

RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE

MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE



Université El Hadj Lakhdar
- Batna -
Faculté des sciences
Département d'agronomie



Mémoire

Pour l'obtention du diplôme de magistère en sciences
agronomiques

Option: Technologie alimentaire

Intitulé : Qualité et sécurité alimentaire

Extraction et appréciation des pectines à partir d'écorces d'oranges, de pulpes d'abricots et de pommes

Présenter par :

BAISSISSE SALIMA

Soutenue publiquement le: 10/01/2009

Devant le jury de soutenance :

Président	: M^{me}. ALLOUI-LOUMBARKIA O.	Prof	UNIVERSITE DE BATNA
Rapporteur	: M^r. GHENNAME H.	Doc.	UNIVERSITE DE BATNA
Examineurs	: M^r. BELATTAR N.	Prof.	UNIVERSITE DE Sétif
	M^r. FAHLOUL D.	M. C.	UNIVERSITE DE BATNA

Année universitaire: 2008 / 2009

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

قال الله تعالى :

"وَعَلَّمَ آدَمَ الْأَسْمَاءَ كُلَّهَا ثُمَّ عَرَضَهُمْ عَلَى الْمَلَائِكَةِ فَقَالَ
أَنْبِئُونِي بِأَسْمَاءِ هَؤُلَاءِ إِنْ كُنْتُمْ صَادِقِينَ قَالُوا سُبْحَانَكَ لَا
عِلْمَ لَنَا إِلَّا مَا عَلَّمْتَنَا إِنَّكَ أَنْتَ الْعَلِيمُ الْحَكِيمُ"

سورة البقرة

DEDICACES

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 chers frères

A mes chères sœurs

A tous mes proches

A toutes mes amies

*A l'ensemble de tous les étudiants et étudiantes de
ma promotion*

Remerciements

Mes sincères remerciements ainsi que ma gratitude la plus dévouée à mes parents que le Bon Dieu me les garde aussi longtemps -pour leur dévouement et surtout pour leur amour et le sacrifice qu'ils m'ont accordés. A mes frères et sœurs pour leur soutien.

Je tiens à adresser mes sincères remerciements à mon directeur de thèse Monsieur *Mr GHENNAM E.H.* qui m'a témoigné son soutien et m'a prodigué une orientation judicieuse et rigoureuse durant toutes les phases de ce mémoire. Qu'il trouve ici l'expression de ma sincère gratitude.

J'adresse mes sincères remerciements à *Madame ALLOUI O., Professeur* à l'Université de Batna qui m'a fait l'honneur de présider mon jury.

Je tiens également à adresser mes vifs remerciements à *Monsieur BELATTAR N., Professeur* département de Biologie à l'Université de Sétif, *et Mr FAHLOUL D., Maître de Conférences* au département d'Agronomie à l'Université de Batna, d'avoir accepté d'examiner ce mémoire.

J'exprime mes vifs remerciements à *Madame MERAH N* pour sa précieuse aide et ses conseils, tout au long de mon travail.

Mme. MORVIN C. et toute l'équipe de recherche SCUEOR de l'Université de Rouen, pour sa précieuse aide.

Je remercie tout le personnel des Laboratoires du département d'Agronomie et celui de l'unité l'ENAJUC de N'gaous pour leur accueil et aide pendant mon travail.

Enfin, je ne saurais oublier de remercier tous ceux qui m'ont été d'un soutien qu'il soit moral ou matériel.

Figures	Listes des figures	pages
Figure 1 :	Représentation d'une portion d'homogalacturonane de type I avec des substituants arabiques, galactanes et arabinogalactane selon Morra et al., (2004); Vincken et al., (2003); Ridley et al., (2002).....	5
Figure 2:	Structure d'un complexe de rhamnoglucuronane de type (II) selon Ridley et al., (2002).....	5
Figure 3:	Structure de deux oligogalacturonides partiellement méthylés et acétylés selon Ralets et al., (2005).....	7
Figure 4 :	Structure simplifiée de différents éléments de pectines (Willats et al., 2001 ; Vincken, 2003; Morra et al., 2004).....	7
Figure 5:	Architecture de paroi cellulaire et localisation des pectines, selon Mc Cann et Roberts (1991) cités par Goycoolea et Cardenas (2003).....	9
Figure 6:	Composition pariétale de peuplier végétal (a) la paroi primaire, (b) la paroi secondaire (Stolle et Dongowski, 2007).....	11
Figure 7:	Schéma de synthèse et distribution des polysaccharides de matrice dans la paroi cellulaire (Taiz et Zeiger, 2002).....	13
Figure 8:	Dépolymérisation partielle de la chaîne pectique par β -élimination (Stolle-Smits, 1998).....	13
Figure 9:	Dégradation enzymatique des pectines (Ralet et al., 2001).....	15
Figure 10:	Modèle de gélification des pectines HM (Herbstreith et Fox, 1998 a).....	25
Figure 11 :	Variation du gel en fonction du pH et des températures (May, 2000).....	25
Figure 12:	Représentation schématique de la gélification des pectines LM selon le modèle de la boîte à œuf (Rizzotti, 1994; Sharma et al., 2006; Ralet et al., 2002).....	27
Figure 13:	Etapes de formation des gels en présence de Ca^{++} (Herbstreith et Fox, 1998 a).....	27
Figure 15 :	Représentation schématique d'un procédé industriel de production de pectine (selon Ralet et al., 2001).....	38
Figure 17:	Etapes et conditions d'extraction expérimentale des pectines.....	50
Figure 18 :	Rendements en pectines précipitées par le chlorure d'aluminium, à partir de trois fruits : pommes, abricots et oranges (exprimés en % de matière sèche).....	64
Figure 19 :	Rendements en pectines précipitées par le sulfate d'aluminium à partir de trois fruits : pommes, abricots et oranges (exprimé en % de matière	

	sèche).....	64
Figure 20 :	Teneurs en Humidité, en cendres et en protéines des pectines d'oranges précipitées par le chlorure et par le sulfate d'Aluminium.....	73
Figure 21 :	Teneurs en Humidité, en cendres et en protéines des pectines d'abricots précipitées par le chlorure et par le sulfate d'Aluminium.....	74
Figure 22 :	Teneurs en Humidité, en cendres et en protéines des pectines de pommes précipitées par le chlorure et par le sulfate d'Aluminium.....	74
Figure 23:	Teneurs en AGA et en ON des pectines d'écorces d'oranges précipitées par le chlorure et le sulfate d'aluminium.....	80
Figure 24 :	Teneurs en AGA et en ON des pectines de marcs de pommes précipitées par le chlorure et le sulfate d'aluminium.....	80
Figure 25:	Teneurs en AGA et en ON des pectines de pulpes d'abricots précipitées par le chlorure et le sulfate d'aluminium.....	81
Figure 26 :	Composition en oses neutres des pectines d'écorces d'oranges précipitées par le chlorure et par le sulfate d'aluminium.....	85
Figure 27:	Composition en oses neutres des pectines de marcs de pommes précipitées par le chlorure et par le sulfate d'aluminium.....	85
Figure 28 :	Composition en oses neutres des pectines de pulpes d'abricots précipitées par le chlorure et par le sulfate d'aluminium.....	86
Figure 29:	Eléments structuraux suggérés des pectines étudiées.....	92
Figure 30 :	Degrés de méthylation des pectines de pommes, d'abricots et d'oranges précipitées par le sulfate d'aluminium.....	95
Figure 31:	Degrés de méthylation des pectines de pommes, d'abricots et d'oranges précipitées par le chlorure d'aluminium.....	95
Figure 32:	Pouvoirs gélifiants des pectines d'abricots, de pommes et d'oranges précipitées par le chlorure d'aluminium.....	101
Figure 33 :	Pouvoirs gélifiants des pectines d'abricots, de pommes et d'oranges précipitées par le sulfate d'aluminium.....	101
Figure 34 :	Pouvoirs émulsifiants des pectines d'abricots, de pommes et d'oranges précipitées par le chlorure d'aluminium.....	110
Figure 35 :	Pouvoirs émulsifiants des pectines d'abricots, de pommes et d'oranges précipitées par le sulfate d'aluminium.....	110

Figures des annexes

Figure 14 :	Différents cas de stabilité de caséine de lait par les pectines (Willats et al., 2006)	
Figure 16 :	Diagramme de fabrication de pectines par les enzymes (Sakiat et Okushimia ,1980)	

Listes des tableaux

Tableaux	Pages
Tableau 1 : Teneurs en acides galacturonique et en oses neutres des pectines de différentes origines (synthèse des travaux publiés).....	3
Tableau 2 : Teneurs en pectines de certains fruits et légumes.....	8
Tableau 3 : Masse moléculaire (Mw) de quelques pectines d'origines diverses.....	18
Tableau 5 : Teneurs en DM et DAC de certaines pectines.....	23
Tableau 8 : Conditions d'extractions par voie chimique et rendements en pectines extraites de différents fruits.....	39
Tableau 11 : Réglementation sur les pectines selon Herbstreith et Fox, (2006).....	47
Tableau 12: Rendements en pectines de différentes matières premières étudiées.....	63
Tableau 13 : Teneurs en humidités, en cendres et en protéines des pectines d'oranges précipitées par le chlorure et le sulfate d'aluminium.....	72
Tableau 14 : Teneurs en humidités, en cendres et en protéines des pectines de pommes précipitées par le chlorure et le sulfate d'aluminium.....	72
Tableau 15 : Teneurs en humidités, en cendres et en protéines des pectines d'abricots précipitées par le chlorure et le sulfate d'aluminium.....	73
Tableau 16 : Teneurs en acide galacturonique, sucres totaux et oses neutres des pectines extraites d'écorces d'oranges (résultats en % du total des sucres totaux).....	79
Tableau 17 : Teneurs en acide galacturonique, sucres totaux et oses neutres des pectines extraites de marcs de pommes (résultats en % du total des sucres totaux).....	79
Tableau 18 : Teneurs en acide galacturonique, sucres totaux et oses neutres des pectines extraites des pulpes d'abricots (résultats en % du total des sucres totaux).....	79
Tableau 19: Composition en oses neutres des pectines extraites d'écorces d'oranges précipitées par le chlorure et le sulfate d'aluminium	84
Tableau 20: Composition en oses neutres des pectines extraites des marcs de pommes précipitées par le chlorure et le sulfate d'aluminium.....	84
Tableau 21 : Composition en oses neutres des pectines extraites de pulpes d'abricots précipitées par le chlorure et le sulfate d'aluminium.....	84
Tableau 22 : Teneurs en méthanol et degrés de méthylation des pectines extraites à partir des sous produits d'oranges précipitées par le chlorure et par le	

	sulfate d'aluminium.....	94
Tableau 23:	Teneurs en méthanol et degrés de méthylation des pectines extraites à partir des sous produits d'oranges précipitées par le chlorure et par le sulfate d'aluminium.....	94
Tableau 24:	Teneurs en méthanol et degrés de méthylation des pectines extraites à partir des sous produits d'oranges précipitées par le chlorure et par le sulfate d'aluminium.....	94
Tableau 25:	Pouvoirs gélifiants des pectines extraites à partir des résidus d'oranges précipitées par le chlorure et par le sulfate d'aluminium.....	100
Tableau 26:	Pouvoirs gélifiants des pectines extraites à partir des résidus de pommes précipitées par le chlorure et par le sulfate d'aluminium.....	100
Tableau 27 :	Pouvoirs gélifiants des pectines extraites à partir des résidus d'abricots précipitées par le chlorure et par le sulfate d'aluminium.....	100
Tableau 28 :	Activités émulsifiantes de pectines d'oranges précipitées par les sels à base d'aluminium.....	109
Tableau 29:	Activités émulsifiantes de pectines d'abricots précipitées par les sels à base d'aluminium.....	109
Tableau 30 :	Activités émulsifiantes de pectines de pommes précipitées par les sels à base d'aluminium.....	109
Tableau 31 :	Caractéristiques structurales et fonctionnelles des pectines d'oranges précipitées par les sels d'aluminium (chlorure et sulfate).....	122
Tableau 32 :	Caractéristiques structurales et fonctionnelles des pectines de abricots précipitées par les sels d'aluminium (chlorure et sulfate).....	123
Tableau 33 :	Caractéristiques structurales et fonctionnelles des pectines de pommes précipitées par les sels d'aluminium (chlorure et sulfate).....	124

Tableaux des annexes

Tableau 4:	Viscosités intrinsèques de quelques pectines de diverses origines selon Lopes Da Silva et Roa, (2006)
Tableau 6 :	Synthèse des travaux rapportant les caractéristiques des pectines utilisées pour la préparation des émulsions
Tableau 7:	Activité émulsifiante, stabilité d'émulsion et tension interfaciale des solutions pectines huile selon Yapo et al. (2006)

Tableau 9 : Comparaison de caractéristiques des pectines extraites de deux méthodes différentes (enzymatique et chimique) (Ptichkina et al., 2008)

Tableau 10 : Conditions d'extractions des pectines par les nouvelles méthodes

Listes des photos

Photos	Pages
Photo 1 : Précipitation des pectines d'oranges par les solvants à base d'aluminium	53
Photo 2 : Précipitation des pectines d'abricots par les solvants à base d'aluminium	53
Photo 3 : Pectine fraîche d'orange	55
Photo 4 : Pectine fraîche d'abricot	55
Photo 5 : Pectines d'oranges précipitées par le chlorure d'aluminium	66
Photo 6: Pectines d'oranges précipitées par le sulfate d'aluminium	66
Photo 7 : Pectines d'abricots précipitées par le chlorure d'aluminium	66
Photo 8: Pectines d'abricots précipitées par le sulfate d'aluminium	66
Photo 9: Pectines de pommes précipitées par le chlorure d'aluminium	66
Photo 10: Pectines de pommes précipitées par le sulfate d'aluminium	66
Photo 11: Activité émulsifiante des pectines d'oranges précipitées par les solvants à base d'aluminium (chlorure et sulfate)	119
Photo 12: Activité émulsifiante des pectines d'abricots précipitées par les solvants à base d'aluminium (chlorure et sulfate)	119
Photo 13: Activité émulsifiante des pectines de pommes précipitées par les solvants à base d'aluminium (chlorure et sulfate)	120

Table des matières

Listes des figures
Listes des tableaux
Listes des photos
Introduction

page

Première partie : Etude bibliographique

Chapitre 1 : Etude des domaines structuraux des pectines

1- Structure de pectines	1
1-1- Chaîne principale et substituants osidiques	1
1-2 - Substituants non osidiques	4
2- Localisation, biosynthèse et dégradation des pectines	6
2-1- Localisation dans la paroi végétale	6
2-2- Biosynthèses des pectines	10
2-3-Dégradation des pectines.....	12
2-3-1- Dégradation chimique.....	12
2-3-1-1-Reactions de desésterification	12
2-3-1-2- Réactions de dépolymérisation.....	12
2-3-2 - Dégradation enzymatique	14
3-Actiuvité biologique des substances pectiques.....	14

Chapitre 2 : Propriétés hydro colloïdales, chimiques et fonctionnelles des pectines

1-Questions fondamentales sur les connaissances des pectines	16
2-Propriétés hydrodynamiques des pectines	16
2-1-Poids moléculaire des pectines.....	16
2-2- Flexibilité des pectines.....	17
2-3-Viscosité des pectines.....	19
3-Propriétés chimiques des pectines.....	19
3-1- Solubilité des pectines.....	19
3-2-Stabilité des pectines.....	20
3-3-Degrés de substitution non osidiques (DM, DA, DF) et leurs impacts sur les propriétés fonctionnelles.....	21

3-3-1-Degré de méthylation	21
3-3-2-Degré d'acétylation (<i>D</i> Ac).....	22
3-3-3-Degré ferulique (<i>D</i> F).....	22
4-Propriétés fonctionnelles des pectines	24
4-1- Propriétés gélifiantes des pectines	24
4-1-1-Gelification des pectines hautement méthylées (<i>H</i> M).....	24
4-1-2-Gélification des pectines faiblement méthylées (<i>L</i> M)	26
4-2- Propriétés émulsifiantes.....	28
4-3-Propriétés épaississantes des pectines.....	29
4-4- Propriétés associatives des pectines.....	30
4-4-1-Interaction gélatines/pectines	30
4-4-2- Combinaison pectines- protéines du lait.....	30
4-4-3-Combinaison pectines -amidon	31
4-4-4-Combinaison pectine- agar-agar	32
4-4-5-Combinaison pectines –alginate.....	32
4-4-6-Combinaison pectines <i>H</i> M –pectine <i>L</i> M.....	32
4-5-Propriétés thérapeutiques des pectines	33

Chapitre 3 : Industrie, réglementation et qualité hygiénique des pectines

1-Production industrielle.....	35
1-1- Extraction de pectines	36
1-1-1-Matières premières.....	36
1-1-2-Méthodes d'extractions.....	36
1-1-2-1-Extraction chimique	36
1-1-2-2- Nouvelles méthodes d'extractions	42
1-1-2-2-1 – Extraction enzymatique	42
1-1-2-2-2 – Extraction physique.....	43
1-3- Standardisation.....	43
2- Réglementation et qualité hygiénique des pectines.....	45
2-1-Réglementation européenne.....	45
2-2-Réglementation aux Etats-Unis.....	45
2-3-Pectines et santé.....	46

Deuxième Partie : Etude Expérimentale

1-Extraction des pectines.....	48
--------------------------------	----

1-1- Prélèvements et opérations de préparation des échantillons.....	48
1-1-1- Prélèvements des échantillons.....	48
1-1-2- Opérations des préparations	48
1-1-2-1-Blanchiment	48
1-1-2-2-Lavage	48
1-1-2-3-Séchage.....	49
1-2- Extraction des pectines	49
1-2-1-Solubilisation	49
1-2-2- Filtration	51
1-2-3- Purification de l'extrait	51
1-2-4- Précipitation	51
1-2-4-1- Précipitation par le sulfate d'aluminium	51
1-2-4-2- Précipitation par le chlorure d'aluminium.....	52
1-2-5- Purification des pectines	52
1-2-6- Séchage des pectines.....	52
2 -Analyse des pectines extraites.....	54
2-1 –Rendements.....	54
2-2 – Caractéristiques chimiques	56
2-2-1- Teneur en humidité (H %).....	56
2-2-2- Détermination des cendres	56
2-3- Dosage des composés protéiques	57
2-2-4 – Caractérisation des oses	57
2-2-4-1- Dosage des sucres totaux (méthode de Dubois et al., 1956).....	57
2-2-4-2- Dosage des acides uroniques (méthode de Bumenkrantz et al., 1970).....	58
2-2-4-3-Composition osidiques des polymères pectiques par chromatographie phase gaz (CPG)	58
2-2-5- Dosage du méthanol par la méthode colorimétrique de Klavons et Bennets (1955).....	60
2-2-6 -Détermination du degré d'estérification.....	60
2-3-Détermination de quelques propriétés fonctionnelles des pectines.....	61
2-3-1-Détermination du pouvoir gélifiant.....	61
2-3-2 –Etude de l'activité émulsifiante des pectines extraites	61

Troisième partie : Résultats et Discussion

Chapitre 1 : Rendements et structures des pectines extraites

1- Rendements en pectines	63
2- Caractéristiques structurales des pectines obtenues.....	72
2-1-Teneur en humidité (H %).....	72
2-2-Teneur en protéines	75
2-3-Teneur en cendres	76
2-4-Teneur en acide galacturonique anhydre (AGA) et oses neutres (ON).....	78
2-4-1- Teneur en acide galacturonique anhydre (AGA).....	78
2-4-2- Teneur en oses neutres (ON)	84
2-5-Teneur en méthanol et degré d'estérification.....	94

Chapitre 2 : Etudes de quelques propriétés fonctionnelles des pectines extraites

1-Pouvoir gélifiant des pectines extraites	100
2- Activité émulsifiante et stabilité d'émulsions des pectines extraites.....	108
2-1- Activité émulsifiante.....	108
2-2-Stabilité d'émulsions étudiées	113

Conclusion

Références bibliographiques

Annexes

ABREVIATIONS

AE: Activité émulsifiante

AF: Arabinofuranosidase

AFA: Feruloly-esterase

AGA: Acide galacturonique anhydre

Ara: Arabinose

β -Gal: β -galactyosidase

CDTA : Cyclohexane-trans-1, 2-diaminetetra-acétate

DA : Degré d'acétylation

DF: Degré ferulique

DE: Degré d'ésertification

DM: Degré de méthylation

Endo-A:Endo-Arabinase

Exo-PG: Exopolygalacturonase

Exo-PAL: Exo-pectate-lyase

EU : Européen Union

FAO/WHO: Food & Agriculture Organisation/World Health Organisation

Fuc: Fucose

FDA: Food Drug Administration

FCC: Food Chemical Codex

Gal: Galactose

Glu: Glucose

GR-lyase: rhamnogalacturonane- lyase

GAL: galactose

HM: High Méthoxyl

JECFA: Joint Expert Committee on Food Additives

IFT: Institute of Food Technologists.

LM: Low Méthoxyl

LMA: Low Méthoxyl Amide

MAN: mannose

MeO: groupement méthyl

MHDP : Métha Hydroxyl Diphénol

Man: Mannose

ON: Oses neutres

Mw : Poids moléculaire

PG: Endopolygalacturonase

PAL: Endo-pectate-lyase

PME: Pectine methylesterase

PL: Endo-pectine –lyase

PAE: Pectine-acetyl –esterase

RGHydrolase: Rhamnogalacturonane-rhamnohydrolase

RGGalacturonase: Rhamnogalacturonane-galacturohydrolase

RGEA: Rhamnogalacturono-acetyl –esterase

Rha : Rhamnose

SE : Stabilité d'émulsion

ST: Sucres totaux

USP: United States Pharmacopeia

Xyl: Xylose

Introduction

La transformation industrielle des fruits donne lieu à une production importante de déchets ayant une incidence sur l'environnement.

En région méditerranéenne, le secteur de l'industrie de transformation de ces fruits qui ne cesse de se développer permet la récupération d'une quantité importante de sous produits potentiellement utilisables soit comme matières premières en d'autres secteurs de l'industrie agroalimentaire soit en alimentation animale ou en pharmacie.

Un sous produit issu du processus de fabrication sans être l'objet principal de l'activité, peut d'abord être valorisé comme un co-produit avant d'être considéré comme déchet, certains déchets deviennent alors de véritables matières premières.

Parmi les différentes espèces agricoles transformées industriellement, les agrumes et les pommes occupent une place importante. La composition chimique de la pulpe sèche d'agrumes a été étudiée par plusieurs auteurs en région méditerranéenne (Giger et al., 1980 ; Pascual ,1980 ;Lanza 1985 ;Rihani et al., 1986 cités par Kumar et al., 2003), en Amérique (Amnermab,1979 ; Vellaso,1985 cites par Kumar et al., 2003), et en Australie (Barsch,1979 ; Hutton, 1987 ; Lopez ,2003 cités par Kumar et al., 2003). Selon ces auteurs, les déchets issus d'agrumes constituent une matière de choix pour toute une gamme de sous produits :

- Les produits bruts (huile essentielle, huile de pépins).
- Les composés extractibles (pectines, acide citrique, flavonoides)
- Les produits transformés complètement (alcool éthylique, butylène).

La pulpe de pomme, un sous produit très bon marché est employée : comme source de pectine (Hung et al., 1998 cités par May, 2000), en tant qu' aliment de bétail , en tant que fibre dietétique (Manderson et al. 2005), comme source de composés aromatiques, et comme additif alimentaire pour la production des gelées (Schieber et al., 2004).

Alors que les sous produits issus d'abricots, ils n'ont jamais été valorisés pour l'élaboration des substances nobles comme les pectines, à l'exception des noyaux qui sont utilisés à des fins cosmétiques et autres.

A l'échelle mondiale, la transformation des fruits surtout en jus, confitures, gelées, ou autre aliment est souvent associée à la valorisation des sous produits issus de cette transformation. La pectine est un co-produit de la transformation de marcs de pommes,

d'écorces de citrus, qui trouve son usage comme additif alimentaire pour ses propriétés émulsifiantes, stabilisantes et surtout gélifiantes.

L'Algérie compte parmi les importateurs de pectines, la quantité importée atteint 10 tonnes/an (Benchabane,1984); malgré qu'elle dispose des ressources fruitières importantes, offrant des possibilités de transformation très larges, aux industries(publics et privées) intéressées par la fabrication de jus de fruit. Ces industries rejettent annuellement des tonnages énormes de sous produits, qui sur le plan économique, peuvent constituer une source intéressante de produits nobles (pour la récupération des pectines, huiles essentielles ,et composées phénoliques...). La demande en pectines sur le marché mondial est au dessus de 30.000 tonnes annuellement et se développe d'environ 4-5 % / an (Yeoh et al.,2008) .

A l'échelle nationale un certain nombre de travaux se sont focalisés sur les pectines à base d'écorces d'oranges, de citrons et de marcs de pommes.

Actuellement, les recherches sont orientées vers les abricots, les dattes et les figues comme sources potentielles des pectines, pour des raisons de disponibilité.

La production nationale est axée sur la transformation industrielle d'orange et d'abricots en jus, confitures et nectars très demandés à l'intérieur, et dont une partie est exportée. Cette transformation produit ainsi des tonnages non négligeables de sous produits. (les sous produits issus d'agrumes sont de l'ordre de 300000 tonnes /an à Boufarik selon Benchabane, 1984).

Sur le plan écologique, ces sous produits rejetés dans les oueds, les cours d'eau, ou laissés à l'air libre sans aucune valorisation, sont classés parmi les déchets fermentescibles et sources d'une forte pollution microbienne et de produits dont la décomposition biologique est beaucoup plus lente (hémicellulose, cellulose et lignine).

C'est pourquoi, il s'avère judicieux sur le plan économique et environnemental de valoriser ces sous produits en co-produits utilisables en d'autres secteurs de l'industrie agroalimentaires telles que les pectines.

C'est en 1825, que le chimiste français, Braconot, donne le nom de pectine du grec « pekto » signifiant prise en gelée , aux substances extraites de fruits et qui gélifient en milieu sucré et acide.

Depuis le début du xxième siècle, les pectines sont produites industriellement et sont utilisées comme agent gélifiant des denrées alimentaires (portant le numéro de code en Europe :E 440 dans la liste des additifs alimentaires).

L'évolution de nos habitudes alimentaires a conduit l'industrie à proposer aux consommateurs, des aliments de plus en plus élaborés qui répondent au mieux à ses besoins.

La maîtrise de la qualité de ces aliments passe par une bonne connaissance des interactions entre les différents ingrédients qui le constituent et de leurs rôles fonctionnels dans l'élaboration d'une texture ou d'une saveur.

De cette notion d'ingrédients fonctionnels découle celle de produits alimentaires intermédiaires (PAI) (Linden et Lorient, 1994), il s'agit en fait de fractions de natures biochimiques variables, extraites de diverses matières premières, mais qui ont toutes un rôle majeur dans l'élaboration ou la stabilité des propriétés organoleptiques et de service de l'aliment, et les pectines font partie de cette catégorie.

Compte tenu des tonnages importants de pommes de faibles valeurs marchandes, des rejets d'écorces d'oranges et de pulpes d'abricots par les unités industrielles dans notre région (À titre indicatif, la quantité transformée en 2005 -2006, l'ENAJUC de N'Gaous selon la direction départementale de l'agriculture est de 600.000 tonnes, qui donnent naissance à des tonnages très importants de sous produits), nous avons estimé important d'apporter une contribution à l'étude d'extraction des pectines et leur appréciation sur les plans quantitatif et qualitatif, d'autant plus que de telles études sont très rares, en particulier sur les pectines d'abricots et les pommes locales.

Partie bibliographique

Chapitre 1 : Etude des domaines structuraux des pectines

Les pectines constituent un groupe d'hétéropolysaccharide à teneur élevée en acide α -D-galacturonique (environ 100-200 unités) (Thibault et al., 1993; Zha et al, 1998 cités par Willats et al., 2001).

Beaucoup d'aspects de la physiologie végétale, de la pathologie végétale et de la texture des produits végétaux font intervenir les substances pectiques (Thibault et al., 2000).

Le présent chapitre décrira leur structure, leur localisation dans la paroi végétale, leur mode de dégradation, sans oublier leur activité biologique.

1-Structure de pectines

la structure des pectines est souvent idéalisée par la succession de zones dites lisses constituées d'acides homogalacturoniques et des zones dites hérissées constituées d'un squelette principal formé de rhamnogalacturonane (I) branché par des chaînes latérales d'oses neutres.

Ces trois entités, homogalacturonane, rhamnogalacturonane et chaînes latérales d'oses neutres forment les domaines constitutifs des pectines (Yapo et al., 2006).

1-1-Chaîne principale et substituants osidiques

L'étude de la structure fine de pectine a permis de déterminer les propriétés physicochimiques de ce polysaccharide et par conséquent leurs propriétés fonctionnelles. Une composition chimique et une structure générique de la pectine ont été toutefois établies dans la littérature.

Le modèle communément admis, présente la pectine comme un squelette rhamnogalacturonique plus ou moins estérifié et portant des ramifications d'arabinanes et /ou d'arabinogalactanes.

La chaîne principale est constituée, selon Cameron et al. (2003) d'environ 80 % à 90 % d'acides α -D-galacturoniques liés entre eux par des liaisons α (1-4) et dans une faible proportion 1 à 4 %, d'unités L-rhamnose liées en α (1-2). (Goycoolea et Cardenas, 2003; Sharma et al., 2006).

La fonction carboxylique en position C-6 peut être estérifiée par le méthanol, ou par des groupements amides. Les fonctions hydroxyles secondaires en positions C-2 et C-3 peuvent

être estérifiées par l'acide acétique (Schols et al., 1995 ; Visser et Voragen, 1996 ; Gary al., 1998 cités par Vinchen et al., 2003).

Chez certains végétaux, les oses de chaînes latérales (arabinose et galactoses) sont estérifiés par de l'acide férulique (Ralet et al., 2005).

Selon Thakur et al. (1997); Ralet et al. (2005), la réparation et la longueur des zones homlogalacturoniques et rhamnogalacturoniques, le degré d'estérification, les distributions du méthanol, de l'acide acétique, de l'acide férulique et les ramifications des chaînes latérales sont variables selon les paramètres communs suivants :

- § l'espèce et variétés mises en jeu.
- § le stade de la maturité
- § la localisation dans la plante
- § les conditions d'extraction

Deux types de rhamnogalacturonane RG (**I**) et RG (**II**) ont été mis en évidence. Chez RG (**I**) le squelette osidique comprend une succession de motifs du type : acide α -D-galacturonique (Thibault et al., 2000 ; Ridley et al., 2002). De nombreux oses peuvent se lier sur les résidus rhamnosyl en C- 4 ou sur les chaînes d'acide galacturonique, dont les plus dominants sont arabinose, galactose et xylose. (Thibault et al., 2000 ; Ralet et al., 2001).

Selon les mêmes auteurs les substituants osidiques forment 1 à 4 % des substituants totaux. La teneur, la nature de ces substituants et celle de l'acide galacturonique dépend énormément du type de plantes ayant servie à l'extraction et des méthodes d'extraction (tableau 1).

Les arabinanes sont des chaînes de L-arabinofuranose, reliés entre eux par des liaisons α (1-5), qui peuvent elles-mêmes être ramifiées en α (1-2) et α (1-3) (Thibault et al., 2000).

Les galactanes se composent de chaînes de galactopyranose reliés par des liaisons β (1-4) (figure 1). Les arabinogalactanes comprennent une chaîne de galactopyranose ramifiée avec de l'arabinofuranose où la liaison osidique peut être de type β (1-4) avec α (1-5) ou β (1-3) avec (1-6).

§ **Tableau 1** : Teneurs en acides galacturonique et en oses neutres des pectines de différentes origines (synthèse des travaux publiés).

ORIGINE	COMPOSITION EN ACIDE URONIQUE ET EN OSES NEUTRES (%)							METHODES	REFERENCES
	Rha	Fuc	Ara	Xyl	Man	Gal	Ua		
Coing	12	0.7	10.2	8.0	1.8	6.1	21.0	Méthode colorimétrique	Thomas et Thibault (2002)
Poire	3.2	—	12.3	4.5	1.6	8.4	35.6	—	Habibi et al., (2004)
Betterave	4.1	—	7.9	0.5	0.4	10	54.7	chromatographie Echange anion Chromatographie CPG	Yapo et al., (2006)
Raisin	3.6	—	54.0	10.3	1.0	22.1	—	HPLC	Mourgues et conte (1981)
Betterave	20.0	2.0	172	11	10	45	200	Méthode colorimétrique	Leving et al., (2001)
Camburi	1.9	0.3	10.5	5.5	—	8.4	56.2	-Méthode de Dubois - Méthode colorimétrique	Vreismann et al., (2004)
pomme	5.4	1,2	22,5	7,9	-	10,9	42,5	Méthode de Blumenkrantz et Hansen	Marcon et al., (2005)

D'autres oses sont mineurs : D-glucose, D-mannose, L- fucose (Thibault et al., 2000).

Chez RG de type (II) la structure est beaucoup plus complexe, la chaîne principale est formée par des β -D-galacturonane liés en (1-3) (Thibault et al., 2000 Habibi et al., 2004), elle-même partiellement interrompue en O-6 par de courtes chaînes du même composant (figure 2).

Les chaînes principales et secondaires comportent en plus des oses déjà cités, des oses beaucoup plus rares, comme l'apios, le méthyl-fucose, le méthyl-xylose, l'acide acétique sous forme de courtes chaînes latérales.(Thibault et al., 2000 ; Vincken et al., 2003; O' Neill et al., 2004; cités par Guillon, 2005).

Le complexe RG de type (II) est défini comme des zones hérissées (Thibault et al., 2000; Ralet et al., 2001).

1-2-Substituants non osidiques

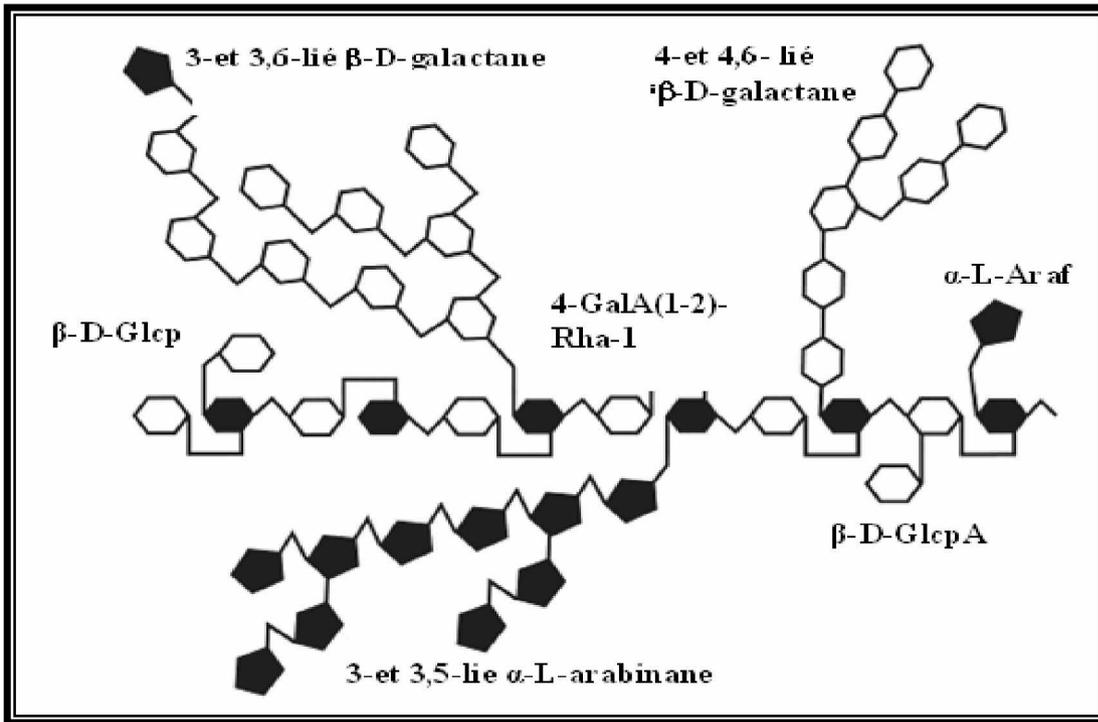
La méthylation des fonctions carboxyliques, ainsi que l'acétylation des fonctions alcools sont les principaux types de substitutions naturellement rencontrés dans les pectines , d'autre substituants peuvent être présents : les groupements amides, l'acides féruliques et les acétyles (Sharma et al., 2006).

La fonction carboxylique en position C-6 est le plus souvent estérifiée par du méthanol, ou, suite à une réaction chimique avec l'ammoniaque. Pour les pectines amidées, une partie (max 25 %) des groupements carboxyliques est présentée sous forme d'ester méthacrylique ((Thibault et al., 2000; Ralet et al., 2001).

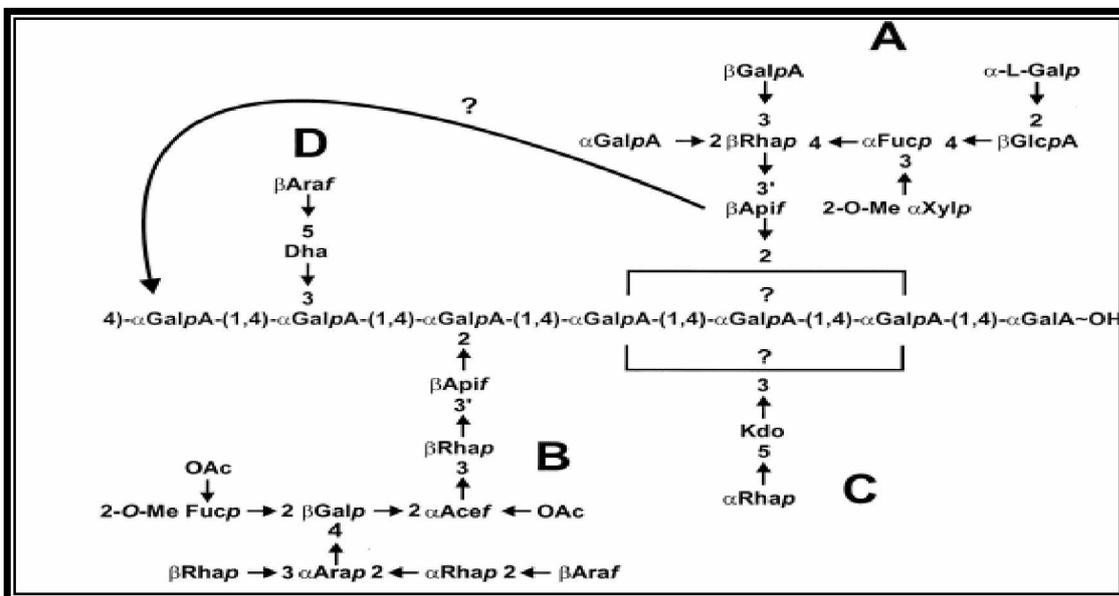
La distribution des fonctions carboxyliques non estérifiées a fait l'objet de nombreuses recherches, car les propriétés des pectines considérées dépendent fondamentalement de cette distribution (Thibault et al., 2000; Savary et al., 2005).

Le traitement des pectines par voie chimique (acide ou basique) est bien connu pour entraîner une déméthylation aléatoire ou en bloc, selon leur origine fongique ou végétale (Guillon, 2005; Luzio et al., 2006).

Chez certaines végétaux, les fonctions alcools secondaires de l'acide galacturonique peuvent également être estérifiées par de l'acide acétique, en deux position: O-2 et O-3 (Ralet et al., 2005).



§ *Figure 1* : Représentation d'une portion d'homogalacturonane de type I avec des substituants arabanes, galactanes et arabinogalactane selon Morra et al., (2004); Vincken et al., (2003); Ridley et al., (2002)



§ *Figure 2* : Structure d'un complexe de rhamnogalacturonane de type (II) selon Ridley et al., (2002).

Selon Ralet et al. (2005), la répartition de ces groupements est : 2/3 en O-2 et 1/3 en O-3, avec très peu de résidus à la fois méthylés et acétylés (figure 3).

Le taux d'acétylation généralement assez faible (0,8-3,8 %) (Yapo et al., 2006), mais des degrés d'acétylation élevés (30-35 %) ont cependant été rapportés dans les pectines de betteraves, de poires, de carottes, d'abricots, et de pommes de terre (Thibault et al., 2000 ; Ralet et al., 2001).

Chez certaines dicotylédones, de la famille de chénopodiacées (betteraves, épinards, salicones), les pectines sont estérifiées par un acide phénolique : l'acide férulique en faible quantité (0,1-0,7 %), localisé sur les oses neutres (arabinose, et galactose) des chaînes latérales (Levigne et al., 2002; Ralet et al., 2005; Yapo et al., 2006). Cet acide peut être lié en O-6 au galactose et/ou en O-2 à l'arabinose (Gary et al., 1998 ; Colguhoun et al., 1994 cités par Thibault et al., 2000)

La présence de cet acide peut aider à la formation des gels pectiques (Guillon et Thibault, 1990 ; Rombouts et Thibault, 1986, cités par Levigne et al., 2002 ; Ralet et al., 2005). Récemment, trois oligosaccharides féruloylés : un galactobiose, un arabinobiose et un arabinotriose monoféruloylés ont été isolés et caractérisés. L'acide férulique est lié directement sur la chaîne principale des arabinanes et des galactanes constitutifs des «régions hérissées» des pectines de betterave.

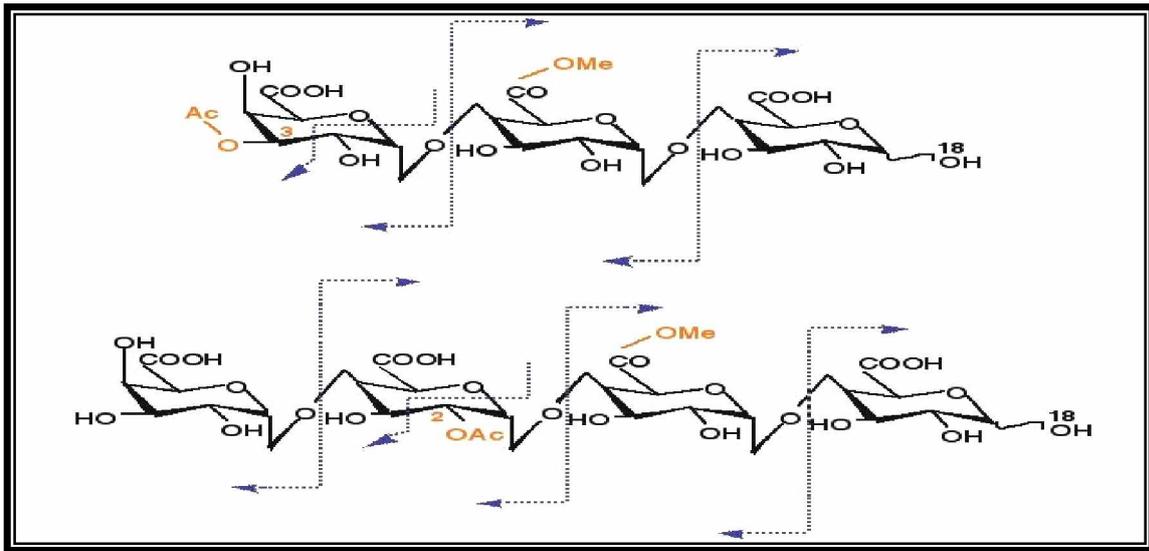
D'après ces données la structure simplifiée des pectines peut répondre au modèle rapporté par Willats et al., (2001); Vincken, (2003); Morra et al., (2004) (figure 4).

2-Localisation, biosynthèse et dégradation des pectines

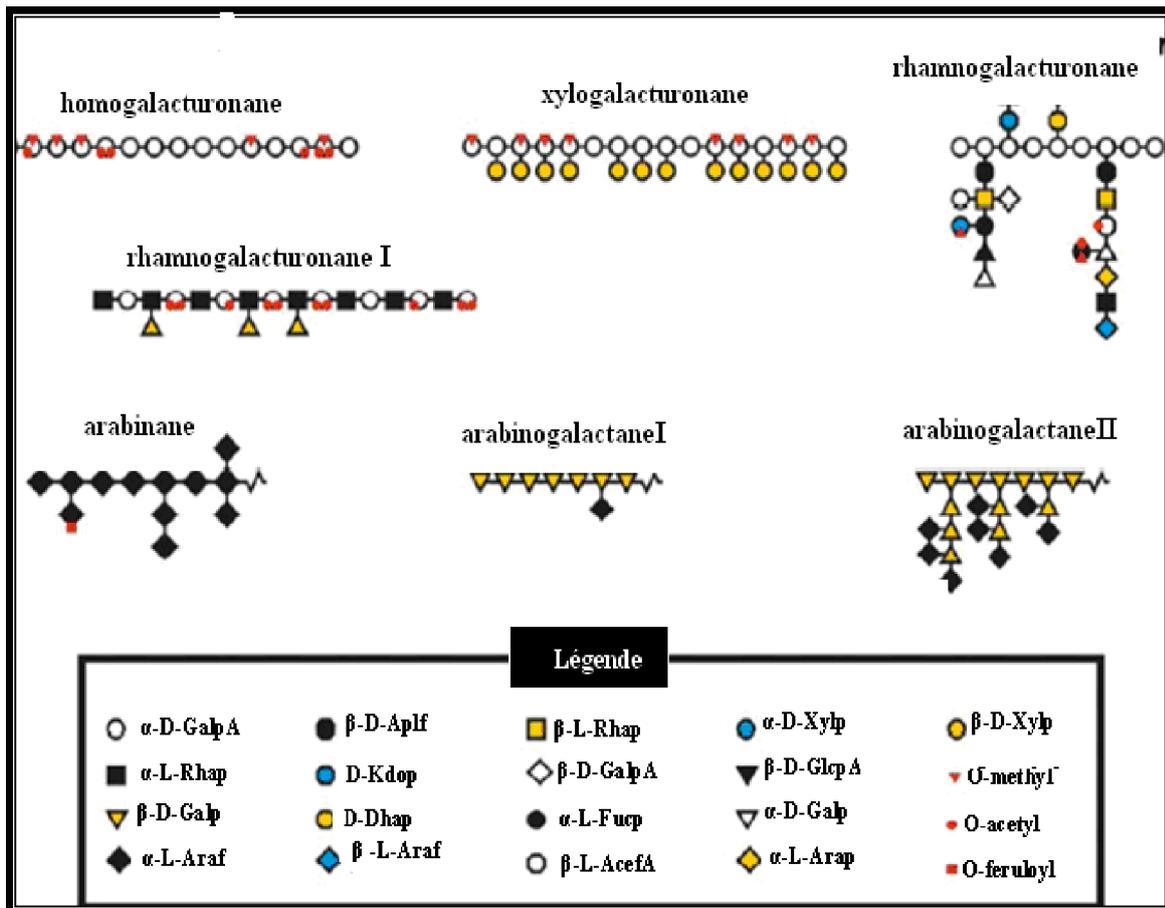
2-1-Localisation dans la paroi végétale

La paroi végétale est une structure complexe qui entoure les cellules végétales, elle est fortement hydratée (90 % d'eau) et constituée de 3 polysaccharides majeurs : pectines, celluloses et hémicelluloses (90 % du poids sec). A ces constituants, s'ajoutent de nombreuses enzymes et protéines de structure. (Willats et al., 2001) (figure 5).

Les pectines sont surtout présentes dans les tissus parenchymateux des dicotylédones (fruits et légumes) (tableau 2).



