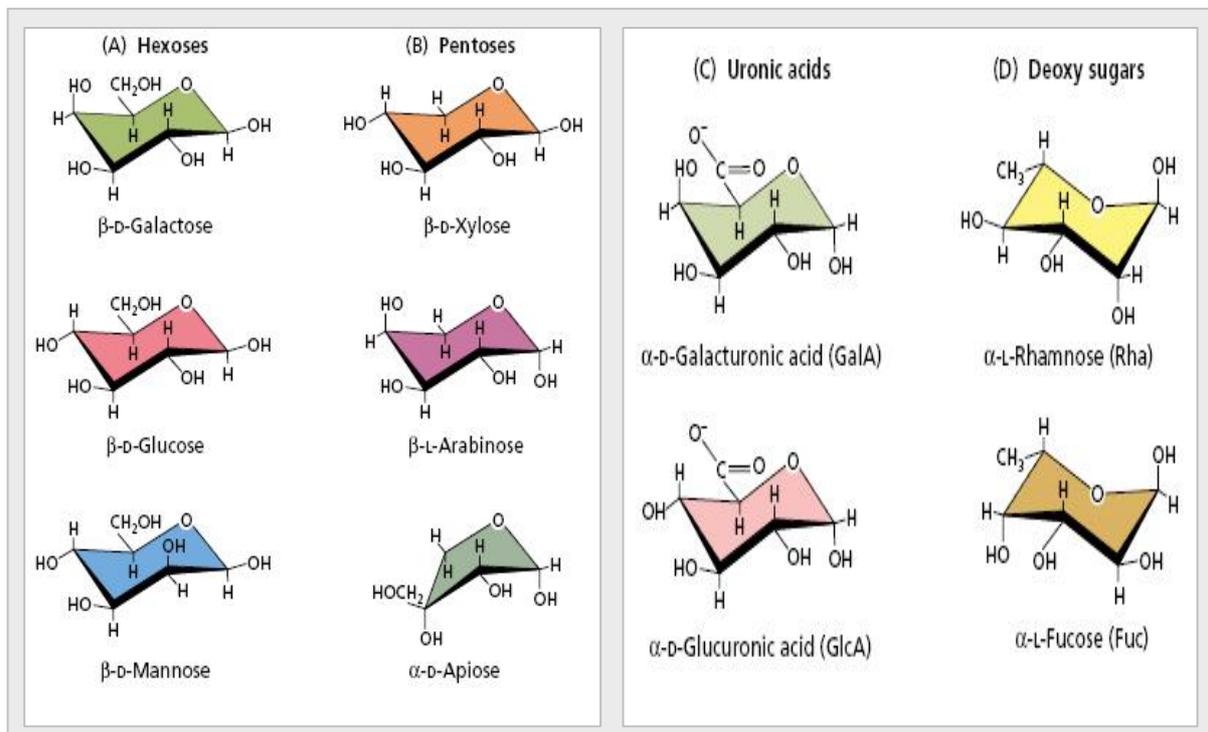
Il semble qu'il existe, selon la source, des polymères à régions entièrement galacturoniques interrompues sans régularité par des rhamnoses, où l'alternance rhamnose-acide galacturonique se répète sur un segment de longueur faible. Dans la plupart des cas la chaîne principale est substituée par des glucosides riches en arabinose et en galactose, se lient (majoritairement) sur le C-4 des coudes rhamnosylés de la chaîne. Le plus souvent le polymère apparaît comme une macromolécule où alternent des segments non substitués (zones lisses) et des segments où les chaînes latérales sont nombreuses (zones hérissées).

Schématiquement, l'élément caractéristique et déterminant en termes de comportement rhéologique est que les unités rhamnoses induisent une rupture dans la linéarité du polymère par la formation des coudes pectiques (Bruneton, 1999).

Les chaînes latérales composées de résidus d'arabinose et de galactane sont également présentes, aléatoirement dispersées ou localisées dans les régions "hérissées" (Morris et al., 2002).



**Figure 8 n** Structure schématique de la pectine (Henrik et al., 2007).



**Figure 9 n** Structure des sucres communément trouvés dans la paroi cellulaire des plantes : (a) Hexoses, (b) Pentoses, (c) Acides uroniques (sucres acides) et (d) Deoxy Sucres (Taiz et al., 2002).

## 2. Propriétés physico-chimiques des substances pectiques

### 2.1. Détermination de la masse moléculaire des pectines

La détermination de la masse moléculaire des pectines est à l'heure actuelle, un défi à cause des problèmes d'hétérogénéité. Hwang et al. (1998) ; Constenla et al. (2002) ont calculé M en fonction de la viscosité intrinsèque  $[\eta]$ , d'après le modèle de Mark-Houwink-Sakurada (MHS) :

$$[\eta] = K \cdot M^a$$

$k$  et  $a$  sont les constantes de MHS.

Il existe d'autres techniques pour la détermination de la masse moléculaire moyenne en poids et en nombre, utilisant des méthodes de chromatographie (par perméation de gel) ou par le détecteur de diffusion de lumière (laser light scattering detector) (Belhamri, 2005).

Certaines substances pectiques tournent autour de 100 kg/mol.

### 2.2. Degré de méthylation

Les acides D-galacturoniques (GalA) liés par des liaisons  $\alpha$ -(1→4) peuvent être estérifiés par le méthanol sur le groupe carboxylique ( $C_6$ ) (**Figure 10**) (Wicker et al., 2003 ; Tillmann et al., 2002).

Le degré de méthylation (DM) est défini comme le pourcentage des groupes carboxyliques estérifiés avec du méthanol (Bonnin et al., 2002 ; Levigne et al., 2002).

Le DM peut atteindre des valeurs allant souvent jusqu'à 70-80 %.

### 2.3. Degré d'acétylation

La répartition et la longueur des zones homogalacturoniques et rhamnogalacturoniques, le degré d'estérification et la distribution du méthanol, de l'acide acétique et de l'acide férulique, la quantité, la longueur et les ramifications des chaînes latérales sont variables selon les espèces, la maturité, la localisation dans la plante et les conditions d'extraction (Ralet, 2006).

Les acides D-galacturonique (GalA) liés par des liaisons  $\alpha$ -(1→4) peuvent être acétylés sur les positions  $C_2$  et/ou  $C_3$  (**Figure 11**) (Wicker et al., 2003; Tillmann et al., 2002).

Le degré d'acétylation (DAc) est défini comme le pourcentage des résidus de GalA estérifiés par un groupe d'acétyle (Bonnin et al., 2002 ; Levigne et al., 2002).

Il n'y a aucune explication claire au sujet de l'origine des propriétés émulsifiantes des pectines. Suite à la présomption qu'un contenu élevé d'acétyles pourrait augmenter l'hydrophobicité de la pectine, des études de la capacité d'émulsification de la pectine de betterave sucrière par rapport à sa structure chimique, ont conclu qu'il n'y avait aucune évidence pour un rapport entre la composition chimique et les capacités d'émulsification.

Néanmoins, les capacités d'émulsification de la pectine de betterave peuvent être expliquées par la présence des groupes acétyles (4 –5%).

De nouvelles études sur les propriétés d'émulsification des pectines de citron ont montré que la pectine de citron de faible teneur en degré d'acétylation, peut avoir une capacité d'émulsification intéressante. La pectine de faible poids moléculaire d'environ 60–70 kg/mole et un degré de méthylation élevé présente les meilleures propriétés d'émulsification.

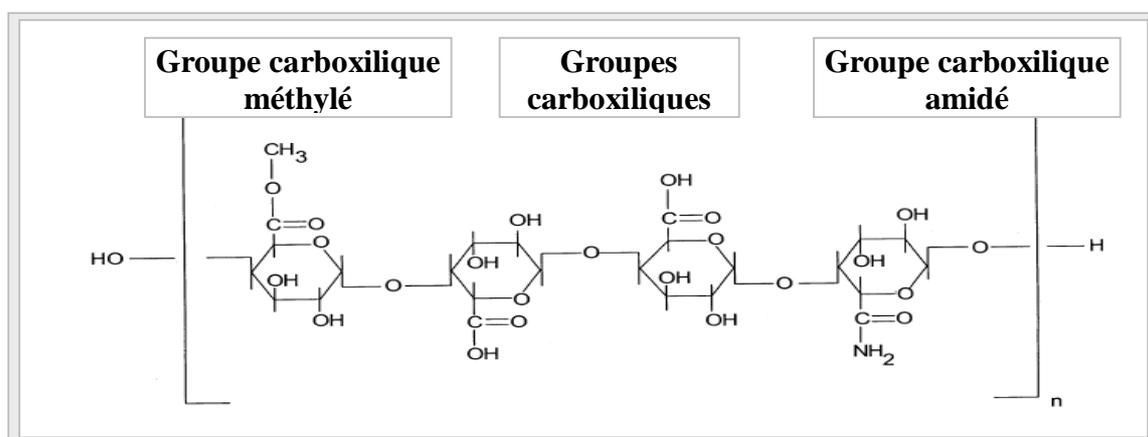
#### 2.4. Degré d'amidation

Ce paramètre concerne surtout la pectine faiblement méthylée amidée (LMA). Le degré d'amidation (DA) est le pourcentage de groupes carboxyliques sous la forme d'amide (**Figure 10**). Un DA autour de 17 %, permet à ce type de pectine de tolérer plus de variation de contenu de calcium et de posséder un degré plus élevé de thermoreversibilité (Matia-merino et al., 2004).

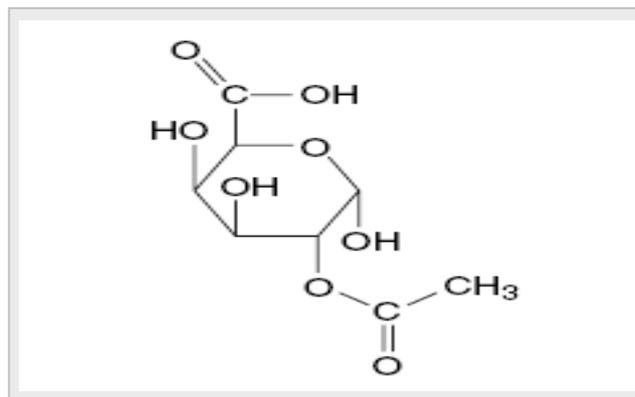
Les pectines faiblement méthylées amidées (LMA) sont obtenues par amidation et déesterification partielle des pectines hautement méthylées (HM) dans un système hétérogène en présence d'ammoniaque et d'alcool, ou dans un système homogène en présence de l'ammoniaque aqueuse concentrée (Guillot et al., 2007).

L'ammoniaque a été diluée avec du méthanol à des concentrations appropriées pour réduire au minimum des réactions secondaires comme la saponification et la  $\beta$ -élimination (Van Alebeek et al., 2001).

Il n'est pas permis d'avoir plus de 25 % de l'ensemble des groupements carboxyles sous la forme amide pour la pectine amidée destinée aux produits alimentaires.



**Figure 10** n Structure chimique représentative de pectine montrant la répétition typique des groupes (White et al., 1999).



**Figure 11 n** Acide galacturonique acétylé en position O<sub>2</sub> (Laurence et al., 2001).

**Tableau 2 n** Acide galacturonique (*GalA*), rhamnose (*Rha*), arabinose (*Ara*), xylose (*Xyl*), galactose (*Gal*) et teneurs en protéines (% en poids), degré de méthylation et degré d'acétylation de certaines pectines obtenues par extraction acide (Leroux et al., 2003).

|                           | Pomme | Agrumes | Betterave |
|---------------------------|-------|---------|-----------|
| <i>GalA</i>               | 73.1  | 79.2    | 62.4      |
| <i>Rha</i>                | 2.3   | 1.4     | 5.4       |
| <i>Ara</i>                | 4.4   | 1.1     | 5.1       |
| <i>Xyl</i>                | 1.7   | 0.2     | 0.2       |
| <i>Gal</i>                | 4.2   | 2.4     | 9.3       |
| <i>SN</i> <sup>(1)</sup>  | 12.6  | 5.1     | 19.9      |
| <i>Protéine</i>           | 1.6   | 3-3.3   | 10.4      |
| <i>Dac</i> <sup>(2)</sup> | 5     | 1.4-1.6 | 16-35     |
| <i>DM</i> <sup>(3)</sup>  | 74    | 72      | 54        |

<sup>(1)</sup> Total de sucres neutres; <sup>(2)</sup> Dac: degré d'acétylation  
<sup>(3)</sup> DM: degré de méthylation

### 3. Évolutions de la stabilité des substances pectiques.

#### 3.1. Dégradation par voie enzymatique

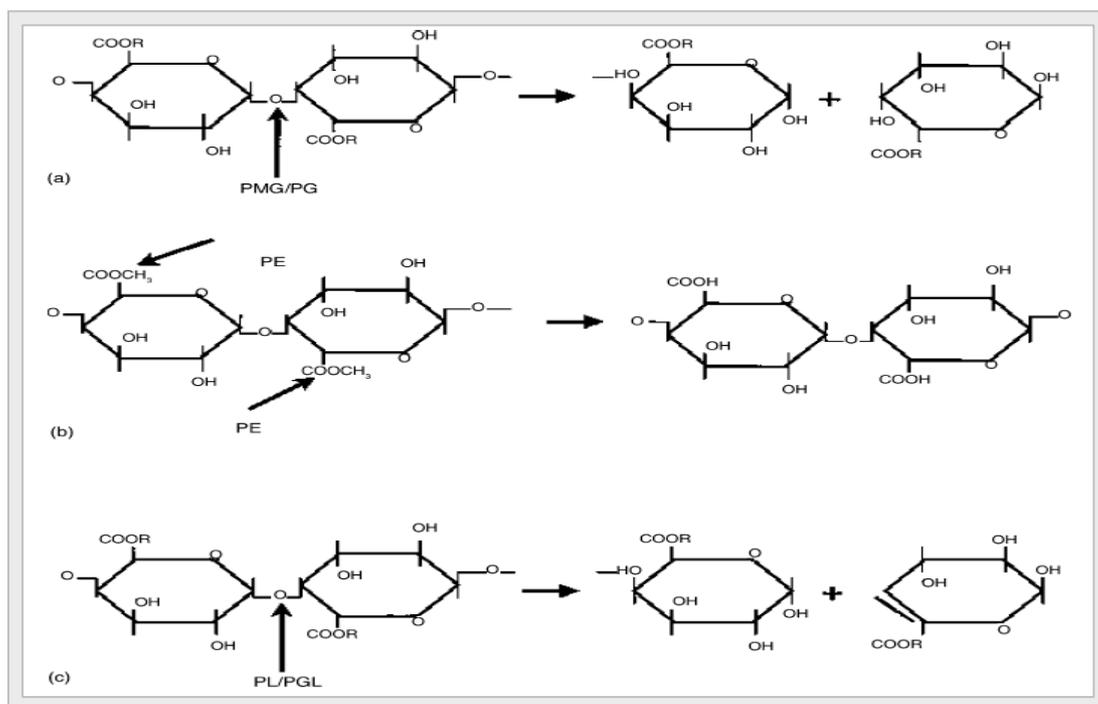
Selon Ranveer et al. (2005), les enzymes pectolytiques (**Figure 12**) peuvent se diviser, en 3 groupes comme suit :

- **Les protopectinases** : qui dégradent les protopectines insolubles et donnent une teneur élevée en pectines soluble de haute polymérisation.
- **Les estérases** : qui catalysent la deestérification des pectines par l'enlèvement des esters méthoxyles.
- **Les depolymerases** : qui catalysent le clivage hydrolytique des liaisons glycosidiques  $\alpha$ - (1→4) qui font partie de l'acide D-galacturonique dans les substances pectiques.

Alors que Be'afi-Bako et al. (2007) divisent les pectinases responsables de l'hydrolyse des pectines en 3 groupes :

- **Les pectinestérases** : catalysant la deestérification des pectines par l'enlèvement des esters méthoxyles.
- **Les enzymes hydrolytiques depolymerases** (comportant polyméthyl-galacturonases et polygalacturonases) : qui catalysent le clivage hydrolytique des liaisons glycosidiques  $\alpha$ -(1→4) qui font partie de l'acide D-galacturonique dans les substances pectiques.
- **Les Lyases** : catalysent le clivage des liaisons glycosidiques par transélimination.

Les pectinases comportent les pectines méthylesterases, qui libèrent le méthanol estérifié au C6 des résidus de galacturonate. Les depolymerases hydrolysent les liens glycosidiques ou les cassent par l'intermédiaire de la  $\beta$ -élimination. L'action de ces hydrolases et lyases peut commencer de l'extrémité des chaînes ou aléatoirement. Certaines de ces enzymes sont spécifiquement actives envers des oligogalacturonates au lieu du substrat polymère et sont, pour cette raison, des oligomérases vrais. Le résultat de la depolymérisation est la formation de (des) oligogalacturonate(s) ou des (oligo)galacturonate(s) insaturés. Le galacturonate (insaturé) et/ou les petits oligomères peuvent être pris par la cellule, et les oligomères sont encore convertis par des oligogalacturonases en monomères (insaturés) (Van Rijssel, 1993).



**Figure 12** Modes d'action des pectinases (Ranveer et al., 2005)

(PMG : polyméthylgalacturonases ; PG : polygalacturonases ; PE : pectinestérase ; PL : pectin lyase).

(a) R = H pour PG et CH<sub>3</sub> pour PMG ; (b) PE ; et (c) R = H pour PGL et CH<sub>3</sub> pour PL.

la flèche indique la place où les pectinases réagissent avec les substances pectiques.

### **3.1.1. Applications biotechnologiques des pectinases :**

Les pectinases ont été utilisées, depuis plusieurs années, dans plusieurs industries, comme les textiles, le thé, le café, l'extraction des huiles, le traitement des eaux usées industrielles, etc.

#### **3.1.1.1. Extraction de jus de fruits :**

Les enzymes jouent un rôle essentiel dans la technologie des jus de fruits. Les préparations d'enzymes pectolytiques et amylolytiques interviennent depuis plus de 60 ans dans la production des jus de pommes et de baies. Ces enzymes pectolytiques sont employées par l'industrie de transformation des fruits pour augmenter le rendement et améliorer la liquéfaction et la clarification (depectinisation) (Be'lafi-Bako et al., 2007).

Certaines enzymes (Pectinex SMASH XXL) sont des enzymes puissantes, agissant efficacement et aux pH très différents, sur de nombreuses variétés de pommes provenant de diverses zones géographiques. Elles sont aussi actives à plusieurs températures de transformation, sur les pommes fraîches ou stockées (BioTimes, 2003).

#### **3.1.1.2. Traitement des eaux usées**

Le prétraitement par boues activées, des eaux usées contenant des pectines (provenant de rejets de sous produits d'unités d'industries de légumes) avec des enzymes pectinolytiques facilite ce traitement (Ranveer et al., 2005).

#### **3.1.1.3. Fermentation du thé et du café**

Le traitement du thé par les pectinases accélère sa fermentation et inhibe aussi la formation des propriétés moussantes de sa poudre instantanée par destruction des pectines. Ces mêmes enzymes sont utilisées dans la fermentation du café pour enlever la couche mucilagineuse des grains de café (Ranveer et al., 2005).

#### **3.1.1.4. Extraction des huiles**

Les huiles d'agrumes, comme l'huile de citron peuvent être extraites par les pectinases. Celles-ci détruisent les propriétés émulsifiantes des pectines, ce qui interfère avec la collection d'huiles des extraits de peaux de citron (Ranveer et al., 2005).

### **3.2. Dégradation par voie chimique.**

Il est nécessaire de préciser que les molécules de pectine (additif alimentaire) ne sont pas stable dans toutes les conditions (Schols & Voragen, 2002).

- Les pectines en solution sont stables aux pH 3 et 4.
- Pour des pH < 3, et à basse température, les groupements acétyles et méthyles sont déstabilisés et les sucres neutres sont hydrolysés. Si la température augmente l'hydrolyse est accélérée.
- En milieu alcalin et à basse température, les groupements esters sont saponifiés.
- En milieu neutre et à température ambiante, la saponification est accompagnée de la réaction de dépolymérisation. Cette dégradation a lieu uniquement dans les liaisons glycosidiques et dans les résidus d'acides galacturoniques méthoxylés.
- A une températures de 115 °C, la dégradation n'a lieu qu'a pH légèrement acide (pH proche de 5).

## Chapitre 3 :

Procédés d'extraction et propriétés physico-chimiques des substances pectiques, leurs rôles dans la nutrition et dans le domaine industriel, pharmaceutique, médical et autres.

## 1. Extraction et précipitation des pectines

Les substances pectiques qui sont un groupe de polysides amorphes, font fonction de ciment-intracellulaire.

Dans l'industrie alimentaire, les pectines sont employées pour leurs propriétés gélifiantes et épaississantes. Les écorces de citron et les pulpes de pomme, sous-produits de l'industrie des jus, sont généralement employées en tant que matières premières pour l'extraction de pectine. Des pectines peuvent être extraites à partir des murs de cellules par des méthodes physiques, chimiques et enzymatiques. Les méthodes physiques, telles que l'extrusion-cuisson ou l'extraction assistée par micro-onde, peuvent être employées (Panouillé et al., 2006).

L'extraction des pectines de la matière première est habituellement effectuée par le traitement acide (pH 1,5 - 3) à température élevée (70 à 90 °C), en utilisant l'acide chlorhydrique, l'acide nitrique ou, dans certains cas, l'acide sulfurique. Cette étape permet l'extraction et la solubilisation des matériaux de pectine des tissus végétaux (Lopes da Silva et al. 2006).

L'extrait de pectine est alors séparé des résidus de peau ou de pulpe par des procédés de filtration ou de centrifugation. La pectine est alors séparée de l'extrait purifié par précipitation avec de l'alcool (isopropanol, éthanol, ou méthanol) ou par la précipitation avec des sels insolubles, par l'addition d'un cation polyvalent, habituellement en aluminium (Lopes da Silva et al., 2006).

Le précipité obtenu est lavé avec de l'alcool et filtré pour enlever les impuretés solubles, et finalement séché et broyé en poudre.

Ces polymères mixtes d'oses et d'acides uroniques sont plus ou moins facilement extraits du tissu végétal en utilisant les méthodes d'extraction suivantes :

### 1.1. Extraction enzymatique

Les pectines et enzymes qui leur sont associées jouent un rôle important dans l'industrie alimentaire, les enzymes dans l'industrie des jus de fruits, les pectines, par leur propriétés gélifiante et stabilisante. Aujourd'hui les pectines sont produites par précipitation à partir d'effluents acides, ce qui entraîne un certain nombre de problèmes, comme la corrosion des équipements. De plus, cette hydrolyse incontrôlée résulte en un affaiblissement du degré de polymérisation, paramètre important des pectines commerciales. L'extraction enzymatique permet de contourner ces problèmes. Des essais d'extraction par différentes enzymes : endo-arabinase, galactanase, pectine lyase, endopolygalacturonase ont été effectués. Parmi ces enzymes, l'endopolygalacturonase permet d'obtenir des pectines à haut degré de méthyle

estérification. Beaucoup de micro-organismes produisent cette enzyme, mais les levures du genre *Kluveromyces* la produisent comme seule enzyme pectolytique (Donaghy et al.,1994).

Les essais d'extraction de pectine de plusieurs sous-produits végétaux, préalablement réduits en poudre, par la polygalacturonase ainsi produite ont donné selon le même auteur, les résultats suivants :

| Source             | Rendement en pectine (%) |
|--------------------|--------------------------|
| Écorces d'orange   | 12.5                     |
| Écorces de citron  | 18.0                     |
| Marc de pomme      | 6.5                      |
| Pulpe de betterave | < 1.0                    |

## 1.2. Extraction des pectines par les agents complexants

L'extraction des pectines s'effectue à partir d'un matériel finement broyé en milieu aqueux ou faiblement acide, ou encore en utilisant des agents complexants, comme l'EDTA ou l'oxalate de sodium (Multon, 1991).

La pectine est extraite en employant les procédures d'extraction suivantes : Solubilisation par HCl (pH 2.5, 90°C, 90 minutes); Précipitation soit par l'oxalate d'ammonium (0,25%, pH 3.5, 75 °C, 90 minutes) ou avec de l'EDTA (DETA : disodium ethylenediamine tetraacetic acid) (0,5% 90 °C, 90 minutes) (Kar et al., 1999).

