REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEURE ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE DE MEDEA

FACULTE DES SCIENCES

Mémoire

Présenté pour obtenir le diplôme de **Master**

En Chimie

Spécialité :

Chimie Macromoléculaire

Présenté par :

Saidi Faiza

Boukhors Amira

Thème :

Evaluation de l'effet du type de la biomasse végétale sur la variabilité de l'activité biologique des biopolymères extraits

Soutenu le : 23/06/2022, Devant le jury composé de :

Dr. Zouambia Yamina.	Grade :MCA	U. Médéa	Examinatrice
Dr. Arbia Wassila.	Grade :MCA	U. Médéa	Présidente
Dr. Madani Leila.	Grade :MCB	U. Médéa	Encadreur
Dr. Maachou Hamida.	Grade :MCA	U. Médéa	Co-encadreur

Année universitaire : 2021/2022

Remerciements

*Nous remercions Dieu, le tout Puissant **ALLAH** qui nous a guidé dans le chemin de la science et qui nous a donnés la foi, la force et le courage pour accomplir ce travail.*

Nous remercions infiniment nos très chers parents qui nous ont soutenus moralement et financièrement durant toutes nos études.

*Nous tenons à remercier Madame **Dr. Madani Leila** en tant que notre Promotrice qui est toujours montré à notre écoute et très disponible tout au long de la conception de ce mémoire*

Nos remerciement s'adresse à :

***Dr. Maachou Hamida:** qui a pris de son temps pour co-encadrer ce travail.*

***Dr. zouambia Yamina** : votre venue en tant qu'examinateur nous honore, nous sommes très reconnaissante et on vous adresse nos vifs remerciements*

Nous remercions également :

Nos professeurs qui nous ont assuré une formation complète et noble.

Nos familles et tous nos amis qui nous ont encouragé et aidé durant nos études

Merci a mes collègues: Nour, Sakina, Hayet, Sabrin, Chaimaa, pour leur aide.

Les personnes qui ont contribués de loin et de prés à la réalisation de ce travail.

Amira et Faiza

Dédicaces

Dédicace



ce modeste travail est grâce à

Mon dieu, l'unique maitre des terres et des cieux.

A ceux qui ont donnée un sens pour mon existence, qui m'ont soutenu jours et nuits durant tout mon parcours, A ceux qui ont fait de moi ce que je suis aujourd'hui

A vous mes très chère et adorable parents ***(Ahmed et Baya)***

A la mémoire de ma grand-mère ***(Allah yarhamha)***

A mes frères:

Salim, Anoir et Badreldine

A mes adorables sœurs :

Rabiaa et Nadia

A mon cher fiancé : Radhwane

A toute ma famille ***Boukhors***

A tous mes amies: Nour ;Hayet, Sakina , Faiza, chaimaa , Abir, Ilhem, Ahlem et Hadjer.

A toi ***Faiza*** *de m'avoir partagé ce modeste travail, nous avons partagé d'agréables moments inoubliables tout au long de notre cursus universitaire.*

A toute la promotion de chimie macromoléculaire

2021-2022

Amira Boukhors

Dédicace

Tous d'abord je bénis mon Dieu chaque jour de ma vie, de m'avoir donné la santé, la chance d'étudier et de suivre le bon chemin.

Je dédie du plus profond de mon Coeur ce manuscrit:

A mon cher père ***"SAAD"***

Aucune dédicace ne saurait exprimer mon respect, mon amour éternel et ma considération pour les sacrifices que vous avez consenti pour mon instruction et mon bien être. Je vous remercie pour tout le soutien et l'amour que vous me portez depuis mon enfance et j'espère que votre bénédiction m'accompagne toujours. Puisse Dieu, le Très Haut, vous accorder santé, bonheur et longue vie

A ma chère mère ***"NOURA"***

La flamme mon cœur, La reine de l'amour, la source d'espoir, mon guide dans la vie. A la femme qui a souffert sans me laisser souffrir, qui n'a jamais dit non à mes exigences et qui n'a épargné aucun effort pour me rendre heureuse : mon adorable mère

A toute ma famille : mes grand parents, mes tantes et mes oncles surtout oncle ***"MASSOUDE",***

A mes frères: Bilall, Riad, Sofiane, surtout adam.

A ma sœur Anissa et son mari Djeloull et ses enfants.

A mes très chères sœurs: nafissa, Amina, hayet ,Zineb, Amel, Nawal, Rachida, Nour al yakine, farida et salma.

A toute ma famille ***saidi*** *,*

A mon binôme et fidèle amie Amira, je la remercie d'avoir était présente à chaque moment de ma vie.

A tous mes amies : nour, samah, Hayet, Sakina , saida, chaimaa , Djamila, Sabrin, Hadjer, salima et samo.

Puisse dieu vous donne santé, bonheur, courage et surtout réussite.

FAIZA

الملخص:

في هذه الدراسة قمنا باستخلاص جزيء البكتين بطريقة التحلل المائي بواسطة الماء الساخن بوسيلة مبتكرة للتسخين بمساعدة الميكروويف. إلى جانب تغيير بعض الشروط العملية (جزء المادة النباتية المستعملة ونوعها؛ مدة الاستخلاص, استطاعة التسخين) من أجل فحص تأثيرها على كمية البكتين المستخرجة وكذلك على خصائصها الفيزيوكيميائية.

تم بهدف المساهمة في استكمال تثمين هذه المادة النباتية معاينة تأثير نوع المادة النباتية والخصائص الفيزيوكيميائية للبكتين المستخلصة على خاصية النشاط المضاد لبكتيريا لهذه الأخيرة ضد الاشيريشياكولي.

أظهرت النتائج أنه نتيجة لتلك التغيرات في الشروط العملية، كانت الاختلافات المسجلة على الترتيب بالنسبة لصنف اليقطين وبالنسبة لصنف الحمضيات: مردود البكتين (0.9 إلى 7.70 ٪) و(1 إلى 3 ٪). إما تلك الخاصة بدرجة الأسترة فكانت (66.65 إلى ٪97.36) و(50 إلى ٪80) كذلك معدل مجموعات الميثوكسيل (3.20 إلى 14.5٪) و(9.60 إلى 17.84٪) متواضعة مقارنة بالتغيرات المهمة في الوزن المكافئ للبكتين الذي تراوحبين (30 إلى 350 كيلودالتون) و(90 إلى 712 كيلودالتون) .تغير الكتلة المولية اللزوجية Mv بالنسبة لصنف اليقطين كان60.84 إلى 74.46 كيلودالتون.

أظهرت النتائج أن البكتين المستخلصة من نوعين مختلفين من اليقطين تمتلك نشاطات مضادة للبكتيريا متغيرة مع تغير مدة الاستخلاص واستطاعة التسخين.

الكلمات المفتاحية :البكتين، القرع، الحمضيات، الميكروويف، الاستخلاص ;النشاط المضاد للبكتيريا.

Résumé

Dans cette étude nous avons effectué l'extraction de la molécule de pectine en utilisant la méthode d'hydrolyse par l'eau à chaud avec un mode de chauffage innovant assisté par micro-onde. Dans le but de contribuer à l'achèvement de la valorisation de la biomasse utilisée, nous avons examiné l'impact de la variation de quelques paramètres opératoires (type du matériel végétal utilisé et la partie utilisée de ce matériel; période d'extraction, puissance de chauffage, le rapport m/v) sur la qualité et les caractéristiques physico-chimiques des pectines extraites ainsi que l'effet du type de matériel végétal et des propriétés physico-chimiques de la pectine extraite sur l'activité antibactérienne de cette dernière sur l*'Escherichia coli*. Les résultats montrent que par conséquent des variations des conditions opératoires, les variations enregistrées pour le cultivar de Cucurbite et le cultivar d'agrumes respectivement étaient: pour le rendement en pectine (0,9 à 7,70 %) et (1 à 3 %) et celles du degré d'estérification étaient de (66,65 % à 97,36 %) et (50 à 80 %) ainsi que celles du taux des groupements Méthoxyl (3,20 à 14,5 %) et (9,60 à 17,84%)) étaientmodestes par rapport aux fluctuations significatives du poids équivalent de pectine, qui variaient entre (30 à 350 kilo daltons) et (90 à 712 kilo daltons)pour le cultivar de Cucurbite et le cultivar d'agrumes respectivement. La variation de la masse molaire viscosimétrique (Mv), pour le cultivar de cucurbite était de 60,84 à 74,46 kilo daltons. Les résultats ont montré que les pectines extraites des deux espèces de citrouille différentes possèdent des activités antibactériennes différentes en variant la durée d'extraction et la puissance de chauffage.

Mots clés : pectine, *Cucurbita,* agrumes, micro-ondes, extraction, activité antibactérienne.

Abstract

In this study, the extraction of the pectin molecule was performed using the hot water hydrolysis method with an innovative microwave-assisted heating mode. Besides the variation of some operating parameters (type of plant material used and the part of this material used; extraction period, heating power, m/v ratio), in order to examine their impact on the quantity and physico-chemical characteristics of the extracted pectin.The effect of the type of plant material and the physico-chemical properties of the extracted pectin on the antibacterial activity of this latter on *Escherichia coli* was also examined, with the aim of contributing to the completion of the valorization of this biomass.

The results show that as a consequence of variations in the operating conditions, the variations recorded for the Cucurbita and citrus cultivars respectively were: for pectin yield (0.9 to 7.70%) and (1 to 3%) and those for degree of esterification were (66.65% to 97.36%) and (50 to 80%) as well as those for Methoxyl groups content (3.20 to 14.5%) and (9.60 to 17, 84%) which were modest compared to the significant fluctuations in pectin equivalent weight, which ranged from (30 to 350 kilo Daltons) and (90 to 712 kilo Daltons) for the Cucurbita and citrus cultivar respectively. The variation in viscometric molecular weight Mv, for the cucurbit cultivar was 60.84 to 74.46 kilo Daltons. The results showed that pectin extracted from the two different pumpkin species possess different antibacterial activities by varying the extraction time and heating power.

Key words: pectin, *Cucurbita*, citrus, microwave, extraction, antibacterial activity

Sommaire

Dédicace

Remerciements

الملخص

Résumé

Abstract

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste des abréviations

Introduction générale **2**

Chapitre I : Présentation de la matière végétale

I .1.Les Cucurbitacées **5**

I.1.1.Description générale **5**

I.1.2. Classification des cucurbitacées **5**

I.1.3. Différentes variétés en Algérie **6**

I.2.***Cucurbita .Moschata*** **6**

I.2.1. **Description botanique de *Cucurbita Moschata*** **6**

I.2.2. Classification botanique **7**

I.2.3. Principales variétés **7**

I.2.4. Composition de *Cucurbita. Moschata* **8**

I.3. Description botanique de *Cucurbita. Pepo* **9**

I.3.1. Composition chimique de *Cucurbita .Pepo* **10**

I.4. Les agrumes **11**

I.4.1. Classification botanique **11**

I.4.2. Classification botanique des oranges et des citrons **12**

Chapitre II : Généralités sur les pectines

II.1.Généralités sur les bioplymères **14**

II.2.Les polysaccarides **14**

II.3. Définition et structure des pectines **16**

II.4. Les substances pectiques **19**

II.5.Types de pectines **19**

II.6.Propriétés physiques des pectines **20**

II.6.1. Solubilité des pectines **20**
II.6.2.Distribution du poids moléculaire **22**
II.6.3.Flexibilité. **23**
II.6.4.Viscosité et propriétés rhéologiques des solutions de pectine . **23**
II.6.5, Stabilité et dégradation **24**
II.7. Sources des substances pectiques 24
II.8. Utilisations des pectines **24**
II.9. Méthodes extraction des pectines. **25**
II.9.1. Extraction par irradiation micro-ond **25**
Chapitre III : Matériels et méthodes
III.1.Introduction. **28**
III.2. Produits et matériels. **29**
III.3.Préparation du matériel végétal. **30**
III.4.Détermination de la teneur en eau. **32**
III.5.Extraction des substances pectiques. **33**
III.5.1. Protocole expérimental d'extraction des pectines. **33**
III.5.2.Détermination du rendement en pectine extraite. **32**
III.6. Caractérisation physico-chimique des pectines extraites **36**
III.6.1. Méthode viscosimétrique **36**
III.6.2 .Méthode calorimétrique **38**
III.7. Analyse par spectroscopie FTIR **39**
III.8. Tests antibactériens **40**
III.8.1. Méthode de dilution en milieu liquide **40**
IV. Résultats et discussions
IV.1. Teneur en eau de la matière végétale. **44**
IV.2. Extraction des substances pectiques. **45**
IV.2.1. Aspect des substances pectiques. **45**
IV.2.2. Rendement des pectines. **46**
IV.2.2. 1. Influence de la durée d'extraction sur le rendement en pectine **49**
IV.2.2.2. Influence de la source végétale utilisée sur le rendement en pectine **51**
IV.2.2.3. Influence de la partie du fruit sur le rendement **52**
IV.2.2.4Influence de la puissance des micro-ondes sur le rendement en pectine **53**
IV.2.2.5.Influence du rapport solide /liquide m/v sur le rendement en pectine **55**

IV.2. 3. Caractérisation physico-chimique des pectines extraites **56**
IV.2.4. Résultats de l'analyse par FTIR **63**
IV.2.4.1. Effet de la durée d'extraction **63**
IV.2.4.2. Effet de la puissance des micro-ondes **64**
IV.3.Activité antibactérienne **67**
Conclusion générale **71**
Références bibliographiques **74**

Listes des figures

Chapitre I : Présentation de la matière végétale.

Figure I.1 Quelques fruits de certaines cucurbitacées. ***5***

Figure I.2 Diversite génétique au sein des agrumes ***11***

Chapitre II : Généralités sur les pectines

Figure II.1 Représentation schématique des principaux composants de la pectine en conformation de chaise. ***18***

Figure II.2 Représentation schématique des principaux composants de la pectine en nomenclature Symbolique des Glycanes dans le modèle (SNFG-B) [9]et illustrant les différentes liaisons glycosidiques communes aux pectines. ***18***

Figure II.3 Conformations de la chaîne de pectine **a)** étendue (pH >pKa), **b)** compacte (pH <pKa). ***22***

Chapitre III :. **MATERIELS ET METHODES**

Figure III.1 Représentation schématique du plan de la partie pratique. ***29***

Figure III.2 **a)** Photo du Fruit de *Cucurbita Muscade de Provence*. **b)** Photo du Fruit de *Cucurbita Spaghetti* ***31***

Figure III.3 Photos de la matière végétale préparée **: (a)**pulpe séchée en poudre *Muscade de provence*,**(b**) écorces séchées en poudre *Muscade de Provence*, **(c)**écorces séchées de citron, **(d)** écorces séchées d'orange, **(e)**pulpe séchée en poudre *Cucurbita.pepo (Spaghetti)*,**(f)** écorces séchée en poudre *Cucurbita.pepo (Spaghetti)***.** ***32***

Figure III.4 Représentation du protocole expérimentale de l'extraction des pectines par hydrolyse à l'eau à chaud par micro-ondes. ***35***

Figure III.5 Viscosimètre capillaire type Ubbelohde ***38***

Figure III.6 Série des tubes des solutions testées inoculées par la suspension bactérienne après incubations prêtes à la lecture de la DO par spectrophotomètre UV. ***42***

***Chapitre* IV.:** Résultats et discussions.

Figure IV.1	Représentation des résultats de la teneur en eau dans la matière végétale	***45***
Figure IV.2	pectines extraites des : (a) pulpe de Muscade de provence, (b) écorces Muscade de provence, (c) pulpe de Spaghetti, (d) écorces de Spaghetti, (e) écorces de citron, (f) écorces d'orange.	***46***
Figure IV.3	Influence de la durée d'extraction sur le rendement de pectine extraite par hydrolyse à l'eau à chaud utilisant un chauffage assisté par micro-ondes	***50***
Figure IV.4	Influence de la source végétale utilisée sur le rendement de pectine extraite par hydrolyse à l'eau à chaud utilisant un chauffage assisté par micro-ondes.	***52***
Figure IV.5	Effet de la partie de la plante sur le Rendement en pectine extraite par hydrolyse à l'eau à chaud utilisant un chauffage assisté par micro-ondes.	***53***
Figure IV.6	Effet de la partie de la puissance d'irradiation par micro-ondes en pectine extraite par hydrolyse à l'eau à chaud utilisant un chauffage assisté par micro-ondes.	***54***
Figure IV.7	Effet du rapport m/v sur le Rendement en pectine extraite de la Muscade de Provence par hydrolyse à l'eau à chaud utilisant un chauffage assisté par micro-ondes.	***55***
Figure IV.8	Effet de la durée d'extraction par micro-onde sur le poids équivalent des pectines.	***57***
Figure IV.9	Effet de la durée d'extraction par micro-onde sur le DE des pectines extraites.	***59***
FigureIV.10	Effet de la durée d'extraction par micro-onde sur le taux MeO% des pectines extraites.	***60***
FigureIV.11	Effet de la puissance d'irradiation par micro-onde sur le poids équivalent des pectines extraites..	**62**
FigureIV.12 .	Effet de la puissance d'irradiation par micro-onde sur la teneur en groupement MeO% des pectines extraites	**62**
Figure IV.13	Effet de la puissance d'irradiation par micro-onde sur la masse viscosémitrique des pectines extraites.	**63**
Figure IV.14	Effet de la durée d'extraction sur la structure de la pectine extraite à partir de la pulpe de Muscade de provence: 2 mn (a), 5 mn (b) et 7 mn (c).	**65**
Figure IV.15	Effet de la durée d'extraction sur la structure de la pectine extraite à partir des écorces de citron (5 mn, a ; et 7 mn, b) et d'orange (5 mn, c ; et 7 mn, d	**66**
Figure IV.16	Effet de la puissance des micro-ondes sur la structure de la pectine extraite à partir des écorces de citron (7 mn) : (a) 440 W et (b) 1000 W	**67**

Listes des Tableaux

Chapitre I :Présentation de la matière végétale.