§ *Figure 3*: Structure de deux oligogalacturonides partiellement méthylées et acétylés selon Ralet et al., (2005)



§ *Figure 4*: Structure simplifiée de différents éléments de pectines (Willats et al., 2001; Vincken, 2003; Morra et al., 2004)

§ **Tableau 2** : Teneurs en pectines de certains fruits et légumes

FRUITS ET LEGUMES	ETAT DE LA MATIERE PREMIERE	TENEUR EN PECTINES EN %
Pommes (a)	frais	0,5-1,6
Pêches (a)	frais	0,1-0,9
Fraises (a)	frais	0,6-0,7
Poires (a)	frais	0,2-0,5
Citron (c)	sec	30
Pamplemousse (b, c)	frais	0,1-1,6
	sec	10-15
Bananes (a)	frais	0,7-1,2
Carottes (a)	sec	6,9-18,6
Pulpes de betteraves à sucre (a) et (b)	frais	1,00
	sec	-
Pulpes de betteraves à sucre (a)	sec	10-30
Pommes de Terre (a)	sec	1,8-3,3

Références :

(a) : Villarreal et al., 1963

(b) : Renard et Thibault (1993)

(c) : Rolin (1993)

(a) et (b) et (c) citées par Goycoolea et Cardenas (2003)

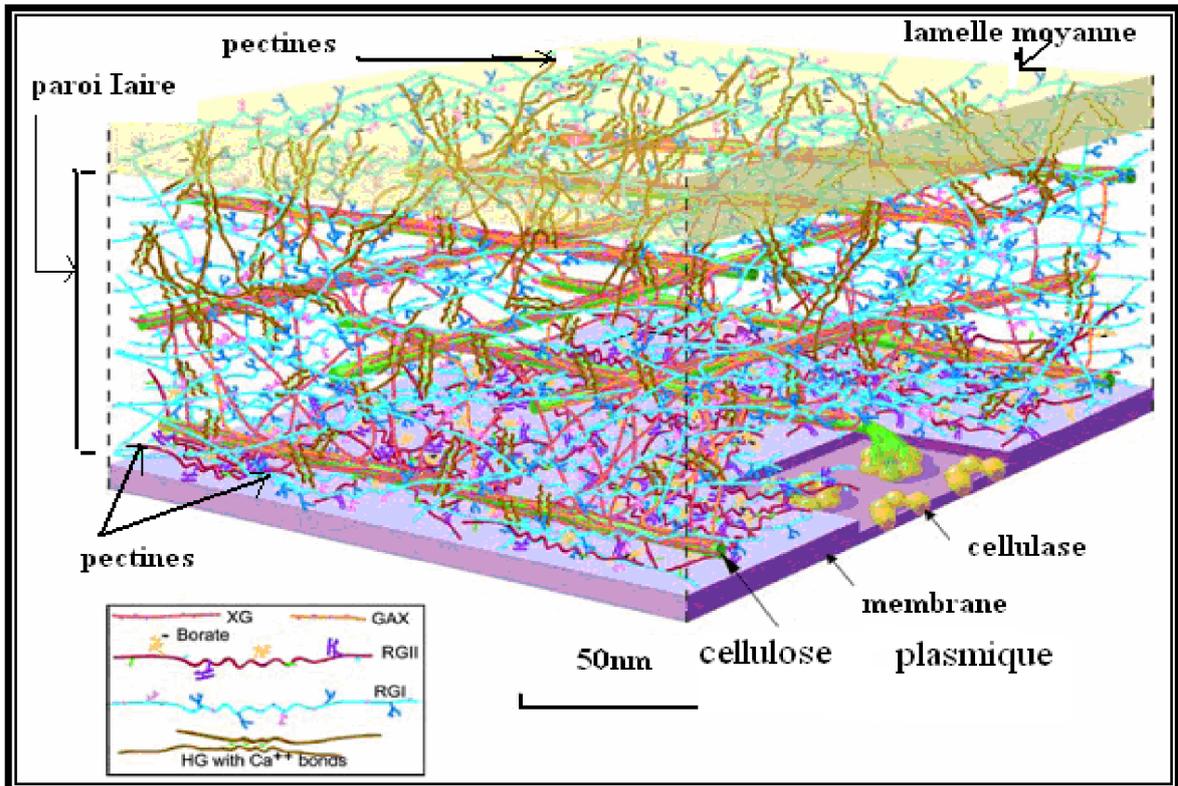


Figure 5 : Architecture de paroi cellulaire et localisation des pectines selon Mc Cann et Roberts (1991) cités par Goycoolea et Cardenas (2003)

Se sont des tissus pas ou peu différenciés et qui présentent donc toujours la composition et les propriétés (finesse, extensibilité, et forte hydratation) des parois primaires (Thibault et al., 2000; Willats et al., 2001; Ralet et al. 2001; Vincken et al., 2003; Habibi et al., 2004) (figure 6).

Les pectines se trouvent aussi dans la lamelle moyenne; À ce niveau, elles peuvent être faiblement méthylées et fortement pontées par des ions Ca^{++} , surtout au niveau des jonctions et des espaces intercellulaires, ce qui permet de régler les associations de polysaccharides pectiques entre eux (Cosgrove, 1997; Thibault et al., 2000; Ralet et al., 2002; Vincken et al., 2003).

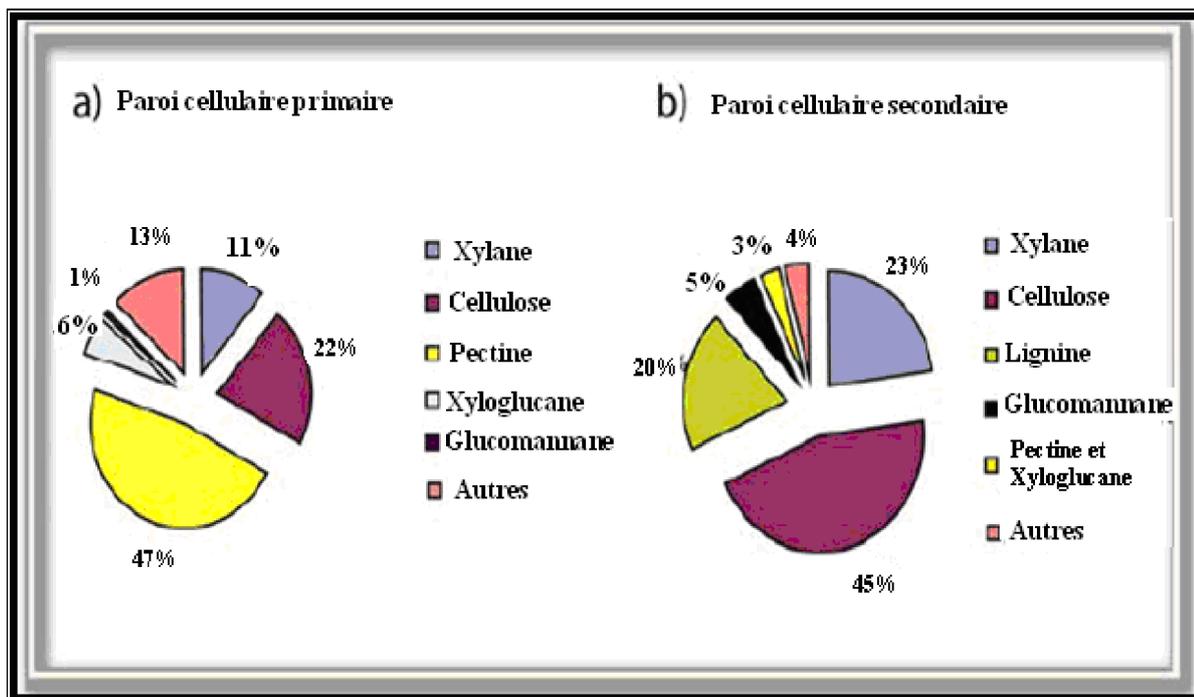
2-2 Biosynthèse des pectines

Il est largement admis que les polysaccharides des parois cellulaires proviennent de la polymérisation de monosaccharides (Albersheim et al., 1997 cités par Yapo, 2007) et que l'appareil de Golgi est le lieu de synthèse des polysaccharides non cellulotiques, en l'occurrence les pectines (Cosgrove, 1997; Thibault et al., 2000; Ralet et al., 2001; Mohnen, 2002; Geschi et al., 2004; Bacic, 2006).

Ces composants polysaccharidiques seraient d'abord synthétisés de manière séparée avant que n'intervienne, ultérieurement, leur probable assemblage en complexe pectique (Willats et al., 2001; Ridley et al., 2002; Vincken et al., 2003).

Selon Albersheim et al. (1997) cités par Yapo (2007), quelle que soit la nature du polysaccharide pectique en synthèse, le mécanisme d'assemblage d'éléments simples en composants polysaccharides, comprend cinq grandes phases :

- F Chargement /activation
- F Activation complète
- F Formation de dimère
- F Connexions du dimère formé au reste de la chaîne en croissance.
- F Translocation de la chaîne allongée.



§ **Figure 6** : Composition pariétale de peuple végétal : (a) la paroi primaire, (b) la paroi secondaire (Stolle et Dongowski, 2007)

Le complexe enzymatique responsable de la polymérisation des monosaccharides est une glycosyl transférase qui se localise dans le lumen de l'appareil de Golgi (Ridley et al., 2002 ; Mohnen, 2002 ; Geschi et al., 2004 ; Harolt et al., 2006) et chaque fragment pectique a son propre complexe enzymatique (Ridley et al., 2002).

Les pectines étant des structures hautement complexes, leur synthèse nécessiterait au moins 53 activités enzymatiques différentes, notamment des enzymes glycosyl transférase (Mohnen, 1999 cité par Ridley et al., 2002 ; Mohnen, 2002) et d'autres méthyle transférase (E.C.2.1.1.1.8) (Thibault et al., 2000; Ralet et al., 2001; Mohnen, 2002) et H-G acétyle transférase (Mohnen, 2002; Ralet et al., 2001; Ridley et al., 2002).

Les premiers seront responsables de l'élongation de la chaîne pectique, par la catalisation de l'addition des résidus d'acides galacturonique à partir de l'UDP-GaL A à la chaîne (Mohnen, 2002) et les deuxièmes seront responsables respectivement sur la méthyle estérification (Ridley et al., 2002) et l'acétylation. (Ridley et al., 2002 ; Ralet et al., 2001; Mohnen, 2002).

Après la synthèse de différentes structures polysaccharidiques (HG, RG I, RG II), leur assemblage se fait : soit dans les vésicules de sécrétion (Carpita et Mc Cann, 2000), soit au niveau de la matrice extracellulaire. (Willats et al., 2006) (figure 7).

2-3-Dégradations des pectines :

2-3-1- Dégradation chimique :

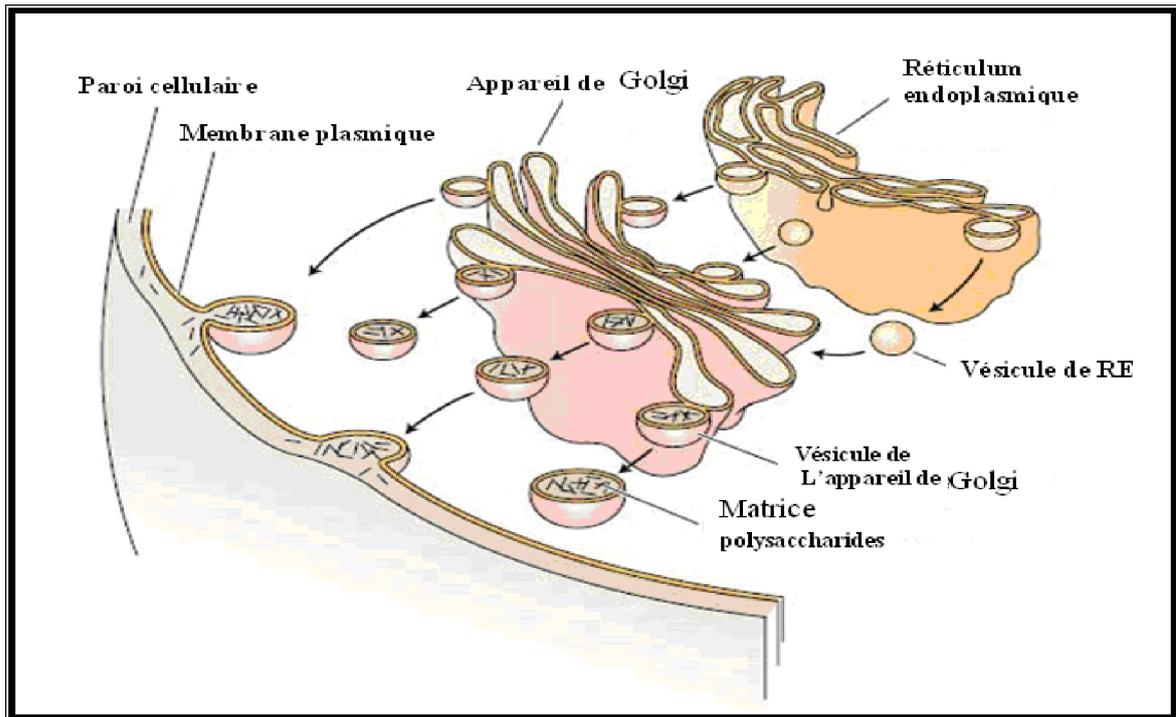
Les substances pectiques en solution peuvent subir deux grands types de dégradations : des desésterifications et des dépolymérisations.

2-3-1-1-Reactions de desésterifications :

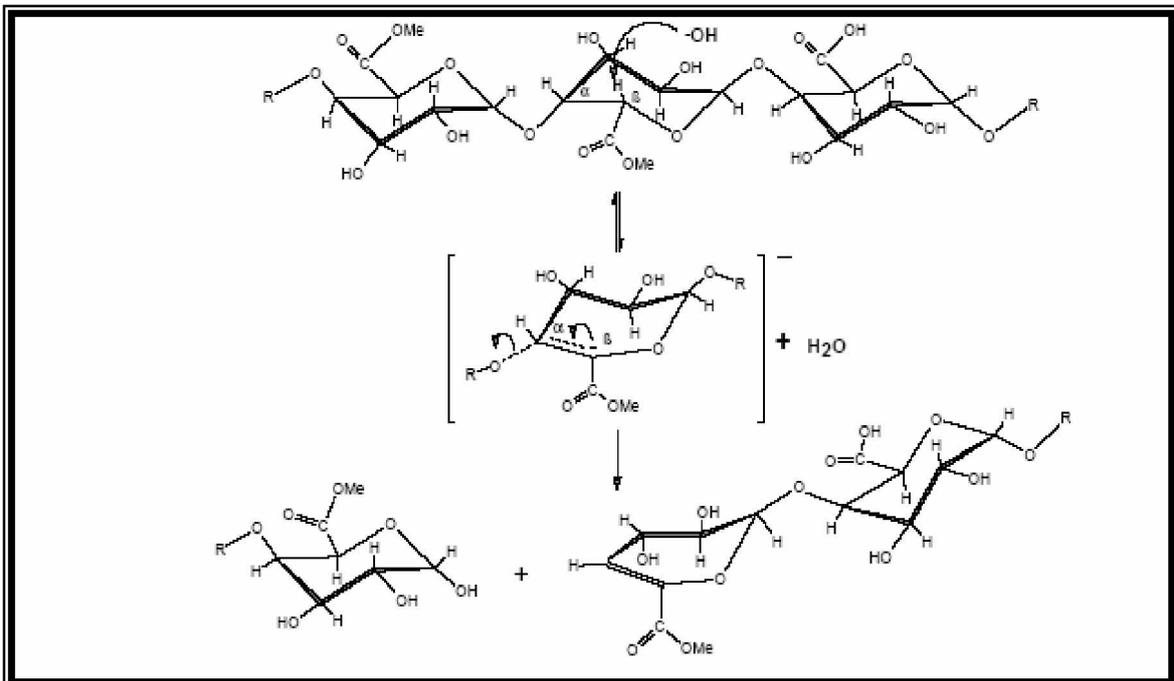
C'est un ensemble de réactions classiques qui libèrent le méthanol et forment des pectases.

2-3-1-2- Réactions de dépolymérisation:

Elles s'effectuent soit par hydrolyse des liaisons ∞ (1-4), soit par des réactions de β -élimination qui provoquent la rupture des liaisons glycosidiques adjacentes en un groupe estérifié entre les résidus d'acides galacturonique et l'apparition d'une double liaison entre les carbones C-4 et C-5 (Morris et al., 2002) (figure 8).



§ **Figure 7** : Schéma de synthèse et de distribution des polysaccharides de matrice dans la paroi cellulaire. (Taiz et Zeiger, 2002)



§ **Figure 8** : Dépolymérisation partielle de la chaîne pectique par β -élimination (Stole-Smits, 1998).

Selon Kamon (2001), Ces deux types de réactions dépendent essentiellement du pH et de la température:

○ En milieu acide (pH : 1-3) à température $<10^{\circ}$ C, la déestérification prédomine, alors qu'à plus forte température, la dépolymérisation a lieu plus rapidement et peut conduire à une dégradation totale des pectines (Voragen et al., 1995).

○ En milieu neutre ou alcalin à basse température, les substances pectiques sont déestérifiées sans incidence notable sur leur degré de polymérisation, une élévation de température favorise les réactions de β -élimination. (Morris et al., 2002).

Ces réactions sont importantes à prendre en compte lors de l'extraction des pectines (Thibault et al., 2000, Ralet et al., 2001).

La nature des liaisons des oses impliqués dans ces liaisons peut également jouer un rôle : les chaînes latérales seront dégradées plus facilement que les zones hérissées, alors que les zones lisses seront relativement résistantes en milieu acide (Thibault et al., 2000, Ralet et al., 2001).

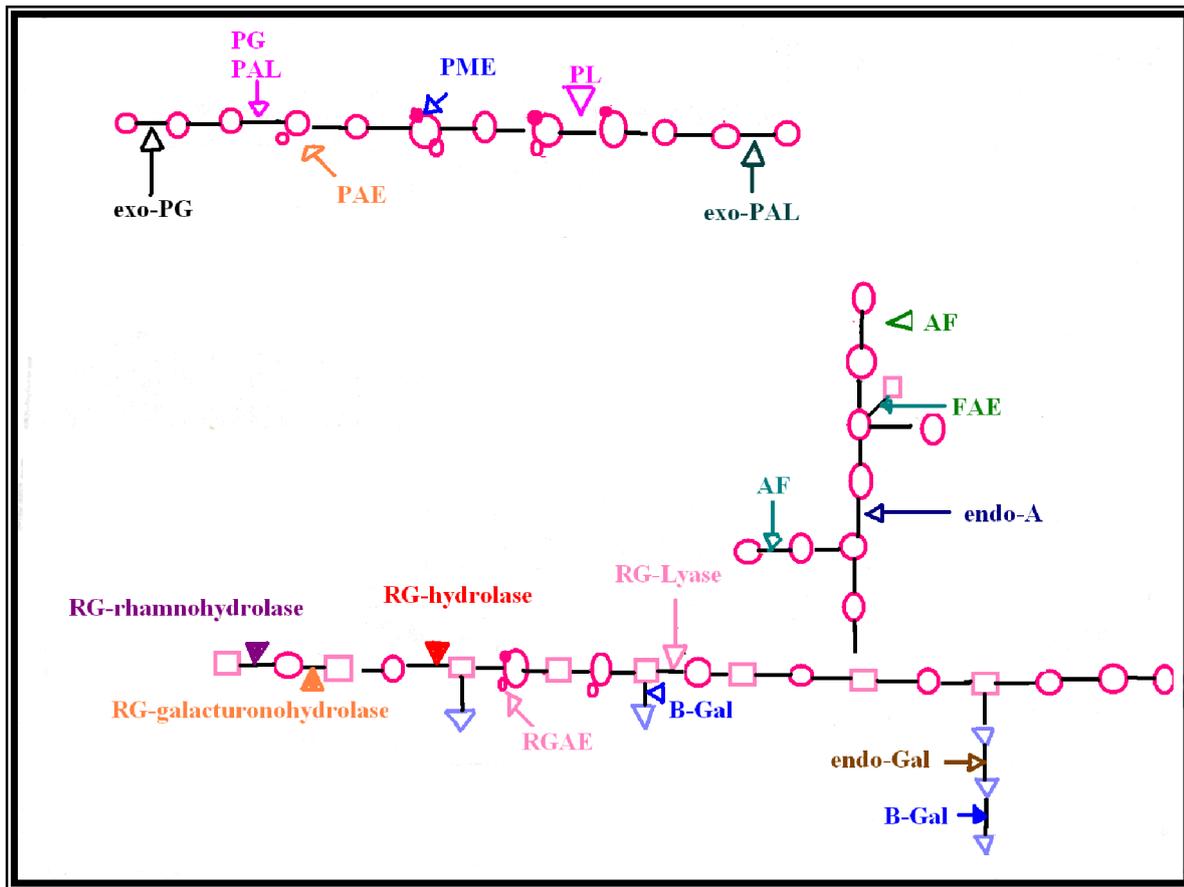
2-3-2 - Dégradation enzymatique :

Elle fait intervenir plusieurs enzymes à cause, non seulement de leurs hétérogénéité et complexité, mais également de la complexité organisationnelle de la paroi (figure 9).

3-Activités biologiques des substances pectiques

La structure des polysaccharides pectiques a souvent été associée aux propriétés mécaniques des parois sans que l'on sache exactement comment celle-ci intervient. En particulier, les modifications d'adhésion cellulaire lors du ramollissement des fruits, sont en partie attribuées à des modifications structurales de ces polysaccharides.

Des hydrolases secrétées par le champignon pathogène provoquent également la libération d'oligosaccharide à partir des éléments de structure de la paroi du végétal lui-même : pectines et hémicelluloses. Ces hydrolases jouent le rôle de signal de défense et interviennent dans la croissance et le développement des plantes, ainsi que dans la reconnaissance des molécules.



§ **Figure 9:** Dégradation enzymatique des pectines (Ralet et al., 2001).

- Groupements méthyles
- O: Acide galacturonique
- o : Groupements acétyles
- * :rhamnose
- S :galactose

Chapitre 2 : Propriétés hydro-colloïdales, chimiques et fonctionnelles des pectines.

1-Questions fondamentales sur les connaissances des pectines :

Le manque de connaissances de base dans le domaine des macromolécules est un frein important à l'innovation technologique ; Ces connaissances doivent conduire à l'amélioration de la composition des matières premières, et à l'optimisation des propriétés physico-chimiques des macromolécules issues des procédés d'extraction et de fractionnement appliqués aux productions récoltées.

Les questions qu'on peut se poser dans notre cas sont :

- Quelle sont les bases physicochimiques des propriétés fonctionnelles des pectines ? C'est-à-dire les propriétés mises en œuvre dans la plupart des systèmes alimentaires poly-phasiques?
- Comment sont organisés les réseaux des pectines dans un produit gélifié ?
- Quelles sont les interactions entre les pectines et les autres constituants dans un aliment donné ?

Notre recherche bibliographique a apporté quelques éléments de réponse à quelques une de ces questions :

- Optimisation des propriétés fonctionnelles des pectines.
- Recherche de la relation entre les propriétés fonctionnelles et la structure de pectines.

2- Propriétés hydrodynamiques des pectines

2-1- Poids moléculaire (M_w) des pectines:

Les propriétés physiques des pectines dépendent fortement de sa masse moléculaire (Guillotin, 2005). Sa détermination est un problème difficile en raison de l'hétérogénéité de la plupart des échantillons et de la présence assez générale d'agrégats. Le caractère poly-électrolytique des pectines doit aussi être pris en compte (Owens et al., 1978 cités par Girard, 2003).

La masse moléculaire des pectines dépend non seulement de la méthode utilisée pour la déterminer, mais aussi du type de matière première utilisée et des conditions d'extractions choisies (tableau 3).

Ce paramètre va de quelques dizaines à plusieurs centaines de milliers d'unités (KDA) (Thibault et al., 2000). Selon Consenla et al. (2002), Morris et al. (2002), Ralet et al. (2002), Constenla et Lozano (2003), le modèle théorique donnant la masse moléculaire (M_w) en fonction de la viscosité intrinsèque (η) est celui de Mark-Houwink-Sakurada suivant :

$$\eta = K (M_w^a)$$

Où K et a , sont les constantes de Mark-Houwink-Sakurada.

Il existe d'autres techniques pour la détermination de la masse moléculaire moyenne en poids et en nombre, en utilisant des méthodes de chromatographie (par perméation de gel) ou bien selon Guillotin (2005), par le détecteur de diffusion de lumière (laser lightscattering detector). Certaines substances pectiques ont des valeurs de poids moléculaire qui tournent autour de 140 -225 KDA (Corredig et Wicher, 200; Lecacheux et Brigand, 1988; Morris, et al., 2000; Yoo et al., 2005 cités par Guillotin, 2005).

Selon Bacic (2006) cette valeur s'échelonne de 100 jusqu'à 500 KDA (kg / mol).

Le développement récent des couplages de la lumière a permis d'améliorer la caractérisation des pectines et d'obtenir des fractions pectiques plus homogènes.

2-2- Flexibilité des pectines :

Les pectines sont considérées comme des molécules semi-fléxibles dont la flexibilité (B) varie de 0.017 à 0.074, selon Axclos et Thibault (1991) cités par Guillotin (2005) et de 0.02 pour les pectines HM selon Michel et al. (1984) cités par Guillotin (2005). Ces valeurs se rapprochent de la flexibilité des alginates $B= 0.4$ (Smidsrød et Haug, 1971 cités par Donato, 2004). Ce paramètre est évalué en fonction :

- De la force ionique du milieu, où la diminution de ces forces augmente du fait des différences des interactions électrostatiques entre les chaînes du bio- polymère (Gans et al., 1998; Dondos, 2001).
- Des interactions électrostatiques des chaînes à la viscosité intrinsèque.

§ **Tableau 3** : Masses moléculaires (Mw) de quelques pectines d'origines diverses

ORIGINE	MW (KD)	TECHNIQUES ANALYTIQUES	REFERENCES
Citrons	178	HPSEC- calibration viscosimétrique universelle	Deckers et al., (1980) (a)
Citrons	97	HPSEC- sédimentation	Harding et al., (1991)(a)
Citrons	176	Equilibration -sédimentation	Morris et al., (2000)
Citrons	153	Sec-malls	Mesbahi et al., (2005)
Pommes	100	HPSEC	Morra et al., (2004)
Pommes	5330	HPSEC-Malls	Kontamins et Kokin (1998) (a)
Betteraves	355	HPSEC-malls	Levigne et al., (2002)
Betteraves	901	HPSEC-malls	Yapo et al., (2006)
Betteraves	116	Sec-malls	Marshalle et al., (2005) (a)

(a) cités par Guillon (2005).

- De la nature des substituants, les pectines étant des polymères chargés négativement, la distribution de cette charge le long de la chaîne polysaccharidique influencerait énormément sa fonction dans le produit alimentaire.
- Du nombre de charges portées par les chaînes pectiques.

2-3- Viscosité des pectines :

La viscosité des pectines est inférieure à celle de la plupart des autres gommages, il est donc rare d'utiliser les pectines pour augmenter la viscosité d'un produit, toutefois, les pectines ont des effets intéressants du fait du comportement newtonien de leurs solutions à faible concentration (Lopes da Silva et Roa, 2006).

En règle générale, la viscosité intrinsèque des pectines dépend seulement des dimensions de la chaîne du polymère. Ce paramètre peut être déterminé à partir de la viscosité de la solution diluée, qui reflète les caractéristiques moléculaires importantes de ces composés.

Les solutions diluées des pectines ont montré un comportement newtonien classique jusqu'à approximativement 0.5 % qui est due à leurs propriétés polyélectrolytes, et dépend du degré d'estérification, du pH, et de la concentration ionique (Lopes da Silva et Roa, 2006) (tableau 4, en annexe).

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.

3- Propriétés chimiques des pectines

3-1- Solubilité des pectines :

Les pectines se comportent comme des poly-électrolytes grâce à la présence de groupements carboxyliques dans leur squelette (Lopes da Silva et Roa, 2006; Ralet et al., 2002; Thibault et al., 2000).

Selon Lopes da Silva et Roa, (2006), la solubilité est déterminée par le PKa qui varie dans une gamme de valeurs constantes (2,9 - 3,2). La solubilité des pectines dépend de divers paramètres dont entre autres :

- Le solvant, sa nature et sa force ionique.
- La nature de la pectine et sa concentration.

- Le pH de la solution.
- La température de la solution.
- Les contre- ions d'autres polymères existants dans la solution.
- Le degré de polymérisation.
- L'ionisation des groupements carboxyles et leur distribution.

Selon Lopes da Silva et Roa (2006), il faut ajouter à ceux-la : le degré d'amidation qui entraîne une forte rigidité des macromolécules. Celle-ci est la conséquence d'une individualisation, des molécules pectiques, favorisée par la dissociation des fonctions acides carboxyliques en C-6, des résidus d'acides galacturonique et leur stabilisation par répulsion électrostatique (Fishman et al., 1993 cités par Yapo, 2007).

Par conséquent, tout solvant susceptible de favoriser la dissociation se présente comme un bon agent de solubilisation des pectines.

En général les pectines sont solubles en milieux aqueux (eau, solutions tampons à faible force ionique) comme le formamide, le dimethyl-formamide, et le glycérol. (Voragen et al., 1996 cités par Visser et Voragen, 1996).

Dans un milieu aqueux il se produit d'abord un gonflement des chaînes, puis celles-ci s'individualisent et la solubilisation proprement dite a lieu. Ce processus se traduit par une augmentation de la viscosité du milieu.

A noter, les propriétés poly-électrolytiques des pectines influencent énormément son utilisation comme ingrédient dans l'aliment.

3-2-Stabilité des pectines :

La stabilité maximale des pectines a lieu à pH 4 (Sriamornsak, 2003; Voragen et al., 1996 cités par Visser et Voragen,1996). Pour des pH < 3 et à basse température, les groupements acétyles et méthyles sont déstabilisés et les sucres neutres sont hydroxylés. Si la température est élevée l'hydrolyse est accélérée (Sriamornsak, 2003).

En milieu alcalin et à basse température les groupements estères sont saponifiés. En milieu neutre et à température ambiante la saponification est accompagnée de la réaction de dépolymérisation, cette dégradation à lieu uniquement dans les liaisons glycosides et dans les résidus méthylés de l'acide galacturonique.

A des températures $> 60^{\circ} \text{C}$, cette dégradation a lieu qu'à pH légèrement acide (pH proche de 5) (Voragen et al., 1996 cités par Visser et Voragen, 1996).

3-3-Groupements fonctionnels des pectines :

3-3-1-Degré de méthylation :

Les pectines commerciales hautement méthylées présentent un degré de 60 à 70 % et les pectines faiblement méthylées présentent un degré variant entre 20 à 40 % (Sriamornsak, 2003).

Pour cette raison on définit le DM comme étant le nombre de fonctions acides estérifiées pour 100 monomères d'acides galacturonique. Ainsi deux familles de pectines sont distinguées:

§ Pectines hautement méthylées ou HM (high méthoxy) qui possède un $\text{DM} > 50 \%$.

§ Pectines faiblement méthylées ou LM (low méthoxy) qui possède un $\text{DM} < 50 \%$.

Le substituant méthanol joue un rôle majeur dans les propriétés physiques des pectines (Guillot, 2005). La répartition des groupements méthyles, le long de la chaîne principale joue un rôle important dans les processus de gélification, elle peut être regroupée ou aléatoire.

Plusieurs méthodes peuvent être utilisées pour déterminer la teneur en méthanol des pectines :

§ Méthode titrimétrique (Food Chemical Codex, 1981).

§ Méthode spectrométrique IR (Gnanasambandam et Proctor, 2000; Haas et Jager, 1986, cités par Guillot, 2005).

§ Méthode par spectrométrie de résonance magnétique nucléaire (RMN) (Grasdalen et al., 1988, cités par Guillot, 2005; Bedouet et al., 2003; Dennapa et al., 2006).

§ Méthode colorimétrique après oxydation chimique ou enzymatique en formaldéhyde (Thibault al., 2000).

§ D'autres méthodes sont également utilisées :

Après saponification, par chromatographie en phase gazeuse, par chromatographie liquide haute pression (Levigne et al., 2002).

La détermination du DM se fait aussi par électrophorèse capillaire (Jiang et al., 2002; Jiang et al., 2001; Zhong et al., 1998, cités par Guillot, 2005).

Chez certaines pectines LM, les fonctions acides sont neutralisées par de l'ammoniac (NH₃) et forment une fonction amide ce sont les pectines amides ou pectines LMA.

Les acides galacturonique amidés peuvent être dosés en déterminant l'ammoniac libéré après distillation alcaline ou par une des variantes des méthodes de dosage d'azote total.

3-3-2-Degré d'acétylation (DAc):

Il est défini comme le pourcentage de résidus galacturosyles estérifiés par un groupement acétyle. Ces groupements se localisent généralement au niveau des résidus rhamnogalacturonanes (Sharma et al., 2006).

L'acide acétique est également dosé après saponification par chromatographie en phase gazeuse, par chromatographie liquide haute pression ou par des méthodes enzymatiques, ou encore par titrimétrie après distillation (Thibault et al., 2000; Levigne et al., 2002), ou par spectrométrie RMN (Bedouet, 2003).

Les teneurs de DM et de Dac diffèrent d'une pectine à une autre selon leur origine et les conditions de leur extraction. Les pectines de pommes et d'agrumes sont théoriquement riches en groupements méthyles et pauvres en groupements acétyles, alors que celles d'abricots et de betteraves sont riches en groupements acétyles (tableau 5).

3-3-3-Degré ferulique (DF) :

L'acide ferulique peut être dosé sous forme ester ou libre par spectrophotométrie et sous forme libre, par chromatographie liquide haute pression ou après dérivation par chromatographie.

4- Propriétés fonctionnelles des pectines :

4-1- Propriétés gélifiantes des pectines :

En industrie alimentaire les pectines commerciales sont un additif alimentaire, dont le code est : **E440**. La principale caractéristique physicochimique recherchée est leur pouvoir de gélification. Les gels de pectines sont des gels physiques formés par association locale entre les chaînes macromoléculaires au niveau des zones de jonctions.

§ **Tableau 5** : Teneurs en DM et DAc de certaines pectines

ORIGINE DES PECTINES	DM	DAC	METHODES	REFERENCES
Pommes	73	5	HPLC	Thomas et Thibault (2002)
Pommes	72.8	62.3	HPLC	Constenla et al. (2002)
Pommes	68	-	HPLC	Ralet et al. (2001)
Citrons	80.5	32.3	Spectrométrie RMN	Bedouet et al. (2003)
	71	-		
Fraises	50	58	HPLC	Levigne et al. (2002)
Fraises	88	-	HPLC	Fishman et al. (2006)
Betteraves	65.6	29.2	HPLC	Yapo et al. (2006)

La nature exacte de la zone de jonction dépend de la structure chimique des pectines et doit être d'une longueur minimale pour être stable compte tenu des caractéristiques du milieu auxquels s'ajoutent les facteurs intrinsèques (masse moléculaire, charge, degré de substitution, teneur en acides galacturonique) et extrinsèques (température, pH, force ionique, nature des ions dans le milieu) (Plaschina et al., 1978; Ravanat et Rindauo, 1980; Rolin, 2002 cités par Guillotin, 2005).

Les gels se forment en plusieurs étapes durant le refroidissement. Tout d'abord les molécules de pectines se réunissent en fibrilles puis celles-ci se rassemblent en paquets, ces derniers s'agrègent en réseau; D'autres molécules de pectines viennent s'associer au réseau formé.

4-1-1-Gélification des pectines hautement méthylées (HM) :

Ces pectines à DM variant entre 53 à 77 %, forment des gels irréversibles en milieu acide pH (2 à 3.8) et en présence de solubles de types polyols, et particulièrement le saccharose (glucose et fructose) à des teneurs > 60 % (May, 2000; Thibault et al., 2000 ; Multon, 2002; Guillotin, 2005), à cela s'ajoute l'activité de l'eau (a_w) faible (Dea, 1989) et la température (May, 2000) (figures 10 et 11).

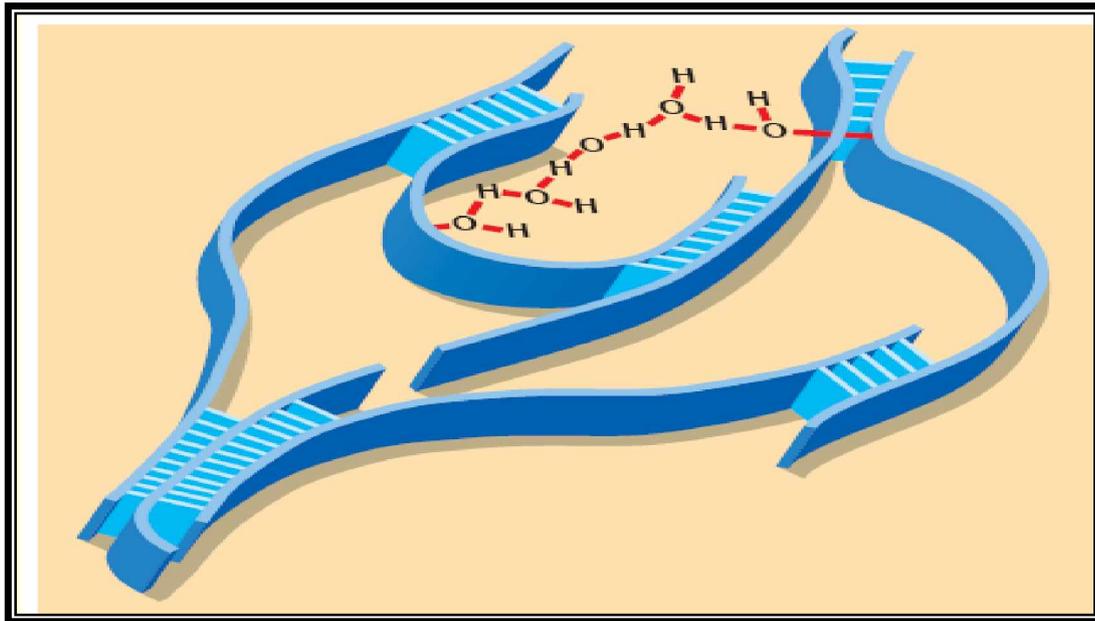
La gélification résulte de la formation de zone de jonction entre les régions homogalacturoniques (HG) des molécules pectiques, sous l'action du sucre qui favorise la diminution de l'activité de l'eau (a_w) et de l'acide qui réduit les répulsions électrostatiques intermoléculaires (Thibault et al., 2000; Multon 2002; Herbstreith et Fox ,1998(a) ; Sharma et al., 2006).

La stabilité de ces zones de jonctions serait assurée par la combinaison de liaisons de type hydrogène et des interactions hydrophobes entre groupement méthyles.

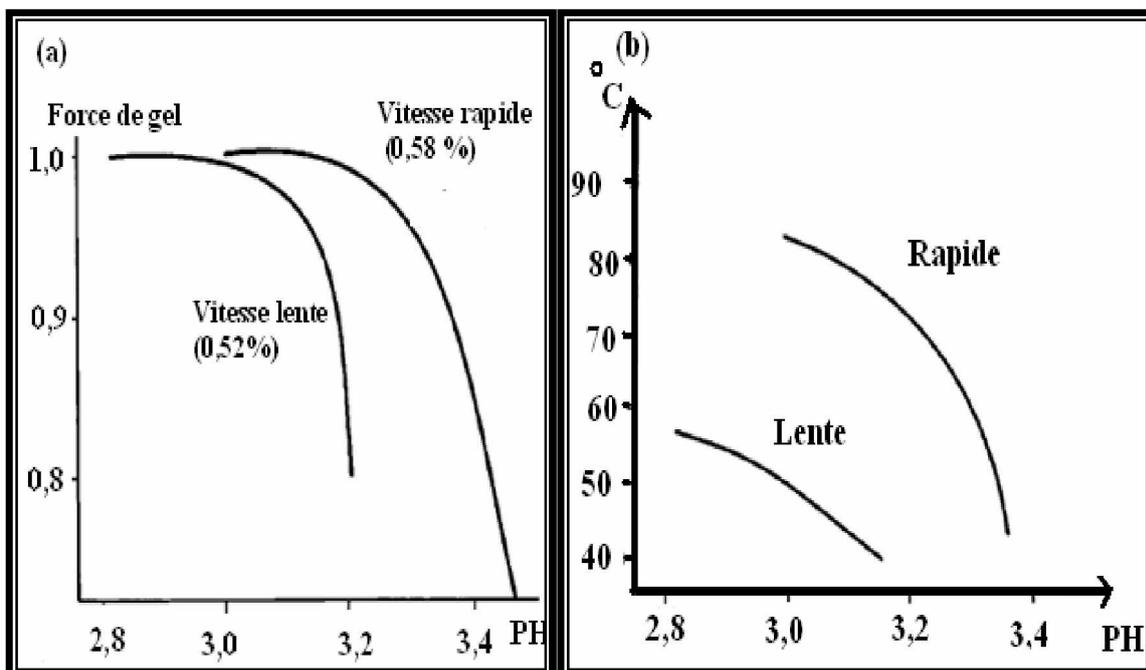
Le rhamnose et les chaînes latérales limitent l'extension de ces zones de jonction et assurent ainsi la formation d'un réseau tridimensionnel cohérent.

Selon Sharma et al., (2006), le processus de gélification et la force des gels obtenus vont dépendre des caractéristiques moléculaires :

§ Une masse moléculaire élevée permettra la formation de gel de force supérieure



§ **Figure 10** : Modèle de gélification des pectines HM (Herbstreith et Fox, 1998(a))



§ **Figure 11** : Variations du gel en fonction des pH et des températures (May, 2000)

a- Variation du gel en fonction de pH des pectines HM à 65 %

b- Variation du gel en fonction de pH et température

§ Le temps de gélification augmente avec la diminution du DM. Plus le DM est élevé moins il faut acidifier le milieu.

§ Les groupements acétyles et les chaînes latérales d'oses neutres ont des effets négatifs sur la formation du gel.

4-1-2-Gélification des pectines faiblement méthylées (LM)

Les pectines LM ont un champ d'application plus vaste que les pectines HM. Ces pectines de faibles DM forment des gels alimentaires thermoréversibles en présence des ions divalents, en l'occurrence le cation Ca^{++} , le seul utilisé en industrie alimentaire (Yapo, 2007), mais dans une gamme de pH plus large de 2,8 à 7 (Guillotin, 2005).

La gélification est due à la formation des zones de jonction entre les régions HG des deux chaînes pectiques via des ponts Ca^{++} (Sriamornsak, 2003; Sharma et al., 2006) en formant des cavités qui permettent l'association des chaînes de pectines par la chélation des ions de calcium, formant un réseau moléculaire sous la forme de "boîte à œufs" par analogie aux alginates (Rizzotti, 1994; Charles et Guy, 1997; Grant et al., 1973 cités par Sriamornsak, 2003) (figure 12).

La gélification du système se ferait en deux temps (figure 13) :

< une dimérisation des chaînes polymériques

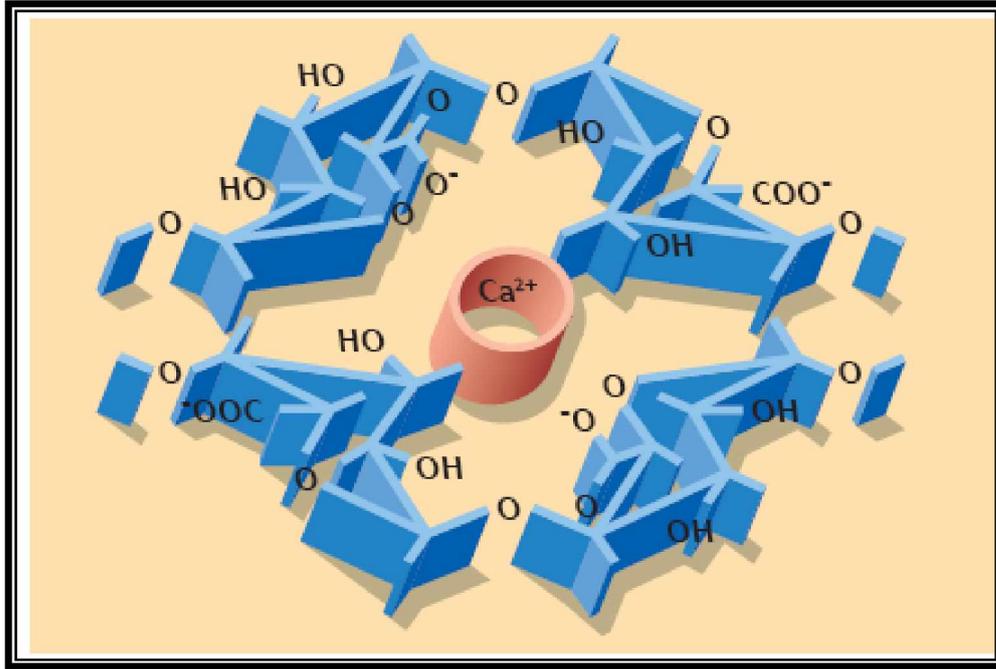
A une agrégation des dimères formés qui a lieu pour former le réseau gélifié avec une forte contribution des forces de Vander Waals et des liaisons hydrogène.

Contrairement à un gel de pectine HM, le gel de pectine LM est thermoréversible (Rolin et De Vries, 1990 cités par Guillotin, 2005), et présente parfois une thixotropie (transition gel-sol ou sol-gel) très marquée (Goycoolea et Cardenas, 2003; Lopes da Silva et Rao, 2006; Yapo, 2007).

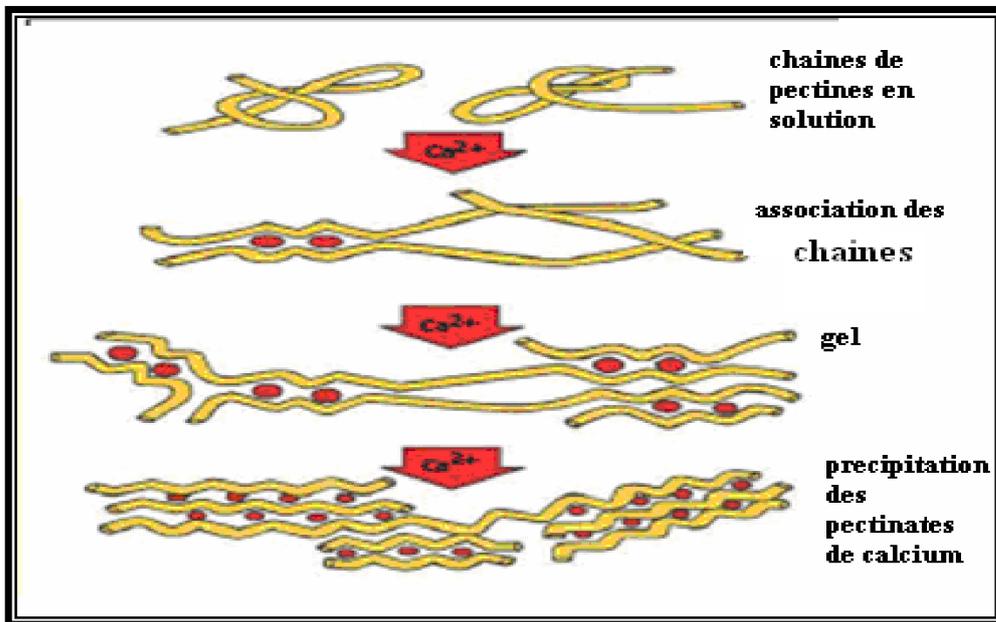
Divers facteurs extrinsèques peuvent affecter la formation du gel et /ou sa texture:

§ La vitesse et la force (fermeté) du gel augmente avec l'augmentation de la concentration en Ca. La concentration nécessaire en cet ion est de l'ordre de 1 à 10mM (Yapo et Koffi, 2006).

§ Le pH influence également la nature du gel : à pH 2, les fonctions acides carboxyliques libres ne se dissocient que faiblement, ce qui réduit les associations inter chaînes via les ions Ca^{++} , au bénéfice des liaisons hydrogènes, ainsi le gel formé est plus ou moins rigide et par conséquent peu thermoréversible.