### Extraction par les sels de précipitation

Les matières sèches obtenues après séchage des écorces d'orange fraîches, ont été soumises à l'extraction en ajoutant de l'eau, dans un rapport: écorces / eau de: 1 /50. Le pH a été ajusté à 1,5 avec 0,5 M HCl. Le mélange a été alors chauffé à 80 –82 ° C., et l'extraction a été effectuée avec agitation continue pendant une heure. Après quoi, la masse chaude a été filtrée à l'aide d'un tissu (Kratchanova et al., 2004).

Selon Zhongdong et al. (2005), les écorces d'oranges ont été lavées avec de l'eau propre jusqu'à ce que l'eau de lavage finale devient sans couleur. Après avoir été séchée, les écorces ont été plongées dans l'eau, dans un rapport: écorces / eau de 1/20. Le pH a été ajusté à 2 avec une solution de 0,5 M HCl. Les échantillons sont maintenus stables, pendant 10 minutes. Le mélange a été alors chauffé, filtré et refroidi. Plus tard, 50 ml de solution saturée

de sulfate d'aluminium ( $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$ ) ont été ajoutés lentement dans le filtrat et le pH a été ajusté à 4 par l'addition de la solution d'ammoniaque.

Après ces traitements, le filtrat a été agité pendant une demie heure, puis laissé reposer une heure pour permettre au gel d'hydroxyde d'aluminium de pectine de se former, ce dernier (gel) a été alors rassemblé par centrifugation. Après avoir été traité avec de l'alcool éthylique acidulé [60% alcool éthylique / HCl concentré. ; 5/1 (v/v)]. Le gel d'hydroxyde d'aluminium de pectine a été alors lavé avec de l'eau propre et séché à la température ambiante.

Le gel a été filtré de nouveau, lavé deux fois avec de l'alcool éthylique neutre (60 %), ensuite déshydraté par trempage en alcool éthylique pure (1000 mL), finalement, la pectine a été séchée à 50 ° C dans une étuve à circulation d'air.

À l'échelle industrielle on observe d'assez grandes différences d'une usine à l'autre dans la façon de procéder, mais Cheftel et al. (1978) donnent l'exemple ci-après qui peut être considéré comme représentatif : 3 parties d'eau pour 1 partie en poids d'écorces sèches ; pH 1.3-1.4 ; température : 90-100 ° C ; durée une heure.

### 1.3. Extraction par l'alcool

La pectine est obtenue à partir de résidus sous forme de poudre ou de concentré. Avant l'extraction de la pectine, les résidus séchés à 90 °C sont triturés et traités à l'eau froide à la température de 10-15 °C durant 30-40 minutes en vue de l'élimination des sucres, des acides, des sels et d'autres substances solubles qui rendent difficiles l'extraction de la pectine.

Après blanchiment des fruits ou des résidus pendant 7 minutes par la vapeur ou l'eau chaude, la pectine est extraite par l'eau chaude (80-95°C) acidulée avec de l'anhydride sulfureux de sorte que le pH du mélange soit dans les limites de 1.8-2.7 (Benamara et Agougou, 2003).

Cette acidification est surtout nécessaire pour l'hydrolyse de la protopectine. Le chauffage accélère l'extraction et inactive les enzymes. Le rapport résidus / eau cité par Benamara et Agougou (2003) représente 1/26, alors que ce rapport peut atteindre 1/50 avec un intervalle du pH de 3.8-4.0 dans les conditions optimales citées par Singthong et al. (2005) .

La durée de traitement à l'eau chaude est d'une heure. L'extrait pectique obtenu par pressurage est séparé sur un tambour perforé et purifié de l'amidon, de protéines et autres substances organiques. La pelure subit une deuxième extraction.

L'extrait purifié est concentré dans une installation sous vide à la température de 60 °C minimum. Selon Berardini et al. (2005) la solution est chauffée à 90 °C pendant 2,5 h. Cependant les 60 dernières minutes, un chauffage sous vide est employé pour réduire le volume de la solution de 50%.

Après refroidissement, le filtrat est coagulé en utilisant un volume égal d'éthanol à 96% et laissé pendant une heure. La pectine coagulée est alors séparée par filtration, lavée une fois avec de l'éthanol 70% acidulé (0.5% HCl), puis avec de l'éthanol 70% pour neutraliser le pH et finalement avec de l'éthanol 96%. Après quoi, la pectine est séchée à 60 °C dans une étuve de laboratoire (Kratchanova et al., 2004).

Pour obtenir un concentré pectique. L'extrait n'est pas séché mais évaporé dans un appareil sous vide pendant 2-3 h jusqu'à une teneur en matières sèches de 18-24 %. On le soumet ensuite à un chauffage de 75-77 °C puis il est emballé hermétiquement dans des boîtes en verre ou métalliques et pasteurisé à 75-80 °C pendant 40-60 min (Benamara et Agougou, 2003).

#### **1.4. Extraction physique**

L'extraction des pectines de la paroi exige un milieu aqueux (eau pure, agents chimiques dilués ou enzymes). Cependant, un certain nombre de procédés d'extraction des pectines sont considérés comme physiques (ou mécaniques). Parmi ces procédés insuffisamment précis, se classent les extractions par cuisson-extrusion, autoclave, micro-onde, Soxhlet ou pression manuelle. Le rendement et la composition osidique des pectines extraites par cuisson-extrusion varient en fonction des paramètres d'extraction, et ce rendement est, dans certains cas, similaire à celui obtenu par extraction acide. L'extraction par Soxhlet donne un rendement pectique plus important que celui par extraction par pression manuelle. Cette dernière conduit, dans certaines conditions, à un rendement plus élevé que l'extraction assistée par micro-onde (Yapo, 2007).

#### **2. Solubilité**

D'un point de vue nutritionnel, les pectines sont considérées comme des fibres solubles ayant une forte capacité de rétention d'eau, celle-ci étant un bon solvant pour les pectines.

La pectine est un biopolymère hydrosoluble qui donne des solutions visqueuses. En outre, la pectine a des capacités gélifiantes (Yokoi et al., 2002).

Des solutés jusqu'à environ 4% (p/p) peuvent être préparés. L'hydrosolubilité diminue quand le DM diminue (Lopes da Silva et al., 2006).

### 3. Viscosité des pectines

La viscosité des pectines est inférieure à la plupart des autres gommés. La pectine peut former une solution visco-élastique et un réseau structural qui sont largement exploités dans les confitures, gelées et marmelades.

Toutefois, les pectines ont des effets intéressants du fait du comportement newtonien des solutions de pectines à faible concentration. Ces propriétés sont particulièrement remarquables chez les pectines d'agrumes possédant des poids moléculaires élevés. Elles sont alors utilisées dans des produits comme les jus de fruits concentrés pour restituer la viscosité caractéristique des jus (Leroux et al., 1983).

Les pectines sont largement répandus pour leur propriétés épaississantes et gélifiantes dans beaucoup d'aliments, ainsi que dans les applications industrielles (par exemple crème glacée, sauce, crèmes desserts, flans, confitures et gelées, conserves de viande, confiseries, etc.) ; Ces applications sont liées aux propriétés rhéologiques complexes des produits (Osmond et al., 2002).

### 4. Pouvoir gélifiant.

Les pectines pour ses propriétés gélifiantes, épaississantes et stabilisantes sont largement utilisées dans les industries agro - alimentaires. Commercialement, elle est extraite surtout des écorces d'agrumes (limon et citron) et marcs de pommes. Sous certaines conditions bien définies, la pectine peut former une solution visco - élastique et un réseau structural qui sont largement exploités dans les confitures, gelées et marmelades.

Les propriétés fonctionnelles sont sensibles au degré d'estérification (DE), dont la valeur dépend du type de tissu végétal à partir duquel la pectine est extraite.

Les pectines hautement méthylées ( $DE \geq 50\%$ ) forment un gel dans un milieu acide à forte teneur en sucre ( $>50\%$ ), alors que les pectines faiblement méthylées ( $<50\%$  DE) forment un gel par différents mécanismes en présence des ions de calcium (Akhtar et al., 2002 ; Dennapa et al., 2006 ; Lopes da Silva et al., 2006).

Les gels de pectine HM sont plus faibles que les gels de pectine LM et leur stabilité diminue avec l'augmentation de la température. Les propriétés des gels de pectine sont également affectées par la distribution des charges le long de la chaîne de l'homogalacturonane, la masse moléculaire moyenne de l'homogalacturonane, la concentration ionique de la solution, et la nature du cation de réticulation. La formation de gel est inhibée par l'augmentation du degré d'acétylation de l'homogalacturonane et par la

présence des régions de rhamnogalacturonane I attachées à l'homogalacturonane (O'Neill et al., 2001).

Les efficacités relatives de gélification avec de la pectine hautement méthylée comparées sur la base des concentrations molaires des résidus de monosaccharides plutôt que de leurs concentrations simples en poids, dans les conditions acides (pH 3,0) a suivi l'ordre : glucose > saccharose > fructose.

Le sorbitol [ $\text{CH}_2\text{OH} \cdot (\text{CHOH})_4 \cdot \text{CH}_2\text{OH}$ ] et le xylitol [ $\text{CH}_2\text{OH} \cdot (\text{CHOH})_3 \cdot \text{H}_2\text{OH}$ ] se sont avérés comparables au glucose dans leur capacité d'induire la gélification de pectine (Tsoga et al., 2004).

### **Conditions optimales de gélification des pectines HM et leurs incidences sur le produit fini (Michel, 2002)**

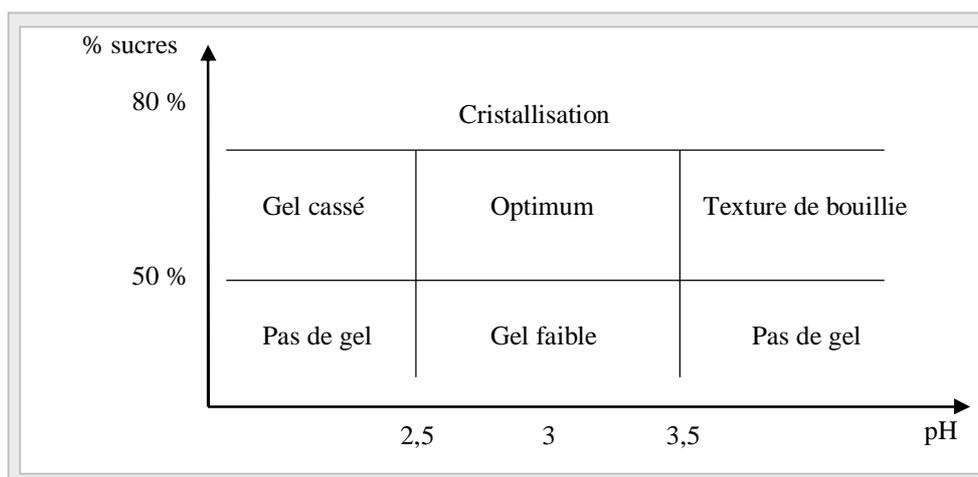
La gélification dépend :

- De la teneur en pectines ;
- De la teneur en sucres ;
- Du pH.

Un équilibre entre ces trois facteurs permet une bonne gélification (figure I.3.12).

Le pH est un facteur important. En pratique, il doit se situer entre 2.9 et 3.3 mais il dépend de la qualité du la pectine.

La rigidité du gel décroît avec la température. Les chocs mécaniques pendant la phase de gélification / refroidissement cassent le gel (gel trouble).



**Figure 13** n Gélification en fonction du pH et de la concentration en sucres (Michel, 2002).

### Pectine du commerce

Pour une production standardisée, il est intéressant d'utiliser des pectines du commerce.

Les pectines sont classées en fonction de leurs taux de méthylation, qui définit leurs usages par leur vitesse de prise en gelée (tableau 3)

**Tableau 3** n caractéristiques des pectines du commerce (Michel ; 2002).

| Taux de méthylation | Vitesse de gélification | pH      | Utilisation                                  |
|---------------------|-------------------------|---------|--|
| >74                 | Ultrapr rapide < 3 min  | 3,1-3,5 | Fruits entiers non acides                    |
| 71 – 74             | Rapide 3 à 7 min        | 2,9-3,3 | Confiture artisanale                         |
| 66 – 69             | Médium 15 à 22 min      | 2,8-3,1 | Confiture acide                              |
| 60 – 65             | Lente > 30 min          | 2,6-2,9 | Gelée, gelée très acide, confiture sous vide |

Les pectines faiblement méthylées peuvent former un gel en présence des ions de calcium, cette gélification dépend du degré d'estérification et de la concentration en ions de calcium (Giannouli et al., 2004 ; O'Neill et al., 2001).

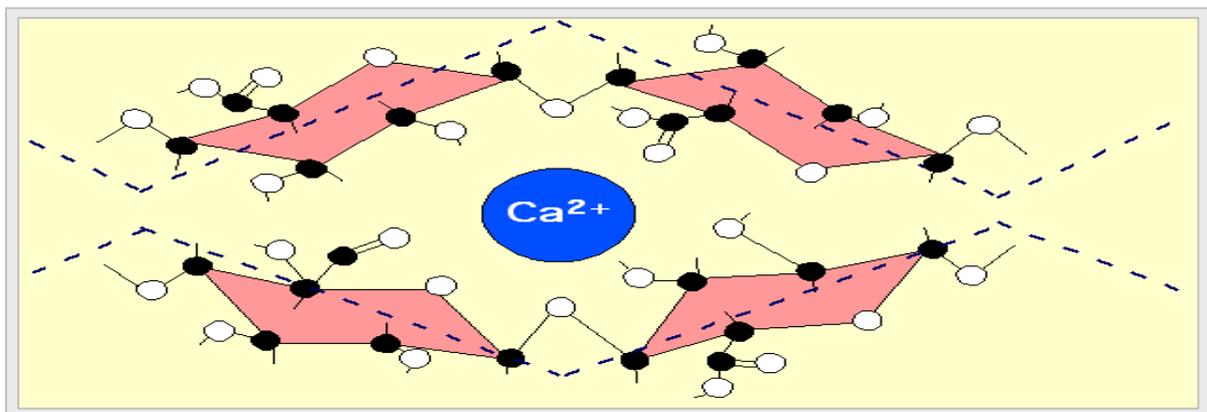
Les pectines hautement méthylées (HM) permettent généralement la gélification en présence du sucre à pH bas. Alors que, les pectines faiblement méthylées (LM) peuvent former des gels en présence du calcium sur un large intervalle de pH avec ou sans le sucre. Des gels sont normalement formés à une concentration > 1%. Deux types de pectines LM sont produites commercialement :

1) Bien qu'une certaine pectine LM soit fabriquée dans les usines, elle est habituellement manufacturée à partir de pectines HM. Il y a quatre méthodes de déméthylation selon les agents utilisés: acides, alcalis, enzymes et ammoniacque en alcool (Iglesias et al., 2003).

D'autres sont préparées par traitement acide en éthanol ou l'isopropanol ;

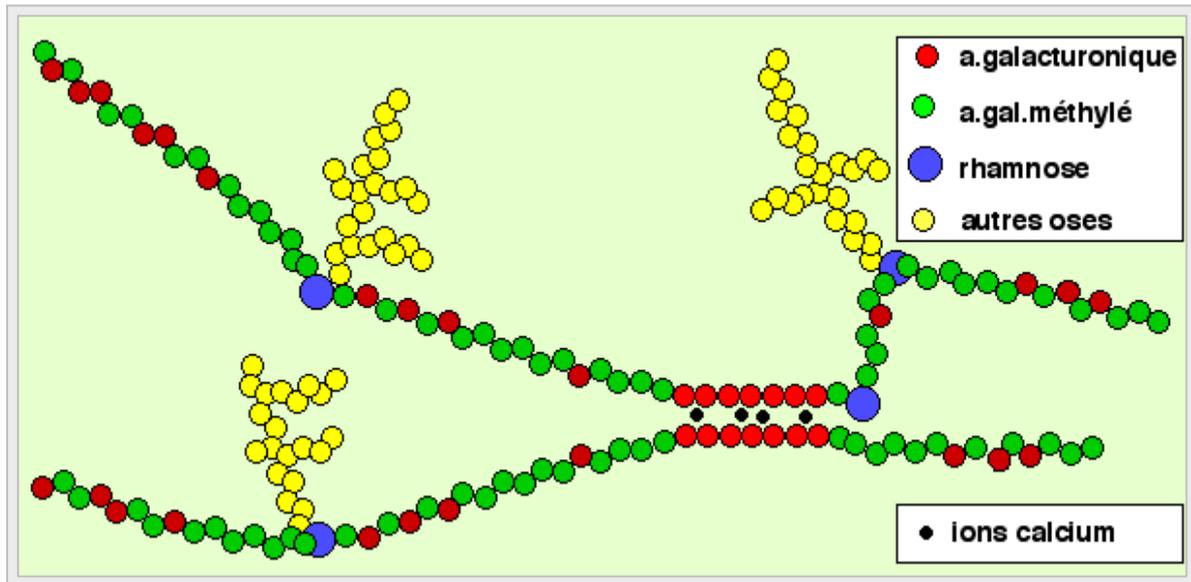
2) Les pectines amidées sont préparées par l'action de l'ammoniacque dans une suspension alcoolique de la pectine (Barrera et al. 2002).

Lorsque deux portions de chaînes sont constituées d'acides galacturoniques non méthylés, elles peuvent se lier en présence de calcium selon le schéma suivant :



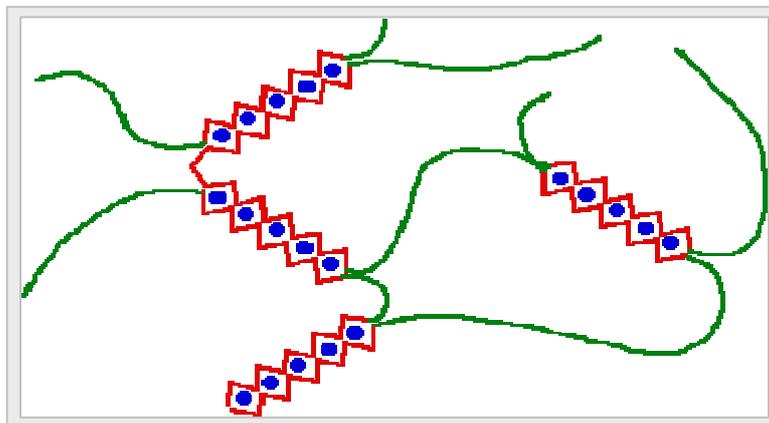
**Figure 14** n La "boîte à oeufs" ou "egg box". Du calcium bivalent peut se lier à 9 oxygènes électro-négatifs et assurer ainsi la liaison entre 2 chaînes de pectines (<http://www.snv.jussieu.fr/bmedia/paroi/pectines.htm> consulté le 15/02/2008)

Des chaînes peuvent ainsi se lier et les pectines forment alors un gel. Cette gélification peut s'interrompre et les pectines devenir fluides si on enlève le calcium. Ceci est réalisé lors de l'extraction par l'EDTA, qui est un chélateur puissant du calcium. Ceci peut être fait aussi si on abaisse le pH. La concentration forte en protons provoque alors le remplacement du calcium.

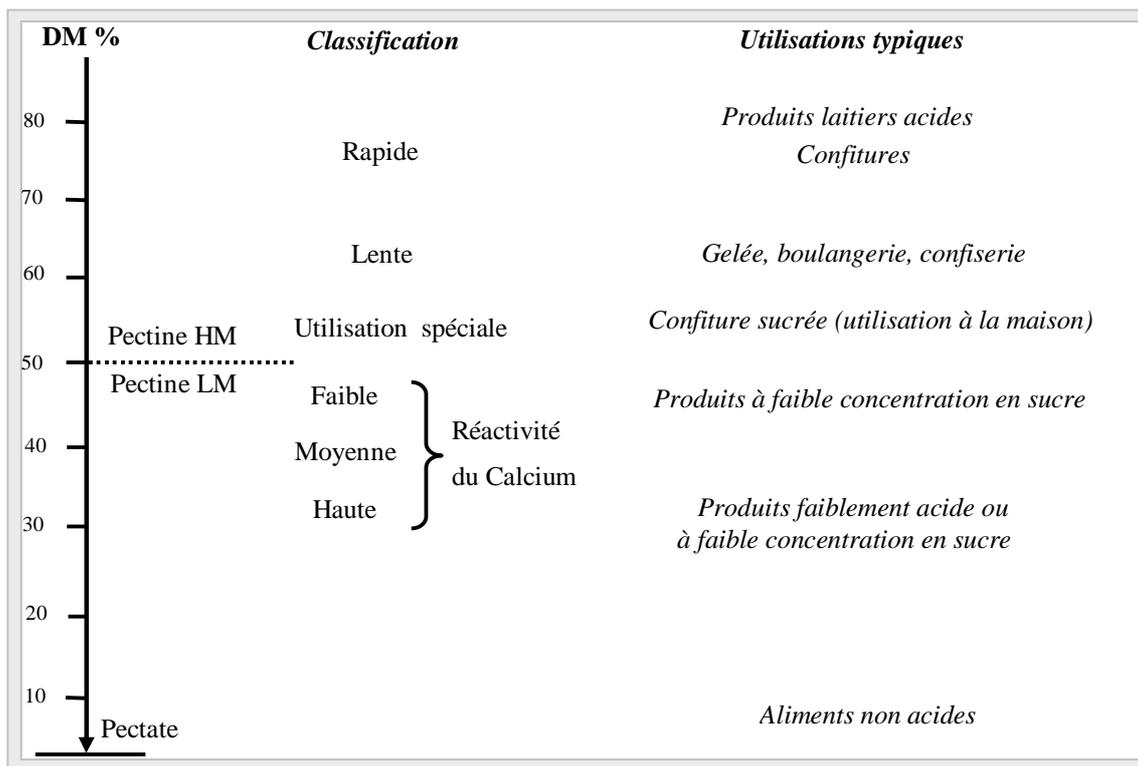


**Figure 15 n** Liaison de 2 chaînes de pectines.  
(<http://www.snv.jussieu.fr/bmedia/paroi/pectines.htm> consulté le 15/02/2008)

L'ensemble forme alors un réseau complexe :



**Figure 16 n** Une autre représentation du réseau de pectines  
(<http://www.snv.jussieu.fr/bmedia/paroi/pectines.htm> consulté le 15/02/2008)



**Figure 17 n** La gamme des pectines commerciales avec quelques applications typiques (May C. D., 2000).

## 5. Pouvoir stabilisant et pouvoir épaississant

Les systèmes contenant de la caséine avec de la pectine ont attiré une attention considérable des chercheurs concernés par le rôle des interactions protéine-polysaccharide en colloïdes alimentaires.

Matia-merino et al., (2004) ont identifié que la texture et la stabilité des produits à base de lait peuvent être manipulés avec sensibilité par l'addition de la pectine, en raison :

- De ses propriétés gélifiantes/épaississantes (par exemple en crèmes desserts à base de laits acides et non acides) ;
- De ses propriétés stabilisantes (par exemple dans des boissons de yaourt, des boissons de petit lait, des mélanges de lait/jus et des émulsions d'huile en eau).

Selon Guillotin et al. (2007) on peut utiliser aussi les pectines faiblement méthylées pour stabiliser des boissons contenant du lait acidifié.

La pectine peut aussi être utilisée pour stabiliser les boissons troubles (Akhtar et al., 2002).

Les boissons contenant du lait acidifié sont des produits se présentant sous diverses variations, par exemple mélanges de jus de fruit et de lait, boissons de yaourt, lait de soja,

kéfir, etc. Ces boissons peuvent être décrites en tant qu'un système de protéine liquide acidifié avec une stabilité et une viscosité semblables au lait normal. Mais l'addition de la pectine hautement méthylée (pectin HM) à ces boissons contenant du lait acidifié résulte comme la meilleure manière d'empêcher la formation d'un dépôt (Laurent et al., 2003).

Dans un lait acidifié, les protéines sont chargées positivement ( $\text{pH} < \text{point isoélectrique}$ ) et réagissent avec les pectines chargées négativement. Ces interactions électriques forment un complexe protéine-pectine qui stabilise les protéines du lait et empêche la précipitation de ces dernières lors de la pasteurisation (Leroux et al., 1983).