Tableau I-1 Principales variétés de l'espèce *Cucurbita.moschata* ***7***

Tableau I-2 Composition de *Cucurbita.moschata* ***9***

Tableau I-3 caractères morphologiques de quelques variétés de l'espèce *Cucurbita.pepo* ***9***

Tableau I-4 Classification botanique des agrumes ***12***

Chapitre II :Généralités sur les pectines

Tableau II.1 Quelques grandes familles de polysaccharides et structures associées ***15***

Chapitre III : MATERIELS ET METHODES

Tableau IV.1 Produits et matériels utilisés ***30***

Tableau IV.2 Différentes conditions opératoires de l'extraction par hydrolyse à l'eau assisté par Micro-onde ***34***

Tableau IV.3 Modes opératoires de la détermination des caractéristiques physico-chimiques des pectines extraites. 38

Tableau III-4 gammes de concentrations des solutions de pectines testées pour l'activité antibactérienne contre *E. Coli*. **41**

***Chapitre* IV.:** Résultats et discussions.

TableauIV-1 Rendements des pectines extraites des différentes parties de différentes biomasses par hydrolyse par l'eau à chaud utilisant un chauffage par micro-onde. **47**

Tableau IV-2 Valeurs des DO_{630} des suspensions bactériennesd'*E. Coli*additionées des dilutions des pectines extraites près incubation **68**

Liste des abréviations :

Al : Aluminium.

C.pepo :cucurbita.pepo.

DE : Degré d'estérification.

DM : Degré de méthylation.

H : hydrogène.

HCl : Chlorure d'hydrogène.

HG : homogalacturonanes.

HM : Hautement méthylées.

K : Potassium.

LM : Faiblement méthylées.

M.O : Micro-ondes .

N : Normalité.

Na : Sodium.

NaOH : Hydroxyde de sodium.

NH4 : Ammonium.

R : Rendement

RG I : Rhamnogalacturonane I.

RG II : Rhamnogalacturonanes II.

T : Température.

TE : Teneur d'eau.

V : Volume .

XGA : xylogalacturonanes.

Introduction

Introduction

Ces dernières années, l'accent est mis sur les politiques octroyant une vision intégrante des trois grands axes : le respect de l'environnement et de l'être humain, la réduction des déchets et des matières polluantes et le remplacement partiel ou total des dérivés pétrochimiques par des ressources renouvelables.

Les biopolymères issus de la biomasse, permettent d'offrir un nouveau débouché pour gérer les déchets et manifestent aussi de nombreux autres atouts dans un concept de bioraffinerie, ou il est souhaitable que lamatière première puisse être transformée en divers types de biocarburants, de produits biochimiques et de biomatériaux **[1].**

Au cours des dernières années, un intérêt croissant a été consacré à la recherche de polysaccharides naturels(la pectine en particulier) pour leur large éventail de propriétés biologiques et leurs différentes applications enpharmacologiesurtout que leur toxicité est relativement faible. La pectine, un biopolymère anionique soluble dans l'eau, est l'un des biopolymères les plus commercialisés . Le marché mondial de la pectine, estimé à 1 milliard de dollars en 2019, devrait atteindre 1,5 milliard de dollars en 2025 . La production de pectine en combinant la chimie verte et la bioraffineriedevrait constituer un défi pour les industries dusecteur agroalimentaire **[2].**

La consommation estimée de pectines était de 34000 tonnes métriques en 2016et sa demande pourrait grimper en flèche jusqu'à 48 735 tonnes métriques avec un taux de 3,7 % d'ici la fin de 2026.

L'émergence concomitante de la recherche sur les antibactériens naturels et les nouvelles utilisations des polysaccharides de pectine, a conduit à une renaissance de la recherche sur les propriétés physiologiques de ce polysaccharide unique et polyvalent omniprésent dans les plantes et les fruits. Certaines études fournissent des aperçus sur les facteurs subtils qui affectent le comportement de la pectine en tant qu'antimicrobien. Elles affirment que la pectine moins dégradée extraite par des voies non acides trouvera bientôt des applications allant de nouveaux traitements pour les infections polymicrobiennes à l'utilisation comme biomatériau implantable dans l'ingénierie tissulaire et osseuse.

Les propriétés fonctionnelles des pectines sont directement liées à leur structure, largement impactée par la méthode d'extraction, les conditions dans lesquelles était menée et la matière première. L'impact sur l'environnement des méthodes traditionnelles d'extraction est

particulièrement immense, y compris l'utilisation importante d'énergie et d'eau. Les technologies alternatives d'extraction plus innovantes : l'extraction assistée par ultrasons, l'extraction assistée par micro-ondes, le traitement à haute pression (HPP), l'extraction assistée par enzymes, et l'extraction à l'eau sous-critique permettant d'isoler les polysaccharides tout en préservant leur fonctionnalité et leur masse moléculaire.

A la lumière de toutes les composantes de cet état de l'art, on s'est mis ambitieux dans notre étude de contribuer à approfondir les connaissances sur l'impact de quelques conditions opératoires de l'extraction par hydrolyse par l'eau à chaud sur la quantité et la qualité physico-chimiques des pectines issues des sources agricoles abondantes en Algérie le *Cucurbita*et les agrumes. On s'est orienté vers l'utilisation des micro-ondes qui offrent plusieurs avantages, tels quela consommation réduite d'énergie et le temps réduit d'extraction, etc. et qui revête un double intérêt à notre étude : l'amélioration du pouvoir solvant de l'eau et le développement des procédés plus respectueux de l'environnement et durables ayant des avantages écologiques avérés et un coût compétitif pour l'extraction de la pectine.

Afin de tirer bénéfice des biomasses utilisées comme source de pectine, une bonne poursuite d'évaluation de son pouvoir antibactérien et d'investigation de la variation de ce dernier avec la matière première et les conditions d'extraction s'avère nécessaire pour une large cohérence avec l'approche intégrée de bioraffinage.

Dans une partie bibliographique de ce manuscrit, nous passons en revue de deuxchapitres dans lesquels, il sera détaillé :

- ☞ Quelques généralités sur les sources végétales utilisées : l'espèce *Cucurbita* et les agrumes, portant sur leurs informations botaniques, leur origine, leur importance…
- ☞ Les pectines comme biopolymère : leur détail structural et les différentes applications et usages appropriés à cette catégorie de polysaccharide végétal.

Pour la partie expérimentale, une présentation du matériel et des méthodes utiles pour entreprendre le côté expérimental de notre travail s'est avérée nécessaire dans un troisième chapitre. Tous les résultats trouvés et leurs interprétations sont présentés dans le dernier chapitre. Une conclusion générale vient à la fin pour récapituler tout ce qui ressort de ce travail menée de quelques perspectives.

Chapitre I

Présentation de la matière végétale

I .1. Les Cucurbitacées :

I.1.1. Description générale :

Les cucurbitacées sont une famille végétale qui offre une incroyable diversité de fruits : la volupté de leur forme, la couleur de leur peau, la multiplicité de leurs usages expliquent que les cucurbitacées comptent parmi les plantes les plus connues et les plus cultivées au monde. La figure I.1 montre les différents fruits de la famille des Cucurbitacées.

Les tiges sont grimpantes et pourvues de vrilles; elles sont herbacées, anguleuses et rudes.Le feuilles sont larges, à pétiole fistuleux, à lobes réniformes, parfois incisées ou déchiquetées. Les fleurs grandes et jaunes, sont unisexuées. Les fruits sont ronds ou allongés, presque toujours côtelés. Ils renferment les graines dans une cavité centrale, entourée de chair généralement épaisse.



Figure I.1 : Quelques fruits de certaines cucurbitacées

I.1.2.Classification des cucurbitacées :

La famille des Cucurbitacées est une famille des plantes dicotylédones qui comprend environ 800 espèces réparties en 130 genres **[3]** dont les principaux sont : *Gurania*(75 espèces), *Sicyos*(50espèces), *Momordica*(45 espèces), *Cayaponia*(45 espèces) et *Cucumis*(32 espèces) **[4]**. Cette famille est connue pour sa grande diversité génétique [**5]** et sa grande adaptation aux régions tropicales, subtropicales et les déserts arides **[6]**.

Parmi eux on distingue le genre *Cucurbita*qui comprend treize espèces, dont cinq sont cultivées pour l'alimentation:

♦*Cucurbitaficifolia* : généralement appelée la courge de siam

♦*Cucurbita maxima* : communément appelée potiron

♦*Cucurbitamixta* : communément appelée la courge mexicaine

♦*Cucurbitamoschata* : communément appelée courge musquées ou muscades

♦*Cucurbitapepo* : communément appelée citrouille.

I.1.3. Différentes variétés en Algérie :

•Courge Musquée de Provence (*Cucurbitamoschata*).

•Potiron rouge vif d'Etampes (*Cucurbita maxima*).

• Potiron marron (*Cucurbita maxima*).

•Butternut (*Cucurbitamoschata*).

I.2. *CucurbitaMoschata :*

I.2.1. Description botaniquede*Cucurbita.Moschata* :

La courge musquée (*Cucurbita moschata*) appartient à la famille des Cucurbitacées, sous-famille des Cucurbitaceae, tribu des Cucurbiteae **[7].** Elle comporte 12 à 14 espèces, toutes originaires d'Amérique du Nord (Sud des Etats Unis), du Sud d'Amérique centrale et de l'Amérique du Sud (Nord Pérou et du Mexique)**[8],** elle est largement cultivée dans tous les

pays chauds et tempérés. C'est un genre d'une assez grande importance économique, il comprend en effet la plupart des espèces cultivées sous le nom de courge**[9].** Elle peut posséder plusieurs noms communs : courge musquée, courge muscade, giraumon (Antilles-Guyane), sucrine, Courge musquée en fleurs**[10].**

I.2.2.Classification botanique :

- ✓ Règne : Plantae
- ✓ Division : Magnoliophyta
- ✓ Classe : Magnoliopsida
- ✓ Ordre : Violales
- ✓ Famille : Cucurbitaceae
- ✓ Sous-famille : Cucurbitoideae
- ✓ Tribu : Cucurbiteae
- ✓ Genre : Cucurbita
- ✓ Nom binominal : Cucurbita moschata **[11].**

I.2.3.Principales variétés :

Il existe des nombreuses variétés de *Cucurbita moschata*, le fruit allant d'une forme cylindrique à globuleuse ou ovoïde. Le Tableau I.1 englobe les différentes variétés de l'espèce Cucurbitacées moschata. Toutes ses variétés s'hybrident facilement entre elles pour donner d'autres cultivars améliorés.

Tableau I-1 : Principales variétés de l'espèce *Cucurbita.moschata*

Variétés	Photo
Courge musquée de provence	
Courge longue de Nice	

Doubeurre ou Butternut • Butternut Waltham • ButternutPonca	
Yokohama	
Courge pleine de naples ou courge porte- manteau	 
Courge à trompe d'Albenga	
Sucrine du Berry	 

I.2.4.Composition de *Cucurbita.moschata*:

Cucurbita.moschata est un aliment très efficace en régime d'alimentation équilibré en raison de ses précieuses et importantes sources de fibres et son contenu de carbohydrates environ (17 kcal/100g de fruit frais). Ces carbohydrates constituent 60-80% de la matière sèche de sa pulpe **[12].**

Cucurbita.moschata est une excellente source de vitamine A et des caroténoïdes telles que la ß et α carotène, la ß cryptoxanthine, la lutéine, la zeaxanthine qui contribuent à ses propriétés antioxydantsrevendiquées**[13].**

Bien que ce soit un aliment faible en gras, *Cucurbita.moschata* contient des graisses saines sous la forme d'acide α linoléique et oméga 3 qui sont très bénéfiques pour la santé et que le corps ne peut pas synthétiser naturellement **[14].** Le balayage phytochimique des extraits de *C. moschata* comme source potentielle des macronutriments et de composés phytochimiques a révélé la présence de glucides, polyphénols, flavonoïdes et tanins dans la pulpe, les graines

et les écorces des fruits ainsi que la présence des protéines, de glucides et des lipides en quantité variable**(tableau I-2).**

Tableau I-2 : composition phytochimique du Cucurbita.moschata

Partie de fruit	**Pulpe**	**(écorce)**	**graines**
Composés			
Polyphénols(mgGAE/ g MS)	156.3	37.3	66.7
Flavonoïdes(mg QE/g MS	240.75	140.24	75.75
Tannins (mg CE/g MS)	222.2	75	130
Protéines (mg/g matière sèche)	156.3	37.3	66.7
Lipides (mg/g matière sèche)	240.75	140.24	75.75
Carbohydrates(mg/gmatière sèche)	222.2	75	130

I.2.5.Description Botanique de Cucurbita.Pepo :

Le *Cucurbitapepo*est une espèce très répandue de la famille des cucurbitacées, elle renferme plusieurs variétés voire la courgette, la citrouille, le pâtisson, etc. La plante entière porte des piquants et les feuilles sont de couleur verte unie ou tachetées de clair, découpées en 5 lobes aigus. Ces courges peuvent être coureuses ou non. Le pédoncule devient très dur à maturité, mais il est marqué de cinq côtes longitudinales. Souvent, ces côtes se prolongent sur le fruit ou continuent sur ce dernier avec une couleur différente**[15] (**tableau I-3)

La citrouille est de couleur orange de la forme sphérique, son pédoncule est dur et fibreux, avec 5cotes nettement anguleuses

Tableau I-3 : caractères morphologiques de quelques variétés de l'espèce *Cucurbita.pepo*

Espèces	Forme	Couleur	Pédoncule des fruits	photo
Cucurbita. Pepo	Cylindrique, oblongue, piriforme, sphérique, en soucoupe ou oviforme Lisse, granuleuse ou verruqueuse Côtes (10) peu marquées, très profondes et anguleuses.	Peau : Unie :blanche, jaune ,verte, orange Bicolore : crème et vert, vert et jaune, vert et blanc Chair : blanche à orangée	Très dur à maturité. Long et anguleux, à 5 côtes qui ne s'élargissent pas au point d'attache mais semblent s'étendre sur le fruit	  

I.2.6. Composition chimique de *Cucurbita. pepo* :

La composition chimique de Cucurbita.Pepo se constitue de :

- ✓ Composés nutritifs (protéines, fibres, lipides) à des teneurs variables avec la partie de la plante (Tableau I-4),
- ✓ Caroténoïdes tel que β-carotène,
- ✓ Alcools (cucurbitol, polyalcool),
- ✓ Acides carboniques,
- ✓ Acides aminés (citrulline et cucurbitine),
- ✓ Chlorophylle,
- ✓ Glucides
- ✓ Minéraux (phosphore, calcium, magnésium, fer, cuivre et sélénium)**[16].**

Les grainessont riches en huile, elles contiennent35 à 55 % d'huile et 30 à 40% de protéines, ainsi que les vitamines tel que : la vitamine E, la vitamine A, les vitamines de groupe B (B1, B2, B6), la vitamine C et la vitamine D **[17].**

La courge spaghetti fait partie de la grande famille des cucurbitacées. La courgette Spaghetti est une courge d'hiver. Elle est de forme ovoïde, avec une peau jaune pâle à vif et une chair blanche ou jaune pâle. Elle peut mesurer jusqu'à 30 cm de long et pèse de 1,5 à 4 kg Cette cucurbitacée montre le même feuillage découpé et duveteux et les tiges épineuses que les autres membres de ce genre. Elle est peu envahissante, même dans le cas des variétés coureuses. Chaque plant donnent entre 2 et 5 fruits.