§ *Figure 12* : Représentation schématique de la gélification des pectines LM selon le modèle de la boîte à oeuf (Rizzotti, 1994; Ralet et al., 2002; Sharma et al., 2006)



§ *Figure 13* : Etapes de formation des gels en présence de Ca^{++} (Herbstreith et Fox, 1998 (a))

En revanche à $\text{pH} > 3$, un phénomène inverse se produit et le gel formé est tendre, ferme et thermoréversible.

Les gels de pectines LM sont très sensibles à un certain nombre de facteurs intrinsèques, notamment le DM, la nature, la quantité et la distribution des substituants méthyle et acétyle le long des résidus HG ainsi que la masse moléculaire :

° Plus le DM est faible, plus l'affinité des ions Ca^{++} pour les chaînes pectiques est grande, donnant ainsi des gels plus rigides.

° Plus la masse moléculaire est grande plus les gels formés sont rigides.

° L'acétylation réduit l'affinité de la pectine LM pour les ions Ca^{++} (Souty et al., 1981; Thibault et al., 2000; Sharma et al., 2006).

4-2-Propriétés émulsifiantes :

La seule substance hypocyloïde commercialement reconnue comme émulsifiante est la gomme arabique (*Acacia senegal*) (Herbstreith et Fox, 1998 (b); Akhtar et al., 2002; Dickinson, 2003), mais la cherté de la gomme arabique amènera à rechercher d'autres hypocyloïdes pouvant émulsifier des systèmes: huile dans eau.

Selon Herbstreith et Fox (1998)(b) ; Yapo et al.(2006); Ptiocina et al.(2008), ce sont les pectines de betteraves et des pectines dépolymérisées d'agrumes et de pommes qui s'avèrent aptes à émulsifier et stabiliser des systèmes bi –phasiques :huile dans eau.

Plusieurs travaux ont rapporté les capacités émulsifiantes des pectines de betteraves (Endre et Rentschler, 1999; Huong et al., 2001 cités par Leroux et al., 2003; Yapo et al., 2006; Funami et al., 2006; Herbstreith et Fox,1998; Akhtar et al., 2002) (tableau 6, en annexe).

Ces travaux ont expliqué les meilleures propriétés émulsifiantes et stabilisantes des pectines de betteraves (tableau 7, en annexe), par leur fort niveau d'acétylation, en raison du caractère hydrophobe de ces groupements. A cela s'ajoute pour certaines pectines, la présence de fragments protéiques (Leroux et al., 2003).

William et al. (2005) cités par Yapo (2007), rapportent que l'acide ferulique peut aussi jouer un rôle dans les propriétés émulsifiantes. Yapo et al. (2006) ont déjà montré que les conditions d'extraction et la masse molaire des pectines influencent leur capacité à émulsifier des systèmes bi phasiques : huile dans eau.

De même notre étude sera portée sur la détermination des activités émulsifiantes et leurs stabilités des pectines extraites dans des conditions bien déterminées à Partir de trois matières différentes pommes, oranges et abricots, ces deux dernières matières n'ont jamais servies à ce genre d'étude. Ce sont les pectines extraites à partir de betteraves à sucre qu'ont été le plus étudiées.

Le mécanisme d'émulsification des pectines commence par la formation des gouttelettes d'émulsion, par la fraction protéique, par son caractère amphotère, ensuite ces gouttelettes sont stabilisées par les chaînes polysaccharidiques hydrophiles qui fournissent une couche protectrice épaisse le long des molécules. Selon Herbstreith et Fox, (1998) (b); Leroux et al., (2003) la présence des groupements acétyles contribue à une forte stabilité de l'émulsification.

4-3-Propriétés épaississantes des pectines

Les pectines sont des matières épaississantes anioniques (Ptiocina et al., 2008; Herbestreith et Fox 1998(a); Linden et Lorient, 1994). L'ajout de pectine à un produit alimentaire complexe, comme la confiture, modifié la perception de la flaveur, mais l'effet dépend du type de pectine et des composées d'arome.

L'ajout de pectine HM diminue à la fois la concentration en composés majeurs et l'intensité olfactive du composé apolaire. L'ensemble des études dans ce sens conduit à émettre l'hypothèse que des liaisons chimiques covalentes ou de faibles énergies (hydrophobes) entre la pectine et les composées d'arome sont à l'origine de la modification de la perception olfactive.

4-4-Propriétés associatives des pectines :

Les produits alimentaires transformés, forment des systèmes complexes, structurés par un ensemble d'ingrédients tels que les polysides dont les pectines, les lipides, les protéines, les minéraux, l'eau et l'air.

Ces éléments structurants peuvent au cours de la transformation des aliments, être modifiés, conférant ainsi au système de nouvelle fonctionnalité.

La structure finale est donc déterminée par les interactions entre les différents composants au sein du produit.

4-4-1-Interaction gélatines / pectines :

La gélatine est utilisée presque exclusivement en confiserie ou en pâtisserie .Selon Sharma et al., (2006), une teneur de 7 à 15 % de gélatine contribue à une bonne fermeté.

L'utilisation de la gélatine seule, pose le problème de la mauvaise conservation du produit fini à la température ambiante ou dans les régions chaudes. Pour résoudre ce problème, l'industrie de confiserie a fait la combinaison de la pectine à la gélatine, ce qui confère au produit fini les propriétés suivantes :

§ Stabilité aux températures élevées

§ Longues stabilité et durée de conservation

§ Augmentation de la vitesse de gélification comparé à un système de gélatine pure, pour avoir une gélification cohérente et stable à condition que le pH soit > au point isoélectrique de la gélatine (Tolstoguzou, 1986 cité par Yapo, 2007).

2-4-2- Combinaison : pectines- protéines du lait :

Ce type de combinaison est largement utilisé pour contrôler et stabiliser certains produits laitiers acides ou des mélanges de jus de fruits et de lait et protéger les protéines d'une dénaturation thermique ou acide.

Dans un lait acidifié, les protéines sont chargées positivement ($\text{pH} < \text{point isoélectrique}$) et réagissent avec les pectines chargées négativement (Lopes da Silva et Rao, 2006; Laurent et Boulenger, 2003). Ces interactions électriques forment un complexe protéine –pectine qui stabilise les protéines du lait et empêche leur précipitation lors de la pasteurisation .L'effet globale des pectines sur les protéines dépend très sensiblement de :

° Leur concentration

° Du pH et de la concentration des contre-ions (K^+ , Ca^{++} , Na^+).

Un cas particulier, c'est la stabilisation des caséines par les pectines. Dans ce cas, selon Willats (2006) (figure 14, en annexe) deux situations différentes peuvent se produire :

F Dans un système en défaut de pectine une chaîne pectique s'associe simultanément à plusieurs particules de caséines il s'ensuit une floculation par pontage. Il peut se produire une stabilisation stérique de la dispersion colloïdale, due à une saturation de la surface de revêtement des polymères pectiques absorbants.

F En présence d'un excès de pectine, il y a formation d'un réseau de gel dans la phase aqueuse parmi les particules de caséines avec des chaînes pectiques bi-phasiques par conséquent le système devient monophasique avec une dispersion continue de particules de caséine dans la phase aqueuse.

Les pectines HM ont de faibles interactions avec la caséine, elles stabilisent cependant efficacement les dispersions de caséine à pH 3.7- 4.2 (Yapo, 2007; Lopes Da Silva et Rao, 2006).

Les pectines LM (DE 36 %) en association avec les protéines donnent des gels solides à pH proche à la neutralité, un excès de protéines cause une capacité croissante.

Selon Laurent et Boulenguer (2003), l'effet bénéfique des pectines dépend du type de protéine employé.

4-4-3 Combinaison : pectines - amidon :

La fabrication de friandises fourrées à la gelée constitue sans doute, le principal domaine d'application alimentaire de cette combinaison (Sharma et al., 2006).

La texture du produit final dépend énormément du ratio pectine/amidon par comparaison au gel de pectine pure. Cette association confère au produit final un aspect visqueux, la consistance de ce dernier dépend :

§ de la nature et de l'origine de l'amidon

§ du type de pectines

4-4-4 Combinaison pectine- agar-agar :

L'agar agar est l'agent gélifiant de prédilection des produits pâtisseries aérés, notamment les plats de guimauve (Sharma et al., 2006). La substitution partielle de l'agar-agar par la pectine peut améliorer les propriétés organoleptiques du produit, cette combinaison permet de :

- ° Fournir une saveur plus distinguée
- ° Réduire l'activité de l'eau et par conséquent prolonger la durée de conservation du produit avec une meilleure stabilité

4-4-5-Combinaison : pectines –alginate :

Les associations pectines – alginates peuvent être utilisées dans les systèmes où la prise en gel exige une basse température (Sharma et al, 2006).

Selon Sharma et al. (2006); Lopes Da Silva et Rao (2006), ces interactions dépendent de plusieurs facteurs :

§ DM de la pectine.

§ Rapport acide manuronique/acide glucuronique.

§ pH du milieu réactionnel d'alginate.

Les alginates riches en acides glucuroniques en association avec les pectines HM, forment des gels de bonne qualité rhéologique. La gélification de pectine LM /alginate, nécessite un milieu fortement acide ($\text{pH} < 2.8$), dans ce cas les chaînes doivent être suffisamment non chargées pour que des interactions se produiraient et que l'estérification de la pectine ne soit finalement nécessaire que pour stabiliser le gel formé par répulsion électrostatique (Sharma et al., 2006).

4-4-6-Combinaison pectine HM –pectine LM :

Les mélanges entre pectines de différents types sont souvent réalisés dans des préparations alimentaires pour obtenir des produits avec un certain nombre de fonctionnalités (Lofgren et Hermanson, 2007, cités par Yapo, 2007).

Les gels de l'association HM/LM nécessitent certaines conditions bien distinguées : la présence d'ions Ca^{++} , le pH égale à 3 et la teneur en sucre égale à 60. Les microstructures de ces gels sont différentes de celles de gels de pectine HM ou LM pure ; En absence de Ca^{++} , elles présentent des pores plus petits avec une meilleure homogénéité.

4-5-Les propriétés thérapeutiques des pectines :

De par ses propriétés physicochimiques intrinsèques, la pectine peut jouer un rôle bénéfique en nutrition humaine en piégeant un certain nombre d'éléments présents de la lumière intestinale, ceux cités ci-dessous sont parmi ces effets bénéfiques :

§ La régulation du taux de cholestérol hépatique ;La pectine assure une activité hypocholestérolémiant, en effet une dose de 6g/jour de pectine réduit à 13 % le taux de cholestérol (Sharma et al., 2006; Sriamornsak, 2003; Jourain et al., 2005; Willats et al., 2006).

§ La fixation des substances toxiques tels que les radio-nucléotides et les métaux lourds (Jourain et al., 2005).

§ L'effet ou activité anti-cancer de divers types, notamment ceux de la prostate, du sein et du colon (Sharma et al., 2006; Manderson et al., 2005; Yamadam, 1996; Reiser, 1986 cités par Willats, 2006).

§ L'amélioration de la digestibilité des protéines.

§ La pectine présente une activité anti-inflammatoire.

§ Elle est considérée comme une fibre alimentaire, réglant ainsi le transit intestinal, absorbant les sels biliaires et présentant une action sur la satiété (Herbsthler et Fox, 1998).

§ Les pectines sont considérées comme des ingrédients prébiotiques spécifiques, qui favorisent la croissance d'organismes bénéfiques dans le colon, tout en freinant le développement et l'activité des organismes pathogènes (Manderson et al., 2005 ; Sharma et al., 2006).

Selon Manderson et al. (2005), la pectine en tant qu'agent prébiotique, en combinaison avec un organisme probiotique permet :

§ D'améliorer la santé intestinale.

§ De renforcer le système immunitaire.

§ D'accroître la résistance à la maladie.

Chapitre 3 : Industrie, réglementation et qualité hygiénique des pectines

1-Production industrielle des pectines :

Bien que les pectines soient présentes en quantités appréciables dans de nombreux produits végétaux, le nombre de sources industrielles est extrêmement limité.

A l'heure actuelle seuls deux co-produits de l'industrie des jus de fruits: marcs de pomme, écorces d'agrumes, sont utilisés comme source industrielle de pectines en raison notamment de leur faible prix, de leur disponibilité et de leur forte teneur en matière sèche. (Burton et al., 2007; Lopes Da Selva et Rao, 2006; Ralet et al., 2001; Thibault et al., 2000).

Les pectines de pommes sont généralement estérifiées à 71 % et acétylées seulement à 4 % et présentent une masse moléculaire de 200 – 360.000.

Les résidus de jus d'agrumes peuvent être utilisés comme la pulpe desséchée ou la mélasse. On peut en extraire des pectines estérifiées à 64 % et acétylées à 3 % avec une masse moléculaire de 400 à 50.000 pour l'orange et 200 à 60.000 pour les citrons (Schieber et al., 1994 cités par Schieber et al., 2003).

Selon la même référence, les pectines de pommes sont considérées comme de meilleurs gélifiants, par rapport aux pectines des peaux d'agrumes.

Les pectines peuvent être aussi récoltées dans les déchets frais de nectars de pêches, ce sont des pectines fortement méthoxylées et bonnes pour la gélification, mais on ne peut les extraire des déchets une fois séchés car leurs qualités est détériorée au cour du stockage et il faut donc les extraire sur le champ, ce qui n'est pas forcément commode et économique.

Les pulpes de betteraves, les capitules de tournesol, les sous produits d'oliviers et les pulpes de pomme de terre sont souvent cités comme sources potentielles des pectines, mais elles ne sont pas utilisées industriellement.

Selon Ralet et al. (2001), on peut utiliser un mélange de deux sources par traitement, à l'acide dilué, suivi d'une neutralisation partielle avec des sels de Na ou K.

Toute une gamme de pectines est ainsi produite variant principalement par le degré de substitution de la fonction carboxylique par des groupes méthyles et des groupes amides.

1-1-Extraction de pectine :

1-1-1-Matière première :

Selon May (2000); Burton et al., (2007); Koubala et al., (2007), Les pectines sont extraites à partir des résidus de l'industrie des jus de fruits ,marcs de pommes et écores d'agrumes (citron, citron vert, orange, pamplemousse) ; Ces matières premières doivent être séchées rapidement pour éviter le développement de microorganismes produisant des enzymes pectolytiques.

Les écorces d'agrumes doivent de plus subir un blanchiment pour éviter l'action néfaste de pectines méthylesterase endogènes (Ralet et al., 2001). Les teneurs en pectines sont d'environ 10 – 15 % dans les marcs de pomme et 20 – 30 % dans les écores d'oranges.

Les applications des pectines issues de marcs de pomme ou d'écorces d'agrumes sont les mêmes.

1-1-2-Méthodes d'extraction :

Dans la paroi végétale, les pectines existent sous des formes liées (en association avec d'autres polymères pariétaux) et sous formes libres.

Les pectines libres (ou pectines solubles) proviennent généralement des activités endogènes des enzymes et des agents chimiques de la paroi sur les pectines liées.

Une action physique peut aussi provoquer la libération et la solubilisation des pectines initialement liées.

Les pectines peuvent par conséquent être extraites des parois végétales par trois différentes méthodes :

1 -chimique,

2- enzymatique

3- physique.

1- 1-2-1-Extraction chimique :

En industrie, les principales fonctionnalités recherchées des pectines sont les propriétés gélifiantes. Il s'agit donc de produire des pectines solubles en milieu aqueux capable de former des gels dans des conditions précises.

Actuellement les recherches sur les pectines s'orientent vers d'autres applications, leur activité émulsifiante et la stabilité des émulsions d'huile dans l'eau (Yapo et al., 2006).

La plupart des pectines solubles des fruits passent dans le jus. L'extraction consiste à solubiliser les pectines restant dans la pulpes ou les écorces, à l'aide d'acide dilué, à chaud. Les deux matières premières qui servent à produire des pectines commerciales sont les pelures (humides ou sèches) d'agrumes et des marcs (secs) de pomme.

Leurs teneurs sont relativement importantes : 10 – 15 % pour les marcs secs de pommes (Ralet et al., 2001; Willats et al., 2006) et 20 – 30 % pour les pelures sèches d'agrumes (Thibault et al., 2000; Ralet et al., 2001; Herbstreith et Fox, 2006).

En général après extraction industrielle du jus de citron ou de pomme, les marcs de pommes sont rapidement séchés tandis que les pelures d'agrumes sont d'abord blanchies avant d'être séchés, pour éviter une désintégration de matière, lors de l'extraction des pectines et pour empêcher tout développement de microorganismes susceptibles de produire des enzymes de dégradation des pectines, et augmenter la stabilité du produit pendant le transport et le stockage(Ralet et al., 200; Lopes Da Selva et Rao, 2006).

Le processus de production de pectine comprend trois étapes principales (figure 15) :

< Préparation de la matière première et solubilisation de la protopectine.

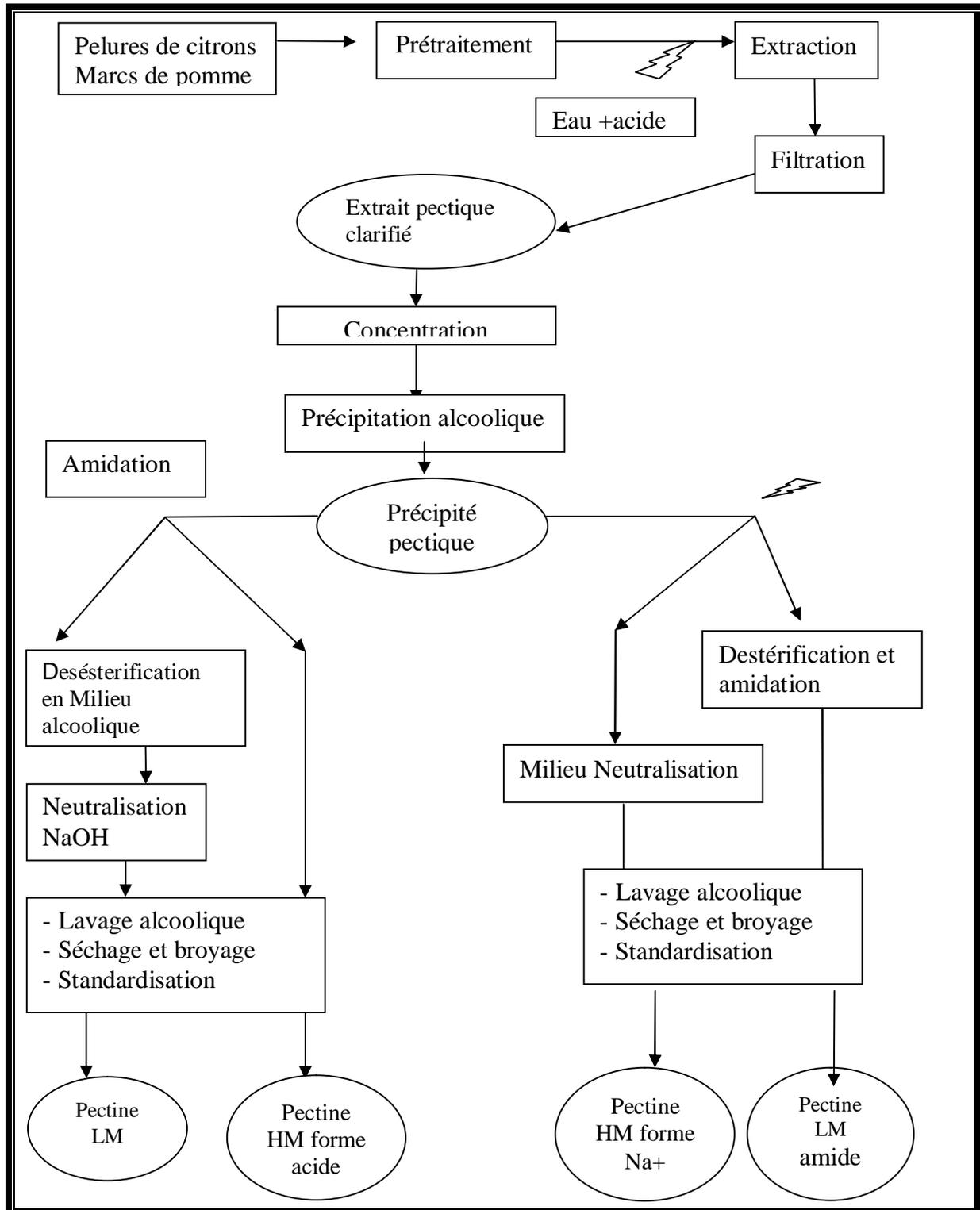
A Précipitation alcoolique des pectines.

B Lavage, séchage, broyage et standardisation des pectines extraites.

Les pectines sont extraites des matériels pariétaux par un acide dilué, communément avec l'acide nitrique (Thibault et al., 2000; Ralet et al., 2001).

Les conditions d'extraction (pH, température, temps et ratio : solide-liquide) doivent être optimisées pour obtenir chaque type de pectine avec des rendements acceptables.

Pour des pH de l'ordre de 1.5 à 3 et des températures de 60 à 100° C, la durée de l'extraction peut varier de 30mn à plusieurs heures (tableau 8).



§ **Figure 15:** Représentation schématique d'un procédé industriel de production de pectine (selon Ralet et al., 2001)

§ **Tableau 8** : Conditions d'extractions par voie chimique et rendements en pectines extraites de différents fruits (synthèse des travaux publiés)

CONDITION D'EXTRACTION					RENDEMENTS (%)	REFERENCES
Matières premières	Agents de solubilisation	pH	Température En ° C	Temps en min		
Capitules de tournesols	Hexameta-phosphate	5	65	20	11,4	Sahari et al., (2003)
Marc de pommes	Hcl	1,8	85	30	24,89	Hwang et al., (1998)
Marc de pommes	Acide citrique	-	50-100	30-80	5,7-16,8	Macron et al., (2005)
Marc de pommes	Acide nitrique	2,5	80	60	39,6	Constenla et al., (2002)
Fraises	-CDTA (*) -Hcl -NaOH	4,8-5	38	6 h	20 ,8 4 20	Legentil et al., (1995)
Pulpes de mangues	-Hcl	1,5	85	60	26,3	Koubala et al., (2007)
	-eau desionisée	-	75	60	13,2	
	-oxalate d'ammonium	4,6	85	60	31,8	
Pulpes de galgals	Hcl	-	38	60	20,8	Attri et Maini (1995)
Citrons	Acide nitrique	1,6	80	60		Akhatr et al., (2002)

(*) CDTA : cyclohexane-trans-1, 2-diaminetetra-acétate

Selon Joye et Luzio (2000) cités par Yapo et al., (2007), les conditions d'extraction souvent utilisées sont :

§ pH de 1.5 à 3.

§ température de 60 à 100° C.

§ temps de 0.5 à 6 heures.

§ Le ratio solide-liquide doit être correctement défini pour assurer une bonne agitation du milieu réactionnel au cours de l'extraction et une séparation aisée du liquide de la matière insoluble. Il se définit en tenant compte de la nature (humide ou sèche) des matières premières.

En général, les pectines de marcs de pommes sont extraites avec un ratio solide – liquide plus élevé (1/17) que les pectines de pelures sèches d'agrumes (1/35), car les premières sont plus sujettes à la désintégration (Thibault et al., 2000; Ralet et al., 2001).

A la fin de l'extraction, les deux phases sont séparées par centrifugation et/ou filtration. Cette étape est assez délicate car la séparation des liquides visqueux des particules solides est parfois moins aisée, surtout pour des matières sujettes à la désintégration.

Ces opérations sont souvent réalisées à températures relativement élevées dans le but de diminuer la viscosité.

Cette étape requiert par conséquent l'établissement d'un bon compromis entre une extraction efficace et une séparation aisée (Ralet et al., 2001, Thibault et al., 2000). Toutes les deux dépendent du ratio solide –liquide.

Pour les pectines issues de la pomme, il est obligatoire d'ajouter des amylases pour dégrader l'amidon co-extrait de cette matière première.

Dans le but de prévenir les dégradations des pectines extraites (déméthylation ou hydrolyse des liaisons glycosidiques) le pH doit être rapidement amené entre 3 et 4 et la température abaissée au terme de l'étape extraction avant l'opération de précipitation.

Des bases faibles, telles que le carbonate de sodium ou l'ammoniaque est utilisé pour minimiser le risque de réaction de β -élimination.

Selon Thibault et al., (2000), les extractions limpides obtenues contiennent environ 0.3 – 0.4 % de pectines, qui sont ensuite récupérées par précipitation soit dans l'alcool (isopropanol, méthanol ou éthanol) soit dans les sels à bases d'aluminium (chlorure et sulfate) (May, 2000; Zhondong et al., 2005; Lopes Da Silva et Rao, 2006).

Cependant, en Europe, la précipitation par les sels à base d'aluminium est de moins en moins utilisée à cause de la capacité de pollution plus élevée des effluents que génèrent ces sels (May, 2000). De plus, à la différence du chlorure d'aluminium, les alcools usés sont faciles à recycler (Yapo, 2007). Alors qu'en USA ces sels sont encore utilisables.

Les précipités sont récupérés par centrifugation et filtration et puis graduellement purifiés de contaminants de toutes sortes (pigments, métaux lourds, polyphénols, etc.) par plusieurs lavages avec l'alcool à différentes concentrations.

La désesterification peut se dérouler dans l'extrait concentré ou le plus souvent dans la suspension alcoolique, dans des conditions qui favorisent l'hydrolyse des liaisons esters au détriment des ruptures des liaisons glycosidiques (Thibault et al., 2000). Elle s'effectue, soit en milieu acide, soit en milieu alcoolique et ammoniacal.

La suspension en milieu alcoolique des pectines permet de modifier certaines de leurs caractéristiques, notamment le DM.

En milieu isopropylique (ou éthanolique) et à une température $< 50^{\circ} \text{C}$ par traitement avec un acide ou une base, il est possible de les déesterifier aux DM souhaités (55 % à 74 %) (Thibault et al., 2000).

En plus, en présence de l'acide, les chaînes latérales d'oses neutres sont dégradées, permettant ainsi l'enrichissement des produits finaux en acide galacturonique (Voragen et al., 1995 cités par Yapo, 2007).

La déméthylation en milieu ammoniacal a lieu à une température en dessous de 10°C , pour éviter des réactions de dégradation par β - élimination, et s'accompagne d'amidation des fonctions carboxyliques, ainsi des pectines faiblement méthylées (DM de 30 - 35 %) et amidées (DA de 15 - 20 %) peuvent être obtenues. La législation internationale exige que les pectines amidées commerciales aient un DA < 25 %.

La désesterification acide ou l'amidation sont arrêtées par ajustement du pH ou par séparation très rapide des pectines en suspension dans l'alcool, celles-ci sont ensuite récupérées et séchées.

Les opérations de broyage et de tamisage sont ensuite effectuées, car les pectines sont le plus souvent vendues sous forme de poudre.

Le procédé peut inclure une étape d'échange d'ion pour obtenir des pectates, ce qui facilite leur utilisation en industrie alimentaire (Joye et luzo, 2000 cités par Yapo, 2007).

1-1-2-2- Nouvelles méthodes d'extractions :

1-1-2-2-1 – Extraction enzymatique :

Les enzymes non pectolytiques sont les cellulases, hémicellulases et protéases. Ces enzymes solubiliseront les pectines par destruction des réseaux celluloses, hémicelluloses et protéiques (Ptichkina et al., 2008)(figure 16).

En comparaison avec l'extraction acide, l'extraction des pectines par les enzymes non pectolytiques conduit à un rendement plus important (Shokdina et al., 1998; Panouille et al., 2006, cités par Yapo, 2007) (tableau 9, en annexe).

En revanche les pectines extraites par ces types d'enzymes ont des masses molaires et des viscosités intrinsèques moins élevées que les pectines extraites par voie acide (Shkodina et al., 1998, Panouilles et al., 2006, cités par Yapo, 2007; Ptichkina et al., 2008).

De plus leur pouvoir gélifiant est quasiment nul (Shokdina et al., 1998, cités par Yapo, 2007; Ptichkina et al., 2008).

La capacité de ces types d'enzymes à activité pectinolytique secondaire plus ou moins importante ont été rapportées (Shokdina et al., 1998; Panouilles et al., 2006, cités par Yapo, 2007). Leurs efficacités sont probablement renforcées (ou favorisées) par les contaminants pectolytiques.

En effet une préparation enzymatique de *Bacillus subtilis* possédant des activités principales d'endoarabinase et d'endogalactanase et une activité résiduelle d'endopectatylase, a pu extraire des pectines de différents parois avec des rendements assez importants suivant l'origine végétale (Sakia et Okushima, 1980).

De manière générale, les enzymes isolent des fractions pectiques d'une grande diversité, allant du polymère de haute masse molaire à ceux de faibles masses molaires.

1-1-2-2-2 – Extraction physique :

L'extraction des pectines de paroi végétale exige un milieu aqueux (eau pure, agent chimique dilué ou enzymatique). Cependant de nombreux procédés d'extraction des pectines sont considérés comme physiques (ou mécaniques) (tableau 10, en annexe). Parmi ces procédés on trouve :

- ° Extraction par cuisson – extrusion.

- Extraction par Micro-onde (Fiscaux et Chau 2000 ; Fishman et al., 2000, Sateumdn et al., 2006, cités par Fishman et al., 2006).
- Extraction par Soxhlet ou pression manuelle.
- Extraction par Flash-détente.

Le rendement et la composition osidique des pectines extraites par cuisson – extrusion varient en fonction des paramètres d'extraction. Le rendement est dans certains cas similaire à celui obtenu par extraction acide (Ralet et Thibault, 1994 cités par Yapo, 2007).

L'extraction par Soxhlet donne un rendement pectique plus important que l'extraction par pression manuelle. Cette dernière conduit dans certaines conditions à un rendement plus élevé que l'extraction par micro-onde assistée.

1-1- 3- Standardisation des pectines :

Selon les conditions climatiques, le moment de récolte, la variété, des matières premières utilisées ont une incidence sur la quantité et la qualité des pectines extraites (DM, masse moléculaire, . . .) (Thibault et al., 2000; Ralet et al., 2001).

En général, les poudres des pectines commerciales d'agrumes et de pommes sont respectivement de couleur blanche et jaune brune à la concentration de 1 % ; Leur pH est d'environ 3 – 4, ce qui leur assure une grande stabilité chimique pour une longue période de conservation.

A cause de la large variation du pouvoir gélifiant, dues aux différence des matières premières, les pectines HM commerciales sont souvent standardisées par addition de sucre (saccharose, glucose, lactose) (Thibault et al., 2000; Ralet et al., 2001).

L'unité conventionnelle standard s'appelle le degré SAG ou US –SAG qui indique le ratio (en pourcentage) du poids de sucre sur le poids de pectine qu'il faut, pour produire un gel (de force) standard dans des conditions bien précises (Thibault et al., 2000; Ralet et al 2001; Herbstreith et Fox , 2006).

Les pectines HM commerciales sont fréquemment standardisées à 150 SAG (c'est-à-dire 1g de pectine est capable de gélifier 150 g de saccharose dans des conditions standard de pH et de température).

Selon Herbstreith et Fox (2006), des gels stables peuvent être obtenus pour une teneur en saccharose de 65 % et à pH= 3, mais en général 5° SAG suffisent pour produire un bon gel (Yapo, 2007).

Les pectines LM, en raison de leur domaine d'utilisation assez large, ne sont pas standardisées (Thibault et al., 2000; Ralet et al., 2001).

Cependant lorsqu'elles le sont, le grade souvent utilisé est le degré FCC (°FCC) et la valeur standard est de l'ordre de 100° FCC (Yapo, 2007).

Les pectines LM sont donc réservées aux préparations de produits à teneur réduite en sucres telles que gelée de fruits et marmelade, confiture et gélés de préparation pour diabétiques, sauces de nappage ou décors aux fruits, fourrage pour pâtisseries fraîches (Herbstreith et Fox 2006; Thibault et al., 2000).

Selon Herbstreith et Fox (2006), les pectines LM permettent aussi de préparer seules ou en association avec les caraghénanes, les galactannes et les amidons, de nombreux desserts à base de lait tel que le lait gélifié aromatisé, crèmes desserts préparées à froid ou à chaud et entremets associant le lait et les fruits (morceaux de pulpes tamisées ou jus).

La réactivité des pectines LM vis-à-vis du calcium est également mise à profit dans la préparation des bases aromatisées de fruit, elles confèrent une propriété anti-synérèse appréciés dans les produits mixtes du type yaourts aux fruits, crèmes glacées.

La pectine présente aussi une action protectrice vis-à-vis des protéines du lait en milieu acide qui lui permet de franchir le point isoélectrique sans risque de coagulation, cette propriété est utilisée pour la préparation de boissons lactées à base de jus fruits dont le pH final est voisin de 4 (Herbstreith et Fox 2006; Thibault et al., 2000) .

Dans tous les cas les appareils courants de standardisation sont le " ridgelimeter " (Herbstreith et Fox, 2006 ; Yapo et Koff, 2006), et le penetrometre ou pectinometre (Herbstreith et Fox, 1998(a)).

Les caractéristiques spécifiques recherchées des pectines commerciales sont les teneurs en acides galacturonique, en cendres et leur DM.

2-Réglementation et qualité hygiénique des pectines :

L'utilisation des additifs est strictement réglementée. Les mécanismes réglementaires varient quelque peu d'une région à l'autre, mais ils ont tous l'objectif de garantir la sécurité des consommateurs en définissant le type d'additif pouvant être utilisé, en quelle quantité, dans quel type de denrée et en employant quels moyens technologiques.

Tout nouveau additif en alimentation humaine fait l'objet d'une procédure d'autorisation basée sur l'examen d'un dossier complet, ce dossier est constitué selon des

critères généraux de la Commission Européenne et par des lignes directrices du Comité Scientifique de l'Alimentation Humaine.

2-1-Reglementation européenne

Les règlements sur les pectines sont basés sur des évaluations toxicologiques du Comité Scientifique de l'Alimentation Humaine de l'Union Européenne. Ce comité est composé d'expert agréés provenant de tout les Etats membres. Ils se fondent sur leurs propres travaux et sur les conseils du " Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives "(Comite conjoint OAA/OMS sur les additifs alimentaires) et de l'Organisation Mondiale de la Santé. Toutes les pectines (amidées ou non, LM ou HM) sont référencées en Europe comme additifs alimentaires sous les numéros E440i et E440 respectivement.

2-2-Reglementation aux Etats-Unis

L'emploi des additifs est réglementé par la Food and Drug Administration. Les additifs qui étaient déjà couramment utilisés avant 1958 sont classés dans la catégorie GRAS (Generally Regarded As. Safe) généralement considérés comme sains et sont exclus de la définition légale des additifs et n'ont pas de dose journalière admissible (DJA).

Ces organismes scientifiques de législation sur les additifs ont défini la pectine et la pectine amidée : la pectine (E440ii) est constituée essentiellement par les esters méthyliques partiels de l'acide polygalacturonique ainsi que par leurs sels de sodium, de calcium et de l'ammonium.

Les caractéristiques générales des pectines déterminées par ces organismes sont illustrées sur le tableau 11.

2-3 Pectines et santé

En tant qu'additif alimentaire, les pectines peuvent conduire à des effets néfastes pour la santé.

On définit la dose journalière admissible, au-delà de laquelle cette dose peut engendrer :

§Des réactions d'allergie et d'intolérance avec la manifestation d'une intolérance beaucoup plus remarquée qu'une allergie.

§Des symptômes cliniques dont les plus courants se produisent au niveau des voies respiratoires (asthme et rhinite) et sur la peau (urticaire ou angiodème).

§Des symptômes migraine, irritation de l'appareil intestinal, troubles psychologiques et arthralgie.

Tableau 11 : Réglementation sur les pectines (Herbstreith et Fox, 2006)

	EU E440 (I)PECTINES	EU E440 (II)PECTINES AMIDES	FAO/WHO PECTINES JECFA	FDA/FCC PECTINES	USP PECTINES
1-Pertes par déshydratation	Max 12 %	Max 12 %	Max 12 %	Max 12 %	Max 10 %
2-Cendres insolubles dans l'HCL3N	Max 1 %	Max 1 %	Max 1 %	Max 1 %	-
3 -Insolubles totaux	-	-	Max 3 %	Max 3 %	-
4-Methyl sulfate de sodium	-	-	-	Max 0,1 %	-
5-Teneur en méthanol, éthanol,ou isopropanol	Max 1%	Max 1%	Max 1 %	Max 1 %	-
6-residus d'anhydrides sulfureux	Max 50 ppm	Max 50 ppm	Max 50 ppm	Max 50 ppm	-
7-Teneur en azote (pectines amides)	-	2,5	2,5	-	-
8-Teneur en acides galacturonique	Min 65 %	Min 65 %	Min 65 %	-	Min 74 %
9-Teneur en méthanol	-	-	-	-	Min 6,7
10-Degre d'amidation	-	Max 25 %	Max 25 %	Max 25 %	-
11-Sucres et acides organiques	-	-	-	-	Max 160 mg/g
12-Arsenic	Max 3 ppm	Max 3 ppm	-	-	Max 3 ppm
13-Plomb	Max 5 ppm	Max 5 ppm	Max 5ppm	Max 5 ppm	Max 5 ppm
14-Cadmium	Max 1 ppm	Max 1 ppm	-	-	-
15-Mercure	Max 1 ppm	Max 1 ppm	-	-	-
16-Métaux lourds exprimés en Pb	Max 20 ppm	Max 20 ppm	-	-	-
17-Pesticides	En accord avec la réglementation de aliments	En accord avec la réglementation de aliments	En accord avec la réglementation de aliments	En accord avec réglementation de aliments	En accord avec la réglementation de aliments
18-Germes pathogènes	En accord avec la réglementation des aliments	En accord avec la réglementation de aliments			Absence des Salmonella
19-Impuretés organiques volatiles	En accord avec la réglementation des aliments	En accord avec la réglementation de aliments			Limites définés

Partie expérimentale

1- Extraction des pectines

1-1- Prélèvements et opérations de préparation des échantillons

1-1-1-Prélèvements des échantillons

- ° Les écorces d'orange ont été prélevées à l'ENAJUC de N'gaous, après l'extraction du jus, d'un mélange de variétés, et plus exactement au niveau de la raffineuse, à la sortie de la chaîne de fabrication lors de la campagne 2005-2006 au mois d'avril.
- ° La pulpe d'abricot a été prélevée à l'ENAJUC de N'gaous, après l'extraction du nectar d'un mélange de variétés à la sortie de la chaîne de fabrication au niveau de raffineuse, lors de la campagne 2005-2006, au mois de mai.
- ° Les pommes sont achetées du marché (mois de juillet, 2005), l'extraction de jus a été réalisée au niveau du laboratoire, ce qui permet de recueillir d'une part le jus et d'autre part le marc de pommes.

1-1-2--Opérations des préparations:

50 Kg d'écorces d'oranges et 20 Kg de pulpes d'abricots recueillis à l'ENAJUC de N'gaous, ont subits les opérations suivantes:

1-1-2-1-Blanchiment :

Cette opération sert à l'inactivation des enzymes encore présents après l'extraction de jus, et dont le but est d'assurer la stabilité des matières premières (MP) durant le transport et le stockage jusqu'à l'utilisation (Lopes da Silva, 2006).

L'opération consiste à faire passer l'échantillon dans l'eau chaude à 90° C pendant 10 à 15 mn (Cheftel et Cheftel, 1978).

1-1-2-2-Lavage :

Après le blanchiment, les échantillons sont immédiatement été refroidis par des lavages successifs avec de l'eau jusqu'à obtention d'un Brix proche de zéro, mesuré au moyen d'un réfractomètre portatif, après chaque lavage.

Rappelons que ces lavages permettent d'éviter la dégradation des pectines qui peuvent avoir lieu à des $T \geq 60$ ° C, d'éliminer les sucres, les principes amers, les matières colorantes et les composés solubles dans l'eau.

1-1-2-3 Séchage :

Après le lavage, les matières premières ont été pressées manuellement au travers d'un tissu en mousseline pour faciliter le séchage, celui-ci se fait dans un séchoir industriel de type L-Thinor à 60° C. On a ainsi obtenu à partir de 50 Kg d'écorces d'oranges fraîches 5 Kg d'écorces sèches et de 20 Kg de pulpes d'abricots fraîches 4,5 Kg de pulpes sèches. Ces matières premières sèches ont été emballées dans des sachets en plastiques propres.

Les marcs de pommes obtenus au laboratoire ont subi les mêmes opérations (blanchiment, lavage et séchage).

Le séchage, dans ce cas se fait dans un séchoir sous vide de type ELVOO, et le produit est conservé dans des sachets en plastique.

1-2- Extraction des pectines

L'extraction des pectines des différents types d'échantillons (écorce, pulpe et marcs) se fait en milieu acide à chaud, selon le protocole inspiré de Kratchanova et al. (2004) (figure 17).

1-2-1-Solubilisation :

Les paramètres de solubilisation retenus sont ceux préconisés par Kratchanova et al. (2004) :

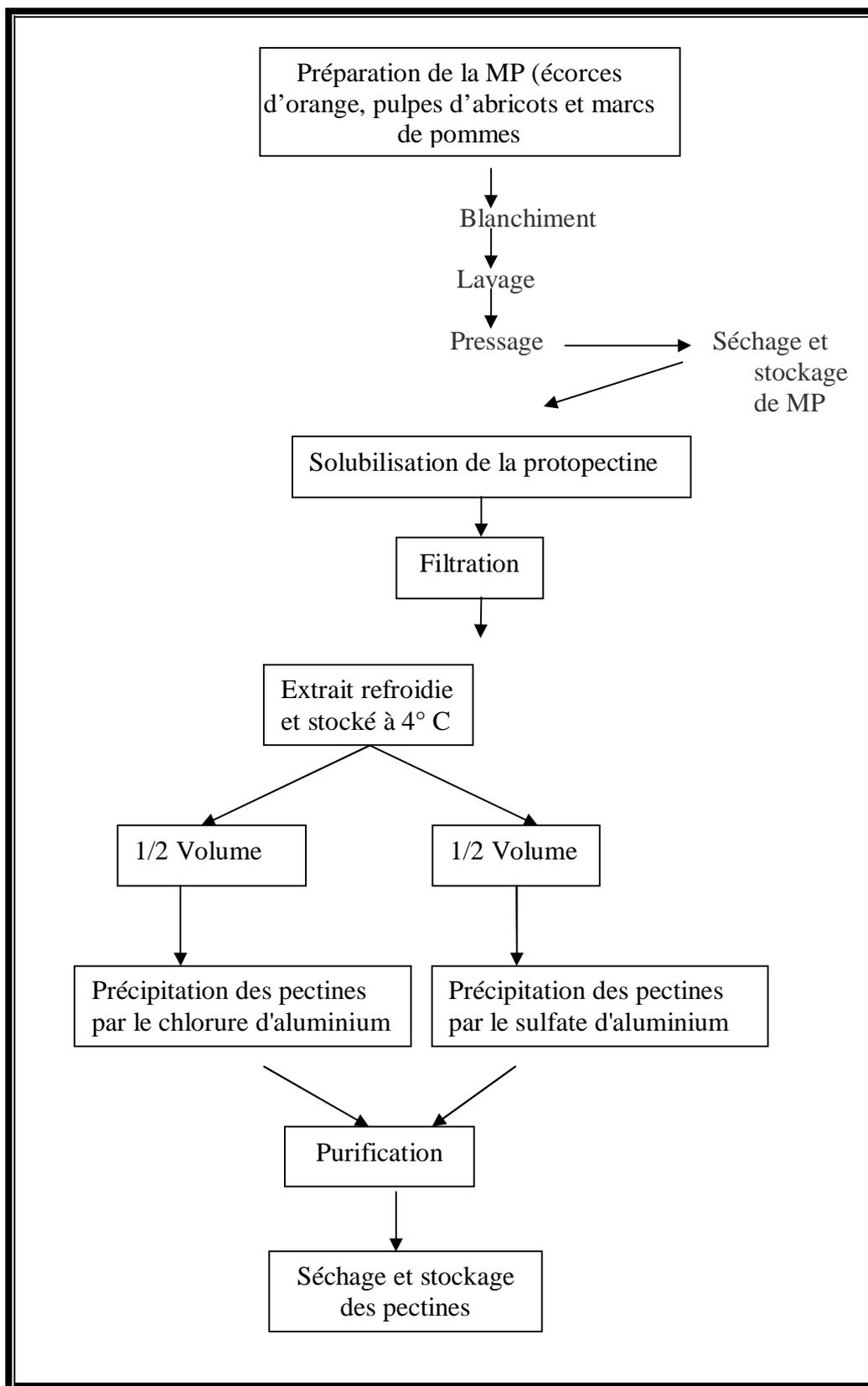
○ Rapport : échantillon sec/eau = 1 kg/50 l d'eau

○ Température variable entre : 80 – 82 ° C

○ Temps : 01 heure

○ pH = 1.5

A 250 grammes de l'échantillon on ajoute 12.5 litres d'eau distillée, le pH est ramené à 1.5 par de l'acide chlorhydrique 0.5 N. Le mélange est chauffé pendant 01 heure à 80 – 82 ° C, sous agitation continue au moyen d'un agitateur électrique.



§ *Figure 17* : Etapes et conditions d'extraction expérimentale des pectines

1-2-2- Filtration :

A la fin de la solubilisation, le jus pectique est immédiatement filtré et refroidi pour éviter l'éventuelle augmentation de la viscosité et la dégradation de la pectine.

La filtration se fait à travers un tissu de mousseline; Le dispositif de filtration baigne dans de la glace afin de permettre l'abaissement de la température.

Après la première filtration, les échantillons sont pressés manuellement et repris dans une quantité d'eau équivalente au 1/5 de celle ayant servi à la solubilisation, puis sont soumis à une seconde filtration, le jus pectique obtenu est conservé à 4° C pendant 24 heures.

1-2-3- Purification de l'extrait :

Après les séjours de 24 heures au réfrigérateur, le jus pectique est filtré pour permettre l'élimination des particules en suspension, encore présentes, malgré les séries de filtrations précédentes et, assurer une meilleure clarification.

1-2-4- Précipitation :

Les deux agents de précipitation retenus dans notre étude sont le chlorure d'aluminium et le sulfate d'aluminium.

1-2-4-1- Précipitation par le sulfate d'aluminium :

Les conditions de précipitation des pectines par le sulfate d'aluminium sont données par Zhongdang et al. (2005):

À un litre de jus pectique, on ajoute 50 ml de sulfate d'aluminium goutte à goutte, suivi d'un ajustement du pH à la valeur de 4 par NH_4OH 5N, sous agitation continue pendant 15 mn.

On laisse le mélange se stabiliser pendant 30mn à la température ambiante puis 01 heure à 4° C, ce qui permet la formation du gel pectine- hydroxyde d'aluminium, le gel obtenu est récupéré par filtration (photos 1,2,3,4).

La solution de sulfate d'aluminium est obtenue en dissolvant l'équivalent d'une mole Al^{+3} , d' $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3 \cdot 18 \text{H}_2\text{O}$, soit une masse de 333,2 grammes par litre d'eau distillée.

1-2-4-2-Précipitation par le chlorure d'aluminium :

Les conditions de précipitation des pectines par le chlorure d'aluminium sont données par Dennapa et al., (2006). À 1 litre de jus pectique, on ajoute 60 ml de chlorure d'aluminium (le volume peut aller de 0.4 à 1.2 %).

Les pectines sont précipitées après l'ajustement du pH dans un interval de 3.5 à 4 par l'addition d'ammoniac sous agitation continu.

Le trouble est laissé se stabiliser pendant 30mn au réfrigérateur, puis le gel pectine-hydroxyde d'aluminium est récupéré par filtration.

La solution de chlorure d'aluminium est obtenue en dissolvant l'équivalent d'une mole Al^{+++} , d' $AlCl_3$, soit une masse de 333,48 grammes par litre d'eau distillée.

1-2-5- Purification des pectines :

Les gels pectine- hydroxyde d'aluminium obtenus à partir de différentes MP (origines végétales) subissent plusieurs lavages ayant pour but d'éliminer les impuretés précipitées avec les pectines et l'excès d'aluminium.