## 6. Pouvoir émulsifiant

L'émulsification est une propriété fonctionnelle normalement liée aux protéines des aliments. En revanche, le caractère principalement hydrophile des polysaccharides signifie qu'ils montrent généralement peu d'activité dans une interface huile-eau et sont donc pas aussi utiles en tant qu'agents émulsifiants.

Dès 1927, l'utilisation de la pectine a été suggérée comme agent émulsifiant dans diverses applications telles que les émulsions d'huiles végétales, de mayonnaise (Leroux et al. 2003).

Comme la plupart des polysaccharides, les pectines ne sont pas généralement considérées comme des agents émulsifiants. À l'exception de la pectine acétylée de la betterave sucrière, qui est beaucoup plus tensio-active que les pectines HM ou LM, et aisément capable de produire et de stabiliser l'émulsion d'huile végétale en eau.

La teneur en calcium de la pectine semble avoir un effet important sur la stabilité d'émulsion. Des études ont mentionné la probabilité que le calcium induirait une floculation liante (Leroux et al., 2003).

L'origine moléculaire de considérables capacités d'émulsification (et moussante) de pectine de betterave sucrière est le caractère hydrophobe des groupements acétyle (2-9 %).

Des travaux récents, ont montré que les pectines dépolymérisées (préparées par hydrolyse acide d'une pectine de poids moléculaire 150 KDa) de poids moléculaire inférieur à 80 KDa provenant des agrumes et des pommes, peuvent posséder de bonnes caractéristiques de stabilisation d'émulsion même si elles sont faiblement acétylées (<0.8 %). Ce bon comportement d'émulsification s'est avéré pour être associé à une activité de surface beaucoup plus élevée de la pectine dépolymérisée par rapport au citron ou à la pectine normale de pomme (Akhtar et al., 2002).

## 7. Pouvoir moussant

L'origine moléculaire des capacités considérables d'émulsification et du pouvoir moussant de la pectine est le caractère hydrophobe des groupes acétyles (2-9%) (Akhtar et al., 2002).

## 8. Le rôle des pectines dans la nutrition et dans l'industrie alimentaire

### 8.1. Leur rôle comme additif alimentaire

Les pectines ont d'abord été utilisées pour la préparation des confitures, des gelées, des marmelades et des conserves, qui sont les gels tartinables (N'BeMiller, 2001 ; Marathe et al., 2002).

La formation des complexes de protéine-polysaccharide peut être utilisée pour améliorer les propriétés fonctionnelles des protéines. Les interactions protéine-pectine améliorent la solubilité, l'émulsification, la gélification et le comportement moussant des concentrés protéiques (Barrera et al., 2002).

### 8.2. Leur rôle comme produit pharmaceutique

Les pectines sont potentiellement utiles en tant que produits pharmaceutiques puisqu'elles ont montré une influence au niveau du cholestérol dans le sérum et pour induire de diverses immuno - réactions, et peuvent éliminer les métaux lourds toxiques auxquels elles se lient.

La pectine entre dans la composition de spécialités pharmaceutiques pour ses propriétés anti-acides (GELOPECTOSE<sup>®</sup>), hémostatiques (ARHEMAPECTINE ANTIHEMORRAGIQUE<sup>®</sup>) ou anti-diarrhéiques (TANALONE<sup>®</sup>) (Jourdain et al. 2005), et peut aussi être utilisée comme adhésif dans la chirurgie dentaire (Boonrod et al., 2006).

Siondalski et al., (2007) ont cité qu'un apport supplémentaire en fibres diététiques et particulièrement sa forme soluble, pectine, diminue le risque de l'infarctus du myocarde. Dans un groupe de patients présentant la prise quotidienne de plus de 15 g de fibres diététiques le risque de la maladie coronaire est réduit plus de 11%.

Les pectines sont employées pour réduire le niveau du cholestérol dans le sang chez l'homme (Cara et al., 1993), et sont appliquées pour éliminer les métaux lourds toxiques (Yokoi et al., 2002).

Des pectines de faible masse molaire (PFMM) ont été obtenues par hydrolyse enzymatique de pectines commerciales. L'effet de ces pectines sur le métabolisme du

cholestérol a été étudié chez le rat. Les effets des pectines et des PFMM sur le taux de cholestérol-LDH (lipoprotéines haute densité) sont identiques : on observe une réduction d'environ 30 % par rapport au groupe ayant subi le régime hypercholestérolémiant. Leurs effets sur le taux de cholestérol dans le foie sont également identiques : la réduction est d'environ 22 % (Yamaguchi et al., 1994).

Le sulfate de pectine prolonge la coagulation du sang et peut être employé au lieu de l'héparine, bien que sa toxicité empêche son utilisation prolongée. Les gels de pectine peuvent également être utilisés en tant que porteurs à émission lente de médicaments (O'Neill et al., 2001).

L'addition de fibres alimentaires réduit l'hyperglycémie et l'hyperinsulinémie post prandiale (Chene, 2003).

La pectine, glucide utilisé communément pour gélifier les confitures, est capable de fixer les nucléides radioactifs (césium 137 et strontium 90) pour les éliminer à travers les selles. C'est Nesterenko, (2002), qui a découvert une méthode encore largement méconnue dans le monde médical. Les résultats en sont probants : une évaluation avec la collaboration de scientifiques britanniques sur mille enfants (*contaminés par la catastrophe de TCHERNOBYL*) traités par la pectine a montré une diminution de 60 à 80 % de la teneur en césium 137 dans leur organisme.

L'utilisation de la pectine comme molécule permettant l'élimination de radionucléides et métaux lourds a été expérimentée chez l'animal et chez l'homme dès 1977.

L'utilité de la pectine a été démontrée dans le traitement de l'intoxication par le plomb, le mercure et autres métaux lourds (Cardinale, 2003).

Une étude réalisée *in vitro* a montré par ailleurs que la pectine de betterave présentait une haute affinité pour les ions  $Pb^{2+}$  et  $Cu^{2+}$ , celle de pomme, pour les ions  $Co^{2+}$  et la pectine de citron pour les ions  $Ni^{2+}$ . Dans cette étude, les auteurs démontrent des propriétés de liaison très faibles de la pectine avec les ions  $Cd^{2+}$  (Jourdain et al., 2005).

Une matrice composée de la pectine et du poly(lactide-coglycolide) «P(lga)» supportant l'attachement et la croissance des cellules, a été employée médicalement pour la réparation de tissu et la régénération d'organe pendant des décennies (LinShu et al., 2004).

### 8.3. Autres applications des pectines et leurs résidus d'extraction

Les pectines ont été également employées comme cryoprotecteurs dans les surimis qui sont des mélanges protéiniques d'origine japonaise à base de poisson aromatisé, ayant le goût de crabe (Barrera et al., 2002).

Les résidus riches en pectines du traitement de la betterave sucrière contiennent des quantités significatives d'hydrates de carbone. Les pulpes de betteraves ont été évaluées pour la conversion en éthanol en utilisant les bactéries de recombinaison comme biocatalyseurs. L'hydrolyse des résidus riches en pectine suivie des fermentations éthanoïques par des levures n'a pas été productive parce que l'acide galacturonique et l'arabinose ne sont pas fermentescibles en éthanol par ces organismes. Certaines bactéries de recombinaison comme *Escherichia coli* souche KO11, *klebsiella oxyloca* souche P2, et *Erwinia chrysanthemi* EC 16 pLOI 555, fermentent les hydrates de carbone contenus dans les pulpes de betteraves avec des efficacités variables. *E. coli* KO11 peut convertir l'acide galacturonique pur en éthanol avec la production minimale d'acétate. D'autres recombinants ont montré des rendements inférieurs en éthanol avec des augmentations de production d'acétate et de succinate (Doran et al., 2000).

### 9. Effets de la pectine sur la biodisponibilité en minéraux et en vitamines

Les effets de l'ingestion de pectine peuvent donc être bénéfiques (métaux, radionucléides) mais également délétères (minéraux, vitamines) en fonction des éléments considérés.

Suite à une administration orale de pectine on observe une diminution de l'absorption intestinale des acides aminés, des sucres (tel que le glucose) ainsi que des ions sodiques et chlorures. La structure de la pectine administrée semble avoir une influence sur ces modifications d'absorption intestinale : ainsi, les pectines hautement méthoxylées présentent un effet inhibiteur sur l'absorption de glucose plus important que les pectines faiblement méthylées.

Il est maintenant bien connu que les effets bénéfiques des fibres alimentaires ne doivent pas masquer leurs effets indésirables sur la disponibilité biologique de certains nutriments, notamment des minéraux et des vitamines.

### **9.1. Effets de la pectine sur la biodisponibilité en minéraux**

Les effets sur les minéraux dépendent du degré d'estérification et de la nature de la pectine administrée : ainsi, une pectine faiblement méthylée diminue l'absorption et la rétention des minéraux, conduisant alors à un déséquilibre des balances des éléments calcium, magnésium et zinc. Les auteurs de ces études déconseillent l'utilisation des pectines faiblement estérifiées en nutrition humaine (Jourdain et al., 2005).

Il apparaît que l'administration de pectine peut conduire à une diminution de la biodisponibilité en minéraux monovalents et divalents pour l'organisme, pouvant avoir pour conséquence un déficit nutritionnel en minéraux.

### **9.2. Effets de la pectine sur la biodisponibilité en vitamines**

Des travaux ont montré que l'ingestion de pectine conduit à une déplétion en vitamine B12, ainsi qu'à une diminution de la biodisponibilité en vitamine E, mais non en vitamine B9 (Jourdain et al., 2005).

Les effets de la pectine sont à moduler en fonction de la nature de cette pectine. Néanmoins, les résultats de ces travaux vont dans le sens d'une diminution de la biodisponibilité en vitamines, ce qui peut conduire à des déficits importants dans le cas d'utilisation chronique de fibres alimentaires.

## 10. Normes relatives aux pectines

Selon le Journal Officiel des Communautés Européennes, les normes relatives aux pectines sont représentées dans les deux tableaux suivants.

### E 440 (i) PECTINE

|   |  |
|---|--|
| Définition                                      | La pectine est constituée essentiellement par les esters méthyliques partiels de l'acide polygalacturonique ainsi que par leurs sels de sodium, de potassium, de calcium et d'ammonium. Elle est obtenue par extraction, en milieu aqueux, de souches naturelles des plantes comestibles appropriées, généralement d'agrumes ou de pommes. Les seuls précipitants organiques autorisés sont le méthanol, l'éthanol et le propanol-2. |
| Composition                                     | Pas moins de 65% d'acide galacturonique sur la substance anhydre et exempte de cendres, après lavage à l'acide et à l'alcool   |
| Description                                     | Poudre blanche, jaune clair, gris clair ou brun clair  |
| Solubilité                                      | Soluble dans l'eau, formant ainsi une solution colloïdale opalescente. Insoluble dans l'éthanol  |
| <b>Pureté</b>                                   |  |
| Perte par déshydratation                        | Pas plus de 12% (105 °C, 2 heures)   |
| Cendres insolubles dans l'acide                 | Pas plus de 1% (insolubles dans l'acide chlorhydrique à environ 3 N)   |
| Anhydride sulfureux                             | Pas plus de 50 mg/kg sur la substance anhydre  |
| Teneur en azote                                 | Pas plus de 1%, après lavage à l'acide et à l'éthanol  |
| Teneurs en méthanol, éthanol, propanol-2 libres | Pas plus de 1% sur la substance anhydre, séparément ou ensemble  |
| Arsenic   | Pas plus de 3 mg/kg  |
| Plomb   | Pas plus de 5 mg/kg  |
| Mercure   | Pas plus de 1 mg/kg  |
| Cadmium   | Pas plus de 1 mg/kg  |
| Métaux lourds (exprimés en plomb)               | Pas plus de 20 mg/kg   |

**E 440 (ii) PECTINE AMIDÉE**

|  |  |
|--|--|
| Définition                                     | La pectine amidée est constituée essentiellement par les esters méthyliques partiels et par des amides de l'acide polygalacturonique ainsi que de leurs sels de sodium, de potassium, de calcium et d'ammonium. Elle est obtenue par extraction, en milieu aqueux, de souches naturelles appropriées de plantes comestibles, généralement d'agrumes ou de pommes, puis par traitement ammoniacal en milieu alcalin. Les seuls précipitants organiques autorisés sont le méthanol, l'éthanol et le propanol-2 |
| Composition                                    | Pas moins de 65% d'acide galacturonique sur la substance anhydre et exempte de cendres, après lavage à l'acide et à l'alcool   |
| Description                                    | Poudre blanche, jaune clair, gris clair ou brun clair  |
| Solubilité                                     | Soluble dans l'eau, formant ainsi une solution colloïdale opalescente. Insoluble dans l'éthanol  |
| <b>Pureté</b>                                  |  |
| Perte par déshydratation                       | Pas plus de 12% (105 °C, 2 heures)   |
| Cendres insolubles dans l'acide                | Pas plus de 1% (insolubles dans l'acide chlorhydrique à environ 3 N)   |
| Degré d'amidation                              | Pas plus de 25 % de l'ensemble des groupements carboxyles  |
| Anhydride sulfureux                            | Pas plus de 50 mg/kg sur la substance anhydre  |
| Teneur en azote                                | Pas plus de 2.5%, après lavage à l'acide et à l'éthanol  |
| Teneur en méthanol, éthanol, propanol-2 libres | Pas plus de 1% sur la substance anhydre, séparément ou ensemble  |
| Arsenic  | Pas plus de 3 mg/kg  |
| Plomb  | Pas plus de 5 mg/kg  |
| Mercur   | Pas plus de 1 mg/kg  |
| Cadmium  | Pas plus de 1 mg/kg  |
| Métaux lourds (exprimés en plomb)              | Pas plus de 20 mg/kg   |

Partie II :

Etude  
expérimentale

## Chapitre 1 :

# Extraction et détermination des rendements

## 1. Échantillons de matières premières

- 50 kilogrammes de résidus de pulpes d'oranges obtenues par extraction mécanique sont récupérés en aval de la chaîne de fabrication à l'unité industrielle de N'Gaous ont été préalablement lavées puis séchées sur place dans un séchoir industriel (Thimon) et ont permis d'obtenir 05 kilogrammes, d'écorces sèches.
- 05 kilogrammes, de dattes sèches de faible valeur marchande de variété Mech-degla «Kentichi », achetés dans un marché, ont été dénoyautées et broyées.

### *Caractéristiques générales de la variété Mech-degla ( Hennachi et al., 1998)*

*Distribution géographique* : Fréquente au Ziban.

*Date de maturité* : Septembre.

*Date de récolte* : Octobre-Novembre.

*Utilisation de la datte* : Fraîche et conservée.

*Mode de conservation* : Dans des sacs.

*Appréciation* : Commune à bonne.

*Commercialisation* : importante.

## 2. Blanchiment et lavage

Les échantillons d'écorces et de dattes ont été soumis aux préparations suivantes :

- Un blanchiment dans de l'eau distillée, à une température de 97 °C, pendant 10 minutes, pour inactiver les enzymes pectiques (Kar et al., 1999).

Le rapport : eau de blanchiment / écorces, de : 2.5 litres d'eau pour un kilogramme de matériel végétal, retenu est celui préconisé par Benchabane (1984).

- Un lavage avec de l'eau distillée pour refroidir immédiatement les écorces après le blanchiment et éviter la dégradation des pectines.

Ces lavages sont répétés quatre fois dans de l'eau distillée : trois lavages successifs de 1 Kg de produit dans 1.5 litres et un dernier dans 2.5 litres.

## 3. Pressage

Cette opération est réalisée au moyen d'un tissu.

## 4. Séchage

Le séchage est réalisé juste après le pressage, opération qui permet de réduire l'humidité et arrêter l'activité des enzymes pectiques.

Les écorces ont été séchées dans une étuve à circulation d'air respectivement à 50 °C pendant 4 heures et demie (270 minutes), puis à 70 °C pendant 180 minutes, et enfin à 90 °C pendant 90 minutes, jusqu'à une perte de séchage de 82 % (Berardini et al., 2005).

Pour une prise de 05 grammes, le pourcentage d'humidité est calculé selon :

$$\text{Humidité (H\%)} = \frac{P - P'}{P} \times 100$$

Où  $P$  est le poids avant le séchage.

$P'$  est le poids après le séchage.

## 5. Extraction des pectines

### 5.1. Solubilisation

A 500 grammes de l'échantillon, 25 litres d'eau distillée sont ajoutées correspondant au rapport: eau / échantillon égal à : 50 litres d'eau / kilogramme d'échantillon). Le pH est ramené à 1.5 avec de l'acide chlorhydrique (HCl à 0.5M).

Le mélange est chauffé pendant 1 heure à une température de 80-82 °C, avec agitation continue (Kratchanova et al., 2004).

### 5.2. Filtration

À la fin de la solubilisation, le jus pectique est immédiatement filtré et refroidi, pour éviter d'éventuelles augmentations de la viscosité et dégradations de la pectine.

La filtration se fait à travers un tamis de couscoussier surmonté d'un tissu de type mousseline ou valisière, le fût recueillant le filtrat doit baigner dans un bain de glace pour abaisser la température (Kratchanova et al., 2004).

Le jus pectique est conservé pendant une nuit au réfrigérateur.

### 5.3. Purification

Le jus pectique trouble est clarifié par centrifugation (3000 tours/minutes) pendant 10 minutes.

### 5.4. Précipitations des pectines

#### 5-4-1-Précipitation par les sels minéraux

##### 5-4-1-1-Précipitation par le sulfate d'aluminium ( $Al_2(SO_4)_3 \cdot 18H_2O$ )

La solution de sulfate d'aluminium est obtenue en dissolvant l'équivalent de 1 mole  $Al^{+++}$ , d' $Al_2(SO_4)_3 \cdot 18H_2O$  soit une masse de 333.2 grammes par litre d'eau distillée.

Les conditions optimales de précipitation avec ce sel sont les suivantes :

A un volume d'un litre de jus pectique on ajoute 50 millilitres de sel (Zhongdong et al., 2005) ; le sel étant ajouté goutte à goutte, suivi par l'ajout de la base qui est dans le cas général l'ammoniaque ( $\text{NH}_4\text{OH}$  à 5N). Le pH est ajusté jusqu'à une valeur allant de 3.7 à 4.2. Le mélange: jus pectique et sel est agité pendant 15 minutes, puis laissé se stabiliser pendant 30 minutes au réfrigérateur.

Le précipité obtenu est filtré au travers d'un tissu du même type que celui cité précédemment, à défaut d'un filtre du type industriel, puis pressé et lavé à l'alcool acidulé (55 % d'alcool + 6.5 % d'HCl + 38.5 % d'eau distillée), soit à un pH approximativement égal à 1.

Le lavage à l'alcool acidulé de la pectine est amélioré par suspensions successives dans des volumes d'alcool à 80 % et à 60 %.

Cette dernière opération est reproduite quatre fois de sorte que ces lavages puissent éliminer les chlorures.

Un dernier lavage à l'acétone pure est réalisé, pour éliminer les traces d'acide chlorhydrique et d'alcool absorbées par la pectine et pour faciliter le séchage et l'émiettement des pectines.

#### **5-4-1-2-Précipitation par le chlorure d'aluminium ( $\text{AlCl}_3$ )**

La technique de précipitation utilisée dans notre travail est celle préconisée par Luca et Joslyn (1956).

La solution de chlorure d'aluminium est obtenue en dissolvant l'équivalent d'une mole d' $\text{AlCl}_3$ , soit une masse de 133.48 grammes par litre d'eau distillée.

La pectine est précipitée au  $\text{AlCl}_3$  dans les conditions suivantes :

60 millilitres de sel sont ajoutés à un litre de jus pectique, l'ajout se fait subitement à un pH = 3,8 ; l'ajustement du pH se fait par l'ammoniaque ( $\text{NH}_4\text{OH}$  à 5 N). Le mélange est agité pendant 15 minutes, puis laissé se stabiliser au réfrigérateur pendant 30 minutes.

Le reste des opérations (séparation et lavage de la pectine) se fait de la même manière que pour la précipitation de la pectine par le sulfate d'aluminium.

#### **5.4.2. Séchage et stockage des pectines**

Les pectines obtenues sont séchées dans une étuve à vide de laboratoire de type Jouan (EV 50 – EV 100) à une température de : 45 °C jusqu'à un poids constant comme indiqué par Constenla et al., (2002).

Ce séchage peut être réalisé comme indiqué par Iglesias et al. (2004) à une température de 50 °C pendant 19 heures dans un séchoir de laboratoire à circulation d'air.

Après séchage, les pectines encore chaudes et risquant de s'humidifier sont mises préalablement à refroidir dans un dessiccateur, et sont aussi broyées au moyen d'un moulin électrique et conditionnée dans des flacons en verre.



**Pectines de dattes**

**Pectines d'écorces d'oranges**

## Chapitre 2 :

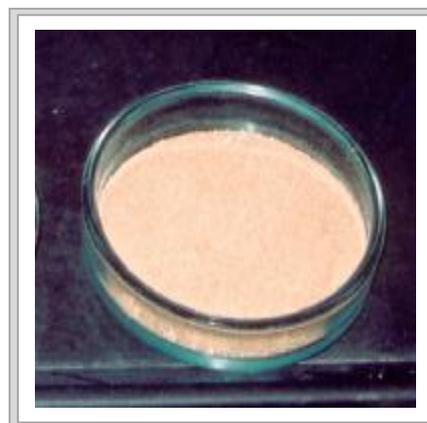
# Caractérisation et propriétés des pectines

## 1. Rendements

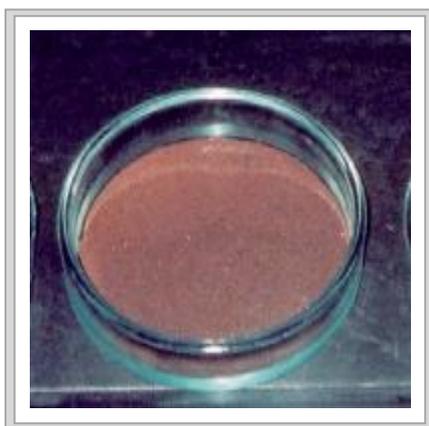
Le rendement en pourcent est déterminé par le poids de la pectine sèche obtenue, divisé par le poids de la matière première sèche ( écorces ou dattes).



**Pectine d'oranges sulfate d'aluminium**



**Pectine d'oranges chlorure d'aluminium**



**Pectine de dattes sulfate d'aluminium**



**Pectine de dattes chlorure d'aluminium**

## 2. Caractérisation des oses

### 2.1. Dosage colorimétrique

Les dosages colorimétriques ont été effectués dans des micro cuves à l'aide d'un spectrophotomètre UV-1605 (Shimadzu).

### **2.1.1. Dosages des oses totaux par la méthode de Dubois (Fournier, 2001).**

La concentration moyenne des oses totaux est déterminée par la méthode du phénol sulfurique décrite par Dubois, qui est décrite en annexe et dont les grandes lignes sont comme suit: à 0,5 ml d'une solution d'oses, sont rajoutés respectivement 0,5 ml de phénol à 5% et 3 ml d'acide sulfurique, ce dernier dégage une chaleur intense (110 °C) et donne une couleur jaune brune au mélange. Le milieu est vortexé puis maintenu 5 minutes à 100 °C dans un bain Marie pour plus de reproductibilité. Après 30 minutes de refroidissement à l'obscurité, l'absorbance est mesurée à 485 nm.

Des gammes étalons sont réalisées avec des solutions de galactose et d'acide galacturonique entre 0 – 0,15 mg/ml (*voir annexe*).

### **2.1.2. Dosages des acides uroniques par la méthode du métagydroxydiphényl (méthode du MHDP de Blumenkrantz et al. 1973)**

En milieu acide, les polysaccharides sont hydrolysés en acides galacturoniques et transformés en dérivés furfuriques, ces dérivés se condensent avec le métagydroxydiphényl, pour former des complexes colorés dont l'absorbance, à 520 nm, est proportionnelle à la quantité des acides uroniques.