I. 3 .Les agrumes :

Les agrumes sont des petits arbres ou arbustes, dont la taille peut varier de 2 à 10 mètres de haut suivant les espèces. Leur frondaison est généralement dense et leurs feuilles sont persistantes, à l'exception des Poncirus. Leurs fruits et toutes les parties de l'arbre (écorce, feuilles, branches, et fleurs) contiennent des glandes à essence.

La culture commerciale des agrumes dans notre pays est localisée dans les zones irrigables de la partie nord du pays, où elle trouve la température clémente qui assure sa réussite, car celle – ci influe fortement sur la physiologie des agrumes. Le verger agrumicole algérien est particulièrement concentré dans les plaines Littorales et Sublittoraux, où les conditions de sol et de climat sont favorables **[18].**

I.3.1 classification botanique :

Botaniquement, les agrumes vrais présentent une grande diversité d'espèces qui n'est pas complètement explorée et exploitée. Les études convergent toutes vers l'existence de quatre taxons à l'origine des agrumes cultivées appartenant au genre *Citrus*, qui sont aussi appelés espèces ancestrales. Aux trois premières espèces vraies : *Citrus medica*L. (cédratier), *Citrus reticulata*Blanco (mandarinier), *Citrus maxima* L. Osbeck (pamplemoussier) s'ajoute en effet un papeda nommé *C. micrantha*Wester qui serait à l'origine du limettier **[19].**



Figure I.2: Diversité génétique au sein des agrumes.

I.3.2 Classification botanique des oranges et des citrons :

Le tableau I.4 récapitule les descriptions botaniques de deux variétés d'agrumes le citron et l'orange.

Tableau I.4 : Classification botanique des agrumes

Orange	**Citron**
Règne : Plantae	**Règne :** Plantae
Sous règne : Tracheobionta	**Sous règne :** Tracheobionta
Division : Magnoliophyta	**Division :** Magnoliophyta
Classe : Magnoliopsida	**Classe :** Magnoliopsida
Famille : Rutacées	**Famille :** Rutacées
Sous famille : Aurantoideae	**Sous famille :** Aurantoideae
Tribu : Citreae	**Tribu :** Citreae
Sous-tribu : Citrinae	**Sous-tribu :** Citrinae
Espèce : Citrus	**Espèce :** Citrus
Genre : Citrus sinensis	**Genre :** Citrus.Limon (L)

Chapitre II
Généralités sur les pectines

II.1. Généralité sur les biopolymères :

Les macromolécules sont divisées en deux groupes : les polymères synthétiques et les polymères biologiques. Les biopolymères sont des polymères produits par des organismes vivants et composés d'une gamme variée de monomères (par exemple, des glucides, des acides aminés, etc.). Contrairement aux polymères synthétiques (par exemple, le polyéthylène, le chlorure de polyvinyle ou le polystyrène), qui ont un petit nombre d'unités répétitives identiques, les biopolymères ont une structure différente qui manifeste des assemblages moléculaires complexes qui adoptent des formes tridimensionnelles précises et définies.

Les biopolymères peuvent être classés en trois groupes, selon la nature de l'unité répétée qui les compose et la structure du biopolymère formé:

- Les polynucléotides, qui sont de longs polymères composés de >13 monomères nucléotidiques liés de manière covalente en une chaîne,
- Les polypeptides qui sont des polymères d'acides aminés liés par une liaison peptidique,
- Les polysaccharides qui sont des hydrates de carbone complexes dans lesquels des sucres simples sont liés par une liaison glycosidiques**[20].**

II.2. Les polysaccarides :

Les polysaccharides sont des polymères d'oses de très hautes masses molaires. On distinguera :

- Les homopolysaccharides constitués d'un seul type d'oses
- Les hétéropolysaccharides constitués de plusieurs oses.

Ces polymères peuvent être linéaires mais également ramifiés. Quand plusieurs monosaccharides sont présents au sein de ces structures c'est l'ose majoritaire suivi du suffixe «ane» qui donne son nom au polysaccharide. Ces polysaccharides qui sont actuellement largement utilisés dans les industries alimentaires et pharmaceutiques pour accomplir un certain nombre de fonctions, comme l'épaississement et la gélification de solutions aqueuses, la stabilisation de dispersions, l'inhibition de la formation de cristaux de glace la formation de cristaux de glace et de sucre, l'administration et la libération d'ingrédients bioactifs sont

appelées "hydrocolloïdes alimentaires" **[21].** Les formulations à base de polysaccharides conviennent à de nombreuses applications industrielles en raison de leur biodégradabilité, de leur biocompatibilité et de leur tendance à avoir un potentiel élevé de modification pour acquérir les propriétés chimiques et physiques souhaitées.

Les sources de polysaccharides sont très diverses. Ils peuvent provenir de plantes supérieures, de champignons, d'algues et de bactéries **[22].** D'un point de vue physiologique, les polysaccharides peuvent être :

- Des composés de réserve comme l'amidon,
- Des macromolécules de structure telles que la cellulose ou les hémicelluloses,
- Des exsudats de type mucilage impliqués dans la captation d'eau et/ou la cicatrisation ou encore des médiateurs cellulaires (l'héparine par exemple).

Les polysaccharides peuvent être classés en deux groupes en fonction de leur obtention :

- ✓ Les polysaccharides naturels obtenus à partir de divers organismes
- ✓ Les polysaccharides semi-synthétiques produits par la modification chimique ou enzymatique de macromolécules naturelles**[23].**

Comme ils peuvent être classés selon leurs sources (***Tableau 1***).

Tableau II.1- Quelques grandes familles de polysaccharides et structures associées.

Sources	**Polysaccharides**	**Liaisons osidiques**	**Oses majoritaires**
Animales	Chitine chitosane	*β*-(1,4)	D-GlcNAc et D-GlcN
	Héparine	*β*-(1,4), *α*-(1,6)	L-IdoA (2S), D-GlcN (6S)
	Hyaluronane	*β*-(1,3)	D-GlcA et D-GlcNAc
	Sulfate de chondroïtine	*β*-(1,3)	D-GlcA et D-GalNac (4S, 6S
Végétales	Agar, agarose	*β*-(1,3), *α*-(1,4)	D-Gal, L-AnGal, L-Gal (+S2, S4 et S6)
	Alginate	*β*-(1,4)	D-ManA, L-GulA
	Amidon	*α*-(1,4) et *α*-(1,6)	D-Glc
	Arabinogalactane I	*β*-(1,4), *α*-(1,3), *α*-(1,5)	D-Gal, L-Ara
	Arabinogalactane II	β-(1,3), β-(1,4), α-(1,3), α-(1,6)	D-Gal, L-Ara, D-GlcA
	Arabinoxylane	β-(1,4), α-(1,2) et α-(1,3)	L-Ara, D-Xyl, (D-GlcA)
	β-glucane	*β*-(1,3), *β*-(1,4) et *β*-(1,6)	
		β-(1,3), *α*-(1,4), *β*-(1,2)	D-Glc

	Carraghénane Cellulose Galactomannane Glucomannane Ulvane Xylane (hémicellulose) Xyloglucane **Pectine**	*β*-(1,4) *β*-(1,4) et *α*-(1,6) *β*-(1,4) et *β*-(1,3) *β*-(1,4), *α*-(1,4), *α*-(1,3), *α*-(1,2) *β*-(1,4) *β*-(1,4) et *α*-(1,6) **α-(1,4)**	D-Gal, D-AnGal (+S2, S4 et S6) D-Glc D-Gal, D-Man D-Glc, D-Man, D-GlcAc D-GlcA, L-Rha 3S, L-IdoA, D-Xyl (2S) D-Xyl D-Glc, D-Xyl **D-GalA, D-MeGalA**
Bactériennes	Curdlane Gellane Pullulane Xanthane	β-(1,3) β-(1,4) α-(1,4) et α-(1,6) β-(1,4), α-(1,3), α-(1,2),	D-Glc D-Glc, L-Rha, D-GlcA D-Glc D-Glc, D-Man (6Ac), D-GlcA, PyrA
Fongiques	Krestine Lentinane Schizophyllane Scléroglucane	*β*-(1,4), *β*-(1,3), *β*-(1,6) *β*-(1,3), *β*-(1,6) *β*-(1,3), *β*-(1,6) *β*-(1,3), *β*-(1,6)	D-Glc D-Glc D-Glc D-Glc

II.3. Définition et structure des pectines :

Les pectines sont une classe des polysaccharides végétaux complexes et des hydrocolloïdes polyvalents, largement disponiblesdans les parois cellulaires des plantes et la lamelle moyenne des plantes supérieures. Ces polysaccharides sont composants majeurs servant ;par le biais d'interactions mécaniques et chimiques avec les autres constituants de la paroi ; au maintien de la rigidité et de l'intégrité des tissus végétaux, ayant unimpactsur la croissance et la santé des plantes.**[24].** Chaque source de pectine présente une quantité variablede sous-structurescomme **[25] :**

Les homogalacturonanes (HG) ; ils sont principalement composées d'homopolymère de l'acide α(1→4) galactopyranuronique partiellement estérifié (GalpA). Elles sont des chaînes faiblement polymérisées d'acides galacturoniques. Les homogalacturonanes(HG) sont les plus abondants, ils représentent 65% des pectines. Ceux sont d'excellents polyanions et échangeurs d'ions et leurs propriétés biologiques et physico-chimiques sont souvent corrélées à leur capacité d'établir des interactions électrostatiques.

- Lesrhamnogalacturonanes (RG-I et II) :

- ☞ les RG-I sont composées de -D-GalpA répété et intercalé avec -L-rhamnopyranose (Rhap) [→2)α-L-Rhap- (1,4)- α-D-GalpA-(1→]. La proportion de rhamnogalacturonane I (RG I) est comprise entre 20% et 35% **[26].** Les résidus Rha (20% à 80%) peuvent être remplacés par des chaînes latérales de sucre neutre (galactose, arabinose, xylose, et apiosis). Les chaînes latérales de la région du squelette RG-I sont principalement un mélange d'arabinanes, de galactanes et d'arabinogalactanes attachés au résidu rhamnose.
- ☞ les RG-II : leur proportion en pectine est inférieure à 10%, ils sont composées D-galactanes liés en -1,3 avec des galactanes liés en -O-6 ou des arabinogalactanes attachés aux résidus Rhap O-4,comme le montrent les figures 1 et 2)**[27] ;** De manière générale, les RG-II sont beaucoup plus branchés que les RG-I. De masses molaires assez faibles (5 à 10 kDa), ils apportent une certaine flexibilité à la paroi végétale en permettant notamment des liaisons intermoléculaires avec la cellulose**[28].**

- Lesxylogalacturonanes : Les xylogalaturonanescommeles RG-II sont des composés minoritaires qui représentent moins de 10% des pectines de structure ramifiée très complexe liée par une liaison β-glycoside avec l'O_3 de GalA en HG **[29].**

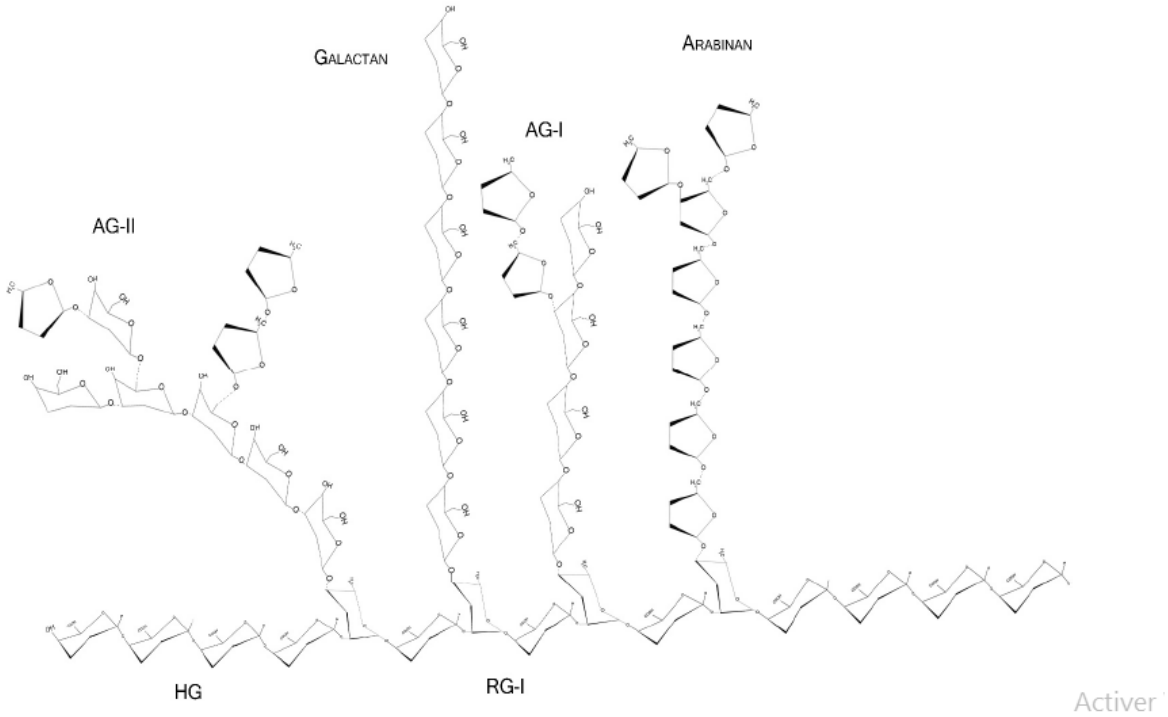


Figure II-1 : Représentation schématique des principaux composants de la pectine en conformation de chaise.