Selon Kratchanova al. (2004) par exemple, les pectines subissent les lavages suivants :

§ Le premier lavage à l'éthanol 96 %

§ Le deuxième lavage à l'alcool acidulé (éthanol 70 % à 0.5 % HCl)

§ Le troisième lavage à l'alcool 70 % au pH neutre

§ Le quatrième lavage à l'acétone, permet d'éliminer les traces d'acide (HCl) et d'alcool absorbées par les pectines et d'éliminer celles-ci et de faciliter leur séchage (McCready, 1970; Constenla et Lazano, 2003).

C'est cette succession de lavage que nous avons appliqué à nos pectines.

1-2-6- Séchage et stockage des pectines :

Les pectines obtenues sont séchées dans le séchoir sous vide type ELVOO à la température de 60° C à une pression de 60 mm de Hg pendant deux heures.



§ *Photo 1: Précipitation des pectines d'oranges par les solvants à base d'aluminium*



§ *Photo 2 : Précipitation des pectines d'abricots par les solvants à base d'aluminium*

Après séchage, les pectines mises préalablement à refroidir dans un dessiccateur, sont alors broyées au moyen d'un moulin à café électrique et conditionnées dans des flacons en verre hermétiquement fermés.

2-Analyses des pectines extraites :

Les pectines extraites, après détermination de leurs rendements relative aux matières premières sèches sont soumises à un ensemble d'analyses dont les buts sont de:

§ Connaître l'influence de l'origine végétale et des agents de précipitation sur les propriétés structurales des pectines extraites (teneurs en acide galacturonique, en groupement méthyles, en oses neutres et en cendres) et sur les propriétés fonctionnelles.

Ces analyses sont de façon plus précise:

- ° Dosage de l'acide galacturonique
- ° Dosage des oses neutres
- ° Dosage des protéines
- ° Dosage des groupements méthyles
- ° Détermination du pouvoir gélifiant
- ° Détermination de activité émulsifiante

2-1 – Rendement :

Après l'extraction, la pectine humide est séchée à 50° C jusqu'à ce que son poids devienne constant, refroidie au dessiccateur, puis pesée au moyen d'une balance de précision de type *Sartorius*. Le rendement est exprimé en poids de pectine sèche extraite à partir de 100g de matière première sèche (pulpes, écorces et marcs), selon la méthode de Fertoni et al., (2006); Pichina et al., (2008), où il est donné par l'expression suivante :

$$R = \frac{P}{P'} \times 100$$

Où:

-P : Poids de pectine sèche

-P' : Poids de la matière première sèche



§ *Photo 3: Pectine fraîche d'oranges*



§ *Photo 4 : Pectine fraîche d'abricots*

2-2 – Caractéristiques chimiques :

2-2-1- Teneur en humidité (H %)

-Principe :

L'échantillon mis dans un creuset en porcelaine est placé dans une étuve maintenue à 105 ° C jusqu'à poids constant. Toute l'eau s'évapore et le résidu sec s'appelle la matière sèche (MS) (Mc Cready, 1970)

-Mode opératoire

Pour déterminer le taux d'humidité (H %), un gramme (1g) de l'échantillon est pesé (P1) dans un creuset à la porcelaine préalablement tarée, ensuite il est placé dans une étuve de type *HERAEUS* réglée à 105 ° C.

Après 5 heures dans l'étuve, l'échantillon est préalablement mis dans un dessiccateur jusqu'à refroidissement et ensuite pesé, l'opération est répétée jusqu'à obtention d'un poids constant (P2).

Le taux d'humidité est calculé selon la formule suivante:

$$H \% = \frac{P2-P1}{P1} \times 100$$

Où :

P1 : Poids de l'échantillon avant séchage

P2 : Poids après le séchage dans l'étuve

2-2-2- Détermination des cendres:

-Principe

Les cendres sont déterminées selon la méthode de AOAC, (1984) (Association of Official Agricultural Chemists); Ramganna (1986) cité par Sahari et al., (2003):

Une quantité de 1g de pectine pesée dans une capsule en porcelaine préalablement tarée, est mise dans le four à moufle à une température de 550 ° C pendant 24h.

Après le séjours dans le four, la capsule est refroidie dans le dessiccateur et pesée, le taux de cendres est rapporté à 100g de pectine.

2-2-3- Dosage des composés protéiques :

La détermination de la teneur en protéines des pectines se fait selon la méthode de Kjeldhal (AOAC, 1984).

La matière pectique à analyser est désagrégée par de l'acide sulfurique (0,05 N), et un catalyseur (K₂SO₄ et CuSO₄). L'ammoniac formé est libéré au moyen d'une solution d'hydroxyde de Na distillée par un traitement à la vapeur d'eau et recueilli dans un récepteur contenant de l'acide borique puis titré (méthode en annexe).

La teneur en azote des protéines est comprise dans une plage allant de 15 à 18 % d'azote, c'est pour cette raison que la détermination de la teneur en protéines est multipliée par des coefficients viennent la différence de composition en acides aminés animales et végétales. Dans le cas des pectines ce facteur est égal à 6.25 (Thomas et Thibault, 2002; Schieber et al., 2003; Macon et al., 2005; Yapo et al., 2006).

2-2-4 – Caractérisation des oses :

2-2-4-1- Dosage des sucres totaux (méthode de Dubois et al., 1956)

- Principe :

Le dosage colorimétrique des monosaccharides neutres est basé sur la formation de produit de dégradation des sucres sous l'action des acides forts.

La formation de dérivés du furfural (chromogènes) sont ensuite condensés avec diverses substances, généralement des phénols et forment des chromophores, dont l'absorbance est proportionnelle à la quantité d'oses neutres.

-Mode opératoire :

Dans des tubes à essai on met :

§ 0.5ml d'une solution d'oses, auquel on ajoute 0.5ml d'une solution de phénol à 5 % (eau).

§ 3ml d'acide sulfurique concentré versés brutalement à la surface du liquide à l'aide d'une burette afin de dégager une chaleur intense (110 ° C).

§ Pour plus de reproductibilité on peut néanmoins maintenir 5mn à 100 ° C.

§ Laisser refroidir 15-30 mn à l'obscurité et à température ambiante.

- Dosage :

Lire la densité optique (DO) à 485 nm dans des microcuvettes plastiques et tracer la courbe $DO=f(C)$. Dans chaque série de dosage sont introduits des témoins intenses constitués par des solutions d'une gamme d'oses avec du galactose (gamme étalon, annexe).

2-2-4-2- Dosage des acides uroniques (méthode de Bumenkrantz et al., 1973)

-Principe :

Le principe est le même que pour les réactions colorées des oses neutres et repose sur la condensation des dérivés du furfural formés par chauffage en milieu acide avec le réactif Metahydroxydiphénol (MHDP), pour former des complexes colorés, dont l'absorbance à 520 nm est proportionnelle à la quantité d'acides uroniques.

-Mode opératoire :

§ Dans des tubes à essai sont placés 0.5ml d'une solution d'oses et 3ml d'acide sulfurique concentré.

§ Le mélange est porté à 100 ° C au bain Marie pendant 15mn, la réaction est arrêtée en plongeant les tubes dans un bain de glace pendant 5mn, le mélange est ensuite agité au vortex.

§ 3ml de réactif MHDP et 2ml de soude (Na OH) 12N, sont ajoutés au mélange, le milieu réactionnel donne une coloration rose stable pendant quelques heures, après agitation au vortex, l'absorbance est mesurée à 520 nm et rapporté à la couleur de la gamme étalon qui correspond à l'acide galacturonique (gamme étalon, en annexe).

2-2-4-3-Composition osidiques de polymères pectiques par chromatographie phase gaz (CPG)

-Principe

C'est la méthanolyse et la silylation des polysaccharides pectiques analysés par chromatographie en phase gaz (CPG) (Fournier, 2001), dont le principe est l'identification et dosage des monosaccharides constituant la chaîne pectique (chaîne principale et chaînes latérales), après transformation préalable des pectines de sorte que ceux-ci soient volatiles.

-Mode opératoire :

§ Préparer une solutions mères standards : 2 mM d'inositol ou de mannitol

§ Préparer dans un tube à hydrolyse à joint téflon, un échantillon contenant 1 mg de polysaccharide + 100 µl de la solution standard.

§ Hydrolyser par 1ml de trifluoroacide (TFA) 2M, 1 mg de pectine pendant 2 heures à 110° C.

§ Evaporer sous azote ou sous air comprimé et sécher à 80° C (ceci permet de couper les liaisons entre les oses).

§ Ajouter 500 microlitres du MeOH/HCl 1N, fermer hermétiquement le flacon et placer 16 à 24 h à 80° C, c'est la methanolyse.

§ Après refroidissement, évaporer le méthanol acide sous air comprimé.

§ Reprendre l'opération deux fois avec 500 microlitres du méthanol anhydre et évaporer afin d'éliminer tout résidu d'acide.

§ Pour être séparable par chromatographie phase gaz, les oses doivent être transformés en dérivés volatiles, par fixation des radicaux silylés. la silylation est amorcée en ajoutant 200 µl de HMDS +TMCS + pyridine (commerciale).

§ Tous les tubes sont laissés 20 min à 80° C. Evaporer ensuite le réactif et la pyridine et ne pas dépasser 40° C. (à cette étape on peut conserver au congélateur).

§ Un système d'injection automatique couplé à la CPG (GC 3300 Varon) permet de prélever 1ml de l'échantillon, celui-ci est évaporé et élué de la colonne sous un flux d'hélium.

§ A la sortie de la colonne, les dérivés d'oses issus de la dégradation des polysaccharides sont mises en évidence par leur temps de rétention relatifs à l'étalon interne.

§ Une gamme étalon d'oses connus (acide galacturonique, rhamnose, galactose et glucose) subit comme référence le même traitement de methanolyse et silylation que l'échantillon utilisé.

2-2-5- Dosage de méthanol selon la méthode de Klavons et Bennets (1986):

-Principe :

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 (acétylène acétone), ceci donne une coloration jaune qui est absorbée à 412 nm selon la méthode de Klavons et Bennets (1986).

-Mode opératoire :

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

§ 100 ml de cette solution sont alors prélevés et additionnés de 0,5 ml de tampon phosphate de potassium (K₂HPO₄/KH₂PO₄) 100mM, pH 7,5 et de 0,5 ml d'alcool oxydase (1µl/ml), le tout est mis 15mn dans un bain marie à 25° C, 1ml de la solution de pentanedione 0,02 mM préparée dans un mélange d'acétate d'ammonium 2M/acide acétique 0,05 M.

§ L'absorbance du milieu de réaction de couleur jaune est mesurée à 412 nm (gamme étalon, en annexe).

2- 2-6 -Détermination du degré d'estérification:

-Principe:

Le degré d'estérification est déterminé après dosage du méthanol par saponification avec NaOH (0,01N) et après détermination de la teneur en acide galacturonique anhydre (AGA) de l'échantillon.

-Expression du degré d'estérification

Le degré d'estérification est estimé par la formule donnée par Fertoni et al. (2006) suivante:

$$DE = \frac{176}{31} \times \frac{\text{MeO}}{\text{AGA}} \times 100$$

Le DE est égal au nombre de groupes carboxyliques estérifiés par du méthanol (MeO) pour 100 moles d'acides galacturonique anhydres.

2-3-Détermination de quelques propriétés fonctionnelles des pectines

2-3-1-Détermination du pouvoir gélifiant

-Principe :

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

Plusieurs méthodes penetrométriques sont proposées, mais la technique décrite par l'association internationale des fabricants de confiserie est la plus recommandée. Les pectines commerciales sont généralement standardisées à 150° SAG.

2-3-2 –Etude de l'activité émulsifiante des pectines extraites

-Principe :

L'activité émulsifiante et la stabilité de l'émulsion obtenues ont été évaluées selon le procédé de Dalev et Simeonova (1995), cités par Yapo et al. (2006):

Les pectines à la concentration de 0,05 %, ont la capacité d'émulsifier et de stabiliser des systèmes : huile- eau, contenant 43 % d'huile en présence d'un bactéricide (azide de sodium à 0,02 %).

La détermination de l'activité émulsifiante est basée sur la détermination du volume de couche d'émulsion formée par rapport au volume total de la solution préparée.

-Mode opératoire :

§ Dans des tubes de propylène à centrifuger (Sigma 3 K20) de 15ml, transparents et gradués, on ajoute 3ml d'huile végétale avec un niveau d'huile finale (43 %) aux 3ml de solution de pectines à étudier (à une concentration de 0,5 %), contenant 0,02 % d'azide de sodium, utilisé comme bactéricide.

§ Le mélange est homogénéisé à la température ambiante dans l'agitateur vortex à la vitesse maximale, pendant 3mn.

§ Après l'homogénéisation, les échantillons ont été centrifugés à une vitesse de 527g pendant 5mn à la température de 23° C.

§ Après centrifugation, on détermine le volume total (VT) et le volume de la couche d'émulsion (VCE).

L'activité émulsifiante (AE) est donnée par la relation suivante :

$$AE \% = \frac{VCE}{VT} \times 100$$

§ Les échantillons d'émulsions préparés servent à l'étude de leur stabilité (SE), après 1 jour et 30 jours de stockage de la préparation à 4° C et 23° C.

§ Après chaque durée de stockage précisée, les échantillons sont de nouveau centrifugés.

La stabilité d'émulsion est donnée par la relation suivante, décrite par Yapo et al. (2006) :

$$SE = \frac{VCE\ i}{VCE\ r} \times 100$$

Où :

VCE i : Couche d'émulsion initiale

VCE r : Couche d'émulsion après chaque durée de stockage (1jour et 30 ème jours à 4° C et 23° C).

Partie résultats et discussion

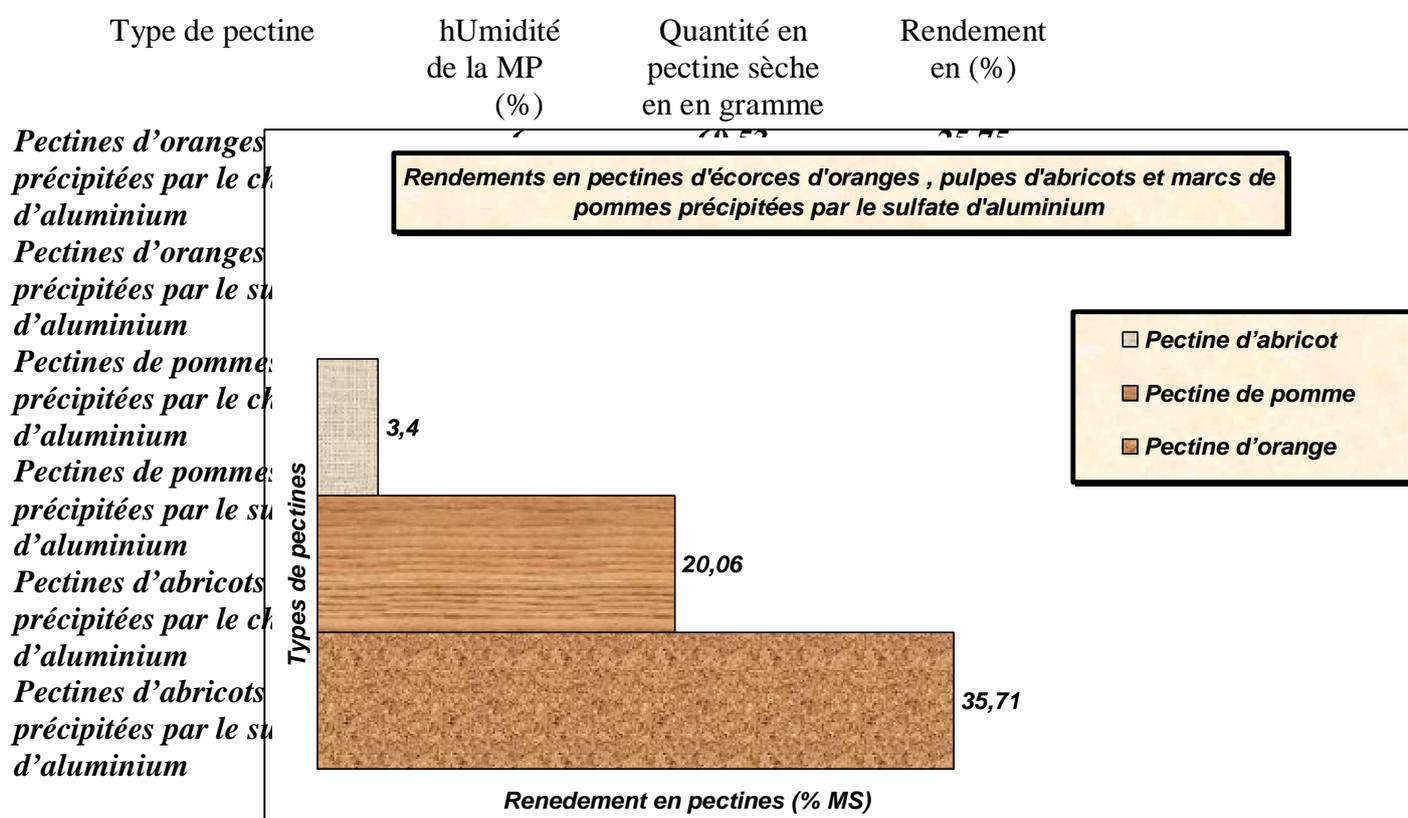
Chapitre 1 : Rendements et caractéristiques des pectines extraites

1- Rendement en pectine :

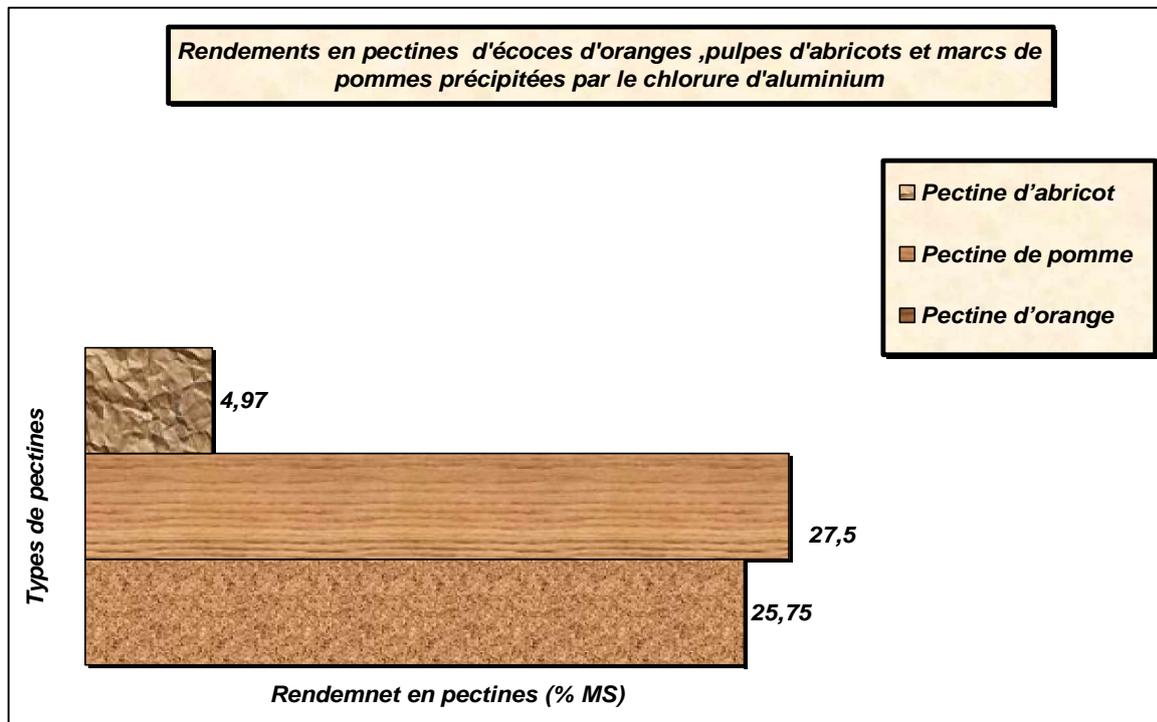
La particularité de notre étude est d'avoir choisi de travailler sur l'extraction des pectines à partir d'orange et d'abricots au sujets desquels peu de recherches ont été effectuées, alors que beaucoup de travaux ont étudié l'extraction des pectines de différentes sources végétales, en particulier de pomme, de citron et de betterave (Centeri et al., 2005; Kalapathy et Practon, 2001 cités par Faravash et Ashtiani, 2008 ; Levigne et al., 2002; Singthong al., 2005 cités Faravash et Ashtiani, 2008).

Nos rendements en pectines (exprimés en % de matière sèche), obtenus des trois différents types des fruits pommes, abricots et oranges dans les conditions précisées en mode opératoire, sont illustrés dans le tableau 12 ci-dessous et figurés sur les figures 18 et 19 et représentées par les photos 5, 6, 7, 8,9 et 10.

§ **Tableau 12:** Rendements en pectines de différentes matières premières étudiées



§ **Figure 18** : Rendements en pectines précipitées par le chlorure d'aluminium, à partir de trois fruits : pommes, abricots et oranges (exprimés en % de matière sèche)



§ **Figure 19** : Rendements en pectines précipitées par le sulfate d'aluminium à partir de trois fruits : pommes, abricots et oranges (exprimé en % de matière sèche)

La première constatation à retenir de ces résultats, est que la teneur en pectine diffère d'un fruit à un autre malgré les mêmes conditions opératoires retenues.

Les écorces d'oranges et les marcs de pommes permettent d'obtenir des rendements plus élevés que les pulpes d'abricots (tableau 12), avec des moyennes de 35.71 et 25.75 % pour les pectines d'oranges précipitées respectivement au sulfate d'aluminium et au chlorure d'aluminium et de 27.5 et 20.06 % pour les pectines de pommes obtenues respectivement par précipitation au chlorure et au sulfate d'aluminium.

Par comparaison à ces deux fruits, l'abricot donne des valeurs beaucoup plus faibles avec des moyennes de 4.97 et 3.4 % des pectines précipitées respectivement au chlorure d'aluminium et au sulfate d'aluminium.

La deuxième constatation, c'est que les agents de précipitation réagissent différemment selon l'origine végétale, on a trouvé en effet une influence significative du type d'agent utilisé pour la précipitation des pectines, ainsi dans le cas de pommes c'est le chlorure d'aluminium qui permet d'obtenir un meilleur rendement de 27,5 %, alors que le sulfate ne permet d'obtenir que 20,06 %, d'où la différence de 7,44 %.

Pour l'orange c'est l'inverse, c'est le sulfate d'aluminium qui donne le rendement le plus élevé 35,71 % par rapport à celui de chlorure d'aluminium 25,75 % avec une différence de 9,95 %, alors que pour l'abricot on remarque qu'il y a un effet non significative avec une différence de 1,87 %.

Facteurs influençant les rendements en pectines :

1-Blanchement :

Les traitements de préparation de la matière première peuvent provoquer une dégradation plus ou moins intense des polysaccharides pectiques.

Keijbets et Pilnik (1974), Keijbets et al., (1976) cités par Lo et al. (2002), ont rapporté une dépolymérisation intense au cours du blanchiment. Les enzymes polygalacturonases sont stables à 50-70 ° C, mais réactivées au delà de ces températures et seront très actives à des températures de 100° C pendant 10mn (Archer et Fielding, 1975 ; Harris et Dennis, 1982; Mc Feeters, 1985 cité par Lo et al., 2002).



Photo 7 : Pectines d'abricots précipitées au sulfate d'aluminium

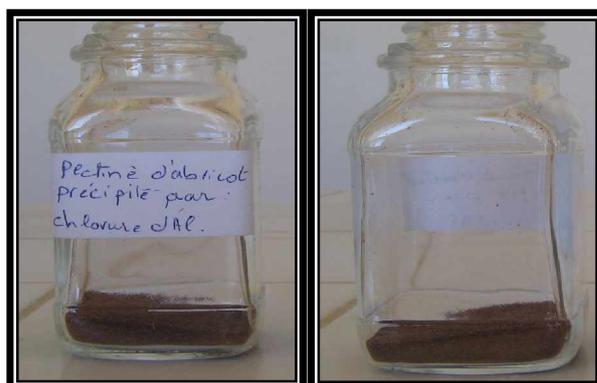


Photo 8 : Pectines d'abricots précipitées au chlorure d'aluminium

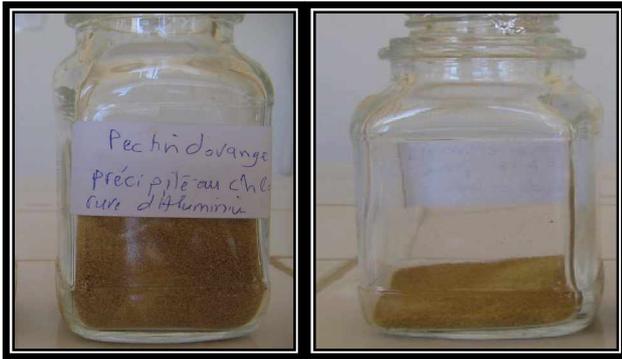


Photo 5 : Pectines d'oranges précipitées au chlorure d'aluminium



Photo 6 : Pectines d'oranges précipitées au sulfate d'aluminium

2-Les paramètres d'extraction de pectines : pH, température, temps et type d'acide utilisé pour la solubilisation ; Marcon et al., (2005); Faravash et Abhtiani (2008); Yapo et al., (2006); Iranzo et al.,(1975); Sapan et Libarz (1999) cités par Farvash et Ashitiani (2008) ont rapporté l'influence de la température, du pH initial et le temps de solubilisation sur les rendements en pectines.

Le paramètre pH : le PH de 1,5 utilisé lors de la solubilisation est un paramètre important d'extraction de la pectine. Le changement de ce paramètre pendant tout le



Photo 9: Pectines pommes précipitées au sulfate d'aluminium

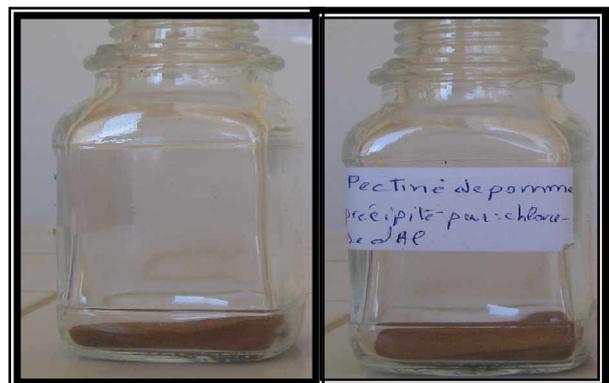


Photo 10 : Pectines pommes précipitées au chlorure d'aluminium

processus d'extraction à un effet significatif sur la libération des constituants pariétaux et donc sur le rendement, ce changement peut avoir lieu à 3 niveaux :

- Lors du mélange (matière première + eau) lequel est acidifié à 1,5 par Hcl 0,5 N.

° Pendant la libération des constituants de la matière végétale sous l'action du chauffage à 80-82 ° C, il y a augmentation du pH (Cheftel et Cheftel, 1978).

° Enfin, au cours de l'ajustement du pH à la précipitation entre 3,5 et 4, celui-ci étant le pH de précipitation.

Dans le même sens Faravash et Ashtiani (2008), ont constaté que le volume de l'acide utilisé pour la solubilisation et le pH de précipitation influence considérablement le rendement en pectine ; ainsi un volume de 6.5ml d'aluminium/g de matière première augmente le rendement de 0,5 à 1,5 %.

La précipitation peut avoir lieu à une gamme de pH entre 3.5 et 4. Elle est minimale à 3.5 et absente à pH 2.8. De même, chaque agent réagit à une valeur ou gamme de pH différente : 3.5 à 4 pour le chlorure d'aluminium et 4 pour le sulfate, s'ajoute à cela la réaction de chaque agent vis-à-vis du comportement des matières premières :

§ Le sulfate d'aluminium est efficace pour les pectines d'oranges

§ le chlorure est efficace pour les pectines de pommes.

§ Alors que les deux agents réagissent de la même façon pour les pectines d'abricots.

F Temps et température, ces deux paramètres influencent également sur le rendement en pectine, mais d'une manière moindre par rapport au pH.

Ainsi Arlon (1995) et Renard et al., (1990) cités par Koubala et al., (2007), ont obtenu une forte extraction de pectine à partir de pulpe de pomme avec du cyclohexane-trans-1, 2-diaminetetra-acétate (CDTA) à pH 4.8 et à une température située entre 20 et 25° C.

De même, Macaron et al., (2005), ont constaté que le rendement en pectine s'élève à une température de 100° C pendant 80 mn, par rapport à ceux obtenus aux températures de 50 et 75 ° C et aux temps de 30 et 50mn.

Tous ces paramètres présentent des interactions les uns sur les autres et doivent être choisis de telle manière à avoir un équilibre entre eux.

F Type d'acide utilisé pour la solubilisation : ce paramètre est aussi un facteur influençant le rendement, en augmentant ou en diminuant la solubilisation de la protopectine.

La valeur de pH 1.5 obtenu avec du Hcl constitut selon Kratchanova et al., (1995) cités par Koubala et al., (2008); Sarode et al.(1964); Agarwal et Pruthi (1968); Crandall (1978) cités par Attri et Maini (1995), le meilleur agent pour un bon rendement .

Cependant d'autres études ont montré l'efficacité de l'oxalate d'ammonium et du NaOH par rapport à l'Hcl dilué, expliquant que l'Hcl provoque une hydrolyse partielle de la protopectine, alors que l'oxalate d'ammonium et le NaOH peuvent donner une hydrolyse plus complète(Legentiel et al.,1995; Koubala et al., 2007).

Dans le même sens Koubala et al., (2007) ont trouvé que les rendements en pectine de pulpe de mangue et de choux varient selon l'agent de solubilisation Hcl et Oxalate utilisés:

§ La solubilisation par Hcl donne pour la mangue: 15.3 % et pour le choux : 19,8.

§ La solubilisation par Oxalate donne pour la mangue : 18.5 % et pour le choux : 22,6.

Nos paramètres sont choisis sur la base des opérations optimales rapportées en bibliographie.

3-Type du solvant de précipitation, beaucoup d'études rapportées en littérature ont montré l'efficacité de solvant à base d'aluminium par rapport à l'alcool du point de vue rendement (Attri et Maini, 1995 ; Dennapa et al., 2006).

En effet, Dennapa et al., (2006) ont obtenu à partir de pulpe de papaya (*Carica papaya*), des rendements en pectine de 2.5 % et 5.84 % précipitées respectivement à l'éthanol et au chlorure d'aluminium.

4-Type ou espèce botanique, Sherfelt (1965) cité par Luza et al., (1992); Kunzck, et al., (1999) cités par Kur et al., (2008); Eskin (1990), ont trouvé que la quantité et les changements du contenu total de pectines ont lieu pendant la maturation et qu'elles dépendent du type de fruit et de la variété mises en oeuvre. Bien que dans l'industrie de transformation de jus de fruit, la matière première constitue un mélange des différentes variétés à la fois et par conséquence les résidus résultants sont un mélange de différentes variétés.

Nos rendements en pectines à partir des pommes (27,5 et 20,06 %) confirme l'efficacité des sels d'aluminium par rapport à l'alcool rapporté en bibliographie.

Renard et al., (1990) ; Blumenk et al., (1973) cités par Legentil et al., (1995) rapportent des valeurs de 15-20 %, de même Massiot et Renard (1997) ont trouvé des rendements du même ordre que les nôtres (15-27 %) à partir de pulpe de pomme.

Par contre Voragen et al. (1995), Malhew et al., (1995), Ronbout et Thibault (1986), cités par Marcon et al.,(2005), ont obtenu le même rendement en pectine de 7.2 %, à partir de pulpes de pommes extrait à 75° C et pendant 55mn, par solubilisation à l'acide citrique (5 %) et précipitée à l'alcool.

De même Bhalla et al.(1993) cités par Constela et al.(2002) ont rapporté que les pommes contiennent 10 à 18g de pectines pour 100g de matière sèche, cependant les derniers auteurs ont trouvé à partir de marcs de pommes séchés à 60° C une valeur de 36.3 %, plus élevée que la notre, rappelons que ces pectines sont extraites par solubilisation à 80° C à l'acide nitrique à pH 2.5 pendant 1 heure et précipitées à l'alcool.

Ces différents rendements en pectine restent énormément liés aux conditions d'extraction et aussi au type de variété, à la région géographique.

Milnes et al. (1995) ont trouvé que l'orange contient entre 20 et 50 % de pectine et que ces valeurs varient selon les variétés.

Les rendements élevés en pectines à partir d'écorces d'orange et de marcs de pommes par rapport aux pulpes d'abricots, que ce soit par dans notre cas ou dans celui de la littérature, peuvent être expliqués par deux hypothèses :

- ° la faible inclusion de ces pectines dans le réseau cellulose –xyloglucane, ce qui induit la facilité de leur extraction.

- ° la faible activité dégradante des pectases et en particulier PAG. La richesse de ces fruits en flavonoïdes exercent un effet inhibiteur sur l'hydrolyse pectique (Ravise et Chopin 1981), en diminuant ainsi la dépolymérisation au cours de la maturation et de l'extraction. Selon Schieber et al. (2003), les pommes contiennent environ 11,8% des composés flavonoïques, alors que la teneur atteint 12% pour les oranges (Milnes et al., 1995).

Les études réalisées par Lee et al., (1990); Park et Choi (2001); Sent et al., (1989), Veberic et Stanpar (2005) cités par Kurz et al., (2008), ont montré que la composition en polyphénol varie qualitativement et quantitativement selon le type de fruit, la variété, le stade de maturation, l'origine géographique et les conditions de stockage de la matière première.

Contrairement, le faible rendement en pectines obtenu à partir de pulpes d'abricots peut être expliqué par le fait que ces pectines trop embranchées et donc difficile à extraire par simple solubilisation en milieu acide et par forte activité enzymatique, surtout celle de PGA.

Selon Huisman et al. (1996) les pectines de certains fruits comme l'olivier sont fortement embranchées et très difficiles à extraire.

La difficulté d'extraction de ce genre de pectines signifie qu'elles sont étroitement liées au réseau de cellulose/xyloglucane où elle sont enfermées (Listeral 1994; Lu et Foo, 1997, 1998 ; Foo et Lu (1999) cités par Schieber et al., (2003).

La pêche (Pressey et Avants, 1973) et la poire (Bartlexl et al., 1982; Mc Crendy et Mc Comb, 1954 cités par Eskin, 1990), contiennent des quantités en pectines proches de celle de l'abricot (même genre) et sont très riches en PGA, dont l'activité augmente pendant la maturation hydrolysant des pectines localisées dans la lamelle moyenne et dans la paroi cellulaire (Hobson, 1955; Pressey, 1977 cités par Eskin, 1990).

Grimplet (2004) a aussi confirmé la présence des enzymes polygalacturonases chez les abricotiers identiques à celles trouvées chez la pêche.

5-Facteurs divers : d'autres facteurs peuvent influencer la libération de pectines à partir de la protopectine, notamment le *diamètre des particules* de la matière première ; Certaines études rapportent que le diamètre des particules de la matière première présente un effet significatif sur le rendement en pectine, en effet, El Nawar et Shebata (1987) cités par Sahari et al., (2003), ont constaté qu'un diamètre de particule de 0,075 mm est optimum pour la pulpe d'orange égyptienne destinée à l'extraction des pectines.

Dans le même sens, Attri et Maini (1995), rapportent que le rendement en pectine augmente de 15.26 à 20 % pour les poudres de pulpe de galgal (*Citrus pseudolimon*) par rapport à la pulpe telle quelle.

Les différentes matières premières ayant servi à l'extraction de nos pectines n'ont pas le même diamètre, on peut penser que plus le diamètre des particules est petit, plus les constituants des parois végétales sont moins rigides et ce qui facilite l'extraction des pectines.

Les résultats que nous avons obtenus concernant les rendements en pectines extraites à partir d'écorces d'oranges et de marcs de pommes sont bons et du même ordre que ceux rapportés en littérature (précipitées généralement par les alcools), d'où la classification de nos produits parmi les fruits très riches en pectines; Ces rendements sont de 25,75 et 35,71 % pour les oranges et de 27,5 et 20,06 % pour les pommes, précipitées respectivement par le chlorure d'aluminium et le sulfate d'aluminium.

Alors que les pulpes d'abricots donnent des rendements en pectines précipitées

respectivement par le chlorure d'aluminium et le sulfate d'aluminium beaucoup plus faibles et qui sont de 4,97 % et 3,4 %, d'où leur classification parmi les fruits pauvres en pectines.

Dans un travail précédant (Baississe,2000) où nous avons utilisé l'alcool comme agent de précipitation, on a trouvé à partir de sous produits d'abricots par extraction en milieu acidifié à 2,8, des rendements élevés de 27,46 % par rapport à ces résultats avec les sels d'aluminium.

Cette différence s'explique surtout par la différence du pH, agent ayant servi à la précipitation, les conditions climatiques et le stade de maturation.

Ces deux derniers facteurs (les conditions climatiques et le stade de maturation) semblent être les responsables des rendements obtenus. Nos prélèvements pour l'abricot, ont été réalisés en début de campagne ou les fruits ne sont pas mûrs, alors que dans le travail précédant les prélèvements, ont été réalisées à la fin, ce qui explique les faibles rendements (4,97 et 3,4 %) obtenus dans cette nouvelle étude.

De plus les enzymes de dégradation sont très actives chez l'abricot, alors que pour les pommes et les oranges cette activité est fortement inhibée, du fait de leurs richesses en flavonoïdes respectivement (11.8 %) (Schieber et al., 2003) et 12 % (Milnes et al.,1995).

2- Caractères structuraux des pectines obtenues :

2-1-Teneur en H (%) :

Nos pectines présentent des humidités relatives (HR %) qui varient entre 8 et 13 %. Ces valeurs sont un peu élevées par rapport à celles rapportées par les normes (tableaux 13, 14 et 15 ci-dessous et figures 20, 21 et 22).

§ **Tableau 13:** Teneurs en humidité, en cendres et en protéines des pectines d'oranges précipitées par le chlorure d'aluminium et par le sulfate d'aluminium

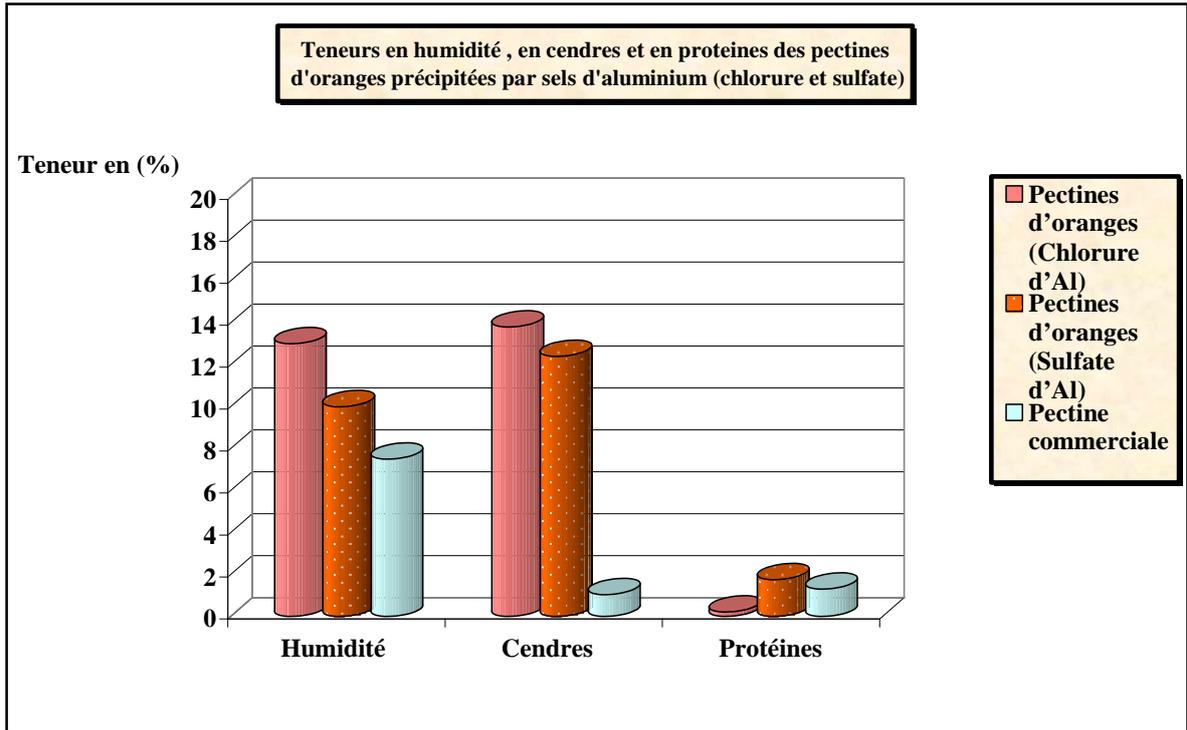
tY P E S D E P E C T I N E S	Humidité en %	Cendres en %	protéines en %
Pectines d'oranges (Chlorure d'Al)	13	13,8	0,21
Pectines d'oranges (Sulfate d'Al)	10	12,4	1,75
Normes autorisées par FAO/WHO	12	1	2,5

§ **Tableau 14:** Teneurs en humidité, en cendres et en protéines des pectines de pommes précipitées par le chlorure d'aluminium et par le sulfate d'aluminium

Type de pectines	Humidite en %	Cendres en %	protéines en %
<i>Pectines de pommes</i> <i>(Chlorure d'Al)</i>	8	13	2,5
<i>Pectines de pommes</i> <i>(Sulfate d'Al)</i>	8,5	10	1,23
<i>Normes autorisées par</i> <i>FAO/WHO</i>	12	1	2,5

§ **Tableau 15:** Teneurs en humidité, en cendres et en protéines des pectines d'abricots précipitées par le chlorure d'aluminium et par le sulfate d'aluminium

Type de pectines	Humidité en %	Cendres en %	protéines en %
<i>Pectines d'abricots</i> <i>(Chlorure d'Al)</i>	11	16	3,93
<i>Pectines d'abricots</i> <i>(Sulfate d'Al)</i>	10	11,8	3,062
<i>Normes autorisées par</i> <i>FAO/WHO</i>	12	1	2,5



§ **Figure 20** : Teneurs en Humidité, en cendres et en protéines des pectines d'oranges précipitées par le chlorure et par le sulfate d'Aluminium

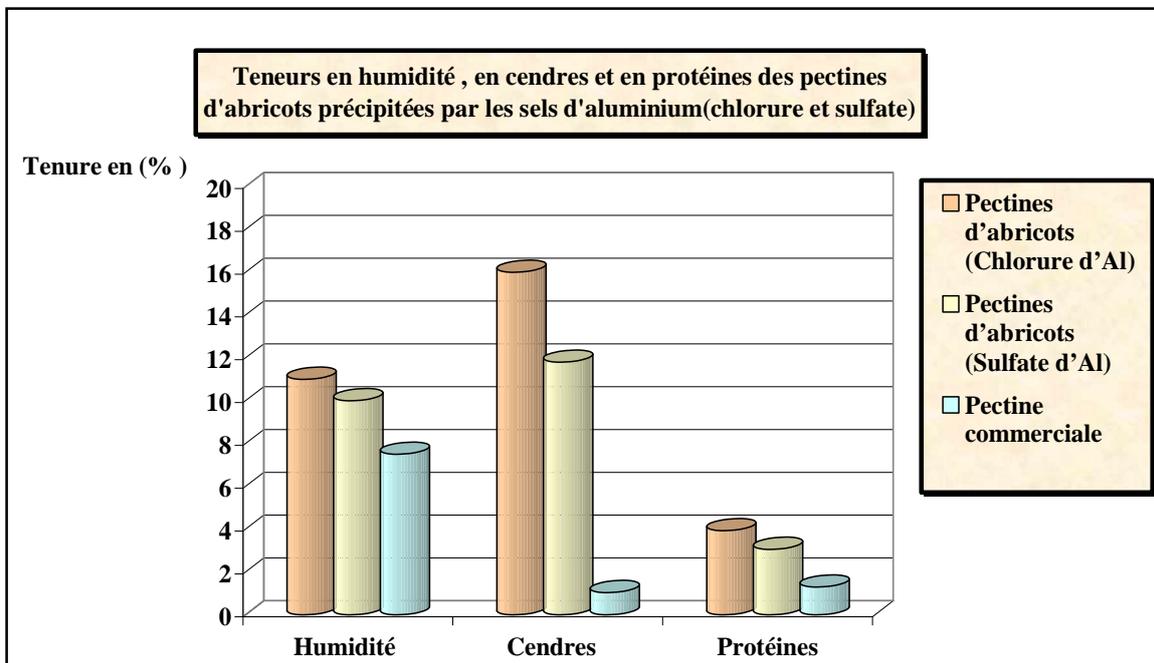
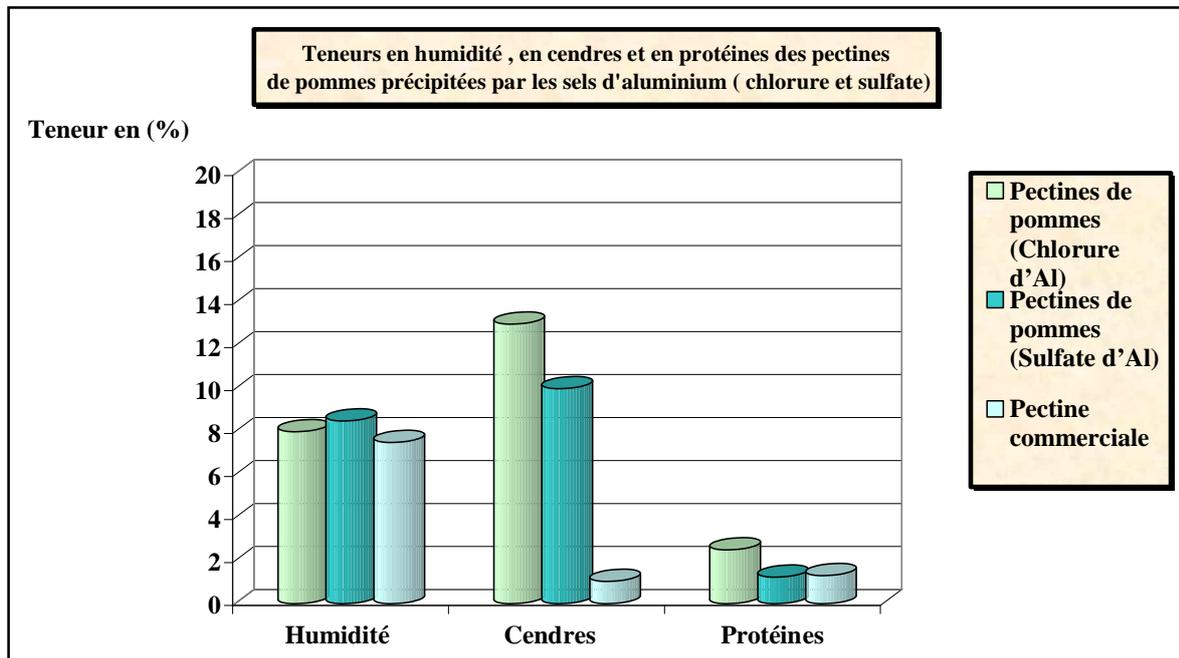


Figure 21 : Teneurs en Humidité, en cendres et en protéines des pectines d'abricots précipitées par le chlorure et par le sulfate d'Aluminium



§ **Figure 22** : Teneurs en Humidité, en cendres et en protéines des pectines de pommes précipitées par le chlorure et par le sulfate d'Aluminium

Ces teneurs en H (%) sont de 13 et 10 % pour les pectines d'oranges et de 8 et 8,5 % pour les pectines de pommes et de 11 et 10 % pour les pectines d'abricots, précipitées toutes respectivement par le chlorure et le sulfate d'aluminium. Ces valeurs restent cependant acceptables pour une bonne stabilité au cours du stockage.

2-2-Teneur en protéines :

LEU et FAO/WHO cités par Herbstreith et Fox (2006) fixent la teneur maximale en protéines dans pectines à 2.5 %.