Dans un tube à essai, 3 ml d'acide sulfurique concentré sont ajoutés à 0,5 ml d'une solution d'oses. Le mélange est porté à 100 °C au bain Marie pendant 15 min. La réaction est arrêtée en plongeant les tubes dans un bain à glace. 50 µl de réactif MHDP (3 mg MHDP dans 2 ml de NaOH 0,125 N) sont ajoutés, le milieu réactionnel donne une couleur rose stable pendant quelques heures, après agitation au vortex, l'absorbance est alors mesurée à 520 nm.

Une gamme étalon est réalisée avec des solutions d'acide galacturonique entre 0 – 0,15 mg/ml (*voir annexe*).

### **2.1.3 Détermination du degré de méthyl - estérification (DM). Dosage du méthanol par la méthode colorimétrique de Klavons et Bennets (1986).**

La saponification est une réaction qui permet de libérer le méthanol de la pectine. Celui-ci est mesuré après oxydation en formaldéhyde et réaction avec le 2-4 pentanedione (acétylacétone) selon la méthode colorimétrique de Klavons et Bennets (1986).

2 mg de pectine sont saponifiés avec agitation une nuit à 4 °C dans 1 ml de NaOH 0,01 N., puis la solution est neutralisée avec 6 µl d'HCl 1N.

100 µl de cette solution sont alors prélevés et additionnés de : 0,5 ml de tampon phosphate de potassium ( $K_2HPO_4/KH_2PO_4$ ) 100mM, pH 7,5 et de 0,5 ml d'alcool oxydase (1U/ml), le tout est mis, 15 min dans un bain marie à 25 °C. 1 ml de la solution pentanedione 0,02 mM, préparée dans un mélange d'acétate d'ammonium 2M / acide acétique 0,05 M, sont rajoutés. L'absorbance du milieu de réaction, de couleur jaune, est mesurée à 412 nm. (*Préparation des solutions voir annexe*)

## 2.2. Chromatographie phase gazeuse (composition osidique des polymères)

### 2.2.1. Méthanolyse et silylation des polysaccharides : analyse par CPG (Fournier, 2001).

0,5-1 mg de pectine hydrolysée dans le trifluoroacétique (TFA) a été additionné de 0,5 ml de méthanol acide (MeOH/HCl) 1N, ce qui permet de rompre les liaisons entre les oses.

Le tube à hydrolyse est fermé hermétiquement est placé entre 16 – 24 h à 80 °C, c'est la méthanolyse.

Le méthanol acide est ensuite évaporé sous un flux d'air comprimé. Cette opération est répétée deux fois afin d'éliminer tout résidus d'acide. Pour accélérer l'évaporation un léger chauffage peut accompagner le flux d'air comprimé.

Pour être séparable en chromatographie phase gazeuse, les oses doivent être transformés en dérivés volatils, par exemple par fixation des radicaux silylés. La silylation est amorcée en ajoutant 200 µl de réactif commercial (HMDS + TMCS + pyridine), les tubes sont placés à 80 °C pendant 20 min (*voir annexe*).

Un système d'injection automatique couplé à la CPG (GC 3300 Varian) permet de prélever 1 µl d'échantillon. L'échantillon est vaporisé est élué de la colonne sous un flux d'hélium. A la sortie de la colonne, les dérivés des oses issus de la dégradation des polysaccharides, sont mis en évidence par un détecteur à ionisation de flamme et identifiés par leur temps de rétention relatif (par rapport à l'étalon interne). Une gamme étalon d'oses connus (acide galacturonique, rhamnose, galactose, glucose,..) subit le même traitement de méthanolyse et de silylation que les échantillons et sert pour corriger les surfaces des pics.

## 3. Dosage des protéines par la méthode de Kjeldhal

L'azote total est dosé par volumétrie après minéralisation selon la méthode de Kjeldhal. Ce dosage est basé sur la transformation de l'azote organique en sulfate d'ammonium sous l'action de l'acide sulfurique en présence d'un catalyseur, et dosé après

déplacement en milieu alcalin et distillation sous forme d'ammonium (*voir annexe*) (Lecoq, 1965).

#### 4. Taux de cendres

La teneur en cendres a été déterminée selon la méthode proposée par Mc Cready (1970) citée dans Iglesias (2004). L'échantillon de pectine (1 gramme) a été incinéré dans un four à 600 ° C pendant 4 heures; il est refroidi et entreposé dans un dessiccateur avec PO<sub>5</sub> jusqu'à pesée.

La teneur en cendre est calculée selon la formule suivante :

$$MO\% = \frac{M1 - M2}{P} \times 100$$

Où:

- *MO%* : Matière Organique en purcent
- *M1* : Masse du creuset avec la prise d'essai
- *M2* : Masse du creuset avec les cendres
- *P* : Masse de la prise d'essai.

$$Cendre \% = 100 - MO\%$$

#### 5. Activité émulsifiante et stabilité d'émulsification

La stabilité d'émulsification et l'activité émulsifiante ont été évaluées en utilisant un procédé cité par Yapo et al., (2007).

Les émulsions huile/eau (O/w) ont été préparées en ajoutant 3 ml de n - dodecane (niveau final d'huile 43% de poids) aux solutions de pectine de 3 ml (0,5%, w/w) contenant 0,02% d'azoture de sodium comme substance bactéricide dans des tubes de polypropylène à centrifuger (Sigma Laborzentrifugen 3K20) de 15 ml transparents gradués. Le système entier a été traité avec un instrument ultrasonique pendant 1 minute, à la température ambiante. Les pré-émulsions ont été agitées vigoureusement dans un agitateur Vortex de JANKE et KUNKEL (IKA-Labortechnik VF2) pendant 1 minute, à la température ambiante pour réaliser un bon niveau d'émulsion. Les émulsions ont été finalement centrifugées dans une centrifugeuse (Sigma Laborzentrifugen 3K20) à 527 g pendant 5 minutes, à 23 °C. le

volume entier (**Ve**) du système et le volume de la couche émulsionnée (**VCE**) ont été mesurés. L'activité émulsifiante (**AE**) a été calculée comme suit :

$$AE (\%) = (VCE/Ve) \times 100$$

Pour étudier la stabilité d'émulsion (**SE**), un autre ensemble d'émulsions a été préparé en quadruple dans des tubes gradués transparents comme ci-dessus. Deux tubes parmi les quatre ont été refroidis à 4 ° C, et centrifugés à 527 g pendant 5 minutes, à 4 ° C, ensuite les volumes des couches émulsionnés initiales (**VCEi**) ont été mesurés, et stockés à 4 °C. Les 2 autres tubes ont été traités de la même manière mais à la température ambiante et stockés à cette température. Après 1 et 30 jours du stockage, les volumes des couches émulsionnées restantes (**VCEr**) ont été mesurés après centrifugation et la stabilité d'émulsion a été calculée comme suit :

$$SE (\%) = (VCEr/ VCEi) \times 100$$

## 6. Pouvoir gélifiant.

Le pouvoir gélifiant est défini par le degré Sag : 1g de pectine à 1 degré Sag peut gélifier 1g de sucre en solution à 65% à pH = 3 (Michel, 2002).

Les pectines du commerce sont en général standardisées à 150° Sag.

Plusieurs méthodes pénétrométriques sont proposées depuis longtemps, mais la méthode la plus recommandée est celle de l'association internationale des fabricants de confiserie (*voir annexe*). La pectine est normalisée selon la méthode de standardisation de pectine. Ce procédé utilise la méthode de SAG d'étalonnage pour mesurer la capacité des pectines pour se gélifier en présence de sucres.

Un gel de 65° Brix de pectine standard est préparé, versé dans un verre de gelée, et laissé gélifier pendant 22-24 heures. Le verre de gelée est inversé et le degré Sag est mesuré avec un Ridgelimeter (Lecoq, 1965).

## Chapitre 3 :

# Résultats et discussions

## Matériels et expérimentations

Dans notre étude nous avons opté de travailler avec des écorces d'oranges sèches dans toutes les extractions au lieu des écorces fraîches, notre choix est basé sur les avantages de faciliter de travailler avec des écorces sèches plutôt qu'avec des écorces fraîches et d'éviter la contrainte de la non disponibilité des écorces fraîches au cours de toute l'année malgré la perte de rendement rapportée en utilisant des écorces sèches dans l'extraction de pectine. En effet, Crandall et al. (1978) ont découvert une réduction du rendement de pectine dus au séchage des peaux de citron dans des séchoirs rotatoires. Puisque le but de cette étude est la détermination du rendement de pectines,

Une variété de dattes sèches très répandue dans notre région dénommée « Mech-degla » de faible valeur marchande.

L'objectif de notre étude étant une contribution à la valorisation des écorces et des dattes de faible valeur marchande utilisées comme matières premières pour l'extraction et la détermination de rendements de pectine par les sels de précipitation (Chlorure d'aluminium et sulfate d'aluminium) et la détermination de la qualité de nos pectines comparativement à d'autres pectines surtout la pectine commerciale extraites par d'autres agents de précipitation (alcool, EDTA, NaOH, etc.).

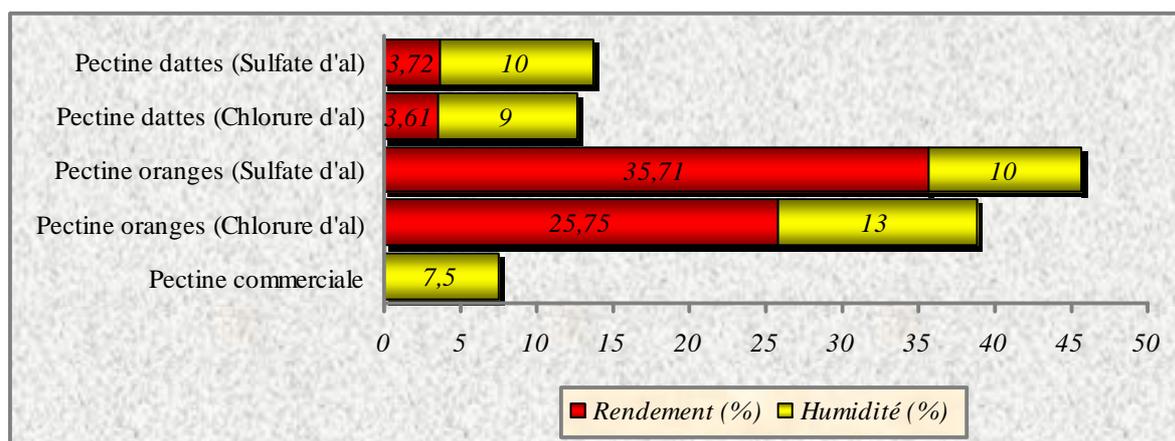
### 1. Rendements et humidité des pectines extraites.

Les rendements de pectines sont exprimés en poids sec /100 g de matériel végétale sec ou par la division de poids des pectines sèches par le poids sec de la matière première. Chaque extraction a été répétée à trois reprises, donc les résultats du **tableau 18** sont la moyenne de trois répétitions.

**Tableau 18** Rendements et humidité des pectines extraites.

| Nature de pectines                        | Agent de précipitation | Humidité de M.P % <sup>(1)</sup> | Rendement en % M.S <sup>(2)</sup> | Humidité % M.S <sup>(3)</sup> |
|---|------------------------|----------------------------------|-----------------------------------|-------------------------------|
| <b>Pectine commerciale</b> <sup>(4)</sup> | /                      | /                                | /                                 | 7,5                           |
| <b>Pectine d'oranges</b>                  | <i>Chlorure d'al</i>   | 6                                | <b>25,75</b>                      | 13                            |
|   | <i>Sulfate d'al</i>    | 6                                | <b>35,71</b>                      | 10                            |
| <b>Pectine de dattes</b>                  | <i>Chlorure d'al</i>   | 6                                | <b>3,61</b>                       | 9                             |
|   | <i>Sulfate d'al</i>    | 6                                | <b>3,72</b>                       | 10                            |

<sup>(1)</sup> Matières premières (écorces et dattes)      <sup>(2)</sup> Matières sèches des matières premières  
<sup>(3)</sup> Matières sèches des pectines      <sup>(4)</sup> Pectine commerciale 150 °SAG (Unipectine France)



**Figure 17 n** Rendements et humidité des pectines extraites.

Le rendement en pectine dépend du type de matières premières et des méthodes de traitements préliminaires. Le processus d'extraction, la variété, et le stade de la maturité peuvent affecter la quantité et la qualité de la pectine extraite (Kar et al., 1999).

Le rendement de pectine dépend des conditions d'extraction telles que la température, le temps d'extraction, le pH, les types de solvants d'extraction et agents de chélation supplémentaires utilisés tels que l'EDTA et le CDTA pour aider à la libération des pectines du mur de cellules (Yeoh et al., 2008).

Wang et al. (2008) ont étudié le rendement de pectines sur huit variétés d'agrumes, cette étude confirme qu'il y a une variation de la teneur en pectine d'une variété à une autre.

Ces remarques bibliographiques expliquent les variations de rendements obtenus que nous allons présenter en détail.

D'après le **tableau 18**, nous constatons que :

Les rendements en pectine extraites des écorces d'orange par le chlorure d'aluminium et le sulfate d'aluminium sont respectivement **25.75, 35.71 %** ;

Les rendements en pectine extraites de dattes avec le chlorure d'aluminium et sulfate d'aluminium sont respectivement **3.61, 3.72 %**.

nous remarquons que les agrumes sont très riches en pectines que les dattes.

En ce qui concerne la comparaison des sels de précipitation :

- Dans l'utilisation des écorces d'oranges : c'est le sulfate d'aluminium qui donne une meilleure rendement par rapport au chlorure d'aluminium.
- Dans l'utilisation des dattes : nous constatons une différence négligeable.

la fluctuation des rendements relatives aux deux types de matériel végétal et la méthode utilisée sont en conformité avec les résultats des recherches bibliographiques et le tableau suivant montre les teneur en pectines dans certains fruits :

**Tableau 19 n** Teneurs en pectine de quelques tissus de fruit (Prasanna et al., 2007).

| Fruits  | Tissu  | Teneur en pectine<br>(% de poids frais) |
|---------|--------|---|
| Pommes  | Pulpe  | 0.5-1.6                                 |
| Pommes  | Marc   | 1.5-2.5                                 |
| Cerises | Pulpe  | 0.24-0.54                               |
| Citrons | Pulpe  | 2.5-4.0                                 |
| Citrons | Écorce | 5.0                                     |
| Oranges | Pulpe  | 1.35                                    |
| Oranges | Écorce | 3.5-5.5                                 |
| Pêches  | Pulpe  | 0.1-0.9                                 |
| Fraises | Pulpe  | 0.14-0.44                               |

D'après les données du *tableau 1* de Michel (2002) rapporté au chapitre I de la partie bibliographique et intitulé : Teneur en pectines des principaux fruits utilisés pour les confitures et le *tableau 19* en dessous, nous pouvons classer les écorces d'orange parmi la catégorie des fruits très riches en pectine et les dattes parmi les fruits pauvres.

Le rendement en pectine à partir des écorces d'oranges dépend de la méthode et les conditions d'extraction. Yeoh et al. (2008) ont montré que la période de chauffage par micro-ondes de quinze-minute était suffisante pour extraire la même quantité de pectine que celle obtenue par soxhlet en trois heures.

Les effets du pH et le type du système dissolvant ont été étudiés par l'utilisation d'une extraction par micro-onde. L'extraction fortement acide (pH 1,5) a donné le meilleur rendement de pectine.

Par ailleurs, les pectines extraites des écorces d'oranges par les systèmes dissolvants sulfate d'aluminium 1 M et chlorure d'aluminium 1 M ont donné respectivement des rendements très élevés (35.71 et 25.75 %) par rapport à ceux obtenus respectivement, 10.2 % et 12 % par Yeoh et al. (2008) à partir des écorces d'oranges dont les conditions sont les suivantes : les systèmes dissolvants contenant l'éthanol 10 % et l'EDTA 0.05 M (temps : 15 min ; pH : 1,5) tous ces deux derniers systèmes dissolvants ont extrait approximativement deux fois la quantité extraite en utilisant l'eau distillée (5.1 %).

La teneur en pectine dépend de la variété et le stade de maturité des dattes. Myhara et al. (1999) ont trouvé que les teneurs en pectine de deux variétés omanaises Khalas et Fard varient après 80 jours de pollinisation respectivement de 32.0 g/Kg et 36.0 g/Kg sur base sèche à 10,1 g/Kg et 7.0 g/Kg sur base sèche au stade de maturité. Englyst et al. (1988) cités par les même auteurs, ont trouvé une teneur de 13.0 g/Kg sur base sèche dans les dattes matures de variété et d'origine inconnues.

Une étude de EI-Zoghbi (1994) effectuée sur des dattes (variété de Hayani) aux différents stades de maturités [vert, rouge et noir (Rutab)] montre que la teneur en pectine des dattes "matière fraîche" diminue pendant la maturation de 1,58 % à 0,54 %. Selon cet auteur, cela peut être due à l'activité des pectinestérases. Dans tous les fruits étudiés cette activité diminue pendant la maturation sauf pour les dattes.

Mayhara et al. (2000) ont cité que pendant la maturation des dattes, il y a une accumulation de polygalacturonase. Il ont suggéré que la diminution en pectine est le résultat de cette accumulation de polygalacturonase.

Al-Hooti et al. (2002) ont trouvé des teneurs très faibles comparativement à celles obtenues à partir de notre variété "Mechdegla" sur deux variétés de dattes Birhi et Safri d'Arabie Saoudite qui sont respectivement de 0,56 % et 0,44 %.

La teneur en pectine des dattes dépend aussi de la méthode d'extraction et la durée de stockage. Une étude effectuée par Azelmat et al. (2006) montre l'effet de la date de stockage sur trois fractions pectique extraites à partir d'une variété de datte marocaine "Boufeggous", les valeurs trouvées sont représentées dans le tableau suivant :

| <b>Fractions pectiques (%)</b>                          | <b>0 mois</b> | <b>4 mois</b> | <b>8 mois</b> |
|---|---------------|---------------|---------------|
| <i>pectine soluble dans l'acide chlorhydrique (PSA)</i> | 2,4           | 1,4           | 0,9           |
| <i>pectine soluble dans l'oxalate (PSO)</i>             | 2,3           | 1,3           | 0,8           |
| <i>Pectine soluble dans l'eau (PSE)</i>                 | 1,8           | 1             | 0,7           |

Notre rendement en pectine des dattes est proche de celui obtenu par Benchabane et al. (1996), qui ont montré que la paroi cellulaire de la datte mûre est pauvre en pectine (3 % MS de datte) mais riche en fibres (6 à 8 % MS).

EI-Zoghbi, (1994) confirme les observations faites par Benchabane à savoir que les dattes contiennent une faible teneur en pectine et que le fruit de datte a le pourcentage le plus élevé des fibres totales (fibres totales = somme de pectine, hémicellulose, cellulose et lignine) suivies respectivement, par la goyave, la mangue et la fraise.

La teneur en pectine des dattes dépend de la teneur en eau. La teneur de notre pectine obtenue à partir des dattes sèches est légèrement supérieure à celle obtenue par Atef et al. (2004) qui ont trouvé les valeurs suivantes : les dattes humides (> 30 % d'eau) contiennent une teneur de 1,04 % sur base sèche alors que les dattes demi sèches (20 – 30 % d'eau) et les dattes sèches (< 20 % d'eau) contiennent respectivement 1,75 et 1,51 %.

## 2. Teneurs en sucres totaux, protéines et cendres des pectines extraites



**Figure 18 n** Teneurs en sucres totaux, protéines et cendres des pectines extraites.

**Tableau 20 n** Teneurs en sucres totaux, protéines et cendres des pectines extraites.

|                                     | Pectine d'oranges (Chlorure d'al) | Pectine d'oranges (Sulfate d'al) | Pectine de dattes (Chlorure d'al) | Pectine de dattes (Sulfate d'al) | Pectine commerciale |
|-------------------------------------|-----------------------------------|----------------------------------|-----------------------------------|----------------------------------|---------------------|
| <b>Sucres totaux (%)</b>            | 72,67                             | 74,12                            | 68,46                             | 74,21                            | 88,18               |
| <b>Protéines (%) <sup>(1)</sup></b> | 0,21                              | 1,75                             | 2,62                              | 1,56                             | 1,3                 |
| <b>Cendres (%)</b>                  | 13,8                              | 12,4                             | 14,8                              | 10,2                             | 1,04                |

<sup>(1)</sup> Teneur en protéines dosée par la méthode de Kjeldhal (l'azote total).

D'après le **tableau 20** on constate que toutes les pectines se composent principalement par des hydrates de carbone (> 68 %). La pectine commerciale précipitée par l'alcool présente la teneur la plus élevée (> 88 %) suivie par les pectines oranges et dattes précipitées aux sulfates d'aluminium (> 74 %). Les pectines oranges et dattes précipitées par les chlorures occupent la dernière place avec respectivement, 72,67 ; 68,46 %.

Nos pectines d'écorces d'oranges se composent en moyenne de 73,39 % d'hydrates de carbone. Cette valeur est plus élevée que les valeurs : de 67,4 %, 59,4% et 69,9% obtenues respectivement par Ralet et Thibault (1994) dans les fibres diététiques de citron commercial,

par Ros et al. (1996 ; 1998) à partir d'albédo de citron insolubles dans l'alcool et par Brillouet et al. (1988) à partir de pulpes d'agrumes.

Les pectines que nous avons extrait de dattes contiennent 71,33 % d'hydrates de carbone. Cette valeur est proche de la valeur de 70 % (50 % AG + 20 % SN) obtenue par Benchabane et al. (1996) à partir de deux variétés de dattes algériennes "Deglet Nour" et "Ghars".

La composition biochimique de nos pectines montre que celles-ci du point de vue nutritionnelle sont pauvres en protéines, ces dernières ne dépassent pas 3 % pour toutes les pectines extraites. Selon le journal officiel des communautés européennes du point de vue de normalisation les pectines commerciales standardisées doivent avoir une teneur limite en protéine qui ne doit pas dépasser 1 %, alors que May (2000) rapporte une teneur entre 1-2 %.

Généralement la standardisation des pectines est effectuée par l'addition de saccharose afin d'obtenir une force gélifiante déterminée. La plupart des pectines commerciales HM sont standardisées à 150 °SAG (mesure de standard de l'affaissement d'un gel) (Leroux et al., 1983). Cette standardisation peut modifier la teneur initiale de protéines des pectines commerciales.

D'autre part, cette hausse de la teneur en protéine peut être due à l'absence d'un procédé préliminaire lors de l'extraction. En effet, Eva et al. (2006) rapportent un procédé qui diminue ou élimine cette protéine par solubilisation dans l'acétate de sodium et précipitation par sulfate d'ammonium et ensuite élimination par centrifugation.

Yapo et al. (2007) montrent aussi, que la teneur en protéines dépend de l'acidité du milieu, les pectines extraites à pH 1,5 contiennent plus de résidus de protéine que celles extraites à pH 2. Ces dernières ont pu être probablement dues à plus d'interactions entre la protéine et la pectine à pH 2 qu'à pH 1,5.

Selon Zhongdong et al. (2005), le processus d'extraction à une température de 80 – 100 °C qui dure plus de 1 heure mène à la dégradation des protéines, ainsi ce processus n'est pas bon pour l'extraction de pectine aussi bien du point de vue quantité que qualité.

On peut conclure que la teneur en protéines des pectines dépend de la teneur initiale des protéines dans le matériel végétal et des conditions d'extractions.

Le **tableau 20** (page 57) montre que les pectines de dattes contiennent plus de cendres que les pectines d'oranges, ceci peut être due aux différences dans la composition des matières premières de départ.

La composition minérale montre aussi que les pectines précipitées par les sels présentent une teneur en cendres plus élevée que celle précipitée par l'alcool (pectine commerciale).