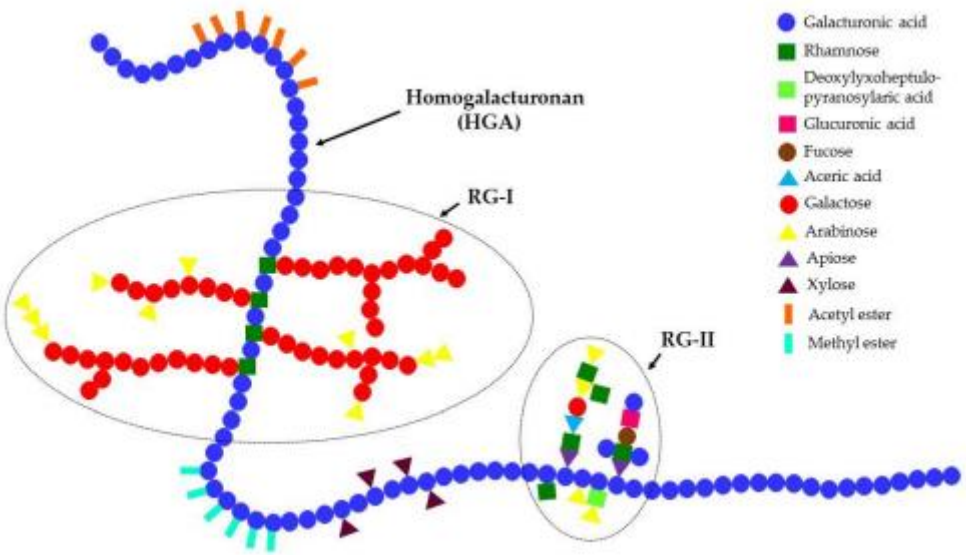


Figure II-2 : Représentation schématique des principaux composants de la pectine en nomenclature Symbolique des Glycanesdans le modèle (SNFG-B)**[30].**et illustrant les différentes liaisons glycosidiques communes aux pectines.

La structure chimique complexe varie aussi selon la source végétale, la méthode d'extraction et la localisation **[31]**

II.4. Les substances pectiques [32]:

Les substances pectiques sont nombreuses on y trouve :

- **Les protopectines** qui sont des pectines hydrolysées insolubles dans l'eau puisqu'elles sont liées aux autres composants, servant à la rigidité des tissus végétaux.

- **Les pectines** qui sont des acides polygalacturoniques partiellement ou entièrement estérifiés ;
- **Les pectinates** qui sont des sels de pectines ;
- **Les acides pectiques** qui sont essentiellement des acides polygalacturoniques non estérifiés solublesdans l'eau à froid, cette forme apparaît au cours de mûrissement quand leur dégradation en sucres et en acide ait lieu par voie enzymatique ;
- **Les pectates** qui sont les sels d'acide pectique.

II.5. Types de pectines :

Les pectines sont identifiées à partir de leur degré de méthylation (DM) exprimé en %, qui est défini comme étant le nombre de fonctions carboxyliques méthylées pour cent motifs d'acide galacturoniques de la chaîne principale (nombre de résidus méthylés par rapport aux résidus totaux). Selon leur degré de méthylation, on distingue :

- Les pectines « hautement méthylées » ayant un DM > 50% et désignées par HM pour High methoxyl, elles sont majoritairement présentes dans la nature on retrouve essentiellement de la pectine HM avec un DM qui varie entre 60 et 90% **[33]**. Les pectines « faiblement méthylées» ayant un DM < 50% et désignées par LM pour Lowmethoxyl.Les pectines LM existent à l'état naturel mais sont généralement obtenues par dé-estérificationde la forme HM. Plusieurs méthodes existent pour obtenir cette modification : la déestérificationacide, alcaline à basse température et ou par voie enzymatique.
- Les acides pectiques ayant un DM< 5%.

Le DM de la pectine dépend de :

- Son origine végétale,
- Type de tissu
- La maturité de celui-ci.

La façon dont l'estérification est répartie sur la molécule de pectine qui est le degré de blocage est aussi importante pour la distinction des pectines selon leur degré d'ésterification.La région RG-II est hautement méthyl-estérifiée et beaucoup plus diversifiée dans la composition des sucres des chaînes latérales que la RG-I. Le squelette principal de la pectine composé de HG, également connu sous le nom de région "lisse peut également présenter des degrés variables de méthylation ou d'acétylation en fonction de la source alimentaire et du processus d'extraction.

La structure globale de la pectine et sa composition chimique régissent ses applications. Tous les paramètres structurels, tels que les tailles moléculaires distinctes, le nombre plus élevé de chaînes latérales de galactane/arabinane ou de contenus d'acide galacturonique, l'estérification méthylique, et d'autres propriétés importantes ont également été discutés dans la littérature comme étant des paramètres influençant effets biologiques de la pectinein vitro et in vivo**[34][35].**

II.6. Propriétés physiques des pectines :

II.6.1 Solubilité des pectines :

Les pectines ayant des caractères polymériques et polyélectrolytiquesgrâce à la présence de groupements carboxyliques dans leur squelette ce qui leur confèrent un certain nombre de caractéristiques physico-chimiques.Pas comme les polysaccharides neutres qui sont moins solubles que les polyélectrolytes,la pectine est soluble dans l'eau, formant une solution colloïdale, opalescente et insoluble dans l'éthanolet la solubilité augmente généralement avec la réduction de la régularité de la structure moléculaire.Les sels pectiques à cation monovalent (par exemple, les pectates de sodium et depectates de sodium et de potassium) et les acides pectiques sont généralement solubles dans l'eau, alors que lescations trivalents sont presque insolubles dans l'eau.

La forte solubilité des polysaccharides pectiques est attribuée à :

- Leur structure hétérogène (HG, RG-I, RG-II),

- ☞ La présence de groupes carboxyle hydrophiles (degré d'estérification du méthyle) et hydroxyle qui interagissent avec l'eau principalement par liaison hydrogène.
- ☞ D'autres facteurs affectant la cinétique de solubilité de la pectine qui incluent :
  - Le pH de la solution : à des valeurs de pH élevées (pH >pKa), les groupes carboxyle de la pectine sont ionisés.Par conséquent, les chaînes de biopolymères sont fortement hydratées et étendues en raison desrépulsions électrostatiques entre les anions carboxylates. Le nombre et la distributiondes charges négatives sont déterminés par le degré d'estérification du méthyle et le degré de blocage (DB) avec les groupes méthyles. L'ionisation des groupes carboxyliques diminueavec le pH (pH <pKa) et favorise donc les associations chaîne à chaîne(figure II-5).
  - Le DM : Il a été montré que la force des agrégats de pectine dépend de la quantité de groupes méthyl-estérifiés et que des agrégats plus forts sont formés dans le cas des pectines LM. Cette force a été attribuée au taux plus élevée de groupes carboxyles dés-estérifiéspar rapport celui delapectine HM, ce qui crée plus de liaisons hydrogènes et donc des agrégats plus forts.
  - La ramification des chaînes latérales : une structure fortement ramifiée favorise beaucoup plus la solubilisation de la pectine.
  - La concentration de la solution,
  - La présence de contre-ionsd'autres polymères existants dans la solution
  - Le poids moléculaire :Les polysaccharides pectiques ont généralement un poids moléculaire élevé (50 à 700 × 10^3 g mol^{-1}).Cela entrave la vitesse de dissolution de la pectine. Une pectine sera d'autant plus soluble que sa masse moléculaire est faible
  - Le solvant, sa nature et sa force ionique,

Il a été reporté que les molécules de pectine s'associent en solution et forment des bâtonnets rigides ou segmentés grâce à des interactions non covalentes **[36].**De plus, les molécules de pectine ont tendance à former des agrégats supramoléculaires lorsqu'elles sont dispersées dans l'eau et la probabilité d'agrégation dépend de:

- ✓ pH
- ✓ La température
- ✓ La force ionique de la solution.

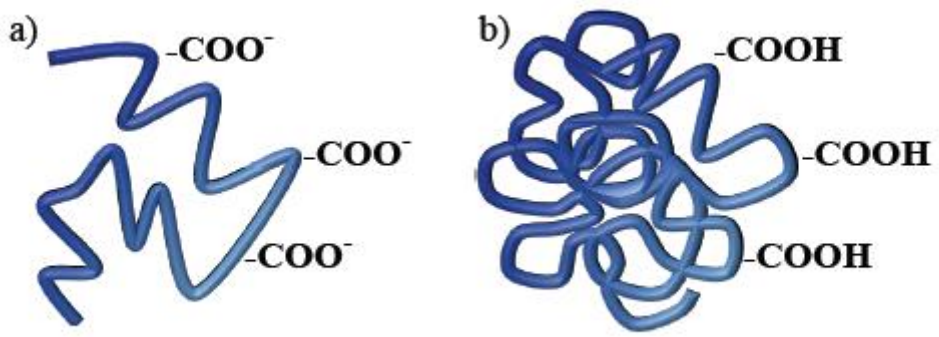


Figure II-3: Conformations de la chaîne de pectine **a)** étendue (pH >pKa),

b) compacte (pH <pKa).

Un scénario typique de dissolution de la pectine comprend les étapes suivantes**[37] :**

1) le solvant mouille la pectine,

2) le solvant diffuse dans le polymère,

3) le polymère gonfle,

4) le polymère diffuse de la masse gonflée dans le solvant.

II.6.2 distribution du poids moléculaire :

Les distributions de poids moléculaire varient en fonction de la source botaniquede la pectine et des conditions d'extraction (température, temps, milieu d'extraction et pH).Les polysaccharides pectiques sont polydispersés, ce qui indique que chaque population de polymèresest composée de chaînes de composition ou de longueur de monosaccharides différentes donnant unedistribution des poids moléculaires.En fonction des techniques utilisées pour les extraire et les analyser, la masse moléculaire des pectines peut donc varier de quelques dizaines à quelques centaines de KDa.

Le poids moléculaire des polysaccharides pectiques est généralement décrit par des moyennes moléculaires, telles que la moyenne numérique moléculaire moyenne en nombre (M_n), la masse moléculaire moyenne en poids (M_w), la masse(M_z) et la masse moléculaire moyenne en fonction de la viscosité (M_v).

Le rapport Mw / Mn est appelé indice de polydispersité (PDI) et varie entre 1,5 et 2,0 pour les polysaccharides naturels.

Il existe différentes techniques de détermination de la masse moléculaire :

- ✓ La diffusion statique de la lumière (LS),
- ✓ Chromatographie d'exclusion stérique(SEC),
- ✓ Viscosimètrie,
- ✓ Sédimentation,
- ✓ Osmométrie membranaire.

II.6.3 Flexibilité :

Les pectines sont considérées comme des molécules semi-flexibles, elles se rapprochent de la flexibilité des alginates.La flexibilité est dépendante principalement de la contributionélectrostatique des chaînes à la viscosité intrinsèque. La nature des substituants et le nombrede charges portées par les chaînes peuvent l'influencer. Il a été montré que l'augmentation degroupesrhamnosyles augmente la flexibilité; elle serait maximale pour un DM autour de 50%. En revanche, l'amidation entraîne une plus forte rigidité **[38].**

II.6.4. Viscosité et propriétés rhéologiques des solutions de pectine :

Les solutions de pectine diluées présentent un écoulement newtonien. Cependant, lorsque la concentrationaugmente jusqu'à un point critique, l'amincissement par cisaillement devient dominant. Le comportement rhéologique du polysaccharidepectiqueest expliqué en termes d'enchevêtrement des chaînes de pectine. Lorsque la concentration de pectineaugmente, la liberté de mouvement des chaînes individuelles devient limitée en raison de l'augmentation du nombre d'enchevêtrements. Par conséquent, un temps plus longest nécessaire pour former de nouveaux enchevêtrements afin de remplacer ceux perturbés par la déformationimposée de l'extérieur. De plus, l'augmentation dudegré de ramification de la pectine entraîne une plus grande dépendance de la viscosité au taux de cisaillement**[39].** La viscosité de la pectine est inférieure à celle de la plupart des autres gommes, il est donc rare d'utiliser les pectines pour augmenter la viscosité d'un produit**[40].** Les pectines de la betterave sucrière ont une faible viscosité par rapport à celles issues du citron ou de la pomme **[41].**

II.6.5.Stabilité et dégradation :

Les pectines en solution sont stables à pH 3-4. Pour des PH<3, et à basse température, les groupements acétyles et méthyles sont déstabilisés et les sucres neutres sont hydrolysés. Si la température augmente l'hydrolyse est accélérée.

En milieu alcalin et à basse température, les groupements esters sont saponifiés. En milieu neutre et à température ambiante, la saponification est accompagnée de la réaction de dépolymérisation. Cette dégradation a lieu uniquement dans les liaisons glycosidiques et dans les résidus de l'acide galacturoniqueméthoxylés. A des températures >60°C, la dégradation n'a lieu qu'à phlégèrement acide (pH proche de 5)**[42].**

II.7. Sources des substances pectiques :

Les sources industrielles principales des pectines sont le marc de pomme et les écorces d'agrumes (citron, orange) **[43].**Dans les fruits, outre les pommes et les agrumes, les pêches, les abricots, les poires, les goyaves, les coings, les prunes et les groseilles à maquereau sont connus pour leur haute teneur en pectine. Parmi les légumes, les tomates, les carottes et les pommes de terre sont connues pour leur teneur élevée en pectine **[44].**

II.8. Utilisations des pectines :

Les substances pectiques ont fait l'objet de nombreuses recherches portant notamment sur leurs fonctions au sein de la paroi végétale, leur structure chimique et leur caractérisation en tant qu'additifs. Toutes ces recherches ont conduit au développement de nombreuses applications de la pectine dans divers domaines tels que : l'industrie cosmétique et plastique.

D'un point de vue nutritionnel, La pectine peut jouer un rôlebénéfique en nutrition humaine en piégeant un certain nombre d'éléments présents dans lalumièreintestinale.Les pectines sont considérées comme des fibres alimentaires qui exercent des effets physiologiques sur le tractus intestinal en réduisant le temps du transit et l'absorption du glucose **[45].**Les pectines sont aussi utilisées dans le domaine pharmaceutique comme agents anti diarrhée, pour la désintoxication et l'élimination du cholestérol dans le sang **[46].**elles trouvent leur application dans :

- L'industrie alimentaire.
- La médecine et l'industrie pharmaceutique.
- Le domaine des biomatériaux.

- Le domaine cosmétique.

II.9.Méthodes extraction des pectines :

La pectine peut être liée on non liée aux autres polymères pariétaux par conséquent trois différentes méthodes permettent leur extraction des parois végétales :

- Méthodes chimiques
- Méthodes enzymatiques
- Méthodes physico-chimiques : ultrasons, micro-ondes, pression, l'eau subcritique, les fluides supercritiques.

II.9.1 Extraction par irradiation micro-onde :

La méthode de L'extraction assistée par micro-ondes (MAE) constitue une alternative intéressante aux méthodes d'extraction conventionnelles et présente de nombreux avantages, tels qu'un temps plus court, moins de solvant, un taux d'extraction plus élevé, de meilleurs produits à moindre coût. Elle permet d'obtenir un bon rendement en pectine avec le moindre temps de réaction**[47],[48].** De plus, l'extraction par micro-ondes limiterait les phénomènes dedépolymérisation de la pectine qui peuvent être observés lors de l'extraction acide**[49]**Dans cette méthode, lors du chauffage par micro-ondes, la pression s'accumule dans lematériau à extraire. Cette pression modifie la structure cellulaire du résidu et permet unemeilleure pénétration des solvants d'extraction**[50][51].**

Dans le cas de la MAE, l'extraction de la pectine dépend des propriétés diélectriques du volume du solvant, de la température, de la teneur en eau et de la puissance. L'extraction se fait par le chauffage direct de la matrice absorbant les micro-ondes et/ou par le chauffage d'un solvant polaire jusqu'à l'ébullition. La réduction du temps de traitement, de la consommation de solvant, de l'uniformité distribution uniforme de la température dans le milieu, la pénétration du solvant, le hautrendement élevé de pectine de grande pureté en termes de teneur en GalA et la taille réduite de l'équipement sont les principaux facteurs positifs. Cependant, l'utilisation d'eau acidifiéeentraîne des problèmes de corrosion et l'usure subséquente des équipements La puissance des micro-ondes (MW) et le temps d'irradiation peuvent avoir un impact négatif sur sur le degré d'estérification méthylique.

Plusieurs chercheurs ont utilisé cette méthode par exemple qui ont appliquée l'extraction assistée par micro-ondes pour l'extraction de la pectine à partir des oranges séchées, comme résultats ils ont obtenu que la quantité de pectine extraite augmente avec l'augmentation de la puissance micro-onde, alors qu'elle diminue à mesure que le temps, le pH et le rapport solide-liquide augmentent avec un rendement maximal en pectine de 19,24%.