Les teneurs en protéines de nos pectines sont illustrées dans les tableaux 13,14 et 15 et figurées sur les figures 20, 21 et 22.

Nos résultats montrent que les pectines obtenues à partir de pommes et d'oranges présentent des teneurs dans les limites autorisées. Celles-ci sont de 1.23 et de 2.5 pour les pectines de pommes précipitées respectivement au sulfate et au chlorure d'aluminium et de 1.72 et 0.2 % pour les pectines d'oranges précipitées respectivement au sulfate et au chlorure d'aluminium.

Ces faibles valeurs en protéines sont probablement dues à l'hydrolyse partielle par l'HCl (à pH 1.5) au cours de la solubilisation.

Par contre les teneurs en protéines de 3.93 et de 3.062 % des pectines extraites de pulpes d'abricot (précipitées respectivement au sulfate et au chlorure d'aluminium) sont un peu élevées par rapport à celle autorisée par la législation, cela est expliqué par la co-précipitation des protéines avec la pectine (Legentiel et al., 1995).

Les pectines extraites de marcs de pommes par Massiot et Renard (1997) présentent des teneurs en protéines variant de 2.1 à 7.5 %, alors que celles obtenues par Schieber et al., (2003) sont de l'ordre de 4 %.

Nous remarquons ainsi que les teneurs en protéines des pectines sont liées à l'espèce végétale et aux réactions de celle-ci vis-à-vis des conditions d'extraction, et qu'il y a une différence qualitative et quantitative en protéine entre les pectines selon leur origine botanique.

En effet Fravtchen et al., (1992) rapportent la présence de protéines riches en hydroxyproline dans la pectine incomplètement purifiée.

Yapo et al., (2006) ont obtenu une teneur en protéine de 3,7 % dans les pectines extraites à partir de pulpes de betteraves, dans les mêmes conditions que les nôtres : 80-82° C, 60 mn, à pH 1,5 obtenu avec Hcl.

L'hydrolyse partielle des protéines au cours de la solubilisation de la protopectine est liée directement au type d'acide utilisé. Legentiel et al., (1995), montrent que Hcl est l'acide le plus efficace pour l'hydrolyse des protéines par rapport à NaOH et au cyclohexane-trans-1, 2-diaminetetra-acétate (CDTA).

Ainsi les teneurs en protéine trouvées dans la pectines extraites dans ces conditions à partir des fraises sont de :

§ 7 g de protéines /kg de pectines extraites par le Hcl.

§ 37 g de protéines /kg de pectines extraites par NaOH.

§ 25 g de protéines /kg de pectines extraites par CDTA.

Selon Yapo et Koff (2006), la solubilisation des pectines par les acides tel que l'acide citrique provoque la co-solubilisation des protéines en même temps que la pectine ; ces auteurs ont trouvé des valeurs de 1.4 à 5.1 % par rapport à la teneur de 0.9 % de pectine de référence solubilisée à l'oxalate ou à l'eau.

Ces protéines sont liées aux pectines au niveau de l'arabinogalactane (Seymour et Knox, 2002; Osterveld et al., 2000 cités par Leroux et al., 2003).

2-3-Teneur en cendres :

Les teneurs en cendres de nos pectines varient entre 10 à 16 %, Ces résultats se rapprochent de ceux obtenus par Deluca et Joslyn (1957). (Tableaux 13,14 et 15 et figures 20, 21 et 22).

Ces deniers ont montré que les teneurs en cendres des pectines précipitées par les sels minéraux, notamment le sulfate d'aluminium et le chlorure d'aluminium varient dans une gamme de 8 à 25 %. Ces teneurs augmentent avec le pH de précipitation et avec la concentration du sulfate d'aluminium, par contre les solvants organiques tel que l'alcool, permettent sa réduction par augmentation de la lessivage des impuretés présentes au cours de précipitation des pectines.

Selon Cheftel et Cheftel (1978), les sels minéraux sont précipités avec la pectine, lors de la précipitation de celle-ci à l'alcool ayant un degré de 50 -60.

Dennapa et al., (2006), ont obtenu des teneurs en cendres de 22,19 % pour les pectines extraites à partir de pulpe de papaya (*Carica papaya*) précipitées par du chlorure d'aluminium, alors que les cendres des pectines précipitées à l'alcool ne sont que de 5,22 %. Cependant Chaliha et al., (1963) ont obtenu à partir d'écorces de citrons des pectines précipitées par le chlorure d'aluminium des teneurs en cendre beaucoup plus faibles .

De même Attri et Maini (1995), avec le même agent de précipitation ,ont obtenu des pectines extraites à partir de galgal (*Citrus pseudolimon*) ayant une teneur en cendres de 0.9 %.

Par ailleurs, May (2000), a rapportée que les pectines précipitées par les sels d'aluminium, notamment le sulfate et le chlorure d'aluminium, sont trop chargées par les impuretés, d'où la teneur élevée en cendres.

Les conditions d'extraction peuvent aussi exercer un effet sur la précipitation des impuretés avec les pectines, Yapo et al., (2006), ont montré que les pectines extraites à pH 1.5 sont plus pures que celles obtenues par solubilisation à pH 2.0 à partir de pulpes de betteraves.

Le temps de lavage influe également sur la teneur en cendres. Sahari et al. (2003), ont en effet trouvé des pectines ayant une teneur en cendres de 10,61 et 10,11 %, par des lavages avec du Hcl respectivement à 0.6N et 1,2 N pendant 20 et 30 mn par rapport à une teneur de 11,22 %, obtenu par lavage avec du Hcl 0,1 N pendant 10 mn.

Selon les mêmes auteurs, le temps de lavage acide, le type de précipitation et la concentration en cendres influent énormément sur les rendements en pectine.

La teneur en cendres est liée à la teneur initiale en sels minéraux et en métaux lourds dans la matière première et retrouvée dans les sous produits, s'ajoute à cela le matériel ayant servi à l'extraction des pectines et les impuretés du solvant de solubilisation (Hcl) et des agents de précipitation (chlorure et sulfate d'aluminium).

Selon Chenko et al. (2007), les substances pectiques présentent une affinité vis-à-vis des métaux lourds en particulier le plomb. La prise en métal dépend de la structure chimique de la pectine et l'augmentation de celui-ci s'accorde à la réduction du degré d'estérification.

Selon Khotimchenko et al. (2007), l'activité de sorption de pectine vis-à-vis de métaux lourds est étroitement liée au pH, où elle varie dans la gamme de 4-8.

Nos pectines sont précipitées par les solvants à base d'aluminium à pH 4, ces conditions peuvent expliquer le taux élevée de cendres par rapport à la pectine de référence, dont le taux est inférieur à 1 obtenue par précipitation alcoolique.

Plusieurs recherches ont montré que l'affinité des pectines vis-à-vis des métaux lourds est variable selon le métal mis en jeu, en effet Schiewer et Patiel (2008), ont trouvé que dans le cas général cette affinité est dans l'ordre suivant :



Selon Annadaria et al. (2002), Ajmal et al. (2002) cités par Shiewer et Patil (2008) et par Xiaomin et al. (2006), la peau d'orange présente une affinité vis-à-vis de Ni, Cu, Pb, Zn, Co.

De même Marnon et Sustere (1991) cités par Schiewer et Patiel (2008), qui ont travaillé sur les résidus de pommes, ont trouvé que ces derniers présentaient une affinité vis-à-vis de Cu, Ni, ZN. En ce qui concerne l'abricot aucune recherche à ce sujet n'a été rencontrée en bibliographie.

Ces études mènent à créer des applications autres que alimentaire, on parle de l'utilisation des pectines comme agent de rétention des métaux lourds dans les traitements des eaux usées.

2-4-Teneurs en acide galacturonique anhydre (AGA) et en oses neutres (ON) :

2-4-1- Teneur en acide galacturonique (AGA) :

Les teneurs en AGA et en oses neutres de nos pectines obtenues de différentes matières premières sont illustrées dans les tableaux 16, 17 et 18 ci-dessous, et sur les figures 23, 24 et 25.

Les pectines extraites présentent des teneurs en AGA élevées, mais restent un peu inférieures à celle prescrites par les normes (supérieures à 65 %).

Les faibles valeurs 33.8 % et 48.65 % enregistrées sont obtenues respectivement pour les pectines de pommes précipitées au sulfate d'aluminium et pour les pectines d'oranges précipitées au chlorure d'aluminium.

Cette différence entre la pectine de référence et nos pectines peut s'expliquer par les conditions d'extraction différentes et le degré de purification plus élevée pour la première, et aussi pour d'autres raisons comme le type de variété, la région géographique.

§ **Tableau 16:** Teneurs en acide galacturonique, en sucres totaux et en oses neutres des pectines extraites d'écorces d'oranges (résultats en % du total des sucres totaux)

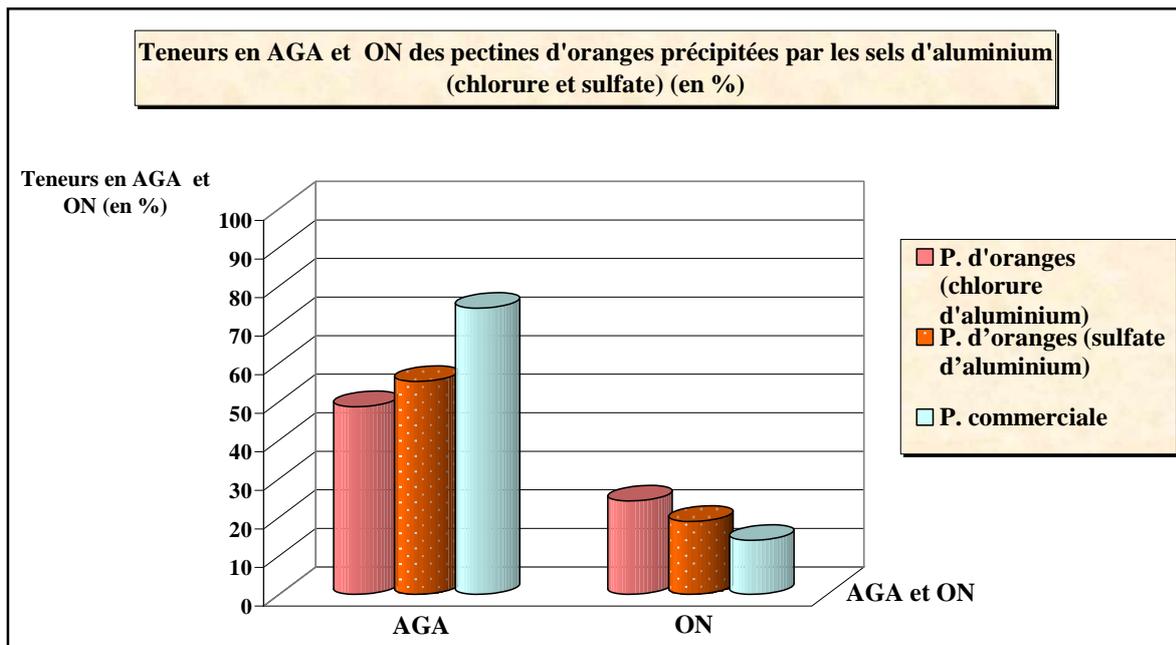
Type de pectines	AGA (%)	ON (%)	OT (%)
Pectines d'oranges précipitées par le chlorure d'aluminium	48,65	24,2	70,85
Pectines d'oranges précipitées par le sulfate d'aluminium	55,22	18,9	74,12
Normes requises par FAO/WHO	>65	-	-

§ **Tableau 17:** Teneurs en acide galacturonique, en sucres totaux et en oses neutres des pectines extraites de marcs de pommes (résultats en % du total des sucres totaux)

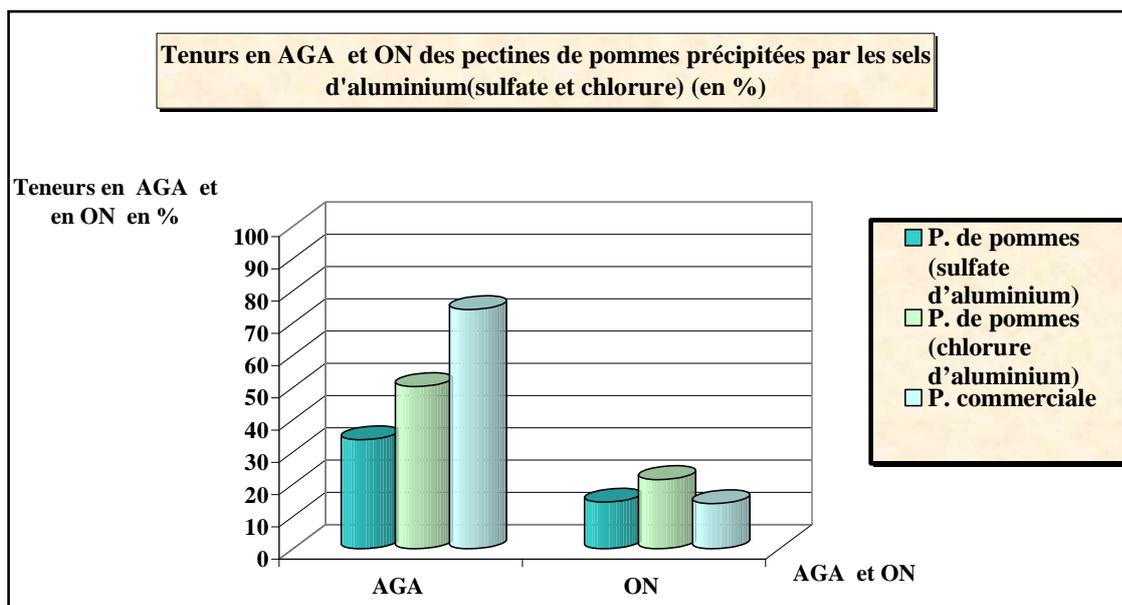
Type de pectines	AGA (%)	ON (%)	OT (%)
Pectines de pommes précipitées par le chlorure d'aluminium	50,3	21,45	71,75
Pectines de pommes précipitées par le sulfate d'aluminium	33,8	14,48	48,28
Normes requises par FAO/WHO	>65	-	-

§ **Tableau 18:** Teneurs en acide galacturonique, en sucres totaux et en oses neutres des pectines extraites de pulpes d'abricots (résultats en % du total des sucres totaux)

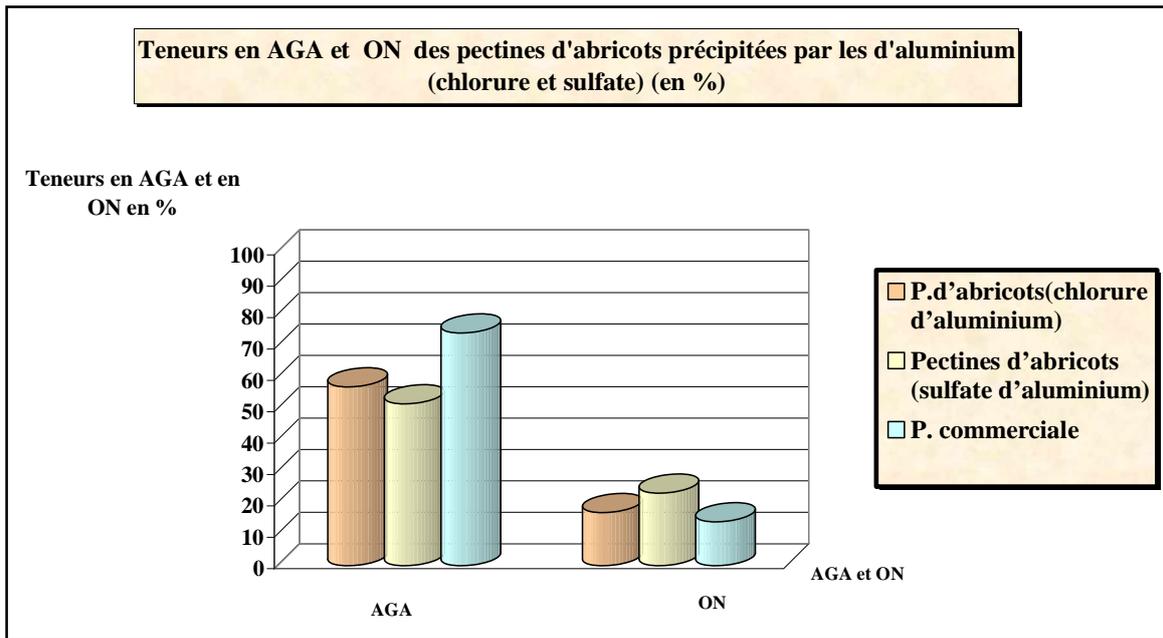
Type de pectines	AGA (%)	ON (%)	OT (%)
Pectines d'abricots précipitées par le chlorure d'aluminium	57	16,9	73,9
Pectines d'abricots précipitées par le sulfate d'aluminium	51,6	23,1	74,7
Normes requises par FAO/WHO	>65	-	-



§ **Figure 23**: Teneurs en AGA et en ON des pectines d'écorces d'oranges précipitées par le chlorure et le sulfate d'aluminium



§ **Figure 24** : Teneurs en AGA et en ON des pectines de marcs de pommes précipitées par le chlorure et le sulfate d'aluminium



§**Figure 25:** Teneurs en AGA et en ON des pectines de pulpes d'abricots précipitées par le chlorure et le sulfate d'aluminium

Plusieurs études ont prouvé que les polysaccharides pariétaux, en particulier les pectines sont sujettes à des variations qualitatives et quantitatives en fonction des : variétés mises en jeu, de l'étape ou stade de maturité, de l'origine géographique et du stockage (Liekagan et al.1990 ; Lie et al.2001; Senteret et al.1989 ; Verberic et Stampar, 2001 cités par Kurz et al., 2008).

Kabbert et Gloyna (1999) cités par Kurz et al.(2008), rapportent que les pectines sont plus affectées par le degré de maturation que d'autres polysaccharides comme la cellulose et l'hémicellulose qui demeurent stables.

Selon Rous et Crandallp (1978), les pectines les plus pures ont une teneur en AGA élevée et une teneur faible en cendres.

Selon Constela et al. (2002), la teneur en AGA et le degré de méthylation (DM) des pectines sont très influencés par le processus d'extraction, spécialement le séchage de la matière première. En effet, le séchage de pectines à 55° C, après précipitation et purification provoque des pertes par hydrolyse et lixiviation, d'où activation des enzymes endogènes de dégradation, notamment le PMP et le PAG.

Les PMP provoquent des réactions de déméthylation et rendent les pectines prêtes à la dépolymérisation sous l'action des PAG, ces enzymes sont activées à des températures de 50 à 80 ° C.

Massiot et Renard (1997), ont également observé que le chauffage prolongé à une température de 60 ° C pendant deux heures diminue la quantité des AGA.

De même, le blanchiment exerce, un effet significatif sur la teneur en AGA; En effet selon Mc feetus (1985) ; Archer (1973) ; Harris et Bennis (1982) cités par Lo et al. (2001) les polygalacturonases sont déstabilisées à une température qui varie de 50 à 70° C, mais sont réactivées très fortement à des températures entre 75 et 100° C.

Dans notre cas, on a pratiqué un blanchiment de la matière première à une température de 90° C pendant 15mn, celles-ci est séchée par la suite à 55° C, à cela s'ajoute le séchage à 55° C des pectines obtenues, ces opérations expliquent en partie les teneurs en AGA de nos pectines faibles par rapport à celle fixée par la législation (>65 %). Cela est dû aussi aux pertes par solubilisation et lixiviation sous l'action des polygalacturonases au cours du séchage de la matière première et par solubilisation de la protopectine.

Selon Lo et al. (2002), le pH peut également influencer la teneur en AGA. Il ont également montré que les valeurs élevées en AGA ont été obtenue à pH 1.5, ce qui suggère que le contenu de pectine en AGA augmente avec la diminution du pH et qu'il est en relation avec la diminution de l'activité enzymatique, notamment les polygalacturonases, dont le pH d'activité optimum, selon Eskin (1990) est de 3.5.

A noter que le rendement en pectine n'a aucune relation avec la teneur en AGA (Marcon et al., 2005 ; Yapo et al., 2006).

Souty et al. (1981) ont obtenu pour les pectines obtenues de pulpes d'abricot des valeurs en AGA du même ordre que nos valeurs.

Pour l'orange, Royo-Iranzo et al. (1975) ont trouvé dans les pectines extraites à partir d'oranges, des teneurs en AGA du même ordre que celles obtenus dans nos pectines précipitées au sulfate d'aluminium alors que celles de nos pectines précipitées au chlorure d'aluminium sont faibles par rapport à celles rapportées en littérature.

Plusieurs études ont obtenu à partir de marcs de pommes des valeurs en AGA du même ordre que nos résultats.

Levinge et al. (2002) ont trouvé des valeurs variant entre 29 et 52.8 %. Schols et al. (1995) ont obtenu des valeurs variant entre 33.4 et 42.5 %, alors que Fertoni et al. (2006) ont obtenus des valeurs très élevées variant entre 53 et 75 %.

Nos résultats pour les pectines extraites d'oranges restent dans la gamme des valeurs rapportées en littérature.

A titre indicatif Koubala et al.(2008) ont recouvert des teneurs en AGA de 49 à 50 % dans les fraises ,alors que Yapo et al.(2006) ont trouvé 54.7 % dans les betteraves sucrées et Koubala et al.(2007) ont rapporté des valeurs de 16 à 97 % dans les mangues. Ces pectines sont extraites dans les mêmes conditions de solubilisation que les nôtres, mais précipitées à l'alcool.

Selon Eskin (1990), la teneur en AGA est directement influencée par le degré de maturité des fruits, elle atteint des valeurs très élevées au dernier stade de maturation des fruits.

Nos prélèvements ont été fait au premier jour de l'activité de l'ENAJUC, en cette période, les fruits ayant servi à l'extraction de jus n'ont pas atteint leur maturité optimale.

2-4-2- Teneurs en oses neutres (ON) :

Les teneurs en oses neutres des différentes pectines obtenues sont rapportées dans les tableaux 19, 20 et 21 ci-dessous, et sur les figures 26, 27 et 28.

§ **Tableau 19:** Composition en oses neutres des pectines extraites d'écorces d'oranges précipitées par le chlorure et le sulfate d'aluminium (*)

Type de pectine	Oses neutres						
	Ara	Rha	Fuc	Xyl	Man	Gal	Glu
Pectines d'oranges précipitées par le chlorure d'aluminium	12,5	15,06	1,6	12,36	3,87	34,01	20,5
Pectines d'oranges précipitées par le sulfate d'aluminium	8,7	7,4	2,6	30,4	4,02	30,16	16,25

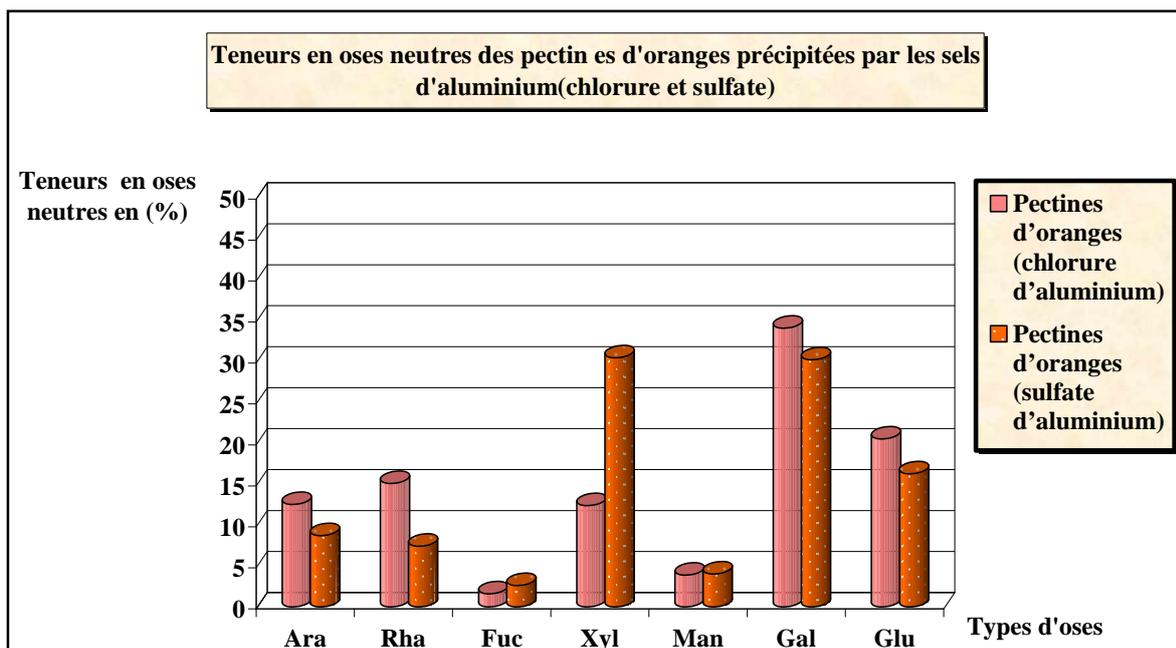
§ **Tableau 20:** Composition en oses neutres des pectines extraites des marcs de pommes Précipitées par le chlorure et le sulfate d'aluminium (*)

Type de pectine	Oses NEUTRES						
	Ara	Rha	Fuc	Xyl	Man	Gal	Glu
Pectines de pommes précipitées par le chlorure d'aluminium	22,9	26,75	1,86	10,9	1,7	23,4	12,17
Pectines de pommes précipitées par le sulfate d'aluminium	13,09	17,7	1,2	16,08	9,5	18,7	23,61

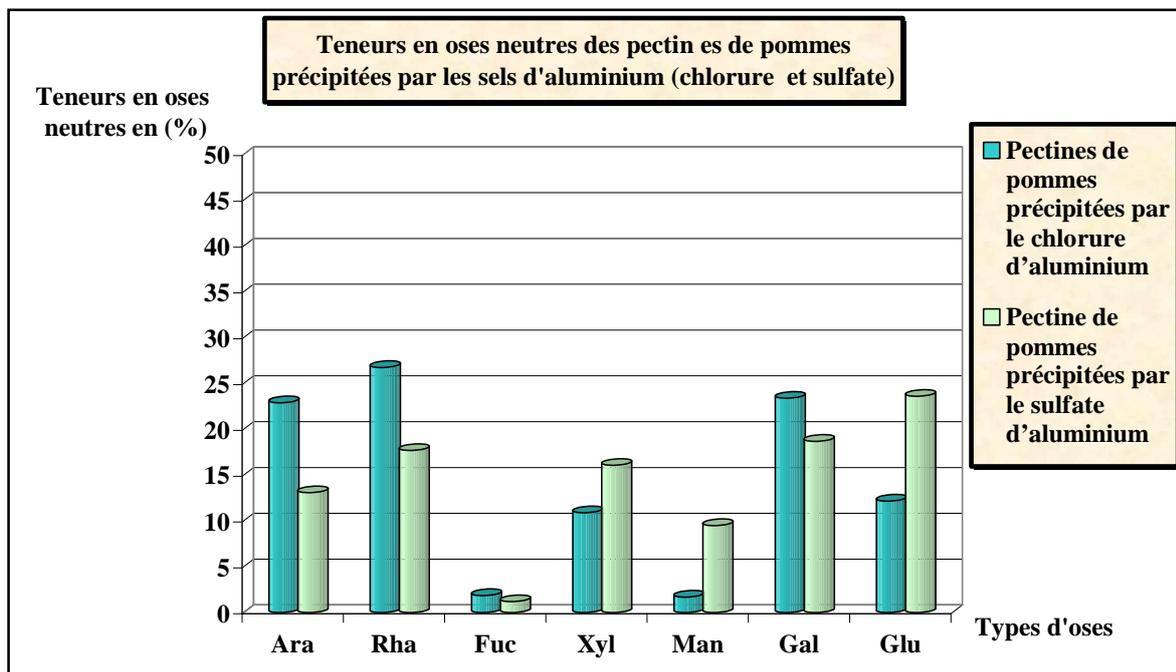
§ **Tableau 21:** Composition en oses neutres des pectines extraites de pulpes d'abricots précipitées par le chlorure et le sulfate d'aluminium (*)

Type de pectine	Oses neutres						
	Ara	Rha	Fuc	Xyl	Man	Gal	Glu
Pectines d'abricots précipitées par le chlorure d'aluminium	10,6	20	1,7	15,3	1,8	24,1	26,2
Pectines d'abricots précipitées par le sulfate d'aluminium	12,67	14,29	1,8	12,4	3,8	34,38	20,52

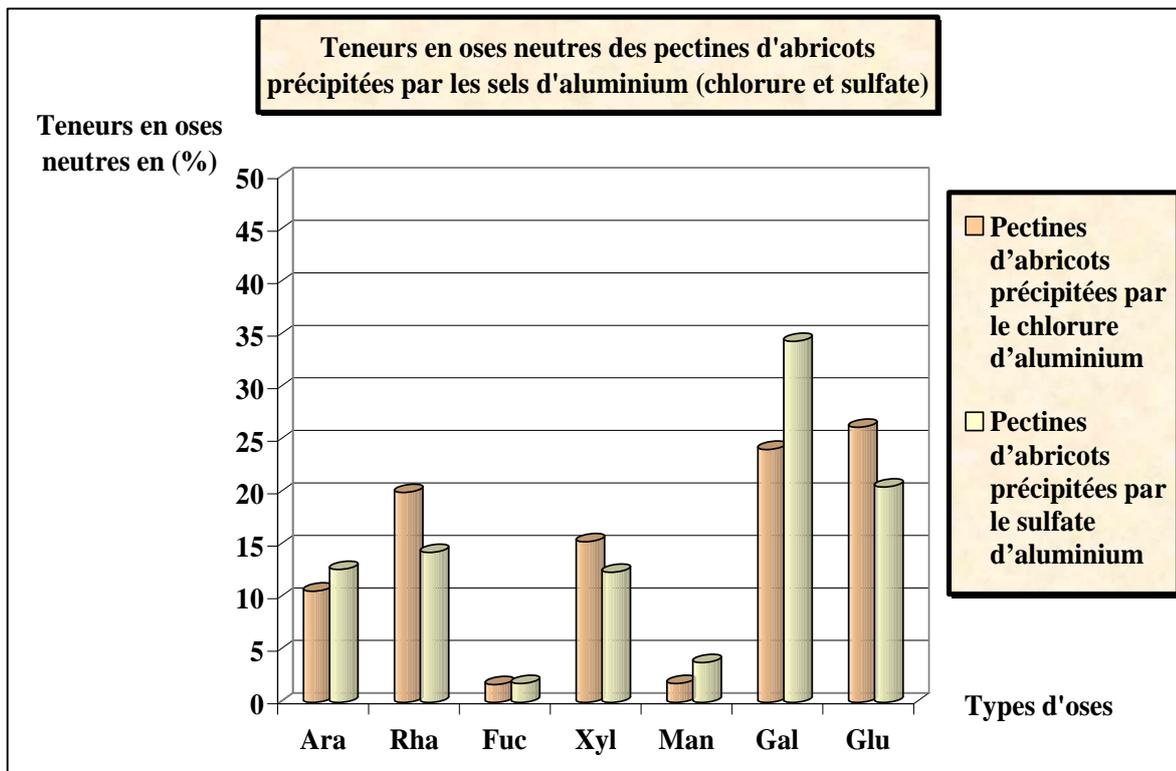
(*) La teneur en oses neutres est exprimée en % de total d'oses neutres



§ **Figure 26** : Composition en oses neutres des pectines d'écorces d'oranges précipitées par le chlorure et par le sulfate d'aluminium



§ **Figure 27**: Composition en oses neutres des pectines de marcs de pommes précipitées par le chlorure et par le sulfate d'aluminium



§ *Figure 28* : Composition en oses neutres des pectines de pulpes d'abricots précipitées par le chlorure et par le sulfate d'aluminium

Les résultats de la teneur en sucres totaux (tableaux 16,17 et 18) montrent que celles-ci sont proches, elles varient entre 21,45 et 14,48 %, 24,2 et 18,9 % et 16,9 et 23,1 % respectivement pour les pectines de pommes, d'oranges et l'abricots, ayant été toutes précipitées respectivement aux chlorure et sulfate d'aluminium.

Ces valeurs restent faibles par rapport aux teneurs en AGA et peuvent être expliquées par les changements fondamentaux des polysaccharides pariétaux des fruits au cours de la maturation et du stockage des matières premières, à cela s'ajoute bien sur les conditions et paramètres d'extraction

Selon Seymour et al. (1987,1990); Gross et Sams (1984) cités par Muda et al. (1995); Seymour et al. (1993) cités par Thang et al., (2007); Seymour et Konx (2002) ces changements majeurs se produisent durant la maturation des fruits, et impliquent souvent la solubilisation des pectines, et une perte en sucres neutres tels que le galactose et l'arabinose et la diminution de leur poids moléculaire.

Selon ces mêmes auteurs, les mécanismes biochimiques exacts responsables de ces variations sont probablement dus à l'activité enzymatique, en particulier la polygalacturonases, la cellulase, la pectine estérase, la β -galactase, et la β -(1-4) gluconase.

Toutes ces enzymes présentent selon Thang et al., (2007) et Huisman et al., (1996) une forte activité une fois le fruit mûr.

Au cours de l'entreposage, la plupart de ces enzymes sont en activité et augmentent encore plus la solubilisation et la dépolymérisation des substances pectiques (Fischer et Bennelt, 1991; Redgnele et al., 1992; Lazan et al., 1995; Chin et al., 1999; Hapster et al., 1997; Rod et Paran, 2003 cités par Zainon et al., 2004).

Le PGA et la β -galactosidase, jouent le rôle de dégradation des polymères pectiques solubilisés en provoquant de ce fait les pertes en galactose et d'autres sucres.

Les résultats obtenus, montrent que les principaux sucres neutres déterminés sont le rhamnose, l'arabinose et le galactose et suggèrent que la structure de différentes pectines extraites à partir de différentes matières végétales semble être composée d'une épine dorsale rhamnogalacturonane riche en chaînes latérales d'arabanes et galactanes confirmant ce qui est rapporté en bibliographie (Oosterveld et al., 2000; Sakamoto et Sakio, 1995 cités par Yapo et al., 2006; Habibi et al., 2004; KURZ et al., 2008; Brett et al., 1996 cités par Kallas, 2006).

Selon Scholse et Voragen (1996) cités par Constela et Lazano (2003), les

L- rhamnose, D- galactose, L- arabinose et D- xylose sont souvent les sucres neutres habituels rencontrés dans les pectines.

D'autres études montrent que les principaux sucres neutres composés ou impliqués dans les pectines sont l'arabinose, le galactose et le glucose, et que leurs proportions dépendent des sources de pectine et des processus d'extraction utilisés.

Selon Koubala et al.(2008) ;Iagher et al.(2002),cités par Koubala et al.(2007) ces paramètres influencent la composition structurale des pectines.

Ainsi selon Sajjannantak et al.(1989) ;Greve et al.(1994) cités par Lo et al.(2002), le blanchiment induit des changements importants dans la composition des sucres neutres.

Ce traitement provoque également une augmentation de dégagement d'arabinose et de rhamnose, mais réduit la teneur en galactose (NG et Waldron, 1997 cités par Lo et al., 2002).

Le galactose constitue le sucre typique de la fraction pectique des genres Prunus, dont l'abricot fait partie (Brummell et al., 2004 ; Hegd El Maness,1996 ,1998 ; Murrhamats et al., 2004, cités par Kurz et al., 2008)

Selon Koubala et al.(2007) les pectines extraites par solubilisation à l'Hcl et à l'oxalate d'ammonium sont souvent riches en sucres neutres et en acide uronique alors que celles obtenues par solubilisation à l'eau sont pauvres en acide uronique et riches en sucres neutres.

Yapo et al., (2006), ont constaté que la teneur en oses neutres augmente avec l'augmentation de pH,elle est élevée à pH 2.0 à température de 80° C pendant 1h; Ce sont selon eux, les conditions les plus douces , alors que le pH de 1.5 provoque la dégradation chimique des chaînes latérales fortement embranchées.

Les différentes pectines obtenues (d'oranges, de pommes et d'abricots) présentent une teneur en galactose plus haute que celle d'arabinose, ceci suggère la prédominance des chaînes latérales d'arabinogalactanes et une dégradation plus intense des chaînes latérales d'arabanes fortement embranchées, probablement due à la sensibilité de ces chaînes d'arabofuranosyls au pH acide.

Keegstra et al.(1973) ; Bemiller (1967) cités par Koubala et al.(2007) ont montré,en effet que l'arabinose est le seul sucre des pectines qui se présente sous la forme furane instable, il est très sensible à l'hydrolyse acide alors que le reste des sucres est sous la forme pyranne la plus stable.

Les conditions externes, notamment le pH, provoquent l'hydrolyse de la chaîne arabinofuranosyl et peuvent affecter l'épine dorsale des pectines (Thibault et al., 1993 cités par Yapo et al., 2005 ; Marcon et al., 2005 ; Yapo et al., 2006).

En général les polyosides pectiques présentent une certaine sensibilité vis-à-vis de l'hydrolyse acide, au niveau desquels celle-ci augmente souvent selon l'ordre suivant :AGA-Ara > Gal-Rha > Rha-Gal > oses neutres.

Cela implique que l'hydrolyse affecte tout d'abord les chaînes latérales en donnant des monomères et des oligomères, après quoi l'épine dorsale plus résistante pourrait être fondue préférentiellement entre l'acide galacturonique et le rhamnose, donnant de ce fait un matériel insoluble qui se compose presque entièrement de résidus acide galacturonique.

D'autres études montrent l'intervention des enzymes pectinases, L- arabinofuronosidase et rhamnogalactosidases qui peuvent augmenter la solubilisation des pectines et provoquer leurs décompositions en arabinose et Rhamnose (Koh et Melton, 2002).

Chez l'abricot, la L- arabinofuronosidase et la β -D- xylosidase ont une activité d'environ quatre fois supérieure à celle de la galactase, d'où le faible taux de l'arabinose par rapport au galactose dans nos échantillons à base d'abricot.

Alors que selon Bartley (1978) cité par Eskin(1990), Yomaki et Kakiuchi (1979) cités par Mourgus (1981), pour les pommes c'est l'inverse, la β -galactosidase est trouvée extrêmement active pendant la maturation, il en est de même chez la tomate (Smiha et al.,1990 ; Gross, 1994 ; Prestez et Himmelslh,1984 cités par Muda et al.,1996), et chez la mangue (Muda et al.,1996).

La teneur élevée en rhamnose, pour toutes les pectines obtenues confirme qu'elles sont riches en régions rhamnogalactane, qui ne sont pas affectés par les conditions d'extraction choisies. Cet ose est selon Plat et al., (1988) cités par Lo et al., (2002) libéré de l'épine dorsale.

Les chaînes latérales sont en général attachées au rhamnose en position C₃ ou C₄ dans le rhamnogalactane I (Massiot et al., 1988 ; Breh et Waldon,1990 ; Mc.Keetres,1985 cités par Lo et al., 2002), ces liaisons sont des liaisons instables par rapport à l'acide galacturonique cités par Lo et al., 2002).

Les pectines extraites sont clairement enrichées en xylose et glucose, ceux-ci sont selon Koh et Melton (2002) et Keegstra et al., (1973) des contaminants de l'hémicellulose solubilisée par l'endoglucanase .

La basse teneur en mannose dans toutes les pectines extraites des trois sous produits indique l'absence quasi-totale des galactomannanes ou glucomannanes en tant que constituant significatif des extraits pectiques.

Enfin, toutes les pectines extraites de différents sous produits sont composées de l'épine dorsale rhamnogalacturonique substituée par des arabinogalactanes. Les principaux sucres identifiés sont l'acide galacturonique, le galactose et l'arabinose.

La teneur de galactose également plus élevée par rapport aux autres oses, indique que le degré de ramification de pectines obtenu est plus élevé (Renard et al., 1990 cités par Legentil et al.,1995).

Toutes les pectines obtenues ont montré des rapports ST (Sucres Totaux)/AUA plus élevées que le rapport (arabinose + galactose)/ (AUA), ce qui explique que les arabinogalactanes ne sont pas les seuls polysaccharides dans les pectines obtenues et qu'il y a des xylogalactanes et des xyloglucanes, d'où la teneur élevée en xylose et en glucose.

On arrive à isoler, des pectines de pommes présentant les mêmes composants structuraux caractéristiques du nouveau modèle présenté par Renard et al., (1990) cités par Legentil et al., (1995); Veies et al., (1983) ; Westerlund et al., (1991) cités par Habibi et al., (2004). Il en est de même pour l'abricot (Kurz et la., 2008) .

Dans ce modèle, les xyloglucanes servent à lier les pectines et celluloses et/ ou les arabinogalactanes, et ces liaisons sont considérées comme des ramifications lâches liées seulement à l'épine dorsale rhamnogalacturonique.

Du point de vue structure, d'après les résultats que nous avons obtenu relative à la composition des pectines extraites, on constate que quelque soit leur origines botaniques, les pectines sont constituées fondamentalement d'une épine dorsale rhamnogalacturonanes, ou l'acide galacturonique est le composant principal .

les valeurs en cet ose sont respectivement de 55,22, 33,8 et 51,6 % pour les pectines issues d'oranges, de pommes et d'abricots précipitées par le sulfate d'aluminium ,alors que celles précipitées par le chlorure d'aluminium présentent respectivement les valeurs respectivement suivantes : 48,65, 50,3 et 57 % . Celles-ci restent inférieures à celle de la

pectine de référence (>à 65 %). Cette différence s'explique par les conditions d'extraction que nous avons pratiqué, notamment le blanchiment et le séchage, s'ajoute à cela l'utilisation des solvants à base d'aluminium qui augmentent la charge en imputées et l'insuffisance de la purification ; Alors que la pectine industrielle est généralement extraite à partir des matières premières fraîches, précipitées par les alcools et soumise à une purification très efficace et rigoureuse.

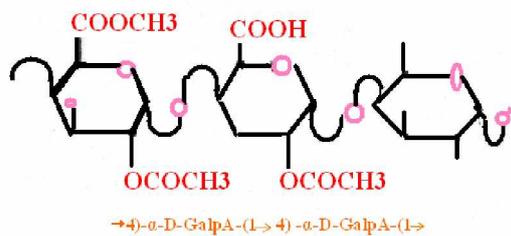
Ces traitements doivent être en principe pris en considération dans le cas de l'utilisation des agents de précipitation à base d'aluminium.

D'après les résultats de la détermination des oses par la CPG, des pectines extraites, on constate que toutes les pectines obtenues sont riches en galactose, arabinose, xylose, glucose et pauvres en mannose, ce qu'explique la prédominance de fragments structurels suivants (figure 29) :

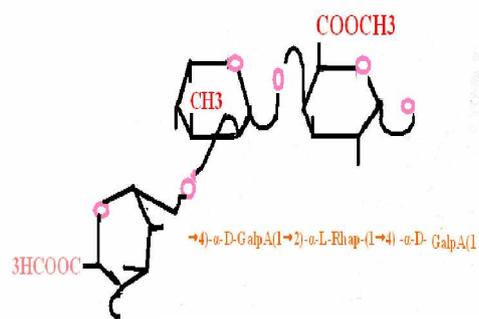
Rhamnogalacturonanes : ces oses dont la taille varie en fonction de l'origine végétale et les conditions d'extraction, On remarque que ce sont surtout les pectines issues de marcs de pommes qui sont riches ont ces fragments (Rha: 26,75 et 17,7 %) pour les pectines précipitées respectivement par le chlorure et le sulfate), vient en deuxième position, les pectines extraites à partir de pulpes d'abricots (Rha: 20,0 et 14,29 % pour les pectines précipitées respectivement par le chlorure et le sulfate) arrivent enfin celles issues d'écorces d'oranges (Rha :15,06 et 7,4 % pour les pectines précipitées respectivement par le chlorure et le sulfate).

Ces fragments sont intéressants sur le plan thérapeutique, en effet selon Yuamada (1996) cité Seymour et Knox (2002), ce sont les complexes rhamnogalacturonanes qui sont responsables de quelques propriétés bioactives des pectines.

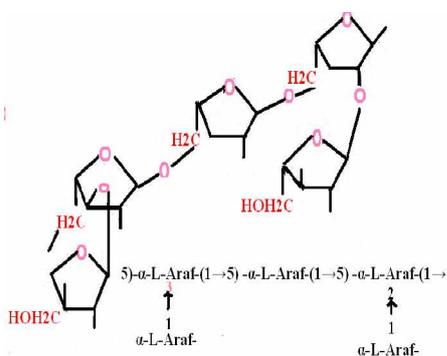
○***Homogalacturonanes*** : Ces fragments sont surtout présents dans les pectines extraites à partir de pulpes d'abricots, d'où leur forte teneur en acide galacturonique (57 et 51,6 % chez les pectines précipitées respectivement par le chlorure et le sulfate d'aluminium) par rapport à celles d'écorces d'oranges (48,65 et 55,22 % précipitées respectivement par le chlorure et le sulfate d'aluminium) et enfin viennent celles issues de



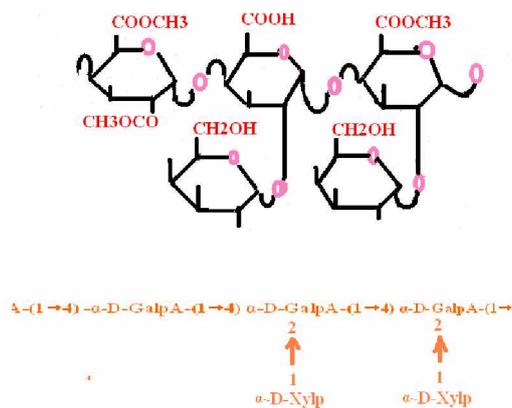
Homogalacturonane



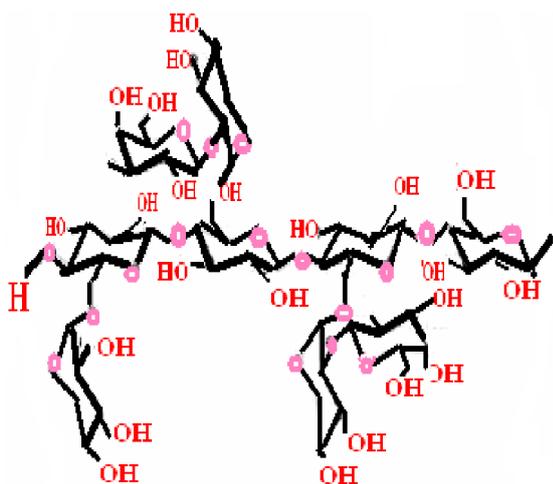
Rhamnogalacturonane



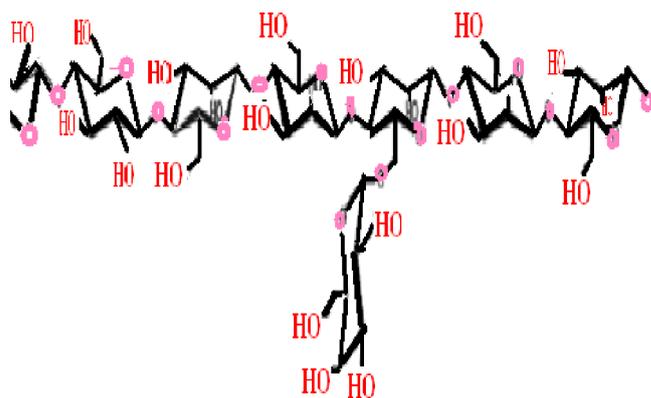
Arabinane



Xylogalacturonane



Xyloglucane



Glucomannane

§ *Figure 29* : Éléments structuraux suggérés des pectines étudiées

marcs de pommes (50,3 et 33,8 % précipitées respectivement par le chlorure et le sulfate d'aluminium).