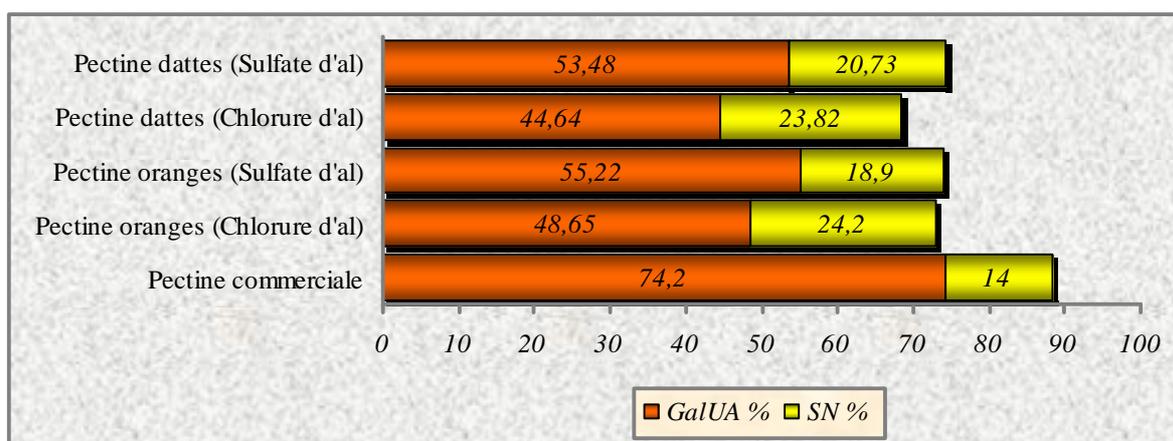
Takuo et al. (1980) ont recouvert une teneur en cendres de 2,6 % à partir de pectine commerciale extraite de citron lors d'une étude comparative entre deux types d'extractions acide et microbienne.

La teneur en cendres dans les pectines est en relation avec leur pureté ; celle-ci à son tour présente des effets sur leur qualité.

C'est pourquoi, la teneur en cendres n'est pas seulement un critère de pureté fixé par la normalisation mais aussi considérée comme critère de qualité des pectines. Dennapa et al. (2006) ont montré que la basse teneur en cendres est plus favorable pour la formation de gel. Selon ces auteurs, la teneur en cendres devrait être réduite par lavage par l'alcool acidulé.

Par ailleurs, les variations des rendements en pectines et les teneurs en cendres évoluent dans le même sens. En d'autres termes, une plus grande perte de cendres des pectines a comme conséquence la diminution de poids et, par conséquent, la diminution du rendement d'extraction.

### 3. Teneurs en acides galacturoniques et en sucres neutres des pectines extraites



**Figure 19 n** Teneurs en acides galacturoniques et en sucres neutres des pectines extraites.

**Tableau 21** n Teneurs en acides galacturoniques et en sucres neutres des pectines extraites.

|                              | Pectine d'oranges (Chlorure d'al) | Pectine d'oranges (Sulfate d'al) | Pectine de dattes (Chlorure d'al) | Pectine de dattes (Sulfate d'al) | Pectine commerciale |
|------------------------------|-----------------------------------|----------------------------------|-----------------------------------|----------------------------------|---------------------|
| <b>Sucres</b>                | 72,67                             | 74,12                            | 68,46                             | 74,21                            | 88,18               |
| <b>GalUA (%)</b>             | 48,65                             | 55,22                            | 44,64                             | 53,48                            | 74,20               |
| <b>SN (%) <sup>(2)</sup></b> | 24,2                              | 18,9                             | 23,82                             | 20,73                            | 14,0                |
| <b>SN/GalUA</b>              | 0,49                              | 0,34                             | 0,53                              | 0,38                             | 0,18                |

<sup>(1)</sup> Teneurs en acides galacturoniques (GalUA) dosés par la méthode de Blumenkrantz et al 1973.

<sup>(2)</sup> SN (Sucres Neutres) = Sucres totaux – acides uroniques.

Rappelons que les pectines extraites se composent principalement de polysaccharides (>70 %). Le sucre principal étant l'acide galacturonique, et représente ~ 60 % des sucres totaux.

Le **tableau 21** montre que la teneur en acides galacturoniques des pectines extraites varie de 44,64 % à 55,22 %.

Les teneurs en acides galacturoniques des pectines obtenues par le sulfate d'aluminium sont légèrement plus élevées que celles précipitées par le chlorure d'aluminium.

D'après le même tableau nous constatons que la pectine commerciale utilisée comme témoin dans notre étude présente la teneur la plus élevée en acide galacturonique (> 70 %) par rapport à la teneur en cet acide dans nos pectines précipitées par les deux types de sels (44 - 55 %).

Cette teneur de 74% en acide galacturonique de la pectine commerciale est proche de celle > 70% obtenue par Guillotin et al. (2007). Cette dernière contient une teneur de 5 à 10% de sucres neutres.

Les teneurs en acides galacturoniques pour nos pectines d'oranges varient de 48 - 55 %, ces valeurs sont inférieures à celles obtenues par Fishman et al., (2006) pour les pectines extraites à partir de différentes parties du citron (falvédo, albédo et pulpe) par une méthode assistée au micro-onde, et présentent les pourcentages moyens suivants : sucres neutres (SN) : 7-10%, acide galacturonique (AG) : 84-89% et degré de méthylation (DM) : 59-75%.

Les teneurs en acide galacturonique de nos pectines sont proches de celles obtenues par Benchabane et al. (1996) à partir de deux variétés de dattes algériennes "Deglet Nour" et "Ghars". Ces auteurs rapportent que leur pectine présentent une masse moléculaire viscosimétrique moyenne (Mv) de 50 000, une teneur faible en acide galacturonique (50 % MS) et une teneur élevée en oses neutres (20 % MS).

Les conditions d'extraction peuvent avoir des effets importants non seulement sur le rendement d'extraction mais également sur la structure chimique de la pectine extraite.

Ainsi, ces faibles valeurs en acide galacturonique et ces teneurs élevés en cendres de nos pectines et celles de Benchabane et al. (1996) peuvent être attribuées aux différents facteurs d'extraction (dont : dialyse et précipitation par éthanol).

En effet, le procédé de dialyse peut influencer la teneur en acide galacturonique, une étude réalisée par Singthong et al. (2005) montre l'effet de la dialyse qui peut changer la teneur en acide uronique en matériel dialysé (> 5 %).

Ainsi, Koubala et al. (2008) ont montré que les pectines d'agrumes extraites au moyen d'HCl et d'OAAO (oxalate d'ammonium/acide Oxalique) sont riches en acides uroniques et pauvres en sucres neutres par rapport à celles extraites par l'eau, ces dernières présentent des teneurs similaires en acide galacturonique de nos pectines d'agrumes extraites par les sels de précipitation.

La teneur en acide galacturonique dépend du degré de méthylation. Selon Mayhara et al. (2000), Il est possible qu'une diminution de DM permet à la polygalacturonase d'attaquer l'acide polygalacturonique et par conséquent de provoquer la diminution du poids moléculaire de la pectine, ce qui entraîne le ramollissement des dattes.

Comme énoncé auparavant, la teneur en acide galacturonique peut augmenter par la diminution de la teneur en cendres. Sahari et al. (2003) ont montré en effet qu'un lavage acide peut diminuer la teneur en cendres et augmenter relativement la teneur en acide galacturonique.

Il est également important d'analyser le rapport SN/AG, puisqu'il est en corrélation directe avec le degré de ramification des pectines et permet une évaluation du degré d'association avec d'autres polymères.

Dans ce sens, des différences ont été détectées dans le changement du rapport SN/AG entre les pectines précipitées par les sels (0,32 à 0,51) et la pectine commerciale (0,18). Dans un premier cas, les pectines d'écorces d'oranges et de dattes précipitées par le chlorure d'aluminium ont des valeurs les plus élevées (0,43 et 0,53) du rapport SN/AG, Dans le cas du sulfate d'aluminium, les rapports SN/AG sont proches (0,34 et 0,38) pour les pectines extraites des deux matériaux (oranges et dattes), alors que la pectine commerciale présente un rapport SN/AG le plus faible (0,18).

Pour les pectines précipitées par les sulfates il existe seulement une légère différence entre les pectines d'oranges et dattes.

Les valeurs plus basses de SN/AG correspondent aux pectines à peu de ramifications.

Ce fait peut être expliqué par la synthèse de nouveaux polymères pectiques, qui doivent se composer principalement par des homogalacturonanes. Cependant, selon Rosli et al. (2004) l'hydrolyse des chaînes latérales catalysée par des enzymes comme les  $\beta$ -galactosidases ou les  $\alpha$ -arabinofuranosidases, qui éliminerait les sucres neutres et réduirait la relation de SN/AG, se présente comme une autre possibilité.

Les valeurs relativement élevées du rapport SN/AG dans les pectines précipitées par le chlorure d'aluminium peuvent être dues à la dépolymérisation et à la perte de l'acide galacturonique dans les chaînes principales. Les changements de SN/GA dépendent peut être aussi de la dégradation de la pectine.

#### 4. Composition en sucres neutres

**Tableau 22** Teneurs et composition en sucres neutres des pectines extraites.

|               | <b>Pectine d'oranges (Chlorure d'al)</b> | <b>Pectine d'oranges (Sulfate d'al)</b> | <b>Pectine de dattes (Chlorure d'al)</b> | <b>Pectine de dattes (Sulfate d'al)</b> | <b>Pectine commerciale</b> |
|---------------|--|---|--|---|----------------------------|
| <b>SN (%)</b> | <b>24,2</b>                              | <b>18,9</b>                             | <b>23,82</b>                             | <b>20,73</b>                            | <b>14.0</b>                |
| <b>Ara</b>    | 7,9%                                     | 6,2%                                    | 3,9%                                     | 10,0%                                   | 1,8%                       |
| <b>Rham</b>   | 9,5%                                     | 5,3%                                    | 3,1%                                     | 11,0%                                   | 2,3%                       |
| <b>Fuc</b>    | 1,0%                                     | 2,0%                                    | 0,8%                                     | 0,9%                                    | 0,1%                       |
| <b>Xyl</b>    | 7,8%                                     | 21,5%                                   | 27,8%                                    | 4,4%                                    | 0,3%                       |
| <b>Man</b>    | 2,4%                                     | 2,8%                                    | 1,7%                                     | 0,7%                                    | 0,0%                       |
| <b>Gal</b>    | 21,4%                                    | 21,3%                                   | 11,2%                                    | 9,9%                                    | 5,8%                       |
| <b>Glc</b>    | 13,0%                                    | 11,5%                                   | 32,5%                                    | 5,7%                                    | 34,5%                      |
|               | Ara : Arabinose                          |   | Rham : Rhamnose                          | Fuc : Fucose                            |                            |
|               | Xyl : Xylose                             |   | Man : Mannose                            | Gal : Galactose                         |                            |
|               | Glc : Glucose                            |   |  |   |                            |

Les sucres neutres ont été déterminés après méthanolyse. Ce processus de dépolymérisation a été préféré à l'hydrolyse qui sous-estime les quantités de rhamnose ; et par conséquent, cet aspect est d'importance capitale pour la détermination de la quantité exacte du rhamnose qui a un rôle potentiel dans la formation des "coudes" et peut affecter ainsi les propriétés physiques des pectines. Les pectines de dattes sulfate et oranges chlorure sont plus riches en rhamnose (~ 11,0 %, 9,5 % respectivement) que les pectines d'oranges sulfate (~5,3 %). Les pectines de dattes chlorure et commerciale ont les plus faibles teneurs en rhamnose (~ 3,1 %, 2,3 % respectivement). On a également observé que : les pectines

d'oranges sulfate et chlorure sont très riches en galactose, tandis que les pectines de dattes sulfate et chlorure contiennent de faibles quantités de galactose. Le mannose et le fucose sont présents en quantités négligeables dans tous les types des pectines extraites. Pour le glucose et l'arabinose, il existe seulement une différence mineure pour les pectines oranges quelle que soit la méthode employée. Par contre les dattes chlorure sont plus riches surtout en glucose (32,5 %) que les dattes sulfate (5,7 %) ; La pectine commerciale standardisée présente aussi une teneur élevée en glucose (34,5 %). Les pectines de dattes chlorure et les pectines oranges sulfate présentent des teneurs les plus élevées en xylose (> 21 %), la pectine oranges chlorure contient 7,8 % de xylose, alors que les pectines commerciales et les pectines dattes sulfate en contiennent de faibles quantités (< 4 %).

Le contenu total de sucres neutres calculé comme la somme des sucres neutres s'étend de 18,9 % à 24,2 %.

Axelos et al. (1991) ont trouvé une teneur de 15 % de sucres neutres, avec des proportions décroissantes d'arabinose, galactose, et rhamnose, et des proportions mineures de glucose, de xylose, de mannose et de fucose.

D'après le **tableau 22** en page 62 nos pectines sont composées principalement de : galactose (9,9 - 21,4 %), rhamnose (3,1 - 11,0 %), xylose (4,4 - 27,8 %), arabinose (3,9 - 10,0 %) et glucose (5,7 - 34,5 %).

Nos résultats sont proches à ceux obtenus par Yapo et al., (2007) qui rapportent que les principaux sucres neutres dans les pectines sont : le rhamnose (0,7 - 5,2 %), l'arabinose (3,5 - 12,3 %) et le galactose (2,5 - 15,2 %).

Tamaki et al. (2008) montrent aussi dans une autre étude d'extraction des pectines à partir de citron que le sucre neutre principal est du galactose. L'arabinose et le rhamnose y sont présents en petites quantités. D'autres sucres tels que le xylose et le glucose, y sont aussi présents.

D'autres auteurs ont constaté que le galactose, l'arabinose et le glucose sont les trois principaux sucres neutres des pectines et que leurs proportions dépendent de la source de la pectine et du processus d'extraction utilisé (Lagher et al., 2002 ; Ralet et al., 1994).

Selon Yapo et al. (2007) le pH aurait un effet influant sur le contenu des sucres neutres, et que leur contenu augmente avec l'augmentation de pH.

Nos pectines présentent des teneurs faibles en arabinose et rhamnose, et élevées en galactose, xylose et glucose. Alors que, Koubala et al. (2008) ont trouvé des teneurs élevées en arabinose et galactose dans une pectine de citron extraite dans des conditions différentes.

Dans nos pectines on a aussi trouvé d'autres sucres neutres, tels que le xylose, le mannose et le glucose. Yapo et al. (2007) ont supposé que de tels sucres peuvent être "des contaminants" de l'hémicellulose et d'autres sucres.

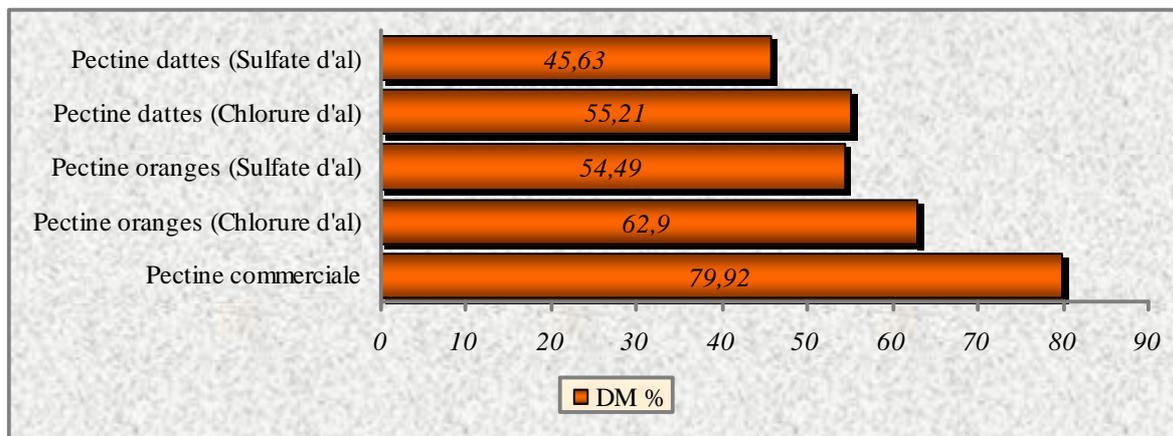
Les différents sucres présents dans les pectines extraites de nos matières premières sont semblables à ceux rapportés en bibliographie et leur importances sont en relation avec nos conditions d'extractions.

La teneur en sucres neutres n'est pas seulement un paramètre pour la caractérisation physico-chimique des pectines, mais peut jouer un rôle important sur les propriétés technofonctionnelles des pectines. Une teneur plus élevée des sucres neutres et un faible DE ont un effet marqué sur les propriétés gélifiantes. En outre, des méthodes chimiques et enzymatiques sont proposées par Lopes et al. (2006), pour maîtriser certaines caractéristiques chimiques et structurales gênant la gélification, et pour diminuer les chaînes latérales de sucres neutres.

Le rhamnose qui a un rôle potentiel dans la formation des "coudes pectiques" peut affecter les propriétés physiques des pectines. Certains auteurs ont estimé, suite à expériences d'hydrolyse acide, que le nombre des résidus de galacturonate entre deux unités de rhamnose est réitérée et constante (de ~ 25 résidus) pour les agrumes.

Pagán et al. (2001) montrent que les faibles liaisons ( $1\alpha - 2\beta$ ) reliant les résidus d'acides rhamnogalacturoniques sont responsables de la dégradation des pectines extraites à partir des pulpes stockées dégradées.

## 5. Degré de méthylestérification (DM)



**Figure 20 n** Degré de méthylestérification des pectines extraites.

**Tableau 23 n** Degré de méthylestérification des pectines extraites.

|                              | Pectine d'oranges (Chlorure d'al) | Pectine d'oranges (Sulfate d'al) | Pectine de dattes (Chlorure d'al) | Pectine de dattes (Sulfate d'al) | Pectine commerciale |
|------------------------------|-----------------------------------|----------------------------------|-----------------------------------|----------------------------------|---------------------|
| <b>DM (%) <sup>(1)</sup></b> | 62,90                             | 54,49                            | 55,21                             | 45,63                            | 79,92               |

<sup>(1)</sup> degré de méthylestérification dosé par la méthode de Klavons et Bennets (1986).

Le **tableau 23** montre que, compte tenu de leur  $DE \geq 50\%$  tous les types des pectines obtenues entrent dans la catégorie des pectines hautement méthylées à l'exception de la pectine de datte précipitée par le sulfate d'aluminium qui se situe dans la catégorie des pectines faiblement méthylées ( $< 50\%$ ). La pectine commerciale précipitée par l'alcool présente un DM le plus élevé.

Selon le même tableau nous constatons selon la matière utilisée, que les pectines précipitées par les sels de chlorure ont un degré de méthylation un peu plus élevé (8 – 10 %) que celles précipitées par les sels de sulfate.

Pour la pectine d'écorces d'oranges, différents degrés de méthylestérification : 72 %, 45 % et 30 % sont obtenus par Axelos et al. (1991) et 66 % et 35 % par Lopes da silva (1994).

Le degré de méthylestérification de nos pectines de dattes chlorure d'aluminium (55,21%) est proche de ceux des pectines obtenues par Benchabane et al. (1996) à partir de deux variétés de dattes algériennes "Deglet Nour" et "Ghars".

Le degré de méthylestérification de pectine peut varier selon la maturité, la partie, l'origine botanique du fruit et la méthode d'extraction (Dennapa et al., 2006 ; Lopes da Silva et al., 2006).

Le degré de méthylestérification dépend de la variété et le stade de maturité des dattes. Mayhara et al. (2000) ont trouvé que le degré méthylestérification des acides uroniques dans les dattes de variété khalas diminue d'une façon continue de 72 % au stade vert à 39 % au stade de maturité. Les mêmes auteurs ont montré qu'il y a une augmentation de la quantité de pectinestérase pendant la maturation des dattes, et suggèrent que cette diminution du degré de méthylestérification (DM) de pectine peut être due à l'accumulation observée de cette enzyme.

Nos conditions de solubilisation (jus pectique conservé à un pH de 1,5 pendant 24 heures) constituent la raison ou l'une des causes de la désetérification qui provoque la réduction du degré de méthylestérification (DM). Kim et al. (2004) ont rapporté que le degré de méthylestérification et les propriétés de la pectine extraite dépendent de conditions d'extraction (température et pH). Généralement un pH bas et un temps plus élevé d'extraction diminuent le degré de méthylestérification (DM).

Nos conditions de précipitation [pH ajusté à 4,5 par l'addition de l'ammoniaque ( $\text{NH}_4\text{OH}$  à 5 N) au jus pectique et ensuite conservé pendant 24 heures] constituent la raison ou l'une des causes de la déestérification par saponification qui provoque la réduction du degré de méthylestérification (DM). Lo et al. (2002) ont rapporté que la déestérification des pectines peut également être provoqué par saponification chimique. Celle-ci ou la deesterification enzymatique toutes les deux produisent une déesterification aléatoire de polymère pectique.

Banjongsinsiri et al. (2004) ont montré l'effet des enzymes pectiques telles que les pectinéméthylestérases (PME) qui causent le ramollissement pendant la maturation des fruits. Les PME sont largement distribuées dans toutes les plantes supérieures, chez les bactéries pathogènes des plantes, et champignons ; et leur fonction sont liées à la prolongation du mur de cellules pendant leur croissance et au ramollissement pendant la maturation du fruit par déestérification de la pectine.

Cependant, un traitement thermique entre 50 - 70 °C peut également activer les enzymes responsables au ramollissement.

Kratchanova et al. (2004) ont montré l'intérêt de l'inactivation des PME pour accroître le degré de méthylestérification.

Sahari et al. (2003) ont montré qu'un lavage acide peut diminuer la teneur en cendre et augmenter relativement la teneur en acides galacturoniques, mais a comme conséquence la deestérification des groupements méthyles de la chaîne de l'acide galacturonique.

En ce qui concerne les changements du DM des pectines pendant la maturation, quelques chercheurs ont rapporté sa diminution de la lamelle moyenne, alors que d'autres n'ont trouvé qu'il ne change pas pendant la maturation (Lopes da Silva et al., 2006).

L'une des propriétés les plus importantes de la pectine est la gélification. Cette propriété est directement liée au degré de méthylestérification (DM).

La pectine de dattes précipitée par le sulfate d'aluminium est classée parmi les pectines LM, ces pectines peuvent former un gel en présence d'ions de calcium. Le mécanisme de formation de gel se différencie de celui des pectines HM

Mohammad et al. (2003) ; Iglesias et al. (2003) ont cité que la pectine LM peut être employée pour préparer des gelées avec une faible teneur ou sans sucre en présence d'ions de calcium et peuvent être employée comme ingrédient pour les aliments à basses calories (allégés).

## 6. Activité émulsifiante et stabilité d'émulsification

**Tableau 24** n *Activité émulsifiante et stabilité d'émulsion des pectines extraites*

| Type de pectines                        | AE (%) <sup>(1)</sup> | SE (%) <sup>(2)</sup> |       |          |       |
|---|-----------------------|-----------------------|-------|----------|-------|
|   |                       | 1 jour                |       | 30 jours |       |
|   |                       | 4 °C                  | 23 °C | 4 °C     | 23 °C |
| <i>Pectine d'orange (Chlorure d'al)</i> | 43,50                 | 90                    | 86    | 86       | 86    |
| <i>Pectine d'orange (Sulfate d'al)</i>  | 41,66                 | 85                    | 85    | 81,9     | 81,9  |
| <i>Pectine dattes (Chlorure d'al)</i>   | 37,00                 | 97                    | 94    | 94       | 94    |
| <i>Pectine dattes (Sulfate d'al)</i>    | 39,13                 | 90                    | 87,3  | 84,2     | 87,3  |

<sup>(1)</sup> *Activité émulsifiante*      <sup>(2)</sup> *Stabilité d'émulsion*

L'activité émulsifiante et la stabilité d'émulsification des pectines extraites ont été étudiées avec des émulsions préparées avec des solutions de notre pectine à 0,5 %. Après centrifugation des émulsions, on observe trois phases, une phase très petite d'huile en haut, une phase aqueuse dispersé de pectine au fond, et entre les deux phases, une phase de couche émulsionnée.

Les valeurs d'activité émulsifiante des émulsions préparées avec des pectines d'oranges précipitées aux sulfate et chlorure d'aluminium sont respectivement : 41,66 % et 43,50 % (*tableau 24*).

Les valeurs d'activité émulsifiante des émulsions préparées avec des pectines de dattes précipitées aux sulfate et chlorure d'aluminium sont respectivement : 39,13 % et 37,00 % (*tableau 24*).

Ces valeurs sont plus élevées que celles (30,3 %) trouvées dans la bibliographie pour une pectine non-dépolymérisée obtenue dans des conditions semblables (Huang et al., 2001), et légèrement plus faibles que celles trouvées par Yapo et al. (2007), pour une pectine extraite à partir des pulpes de betterave (43,2 et 47,1 %).