La pectine de différentes sources varie en fonction des principaux domaines (homogalacturonan HG, rhamnogalacturonan, RG-I ou RG-II) et de l'étendue de l'estérification qui détermine les principales propriétés fonctionnelles telles que la gélification, la viscosité ou la stabilisation. Le mécanisme des méthodes d'extraction durables (ultrasons, US ; micro-ondes, MW ; champ électrique pulsé, PEF ; ultra-haute pression, UHP ; eau sous-critique, SW) affecte la pectine. Pour conserver les caractéristiques structurelles et la fonctionnalité, il est préférable d'utiliser une puissance et une température plus faibles pour les méthodes US/MW/PEF, tandis que les méthodes UHP et SW n'entraînent pas de changements significatifs dans la pectine. Pour des applications sur mesure, il est important de séparer les méthodes d'extraction en fonction des sources pour obtenir une structure et une fonctionnalité typiques de la pectine.

Chapitre III : Matériels et Méthodes

Dans cette partie, on décrit tout le matériel et les produits utilisés ainsi que les différents modes opératoires suivis pour réaliser toutes les expériences de ce travail.

III.1.Introduction

Des travaux expérimentaux, attribuant à cette étude sa substance, ont été entrepris au niveau des laboratoires de chimie et de biologie de la faculté des science de l'université Dr .YahiaFares de Médéa. A travers l'ensemble de ces travaux on a visé :

- L'extraction par hydrolyse dans l'eau distillée à chaud utilisant une méthode innovante de chauffage assisté par Micro-Onde ; des macromolécules pectiques résidantes dans :
    - La pulpe et les écorces sèches de deux variétés du genre *Cucurbita.*Le choix a été retenu sur la variété *Muscade de Provence* appartenant à l'espèce *CucurbitaMoschata*et la variété S*paghetti* de l'espèce C*ucurbitapepo*cultivéeau sud d'Algérie.
    - Les écorces sèches de deux variétés d'agrumes (Citron, Orange)
- La caractérisation physico-chimique des pectines extraites en terme de poids équivalent, masse moléculaire viscosimétrique, degré d'estérification et de taux des groupements Méthoxyl, et cela dans le but d'approfondir les connaissances concernant la corrélation entre quelques conditions opératoires de l'extraction des pectines avec ses propriétés physico-chimiques.
- Une évaluation des activités antibactérienne des pectines extraites afin d'investiguer l'impact de la variabilité des caractéristiques physico-chimiques due à la variabilité de la source végétale et de quelques conditions opératoires technologiques sur le potentiel antibactérien des pectines extraites.

L'organigramme des différentes préoccupations rentrant dans l'ordre de la réalisation de la partie pratique de cette étude est schématisé sur la figure III-1.

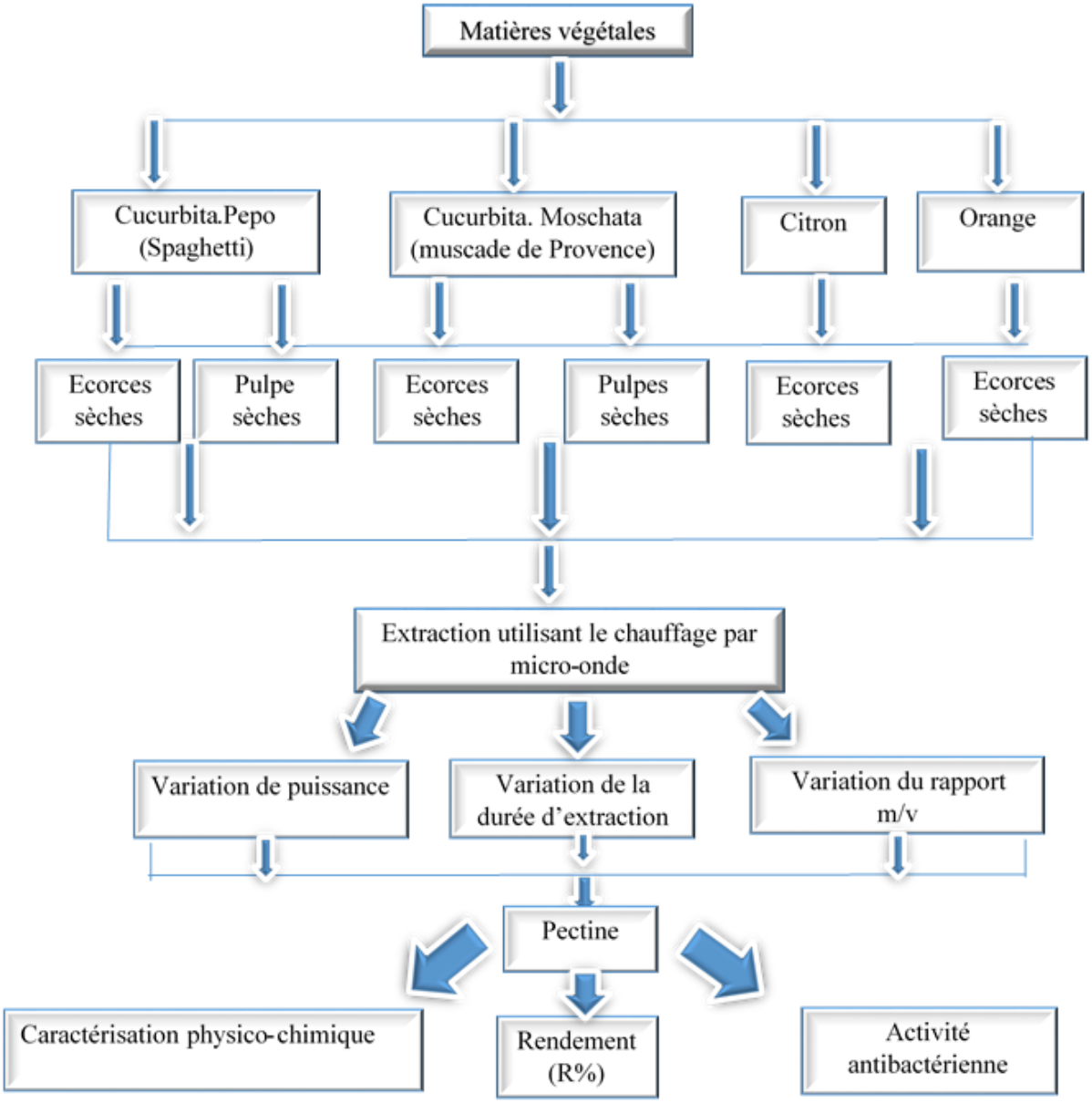


Figure III-1 : Représentation schématique du plande la partie pratique.

III.2.Produits et matériels :

Le tableau III.1 rassemble tous les produits et le matériel utilisés dans cette partie expérimentale.

Tableau III.1 : Produits et matériels utilisés.

Produits		***Matériels***
Nom	***Pureté***	***Nom***
Acétone	-	Etuve
Ethanol	96%	Four micro-Onde
NaOH	98%	Balance électronique
HCl	37%	Thermomètre digitale
Phénol-Phtaléine	-	Moulinette électrique
NaCl	98%	Agitateur magnétique
Milieu de culture gélosé (Muller Hinton)		Agitateur Vortex
Souche bactérienne E . coli		Bain-marie
		Centrifugeuse
		FTIR
		Viscosimètre
		Spectrophotomètre UV

IV.3.Préparation du matériel végétal :

La matière végétale utilisée dans cette étude consiste en quatre variétés distinctes appartenant à deux espèces différentes :

- **Cucurbita:** récoltée du sud d'est d'Algérie en phase de maturité, on a opté à l'utilisation des écorces et de la pulpe des deux variétés suivantes :
  - ✓ **Le Muscade de Provence :** le fruit de cette variété est montré sur la figure III-3-a.
  - ✓ **Le Spaghetti**: le fruit de cette variété est montré sur la figure III-3-b.
- **Agrumes** : les écorces de deux variétés de cette espèce proviennent de la région nord d'Algérie. Le choix de cette espèce vient à titre comparatif avec l'autre espèce surtout que l'utilisation de cette source est très fréquente dans le milieu industriel. Les deux variétés choisies (figure III-2) sont :
  - ✓ **Le Citron**
  - ✓ **L'Orange**

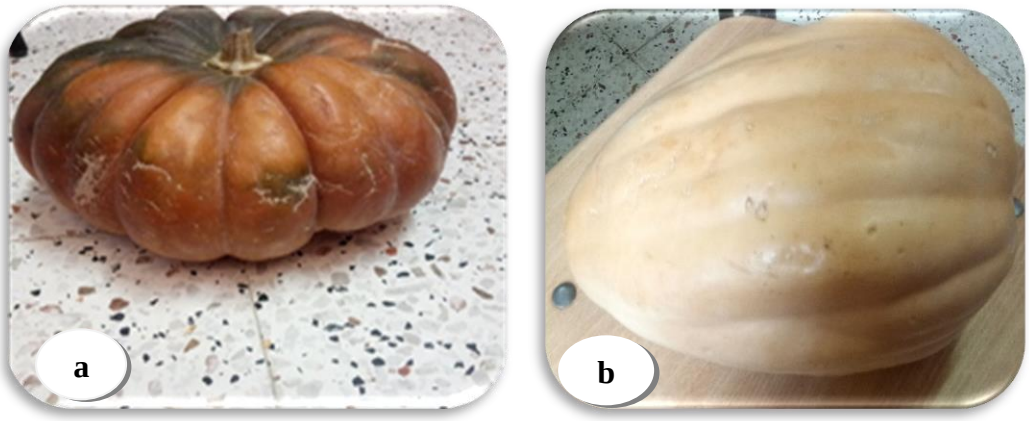


Figure III.2:a) Photo du Fruit de *Cucurbita Muscade de Provence* ,**b)**Photo du Fruit de *Cucurbita Spaghetti*

La matière végétale a subi une préparation selon les étapes suivantes :

- Séparation de la pulpe et des écorces du fruit.
- Découpage de la pulpe et des écorces en petites pièces fines.
- Lavage de la pulpe et des écorces à l'eau de robinet.
- Séchage à l'air libre et à température ambiante.
- Broyagede la matière séchée avec une moulinette électrique pour obtenir une poudre de granulométrie pas trop fine (figure III.3).
- Stockage des poudres obtenues dans des flacons fermés jusqu'à une ultérieure utilisation**.**



Figure III.3 : Photos de la matière végétale préparée **: (a)** pulpe séchée en poudre*Muscade de provence*, **(b**) écorces séchées en poudre*Muscade de Provence*, **(c)** écorces séchées de citron, **(d)** écorces séchées d'orange, **(e)**pulpe séchée en poudre *Cucurbita pepo (Spaghetti)*,**(f)** pulpe séchée en poudre *Cucurbita pepo (Spaghetti)***.**

III.4.Détermination de la teneur en eau :

La teneur en eau est déterminée comme étant la quantité d'eau en grammes contenue dans 100g de la matière végétale fraiche. La teneur en eau des parties fraiches a été déterminée par

le procédés d'élimination d'eau par le séchage à l'air libre jusqu'à obtention d'un poids constant.

Le pourcentage en eau contenue dans la matière végétal est déterminé par formule suivante :

$$TE(\%) = [(m_f - m_i)/ m_i] \times 100 \qquad \text{(III-1)}$$

avec:

TE(%) : teneur en eau en pourcentage.

m_f : masse finale de la matière végétale après séchage.

m_i : masse initiale de la matière végétale fraiche.

III.5.Extraction des substances pectiques :

III.5.1. Protocole expérimental d'extraction des pectines :

Les substances pectiques ont été extraités des différentes parties des bio-sources choisies par l'hydrolyse par l'eau distillée à chaud en utilisant un mode de chauffage assisté par Micro-Onde

Les étapes principales d'extraction de la pectine dans ce travail sont représentées sur la figureIII.4, elles peuvent être résumées en trois grandes étapes :

a. Solubilisation :UnMélange de 10g de l'échantillon et un volume de l'eau distillé(100ml, 200ml) est chauffé pendant un certain temps t (min) par micro-onde.

b. Filtration :Après la solubilisation, le jus pectique est filtré puis refroidi pour éviter d'éventuelle augmentation de la viscosité et la dégradation de la pectine.

c. Précipitation : pour chaque volume de jus pectique on ajoute unvolumedoubled'éthanol qui va permettre la précipitation pendant 24h à la température ambiante.

d. Séchage :la pectine filtrée et lavée à l'acétone après sa précipitation doit être séchée à une température de 45°C dans une étuve pendant 24H.

Les extractions des pectines par l'eau à chaud (pH=7) ont été menées dans différentes conditions opératoires mentionnées sur le tableau III-2.

Tableau III-2 : Différentes conditions opératoires de l'extraction par hydrolyse à l'eau assisté par Micro-onde

Matière végétale	**Puissance(W)**	**Partie de la matière végétale utilisée**	**Durée d'extraction (mn)**	**Rapport Matière végétale/eau (m/v)**
***Cucurbita. pepo* (Spaghetti)**	440	Ecorces sèches	2	1/10
	440	Pulpe sèche	2	1/10
	1000		5 7	
Cucurbita. Moschata (muscade de Provence)	440	Ecorces sèches	2 5 7	1/10
	440	Pulpe sèche	60	1/20
	270	Pulpe sèche	2 10 15	1/20 1/20 1/20



Une masse de matière végétale sèche



Addition d'un volume d'eau



Chauffage par micro-ondes pendant un temps t



Filtration sur la gaze



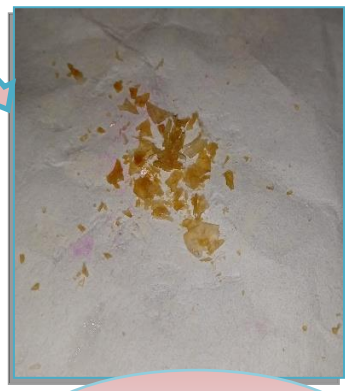
Centrifugation du jus pectique a 6000tr/min



Filtration de la pectine précipitée dans l'alcool et lavage avec l'acétone



Séchage de la pectine filtrée aT=45°C



Pectine extraite

Figure III.4 : Représentation du protocole expérimentale de l'extraction des pectines par hydrolyse à l'eau à chaud par micro-ondes.

III.5.2.Détermination du rendement en pectine extraite :

Les rendements en pectines sont exprimés en pourcentage et ils ont été calculés par rapport à la masse initiale traitée selon l'équation suivante :

$$\mathbf{R(\%)= (m_p/m_0)x\ 100}$$

avec :

$\mathbf{m_p}$: La masse de la pectine obtenue (g).

$\mathbf{m_0}$:La masse de l'échantillon sèche traité (g).

III.6. Caractérisation Physico-chimique des pectines extraites :

La méthode de viscosimétrie a été adoptée pour la détermination de la masse moléculaire viscosimétrique tandis que pour les autres caractéristiques une méthode colorimétrique a été considérée.

III.6.1 Méthode viscosimétrique :

Cette méthode repose sur la détermination de la masse moléculaire à travers la mesure de la viscosité de la solution (polymère + solvant).

La relation empirique de Mark –Houwink permet de déterminer la masse molaire moyenne viscosimetrique **[52]** :

$$[\eta]=KM_V^{\propto}$$

On obtient alors la masse Mv par la relation :

$$Mv= ([\ \eta]/\ k)^{1/\alpha}$$

Pour déterminer la viscosité d'une solution, on peut utiliser la méthode d'Oswald. Celle-ci repose sur la loi de Poiseuille, qui relie la viscosité dynamique au débit.Les mesures de viscosité peuvent être déterminées par comparaison entre le tempsd'écoulement de la solution avec celui du solvant dans le même viscosimètre.