Chaînes arabinogalactanes et les arabanes : En règle générale c'est le galactose (sucre neutre) qui est plus abondant que l'arabinose, ce qui est le cas, pour toutes les pectines extraites des 3 fruits (tableaux 17,18 et 20). On suggère alors la prédominance des chaînes arabinogalactanes surtout pour les pectines d'écorces d'oranges et de pulpes d'abricots, alors que celles de marcs de pommes sont riches en chaînes arabanes, surtout celles précipitées par le chlorure d'aluminium (Arb: 22,9 %). Selon Seymour et Knox (2002) les pectines de pommes sont très riches en arabanes que les autres types d'oses neutres.

° **Xyloglucanes :** Ce sont des contaminants, issus de l'hémicellulose qui sont présents dans les types de pectines extraites, d'où la teneur élevée en glucose et en xylose, on note par ailleurs que pour les pectines extraites d'écorces d'oranges la forte teneur en xylose et en galactose par rapport au glucose ce qui suggère la présence de **xylogalactane**.

Ces fractions peuvent être rencontrées chez les pectines de pommes (Weighman et al., 1996 ; Yu et Mort, 1996 cités par Seymour et Knox, 2002 ; Huisman et al., 1996) .

° On note l'absence des **Glucomannonanes** pour les pectines issues de pulpes d'abricots et de marcs de pommes précipitées par le chlorure d'aluminium (Man : 1,7 et 1,8 % respectivement), alors qu'il peuvent être présents dans les pectines extraites de marcs de pommes précipitées par le sulfates d'aluminium, d'où la valeur la plus élevée (Man: 9,5 %) et en quantité très faible pour les pectines extraites d'écorces d'oranges (Man: 3,87 et 4,02 % respectivement précipitées par le chlorure et le sulfate d'aluminium) et celles issues de pulpes d'abricots précipitées le sulfate avec d'aluminium (Man: 3,8 %) . cela montre bien la sensibilité de cet ose au pH acide car la précipitation des pectines au chlorure d'aluminium se fait à pH 3,4, alors que celles précipitées au sulfate se fait à pH 4.

Une étude réalisée par Kurz et al. (2008) sur les pectines d'abricots et de pêches a montré qu'elles sont riches en arabinanes et arabinoglucanes. Les arabinanes sont les plus abondants. La présence également de rhamnogalactane, est alors notée qu'elles sont très pauvres en xyloglucanes et glucomannonanes.

2-5-Teneurs en méthanol et degré d'estérification :

Les résultats des teneurs en méthanol et des degrés d'estérification (DE) correspondants aux pectines extraites des trois sous produits d'orange, de pomme et d'abricot, sont illustrés sur les tableaux 22, 23 et 24 ci-dessous et sur les figures 30 et 31.

§ **Tableau 22** : Teneurs en méthanol et degrés de méthylation des pectines extraites à partir des sous produits d'oranges précipitées par le chlorure et par le sulfate d'aluminium

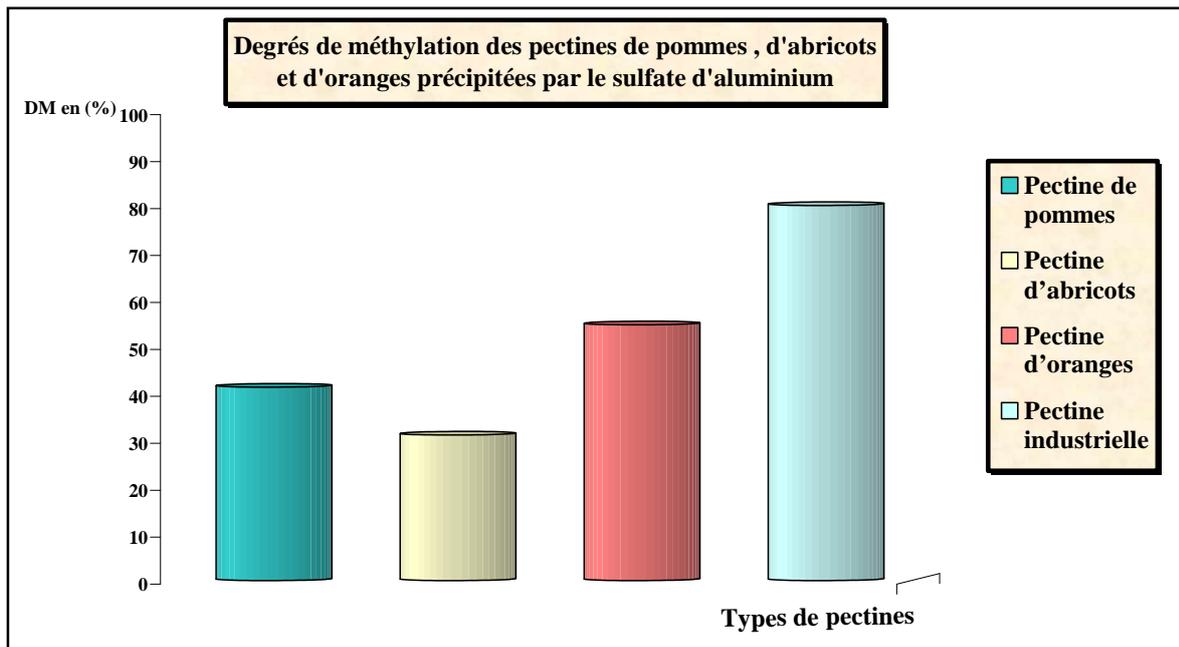
Types de pectines	Teneur en méthanol (%)	DM (%)
Pectines d'oranges précipitées par chlorure d'aluminium	5,38	62.90
Pectines d'oranges précipitées par sulfate d'aluminium	5.29	54.49
Pectine industrielle	10,44	79 ,92

§ **Tableau 23** : Teneurs en méthanol et degrés de méthylation des pectines extraites à partir des sous produits d'abricots précipitées par le chlorure et par le sulfate d'aluminium

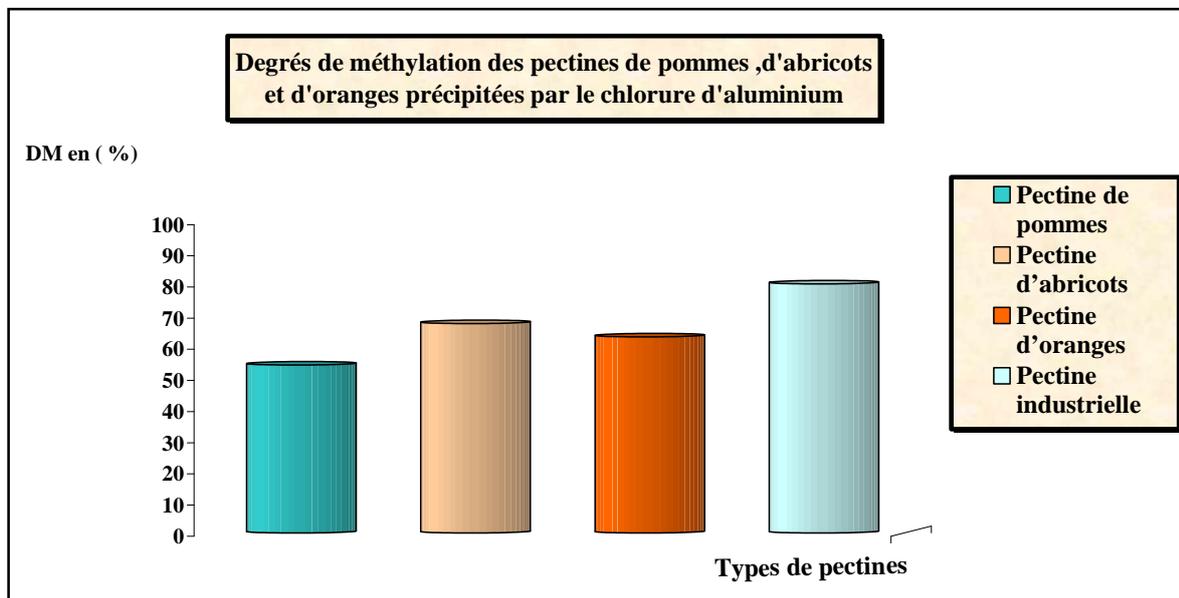
Types de pectine	Teneur en méthanol (%)	DM (%)
Pectines d'abricots précipitées par le chlorure d'aluminium	6.86	67.2
Pectines d'abricots précipitées par le sulfate d'aluminium	2.83	31.01
Pectine industrielle	10,44	79 ,92

§ **Tableau 24**: Teneurs en méthanol et degrés de méthylation des pectines extraites à partir des sous produits de pommes précipitées par le chlorure et sulfate d'aluminium

Types de pectine	Teneur en méthanol (%)	DM (%)
Pectine de pommes précipitées par le chlorure d'aluminium	4.78	53.9
Pectine de pommes précipitées par le sulfate d'aluminium	2.46	41.2
Pectine industrielle	10,44	79 ,92



§ **Figure 30** : Degrés de méthylation des pectines de pommes, d'abricots et d'oranges précipitées par le sulfate d'aluminium



§ **Figure 31**: Degrés de méthylation des pectines de pommes, d'abricots et d'oranges précipitées par le chlorure d'aluminium

Les teneurs en méthanol sont de 5.29 et 5.38 % pour les pectines extraites à partir des sous produits d'oranges et de 2.46 % et 4.78 % pour les pectines extraites à partir des marcs pommes et enfin de 2.83 et 6.86 % pour les pectines extraites à partir des pulpes d'abricots, précipitées respectivement par le sulfate d'aluminium et le chlorure d'aluminium

D'après les résultats obtenus, la teneur en méthanol varie selon la matière première et l'agent ayant servi à la précipitation.

Il est évident que les DE des pectines présentent un impact sur les propriétés rhéologiques des pectines (Anger et Berth, 1986 ; Fishman et al., 1984 cités par Schmether et al., 2001). Les DE dépendent de la teneur en AGA et du pourcentage de groupements méthoxyyles estérifiant les chaînes polygalacturonique (Kertez, 1951).

Pour les pectines d'oranges, les DE correspondants sont de 54.49 et 62.90 % et de 41.2 et 53.9 % pour les pectines de pommes et enfin de 31.01 et 67.2 % pour les pectines d'abricots, obtenues respectivement par précipitation au sulfate d'aluminium et au chlorure d'aluminium.

D'après nos résultats, on remarque que quelque soit l'origine botanique de la matière première, le chlorure d'aluminium permet l'extraction des pectines hautement méthylées (HM) puisque les valeurs de DE (62,90, 67,2 et 53,9 %) présentées par ces pectines (d'oranges, de pommes et d'abricots) sont supérieures à celle de la pectine de référence (commerciale) qui est de 50 %, alors que les pectines précipitées par le sulfate obtenues à partir de marcs de pommes et de pulpes d'abricots sont faiblement méthylées puisque les valeurs de DE obtenues (41,2 et 31,01 %) sont inférieures à la valeur de référence 50 %.

Par ailleurs, à partir de sous produits de pommes et d'abricots on peut extraire des pectines hautement et faiblement méthyles selon le sel de précipitation utilisé.

Les valeurs élevées de DE obtenus présentées par les pectines précipitées au chlorure d'aluminium par rapport au sulfate d'aluminium suggèrent que les liaisons esters sont plus sensibles au sulfate d'aluminium qu'au chlorure d'aluminium.

Ces degrés de méthylation et teneur en méthanol restent quand même inférieurs à ceux de la pectine commerciale.

Massiot et Renard (1997) ; Fertonani et al. (2006) ont trouvé pour des pectines des pommes précipitées à l'alcool, des teneurs en méthanol du même ordre que nos résultats (2.2 à 4.1 %).

Selon Knee (1978) cité par Eskin (1990) les pectines des pommes ont un DM élevé au cours de la maturation. Renard et al. (1996) ont aussi obtenu, à partir des pommes des pectines hautement méthylées (60 à 84 %).

Les valeurs élevées ont été obtenues Pour l'orange par Benchabane (1984) cité par Benchabane (1994). Cette teneur semble varier selon la nature de la matière première, la région géographique et les conditions d'extraction.

Nos résultats pour les pectines d'abricot, restent en général du même ordre que ceux trouvés par Souty et al. (1981), bien que ces auteurs mentionnent que ces pectines sont hautement méthylées durant la maturation en raison de la faible activité de PME, ce qui peut expliquer, que c'est au cours de l'extraction qu'il y a la prédominance de la désestérification chimique.

Nos résultats restent dans l'échelle des valeurs rapportées en littérature. Attri et Maini (1995) ont trouvé des pectines extraites à partir de Galgal blanche, séchées, précipitées au chlorure d'aluminium ayant un DE de 83.76 % > à 75.5% correspondant à celui des pectines précipitées à l'alcool à partir de la même matière première.

Dennapa et al., (2006) ont obtenu des pectines extraites de pulpe de papaya (à pH 1.5 après 30mn,et précipitées au chlorure d'aluminium) présentant un DE de 46 %.

Beradini et al.,(2008) ; Khratchanova et al.,(1991) ; Sriangargan et Skrikhanfe (1997) cités par Koubala et al.,(2008), ont obtenu des pectines extraites à partir de mangues et de fraises à pH 1.5 (HCl ou H₂SO₄), par précipitation alcoolique qui présentent des DE variant entre 66 et 76 %, alors que Koubala et al.,(2008) ont trouvé à partir des mangues des pectines ayant un DE variant entre 52 et 86 %.

En générale, les sous produits issus de la transformation des fruits contiennent de la pectinases, essentiellement de la pectine méthyle estérase et de la polygalacturonases. Ces enzymes peuvent activer au cours de l'entreposage de la matière première conduisent à des pectines ayant des DE faibles.

D'autre part la desestérification peut être de nature chimique et être provoquée par des pH trop bas et des températures très élevées. Nos pectines sont obtenues par des solubilisations à 80 - 82 ° C et par l'hydrolyse acide (HCl à pH 1.5), à cela s'ajoutent le blanchiment et le séchage respectivement de la matière première et des pectines obtenues.

Tous ces facteurs interviennent ensemble et provoquent l'élimination de groupements méthyles, des chaînes polygalacturonique estérifiées.

Constela et Lazano (2003) ont montré que la désesterification augmente en effet avec l'élévation de la température et la diminution du pH. Cette dégradation est forte à une température de 65° C et à pH 1.5. Elle est souvent accompagnée par une dépolymérisation.

Les pH neutres semblent aussi influencer le DE ; Albershemi et al., (1960) cités par Hiroshie et al., (2001), ont montré que l'extraction des pectines à pH neutre dégrade les molécules estérifiées de pectine.

Leroux et Schubert, (1983) ont montré que les réactions de desestérification des pectines prédominent dans les milieux dont le pH varie entre 1 et 3 et à une température de 100°C. Ces réactions entraînant la libération de méthanol, s'accompagnent par la formation des pectines insolubles dans l'eau et dont le DE < à 10 %.

Il est très important de déterminer la distribution des groupements méthyle sur la chaîne polygalacturonique, cela a un effet sur l'attachement des ions Ca⁺⁺. L'activité de ces ions permet de déterminer la distribution des ces groupements sur l'épine dorsale (Seymour et Knox, 2002).

Selon Dass et al.,(1999) cités par Guillon (2005) ; Guillon, Vanburen (1979) ; Mc Feeters (1985) cité par Lo et al., (2002), la desestérification peut également se produire pendant l'extraction et en aval des traitements des pectines : la distribution des groupements méthyles se fait d'une manière aléatoire, tandis que la desestérification enzymatique provoque une distribution beaucoup plus en bloc.

Cette distribution diffère d'une pectine à l'autre selon ses origines botaniques et les conditions d'extraction (Seymour et Knox, 2002).

D'autres paramètres notamment le séchage (Constela et al., 2002), la cuisson et le blanchiment (Bartolome et Haff,1972 ; Keijbeste Plinik,1974 ; Vanbruen ,1979 cité par

Lo et al., 2002) de la matière première peuvent affecter la DE en déclenchant une réaction d'élimination des groupements méthyles et doubler le lien glycosidique entre les résidus d'acides polygalacturonique. Selon ces auteurs la deméthylation peut avoir lieu à des températures entre 50 et 80° C.

Par ailleurs, le PME existe naturellement dans les fruits et peut provoquer la dégradation de 5 % des groupements méthoxyl des chaînes polygalacturonique estérifiées pendant la maturation.

Ces enzymes interviennent dans la perte de fermeté des fruits, en éliminant les groupements méthoxyl des pectines et en favorisant ainsi l'acceptabilité de ces derniers aux polygalacturonases (Michel, 2003 ; Husmor et al., 1996 ; Massiot et al., 1997 ; Selms et al., 1996 cités par Guillon, 2005). Selon Eskin (1990), la PME est active à pH 3.5.

Mc Feeter et al., (1985), Bartonlom et Haff (1973), Vanbruen (1979) cités par Lo et al., (2002), ont signalé que l'activité de la PME est perdue au dessus de 81° C, mais elle est en activité aux températures entre 50 à 80° C; Rappelons que nos conditions d'extraction sont similaires de 80 à 82° C et peuvent expliquer la desestérification.

Chapitre 2 : Etudes de quelques propriétés fonctionnelles des pectines extraites

1-Pouvoir gélifiant des pectines extraites :

Les résultats du pouvoir gélifiant des pectines extraites à partir des 3 types de sous produits, sont illustrés dans les tableaux 25, 26 et 27 ci-dessous et sur les figures 32 et 33.

§ **Tableau 25** : Pouvoirs gélifiants des pectines extraites à partir des résidus d'orange précipitée par le chlorure et par le sulfate d'aluminium

Types de pectines	Pectine d'oranges (chlorure d'aluminium)	Pectine d'oranges (sulfate d'aluminium)	Pectines industrielles
DM	62,90	54,49	79,92
Grade IFT (1)	0,90	0,86	0,77
SAG° (2)	175	168	150

§ **Tableau 26** : Pouvoirs gélifiants des pectines extraites à partir des résidus de pommes précipitées par le chlorure et par le sulfate d'aluminium

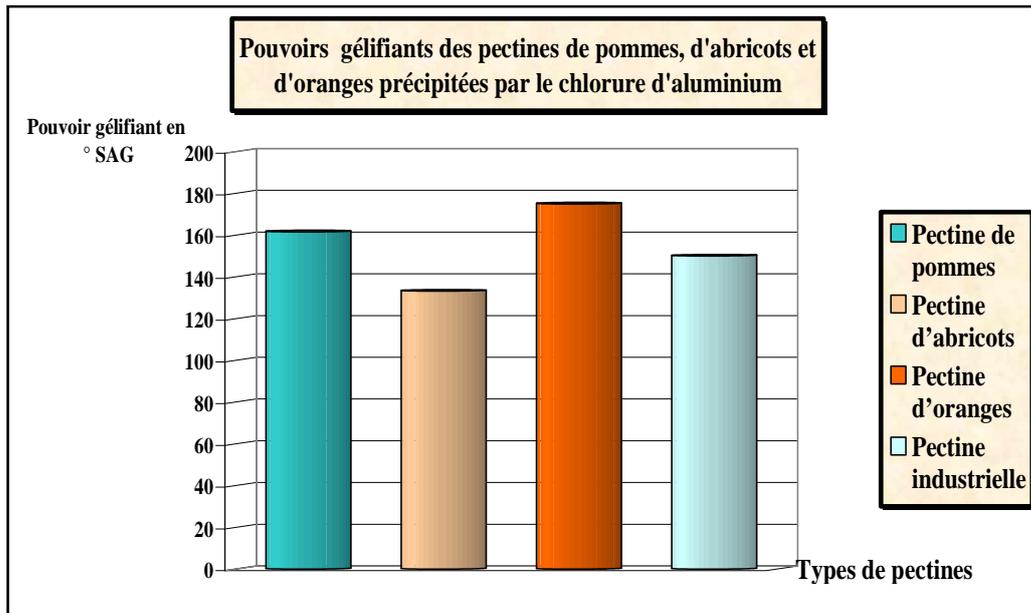
Types de pectines	Pectine de pommes (chlorure d'aluminium)	Pectine de pommes (sulfate d'aluminium)	Pectines industrielles
DM	53,9	41,2	79,92
Grade IFT	0,83	0,56	0,77
SAG°	161,6	110,5	150

§ **Tableau 27** : Pouvoirs gélifiants des pectines extraites à partir des résidus d'abricots précipitées par le chlorure et par le sulfate d'aluminium

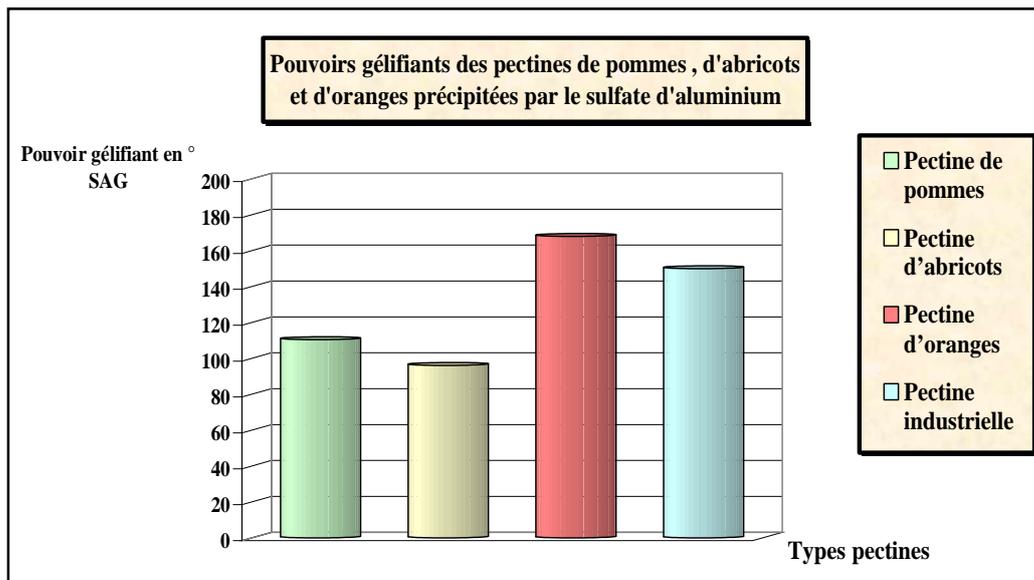
Types de pectines	Pectine d'abricots (chlorure d'aluminium)	Pectine d'abricots (sulfate d'aluminium)	Pectines industrielles
DM	67,2	31,01	79,92
Grade IFT	0,68	0,493	0,77
SAG°	133,2	96,11	150

⁽¹⁾ Degré Sag : une pectine qui a 1°SAG peut gélifier 1 g de sucre.

⁽²⁾ Grade IFT: 0,77 grade IFT = 150 °Sag.



§ **Figure 32**: Pouvoirs gélifiants des pectines d'abricots, de pommes et d'oranges précipitées par le chlorure d'aluminium

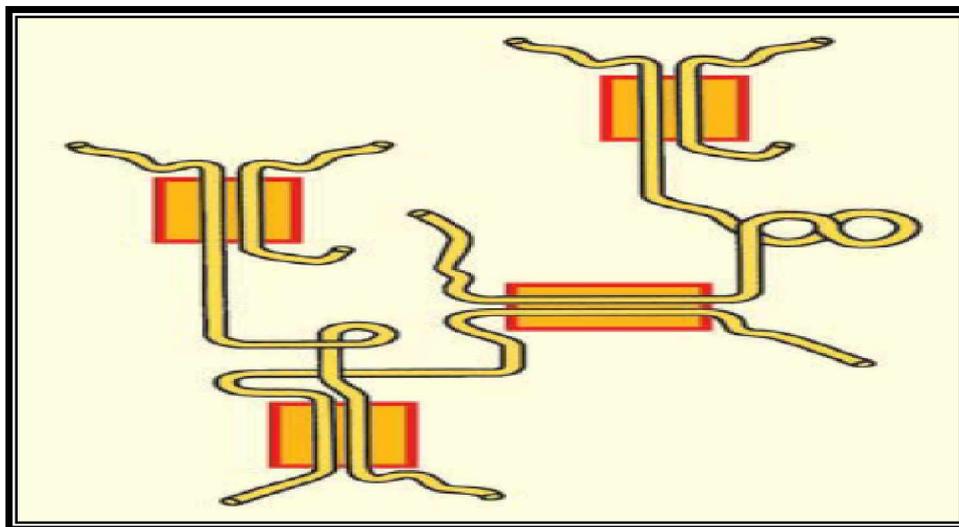


§ **Figure 33** : Pouvoirs gélifiants des pectines d'abricots, de pommes et d'oranges précipitées par le sulfate d'aluminium

Les pectines hautement méthylées obtenues (tableaux 22, 23 et 24) sont représentées par : les pectines issues d'oranges précipitées par le chlorure d'aluminium (62,9 %), celles précipitées par le sulfate d'aluminium (54,49 %), celles issues de pommes précipitées par le chlorure d'aluminium (53,9 %) et les pectines issues d'abricots précipitées par le chlorure d'aluminium (67,2 %); alors que les pectines extraites de pommes précipitées par le sulfate d'aluminium (41,2 %) et celles extraites d'abricots précipitées par le sulfate d'aluminium (31,01 %), sont des pectines faiblement méthylées.

On remarque bien que (tableaux 25, 26 et 27), ce sont les pectines d'oranges hautement méthylées qui donnent les meilleurs pouvoirs gélifiants : 175 °SAG, et 169 °SAG pour celles précipitées respectivement au chlorure d'aluminium et au sulfate d'aluminium, de même pour les pommes précipitées au chlorure d'aluminium avec 161,6 ° SAG, ils sont tous meilleurs par comparaison à la pectine de référence (pectines commerciale : 150° SAG).

Les gels obtenus par ces pectines sont obtenus par un rapprochement et une association locale des macromolécules pectiques entre elles, conduisant à la formation d'un réseau tridimensionnel, par la création des zones de jonction selon la figure proposée par Herbstreith & Fox (1998 a) suivante :



La stabilité de ces zones dépend de la structure chimique des pectines.

Selon Lewis (1995), les conditions de préparation des gels pectiques (pH, temps, concentration en pectines, en sucre et en ions Ca²⁺) peuvent directement influencer leurs propriétés.

Dans notre cas les gels obtenus sont formés à un pH de 2,8 à un temps moyennement lent par rapport à la pectine de référence et à une teneur en sucre de 66-67 %. La quantité approximative utilisée pour chaque type de pectine est représentée sur le tableau ci-dessous :

Types de pectines	Grades en °SAG	Quantité de pectines utilisées En gramme
Pectines d'oranges (chlorure d'aluminium)	175	2,864
Pectines d'oranges (sulfate d'aluminium)	168	3,09
Pectines de pommes (chlorure d'aluminium)	161,6	3,10
Pectines d'abricots (chlorure d'aluminium)	133,2	3,67
Pectines de pommes (sulfate d'aluminium)	110,5	4,55
Pectines d'abricots (sulfate d'aluminium)	96,11	5,36
Pectine industrielle	150	1

Donc plus le pouvoir gélifiant est grand plus la quantité nécessaire de pectine est petite.

Plusieurs travaux ont mis en évidence que la teneur en AGA, le DM, la distribution des groupements carboxyles non estérifiés et la charge des pectines, auquel s'ajoutent la teneur en oses neutres et la présence des groupements acétyles, influencent énormément les propriétés structurales et texturales des gels pectiques (Constaela et Lozano, 2003 ; Chang et la., 1994; Kim et al., 1978; Lin et al., 1975 cités par Sahari et al., 2003) .

Pour d'autres auteurs le poids moléculaire intervient aussi (Michel et al., 1985; Phatak et al., 1988 ; Rouberts et Thibault, 1986 cités par Yapo et al., 2006).

Selon Bondu (1980), cité par Benchabane (1984), une bonne pectine de pomme a un pouvoir gélifiant de 177 à 220 ° SAG, alors que celui d'une pectine d'orange varie entre 170 à 200 °SAG.

Concernant la pectine d'abricot, malgré qu'elle présente le DM le plus élevé (67,2 %) par rapport aux différentes pectines obtenues, elle donne un pouvoir gélifiant faible (133,2

°SAG) et la quantité nécessaire à la gélification est de 3,67 g de pectine par rapport aux pectines de pommes hautement méthylées (161,6 ° SAG) et d'oranges (175 et 168 ° SAG). Ce pouvoir gélifiant est inférieure même à la pectine de référence (150 °SAG).

Cette faiblesse peut être expliquée par la différence structurale qu'elle présente par rapport aux deux autres pectines de pommes et d'orange (poids moléculaire, teneur en oses neutres, et présence ou non des groupements acétyles).

La contribution des chaînes latérales aux propriétés rhéologiques des pectines n'a pas été bien détaillée, il y a deux hypothèses contradictoires :

< Selvaendran et al.(1996), cités par Koh et Melton (2002), ont montré que les chaînes latérales d'arabanes et de galactanes des pectines pourraient contribuer à la formation des gels, en gardant les molécules d'eau dans le cadre du gel.

Alors que Bemitter et Reed (1998) cités par Koh et Melton (2002), disent que les chaînes latérales des pectines pourraient limiter la prolongation de l'association inter-chaines et peuvent empêcher la formation des zones de jonctions nécessaires pour la gélification.

Par ailleurs Malthewr et al.(1990)cités par Schemelter et al.(2002), ont rapporté que la présence et la quantité en groupements acétyles affectent la gélification. Arslan (1995) ; Phippen et al. (1950) cités par Yapo et al. (2006) rapportent que la teneur élevée en oses neutres l'affecte aussi.

Nos résultats montrent que les pectines hautement méthylées obtenues contiennent du galactose et une teneur en arabinose moyenne, et leur teneur en oses neutres est élevée, en effet les pectines de pommes précipitées par le chlorure d'aluminium, les pectines d'oranges précipitées par le chlorure et le sulfate d'aluminium présentent les valeurs en ON les plus élevées, et qui sont respectivement de: 21,45, 24,2 %, et 18,9 %.

Alors que la pectine d'abricots précipitée par le chlorure d'aluminiums présente la valeur la plus faible (16,9 % d'ON), parmi les différentes pectines extraites. Ces résultats confirment la première hypothèse de Selvaendran et al.(1996), cités par Koh et Melton (2002), Ces pectines contiennent en quantité importante des groupements acétyles et présentent probablement un poids moléculaire faible.

Souty et al., (1981), ont constaté en effet que la présence des groupements acétyles gêne le rapprochement des chaînes pectiques lors de la formation du gel, ces auteurs ont également trouvé que les pectines à base d'abricots sont riches en groupements acétyles

d'où leur classification parmi les pectines acétylées. La teneur en ces groupements peut atteindre selon Thibault et al.,(2000); Ralet et al., (2001) des valeurs allant de 30 à 35 %.

Yapo et al., (2006) rapportent des résultats qui vont dans ce sens : ils trouvent que la pectine à base de betterave sucrée est aussi très riche en ces groupements (16,6 %) et a un poids moléculaire relativement faible (85,3 kg/mol), alors que sa teneur en oses neutres est du même ordre que nos pectines de pommes et d'oranges dans les mêmes conditions d'extraction. ces pectines sont connues par leur pouvoirs gélifiants très faibles mais leur pouvoirs émulsifiants élevés.

Wiker (1985) cité par Sharma et al., (2006) montre qu'à pH en dessous de 3, il y a diminution de la force électrostatique, et augmentation des interactions des groupements méthyles et carboxyles, conduisant à la formation des gels tridimensionnels.

Les interactions hydrophobes entre les groupes esters méthyliques des pectines et les liens hydrogène entre les chaînes galacturonanes adjacentes contribuent à l'agrégation des molécules des pectines, en abaissant la barrière libre d'énergie à la gélification.

Oskenfule et Scott (1984) cités par Sharam et al. (1998), ont également montré qu'à pH constant, la force du gel reste liée au DE, et s'élève avec l'augmentation du DE. La grande taille du gel et le nombre plus élevée des zones de jonctions sont obtenus à des concentrations élevées en pectines.

L'utilisation du saccharose à une concentration de 66 – 67 %, apparaît satisfaisant pour que les pectines hautement méthylées extraites, donnent des gels avec une rigidité acceptable.

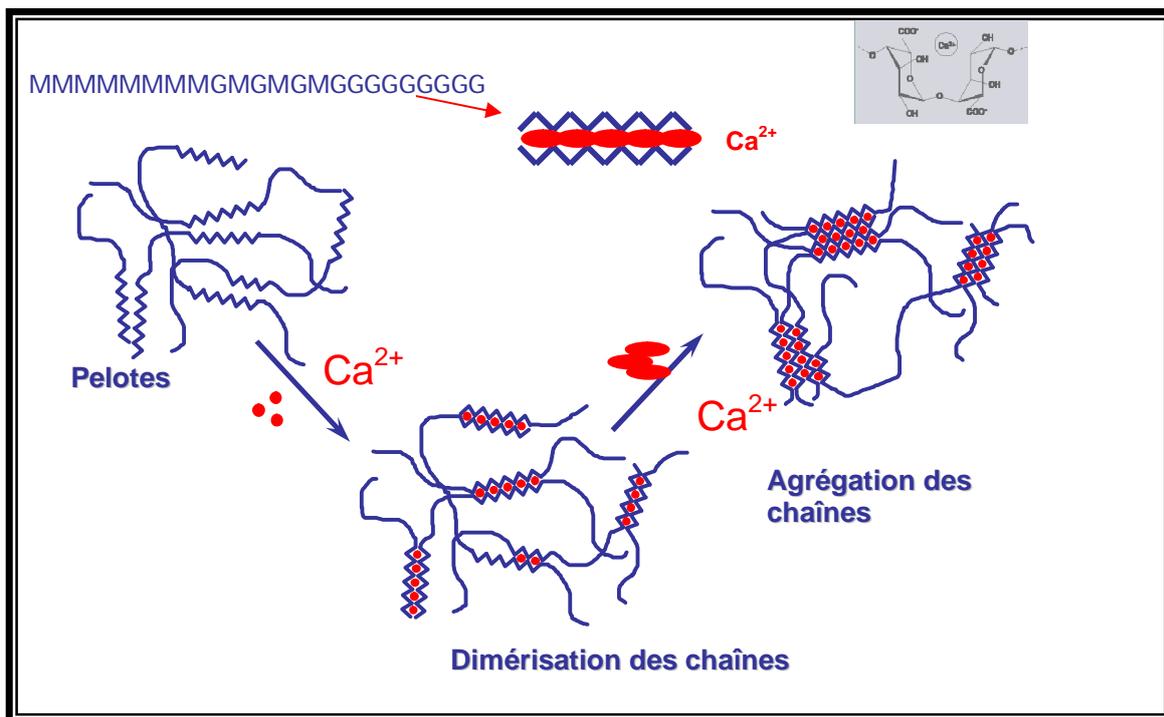
Le sucre joue selon Herbstreith & Fox (1998 a) le rôle d'un déshydratant du milieu, tout en favorisant l'apparition des liaisons hydrogène entre la pectine, l'eau et le sucre, alors que la pectine de référence forme des gels à une concentration en sucre de 60 % avec 1% de pectine et à pH 3. Cette différence avec nos gels peut être due au fait que nos pectines ne sont pas bien épurées comme la pectine de référence, et ses propriétés fonctionnelles peuvent également avoir été affectées par les traitements thermiques (séchage, blanchiment et solubilisation à un temps prolongé) subies au cours de l'extraction, au laboratoire par rapport aux conditions industrielles.

Pour les pectines faiblement méthylées extraites des marcs de pommes (DE : 41,2 %) et celles issues des pulpes d'abricots (DE:31,01 %), précipitées par le sulfate d'aluminium, la gélification suit le modèle de la "boite à œuf" (voir figure ci-dessous).

Dans ce modèle, en présence d'ions Ca^{++} , existant naturellement et avec une teneur élevée en pectines (4,55g) pour la pectine de pommes précipitée par le sulfate et avec une teneur de 5,55g. Pour la pectine d'abricots précipitée par le sulfate (tableau page 103), la gélification a lieu par la formation des cavités électro-négatives entre deux chaînes pectiques pouvant accommoder les ions divalents. Ces zones de jonction s'établissent dans les régions galacturonique par les liaisons ioniques au niveau des fonctions carboxyliques.

Ces gels sont peu réversibles mécaniquement et suivant les liaisons créées, ils peuvent être thermoréversibles ou non (Rizzotti, 1994).

§ Mécanisme de gélification des pectines d'abricots et de pommes précipitées par le sulfate d'aluminium (pectines LM) selon le modèle "boîtes à oeufs" adapté par Axelos et Thibault, 1991) cités par Sriamonrnsak (2003) :



Le pouvoir gélifiant est directement lié à la teneur en méthanol qui détermine le DE. Les résultats obtenus de DE sont du même ordre que ceux rapportés en bibliographie. Pendant la maturation du fruit, les pectines sont hautement méthylées et le DE atteint 71% pour les pectines de pommes, 64 % pour les pectines d'orange. (Schieber et al., 1994 cités par Schieber et al., 2003).

D'après les résultats que nous avons obtenus, à partir des pommes et de l'abricot on peut obtenir des pectines hautement et faiblement méthyles (53.9 - 41.2 et de 67.2-31.01 respectivement). Alors que les oranges dans les mêmes conditions permettent d'avoir des pectines hautement méthylées (62.90- 54.49 %).

Les désestérifications observées pour nos échantillons peuvent être expliquées d'une part par l'activité enzymatiques de PME qui s'accélère à des températures entre 50-80° C et d'autre part, par la réaction de déméthylation qui peut avoir lieu dans les milieux fortement acides.

On constate que quelque soit l'origine botanique des pectines, celles précipitées par le sulfate sont les plus désestérifiées, suggérant ainsi que cet agent de précipitation accélère les réactions d'élimination du méthanol des chaînes polygalacturoniques.

Les pectines ayant un DE >50 % notamment des pommes hautement méthylées et celles d'oranges présentent un pouvoir gélifiant plus important (161,6, 175 et 168 °SAG respectivement) que celui des pectines de référence (150° SAG), alors que celles ayant un DE <50 % notamment la pectine de pommes faiblement méthylée et les pectines d'abricots (hautement et faiblement méthylées) présentent un pouvoir gélifiant faible et < à celui de la pectine industrielle (110,5, 133,2 et 96,11 °SAG).

Dans le travail précédant (mémoire d'ingénieur), où nous avons utilisé l'alcool comme agent de précipitation et dans des conditions d'extraction proches, on a obtenu des pectines à partir des sous produits d'abricots, ayant un pouvoir gélifiant beaucoup plus élevé et proche à celui-la de pectine de référence (146,3 °SAG avec un DE : 65,12 %).

Cette différence s'explique par le fait que le solvant utilisé pour la précipitation influe sur DE et par conséquent sur le pouvoir gélifiant. L'alcool et le chlorure d'aluminium précipitent des pectines hautement méthylées permettant une bonne gélification, alors que le sulfate d'aluminium précipite des pectines faiblement méthylées qui gélifient qu'en présence des ions Ca⁺⁺.

Des études récentes ont montré d'une part l'effet bénéfique des oses neutres, notamment

du galactose et d'arabinose sur le pouvoir gélifiant. Ces oses gardent l'eau dans le cadre du gel, d'autre part, la capacité de rétention élevée de l'eau par les des chaînes latérales des pectines par rapport à d'autres fibres, surtout celles des céréales (Hwang et Kokini, 1991 ; Hwang et al., 1993 ; Voragen et al.,1995 cités par Seymour et Knox, 2002)

Nos résultats sont en conformité avec cette hypothèse, les pectines extraites de sous produits d'oranges et de pommes, dont les DE sont supérieurs à 50 %, sont riches surtout en galactose (Gal. :34,01, 30,16 % et 23,4 et Ara. :12,5, 8,7et 22,9 % respectivement pour les pectines d'oranges précipitées par le chlorure et le sulfate d'aluminium et celles de pommes précipitées par le chlorure d'aluminium).

Malgré que les pectines issues de sous produits d'abricots, présentent des teneurs élevées en galactose et en arabinose (Gal : 24,1 et Arb : 10,6 pour les pectines précipitées par le chlorure et Gal : 34,38 % et Ara : 12,67 % pour les pectines précipitées par le sulfate d'aluminium), elles ont un pouvoir gélifiant faible. Cela s'explique par la présence d'autres facteurs qui gênent la gélification, notamment la présence des groupements acétyles. Ces pectines sont théoriquement classées selon Thibault et al., (2000) ; Ralet et al.,(2001) parmi les pectines acétylées (30-35 %).

2- Activité émulsifiante des pectines extraites

2-1-Activité émulsifiante

Des investigations ont été faites pour évaluer l'effet des diverses caractéristiques structurales des pectines sur leurs capacités émulsifiantes (Kertesz, 1951 ; Rooker, 1927 cité par Leroux et al., 2003).

Nos avons étudié les propriétés émulsifiantes des pectines extraites des trois types de sous produits (d'oranges, de pommes et d'abricots) et la possibilité de maintenir ces émulsions stables pendant le stockage respectivement à 4 ° C - 23 ° C pendant 01 et après 30 jours, tout en essayant de déterminer la relation entre la structure des pectines et ses propriétés fonctionnelles, telle que la capacité émulsifiante.

Après la centrifugation des émulsions préparées à partir de différents échantillons de pectines (photos 11, 12 et 13), on a remarqué l'apparition de trois phases distinctes :

§ Une phase d'huile en surface

§ Une phase aqueuse dispersée par la pectine

§ Une couche émulsifiante entre ces deux phases

Les résultats de l'activité émulsifiante des différentes pectines obtenues sont illustrés sur les tableaux 28, 29 et 30 ci-dessous et sur les figures 34 et 35.

§ **Tableau 28** : Activités émulsifiantes des pectines d'oranges précipitées par les sels à base d'aluminium

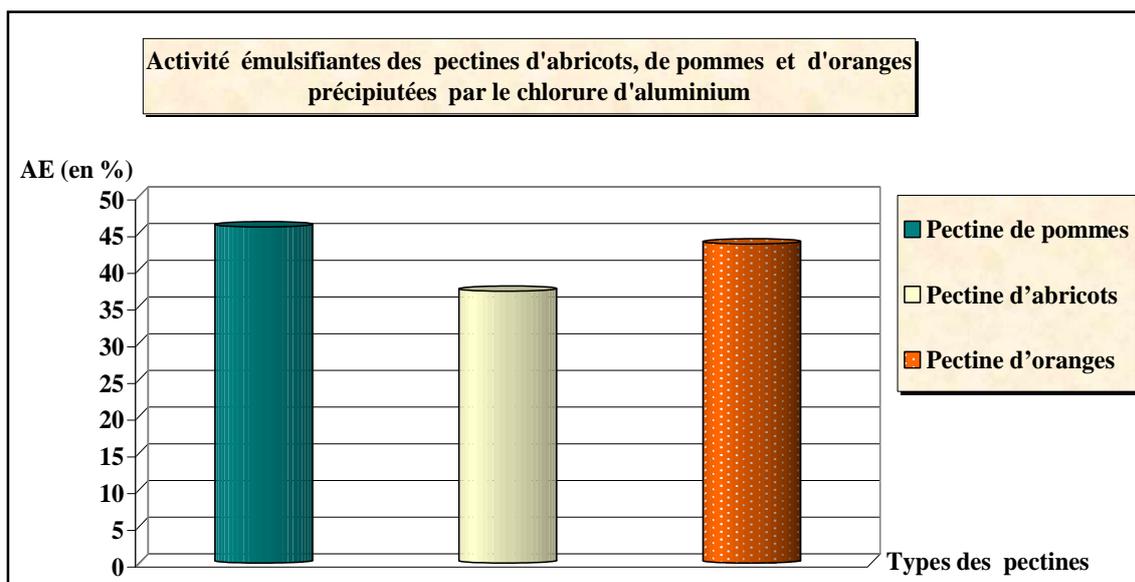
Types de pectines	AE (%)	stabilité d'émulsion (SE %)			
		1 jours		30 jours	
		4 ° C	23 ° C	4 ° C	23 ° C
<i>Pectine d'oranges (Chlorure d'Al)</i>	43,47	85	81,9	85	81,9
<i>Pectine d'oranges (Sulfate d'Al)</i>	41,66	90	86	86	86

§ **Tableau 29** : Activités émulsifiantes des pectines d'abricots précipitées par les sels à base d'aluminium

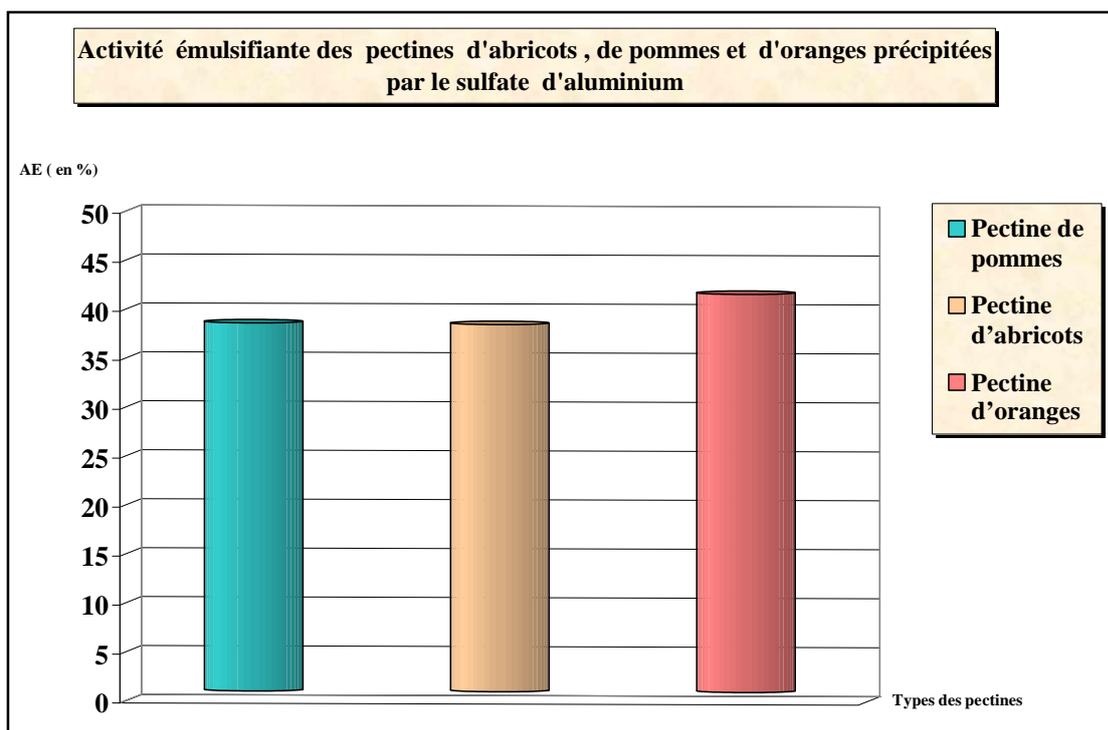
Types de pectines	AE (%)	stabilité d'émulsion (SE %)			
		1 jours		30 jours	
		4 ° C	23 ° C	4 ° C	23 ° C
<i>Pectine d'abricots (Chlorure d'Al)</i>	37,04	94	84,2	84,2	84,2
<i>Pectine d'abricots (Sulfate d'Al)</i>	38,5	80	73	80	80

§ **Tableau 30**: Activités émulsifiantes des pectines de pommes précipitées par les sels à base d'aluminium

Types de pectines	AE (%)	stabilité d'émulsion (SE %)			
		1 jours		30 jours	
		4 ° C	23 ° C	4 ° C	23 ° C
<i>Pectine de pommes (Chlorure d'Al)</i>	45,8	80	65,3	77,5	63,3
<i>Pectine de pommes (Sulfate d'Al)</i>	38,6	87,3	80	80	80



§ *Figure 34* : Pouvoirs émulsifiants des pectines d'abricots, de pommes et d'oranges précipiitées par le chlorure d'aluminium



§ *Figure 35* : Pouvoirs émulsifiants des pectines d'abricots, de pommes et d'oranges précipiitées par le sulfate d'aluminium

Nos résultats en AE (tableaux 28, 29 et 30) pour toutes les pectines confondues, allant de 37,04 à 45,8, sont du même ordre que ceux obtenus par Leroux et al., (2003) et Yapo et al., (2006) qui sont respectivement de 43,2 et de 47,1 % pour la pectine de betteraves, et sont supérieurs à celui trouvé par Huang et al., (2001) cités par Yapo et al.,(2002) qui est de 30,3 %.