Nous constatons dans le *tableau 24*, des niveaux élevés de stabilité des émulsions aux deux températures différentes de stockage. Ces émulsions sont stables 85 - 97 % à 4 °C et 85 - 94 % à 23 °C après 1 jour de stockage. Les mêmes stabilités d'émulsions de 81,9 % - 94 % sont observées à 4 °C à 23 °C et ce, après 30 jours de stockage. Notons aussi que ces émulsions sont légèrement plus stables quand elles sont stockées à 23 °C. Ces valeurs sont plus élevées que celles trouvées (62 %) en bibliographie pour une pectine non-dépolymérisée (Huang et al., 2001).

Nos pectines extraites d'écorces d'oranges et de dattes peuvent produire et stabiliser efficacement des émulsions d'huile en eau.

Cette activité dépend de la concentration en pectine, de la masse moléculaire, de la teneur en protéines et du degré d'acétylation des pectines extraites.

Yapo et al. (2007) ont montré que les capacités d'émulsification des pectines sont meilleures quand leur concentration est de 1 - 3,5 %.

Akhtar et al. (2002) ont rapporté que l'extraction acide des pectines d'agrumes de poids moléculaire élevé (150 Kg/mol) ont des capacités d'émulsification et/ou de stabilisation faibles. Cependant, ils ont constaté que la pectine dépolymérisée de citron de poids moléculaire de 70 Kg/mol, ont des capacités émulsifiantes de stabilité efficace dans des émulsions huile/eau. ils ont observé aussi que, pendant l'émulsification, la présence des protéines dans la pectine dépolymérisée a joué un rôle fonctionnel important en augmentant les propriétés d'émulsification de la pectine après dépolymérisation.

Une technique membranaire d'ultrafiltration en combinaison avec la diafiltration (UF - DF) a été utilisée pour la récupération et la purification des pectines. Un fractionnement sélectif des molécules dissoutes et l'isolement des pectines de divers poids moléculaires peuvent être réalisés si diverses membranes de fractionnement de poids moléculaire

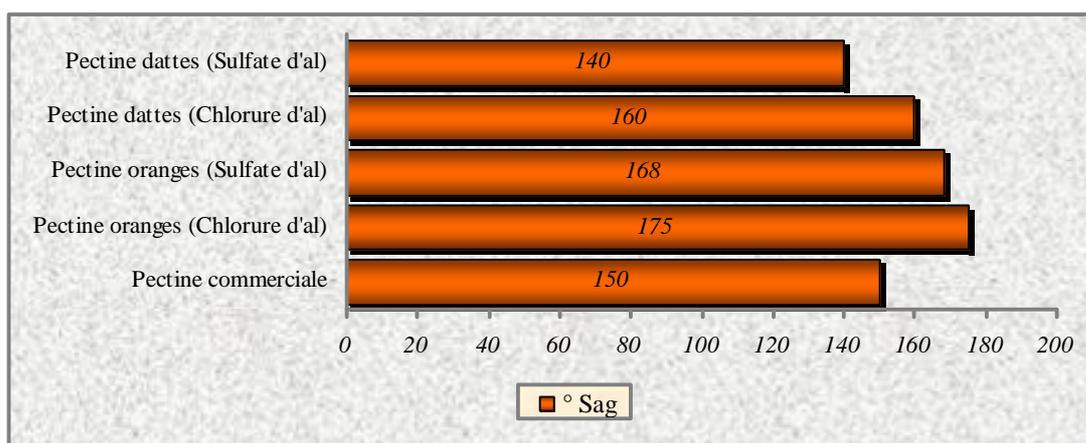
(MWCOS : molecular weight cut-offs ) sont utilisées en série (Hatziantoniou & Howell, 2002).

Les fractions initiales de pectines obtenues ont été divisées en de nouvelles fractions de pectines de faibles poids moléculaires (35 et 46 Kg/mol) et de haut poids moléculaire (139 et 141 Kg/mol) à l'aide d'une membrane (MWCOS) de 50 kD. Il a été observé que les fractions de faible poids moléculaire ont également eu des capacités d'émulsification efficaces (les pectine de poids moléculaire de 46 Kg/mol ont montré les meilleures possibilités d'émulsification). En revanche, les fractions de haute poids moléculaire ont montré des faibles propriétés d'émulsification et stabilisation d'émulsion.

Il est, cependant, important de souligner qu'après le processus de diafiltration UF- DF 50kD , la majeure partie des protéines des fractions initiales de pectine ont été trouvées dans les fractions de pectine de faible poids moléculaire. Par conséquent Yapo et al. (2007) ont proposé que, dans la pectine entière de betterave (non-fractionnée) , la partie "active" de celles-ci pouvant avoir probablement plus d'interactions avec la plupart des protéines présentes, peuvent être la fraction de pectine de faible poids moléculaire.

Selon Akhtar et al. (2002) cette activité à aussi une relation avec le degré d'acétylation. L'origine moléculaire de capacité considérable d'émulsification (et moussante) de la pectine de betterave sucrière est le caractère hydrophobe des groupes acétyles (2 - 9 %)..

## 7. Pouvoir gélifiant



**Figure 21 n** Pouvoir gélifiant des pectines extraites.

**Tableau 25 n** Pouvoir gélifiant des pectines extraites.

|                          | Pectine d'oranges<br>(Chlorure d'Al) | Pectine d'oranges<br>(Sulfate d'Al) | Pectine de dattes<br>(Chlorure d'Al) | Pectine de dattes<br>(Sulfate d'Al) | Pectine commerciale |
|--------------------------|--------------------------------------|-------------------------------------|--------------------------------------|-------------------------------------|---------------------|
| ° Sag <sup>(1)</sup>     | 175                                  | 168                                 | 160                                  | 140                                 | 150                 |
| Grade IFT <sup>(2)</sup> | 0,90                                 | 0,86                                | 0,82                                 | 0,71                                | 0,77                |

<sup>(1)</sup> degré Sag : une pectine qui a 1°SAG peut gélifier 1 g de sucre.  
<sup>(2)</sup> Grade IFT : 0,77 grade IFT = 150 °Sag.

Les pouvoirs gélifiants mesurés ont des valeurs comprises entre 140 et 175 °Sag.

La pectine d'oranges précipitée par le chlorure d'aluminium présente un pouvoir gélifiant le plus élevé (175 °Sag), alors que celle de dattes précipitée par le sulfate d'aluminium présente le pouvoir gélifiant le plus faible (140 °Sag); cela peut être dû à la faible teneur en degré de méthylation de cette dernière.

Nous constatons de même, d'après le **tableau 25**, que les pectines (selon la nature de la matière première) précipitées par le sulfate présentent des pouvoirs de gélification un peu plus faibles que ceux de pectines précipitées par le chlorure. Cette différence est plus accentuée pour les pectines de dattes.

La pectine commerciale standardisée à un pouvoir gélifiant égale à 150 °Sag.

La gélification dépend de certains paramètres, elle peut être affectée par le degré d'estérification, d'acétylation, la masse moléculaire et le taux de cendre (Sahari et al., 2003).

Les pectines de dattes présentent plusieurs inconvénients par rapport à celles d'agrumes. Ces inconvénients sont liés à ses pauvres propriétés gélifiantes qui sont les conséquences de certaines propriétés structurales, notamment le faible DM et une teneur plus élevée des sucres neutres. Et probablement, que la présence des groupements acétyles estérifiants certains groupes hydroxyles secondaires de l'acide galacturonique et qu'un faible poids moléculaire ont un effet marqué sur les propriétés gélifiantes.

La formation de gel est inhibée par l'augmentation de degré d'acétylation de l'homogalacturonane et par la présence des régions de rhamnogalacturonane I attachées à l'homogalacturonane (O'Neill et al. 2001).

En outre, des méthodes chimiques et enzymatiques sont proposées pour maîtriser certaines caractéristiques chimiques et structurales gênant la gélification, comme les diminutions de sucres neutres des chaînes latérales et le degré d'acétylation (Lopes et al. 2006).

Les groupements acétyles, l'acétates contenus dans les pectines, et qui empêchent la gélification peuvent être enlevés sélectivement par les acétyles estérases (Victor, 2007). Le contenu d'acétyle doit être inférieur à 4 %, une valeur considérée comme la limite critique pour la formation de gel (Iglesias et al. 2004).

La gélification dépend du degré de méthylation de l'acide galacturonique. Ce dernier (DM), dépend aussi de l'âge, de l'endroit de la pectine dans la paroi de la cellules végétale et de la méthode d'extraction.

Les modes de la gélification sont différents pour des pectines HM (DM : 55 – 80 %) et les pectines LM. La gélification des pectines de LM (DM < 50 %) exige la présence des blocs deestérifiés de l'acide galacturonique (> de 15 –20 résidus) (Victor, 2007).

La teneur en cendre peut affecter la gélification. Dennapa et al., (2006) ont montré que la basse teneur en cendres est plus favorable pour la formation de gel, cette teneur devrait être réduite par lavage par l'alcool acidulé.

Le pouvoir gélifiant dépend de la qualité des pectines extraites et même des conditions de préparation du gel. Donc, la gélification peut être affectée par plusieurs variables:

Selon May, (2000) dans toutes les applications de pectine, l'action de la pectine dépend fortement de la dissolution de la pectine, du pH, de la concentration, de la composition ionique, de la concentration et nature des sucres, et même de la quantité et de la nature de la pectine fournie par le fruit. Walstra (2003) rapporte que d'autres paramètres comme le temps de gélification, la concentration en pectine et la masse molaire ou le degré de polymérisation de polysaccharides influent aussi sur l'action de la pectine.

Dans la plupart des applications de la pectine il est essentiel de s'assurer que celle-ci est dissoute avant que les conditions de gélification soient atteintes (May, 2000). Les pectines sont généralement hydrosolubles. Les augmentations de poids moléculaire, la concentration ionique et les diminutions du degré d'estérification réduisent leur solubilité. L'acide pectique et les sels bivalents de l'acide pectique sont essentiellement insolubles dans l'eau. Cependant, ils peuvent être convertis en formes monovalentes de sel, c'est à dire, pectate de potassium ou sodium, pour devenir solubles (Izydorczyk et al., 2005).

Selon leur degré de méthylation, nos pectines peuvent être classées en deux types, les pectines hautement méthylées (DM > 50 % : pectine oranges chlorure et sulfate d'aluminium et dattes chlorure d'aluminium) et pectine faiblement méthylée (DM < 50 % : pectine dattes sulfate d'aluminium).

La pectine est un polysaccharide quelque peu spéciale, puisque selon le degré de méthylation, elle peut faire deux types de gel.

Izydorzcyk et al. (2005) ont montré que le pH, la quantité et le type de substances dissoutes, et le degré de méthylestérification (DM) sont également des facteurs importants qui affectent les mécanismes de gélification des pectines HM et LM.

Les pectines HM forment des gels thermiquement irréversibles à pH suffisamment bas ( $\text{pH} < 3,6$ ) et en présence de sucres ou d'autres substances dissoutes à une concentration  $> 50\%$ .

Une pectine HM de masse moléculaire élevée, présente dans une solution fortement concentrée en sucre et de pH bas (pour neutraliser la plupart des groupes carboxyliques), peut former un gel faible, c'est ce qui est obtenu en confiture traditionnelle (Walstra, 2003).

Selon le même auteur la gélification des pectines LM exige la présence des ions de calcium ou d'autres cations bivalents, celles-ci peuvent former une boîte à oeufs en présence des ions de calcium. La quantité relative de calcium affecte considérablement les propriétés de gélification des pectines LM. La gélification est favorisée par une concentration élevée des matières solubles et l'abaissement du pH (Izydorzcyk et al., 2005).

La réactivité du calcium est régie par la proportion et l'arrangement des groupes carboxyliques dans la chaîne de pectine. La réactivité augmente quand le degré d'estérification est faible (May, 2000 ; Izydorzcyk et al., 2005).

Les gels de pectine LM préparés à bas pH sont thermiquement réversible tandis que ceux préparés à pH neutre sont thermiquement irréversibles (Izydorzcyk et al., 2005).

Walstra (2003) a montré que dans les deux cas de formation de gels, seulement les régions lisses sur la chaîne de pectine participent aux jonctions.

A l'échelle industrielle, les pectines qui présentent un pouvoir gélifiant supérieur à  $150^\circ\text{Sag}$  doivent être standardisées par l'addition de sucres.

Selon Rolin (2002) la standardisation consiste à mélanger la pectine non standardisée par des quantités appropriées de saccharose, de sorte que le mélange répond aux caractéristiques prévues du produit commercial.

La pectine commerciale destinée à l'utilisation alimentaire peut contenir jusqu'à  $50\%$  de saccharose.

## Conclusion générale

Les pectines substances polysaccharidiques complexes faisant partie des parois des végétaux sont depuis longtemps extraites de ces derniers, dans les objectifs de les utiliser en industrie agroalimentaire comme agents gélifiant, épaississant, stabilisant et émulsifiant. La quantité ainsi que la qualité de celles-ci dépendent de la variété, du stade de développement et des conditions de leur extraction.

Au terme de notre étude nous avons constaté et confirmé ce qui est rapporté en bibliographie que les écorces d'oranges présentent un rendement en pectine plus élevé que celui des dattes, ainsi elles sont considérées comme une source importante de pectines.

Alors que les dattes, fruits riches en fibres alimentaires présentent du point de vue rendement une faible teneur en pectine, ce qui en fait des fruits pauvres.

Les teneurs en acides galacturoniques des pectines extraites varient de 44,64 % jusqu'à 55,22%.

Les teneurs en acides galacturoniques des pectines extraites précipitées au sulfate d'aluminium (écorces d'oranges : 55,22% et dattes : 53,48%) sont un peu plus élevées que celles précipitées au chlorure d'aluminium (écorces d'oranges : 48,65% et dattes : 44,64%).

La pectine commerciale utilisée comme témoin dans notre étude présente la teneur la plus élevée en acide galacturonique (> 70%).

Tous les types de pectines sont classées dans la catégorie des pectines hautement méthylées ( $DE \geq 50\%$ ) à l'exception de la pectine de dattes précipitée au sulfate d'aluminium qui se situe dans la catégorie des pectines faiblement méthylées ( $< 50\%$ ). La pectine commerciale précipitée par l'alcool présente un DM le plus élevé.

Nous constatons aussi, que les pectines précipitées au sel de chlorure ont des degrés de méthylation un peu plus élevés (écorces d'oranges : 62,90% et dattes 55,21%) que ceux précipitées au sel de sulfate (écorces d'oranges : 54,49 ; dattes : 45,63).

Les teneurs des différents sucres neutres s'étendent de 18,9% à 24,2%.

Nous constatons par ailleurs, que le galactose, le rhamnose, le xylose, l'arabinose et le glucose sont les principaux sucres neutres des pectines, et leurs teneurs sont respectivement: 9,9 - 21,4% ; 3,1 - 11,0% ; 4,4 - 27,8% ; 3,9 - 10,0% ; 5,7 - 34,5%, et leurs proportions dépendent de la source de la pectine et du processus d'extraction utilisé.

Les pectines extraites d'écorces d'oranges et des dattes montrent des capacités efficaces de stabilisation des émulsions d'huile et d'eau.

Cette activité dépend de la concentration en pectine, de la masse moléculaire, de la teneur en protéines et du degré d'acétylation des pectines extraites.

Les valeurs d'activité émulsifiante des émulsions préparées avec des pectines d'oranges précipitées aux sulfate et chlorure d'aluminium sont respectivement, 41,66% et 43,5%.

Les valeurs d'activité émulsifiante des émulsions préparées avec des pectines de dattes précipitées aux sulfate et chlorure d'aluminium sont respectivement, 39,13% et 37,00%.

Les émulsions préparées par les pectines extraites sont stable aux valeurs 85 - 97 % à 4 °C et 85 - 94 % à 23 °C après 1 jour de stockage. Après 30 jours de stockage, la stabilité d'émulsion s'étend de 81,9 % - 94 % à 4 °C qu'à 23 °C. Ces valeurs montrent les niveaux élevés de stabilité des émulsions sous les deux températures différentes du stockage. Cependant, les émulsions sont légèrement plus stables quand elles sont stockées à 4 °C.

Nous constatons aussi, que les pectines précipitées au sulfate présentent un pouvoir gélifiant un peu plus faible que ceux avec les pectines précipitées au chlorure.

Les pectines de dattes montrent plusieurs inconvénients par rapport à celles d'agrumes, ces inconvénients sont liés à leurs pauvres propriétés gélifiantes qui sont les conséquences de certaines propriétés structurales, notamment le faible DM et une teneur plus élevée des sucres neutres, et probablement, à la présence des groupements acétyles estérifiants certains groupes hydroxyles secondaires de l'acide galacturonique et au faible poids moléculaire qui ont un effet marqué sur les propriétés gélifiantes.

Toutes ces propriétés générales des pectines citées précédemment nous laissent considérer cette substance comme un produit très important, exploité par le secteur agroalimentaire qui l'utilise comme additif alimentaire pour ses propriétés épaississantes (permet de changer la viscosité du milieu), gélifiantes (permet de figer le milieu), stabilisantes (permet de maintenir en suspension) et émulsifiantes (permet de stabiliser les émulsion d'huile végétales et d'eau) dans beaucoup d'aliments, ainsi que dans des applications industrielles.

La pectine est non seulement exploitée par le secteur agroalimentaire, mais aussi dans d'autres domaines tels que :

En nutrition comme fibre alimentaire, pour abaisser le taux de cholestérol dans le sang « hypocholestérolémiant » (Cara et al., 1993 ; Yamaguchi et al., 1994), pour diminuer le risque de la maladie coronaire (Siondalski et al., 2007), et pour réduire l'hyperglycémie et l'hyperinsulinémie post prandiale (Chene, 2003).

En toxicologie comme substance complexant les métaux lourds (Yokoi et al., 2002) et les nucléides radioactifs "césium" (Nesterenko, 2002).

Depuis les deux dernières décennies les recherches sur les pectines ont permis des progrès considérables dans notre compréhension de leurs rôles dans la croissance et le développement des plantes et de leur valeur comme additif alimentaire et produits pharmaceutiques. Néanmoins, il reste beaucoup de questions posées concernant ces polysaccharides complexes des plantes.

Il est important de signaler que les conditions d'obtention très complexes et variées (selon la bibliographie) ont des effets importants sur les caractéristiques des pectines extraites sur le plan quantitatif et qualitatif, et induisant le recouvrement d'une large gamme de pectines. Il est ainsi possible d'obtenir des pectines avec des caractéristiques spécifiques (Mw élevé, haut DM, bas DAc, etc.) et d'augmenter ainsi leurs potentiel d'utilisations.

Enfin, le coût de production par rapport aux prix des pectines importées dans le choix de technique est déterminant, si les responsables industriels locaux décident un jour de l'opter d'installer une chaîne de fabrication des pectines annexe à celles des jus.

# Références Bibliographiques

## Références Bibliographiques

- Akhtar M., Dickinson E., Mazoyer J. & Langendorff V., (2002). Emulsion stabilizing properties of depolymerized pectin. *Food Hydrocolloids*, **16 (3)** : 249-256.
- Alais C. & Linden G., (1994). Biochimie alimentaire. MASSON (Ed), Paris Milan Barcelone, 348p
- Al-Hooti S.N., Sidhu J.S., Al-Saqer J.M. & Al-Othman A., (2002). Chemical composition and quality of date syrup as affected by pectinase/cellulase enzyme treatment. *Food chemistry*, **79 (2)** : 215-220.
- Atef M.I. & Mohamed N.H.Kh., (2004). Le palmier dattier : culture, protection et production dans le monde arabe. Elmaarif (Ed). Alexandrie, 137p
- Axelos M.A.V. & Thibault J.-F., (1991). Influence of the substituents of the carboxyl groups and of the rhamnose content on the solution properties and flexibility of pectins. *International Journal of Biological Macromolecules*, **13 (2)** : 77-82.
- Azelmat K., ElGarrouj D., Mouhib M. & Sayah F., (2006). Irradiation of 'Boufeggous' dates: Effects on chemical composition during storage *Postharvest Biology and Technology*, **39(2)** : 217-222.
- Banjongsinsiri P., Kenney J., & Wicker L., (2004). Detection of Vacuum Infusion of Pectinmethylesterase in Strawberry by Activity Staining. *Journal of Food Science (JFS) : Food Chemistry and Toxicology*, **69 (3)** : 179-183.
- Barrera A.M., Ramirez J.A., Gonzalez-Cabriales J.J. & Vazquez M., (2002). Effect of pectins on the gelling properties of surimi from silver carp. *Food Hydrocolloids*, **16 (5)** : 441-447.
- Be'lafi-Bako' K., Eszterle M., Kiss K., Nemesto'thy N. & Gubicza L., (2007). Hydrolysis of pectin by *Aspergillus niger* polygalacturonase in a membrane bioreactor. *Journal of Food Engineering*, **78 (2)** : 438-442.
- Belhamri R., (2005). Extraction des macromolécules pariétales des eaux de presse de betteraves sucrières: étude de leur composition, de leurs propriétés physico-chimiques et de leur effet sur le process sucrier. *Thèse Doctorat de l'Université de Reims Champagne Ardenne*.
- Benamara S. & Agougou A., (2003). jus alimentaires , technologie agro-alimentaire. Office des Publications Universitaires (OPU). Alger, 170p

- Benchabane A., (1984). Extraction et appréciation des substances pectiques à partir des résidus de fabrication des jus d'oranges et de pomélo. *Thèse de magister de l'Institut national Agronomique*.
- Benchabane A., Meftah F. & Saadi A., (1996). Rapport de synthèse de l'atelier "Technologie et qualité de la datte" . In. *Le palmier dattier dans l'agriculture d'oasis des pays méditerranéens* (Options Méditerranéennes : Série A. Séminaires Méditerranéens ; n. 28). Zaragoza : CIHEAM-IAMZ. Ferry M. (Ed.), Greiner D. (Ed.) p. 209-214.
- Berardini N., Knödler M., Schieber A. & Carle R., (2005). Utilization of mango peels as a source of pectin and polyphenolics. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, **6 (4)** : 442-452.
- Biotimes, (2003). La nouvelle génération de pectinases. Mars 2003 pp4-5. (Consulté Novembre 2006) disponible en ligne sur :  
[http://www.novozymes.com/library/Publications/Biotimes\\_Sprog/FR\\_xxl.pdf](http://www.novozymes.com/library/Publications/Biotimes_Sprog/FR_xxl.pdf)
- Blumenkrantz N. & Asboe-hansen G. (1973). New Method for Quantitative Determination of Uranic Acids. *Analytical biochemistry*, **54** : 484-489.
- Bonnin E., Le Goff A., Körner R., Vigouroux J., Roepstorff P. & Thibault J.-F., (2002). Hydrolysis of pectins with different degrees and patterns of methylation by the endopolygalacturonase of *Fusarium moniliforme*. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Protein Structure and Molecular Enzymology*, **1596 (1)** : 83-94.
- Boonrod D., Reanma K. & Niamsup H., (2006). Extraction and Physicochemical Characteristics of Acid-Soluble Pectin from Raw Papaya (*Carica papaya*) Peel. *Chiang Mai J. Sci.*, **33 (1)** : 129-135.
- Brillouet J.-M., Rouau X., Hoebler, C., Barry, J.-L., Carre', B. & Lorta, E., (1988). A new method for determination of insoluble cell walls and soluble nonstarchy polysaccharides from plant materials. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **36** : 969-979.
- Bruneton J., (1999). Pharmacognosie Phytochimie Plantes médicinales. 3<sup>e</sup> éditions Technique et documentation (Eds). Paris, pp 121-122.
- Cara I., Dubois C., Armand M., Mekki N., Senft M., Portugal H. & Lairon D., (1993). Pectins are the components responsible for the hypocholesterolemic effect of apple fiber. *Nutrition (Life Sci. Adv.)*, **12** : 69-77.
- Cardinale, (2003). Revue de cardiologie. Tome XV - n° 8 - Octobre 2003. Édité par CLACH.