Si la solution est diluée, alors $\rho = \rho_o$ et on peut écrire :

- η_0: viscosité du solvant pur,

- η : viscosité de la solution de polymère de concentration C,
- ηrel : viscosité relative : $\boldsymbol{\eta\ rel = \eta / \eta 0}$
- η sp : viscosité spécifique, avec $\boldsymbol{\eta\ sp = \eta - \eta_0 / \eta_0 = t - t_0 / t_0}$
  où t est le temps d'écoulement (d'efflux) de la solution (polymère + solvant) et t_0 le temps d'écoulement du solvant pur.
- η_{red} : viscosité réduite, avec $\boldsymbol{\eta_{red} = \eta_{sp} / C}$
- [η] : viscosité intrinsèque, avec $\boldsymbol{[\eta] = \lim_{c \to 0} (\eta red)}$

Le protocole expérimental utilisé pour la détermination de la masse moléculaire viscosimétrique est le suivant :

- ☞ Pour chaque échantillon de pectine, une masse m est dissoute par agitation dansl'eau en utilisant une fiole jaugée de 50 ml.
- ☞ Après dissolution complète, à partir de la solution étalon mère Sm précédente, préparer les solutions étalonsfillesSd, en utilisant des fioles jaugées de 25ml.
- ☞ Avant toute mesure, rincer le tube viscosimètre (figure III.5)à l'aide de la solution étudiée.
- ☞ Le viscosimètre possède trois marques annulaire. Celui du bas devra toujours être au niveau de la surface libre de la solution. La durée d'écoulement est mesurée entre les deux index supérieurs. Avec une poire en caoutchouc, aspirer la solution de façon à ce qu'elle monteà un niveau supérieur à l'index supérieur.
- ☞ Mesurer la durée d'écoulement t entre les deux marques annulaires du haut.
- ☞ Commencer les mesures avec le solvant et on poursuivra la même opération avec les échantillons en partant des solutions les plus diluées et en terminant par les solutions les plus concentrées.
- ☞ Déterminer par extrapolation la viscosité intrinsèque $\boldsymbol{[\eta_{int}]}$

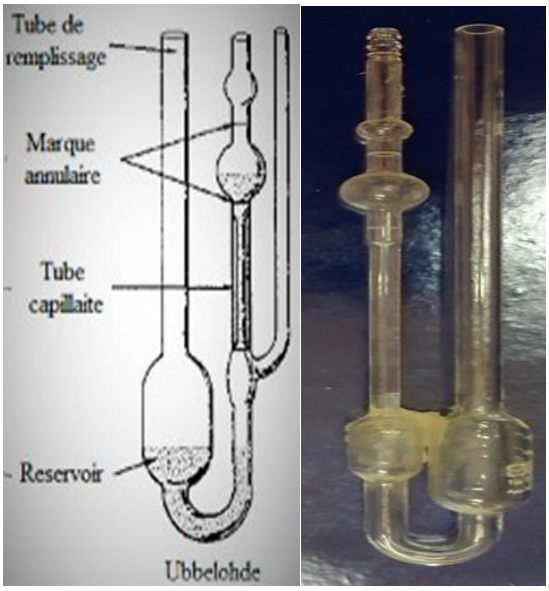


Figure III.5 : Viscosimètre capillaire type Ubbelohde

III.6.2 Méthode calorimétrique :

Sur le tableau III-4 on décrit selonla méthode décrite par S. Ranganne **[53].** toutes les protocoles expérimentaux utilisés pour la détermination des caractéristiques physico-chimiques suivants :

- Le poids équivalent.
- La teneur en Méthoxyl (MeO%).
- Le degré d'estérification.

Tableau III-3 : Modes opératoires de la détermination des caractéristiques physico-chimiques des pectines extraites.

caractéristique	Mode opératoire	Formule mathématique
Poids équivalent	*0,12g de la pectine extraite dans un flacon de 250 ml avec une solution de 2,5 ml d'éthanol, 0,25g de NaCl et 50 ml d'eau distillée. *agitation jusqu'à la solubilisation de la pectine dans la solution. *Titrage avec une solution de NaOH (0,1N) De la solution obtenue après l'ajout de 3 gouttes de phénolphtaléine, *Relever le volume de NaOH de la neutralisation,	**Poids équivalent = (masse pectine x 100) / (V_{NaOH}xN_{NaOH})**
Teneur en Méthoxyle (MeO%)	*Agiter la solution neutre obtenue de la mesure du Poids équivalent avec 6,25 ml de NaOH (0,25N), * Ajouter un volume de 6,25ml de HCl (0,25N) et 3 gouttes de phénolphtaléine, *Titrer avec la solution de NaOH(0,1N).et noter le volume de NaOH utilisé.	**Teneur en méthoxyle (%) = (V NaOH x N NaOH) 3.1/ mpect**
Degré d'estérification (DE)	*Dissoudre dans 100 ml d'eau distillée un échantillon de 250mg pectine qui a été déjà humidifié avec 2 ml d'éthanol, *Titrer avec une solution de NaOH (0.5M) la solution de pectine avec 3 gouttes de phénolphtaléine, * enregistrer le volume de NaOH nécessaire à la neutralisation comme titre initial. *Ajouter 10 ml de NaOH (0.5M), et agiter vigoureusement le mélange et laisser reposer 15 min. *Ajouter à ce dernier mélange, 10 ml d'HCl (0.5M) puis agiter jusqu'à disparition de la couleur rose. *Ajouter de phénophtaléine au dernier mélange pour le titrer avec une solution NaOH (0.5M) jusqu'à l'apparition d'une couleur rose clair. *enregistrer le volume de NaOH nécessaire à la neutralisation comme titre initial.	**DE (%)= [Titre final /(Titre initial +titre final)] × 100**

III.7.Analyse par spectroscopie FTIR :

La spectroscopie infrarouge est l'une des méthodes efficaces et répandues qui permet l'identification des molécules organiques et inorganiques à partir de leurs propriétés vibrationnelles. Le plus souvent les analyses sont effectuées en transmissions**[54].**Certains groupements ou liaisons considérés comme des échantillons marqueurs et notamment les fonctions acides carboxyliques galacturoniques permettent d'indiquer la présence des molécules pectiques.

Dans notre travail les analyses FTIR ont été réalisées à l'aide d'un spectrophotomètre type tensor II (Bruker). L'échantillon à analyser (pectine en poudre) est déposé directement sur une petite cuve puis analyser. Les spectres d'absorption infrarouge ont été enregistrés dans la gamme de nombres d'onde comprise entre 400 et 4000 cm^{-1}, avec une résolution de 8 cm^{-1} et un nombre de scanne égale à 20.

III.8. Tests antibactériens :

L'évaluation de l'activité antimicrobienne des pectines extraites de la pulpe sèche des deux variétés *Muscade de Provence* et *Cucurbita.pepo* (citrouille) a été réalisée par la méthode de dilution dans un milieu liquide. Dans cette partie, nous avons testé une gram souche bactérienne à gram négatif *Escherichia coli*. Cette souche a été issue du laboratoire de l'établissement public de santé de proximité de Médéa.

III.8.1 Méthode de dilution en milieu liquide :

La méthode de dilution en milieu liquide consiste à préparer une série d'une même suspension contenant dans chaque tube avec même concentration et même volume:

- D'unmilieu de cultureliquide(Muller Hinton)
- De germes bactériennes,

Puis faire inoculer chaque tube de la série préparée par un même volume d'une gamme de concentrations de la substance à tester (solution de pectine).Par la mesure de la DO630 après incubationde chaque préparation en utilisant le spectrophotomètre UV,la croissance bactérienne à chaque concentration de pectine peut être révélée.

Des tubes témoins (ou de contrôle) de la croissance microbienne sont préparés pour la comparaison de la DO630 :

- Témoin positif (T(+)) : contient le milieu de culture et la suspension microbienne. Ce dernier doit indiquer la croissance des germes après incubation (augmentation de la DO630).

- Témoin négatif : représenté par deux tubes :

→ T1 (-) : contient le milieu de culture et la substance à tester.

→ T2 (-) : contient le milieu de culture seulement.

Une diminution de la DO630 par rapport à celle du témoin positif en fonction de l'augmentation de la concentration de la pectineindique un effet antimicrobien de cette dernière.

La réalisation du test de l'activité antibactérienne des pectines extraites a été effectuée en suivant les étapes suivantes :

- ☞ Préparer le milieu de culture (bouillon nutritif) ;
- ☞ Stériliser le matériels et le milieu de culture par autoclave ;
- ☞ Préparer quatre solutions de pectines de différentes concentrations par la méthode de dilution à partir d'une solution mère. Les concentrations sont indiquées sur le tableau III-4.
- ☞ Préparer la suspension bactérienne d'*Escherichia coli*. dans le bouillon nutritif ;
- ☞ Ajouter un volume approprié de la suspension microbienne aux différentes dilutions de pectine.
- ☞ Préparer les tubes des témoins positif et négatif.
- ☞ Incuber tous les tubes à 37 ℃ pendant 24h dans une étuve.
- ☞ Lire la DO_{630} de chaque tube des séries préparées ainsi que celles des témoins à l'aide d'un spectrophotomètre UV après incubation (figure III.6).

Tableau III-4 : gammes de concentrations des solutions de pectines testées pour l'activité antibactérienne contre *E. Coli*.

Solutions g/ml	Cucurbita.*moschata*				*Cucurbita.pepo*	
	Puissance 440W		Puissance1000 W		Puissance 270W	
	2min	5min	2min	5min	10min	15min
C1	2.8	1.2	3.6	15.4	24	18
C2	0.56	0.24	0.72	3.08	4.8	3.6
C3	0.112	0.048	0.144	0.616	0.96	0.72
C4	0.0224	0.0096	0.0288	0.1232	0.192	0.144



Figure III.6 :Sériedestubes des solutions testées inoculées par la suspension bactérienne après incubations prêtes à la lecture de la DO par spectrophotomètre UV.

Chapitre IV

Résultats et Discussions

IV.1. Teneur en eau de la matière végétale :

D'après les résultats représentés sur les figure IV.1 des mesures des teneurs en eau ; après séchage à l'air libre jusqu'à obtention d'un poids constant des différentes parties des fruits étudiées (pulpe *Cucurbitapepo* et *Cucurbitamoschata*, écorce d'orange et de citron); il révèle que :

La pulpe du *Cucurbitapepo* (Spaghetti) et *Cucurbitamoschata* (muscade de Provence) manifeste une richesse en eau où la présence de l'eau règne presque la totalité de la masse de la pulpe avec un contenu en eau estimé à un taux atteignant respectivement 85% et 75,5%. Ces valeurs sont plus faibles à celles trouvées par Kulczynski et autres **[55].** qui ont indiqué des teneurs en eau de 92% et 87% pour la variété de *Spaghetti* et de *Muscade de Provence* successivement.

La teneur en eau des fruits et légumes varie de 66 à 96% et varie même pour une même variété en fonction de la localité et d'autres facteurs environnementaux **[56].**

Les écorces du fruit de citron sont plus riches en eau que celle d'Orange où la présence de l'eau recouvre 78,5% et 65,5% des écorces du fruit de Citron et d'Orange respectivement.

ont rapporté que la teneur en eau de l'albédo d'orange frais était de 72,6%.

L'eau considérée comme un composé de base, constitue la majorité de la masse des fruits *Cucurbita pepo, Cucurbita moschata,* Citron et Orange. Son existence joue un rôle très important car elle influence la structure, l'apparence, le gout des aliments et leur susceptibilité à la dégradation **[57].**

Les résultats trouvés sont comparables par rapport à ceux trouvé par Polèse**,** d'autres travaux ont montré que la pulpe c'est la partie du fruit qui peut emmagasiner une importante quantité d'eau où les teneurs en eau de la pulpe du *Cucurbita pepo* peuventvarier de 75.8% à 91.33% **[58],[59].**

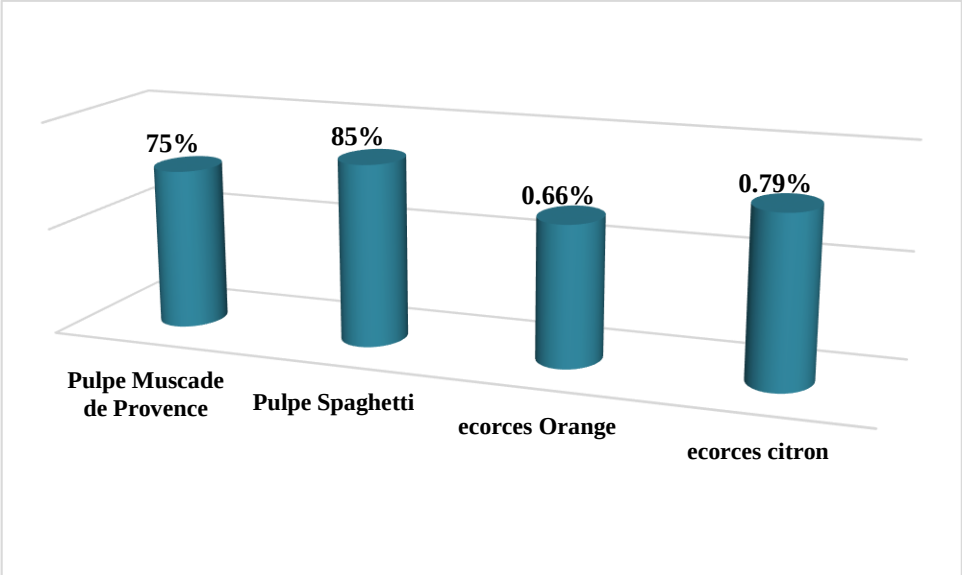


Figure IV.1 : Représentation des résultats de la teneur en eau dans la matière végétale.

IV.2.Extraction des substances pectiques :

IV.2.1. Aspect des substances pectiques :

D'après les résultats de la visualisation des couleurs des pectines extraites, il paraît qu'il existe une variabilité de couleur suite à la contribution de la différence des couleurs des sources végétales utilisées. Cette différence de couleur peut même exister entre les différentes parties de la même source végétale.

- Les pectines issues de la pulpe de (*Cucurbita moschata* et *Cucurbita pepo*) ont une couleur qui tend vers beige ambré clair cette couleur est beaucoup plus clair quand il s'agit de la pectine de la variété Spaghetti (Figure IV.2).
- Les pectines issues des écorces du fruit de Muscade de Provence tend vers le brun sombre, tandis qu'une couleur claire qui tend vers l'ambre jaune pour des pectines extraites à partir des écorces du fruit de *Spaghetti*.
- Les pectines des écorces du citron sont d'une couleur de blanc cassé qui tend vers un beige très clair qui diffère de celle obtenue des écorces d'orange qui ont révélé une couleur jaune paille verdâtre.
- Le balayage des sources végétales de pectine ainsi que les méthodes d'extraction ont une influence sur l'aspect des pectines extraites. Ceci a été reporté pour les marcs de pomme dans une étude de Dranca et autres **[60].** Les colorants trouvés dans les poudres de pectine appartiennent au groupe des pigments et des substances phénoliques qui peuvent avoir une capacité antioxydant adéquate, ce qui est

extrêmement bénéfique pour la santé humaine. Les pectines peuvent être facilement extraites et utilisées avec succès comme colorants ou antioxydants naturels**[61]**.



Figure IV.2 : pectines extraites des : (a) pulpe de Muscade de provence, (b) écorces Muscade de provence, (c) pulpe de Spaghetti, (d) écorces de Spaghetti, (e) écorces de citron, (f) écorces d'orange.

IV.2.2. Rendement des pectines :

Les quantités des substances pectiques extraites aux différentes conditions opératoires sont exprimées en rendements et récapitulées sur le tableau IV-1

TableauIV-1 : Les rendements des pectines extraites des différentes parties de différentes biomasses par hydrolyse par l'eau à chaud utilisant un chauffage par micro-onde.