L'activité émulsifiante des nos pectines s'explique par le fait qu'elles sont douées d'une activité tensio-active, en augmentant la viscosité de la phase aqueuse et en réduisant la tendance des globules dispersées d'huile, d'émerger et de fusionner.

Dans le même sens, Yapo et al.(2006); Dea et Madden (1986), cités par Leroux et al.(2003) ont constaté qu'une forte réduction de tension superficielle obtenue avec les pectines de betteraves peut être expliquée par le faibles poids moléculaire.

Yapo et al.(2006), ont aussi montré que ce sont surtout le temps et la température qui influent énormément sur l'activité de surface. Les pectines les plus tensio-actives sont celles extraites à température de 80° C, à pH 1,5 et pendant 1h.

Cela est en conformité avec nos résultats, nos pectines ont été extraites dans les conditions similaires et montrent une forte activité émulsifiante.

Selon Funami et al.(2007), les protéines des pectines sont actives à l'interface huile-eau, et la perte en protéines a comme conséquence, une diminution de AE de celles-ci,rendant les gouttelettes d'émulsions grandes et floculées.

Alors que Endress et Renscler (1999), cités par Leroux et al.(2003) ont montré que c'est la présence des groupements acétyle qui interviennent dans la réduction de tension de surface et qu'un faible poids moléculaire (60-70Kg/mol) et un DE élevé montrent un meilleur pouvoir émulsifiant et que par ailleurs c'est seulement une petite partie de pectine qui est adsorbée par l'huile.

Leroux et al.(2003), ont signalé que la pectine pourrait se comporter comme la gomme arabique,et que les associations entre la fraction d'huile et l'hypocycloïde se font par l'intermédiaire des protéines présentes sur la gomme.

Ces auteurs sont arrivés à déterminer le seuil d'adsorption, le niveau auquel le supplément en pectine reste dans la couche de dispersion de celles-ci, c'est-à-dire sera inutile. Ce seuil dépend en partie de la nature de la pectine, autrement dit de la teneur en protéine et

des groupements acétyle, Cela signifie que les pectines présentant une meilleure capacité émulsifiante sont celles ayant donné une véritable émulsion avec de faible concentration.

Nos pectines ayant servi à la préparation de l'émulsion, ont été utilisées à une dose de 0,5 % et donnent une très bonne activité émulsifiante.

Nos pectines à base d'oranges, de pommes et d'abricots présentent une forte activité émulsifiante avec un seuil très faible (0,5 %), de plus, celles de pommes et d'oranges ayant de faibles teneurs en protéines (tableaux 13 et 14), montrent de fortes AE qui sont (tableaux 28 et 30) par comparaison aux pectines d'abricots riches en protéines (voir tableau 15), ces dernières (pectines d'abricots) ont des AE moindres (tableau 29), cela signifie qu'il y a absolument d'autres facteurs qui entrent en jeu.

Willats et al.(2006) rapportent que l'acide ferulique un des composés phénoliques les plus rencontrés dans certaines pectines telles que les pectines de betteraves explique le pouvoir émulsifiant très élevé, due à sa propriété hydrophobe. La partie protéinique intervient aussi.

Théoriquement la pectine d'oranges et celle de pommes sont riches en composées phénoliques et contiennent respectivement 12 % et 11,8 %.

Alors que les pectines d'abricots obtenues (tableau 15) sont riches en protéines et contiennent respectivement 3,93 % et 3,062 % pour celles précipitées par le chlorure et le sulfate d'aluminium. Ces deux composées semblent contribuer ensemble à la propriété émulsifiante des pectines. Par ailleurs les composées phénoliques diffèrent qualitativement et quantitativement selon l'origine botanique, le stade de maturité, les conditions d'extraction, et la dégradation par oxydation au cours des processus industriels.

Thakur et al.(1997), cités par Kawakatsu et al. (2001), rapportent que la monodispersion des émulsions à base de pectines peut être obtenue à des concentrations en pectines relativement faibles (<1 %), alors que la polydispersion de l'émulsion est due à l'élévation de la viscosité de la fraction pectique.

2-2- Stabilités des émulsions étudiées

Les résultats de l'étude de la stabilité de nos émulsions (SE), préparées sont illustrés dans les tableaux 28, 29 et 30 et sur les graphes 1, 2, 3, 4, 5 et 6).

Nos échantillons montrent des stabilités satisfaisantes mais qui sont légèrement irréguliers au cours du stockage surtout à la température de 4° C.

Yapo et al.(2006), ont trouvé des valeurs des mêmes ordre que nous , mais leur pectines ont gardé cette stabilité au cours de stockage.

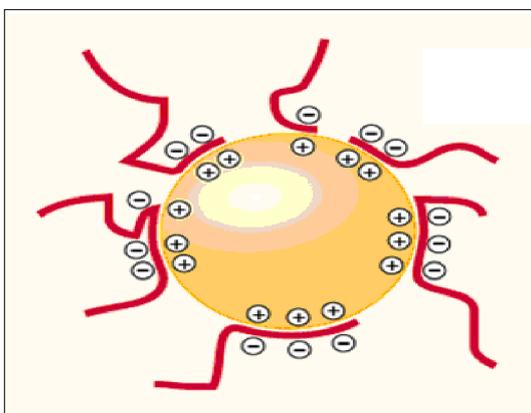
La stabilité de l'émulsion peut être expliquée selon Nakamura et al. (2004) et (2006) cités par Funami et al.(2007) ;Willats et al.(2006) par la répulsion stérique des agrégats par une couche hydratée.

Akhtar et al.(2002) ont mentionné la probabilité que le stockage induirait une floculation qui coupe l'émulsion et qu'une pectine ayant un poids de 70kg/mol peut donner des émulsions avec une bonne stabilité.

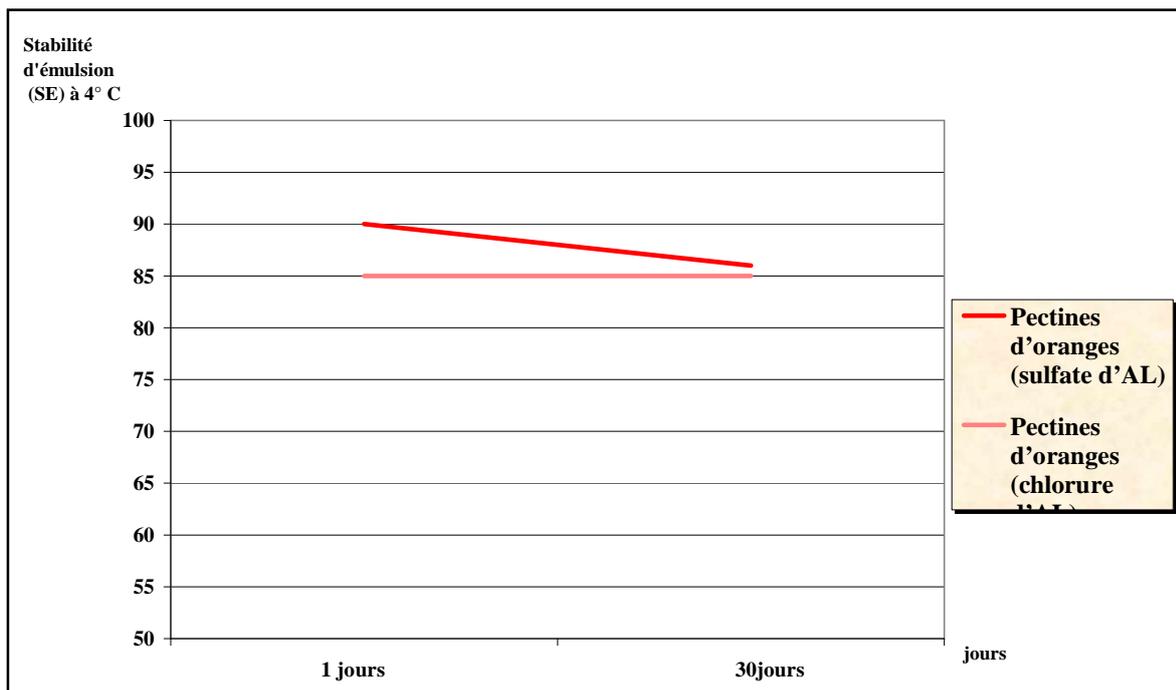
Kokin et Cartlo (1989) cités par Sharma et al.(1998) rapportent que les pectines qui stabilisent les émulsions à l'interface en formant un enduit autour des particules, facilitant ainsi la formation de l'émulsion.

De même selon Linden et Loreient (1994) ; Leroux et al.(2003) la stabilité est contribué par des répulsions électrostatiques assurées par les molécules chargées(pectines) et les protéines(voir figure ci-dessous) :

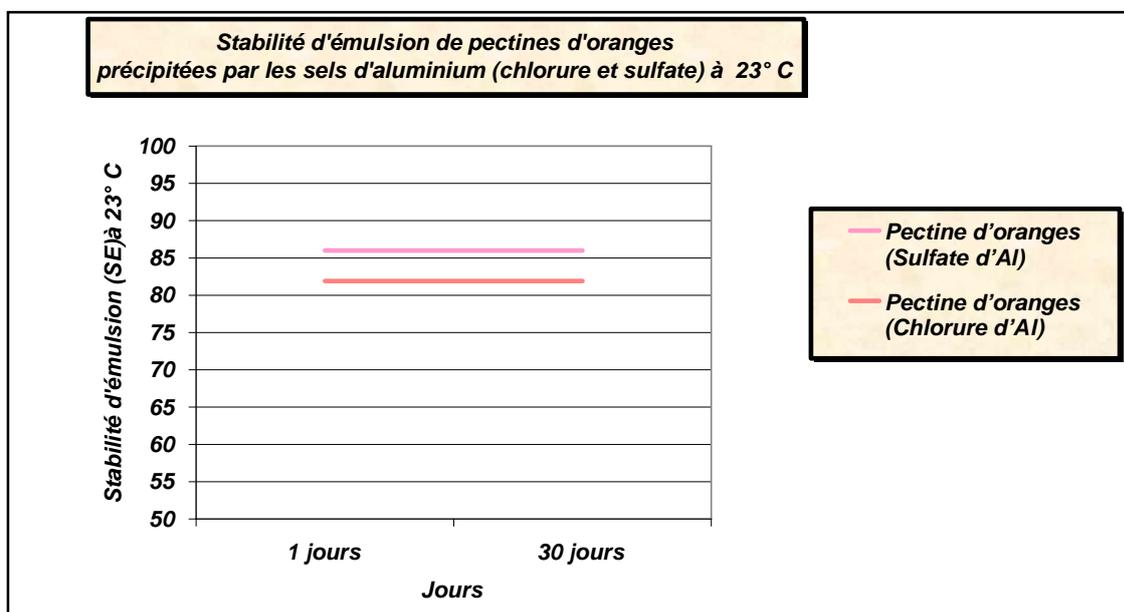
Stabilité d'émulsions en présence de pectines selon Leroux et al.(2003)(b) ; Herbsreith & Fox, (2006):



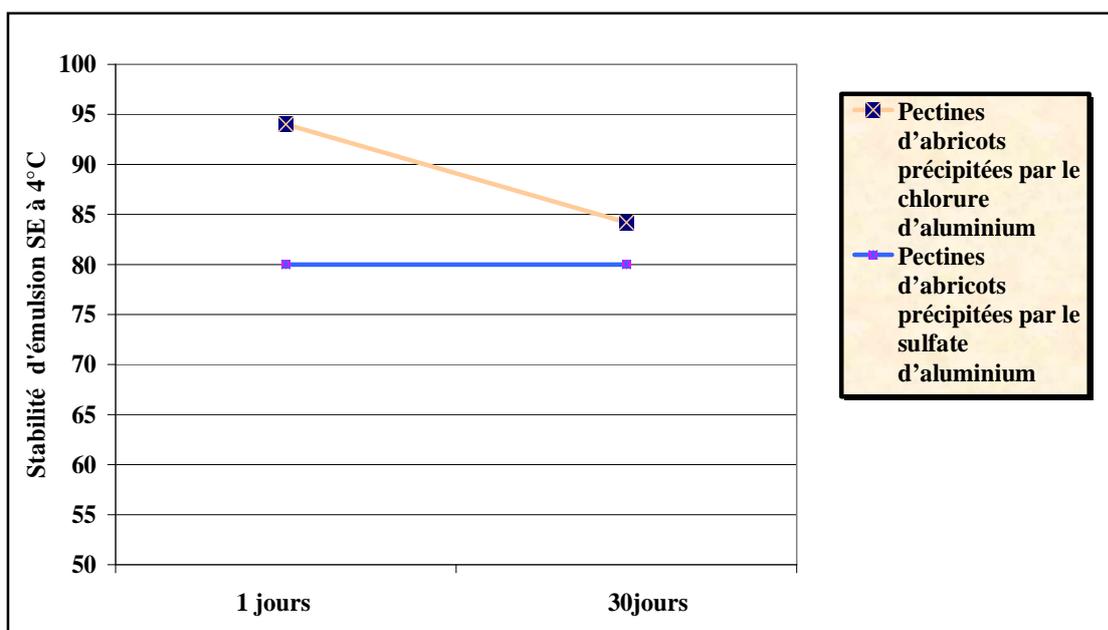
Les charges (-) : pectines
Les charges (+) : protéines
La gouttelette au centre : huile



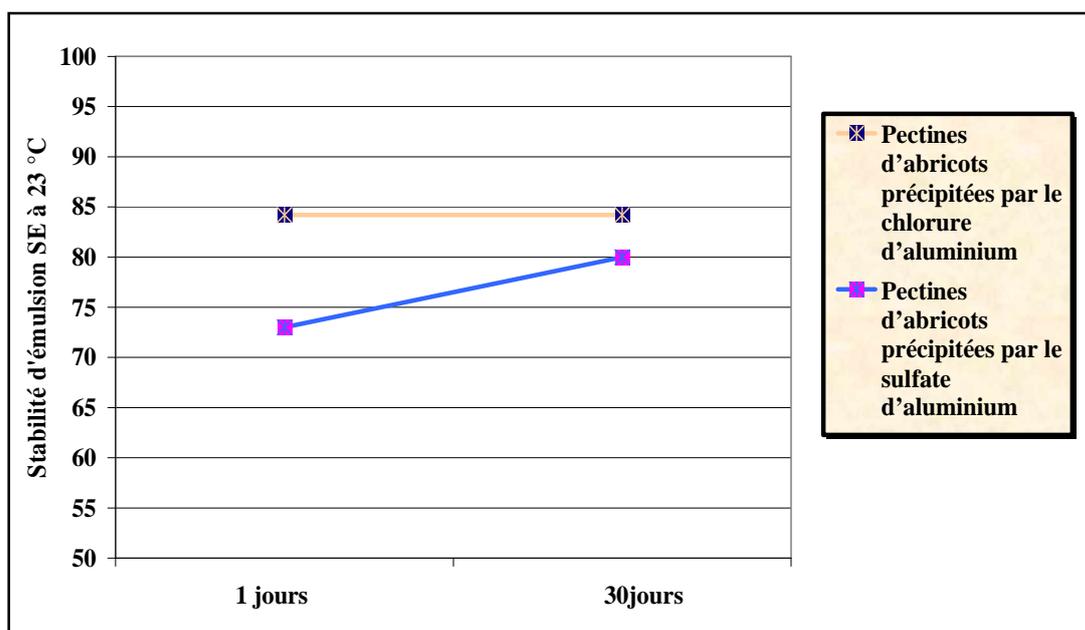
§ *Graphe 1* : Stabilité d'émulsion a base de pectines d'oranges précipitées par le sulfate et le chlorure d'aluminium à 4° C



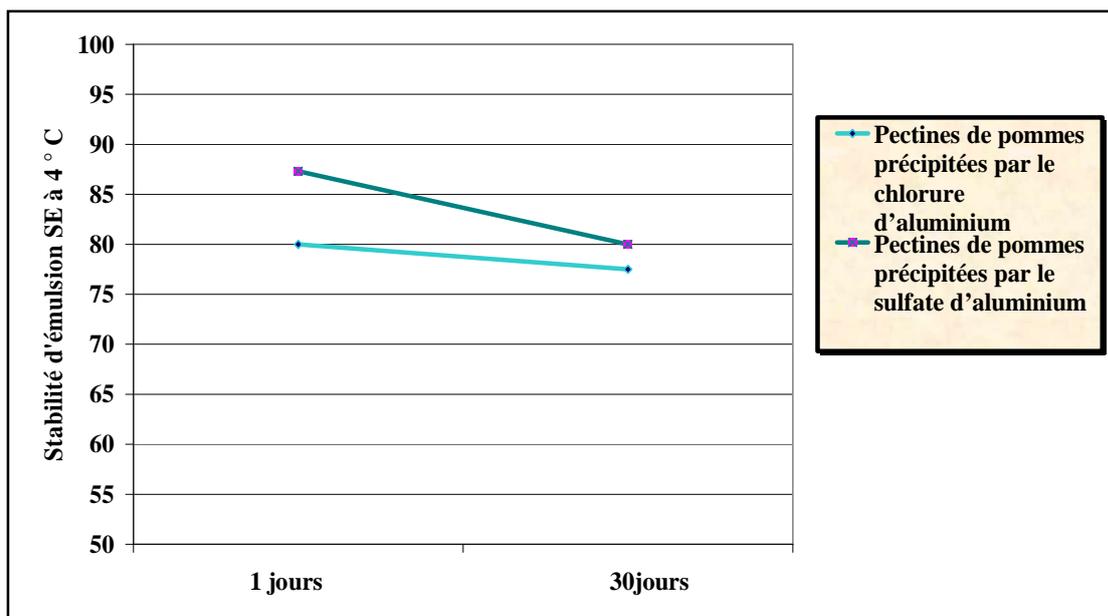
§ *Graphe 2* : Stabilité a 23° C d'émulsion à base de pectines d'oranges précipitées par le sulfate et le chlorure d'aluminium



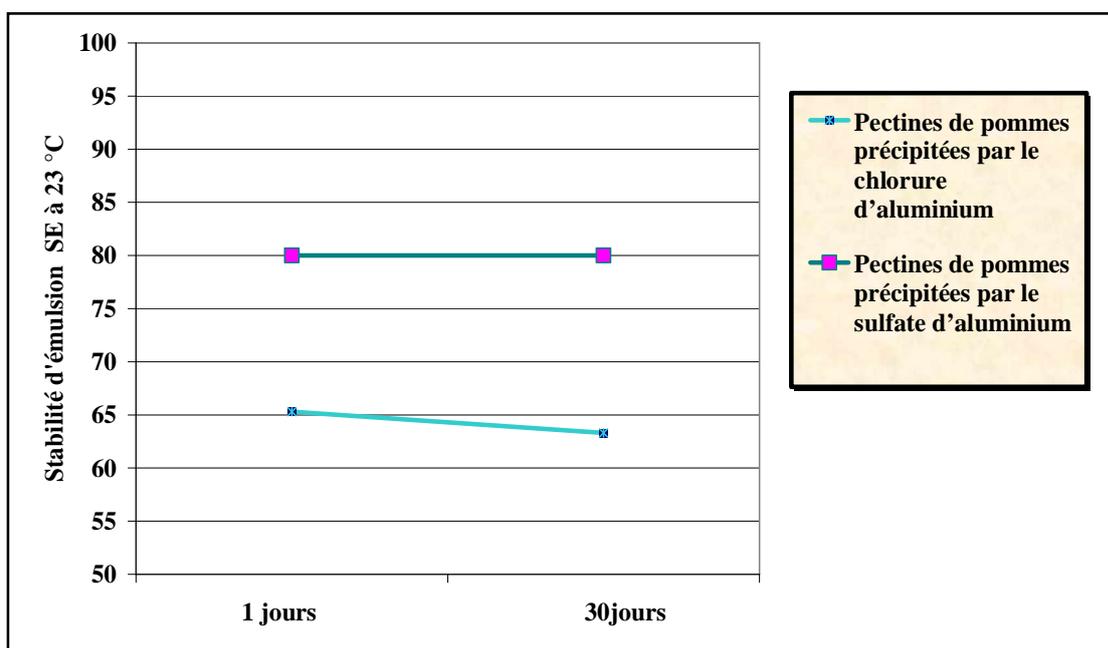
§ *Graph 3* : Stabilités d'émulsions à base des pectines d'abricots précipitées par les sels d'aluminium (sulfate et chlorure) à 4° C



§ *Graph 4* : Stabilités d'émulsions à base des pectines d'abricots précipitées par les sels d'aluminium (sulfate et chlorure) à 23° C



§ *Graphie 5* : Stabilités d'émulsions à base des pectines de pommes précipitées par les sels d'aluminium (sulfate et chlorure) à 4° C



§ *Graphie 6* : Stabilité d'émulsion à base de pectines de pommes précipitées par les sels d'aluminium (sulfate et chlorure) à 23° C

En effet, la diminution de l'activité émulsifiante et leur stabilité au cours du stockage est due à la dénaturation des protéines sous l'effet des traitements thermiques.

Pinotti et Zortizky (2001), ont montré que les émulsions préparées à partir des pectines précipitées au sulfate d'aluminium présentent une faible stabilité, cela peut s'expliquer par le fait que ce sont ces solvants qui déstabilisent ces émulsions, en augmentant les interactions électrostatiques par hydrolyse des ions métalliques présents dans le milieu réactionnel et par conséquent annulant les forces chimiques et l'adsorption.

Les émulsions obtenues avec nos pectines présentent une légère irrégularité de la stabilité surtout à 4° C, ceci s'explique par le fait que les solvants à base d'aluminium diminuent l'adsorption à la surface des deux phases.

L'intensité de ces forces varie avec le solvant et les solutés présents dans la préparation. L'une des espèces ioniques qui est le moins attirée vers le centre de l'émulsion obtenue, sera moins éliminée que les autres de la surface et se trouvera préférentiellement adsorbée à l'interface.

Selon Linden et Loreint (1994), deux comportements peuvent être observés :

< Adsorption négative des sels minéraux éliminés des pectines de la surface de l'émulsion

A Adsorption superficielle des composés organiques (protéines, groupements acétyles et composés phénoliques) des pectines.

La tension superficielle diminue lorsque s'accroît la concentration en pectines jusqu'à l'obtention d'un palier correspondant à la formation de micelles des molécules tensioactives (pectines). La concentration minimale est alors appelée concentration micellaire critique (CMC). Pour nos pectines le CMC est égal 0,5 %.

La diffusion et l'adsorption des molécules à l'interface des émulsions préparées sont souvent des phénomènes lents, car les premières molécules adsorbées, s'opposent à l'arrivée de nouvelles molécules, il s'ensuit de multiples réarrangements avant la saturation de l'interface.

Toutes les pectines obtenues présentent une activité émulsifiante intéressante avec une meilleure stabilité des émulsions obtenues, mais qui restent légèrement irrégulières au

cours du stockage dans les deux températures, mais surtout à basse température (4° C) ,pour les pectines des pommes et d'oranges.

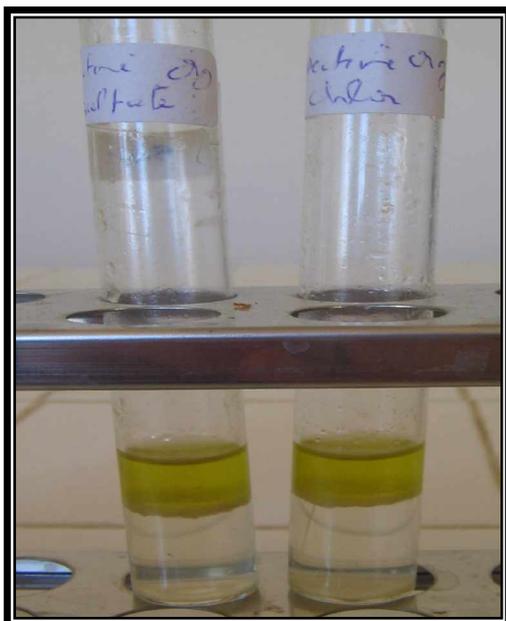
Cette activité est due en réalité à la présence des groupements acétyles et des protéines, ce qui explique le pouvoir émulsifiant intéressant des pectines d'abricots .Les teneurs en protéines de ces pectines précipitées respectivement par le chlorure d'aluminium et par le sulfate atteignent 3,93 et 3,062 (tableau 15).

Quand aux pectines de pommes et d'oranges, les teneurs en protéines qui sont de 0,21-1,75 et 2,5-1,23 (tableaux 13 et 14) respectivement pour les pectines précipitées par le chlorure et par le sulfate d'aluminium sont faibles, mais présentent des activités émulsifiantes plus élevées qui s'expliquent par leur poids moléculaires élevés. Théoriquement les pectines de pommes ont un poids moléculaire élevé (20-360000kg/mol) alors que celui des pectines d'oranges varie entre 40 à 50000kg/mol) (Schieber et al., 1994 cités par Schieber et al., 2003).

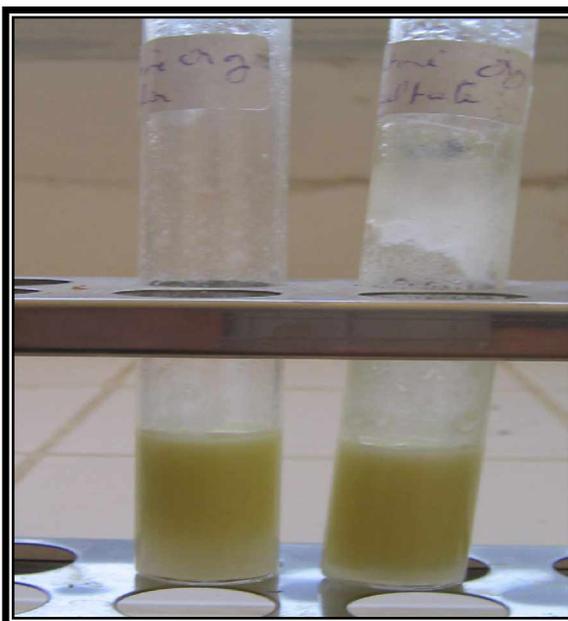
Les pectines d'abricots sont très peu étudiées, mais on peut les comparer à celles des pêches appartenant au genre Prunus ; ces pectines sont, selon Manganaris et al. (2008) fortement méthylées et un ont bon pouvoir gélifiant, mais on ne peut pas les extraire à partir de matières premières séchées, car leur qualité se détériore au cours de stockage.

Cela est confirmé par nos résultats, des pectines d'abricots extraites de sous produits secs, qui présentent des DM de 67,2 et 31,01 % (tableau 23) et des pouvoirs gélifiants faibles (133,2 et 96,11 ° SAG respectivement) (tableau 27) pour celles précipitées au chlorure et par le sulfate d'aluminium), alors qu'ils sont meilleurs pour celles extraites à partir des pommes et d'oranges dans les mêmes conditions.

Les pectines issues de marcs de pommes et de pulpes d'abricots qui sont riches en rhamnogalactants .Les premières possèdent des propriétés gélifiantes et émulsifiantes intéressants. Les dernières en plus de leur pouvoir émulsifiant élevé et du fait de leurs richesses en fragments rhamnogalactants présentent selon Roger (2002), des propriétés bioactives qui peuvent d'être exploitées.

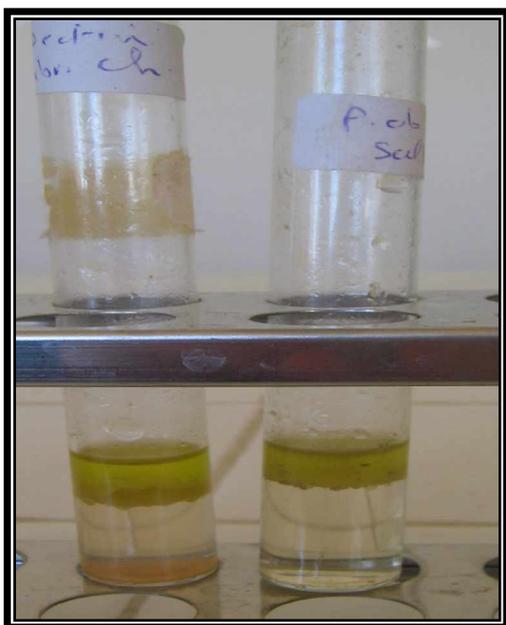


(A)

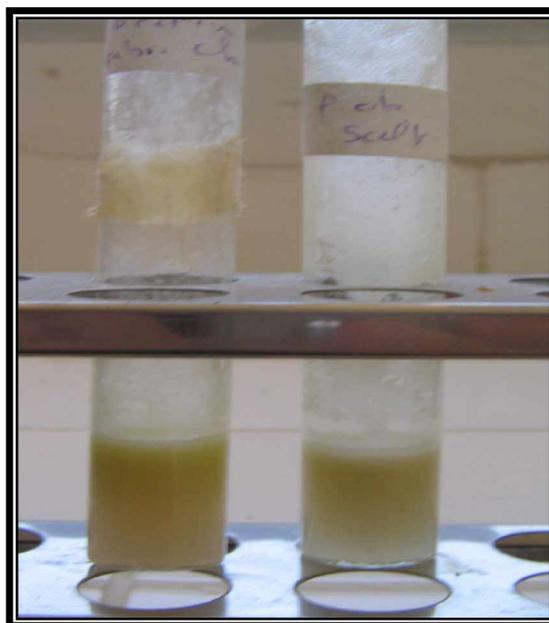


(B)

§ **Photo 11**: Activité émulsifiante des pectines d'oranges précipitées par le chlorure et le sulfate d'aluminium



(A)

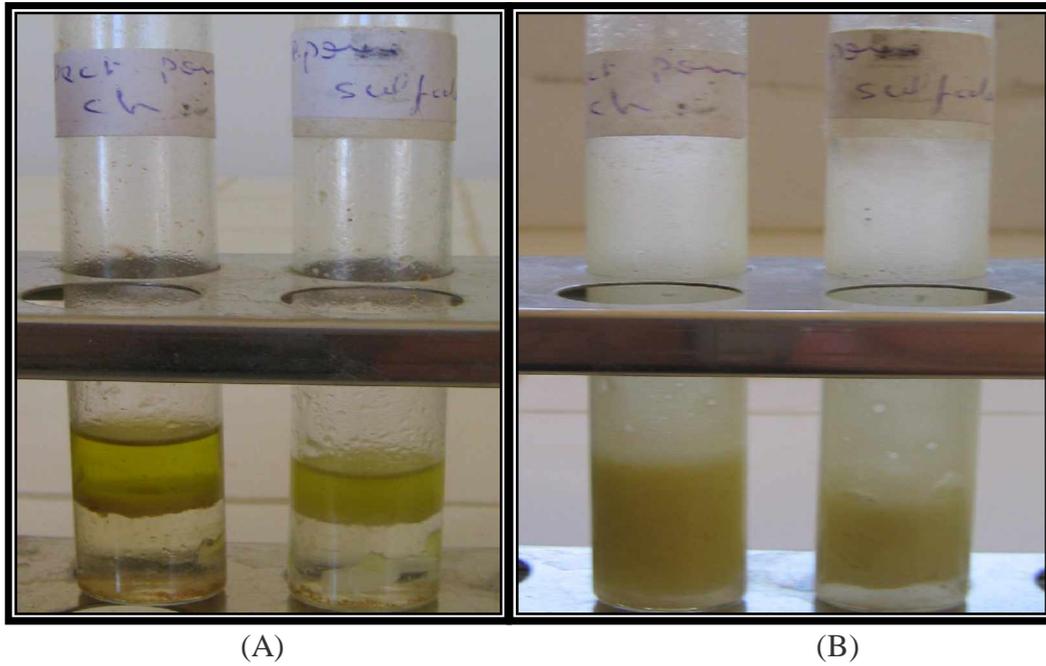


(B)

§ **Photo 12** : Activité émulsifiante des pectines d'abricots précipitées par le chlorure et le sulfate d'aluminium

§ (A)-Avant émulsification

§ (B)-Après émulsification



§ **Photo 13:** Activité émulsifiante des pectines de pommes précipitées par le chlorure et le sulfate d'aluminium

§ (A)-Avant émulsification

§ (B)-Après émulsification

Il est intéressant de faire des études détaillées sur la structure des pectines surtout celles d'écorces d'oranges et de pulpes d'abricots qui présentent des propriétés intéressantes, pour mieux comprendre les éléments de structure responsables de ces fonctionnalités, que ce soit en tant qu'additif alimentaire ou en tant que substance bioactive, pour les enrichir en ces éléments par l'amélioration génétique.

Les caractéristiques globales des pectines obtenues à partir des 3 fruits étudiés sont illustrées dans les tableaux 28, 29 et 30.

Tableau 31: Caractéristiques structurales et fonctionnelles des pectines d'oranges précipitées par les sels d'aluminium (chlorure et sulfate)

	Pectine d'oranges (Chlorure d'Al)	Pectine d'oranges (Sulfate d'Al)	Pectine commerciale
Sucres totaux (%)	72,67	74,12	88,18
protéines (%)	0,21	1,75	1,3
Cendres (%)	13,8	12,4	1,04
AGA (%)	48,65	55,22	74,20
ON (%)	24,2	18,9	14,0
DM (%)	62,90	54,49	79,92
Pouvoir gélifiant (° Sag)	175	168	150
Pouvoir émulsifiant AE (%)	43,47	41,66	/
Agent de précipitation	Humidité de M.P %	Rendement en % M.S	Humidité % M.S
Pectine commerciale	/	/	7,5
Chlorure d'Al	6	25,75	13
Sulfate d'Al	6	35,71	10

§ **Tableau 32** : Caractéristiques structurales et fonctionnelles des pectines de abricots précipitées par les sels d'aluminium (chlorure et sulfate)

	Pectine d'abricots (Chlorure d'Al)	Pectine d' abricots (Sulfate d'Al)	Pectine commerciale
Sucres totaux (%)	70,5	67,4	88,18
protéines (%)	3,932	3,062	1,3
Cendres (%)	16	11,8	1,04
AGA (%)	57	51,6	74,20
ON (%)	13,5	17,8	14,0
DM (%)	67,2	31,01	79,92
Pouvoir gélifiant (° Sag)	133,2	96,11	150
Pouvoir émulsifiant AE (%)	37,04	38,5	/
Agent de précipitation	Humidité de M.P %	Rendement en % M.S	Humidité % M.S
Pectine commerciale	/	/	7,5
Chlorure d'Al	6	4,97	11
Sulfate d'Al	6	3,40	10

§ **Tableau 33** : Caractéristiques structurales et fonctionnelles des pectines de pommes précipitées par les sels d'aluminium (chlorure et sulfate)

	Pectine de pomme (Chlorure d'Al)	Pectine de pomme (Sulfate d'Al)	Pectine commerciale
Sucres totaux (%)	87,09	57,6	88,18
protéines (%)	2,5	1,23	1,3
Cendres (%)	13	10	1,04
AGA (%)	50,3	33,8	74,20
ON (%)	31	23,8	14,0
DM (%)	54,94	53,9	79,92
Pouvoir gélifiant (° Sag)	161,6	110,5	150
Pouvoir émulsifiant AE (%)	45,8	38,6	/
Agent de précipitation	Humidité de M.P %	Rendement en % M.S	Humidité % M.S
Pectine commerciale	/	/	7,5
Chlorure d'Al	6	27,5	8
Sulfate d'Al	6	20,16	8,5

Conclusion :

Compte tenu de la disponibilité de matière première (oranges, pommes et abricots), et des sous produits rejetées suite au développement de la transformation des fruits dans notre pays, il est important d'étudier la possibilité de la production des pectines, au lieu de le payer en devises.

Notre recherche a été axée sur les points suivants:

§ Procéder à l'extraction des pectines d'écorces d'oranges, de pulpe d'abricots et de marcs de pommes dans les mêmes conditions (pH, température et temps), précipiter celles-ci aux sels d'aluminium, selon les techniques normalisées citées en bibliographie, pour étudier et comparer leurs rendements et leurs caractéristiques (degré de méthylation, teneur en AGA, composition en oses neutres, teneurs en groupements acétyles, propriétés gélifiante et émulsifiante) et les comparer à celles rapportées en bibliographie.

§ Déterminer les caractéristiques structurales des pectines d'abricots très peu étudiées par rapport à celles de marcs de pommes et d'écorces d'oranges et étudier leurs propriétés fonctionnelles en relation avec leur structure, autrement dit leur teneurs en AGA, en cendres et en protéines, leur composition en oses neutres, et en groupement méthoxylés.

D'après les résultats obtenus, on peut tirer les conclusions suivantes :

- Les écorces issues de la transformation des fruits en jus d'oranges et le marc de pommes de faible valeur commerciale constituent, en effet de véritables sources en pectines, compte tenu des rendements importants obtenus (25,75 et 35,71 %) pour les écorces d'oranges et (27,5 et 20,06 %) pour les marcs pommes respectivement précipités par le chlorure et le sulfate d'aluminium. Cela confirme leur classification parmi les fruits les plus riches en pectines, et c'est pourquoi, ils sont souvent utilisés comme matière première en pectineries industrielles.
- Les pectines d'écorces d'oranges précipitées par le chlorure et le sulfate d'aluminium présentant respectivement des DE de 62,9 et 54,9 %, en relation avec leur teneur élevée en AGA, et leur très bon pouvoir gélifiant (respectivement de 175 et 168 SAG°).
- Les pectines de marcs de pommes viennent en deuxième position, avec un DE de 53,9 % pour les pectines précipitées par le chlorure d'aluminium contrairement à celle obtenue avec le sulfate qui présente un DE de 41,2 %, c'est-à-dire inférieur à la valeur limites des pectines

HM (50 %); les premières ayant un pouvoir gélifiant de 161, 2° SAG et émulsifiant de 45,47 %, alors que les deuxièmes faiblement méthylées, présentent un pouvoir gélifiant de 110,5° SAG et un pouvoir émulsifiant de 38,6 %. Ces propriétés sont en relation directe avec le poids moléculaire élevé, les teneurs en groupements acétyles et en protéines faibles pour les deux types de pectines (celles issues d'écorces d'oranges et de marcs de pommes).

° Les sous produits issues de l'extraction de nectar d'abricots sont pauvres en pectines, cela pour deux raisons probables :

Ù soit qu'elles sont difficiles à extraire par la solubilisation en milieu acide.

Ù soit que la dégradation enzymatique est intense des ces pectines au cours de la maturation, par rapport à celles issues d'écorces d'oranges et de marcs de pommes, et que cette dégradation est accélérée sous l'action de séchage.

- A partir de pulpes d'abricots, on a obtenu des pectines hautement et faiblement méthylées (DE de 67,2% et 31,01 % précipitées respectivement par le chlorure et le sulfate d'aluminium ; celles HM présentent un pouvoir gélifiant de 133,2° SAG ,c'est à dire inférieur à celui de la pectine commerciale (150° SAG), alors que les LM ont la valeur plus faible de 96,11° SAG, mais ces dernières sont douées d'une activité émulsifiante(37,04 et 38,5 %) proche de celles des pectines issues d'oranges et de pommes.

- Concernant les propriétés d'émulsification, les différentes pectines obtenues ont un seuil d'adsorption beaucoup plus faible (0,5 % de pectine) par rapport à ceux rapportés en littérature comme pour les pectines de citrons et de betteraves, ceci leur permet d'avoir des pouvoirs émulsifiants intéressants et par conséquent présentent de meilleures stabilités d'émulsions ; Ces émulsions sont légèrement déstabilisées au cours du stockage. Les agents de précipitation à base d'aluminium sont en partie responsables.

- Quelque soit l'origine des pectines extraites, ces dernières se composent de rhamnogalacturonane, d'arabinogalacturonane, et de xyloglucane, avec absence quasi-totale de glucomannanes, composition qui est en conformité avec le modèle rapporté en bibliographie.

- On constate que les conditions d'extraction influencent énormément les constituants structuraux des pectines à des niveaux bien déterminés et par conséquent sur les propriétés fonctionnelles.

§ Le séchage et le blanchiment influencent différemment les constituants structuraux, en diminuant la teneur en AGA et en DE, par l'accélération des réactions de dégradations enzymatiques, alors qu'ils enrichissent les pectines en galactose et en rhamnose.

§ L'utilisation des sels à base d'aluminium pour la précipitation des pectines assure de meilleurs rendements (respectivement 27,52 et 27,5 % pour celles précipitées au chlorure d'aluminium et 20,06 et 35,71 % pour celles précipitées au sulfate d'aluminium) pour les pommes et les oranges naturellement riches en pectines ; les pectines précipitées au chlorure sont hautement méthylées et présentent des pouvoirs gélifiants et émulsifiants élevés, en comparaison avec celles extraites par précipitation à l'alcool éthylique.

§ Alors que les pectines obtenues par précipitation par le sulfate sont faiblement méthylées et présentent des pouvoirs gélifiants et émulsifiants moyennement faibles par comparaison à celles obtenues au chlorure.

§ Les pectines d'écorces d'oranges et de marcs de pommes obtenues à partir de nos matières premières produites dans nos conditions climatiques et géographiques, ont des propriétés fonctionnelles très proches de celles rapportées en bibliographie. Ce sont des très bons agents gélifiants et émulsifiants, pouvant être utilisés dans les divers domaines d'applications comme les pectines de référence, avec des bons rendements.

§ Quand aux pectines extraites d'abricots, dans les mêmes conditions, elles sont meilleures comme agents émulsifiants, mais présentent un pouvoir gélifiant faible, en plus de leur faible rendement. Pour améliorer leurs pouvoirs gélifiants, les pectines à base d'abricots doivent subir des traitements de déacétylation

Pour obtenir de meilleurs rendements en pectines, tout en conservant leurs constituants importants, notamment les teneurs élevées en AGA, méthanol, teneur convenable en oses neutres, un poids moléculaire important et une charge faible en cendres nous suggérons :

- ° Qu'il faut (si on opte d'utiliser l'extraction chimique par solubilisation de la protopectine en milieu acide):

§ Réaliser des études plus profondes sur l'influence des paramètres d'extraction (blanchiment, séchage et paramètres de solubilisation, types d'acide et de solvant de précipitation) sur les différents composants des pectines de telle manière à optimiser l'extraction.

§ Que l'utilisation des solvants à base d'aluminium pour la précipitation nécessite une meilleure purification (filtration appropriée, ultrafiltration, plusieurs lavages à l'alcool pur et acidifiés), pour assurer d'obtenir des pectines de bonnes qualités hygiénique avec une étude détaillée sur l'innocuité des métaux lourds et du taux d'aluminium résiduel.

Il est important de compléter et d'approfondir cette recherche pour apporter des renseignements sur :

-Le poids moléculaire et la viscosité des pectines, paramètres qui influencent leurs propriétés fonctionnelles.

-La teneur en groupement acétyles des différents pectines étudiées, ces groupements jouent deux effets contradictoires, ils gênent la gélification et améliorent les propriétés émulsifiantes, ainsi selon leur destination on élimine ou on augmente la teneur en ces groupements par des procédés convenables.

-Le choix de l'agent précipitant plus efficace par comparaison aux sels d'aluminium, comme les alcools non oxydables, tout en tenant compte du coût de production pour chaque cas ou choix

-L'influence du mode de séchage (par séchoir sous vide ou par lyophilisation) de la matière première et des pectines extraites, sur les constituants structuraux des pectines et donc sur les propriétés fonctionnelles, avec la détermination des coûts de chaque procédé.

-Il est important de faire des essais de préparation des produits alimentaires à base des pectines extraites tels que (confitures, gelés et laits acidifier ...) pour confirmer leur efficacité en tant que agent de gélification et d'émulsion et même de stabilisation.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

Akhtar M., Dickinson E., Mazoyer J., & Langendorff V. (2002). Emulsion stabilising properties of depolymerized pectin. *Food Hydrocolloids*, **16**: 249-256.

AOAC. (1984). Official methods of analysis (14th ed). Washington, DC: Association of Official Analytical Chemists.

Attri B.L. & Maini S.B. (1996). Pectin from G algal (Citrus Pseudolimon Tan) peel. *Bioresource Technology*, **55**: 89-91.

Bacic A. (2006). Breaking an impasse in pectin biosynthesis. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **103(15)**:5639-5647.

Baïssisse S. (2000). Etude des rendements et qualités des pectines extraites des sous produits d'oranges et d'abricots. Batna, Algérie

Bédouet L., Courtois B. & Courtois J. (2003). Rapid quantification of o-acetyl and o-methyl residues in pectin extracts. *Carbohy. Research*, **338**: 379-383.

Benchabane A. (1994). Rapport de synthèse de l'atelier "technologie et qualité de la datte". Ciheam –Options Méditerranéennes. Institut National Agronomique El-Harrach 16200 Alger. Agérie.

Billy L., Mehinagie C.E., Royer G., Renard C.M.G. Arvisenet G., Prost C. & Jourjon F. (2008). Relation ship between texture and pectin composition of two apple cultivars during storage. *Postharvest Biology and Technology*, **47**:315–324

Blumenkrantz N. & Hansen A.G. (1973). New method for quantitative determination of uronic acids, *Anal.Biochemi.* **54**:484- 489.

Burton S.G., Garcin C.R. & Aucamp J.H. (2007). Beneficiation of wastewaters from the south African citrus industry a feasibility study. Water Research Commission Report No. KV 187/07.

Cardoso S.M., Coimbra M.A. & Lopes da Silva J.A. (2003). Temperature dependence of the formation and melting of pectin-ca⁺⁺ networks: a rheological study. *Food Hydrocolloids*, **17**: 801-807.

- Cameron R.G., Savary B.T., Hotchkiss A.T., Fishman M.L., Chau H.K. & Grohmann K. (2003).** Isolation, characterization and pectin modifying properties of a thermally tolerant pectin methylesterase from citrus sinensis Var. Valencia. American Society of Plant Biologists Annul Meeting, 253p.
- Carpita N. & Mc Cann M.C. (2000).** The cell wall. In B. Buchanan (ED.), Biochemistry and molecular biology of palnts, Rockille, pp 52-108.
- Chaliha B.P., Parura D., Siddatpag G. S., (1963).** Assam lemon as a source of pectin. Central Food Technological Research, Food Paker, pp 8-14.
- Cheftel J.C. & Cheftel H.(1978).** Introduction à la biochimie et à la technologie des aliments .Vol I. Techniques et documentation –Entreprise Moderne. Paris, PP 147-236.
- Chiampo F. & Conti R. (1999).** Hydrodynamics of fruit pulp ultrafiltration. *Journal of Food Engincering*, **40**: 173-180.
- Constenla D. & Lozano J.E.(2003).** Kinetic model of pectin demethylation. *Latin American Applied Research*, **33**:91-96.
- Constenla D., Ponce A.G. & Lozano J.E. (2002).** Effect of pomace drying on apple pectin. *Lebensm. -Wiss. U. Technol.*, **35(3)**: 216-221.
- Cosgrove D.J. (1997).** Assembly and enlargement of the primary cell wall in plants. *Annu.Rev.Cell Dev. Biol.*, **13**:171-201.
- Dea L.C.M. (1989).** Industrial polysaccharides, pure and apple. *Chem.*, **61(7)**:1315-1322.
- Delluca A., Joslyn M.A., (1957).** The recovery of pectin from orange peel extracts as aluminum pectin ate, *Food Technology*, **3**: 137-141.
- 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.
- De Roeck A., Sila D.N., Duvetter T., Loey A.V. & Hendrickx M.(2008).** Effect of high pressure/ high temperature processing on cell wall pectic substances in relation to firmness of carrot tissue. *Food Chemi.*, **107**: 1225-1235.
- Dinand E., Excoffier G., Liénart Y. & Vignon M.R.(1997).** Two rhamnogalacturonide tetrasaccharides isolated from semi-retted flax fibres are signalling molecules in *Rubus fruticosus* L.cells . *Plant Physiol.*, **115**: 793-801.