- Cardoso S.M., Coimbra M.A. & Lopes da Silva J.A., (2003). Temperature dependence of the formation and melting of pectin–Ca<sup>2+</sup> networks: a rheological study. *Food Hydrocolloids*, **17 (6)** : 801–807.
- Cheftel J.Cl. & Cheftel H., (1978). Introduction à la biochimie et à la technologie des aliments. **Vol. 1**. Tech & Doc (Edt). Paris, 381p
- Chene C., (2003). Les Fibres Alimentaires. Journal de l'ADRIANOR. Agro-Jonction n°33 – Septembre / Octobre 2003, pp 1-8.
- Clément J.M., (1978). Dictionnaire des industries alimentaires. MASSON (Ed). Paris, 219p
- Constenla D., Ponce A.G. & Lozano J.E., (2002). Effect of pomace drying on apple pectin. *Lebensmittel Wissenschaft und Technologie*, **35 (3)** : 216-221.
- Crandall, P.G., Braddock R.J. & Rouse A.H., (1978). Effect of drying on pectin made from lime and lemon pomace. *Journal of Food Science*, **43 (6)** : 1680-1682.
- Dennapa B., Kamonrad R. & Hataichanoke N., (2006). Extraction and Physicochemical Characteristics of Acid-Soluble Pectin from Raw Papaya (*Carica papaya*) Peel. *Chiang Mai J. Sci.*, **33 (1)** : 129-135.
- Donaghy J.A. & McKay A.M., (1994). Pectin extraction from citrus peel by polygalacturonase produced on whey. *Bioresource Technol*, **47 (1)** : 25-28.
- Donato L., (2004). Gélification et séparation de phase dans les mélanges protéines globulaires/pectines faiblement méthylées selon les conditions ioniques. *Thèse Doctorat de l'École Nationale Supérieure des Industries Agricoles et Alimentaires*.
- Doran J.B., Cripe J., Sutton M. & Foster B., (2000). Fermentations of pectin-rich biomass with recombinant bacteria to produce fuel ethanol. *Applied Biochemistry Biotechnology*, **84-86** : 141-52.
- El-Zoghbi M., (1994). Biochemical changes in some tropical fruits during ripening. *Food Chemistry*, **49( 1)** : 33-37.
- Eva M. & Ester P.L., (2006). Changes in cell wall pectin and pectinase activity in apple and tomato fruits during *Penicillium expansum* infection. *J Sci Food Agric.*, **86** : 1359–1364.
- Fishman M.L., Chau H.K., Hoagland P.D. & Hotchkiss A.T., (2006). Microwave-assisted extraction of lime pectin. *Food Hydrocolloids*, **20 (8)** : 1170-1177.
- Förster S., Dongowski G. and Kunzek H., (2002). Structure, physicochemical properties and in vitro fermentation of enzymatically degraded cell wall materials from apples. *Nahrung/Food WILEY-VCH Verlag*, **46 (3)** : 158-166.

- Fournier E., (2001). Colorimetric Quantification of Carbohydrates. In : Current Protocols in Food Analytical Chemistry. John Wiley & Sons, Inc (Eds). Section E Carbohydrates : E1.1.1-E1.1.8. . 800p
- Gerhard R., (1993). Métabolisme des végétaux : physiologie et biochimie. Édition française. Presses Polytechniques et Universitaires Romandes (Lausanne), 218p
- Giannouli P., Richardson R.K. & Morris E.R., (2004). Effect of polymeric cosolutes on calcium pectinate gelation. **Part 1**. Galactomannans in comparison with partially depolymerised starches. *Carbohydrate Polymers*, **55 (4)** : 343–355.
- Glicksman M., (1969). Gum technology in the Food Industry. ACADEMIC PRESS (Ed). New York San Francisco London, pp 159-189.
- Guillotin S.E., Bakx E.J., Boulenguer P., Schols H.A. & Voragen A.G.J., (2007). Determination of the degree of substitution, degree of amidation and degree of blockiness of commercial pectins by using capillary electrophoresis. *Food Hydrocolloids*, **21 (3)** : 444-451.
- Guillotin S.E., Van Loey A., Boulenguer P., Schols H.A. & Voragen A.G.J., (2007). Rapid HPLC method to screen pectins for heterogeneity in methyl-esterification and amidation. *Food Hydrocolloids*, **21 (1)** : 85–91.
- Hatziantoniou, D., & Howell, J.A., (2002). Influence of the properties and characteristics of sugar-beet pulp extract on its fouling and rejection behaviour during membrane filtration. *Desalination*, **148 (1-3)** : 67–72.
- Hennachi S., Benkhalifa A., Khitri D. & Brac de la perrière R.A., (1998). Inventaire variétal de la palmeraie algérienne. Commissariat au développement de l'agriculture des régions sahariennes (C. D. A. R. S.). 165p
- Henrik V.S., Jacob K.J., Susanne O.S., Jesper H. & Naomi G., (2007). MINIREVIEW. Biosynthesis of pectin. *Physiologia Plantaru*, **129** : 283–295.
- Huang, X., Kakuda, Y., & Cui, W., (2001). Hydrocolloids in emulsions: particle size distribution and interfacial activity. *Food Hydrocolloids*, **15 (4-6)** : 533–542.
- Hwang J.K., Kim C.J. & Kim C.T., (1998). Extrusion of apple pomace facilitates pectin extraction. *Journal of Food Science*, **63 (5)** : 841-844.
- Iglesias M.T. & Lozano J. E., (2004). Extraction and characterization of sunflower pectin. *Journal of Food Engineering*, **62 (3)** : 215-223.
- IPPA : International Pectin Producers Association. (2001). What is pectin?. Disponible en ligne sur [http://www.ippa.info/commercial\\_production\\_of\\_pectin.htm](http://www.ippa.info/commercial_production_of_pectin.htm). (consulté Septembre 2006).

- Izydorczyk M., Cui S.W. & Wang Q., (2005). Polysaccharide Gums : Structures, Functional Properties, and Applications. In : Food carbohydrates chemistry, physical properties, and applications. Published by CRC Press Taylor & Francis Group LLC (Eds). NY, **Chapter 6** : pp 263-307.
- James G.B., (2006). *Food Processing Handbook*. WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim (Ed). 582p
- Jardine W.G., Doeswijk-Voragen C.H.L., MacKinnon I.M.R., Van den Broek L.A.M., MA Ha, Jarvis M.C & Voragen A.G.J., (2002). Methods for the preparation of cell walls from Potatoes. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, **82 (8)** : 831 – 839.
- Jourdain J.R., Dublineau I. & Phan G., (2005). Evaluation de l'emploi de la pectine chez les enfants vivant sur les territoires contaminés par le césium. Rapport de Direction de la Radioprotection de l'Homme. Institut de Radioprotection et de Sécurité Nucléaire (IRSN). 36p
- Journal officiel des Communautés européennes. 09/12/1998. L334, pp 24-25.
- Kar F. & Arslan N., (1999). Effect of temperature and concentration on viscosity of orange peel pectin solutions and intrinsic viscosity–molecular weight relationship. *Carbohydrate Polymers*, **40 (4)** : 277–284.
- Kim W.C., Lee D.Y., Lee C.H., Kim C.W., (2004). Optimization of narirutin extraction during washing step of the pectin production from citrus peels. *Journal of Food Engineering*, **63 (2)** : 191–197.
- Klavons Jerome A. & Bennett Raymond D., (1986). Determination of Methanol Using Alcohol Oxidase and Its Application to Methyl Ester Content of Pectins. *J. Agric. Food Chem.*, **34** : 597-599.
- Koubala B.B., Mbome L.I., Kansci G., Tchouanguép M.F., Crepeau M.-J., Thibault J.-F. & Ralet M.-C., (2008). Physicochemical properties of pectins from ambarella peels (*Spondias cytherea*) obtained using different extraction conditions. *Food Chemistry*, **106 (3)** : 1202-1207.
- Kratchanova M., Pavlova E. & Panchev I., (2004). The effect of microwave heating of fresh orange peels on the fruit tissue and quality of extracted pectin. *Carbohydrate Polymers*, **56 (2)** : 181–185.
- Lagher, F., Reicher, F., & Ganter J. L. M. S., (2002). Structural and rheological properties of polysaccharides from mango (*Mangifera indica L.*) pulp. *International Journal of Biological Macromolecules*, **31 (1-3)** : 9–17.

- Laurence D.M. & Bronwen G.S., (2001). Colorimetric Quantification of Carbohydrates. In : Current Protocols in Food Analytical Chemistry. John Wiley & Sons, Inc (Eds). Section E Carbohydrates : E3.4.1- E3.4.6. 800p
- Laurent M.A. & Boulenguer P., (2003). Stabilization mechanism of acid dairy drinks (ADD) induced by pectin. *Food Hydrocolloids*, **17 (4)** : 445–454.
- Leroux H. & Schubert E., (1983). Actualités des industries alimentaires et agro-alimentaires : Les applications des pectines HM dans les industries agro-alimentaires. *Revue des I.A.A* : 615-618.
- Leroux J., Langendorff V., Schick G., Vaishnav V. & Mazoyer J., (2003). Emulsion stabilizing properties of pectin. *Food Hydrocolloids*, **17 (4)** : 455–462.
- Levigne S., Thomas M., Ralet M.-C., Quemner B. & Thibault J.-F., (2002). Determination of the degrees of methylation and acetylation of pectins using a C18 column and internal standards. *Food Hydrocolloids*, **16 (6)** : 547-550.
- LinShu L., Young J.W., Peter H.C., David R.C., Marshal L.F., Kevin B.H. & Peter X.M., (2004). Pectin/poly(lactide-co-glycolide) composite matrices for biomedical applications. *Biomaterials*, **25 (16)** : 3201–3210.
- Lo C.M., Grün I.U., Taylor T.A., Kramer H. & Fernando L.N., (2002). Blanching Effects on the Chemical Composition and the Cellular Distribution of Pectins in Carrots. *Journal of food Science (JFS) : Food Chemistry and Toxicology*, **67 (9)** : 3321-3328.
- Lopes da Silva J.A., (1994). Rheological characterization of pectin and pectin-galactomannan dispersions and gels, PhD dissertation, Catholic University of Portugal, Porto, Portugal.
- Lopes da Silva J.A. & Rao M.A., (2006). Pectins : Structure, Functionality, and Uses. In Food Polysaccharides and Their Applications, Second Edition. Edition : Stephen, CRC Press Taylor & Francis Group. **Chapter 11** : pp 353-412.
- Luca G.D.E. & Joslyn M.A., (1956). The recovery of pectin from extracts as aluminium-pectinate. Department of food technology. California, pp 137-141.
- Manfred M. & Nicole M., (2002). Précis des risques alimentaires. Partie **II** : lexique. Technique et documentation (Ed). Paris, 321p
- Marathe R.M., Annapure U.S., Singhal R.S. & Kulkarni P.R., (2002). Gelling behavior of polyose from tamarind kernel polysaccharide. *Food Hydrocolloids*, **16 (5)** : 423-426.
- Matia-Merino L., Lau K. & Dickinson E., (2004). Effects of low-methoxyl amidated pectin and ionic calcium on rheology and microstructure of acid-induced sodium caseinate gels. *Food Hydrocolloids*, **18 (2)** : 271–281.

- May C.D., (2000). Pectins. In : Handbook of hydrocolloids. CRC Press (Ed). USA, **Chapter 10**, pp 169-188.
- Mazliak P., (1981). Physiologie végétale : Nutrition et métabolisme. HERMANN (Ed). Paris, 343 p
- Michel B., (2002). Conservation par les sucres : confitures, gelées, fruits sur sucre. In : Technologies de transformation des fruits. Technique et documentation-Lavoisier (Ed). Paris, pp 421-425.
- Morris G.A., Foster T.J. & Harding S.E., (2002). A hydrodynamic study of the depolymerisation of a high methoxy pectin at elevated temperatures. *Carbohydrate Polymers*, **48 (4)** : 361-367.
- Multon J.L., (1991). Techniques d'analyses et de contrôles dans les Industries Agro-Alimentaires. Volume 4 : analyse des constituants alimentaires. Édition Lavoisier-Tech & Doc APRIA. Paris. 476p
- Myhara R.M., Karkalas J. & Taylor M.S., (1999). The composition of maturing Omani dates. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, **79 (11)** : 1345-1350.
- Myhara R.M., Al-Alawi A., Karkalas J. & Taylor M.S., (2000). Sensory and textural changes in maturing Omani dates. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, **80 (15)** : 2181-2185.
- N'BeMiller J., (2001). Plant Gums. *Encyclopedia of Life Sciences*, John Wiley & Sons, Ltd. pp 1-5.
- Nesterenko V., (2002). Une pomme pour lutter contre Tchernobyl ?. dossier de presse : Communiqué de presse de Sortir du nucléaire. Suisse romande, 9p
- Ohashi T., Cramer N., Ishimizu T. & Hase S., (2006). Preparation of UDP-galacturonic acid using UDP-sugar pyrophosphorylase. *Analytical Biochemistry*, **352 (2)** : 183-187.
- O'Neill A.M., Darvill A.G. & Albersheim P., (2001). Pectic Substances. *Encyclopedia of Life Sciences*, John Wiley & Sons (Ed), pp 1-11.
- Osrnond A., Bart F. & Carrère H., (2002). Concentration of Thickening and Gelling Food Additives by Ultrafiltration: Comparison of Flat Sheet and Tubular Membranes. *Filtration and Separation*, **39 (6)** : 35-40.
- Pagán J., Ibarz A., Lorca M., Pagán A. & Barbosa-Cánovas G.V., (2001). Extraction and characterization of pectin from stored peach pomace. *Food Research International*, **34 (7)** : 605-612.

- Panouillé M., Thibault J-F. & Bonnin E., (2006). Cellulase and Protease Preparations Can Extract Pectins from Various Plant Byproducts. *Journal of Agricultural and Food Chemistry. American Chemical Society*, **54** : 8926-8935.
- Prasanna V., Prabha T.N., and Tharanatha R.N., (2007). Fruit Ripening Phenomena - An Overview-. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, **47** : 1–19.
- Ralet M.C. & Thibault J.-F., (1994). Extraction and characterization of very highly methylated pectins from lemon cell walls. *Carbohydrate Research*, **260** (2) : 283–296.
- Ralet M.C., (2006). Détermination de la structure fine des pectines. Unité : Biopolymères Interactions Assemblages. Département : CEPIA. INRA Nantes. disponible en ligne sur : [http://www.nantes.inra.fr/les\\_recherches/biopolymeres/physico\\_chimie\\_et\\_enzymologie\\_des\\_polysaccharides\\_et\\_leurs\\_interactions/determination\\_de\\_la\\_structure\\_fine\\_des\\_pectines](http://www.nantes.inra.fr/les_recherches/biopolymeres/physico_chimie_et_enzymologie_des_polysaccharides_et_leurs_interactions/determination_de_la_structure_fine_des_pectines).
- Ranveer S.J., Shivalika S. & Reena G., (2005). Microbial pectinolytic enzymes: A review. *Process Biochemistry*, **40** (9) : 2931–2944.
- Rolin G., (2002). Commercial pectin preparations. . In : Pectins and their Manipulation. Blackwell Publishing Ltd (Edt). UK. **Chapter 8** : pp 222-239.
- Ros J.M., Schols, H.A. & Voragen A.G.J., (1996). Extraction, characterisation, and enzymatic degradation of lemon peel pectins. *Carbohydrate Research*, **282** (2) : 271–284.
- Ros J.M., Schols, H.A. & Voragen A.G.J., (1998). Lemon albedo cell walls contain distinct populations of pectic hairy regions. *Carbohydrate Polymers*, **37** (2) : 159–166.
- Rosli H.G., Civello P.M. & Martínez G.A., (2004). Changes in cell wall composition of three *Fragaria x ananassa* cultivars with different softening rate during ripening. *Plant Physiology and Biochemistry*, **42** (10) : 823–831.
- Sahari M.A., Akbarian A.M. & Manuchehr H., (2003). Effect of variety and acid washing method on extraction yield and quality of sunflower head pectin. *Food Chemistry*, **83** (1) : 43–47.
- Schols H.A. & Voragen A.G.J., (2002). The chemical structure of pectins. In : Pectins and their Manipulation. Blackwell Publishing Ltd (Ed). UK. **Chapter 1** : pp 1-29.
- Shuryo N., (2003). Pectins and their Manipulation - Book review - *Food Research International*, **36** (6) : 643.
- Singthong J., Ningsanond S., Cui S.W. & Goff D.H., (2005). Extraction and physicochemical characterization of Krueo Ma Noy pectin. *Food Hydrocolloids*, **19** (5) : 793-801.

- Siondalski P. & Łysiak-Szydłowska W., (2007). Food Components in the Protection of the Cardiovascular System. In: Chemical and Functional Properties of Food Components. Third Edition, CRC Press is an imprint of the Taylor & Francis Group, (Eds). NY. **Chapter 18** : pp 439-450.
- Taiz L. & Zeiger E., (2002). Plant Physiology. Sinauer Associates publisher : 3 edition, 690p
- Takuo S. & Minoru O., (1980). Microbial Production of Pectin from Citrus Peel. *Applied and Environmental Microbiology*, **39 (4)** : 908-912.
- Tamaki Y., Konishi T., Fukuta M. & Tako M., (2008). Isolation and structural characterisation of pectin from endocarp of Citrus depressa. *Food Chemistry*, **107 (1)** : 352-361.
- Tillmann S., Roland W., Rob V. & Werner K., (2002). Enzymatic modifications of pectins and the impact on their rheological properties. *Carbohydrate Polymers*, **47 (2)** : 99 -108.
- Tsoga A., Richardson R.K. & Morris E.R., (2004). Role of cosolutes in gelation of high-methoxy pectin. Part 2. Anomalous behaviour of fructose: calorimetric evidence of site-binding. *Food Hydrocolloids*, **18 (6)** : 921-932.
- Van Alebeek G.J.W.M., Schols H.A. & Voragen A.G.J., (2001). Amedation of methyl-esterified oligogalacturonides: examination of the reaction products using MALDI-TOF MS. *Carbohydrate Polymers*, **46 (4)** : 311-321.
- Van Rijssel M., Gerwig G.J. & Hansen T.A., (1993). Isolation and Characterization of an Extracellular Glycosylated Protein Complex from *Clostridium thermosaccharolyticum* with Pectin Methylesterase and Polygalacturonate Hydrolase Activity. *American Society for Microbiology. Applied and Environmental Microbiology*, **59** : 828-836.
- Van Rijssel M., Smidt M.P., Van Kouwen G. & Hansen T.A., (1993). Involvement of an intracellular oligogalacturonate hydrolase in metabolism of pectin by *Clostridium thermosaccharolyticum*. *American Society for Microbiology. Applied and Environmental Microbiology*, **59** : 837-842.
- Victor J.M., (2007). Gels. In : The chemical physics of food. Blackwell Publishing Ltd (Eds), UK. **Chapter 6** : pp 151-191.
- Voragen A.G.F., Pilnik W. Thibault J.F., Axelos M.A.V. & Renard C.M.G.C., (1996). The food polysaccharides. Edition: Stephen, *Marcel Dekker*. **Chapter 10** : pp 287- 338.
- Walstra P., (2003). Physical Chemistry of Foods. Marcel Dekker, Inc. (Edt). NY. 788p

- Wang Y.-C., Chuang Y.-C. & Hsu H.-W., (2008). The flavonoid, carotenoid and pectin content in peels of citrus cultivated in Taiwan. *Food Chemistry*, **106** (1) : 277-284.
- Watson C.F., Liansheng Z. & DellaPenna D., (1994). Reduction of Tomato Polygalacturonase  $\beta$  Subunit Expression Affects Pectin Solubilization and Degradation during Fruit Ripening. American Society of Plant Physiologists. November 1994. *The Plant Cell*, **6** : 1623-1634.
- White G.W., Katona T. & Zodda J.P., (1999). The use of high-performance size exclusion chromatography (HPSEC) as a molecular weight screening technique for polygalacturonic acid for use in pharmaceutical applications. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, **20** (6) : 905–912.
- Wicker L., Ackerley J.L. & Hunter J.L., (2003). Modification of pectin by pectinmethylesterase and the role in stability of juice beverages. *Food Hydrocolloids*, **17** (6) : 809–814.
- Yamaguchi F., Shimizu N. & Hatanaka C., (1994). Preparation and physiological effect of low-molecular-weight pectin. *Biosci Biotech. Biochem.*, **58** (4) : 679-682.
- Yamaguchi F., Kojima H., Muramoto M., Ota Y. & Hatanaka C., (1996). Effects of Hexametaphosphate on Soybean Pectic Polysaccharide Extraction. *Biosci. Biotech. Biochem.*, **60** (12) : 2028-2031.
- Yapo B., (2007). Étude de la variabilité structurale des pectines. *Thèse doctorat de École Doctorale Chimie - Biologie Université de Nantes*.
- Yapo B.M., Robert C., Etienne I., Wathelet B. & Paquot M., (2007). Effect of extraction conditions on the yield, purity and surface properties of sugar beet pulp pectin extracts *Food Chemistry*, **100** (4) : 1356-1364.
- Yapo B.M., Wathelet B. & Paquot M., (2007). Comparison of alcohol precipitation and membrane filtration effects on sugar beet pulp pectin chemical features and surface properties. *Food Hydrocolloids*, **21** : 245–255.
- Yeoh S., Shi J. & Langrish T.A.G., (2008). Comparisons between different techniques for water-based extraction of pectin from orange peels. *Desalination*, **218** (1-3) : 229-237.
- Yokoi H., Obita T., Hirose J., Hayashi S. & Takasaki Y., (2002). Flocculation properties of pectin in various suspensions. *Bioresource Technology*, **84** (3) : 287–290.
- Zhongdong L., Guohua W., Yunchang G. & Kennedy J.F., (2005). Image study of pectin extraction from orange skin assisted by microwave. *Carbohydrate Polymers*, **64** (4) : 548-552.

# Annexe

## 1. Dosages des oses par la méthode de Dubois (Fournier, 2001)

Cette méthode est beaucoup plus sensible que celles à l'anthrone ou l'orcinol.

### Réactifs:

Acide sulfurique concentré.

Phénol: 5g pour 100 ml H<sub>2</sub>O

Gamme des oses 0.01-0.200 mg /ml

Dans des tubes à essai:

- 0.5 ml d'une solution d'ose.

- 0.5 ml d'une solution de phénol à 5%.

- 3 ml d'acide sulfurique concentré à verser sur les 2 solutions afin de dégager une chaleur intense (110°C). Pour plus de reproductibilité néanmoins on peut maintenir 5 min à 100°C.

*(Laisser refroidir 15 min à l'obscurité (toujours le même temps entre les séries) et à température ambiante).*

Lire la DO à 485 nm dans des microcuvettes plastiques et tracer la DO = f(C).

La gamme étalon est préparée par le galactose (solution mère 1mg/ml)

|  |    |       |       |       |
|--|----|-------|-------|-------|
| <i>[C] en mg/ml</i>                        | 0  | 0,05  | 0,1   | 0,15  |
| <i>Volume de H<sub>2</sub>O (ml)</i>       | 10 | 9,5   | 9     | 8,5   |
| <i>Volume de la solution mère (1mg/ml)</i> | 0  | 0,5   | 1     | 1,5   |
| <i>D.O (485nm)</i>                         | 0  | 0,357 | 0,589 | 0,836 |
|  | 0  | 0,336 | 0,605 | 0,909 |
|  | 0  | 0,366 | 0,628 | 0,949 |
| <i>0,1mg de galactose → 0,6 D.O</i>        |    |       |       |       |

## 2. Dosages des acides uroniques par la méthode de Blumenkrantz et al. (1973).

Le principe comme pour les réactions colorées des oses neutres repose sur la condensation de dérivés du furfural formés par chauffage en milieu acide avec le réactif MHDP.

- Réactif MHDP : Meta-hydroxydiphényle (3mg dans 2ml (ou 0.15 %) NaOH 0.125 N ou 0.5%). Cette solution est stable à 4°C pendant 1 mois.

- Acide sulfurique concentré.

Gamme d'acide uronique: 0.01- 0.1 mg / ml

**Mode opératoire :** Dans des tubes à essai:

- 0.5 ml d'une solution d'ose

- 3.0 ml d'acide sulfurique concentré,

les tubes étant placés dans un bain de glace.