Matière végétale	Puissance (W)	Partie de la matière végétale utilisée	Durée d'extraction (mn)	Rapport Matière végétale/eau (m/v)	Rendement (%)
***Cucurbita. pepo* (Spaghetti)**	440	Ecorces sèches	2	1/10	0.80%
	440	Pulpe sèche	2 5 7	1/10	0.9% 2% 1.06%
	1000		2 5 7		1% 1.7% 2.6%
Cucurbita. Moschata (muscade de Provence)	440	Ecorces sèches	2 5 7	1/20	2.8% 2.10% 1.80%
	440	Pulpe sèche	2 5	1/10 1/10	1.4% 3%
	1000		2 5	1/10 1/10	1.8% 7.7%
	440		2 5 7	1/20	3% 3.40% 4.20%
	1000		2 5 7		2% 3.7% 2%
Citron	**440**	Ecorces sèches	5 7	1/10	1.20% 2%
	1000		5 7		1.1% 1%
Orange	**440**	Ecorces sèches	5 7	1/10	1.70% 2.70%
	1000		5 7		3% 2.4%

A l'issu de ces résultats, il est permis de noter que :

- Les rendements en pectines extraites par l'eau à chaud utilisant le chauffage assisté par micro-ondes à partir des différentes parties (pulpe et écorces) du fruit de *Muscade de Provence*séchées à l'air libre varient de 0,8 % à 7,7% et de 1,8% à 2,8% respectivement.
- Ceux obtenus pour le fruit de Spaghetti varient de 0,9% à 2,6% pour la pulpe et n'excède pas un rendement de 0,8% pour les écorces du même fruit.
- Ces valeurs s'écartent faiblement de celles trouvées par Torkova AA et autres **[62]** .qui ont enregistré pour la pulpe du *Cucurbita pepo* un rendement maximal de 10% en utilisant une méthode d'extraction innovante de cavitation facilitée. Le rendement en pectine par les méthodes classiques utilisant l'hydrolyse par acide à chaud peut varier de 5-7% d'après ce qui a été décrit par Kosïtïaâlovaâ. Z**[63**].Ce même auteur a rapporté un rendement de 3.1- 7.4% en utilisant une extraction assistée par micro-onde **[63**].Ces rendements s'avoisinent de ceux rapportés par Ramanchandran et al **[64].** qui a enregistré pour la courge musquée un rendement maximal de 6.32% en utilisant l'eau sous pression. Ce même auteur en 2020**[65]**a rapporté un rendement de 5.33% en utilisant l'eau à chaud. Par hydrolyse acide à chaud. José RR de Souza et autres **[66].** ont pu extraire 6.9% de pectine à partir de la pulpe de *Cucurbita moschata.*
- Les valeurs trouvées sont voisines à celles rapportées par Torkova A.A et al**[67]** . qui ont enregistré; en utilisant l'extraction par micro-ondes ; un rendement allant de 0,9% à 2,6%, pour la pulpe du *Cucurbita pepo (sphaghité).*
- Pour l'utilisation de l'eau comme solvant **[68].** plusieurs travaux ont témoigné que les conditions opératoires comme le temps d'extraction, le mode de chauffage et sa puissance, la partie de plante, la teneur en eau de la matière végétale contribuent largement à la quantité de pectine extraite.
- Le meilleur rendement avoisinant 7.7% est celui obtenu après 5minutes d'extraction par micro-onde en utilisant un rapport masse végétale/eau égal à 1/10 et une puissance 1000 W.
- Par l'extraction des pectines à l'eau à chaud assistée par micro-onde, les rendements en pectines extraites des différentes parties séchées à l'air libre (écorces de citron, écorces d'orange) varient respectivement de 1 % à 2 % et 1.7 % à 3 %. A travers la littérature on enregistre des rendements plus supérieures en pectine qui différent avec

le mode d'extraction : utilisant l'acide HCl chaud des rendements en pectines de 12.1%-18.4% pour les peaux d'Orange provenant d'Espagne et prétraités avec D.I.C (Détente Instantanée Contrôlée) **[69].** et 16.1% avec l'acide H_2SO_4 **[70].** Quant aux écorces de Citron, les résultats d'autres travaux de la littérature mentionnent des rendements de 25.6% et 10.89% lorsque l'hydrolyse est effectuée par un acide minéral HCl et par un acide organique acide citrique respectivement **[71].** D'après les études de Zouambia Ivan , Marin et Wangainsi que Liu et Kratchanova les écorces d'oranges peuvent être classés parmi les biomasses les plus riches en pectine avec des teneurs variant de 0.22 à 23.02 % **.[72].**

- La technique de chauffage par les micro-ondes augmente les caractéristiques capillaires-poreuses et la capacité d'absorption d'eau du matériel végétal. Ces changements permettent d'améliorer le rendement d'extraction de composants ciblés à partir du matériel végétal. Plusieurs chercheurs ont utilisé cette méthode par exemple Maran et autres qui ont appliqué le chauffage par micro-ondes pour l'extraction adoptant l'hydrolyse acidede la pectine à partir des peaux séchées oranges, ils ont obtenu un rendement maximalen pectine de 19,24%. Tandis qu'une autre étude de Hosseini et autres qui ont utilisé la même technique pour extraire la pectine de la peau d'orange amère, le rendement le plus élevé en pectine atteignait les 29.1% à un pH de 1,50, une puissance micro-ondes de 700 W et une durée d'irradiation de 3 min **[73].**

Les différentes conditions opératoires ont impacté la quantité et la qualité de la pectine extraite des matières végétales pulpe et écorces de *Cucurbita pepo (Spaghetti)* et de *Cucurbita moschata (Muscade de Provence)*, écorces d'orange et de citron. La discussion decet impact est exposé dans la partie qui suit.

IV.2.2. 1-Influence de la durée d'extraction sur le rendement en pectines :

Les résultats des rendements enregistrés ont indiqué l'existence de l'impact de temps sur le rendement pour les différentes sources végétales utilisées dans le cas du chauffage par micro-ondes(figure IV.3)

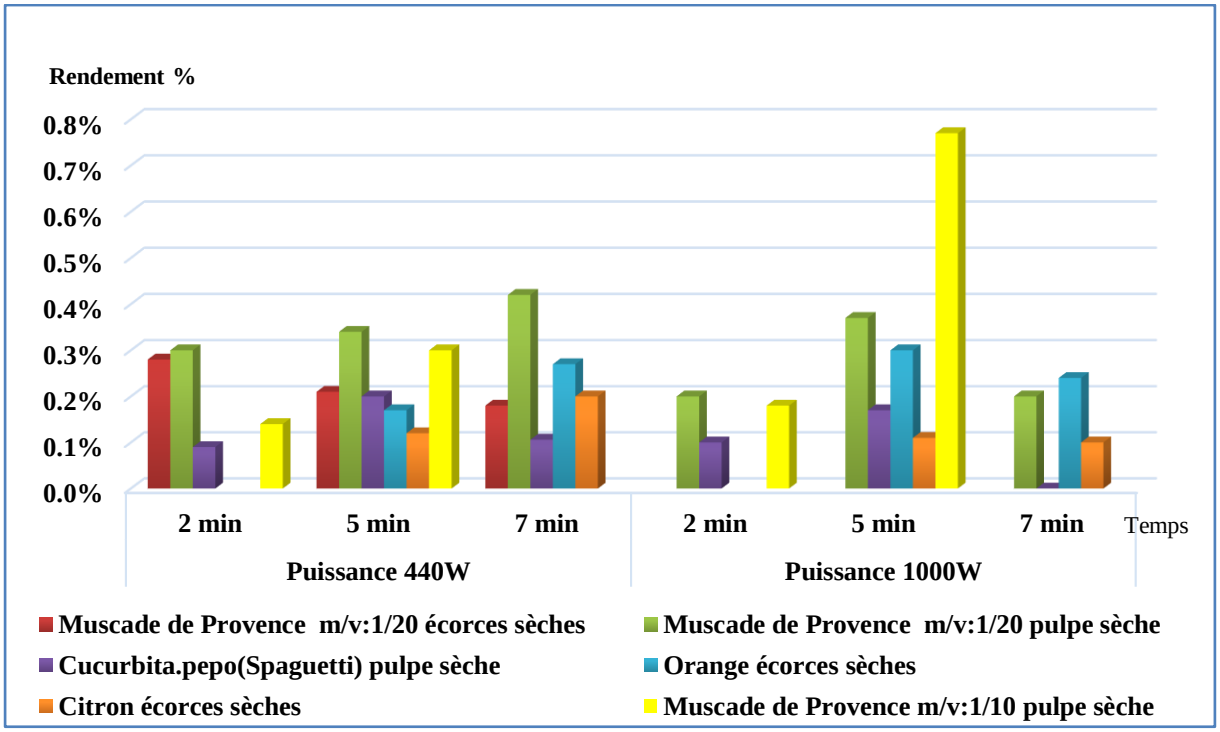


Figure IV.3 : Influence de la durée d'extraction sur le rendement de pectine extraite par hydrolyse à l'eau à chaud utilisant un chauffage assisté par micro-ondes.

Il est à remarquer que l'effet du temps sur le rendement en pectine manifeste plusieurs allures de variations qui est différente avec le type de la biomasse, la puissance et la partie de la plante végétale utilisée :

- En examinant les histogrammes de la figure V.3, l'influence du temps d'extraction sur le rendement des pectines est très significative pour la pulpe de la Muscade de Provenceoule rendement en pectine augmente avec une prolongation du temps d'extraction. Ceci est clair à travers l'augmentation du rendement de 1.8% à 7.7% pour une prolongation de la durée d'irradiation de 2 jusqu'à 5minutes. Par contre la variation du rendement avec le temps d'extraction n'est que modérée pour la pulpe de *Spaghetti*, les écorces de citron et d'orange. L'effet favorable du temps favorise les contacts prolongés avec les particules du solvant engendrant ainsi une solubilisation importante de la pectine dans l'eau.

  Néanmoins, d'après la littérature, une durée plus longue expose le tissu végétal plus longtemps à la chaleur ce qui provoque la dégradation thermique de la pectine. Cette dégradation thermique de pectine a été décelée dans les travaux de Ramanchandran et autres **[74].** Il a été remarqué qu'une forte diminution de rendement en pectine apparait en prolongeant le temps d'extraction, la même remarque a été relevée par Chandel et autres [**75**]. Nos résultats ont fait révéler la présence du même phénomène pour la pulpe sèche de

Spaghettià 440W ainsi que celle de Muscade de Provence et les écorces d'orange à 1000W.

- Par rapport à la différence de la puissance, le balayage dans l'intervalle du temps [2-5mn] fait toujours augmenter le rendement en pectine de la pulpe sèche de Spaghettiquel que soit la puissance utilisée. Tandis que l'exposition des peaux de citron et celles d'orange respectivement dans l'intervalle [5-7mn] fait croitre légèrement le rendement de 1.2% à 2% et de 1.7% à 2.7% à la puissance 440W. A la puissance 1000 W, l'effet du temps est très négligeable car pour un prolongement de temps le rendement passe de 1.1% à 1% et de 3% à 2.4% successivement.
- En ce qui concerne la différence de la partie du fruit utilisée, il est à noter que l'effet de temps est défavorable sur le rendement en pectine extraite des écorces de la Muscade de Provence, par contre il est favorable pour le rendement en pectines extraites de sa pulpe.

IV.2.2. 2 Influence de la source végétale utilisée sur le rendement en pectine:

A la lumière des résultats présentés sur la figure IV.4, il ressort que :

- Le balayage des sources végétales utilisées pour l'extraction utilisant l'eau à chaud assisté par les micro-ondes fait naître une variabilité en quantité de pectines récupérées.
- De la pulpe sèche de la Muscade de Provence, on récupère dans l'intervalle du temps [2-5 min] plus de pectine que de celle de Spaghetti avec des rendements atteignant respectivement [1.8%- 7.7%] et [1%-1.7%]. Plusieurs travaux témoignent ces fluctuations de rendement en pectines extraites de variétés distinctes de la même espèce **[76].**

- La quantité des pectines extraites des écorces d'orange est légèrement plus importante que celle issue des écorces de Citron dans l'intervalle du temps [5-7min] car elle avoisine (1.7%-2.7%) pour les écorces d'orange contre (1.2%-2%) pour les écorces de citron. Des travaux dans la littérature rapportent qu'avec l'extraction pendant 3 min par hydrolyse utilisant l'acide citrique et un chauffage assisté par micro-ondes avec une puissance de 700W, les pectines issues des écorces de citron présentent une infériorité par rapport à celles issues des écorces d'orange, avec des rendement de 25.31% et 28.8% successivement et qui présentent une nette supériorité par rapport à nos résultats**[77]** .Cette différence en quantité de pectine d'une source à l'autre peut probablement être attribuée à :
  - ☞ La différence des contenus des pectines biosynthétisées par les différentes variétés des sources végétales même appartenant à la même espèce.

☞ La différence des microstructures des tissus végétaux logeant les protopectines qui leur engendre des conditions d'hydrolyse (solubilisation), diffusion et transfert vers le milieu extérieur différentes étant donné que selon **[78]** le rayonnement micro-ondes a un impact sur la matrice de la paroi cellulaire et entraîne la rupture des cellules parenchymateuses, ce qui entraîne une ouverture importante des tissus végétales.

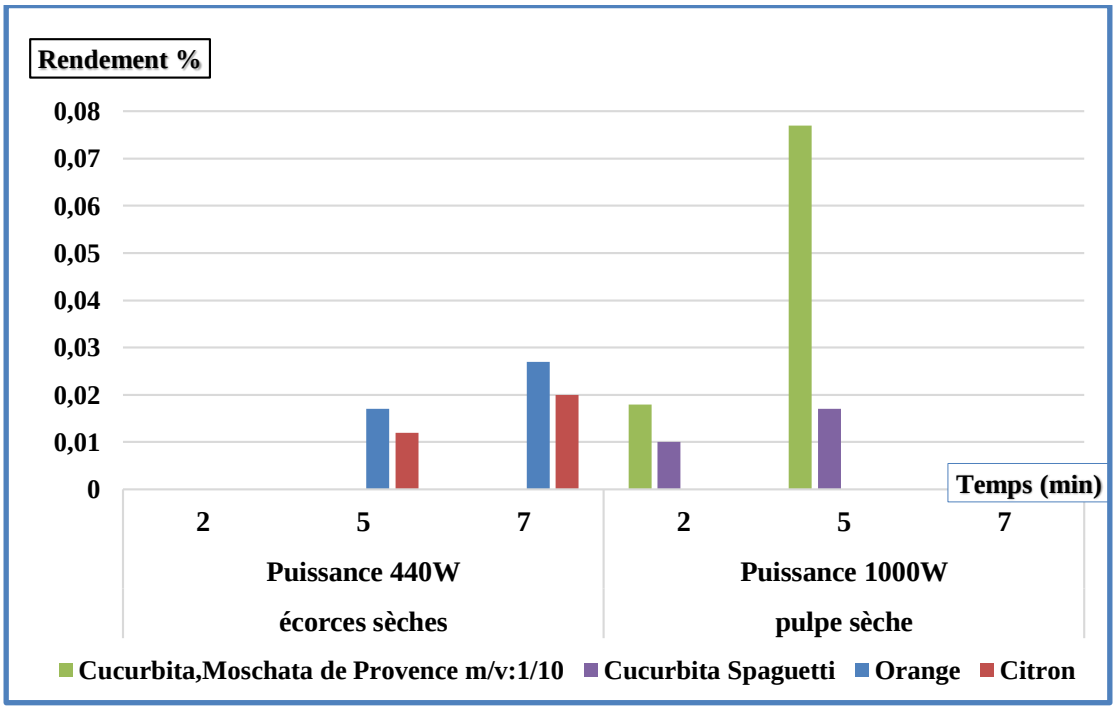


Figure IV.4 : Influence de la source végétale utilisée sur le rendement de pectine extraite par hydrolyse à l'eau à chaud utilisant un chauffage assisté par micro-ondes.