Donat I. (2004). Gélification et séparation de phase dans les mélanges protéines globulaires/pectines faiblement méthylées selon les conditions ioniques, thèse de doctorat, France.

Dondos A. (2001). A new relation between the intrinsic viscosity and the molecular mass of polymers derived from the blob model .determination of the statistical segment length of flexible polymers. *Polym.*, **42**:897-901.

Dongowski G., Lorenz A. & Proll J. (2002). The degree of méthylation influences the degradation of pectin in the intestinal tract of rats and in vitro. *J.Nutr.***132**:1935-1944.

El-Buluk R. E., Babiker E. E. & El Tinay A. H.(1995). Biochemical and physical changes in fruits of four guava cultivars during growth and development. *Food Chemistry*, **54**: 279-282.

EL Buluk R.E., EL Fadil E.B. & EL Tinay A.H. (1997). Changes in chemical composition of guava fruits during development and ripening. *Food Chemi.*, **59(3)**: 395-399.

Eskin M. (1990). Biochemistry of foods: biochemical changes in raw Foods: fruits and vegetables, Second Edition, Academic press, INC., New York Boston, 557 p.

Faravash R.S. & Ashtiani F.Z. (2008). The influence of acid volume, ethanol-to extract ratio and acid-washing time on the yield of pectic substances extraction from peach pomace. *Food Hydrocolloids*, **22**: 196-202.

Fertonani H.C.R., Scabio A., Schemin M.H.C., Carneiro E.B.B., Nogueira A. & Wosiacki G.(2006). Influence of acid concentration on extraction and quality of apple pomace pectin. *Semina: Ciências Agrarias*, **27(4)**: 599-612.

Fishman M.L., Chau H.K., Hoagland P.D. & Hotchkiss A.T.(2006). Microwave-assisted extraction of lime pectin. *Food Hydrocolloids*, in press.

Funami T., Zhang G., Hiroe M., Noda S., Nakauma M., Asai I., Cowman M.K., Al-Assaf S. & Phillips G.O.(2007). Effect of the proteinaceous moiety on the emulsifying properties of sugar beet pectin. *Food Hydrocolloids*, **21**: 1319-1329.

Gans C., Schnee J., Scherf U., Staikos G., Pierri E. & Dondos A. (1998). Viscometric determination of the statistical segment length of wormlike polymers.*Polym.* **39(17)**: 4155-4158.

Giannouli P.,Richardson R.K. & Morris E.R.(2004). Effet of polymeric cosolutes on calcium pectinate gelation. Part 2. dextrans and inulin . *Carbohy. Polym.*, **55**: 357-365.

- Gibson G.R. & Rastall R.A. (2005).** In vitro determination of prebiotic properties of oligosaccharides derived from an orange juice manufacturing by product stream. *J. Appl Environ Microbiol*, **71(12)**: 8383-8389.
- Girard M. (2003).** Etude qualitative et quantitative des interactions entre la β -lactoglobuline et la pectine en systèmes dilués. Thèse doctorat, pp 167, Québec, Canada.
- Gnanasambandam R. & Proctor A. (2000).** Determination of pectin degree of esterification by diffuse reflectance fourier transform infrared spectroscopy. *Food Chem.*, **68**: 327-332.
- Goycolea F.M. & Cárdenas A. (2003).** Pectins from opuntia spp. a short review. *Journal of the Professional Association for Cactus Development*, **5**: 17-29.
- Grimplet M.J. (2004).** Génomique fonctionnels marqueurs de qualité chez l'abricot. Thèse de doctorat. France.
- Guillot S. (2005).** Studies on the intra –and intermolecular distribution of substituents in commercial pectins. PhD. thesis Wageningen University, ISBN 90-8504-265-8.
- Habibi T., Heyraud A., Mahrouz M., & Vignon M.R. (2004).** Structural features of pectic polysaccharides from the skin of *Opuntia ficus-indica* prickly pear fruits. *Carbohydr. Research*, **339**:1119-1127.
- Harholt J., Jensen J.K., Sørensen S.O., Orfila C., Pauly M. & Scheller H.V.(2006).** Arabinan deficient 1 is a putative arabinosyltransferase involved in biosynthesis of pectic arabinan in *Arabidopsis*. *Plant Physiol.*, **140**: 49-58.
- Herbstrieth & Fox (1998) (a).** Chances and limits for the use of pectin as emulsifier. Corporate Group. Turnstraße 37. 75305 Neuenbürg/Württ. Germany,1-14.
- Herbstrieth & Fox (1998) (b).** Pectins for acidified milk products. Corporate Group. Turnstraße 37. 75305 Neuenbürg/Württ. Germany, 1-22.
- Huisman M.M.H., Scols H.A. & Voragen A.G.J. (1996).** Changes in cell wall polysaccharides forms ripening olive fruits. *Carbohydr. Polym.*, **31**:123-133.
- Jiang C.-M., Lai Y.-J., Lee B.-H., Chang W.-H., Wu M.-C. & Chang H.-M. (2002).** Changes in physico-chemical properties of pectin from jelly fig (*Ficus awkeotsang* Makino) seeds during extraction and gelling. *Food Research International* **35**: 31-35.
- Jourdain J.R., Dublineau I. & Phan G. (2005).** Evolution de l'emploi de la pectine chez les enfants vivant sur les territoires contaminés par le césium. Rapport IRSN/DR pH, pp1-24.

- Kamon R. (2001).** Effet de la pectolyase Y-23 et de la cellulase RS sur le rendement en protoplastes viables de *Prunus cerasus* L. Montmorency. *Biotechnol. Agron. Soc. Environ*, **5(2)**: 99-104.
- Kawakatsu T., Trägårdh G. & Trägårdh C. (2001).** The formation of oil-in pectin solution emulsion. *J. Food Engin.*, **50**:247-254.
- Keegstra K., Talmadge K.W., Bauer W.D. & Albercheim P. (1973).** The structure of plant cell walls: A model of the walls of suspension cultured sycamore cells based on the interconnection of the macromolecular components. *Plant physiol.*, **51**: 188-196.
- Kertesz Z.I.(1951).** The pectic substance interscience pub. Licher I. N. L, new-York and London review of food engineering, pp 87-161.
- Khotimchenko M., Kovalev V., Khotimchenko Y. (2007).** Equilibrium studies of sorption of lead (II) ions by different pectin compounds. *Journal of Hazardous Materials*, **149**: 693-699.
- Klavons, J. A., & Bennett, R. D. (1986).** Determination of methanol using alcohol oxidase and its application to methyl-ester content of pectins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **34(4)**, 597–599.
- Koh T.H. & Melton L. (2002).** Ripening-related changes in cell wall polysaccharides of strawberry cortical and pith tissues. *Postharvest Biology and Technology*, **26**:23-33.
- Kora E. (2004).** Interaction physicochimiques et sensorielles dans le yaourt brasée aromatisé : quels impacts respectifs sur la perception de la texture et de la flaveur .Thèse de doctorat. France.
- Koubala B.B., Kansci G., Mbome L.I., Crépeau M.-J., Thibault J.-F. & Ralet M.-C. (2007).** Effect of extraction conditions on some physicochemical characteristics of pectins from “Améliorée “ and “Mango “ mango peels. *Food Hydrocolloids*, in press.
- Koubala B.B., Mbome L.I., Kansci G., Mbiapo F.T., 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 Chemi.*, **106**: 1202-1207.
- Kratchanova M., Palvlova 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.

- Kurz C., Carle R. & Schieber A. (2008).** Characterisation of cell wall polysaccharide profiles of apricots (*Prunus armeniaca* L.), Peaches (*Prunus persica* L.), and pumpkins (*Cucurbita* sp) for the evaluation of fruit product authenticity. *Food Chem.*, **106**: 421-430.
- Kumar M., Mazeaud I., Gebert M., & Dodge T. (2003).** Biopolymers: Health, Cosmetic & Food Applications. Proceedings: Conferences Abstracts. PP 14-27.
- Laurent M.A. & Boulenguer P. (2003).** Stabilization mechanism of acid dairy drinks (ADD) induced by pectin. *Food Hydrocolloids*, **17**: 445-454.
- Lawrance D.V. & Ashwood D.G. (1995).** The flavouring of confectionery and bakery products. Ashurst P.R. Second edition .In Food flavourings Blackie Academic et Professional, New York, 332p.
- Lecoq R. (1965).** Manuel d'analyse alimentaire et d'expertises usuelles. Tome 2. Doin-Deren (Ed). Paris, 2185p.
- Legentil A., Guichard I., Piffaut B. & Haluk J. P. (1995).** Characterization of Strawberry Pectin Extracted by Chemical Means. *Lebensm.-Wiss. u.-Technol.*, **28**: 56-576.
- Leroux J., Langendorff V., Schick G., Vaishnav V. & Mazyer J. (2003).** Emulsion stabilising properties of pectin. *Food Hydrocolloids*, **17**: 455-462.
- Leroux H. & Schubert E. (1983).** Actualités des industries alimentations et agroindustrielles : les applications des pectines HM dans les industries agroalimentaires .Revue des I.A.A.: 615-618.
- Levigne S., Ralet M.-C. & Thibault J.-F. (2002).** Characterisation of pectins extracted from fresh sugar beet under different conditions using an experimental design. *Carbohydr. Polym.*, **49(2)**:145-153.
- Lewis D. (1995).** La structure des produits de confiserie : I.A.A., 112 (7-8) : 507-521.
- Li X., Tang Y., Xuan Z., Liu Y. & Luo F. (2006).** Study on the preparation of orange peel cellulose adsorbents and biosorption of Cd²⁺ from aqueous solution. College of Chemistry, Changchun 130024, China.
- Linden G., & Lorient G., (1994).** Biochimie agro-industrielle .Masson (Ed.), Paris, Milan, Barcelone, pp 367.
- Lo Scalzo, R., Forni, E., Lupi, D., Giudetti, G., Testoni, A., (2002).** Changes of pectic composition of 'Annurca' apple fruit after storage. *Food Chem.* **93**:521–530.

- Lopes Da Silva J. A. & Rao M.A. (2006).** Pectins: structure, functionality, and uses. In food polysaccharides and their applications, Second Edition. Taylor & Francis Group, LLC, pp 353-411.
- Lord E.M. & MJ.-C. (2003).** Plant cell adhesion: A bioassay facilitates discovery of the pectin biosynthetic gene. WWW.Pnas.org/cgi/doi/10.1073/pnas.012685099.
- Luca G.D.E. & Joslyn M. A. (1956).** The recovery of pectin from extracts as aluminium-pectinate. Department of food technology. California, pp137-141.
- Lutz M. V. (2003).** Characterisation of Pectic Substances from Hemicellulose Fractions of Apples. Thèse doctorat. pp 154, Switzerland.
- Luza J.G., Gorsel R.V., Polito V. S. & Kader A.A.(1992).**Chilling injury in peaches: a cytochemical and ultrastructural cell wall study. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.*, **117(1)**:114-118.
- Luzio G.A. & Cameron R.G. (2006).** Functional and rheological properties of highly esterified pectin after treatment with an orange pectin methylesterase. National meeting of institute of food technologists /Food expo. Abstract, NO. 014-06.
- Manderson K., Pinart M., Tuohy K.M., Grace W.E., Hotchkiss A.T., Widmer W., Yadhav M.P., Gibson G.R.& Rastall R.A.(2005).** In vitro determination of perbiotic properties of oligosaccharides derived from an orange juice manufacturing by product stream. *J.Appl Environ Microbiol*, **71(12)**: 8383-8389.
- Manganaris G.A.,Vicente A.R., Crisosto C.H. & Labavitch J.M.(2008).**Cell wall modifications in chilling-injured plum fruit (*Prunus salicina*). *Postharvest Biology and Technology*, **48**: 77–83.
- Marcon M.V., Vriesmann L.C., Wosiacki G., Beleski-Carneiro E. & Petkowicz C.L.O. (2005).** Pectins from apple pomace. *Polimeras: Ciência e Tecnologia*, **15 (2)**: 127-129.
- Massiot L. & Renard C.M.G.C. (1997).** Composition physicochemical properties and enzymatic degradation of fibres prepared from different tissues of apple. *Lebensm.-Wiss.U.-Technol.***30**:800-806.
- May C. D. (2000).** Pectins.In Phillips G.O. and Williams P.A. (Eds). Handbook of Hydrocolloids. Cambridge : wood head Publishing, pp169-188.
- Mbeguie M.-A.-D. (2000).** Isolement, identification des gènes impliquées dans la maturation de l'abricot (*Prunus armeniaca* L).Thèse de doctorat. pp 196, Aix-Marseille, France.

- McCeady R.M. (1970).** Pectin, methods in food analysis. Joslyn M.A. (2 Ed.). Academic Press .New-York and London, pp565-599.
- Mesbahi G., Jamalian J. & Farahnaky A. (2005).** A comparative study on functional properties of beet and citrus pectins in food systems. *Food hydrocolloids*, **19**: 731-738.
- 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.
- Milnes B. A., Agmon G. & Hasharon R. (1995).** Debitting and Upgrading Citrus Juice and By-Products Using Combined Technology. Koch Membrane Systems, Inc. is a Koch Chemical Technology Group, LLC company.pp1-12.
- Mohammed M. & Brathwaite R.A.I. (2000).** Ripening effects on the chilling sensitivity of processing and non-processing tomato cultivars. *J. Appl. Hort.*, **2(2)**:76-78.
- Mohnen D. (2002).** Biosynthesis of pectins. Pectins and their manipulation. Edited by Seymour G.B., Knox J.P. oxford, Blackwell Publishing and CRC Press, pp52-98.
- Morra M., Cassinelli C. & Cascardo G. (2004).** Effects on interfacial properties and cell adhesion of surface modification by pectic hairy regions *.Biomacromolecules*; **5(6)**:2094-2104
- Morris G.A., Foster T.J. & Harding S.E. (2002).** A hydrodynamic study of the depolymerisation of high methoxy pectin at elevated temperatures.*Carbohy.Polym.* **48**: 361-367.
- Mourgues J. & Conte T. (1981).** Evolution au cours de la maturation des substances pectiques et des polyosides neutres non cellulosiques dans les baies de raisin (Carignan) et dans les moûts. *Sciences des Aliments*, **1(3)** :377-387.
- Muda P., Seymour G.B., Errington N. & Tucker G.A. (1995).** Compositional changes in cell wall polymers during mango fruits ripening. *Carbohy. Polym.*, **26**:255-260.
- Multon J.-L. (2002).** Additifs et auxiliaires de fabrication dans les industries agroalimentaires. Sciences et Techniques Agroalimentaires, 3eme édition, Londres, Paris – New York ,746p.
- Nikolić M. & Mojovic L. (2007).** Hydrolysis of apple pectin by the coordinated activity of pectic enzymes. *Food Chemi.*, **101**:1-9.

- Oosterveld A., Harmen J.S., Voragen A.G.J. & Schols H.A. (2003).** Extraction and characterization of polysaccharides from green and roasted coffee Arabica beans. *Carbohydr. Polym.*, **52** :285-296.
- Pinotti A. & Zaritzky N. (2001).** Effect of aluminium sulphate and cationic polyelectrolyte on the destabilization of emulsified wastes. *Waste Management*, **21**: 535-542.
- Ptichkina N.M., Markina O.A. & Rumyantseva G.N. (2008).** Pectin extraction from pumpkin with the aid of microbial enzymes. *Food Hydrocolloids*, **22**:192-195.
- Ralet M.-C., Cabrera J.-C., Quémener B., Bonnin E. & Thibault J.-F.(2005).** Mapping sugar beet pectin acetylation pattern. *Phytochemi.*, **66** :1832-1843.
- Ralet, M.-C., Bonnin, E., & Thibault, J.-F. (2001).** Chromatographic study of highly methoxylated lime pectins deesterified by different pectin methyl-esterases. *Journal of Chromatography B*, **753**, 157–166.
- Ravisé A. & Chopin J.(1981).** Influence de la structure de composés Phénoliques sur l'inhibition du *Phytophthora parasitica* et d'enzymes participant aux processus parasitaires V. Flavones, O- et C-glycosides. *Phytopath. Z.*, **100**: 257-269.
- Renard C.M.G.C., Rohou Y., Hubert C., Valle G.D., Thibault J.-F. & Savina J.-P. (1996).** Bleaching of apple pomace by hydrogen peroxide in alkaline conditions: optimisation and characterisation of the products. *Lebensm.-Wiss.U.-Technol.*, **30**: 398-405.
- Ridley B.L., O'Neill M.A. & Mohnen D. (2002).** Pectins: structure, biosynthesis & oligalacturonides – related signalling. *Phytochemistry*, **57**: 929 – 967.
- Rizzotti R. (1994).** Les agents de texture épaississants, gélifiants, et stabilisants. I.A.A., PP 563-570.
- Roger O. (2002).** Etude d'oligosaccharides bioactives issus d'exopolysaccharides bactériens ; obtentions, caractérisation et relation structure /fonction. Thèse de doctorat .France.
- Rombouts F.M. & Thibault J.-F. (1986).** Sugar beet pectin: chemical structure and gelation through oxidative coupling. In Fishman M.L. et Jen J.J. (eds), *Chemistry and Function of Pectins*. Washington, DC: American Chemical Society, pp 49-60.
- 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**:823–831.

- Royo –Iranzo J., Carmen Miralles M. & Pilar Claramunt Y. (1975).** Preparation de corteza seca de naranja para la obtencion de pectina a partir de variedades cultivadas en Espana. *Technol –Alim.*, **15(4)**: pp 539-546.
- Rous A.H. & Crandall G. (1978).** Pectin content of lime and lemon peel as extracted by nitric acid. *J. of Food Sci.*, **43**:72-73.
- Sahari M. A., Akbarian A.M. & Hamedi M. (2003).** Effect of variety and acid washing method on extraction yield and quality of sunflower head pectin. *Food Chemi.*, **83**:43-47.
- Sakai J. & Okushima M. (1980).** Microbial production of pectin from citrus peel. *Applied and Environmental Microbiology*, **39(4)**:908-912.
- Savary B.T., Nunez A. & Cameron R.G. (2005).** Biochemical and chemical diversity of pectin methylesterase: Specific isoform identification by mass spectrometry. Abstract . International Chemical Congress of Pacific Basin. Pectin Chemi., 221p.
- Seymour G. & Knox J.P. (2002).** Pectins and their manipulation. Blackwell Publishing press, 250 p.
- Schieber A., Hilt P., Streker P., Endre B.H.-U., Rentschelr C. & Carle R. (2003).** A new process for the combined recovery of pectin and phenolic compounds from apple pomace. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, **4**:99-107.
- Schiewer S. & Patil S.B. (2008).** Pectin-rich fruit wastes as biosorbents for heavy metal removal: equilibrium and kinetics. *Bioresource Technology*, **99**:1896-1963.
- Schmelter T., Wientyes R., Vreeker R. & Klaffke W. (2002).** Enzymatic modification of pectins and the Impact on their rheological properties. *Carbohy. Polym.*, **47**: 99-108.
- Schols H.A., Verhuis E., Bakx E.J. & Voragen A.G.J. (1995).** Different populations of pectic hairy regions occur in apple cell walls. *Carbohy. Res.*, **275**: 343-360.
- Sharma B.R., Naresh L., Dhuldhoya N.C., Merchant S.U. & Merchant U.C. (2006).** An overview on pectins. *Times Food Processing Journal, India*, pp 44-51.
- Sharma S.K., Liptayb A. & Le Magnerc M. (1998).** Molecular characterization, physico-chemical and functional properties of tomato fruit pectin. *Food Research International*, **30(1)**, 543-547.
- Souty M., Breuils L. & André P. (1981).** Etude des possibilités d'affermissement par les sels de calcium de la texture des oreillons d'abricots appertisés. *Sci. des Alim.*, **1(2)**: 266-282.

Sriamonrnsak P. (2003). Chemistry of pectin and its pharmaceutical uses: a review. pp 206-228.

Stolle-Smits J., Beekhuizen J.G., Recourt K., Voragen A.G.J., Dijk C.V. & Agric J. (1998). Changes in pectic and hemicellulosic polymers of green beans during industrial processing. *Food Chemi.*, in press ,72-89.

Stolle U.E. & Dongowski H.G. (2007). Thermal analysis of chemically and mechanically modified pectins. *Hydrocolloids*, pp 1101-1112.

Taiz L. & Zeiger E.(2002). Plant physiology. 3 edition, 690p.

Thakur B.R., Singh R.K. & Hand A.K. (1997). Chemistry and uses of pectin-a review. *Crit. Rev. in Food Sci. and Nutr.*, **37(1)**: 47-73.

Thang P.T.N. (2007). Ripening behaviour of capsicum (*Capsicum annum L.*) fruit. These de doctora, South Australia.

Thibault J.-F., Renard C.MG.C., Axelos M.A.V. & Bonnin E. (2000). Les pectines. INRA, Centre de Recherché Agro-alimentaire, B.P., 71627,44316 Nante Cedex 03.

Thomas M. & Thibault J.-F. (2002). Cell-wall polysaccharides in the fruits of japane quince (*Chaenomeles Japonica*): extraction and preliminary characterisation. *Carbohy.polym.* **49**:345-355.

Vierhuis E., Schols H.A., Beldman G. & Voragen A.G.J. (2000). Isolation and characterisation of cell wall material from olive fruit (*Olea europaea cv koroneiki*) at different ripening stages. *Carbohy.Polym.*, **43**:11-21.

Vincken J.P., Schols H.A., Oomen R.J.F.J., Mc Cann M., Uluskov P., Voragen A.G.J. & Visser R.G.F. (2003). If homogalaturonan were a side chain of rhamnogalacturonan I .implications for cell wall architecture. *Plant Physiol.*, **132 (4)**: 1781-1789.

Visser J. & Voragen A.G.J.(1996). Pectins and pectinas .In Progress in Biotechnology .Vol. 14.Elsevier Science B.V. Amsterdam –Lausanne –New York –Oxsord Shanno-Tokyo. pp 715.

Vriesmann L.C., Petkowski C.L. de O., Carneiro P.I.B. & Carneiro E.B.B.(2004). Polysaccharides of cambui fruits (*Myrciaria Tenella ,Berg*).*Publ. UEPG Ci. Exatas Terra, Ci. Agr. Eng.*, **10(3)**: 41-45.

Willats W.G.T., Knox J.P. & Mikkelsen J.D. (2006). Pectin: new in sights into and old polymer are starting to gel. *Trends in Food Science and Technology*, **17**: 97-104.

Willats W.G.T., McCartney L., Mackie W. & Knox J.P. (2001). Pectin: cell biology and prospects for functional analysis. *Plant Molecular Biology*, **47(1-2)**:9-27.

Williamson G., Kroon PA & Faulds C.B. (1998). Hairy plant polysaccharides: a close shave with microbial esterases. *Microbiology*, **144**: 2011-2023.

Yapo B. (2007). Etude de la variabilité structurale des pectines. Thèse de doctorat .France.

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.

Yapo B.M. & Koffi K.L. (2006). Yellow passion fruit rind-a potential source of low – methoxyl pectin .*Sci .et Technol. des aliments*, In press.

Yapo B.M., Robert C., Etienne I., Wathelet B. & Paquot M. (2006). Effect of extraction conditions on the yield, purity and surface properties of sugar beet pulp pectin extracts .*Food Chem.*, in press.

Zainon M.A., Chin L.-H., Marimuthu M. & Lazan H. (2004). Low temperature storage and modified atmosphere packaging of carambola fruit and their effects on chilling injury symptoms. *Postharvest Biology and Technology*, **33**: 181-192.

Zauberman G. & Jobin-Décor M.P. (1995). Avocado (*Per-sea americana* Mill.) quality changes in response to low-temperature storage. *Postharvest Biology and Technology*, **5**:235-243.

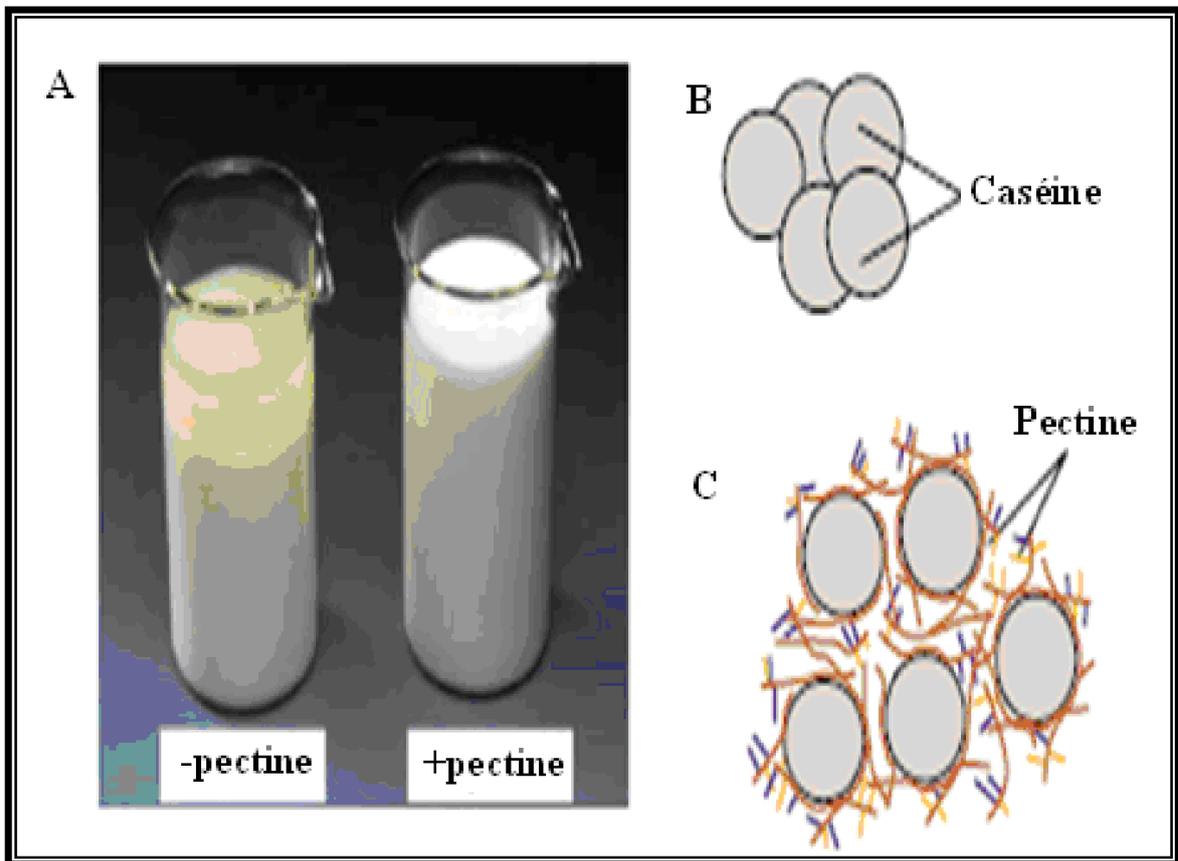
Zhongdong L., Guohua W., Yunchang G. & Kennedy J.F. (2005). Image study of pectin extraction from orange skin assisted by microwave. *Carbohy. Polym.* , **64(4)**:548-552.

Annexes

Tableau 4: Viscosités intrinsèques de quelques pectines de diverses origines selon Lopes Da Silva et Roa ,(2006)

ECHANTILLONS	SOLVANTS	VISCOSITES EN (DL/G)	REFERENCES
Pectines de betteraves à sucre : - soluble dans l'eau (DE 76%) - soluble dans l'oxalate (DE 60%)	-0,155 M NaCl + 5m M Na ₂ EDTA -pH 5, température 30C°	-2,59 -0,57	Rambouts et Thibault (1986a)
Pectine de tomate : -hautement méthylée (DE 62%) - faiblement méthylée (DE 28,5%)	-triphosphate de citrate pH 4,6 -24C°	-3,4 -1,1 -0,724	Chou et Kokini (1992)
Pectine de citron purifiée à : -DE 72 % - DE 45 % - DE 30 %	0,1M Na Cl (pH 7)	-5,96 -4,30 -3,82	Axelos et Thibault (1991)
Pectine commerciale des pommes (DE 61%) pectines citron (DE 66%)	50Mm triphosphate de citrate pH 4,5 0,1M Na Cl (pH 7)	-3,13 -4,73	Hwang et Kokini (1992)
-pectines citron (DE 35%)	-0,1M Na Cl (pH 7) -0,1M Na Cl (pH 3)	-2,7 -2,2	Lopes Da Silva (1994)
Pectine d'olives	-0,1M Na Cl (pH 7)	-1,04	Cardoso et al., (2003)
Pectines de tournesols	-0,1M Na Cl	-2,2-2,7	Iglesais et Lozano (2004)

DE : Degré d'estérification



§ **Figure 14** : Différents cas de stabilité de caséine de lait par les pectines (Willats et al., 2006).

§ **Tableau 6** : Synthèse des travaux rapportant les caractéristiques des pectines utilisées pour la préparation des émulsions.

§ **Tableau 7**: Activité émulsifiante, stabilité d'émulsion et tension interfaciale des solutions

Sources	DE	AG	MW	% g	P	Références
Betterave	65.6	35.2	90.2	3.5	8.6	Yapo et al 2006
Betterave	57	66	—	3.3	0.57	
Betterave	59	66	30000	4.6	0.14	Herbstrieth et Fox (1998)
Betterave	56	69	30000	4.8	0.66	
Citron	72.9	79	162	—	0.93	Leroux et al. (2003)
Citron	66.3	81.5	38	—	1.61	
Citron	71.4	80.2	62	6.39	0.77	
Betterave	61.2	81,6	—	2.98	2.28	

pectines huile selon Yapo et al.(2006)

E1 : pectines extraites à pH 1.5, à 80 ° C

PARAMETRES DES PECTINES	TENSION INTERFICIALE (DYN/CM)	ACTIVITE EMULSIFIANTE %	STABILITE D'EMULSION			
E1	14.2	43.2	78.1	65.1	78.1	65.3
E2	13.1	47.2	80.3	70.1	80.1	70.1

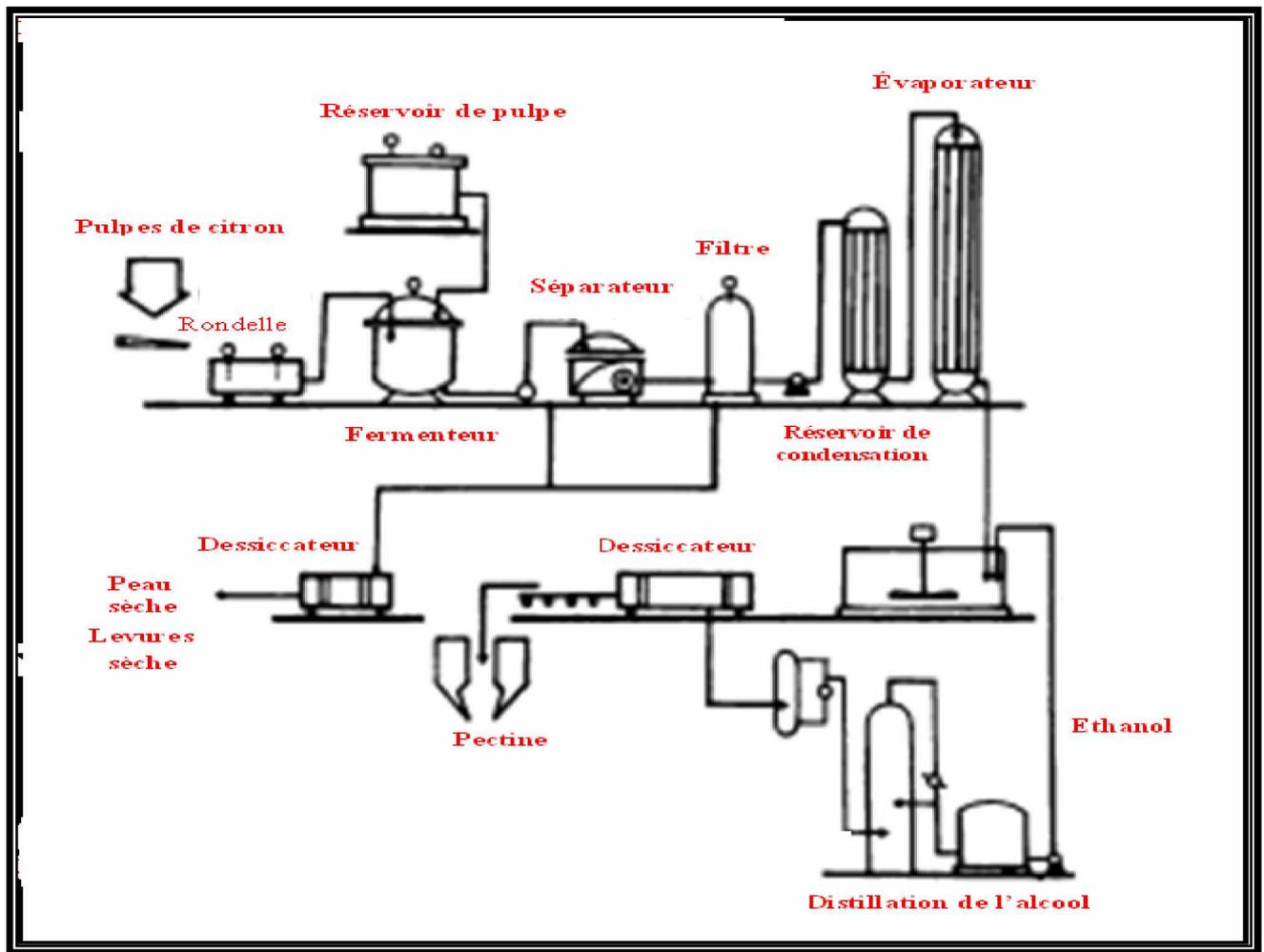
E2 : pectines extraites à pH 2, à 80 ° C

§ **Tableau 9** : Comparaison de caractéristiques des pectines extraites de deux méthodes différentes (enzymatique et chimique).(Ptichkina et al., 2008).

	EXTRACTION ENZYMATIQUE	EXTRACTION CHIMIQUE
Rendement (%)	14	07
Humidité (%)	09	92
Cendre (%)	5.0	3.7
Acides galacturonique (%)	64	79
DE (%)	53	66
Masse moléculaire (KD)	45	70
Viscosité (η)	25	31

§ **Tableau 10**: Conditions d'extractions des pectines par les nouvelles méthodes

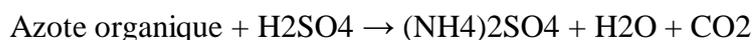
METHODES D'EXTRACTION PHYSIQUES PAR MICRO-ONDES	CONDITION D'EXTRACTION				RENDEMENT (%)	REFERENCES
	Matières premières	Agents de précipitation	Température en°C	temps en min		
	choux	Hcl avec pression à 5072b/m2	Chauffage par micro-onde à 140°C	10	8	Fishman et al., (2006)
-Méthodes extraction physique par ultrafiltration	Pulpe de pommes, abricots et pêches	Ultrafiltration par filtre de 0,45 μ de pulpe dans l'eau	-	-	-	Chiampo et Conti (1999)
Méthodes enzymatiques	Pulpes de pumpkin	Enzymes	45	3h	14	Ptichkina et al., (2008)
	Pulpes de citrons	-penicillium à PH 5	30	15-20h		Sakiat et Okushima (1980)



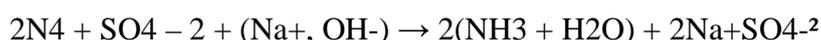
§ *Figure 16* : Diagramme de fabrication de pectines par les enzymes (Sakiat et Okushimia ,1980).

Dosage des protéines

-Minéralisation la matière organique



Formation de l'ammoniaque, selon la réaction :



-Réactifs:

- La prise d'essai = 0.2g
- Acide sulfurique (concentré) et H₂SO₄ à 0.05N

Un mélange de catalyseur broyé dans un mortier constitant en 10g de K₂SO₄ et 1g de CuSO₄ et bien mélangé

- Solution d'hydroxyde de Na (6N)
- Acide borique à 4 % (solution aqueuse saturée à pH = 5.5)
- Réactif de Tashiro : il est préparé à partir de deux volumes égaux de deux solutions préparées séparément I et II

Solution I : dissoudre 0.03g de rouge de méthyle dans 100ml d'éthanol (environ 96 V/V)

Solution II : dissoudre 0.1g de bleu de méthylène dans 100ml d'eau

Préparer l'indicateur en mélangeant 100ml de solution I et 15ml de solution II le colorant de Tashiro est vert pour un pH supérieur à 5.5, il devient violet pour un pH inférieur à 5.5. La teinte sensible est grise sale (Lecoq,1965)

-Equipement :

- Appareil de minéralisation d'azote
- Distillateur d'azote de type
- Dispositifs de titrage colorimétrique

Mode opérateur de l'analyse :

1- Pesé et désagrégation :

-Peser 0.2g de l'échantillon sec, puis l'introduire dans le ballon de désagrégation

-Y a jouter 20ml d'acide sulfurique, 10g de sulfate de potassium et 1g de sulfate de Cu, jusqu'à décoloration complète (environ 5 heures)

-Effectuer en parallèle un essai à blanc avec les réactifs et en tenir compte lors du calcul.

-Distillation :

- Après refroidissement du ballon, diluer la solution en complétant à 100ml

- Prendre 20ml de la solution diluer et ajouter 20ml de la soude 6N

- Le dégagement de l'N ammoniacal est récupéré dans un bêcher contenant de l'acide borique

La durée de la distillation et la quantité de distillat dépendent du type d'appareil utilisé (5 – 10mn)

-Titrage :

Le titrage est effectué avec de l'acide sulfurique (H_2SO_4) = 0.05N en observant visuellement le virage de l'indicateur (du violet au vert)

Calcul et expression des résultats :

1ml d'acide sulfurique (0.05N) correspond à 1.4mg/N azote

$$0.14 \text{ A.T}$$

$$\text{M.A.T. (en g/100g)} = \frac{\quad}{\quad}$$

E

A : quantité de l'acide sulfurique = 0.05N utilisé en ml

T : titre de l'acide sulfurique 0.05N

E : prise d'essai en g

Exprimer les résultats en g/100g avec deux décimale

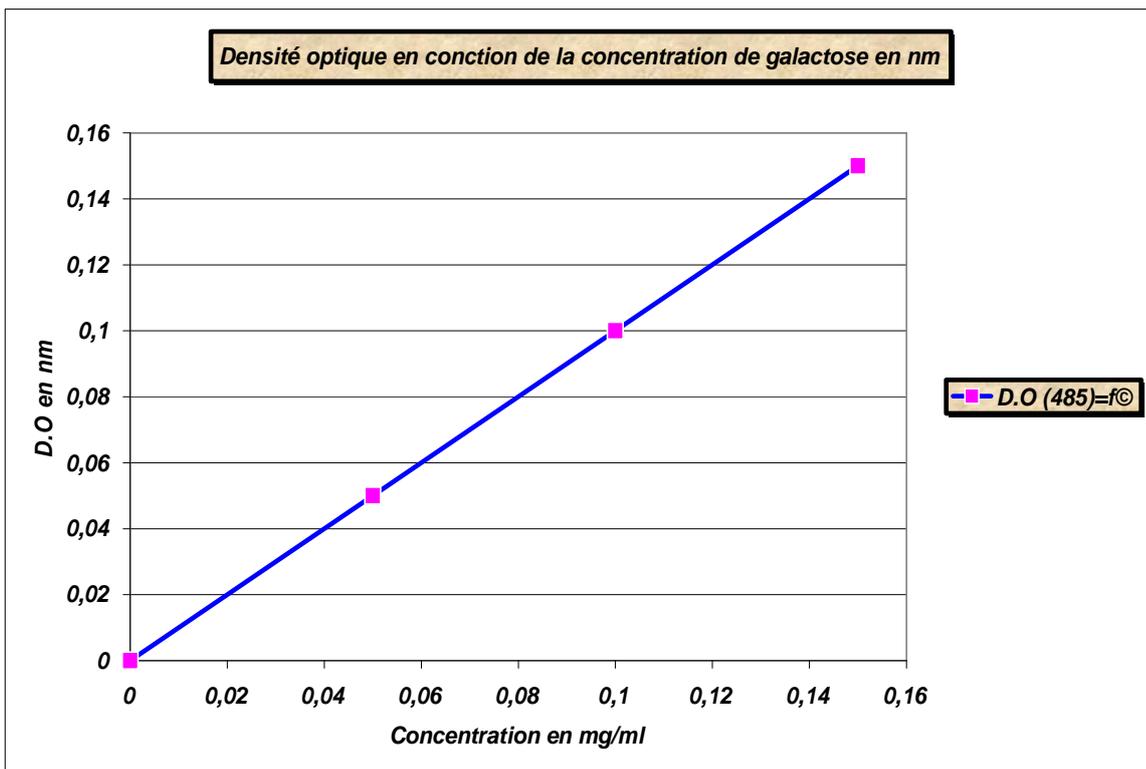
Dosage des sucres totaux (Dubois et al., 1956)

Préparation de la gamme étalon :

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

0,1mg de galactose \longrightarrow 0,6 D.O

[C] EN MG/ML	0	0,05	0,1	0,15
Volume de H2O (ml)	10	9,5	9	8,5
Volume de la solution mère (1mg /ml)	0	0,5	1	1,5
D.O (485nm)	0	0,357	0,589	0,836
	0	0,336	0,605	0,909
	0	0,366	0,628	0,949



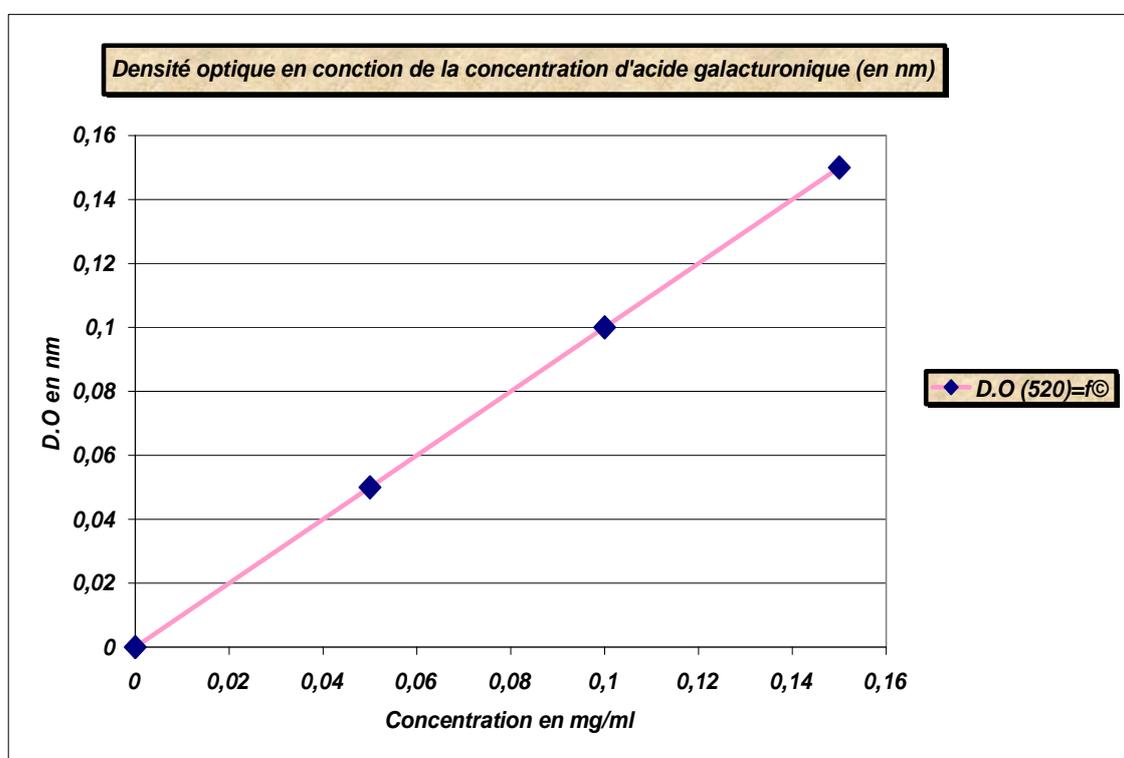
Dosage de l'acide galacturonique

-Préparation de la gamme étalon :

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

0,1mg d'AGA → 1,1 DO

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

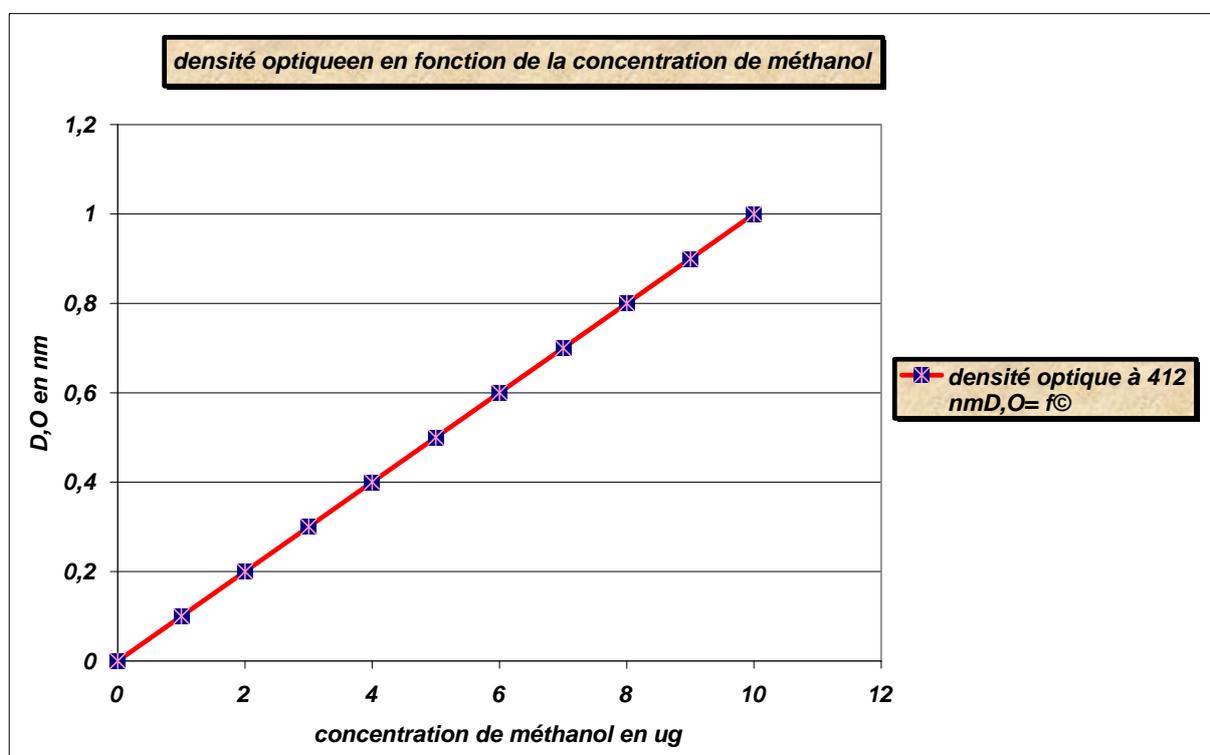


Dosage de méthanol

-Préparation de la gamme étalon :

La gamme étalon est préparée par une solution de méthanol diluée 10000 fois

SOLUTION DE METHANOL (µG)	2	4,8	10	25
solution mère (1/10000) (µl)	25	60	125	312
solution tampon pH 7,5 (µl)	575	540	475	288
Solution A d'alcool oxydase (ml)	0,5	0,5	0,5	0,5
Solution B pentanediane(ml)	1	1	1	1
D.O (412nm)	0,032 0,038	0,086 0,557	0,067 0,103	0,444 0,363



Détermination du pouvoir gélifiant

Principe :

Le pouvoir gélifiant d'une pectine est défini par le degré SAG : 1g de pectine a 1 degré SAG peut gélifier 1 g de sucre en solution a 65 % a pH égale 3(Michel, 2002).

-Appareillage :

Penetrometre, 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 homogénéiser. 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 et 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 rapportant 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 :

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