Le mélange est agité au Vortex.

Porter à 100°C 15 min

Laisser refroidir 5 min (dans la glace)

Ajouter 50 microlitre MHDP

Le mélange est agité au Vortex.

Laisser refroidir 5 min (dans la glace)

Lire la DO à 520 nm dans des microcuvettes plastiques

Au préalable préparer dans des tubes à essai une gamme d'ose avec l'acide galacturonique

### **Préparation de la gamme étalon :**

La gamme étalon se prépare par l'acide galacturonique (solution mère 1mg /ml)

|   |    |       |       |       |
|---|----|-------|-------|-------|
| <i>[C] en mg/ml</i>   | 0  | 0,05  | 0,1   | 0,15  |
| <i>Volume de H2O (ml)</i>   | 10 | 9,5   | 9     | 8,5   |
| <i>Volume de la solution mère (1mg /ml)</i>                               | 0  | 0,5   | 1     | 1,5   |
| <i>D.O (520nm)</i>  | 0  | 0,520 | 1,051 | 1,653 |
|   | 0  | 0,572 | 1,235 | 1,591 |
|   | 0  | 0,550 | 1,081 | 1,551 |
| <i>D.O (485nm) réponse de l'acide galacturonique au phénol sulfurique</i> | 0  | 0,115 | 0,208 | 0,378 |
|   | 0  | 0,088 | 0,233 | 0,352 |
|   | 0  | 0,110 | 0,234 | 0,328 |

0,1mg d'AGA → 1,1 DO  
Réponse au phénol sulfurique : 0,1mg d'AGA → 0,3 DO

### **3. Détermination de degré de méthylation estérification (DM)**

#### ***Dosage du méthanol par la méthode colorimétrique de Klavons et Bennets (1986).***

Principe: la libération de méthanol est mesurée après oxydation en formaldéhyde et réaction avec le 2-4 Pentanedione (acétyl acetone): ceci donne une coloration jaune qui absorbe à 412 nm.

#### **Préparation des tampons et de l'alcool oxydase**

-PK : Tampon phosphate de potassium 100mM pH 7.5 :

mélange de 94.7% de  $K_2HPO_4$  et 5.3% de  $KH_2PO_4$

MM du phosphate de potassium  $K_2HP_4$ : 174 g/mole

MM du biphosphate de potassium  $KH_2PO_4$  : 139 g/mole

Préparer 100 ml à 100 mM : soit 10 x 0.947 mmoles; peser  $9.47 \times 0.174 = 1,6$  g de  $K_2HP_4$  et

10 x 0.053 mmoles ; peser  $0.53 \times 0.139 = 0.078$  g de  $KH_2P_4$

#### -préparation des solutions de méthanol

faire une dilution au 1/10 000 : en passant par une dilution intermédiaire 1/100 (100 µl dans 10 ml  $H_2O$ ) puis diluer la solution au 1/100 encore au 1/100 (100 µl dans 10 ml Tp PK).

-préparation de la solution B: 0.02 M de 2,4 pentanedione + 2M acétate d'ammonium et 0.05M acide acétique doit se faire le jour du dosage.

2,4 pentanedione (acetylacetone: C<sub>5</sub>H<sub>8</sub>O<sub>2</sub>) les 2 cétones sont en position C2 et C4.

densité : 0.97 g/ml MM: 100.12 g /mole (diff du pentanediol MM 104 alcools non reactifs)

Préparer une solution de 10 ml à 0.02M de pentanedione (ou plus en fonction des besoins): soit 0.2 mmole.

soit  $100 \text{ mg/mmol} \times 0.2 \text{ mmol} = 20 \text{ mg}$  soit  $1000\mu\text{l} \times 20 / 970 = 20.6 \mu\text{l}$ .

Préparation de la solution 2M d'acétate d'ammonium + 0.05 M acide acétique

MM de l'acétate d'ammonium 77.08 g/mole

Préparer 100 ml d'acétate d'ammonium à 2M: contient 0.2 moles qui pèsent 15.416g à diluer dans l'acide acétique 0.05 M.

**Etalonnage du dosage avec du methanol MM 32 d: 0,8**

|  |     |                                |     |        |
|--|-----|--------------------------------|-----|--------|
| Methanol MM 32 densité 0,8 donc 1ml pèse 0,8g                        |     |                                |     |        |
| Diluer la solution de méthanol à 1/10000 à 0,08 mg/ml soit 0.08µg/µl |     |                                |     |        |
| µg methanol  | 2   | 4.8                            | 10  | 25 µg  |
| µl   | 25  | 60                             | 125 | 312 µl |
| Tampon PK 100 mM pH 7.5  | 575 | 540                            | 475 | 288 µl |
| Sol A : alcool oxydase 1U/ml :                                       |     | 0.5ml 15 min à 25°C            |     |        |
| Sol B : Pentanedione   |     | Puis ajouter 1ml B 15 min 60°C |     |        |
| <i>10 µg de Méthanol → 1 DO</i>                                      |     |                                |     |        |

LECTURE 412 nm (Jaune)

Solution A: l'alcool oxydase est conditionnée 250 U dans 200 µl. Préparer 50 ml (dilution 250 soit 5 U/ml) puis aliquoter en tubes; stocker au congélateur à -20°C.

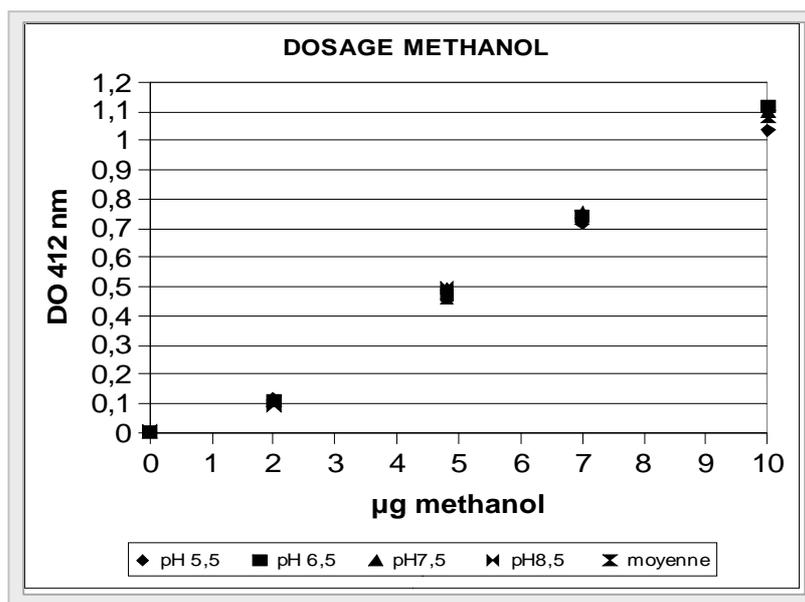
Le jour du dosage diluer l'enzyme à 1U par ml.

Étiquette:

45 mg prot /ml

30 U /mg soit  $30 \times 45 \times 0.2 = 270 \text{ U}$  pour 200 µl

La réaction est linéaire jusqu'à 10 µg /ml de methanol c'est à dire 0,3µmole par ml (10/32):



### Application à l'estimation du degré de méthylestérification.

Le méthanol est libéré par saponification (de 4h à 1 nuit à 4°C) de la pectine (ou des parois) avec un minimum de NaOH (en effet, il faudra ensuite re-acidifier pour avoir le bon pH dans le tampon de l'alcool oxydase).

Exemple: pectine de citron de DME 60%

Calculs pour MM moyen de GalU = 200 g/mole et en considérant que 100 g = 100 g de pectines ce qui n'est pas le cas! Donc après avoir dosé le méthanol il faudra mesurer la quantité d'acide galacturonique présent dans le même volume.

Le tableau suivant illustre les différentes possibilités de concentration de pectines et ordres de grandeur de volumes de soude à ajouter. En jaune les volumes de pectines saponifiées à diluer dans le tampon phosphate de potassium pour y doser le méthanol selon le protocole de Klavons et Bennets décrit ci-dessus.

| Conc mg/ml | AU µmol/ml | Aumeth | µg/ml MeOH | V NaOH µl 0.123M | µmol NaOH | NaOH rés µmol | V HCl 0,1M | µl essai |
|------------|------------|--------|------------|------------------|-----------|---------------|------------|----------|
| 2          | 10         | 6      | 192        | 100              | 12,3      | 6,3           | 60         | 50       |
| 1          | 5          | 3      | 86         | 50               | 6,1       | 3,1           | 30         | 100      |
| 0,4        | 2          | 1,2    | 38         | 20               | 2,4       | 1,2           | 10         | 150-250  |
| 0,2        | 1          | 0,6    | 19         | 10               | 1,2       | 0,6           | 5          | 250-500  |

Peser environ 1 à 2 mg

Ajouter 1 à 2 ml d'une solution de soude 0,01 M.

#### 4. Méthanolyse et silylation des polysaccharides : analyse par CPG

**But :** Rendre volatiles les monosaccharides

**Réactifs:**

-MeOH/HCl

\*Sigma-Aldrich du methanolic-HCl 3M (ref 3.3355 20 x 1mL; environ 325 Frs en 2000) (supelco ref 3-3051)

- réactif de silylation (sensible à l'eau ; précipite en présence de methanol/HCl)

\*ou HMDS +TMCS + pyridine; réactif déjà prêt dans la pyridine chez Sigma Aldrich (ref 3.3038 20 x 1 mL environ 450 frcs en 2000):

**-Méthanol anhydre pour les lavages (flacon 500 ml à stocker au sec)**

**-Méthanol en ampoule pour les dilutions du méthanol/HCl 3M**

- Cyclohexane (chez Sigma ref 28935 environ 80 frcs en 1999)

tous les produits sont toxiques : travailler sous la hotte avec gants et lunettes

**Equipements :**

- Tubes en pyrex 10ml + bouchons vis à joints Téflon- Propipettes et embouts pour des volumes de 100 à 500 µl.

- Étuve 80°C.

- Évaporateur à aiguilles + air comprimé ou azote.

- Tubes 1ml plus joint Téflon pour l'injecteur automatique de GC.

**Protocole:**

- préparer deux solutions mères standards : 2 mM Inositol ou mannitol

- Préparer un échantillon contenant 1 mg de polysaccharide + 100 µl de standard soit (0.2 µmole : \*180 = 36µg) dans un tube à hydrolyse à joint téflon.

- Hydrolyser par 1ml TFA 2M pour 1mg de PS : 2h à 110°C. évaporer sous azote ou air comprimé et sécher à 80°C.

- (TFA: MM 114 d: 1,535 g/ml soit 13,4 M)

- L'échantillon doit avoir été caractérisé par le MHDP et le phénol sulfurique

- (remarque : faire 1 réplicat avec la même quantité mais avec 2 concentrations différentes en polysaccharides (1-1/5 par ex)

- Ajouter 500 microl du MeOH/HCl 1N fermer hermétiquement le flacon et placer 16-24 h à 80°C (en cas d'urgence MeOH/HCl 3M 2H à 80°C).

- Après refroidissement, évaporer sous air comprimé (sous azote c'est mieux mais c'est plus cher) le méthanol.

- reprendre 2 fois avec 500 microlitre méthanol anhydre et évaporer afin d'éliminer tout résidu d'acide

- Ajouter 200 µl de HMDS + TMCS + pyridine
- Laisser une nuit au réfrigérateur ou **20 min à 80° C.**
- Évaporer le réactif et la pyridine (ne pas dépasser 40°C)

**n** (à cette étape on ne peut pas conserver au congélateur)

diluer avec 1 ml de cyclohexane ; agiter ; laisser reposer ; transvaser avec un embout protecteur dans le flacon d'injection.

**n** (à cette étape on peut conserver au réfrigérateur).

le réactif est prêt à l'injection

Dans un système d'injection automatique il faut transvaser la solution dans une minifiole (minimum 500 µl) en utilisant si possible un filtre sur l'embout de la pipette au moment de l'aspiration. Retirer cet embout au moment du transfert dans la fiole d'injection. En l'absence de ce filtre il faut centrifuger le premier tube ou laisser décanter la nuit pour ne pas transférer les sels et résidus de dérivation.

## **5. Dosage des protéines par la méthode de Kjeldhal (l'azote total)**

### **Principe**

L'azote total est dosé par volumétrie après minéralisation selon la méthode de Kjeldhal. Ce dosage est basé sur la transformation de l'azote organique en sulfate d'ammonium sous l'action de l'acide sulfurique en présence d'un catalyseur, et dosé après déplacement en milieu alcalin et distillation sous forme d'ammonium (Lecoq, 1965).

#### **Réactif :**

- Acide sulfurique (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) pur ;
- Catalyseur (10 g sulfate de cuivre + 100 g sulfate de potassium) ;
- Acide borique à 4% ;
- Indicateur coloré (mélange de bleu méthylène et rouge méthylène) ;
- La soude (NaOH) 6 N ;
- Acide sulfurique à 0,05 N pour la titration.

#### **Mode opératoire :**

Avant de procéder au dosage de l'azote total l'échantillon doit subir une minéralisation

#### **1- la minéralisation :**

1. Introduire dans un matras de minéralisation, 0,2 g d'échantillon ;
2. Ajouter une pincé de catalyseur (sulfate de cuivre et sulfate de potassium) ;

3. Ajouter 20 à 25 ml d'acide sulfurique pur ;
4. Utiliser un chauffage progressif, d'abord une attaque au froid pendant 15 mn jusqu'à apparition de vapeur blanche d'anhydride sulfurique, puis le chauffage rendu plus énergique (attaque à chaud) pendant 4 à 5 heures ;
5. Après décoloration complète, la solution est refroidie et complétée à 100 ml avec l'eau distillée ;
6. Filtrer dans des fioles à l'aide du papier filtre.

## 2- la distillation :

1. Prélever 20 ml de la solution minéralisée ;
2. Ajoutant de la soude ensuite distiller ;
3. Le dégagement d'ammoniac est récupéré dans une solution d'acide borique contenant l'indicateur coloré (bleu méthylène et rouge méthylène) ;
4. Doser l'excès de l'ammoniac par l'acide sulfurique à 0,05 N.

### Expression de résultats :

La teneur en azote total est déterminée par la formule suivante :

$$N\% = V/V' \times (n-n') \times 0,05 \times 1,4 / P$$

Soit :

**V** : solution minéralisée et complétée 10 ml ;

**V'** : volume de la soude ajouter ;

**N** : le volume d'acide sulfurique lu après titration ;

**N'** : le volume d'acide sulfurique pour la titration de témoin 0,2 ml ;

**0,05** : la normalité d'acide sulfurique ;

**P** : poids de la prise d'échantillon.

La teneur en protéine est égale à :

$$\text{Protéines brutes \%} = N\% \times 6,25 \quad (\text{Forster et al., 2002}).$$

$$\text{Protéines brutes \%} = N\% \times 6,28 \quad (\text{Jardine et al., 2002}).$$

Soit :

**6,25** et **6,28** : taux moyen d'azote des protéines (16 g d'N/100 g de protéines), c'est le facteur de conversion.

**N%** : le pourcentage de l'azote total.

## 6. Détermination de pouvoir gélifiant

### Principe :

Le pouvoir gélifiant d'une pectine est défini comme étant le taux de matières sèches solubles totales rapporté à la pectine, dans une gelée de rigidité normalisée préparée selon un mode opératoire normalisé et renfermant un pourcentage de matières sèches solubles totales compris entre 70 et 71 %.

La techniques décrites est celle de l'association internationale des fabricants de confiserie.

### Appareillage :

Redgelimeter, pH-mètre, incubateur à 30 °C et réfractomètre.

### Réactifs :

Sucre raffiné de qualité supérieure, sirop de sucre pur à 66 – 67 %, acide chlorhydrique N/10 ou N, Soude N/10 et une solution tampon de pH 2,82.

### Mode opératoire :

#### *Préparation de la solution tampon :*

Dissoudre 100 g d'acide citrique mono-hydraté pur dans 600 ml d'eau distillée et ajouter 220 ml de carbonate de potassium 1N. porter à l'ébullition pour éliminer le gaz carbonique, refroidir et compléter à 1 litre. Le pH de cette solution, doit être de 2,82.

#### *Préparation d'une solution de pectine :*

Dans 75 g de sirop de sucre froid à 66-67 %, ajouter 15 g de pectine de grade 10, ou une quantité de pectine de n'importe quel grade, et bien homogénéisée. Ajouter 200 ml d'eau distillée chaude, refroidir et compléter le poids à 300 g. laisser reposer au moins 1 heure.

#### *Préparation de la gelée :*

Peser dans un bécher 92,5 g de la solution de pectine. Ajouter 200 à 300 ml d'eau distillée, en mélangeant bien. Déterminer le pH, si le pH n'est pas compris entre 3,05 et 3,1 ajouter en agitant la quantité nécessaire d'acide chlorhydrique N/10 ou N ou la soude N/10 de façon à le rajuster. Transvaser le contenu du bécher dans une marmite, compléter le mélange avec l'eau distillée jusqu'à 600 g de gelée nécessaire. Ajouter 25 ml de la solution tampon et 117 g de sucre. Chauffer le mélange avec agitation. Bouillir jusqu'à un poids de mélange de 600 g pendant 10 min. si le pourcentage d'extrait soluble n'est pas compris entre 70-71 % la quantité de sucre employé dans les essais ultérieurs sera corrigée en conséquence.

#### *Refroidissement et essai de la gelée :*

Abandonner les récipients contenant la gelée, à l'air et à la température ambiante (20 °C) pendant 2 heures. Les placer ensuite pendant 22 heures dans un incubateur à + 30 °C. après avoir sorti la gelée de l'incubateur enlever le papier paraffiné et déterminer immédiatement la rigidité de la gelée, sans refroidissement préalable.

Après l'essai déterminer la teneur en extrait sec soluble au moyen d'un réfractomètre (elle doit être de 70,5 % ± 0,5 %), le pH d'une solution à 50 % (pds/vol) de la gelée (qui doit être 3,1 ± 0,05).

**Calcul des résultats :**

Si le chiffre de rigidité de la gelée obtenue est de 24,1 %, on calculera le pouvoir gélifiant de la pectine à l'aide de la formule suivante :

$$\text{Pouvoir gélifiant} = \frac{77}{\text{Pourcentage de pectine dans l'échantillon de gelée}}$$

Si le pouvoir gélifiant obtenu ne correspond pas au chiffre indiqué ci-dessus, mais se trouve entre 28,6 et 21,5 %, on calculera le pouvoir gélifiant approximatif en se basant sur une courbe d'étalonnage obtenue à partir de gelées préparées avec des pourcentages variables d'une pectine de référence. Préparer une solution de pectine de référence de grade 5 comme indiqué au début de mode opératoire, et à partir de cette solution, préparer un certain nombre de gelées, les prises d'essais étant de l'ordre 80 à 115 g et procéder à un essai comme précédemment. Tracer une courbe d'affaissement obtenus, en les rapportant au pourcentage de pectine de grade 100 (ou son équivalent) contenue dans les gelées. Pour calculer le pouvoir gélifiant de l'échantillon soumis à l'essai, faire la lecture selon la méthode déjà décrite, et en se rapportent à la courbe, trouver les pourcentages de la pectine de grade 100 correspondant à la lecture. Supposons qu'elle soit de x % et que la gelée préparée pour l'essai contienne p % de l'échantillon. Le pouvoir gélifiant approximatif de ce dernier sera alors donné par la formule :

$$\text{Pouvoir gélifiant approximatif} = \frac{100 \cdot x}{p}$$

### Summary:

Within the framework of the efforts of agrofood industries diversification, we envisage to valorize the residues (citrus peel) and other fruits of commercial low value (dates) by extracting the pectin which it contain.

Pectin polysaccharides are a complex family of polysaccharides, which are characterized by their degree of esterification (DE) and acetylation (DAc). The DE and DAc vary with the age and the location within the plant tissue, with the method of extraction, and the neutral sugar content. Pectins are classified as high methoxyl (HM) or low methoxyl (LM) pectins. Commercial HM pectin has a typical DE of 55-80%;

The pectin yields extracted the orange peels by aluminium chloride and aluminium sulphate are respectively **25.75 35.71 %**;

The pectin yields extracted from dates with aluminium sulphate and aluminium chloride are respectively **3.61 3.72 %**.

we notice that the citrus fruits are very rich in pectins than the dates.

HM pectins are generally gelled in the presence of sugar and low pH.

Nevertheless, it remains much to inform about these complex polysaccharides of the plants to obtain pectins with specific characteristics (high MW, high DM, low DAc, etc.) and to increase their potential of uses.

**Key words :** Pectin extraction, citrus peel, dates, DE, DAc, SN, LM and HM pectin.

### Résumé :

Dans le cadre des efforts de diversification en industries agroalimentaires, nous envisageons de valoriser les résidus (écorces d'oranges) et d'autres fruits de faible valeur marchande (dattes) en extrayant la pectine qu'elle contiennent. Les pectines sont une famille complexe de polysaccharides, qui sont caractérisés par leur degré d'estérification (DE) et d'acétylation (DAc). Le DE et DAc changent avec l'âge, la location dans le tissu végétal, avec la méthode d'extraction et la teneur en sucre neutre. Les pectines sont classées en deux types : hautement méthylées (HM) ou faiblement méthylées (LM). une pectine (HM) commerciale a un DE de 55-80 % ;

Les rendements en pectine extraites des écorces d'orange par le chlorure d'aluminium et le sulfate d'aluminium sont respectivement **25.75, 35.71 %** ;

Les rendements en pectine extraites de dattes avec le chlorure d'aluminium et sulfate d'aluminium sont respectivement **3.61, 3.72 %**.

nous remarquons que les agrumes sont très riches en pectines que les dattes.

Les pectines hautement méthylées (HM) sont généralement gélifiées en présence du sucre à bas pH.

Néanmoins, il reste beaucoup à renseigner sur ces polysaccharides complexes des plantes pour obtenir des pectines avec des caractéristiques spécifiques (Mw élevé, haut DM, bas DAc, etc.) et d'augmenter ainsi leurs potentiel d'utilisations.

**Mots clés :** Extraction des pectines, écorces d'oranges, dattes, DE, DAc, SN, pectine LM et HM.

### ملخص:

في إطار الجهود المبذولة لتنويع الصناعات الزراعية الغذائية يقترح إعادة تقويم بقايا بعض الصناعات التحويلية (قشور الحمضيات) أو الثمار ذات قيمة تجارية بخسة (تمور)، وذلك باستخلاص البكتين منها.

تنتمي البكتين إلى عائلة السكريات المتعددة المعقدة، من خصائص هذه السكريات أنها تتميز بخاصيتين أساسيتين: درجة الأسترة المثلية ودرجة الأسترة الأستيلية؛ هاتان الخاصيتان تغيران حسب العمر، الموقع في النسيج النباتي، طريقة الاستخلاص ونسبة السكريات الأحادية.

تصنف البكتينات إلى نوعين: بكتين تحتوي على نسبة عالية من جذور المثيل وأخرى على نسبة ضئيلة من جذور المثيل، البكتين التجارية تحتوي على نسبة جذور المثيل بين 55-80 %:

-مردود البكتينات التي استخلصت من قشور الحمضيات بواسطة كلورور الألمنيوم و سولفات الألمنيوم هو: 25.75, 35.71 % على التوالي.

مردود البكتينات التي استخلصت من التمور بواسطة سولفات الألمنيوم و كلورور الألمنيوم هو: 3.61, 3.72 % على التوالي.

من خلال هذه النسب نستنتج ان قشور الحمضيات جد غنية بمادة البكتين مقارنة بالتمور.

مع ذلك يبقى كثير من الأمور التي يجب البحث عليها فيما يخص هذه السكريات النباتية المتعددة المعقدة للحصول على بكتين بخصائص معينة (نسبة مرتفعة من جذور المثيل، نسبة منخفضة في جذور الأستيل و كتلة جزئية عالية... الخ) و لكي نرفع من قيمتها الاستعمالية.

**كلمات مفتاحية:** استخلاص البكتين، قشور الحمضيات، تمور، درجة الأسترة المثلية، درجة الأسترة الأستيلية، السكريات الأحادية، البكتين ذات نسبة عالية من جذور المثيل و ذات نسبة منخفضة من جذور المثيل.