IV.2.1. 3- Influence de la partie du fruit sur le rendement :

Sur la figure IV.5 représentant les résultats qui traduisent l'effet de la partie du fruit utilisée sur le rendement, il est important de constater que:

- Les pectines issues des écorces diffèrent en quantité de celles issues de la pulpe avec une supériorité manifestée par les pulpes des deux variétés *Muscade de Provence* et *Spaghetti.*
- La supériorité est un peu plus prononcée quand la matière végétale (*Muscade de Provence*) est irradiée par les micro-ondes pendant des durées de 5 à 7min (2.1%-1.8% pour les écorces et 3%-4.2% pour la pulpe). Pour un temps de 2 min les quantités à partir des écorces et des pulpes pour les deux variétés sont très voisines (2.8% et 3%

pour les écorces et la pulpe de *Muscade de Provence* respectivement) et (0.8%et 0.9% pour les écorces et la pulpe de *Spaghetti* successivement).Ce qui peut être témoin des interactions entre les effets de la non uniformité de la localisation des pectines dans le tissu végétal de ces fruits et decelui du temps d'extraction où le rendement.

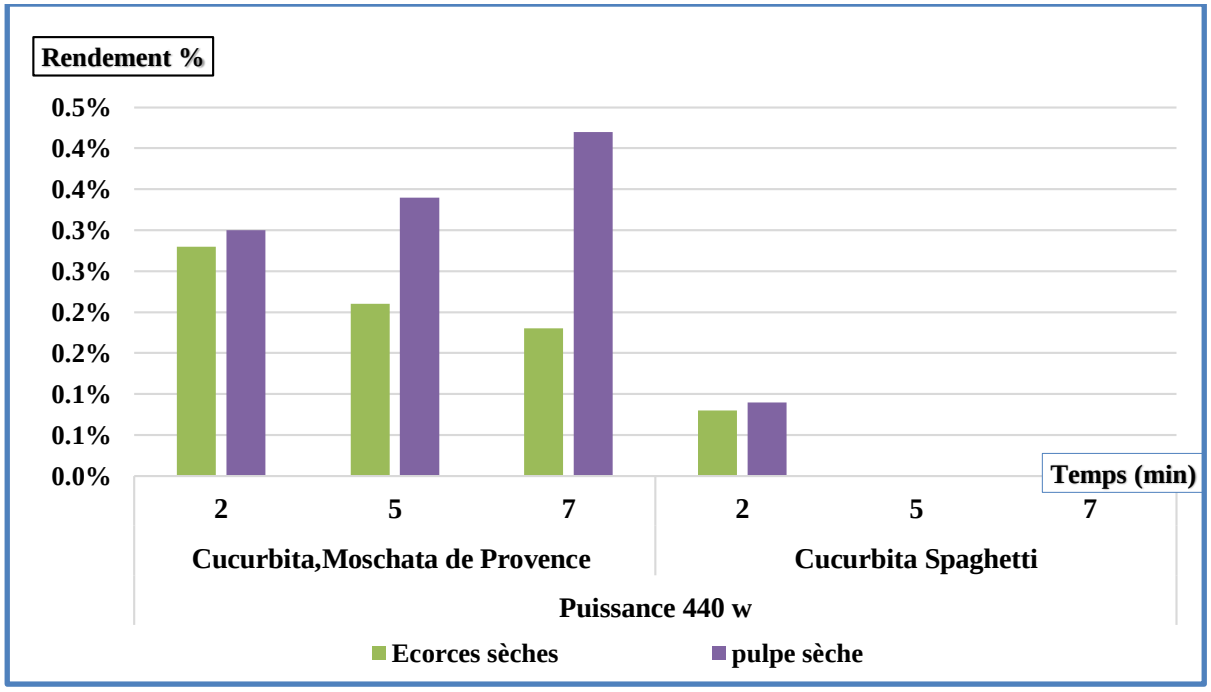


Figure IV.5 : Effet de la partie de la plante sur le Rendement en pectineextraite par hydrolyse à l'eau à chaud utilisant un chauffage assisté par micro-ondes.

IV.2.2. 4- Influence de la puissance desmicro-ondes sur le rendement en pectine :

L'impact de la puissance sur le rendement comme montré sur la figure IV.6 ne suit pas une monotonie et il est modéré pour toutes les sources végétales étudiées à l'exception de la variété *Muscade de Provence*. L'évolution du rendement avec une augmentation du temps peut différer avec la variabilité de la source végétale et la durée d'extraction ainsi que celle du rapport solide /liquide (m/v).

Il paraît que dans l'intervalle [2-5min] le rendement en pectines extraites avec m/v de 1/10 de la pulpe sèche de la *Muscade de provence* peut corréler positivement avec une augmentation de la puissance car une puissance forte(1000W) peut donner le meilleur rendement après

5minutes d'extraction et qui peut atteindre 7.7%. Néanmoins cet effet s'inverse à un m/v de 1/20, avec plus de puissance le rendement chute pour les durées de 2 et 7minutes.

Pour les peaux des agrumes (citron et orange), l'impact de la puissance dans le cas des oranges porte sur celui du citron qui est très faiblement marqué en passant vers les plus fortes puissances par une légère décroissance en rendement. Pour une durée de 5minutes on peut extraire plus de pectines à partir des écorces d'orange à une forte puissance (1000W), tandis que pour un temps prolongé à 7minutes il serait préférable de travailler à des faible puissances (440W).

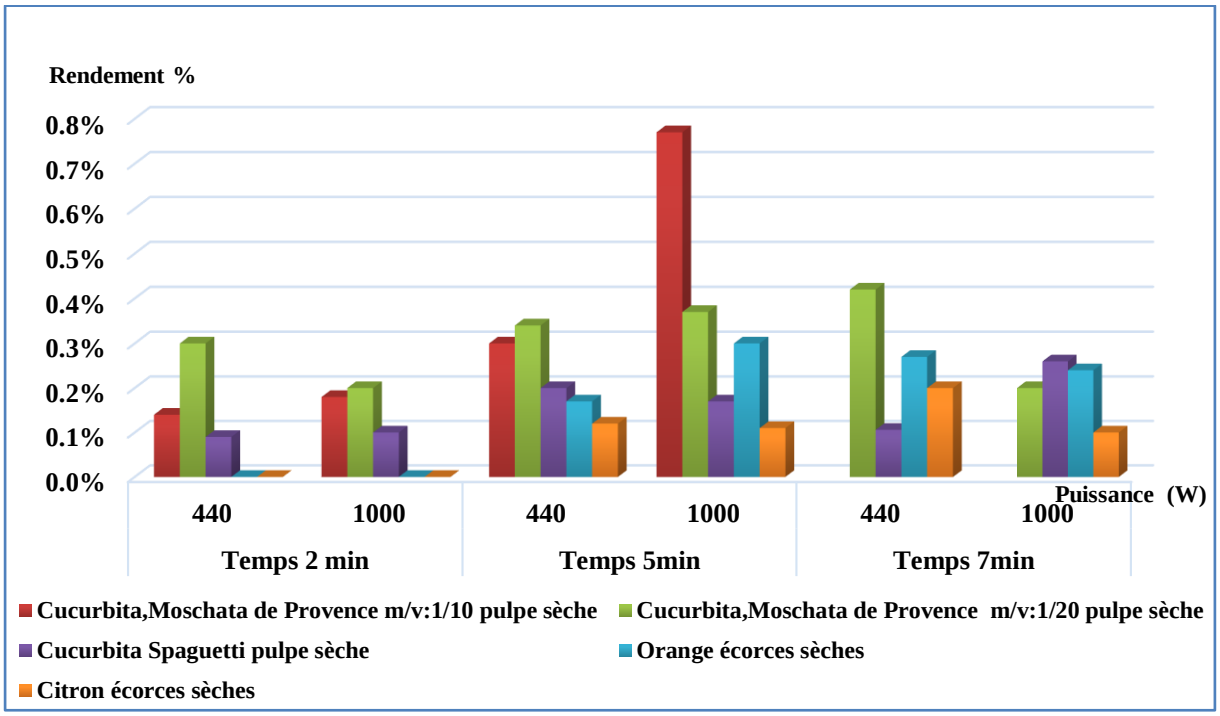


Figure IV.6 : Effet de la partie de la puissance d'irradiation par micro-ondes en pectine extraite par hydrolyse à l'eau à chaud utilisant un chauffage assisté par micro-ondes.

L'augmentation de l'énergie de l'irradiation par micro-ondes peut améliorer la pénétration dusolvant dans la matrice végétale et le délivrer efficacement aux matériaux grâce à l'interaction moléculaire avec le champ électromagnétique et offrir un transfert rapide d'énergie au solvant et la matrice, permettant la dissolution des composants à extraire. En outre, les micro-ondes peuvent accélérer la rupture des cellules par une augmentation de la pression interne à l'intérieur des cellules de l'échantillon végétal et une augmentation soudaine de la température, ce qui favorise la destruction de la surface de l'échantillon et, à son tour, l'exsudation de la pectine des cellules végétales dans le solvant **[79].**

Néanmoins,la non monotonie de l'impact observée à partir de nos résultats peut permettre suggérer que la libération de la pectine à cause de la forte puissance qui peut générer une forte chaleur dans le tissu végétal ne compense pas la dégradation thermique de la pectine qui est dû à l'exposition de ce tissu végétal aux fortes puissance.

IV.2.2. 5- Influence du rapport solide/liquide m/v sur le rendement en pectine :

Les résultats représentés sur la figure IV.7 traduisant la variation du rendement en pectine avec l'effet du rapport m/v sur le rendement en pectine extraite à partir de la Muscade de Provence par hydrolyse à l'eau à chaud utilisant un chauffage assisté par micro-ondes.

A la lumière de ces résultats, il est à noter que l'augmentation du rendement en pectines des deux parties du fruit de Muscade de Provence peut corréler positivement avec le passage du rapport m/v de 1/10 à 1/20.

D'après la littérature, le rapport solide/liquide est généralement maintenu entre 1:10 et 1:50 pour l'extraction de la pectine. Lorsque ce rapport est inférieur à 1:10, les rendements en pectine sont faibles car la quantité de solvant n'est pas suffisante pour dissoudre et extraire la pectine.Une augmentation dans le rapport solide-liquide implique des augmentations des rendements en pectine suite à l'augmentation de la capacité de dissolution **[80].**

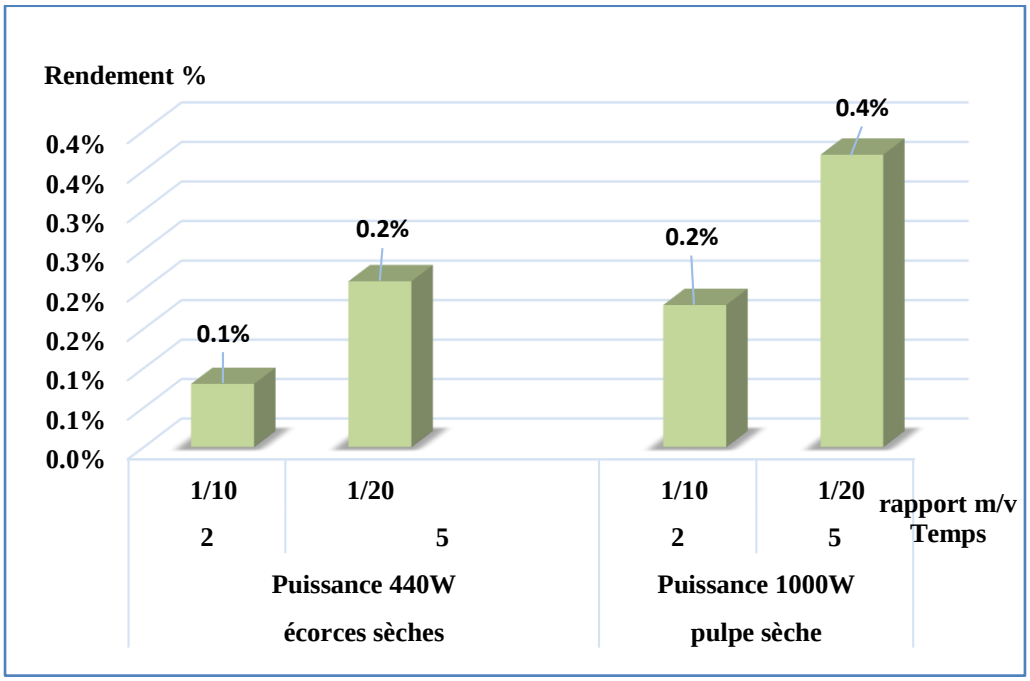


Figure IV.7 : Effet du rapport m/v sur le Rendement en pectine extraite de la *Muscade de Provence* par hydrolyse à l'eau à chaud utilisant un chauffage assisté par micro-ondes.

IV.2.3. Caractérisation physico-chimique des pectines extraites :

La caractérisation physico-chimique des pectines extraites en utilisant l'hydrolyse par l'eau à chaud assisté par micro-ondes a concerné quatre propriétés physico-chimiques qui ont prouvé à travers la littérature un impact d'un poids important sur la variabilité de la fonctionnalité des pectines. Elles sont principalement influencées par la structure de la pectine. Nous avons exposé dans cette partie l'effet des différentes conditions opératoires (puissance, durée d'irradiation, le rapport m/v, le type de biomasse source de pectine, partie de la biomasse utilisée) sur le:

- Degré d'estérification.
- Taux des groupements Méthoxyle (MeO%).
- Poids équivalent (Peq).
- Masse molaire moyenne viscosimétrique.

L'examen de toutes les valeurs obtenues a permis de déceler des variations avec un ordre d'importance différent de ces propriétés en fonction de la durée d'extraction, la puissance des micro-ondes, du rapport m/v ainsi que le type et la partie des biomasses utilisées.

Le plus haut poids équivalent d'un ordre de 712.5 kDa est obtenu à un temps d'extraction de 5mn correspondant à la pectine extraite par une puissance d'irradiation de 440W par micro-onde de la pulpe des écorces sèches d'oranges .Les poids équivalents de ces dernières semblent être les plus affectés par le temps, en revanche, celui le plus faible est 23 fois moins de celui des écorces d'orange d'un ordre de 30 kDa pour les pectines extraites des écorces de citron après 2minutes d'extraction à 440W (figure IV.8).

Le temps d'extraction au bout duquel on peut produire une pectine d'un haut poids équivalent diffère pour chaque type de biomasse végétale :

- 7 mn pour les écorces et la pulpe de la Muscade de Provence (440W) d'un ordre de 120 kDa et 175 kDa respectivement.
- 5mn pour la pulpe de la Muscade de Provence (1000W) d'un ordre de 96.7 kDa.
- 5 mn pour la pulpe de Spaghetti (440W) d'un ordre de 150kDa, ainsi que pour les écorces d'orange et celles de citron (1000W) avec des poids équivalents de l'ordre de 712.5 kDa et 200 kDa successivement.

Tandis que le plus faible poids équivalent est obtenu pour un temps de:

- **2mn pour :**
  - Les écorces de la Muscade de Provence (440W) d'un ordre de 60 kDa qui représente la moitié de son poids à 7 mn.

- ☞ La pulpe de la Muscade de Provence (440W et m/v de 1/10) 96 kDa.
- ☞ La pulpe de Spaghetti (440W) 30 kDa

❖ **5mn pour :**

- ☞ La pulpe de la Muscade de Provence (440W et m/v de 1/20) 96 kDa.
- ☞ Les écorces d'orange et celles de citron (1000W) avec des poids équivalents de l'ordre de 200 kDa et 90kDa successivement.

Ces résultats indiquent l'existence des fluctuations des poids équivalents des pectines extraites dues à la variation de la durée d'extraction et par conséquent elles traduisent une variabilité de leurs structures. Ces fluctuations en poids équivalents ont été indiqué par un large nombre de travaux **[81].** Ramachadran et autres donne des poids équivalents entre 854- 616 mg/mole et ont enregistré des valeurs entre 783 et 1044 mg/mol pour la pectine de citron.

L'extraction par micro-onde est parmi les méthodes innovantes qui ont la particularité de conserver la pectine dans son degré de polymérisation natif **[82].**

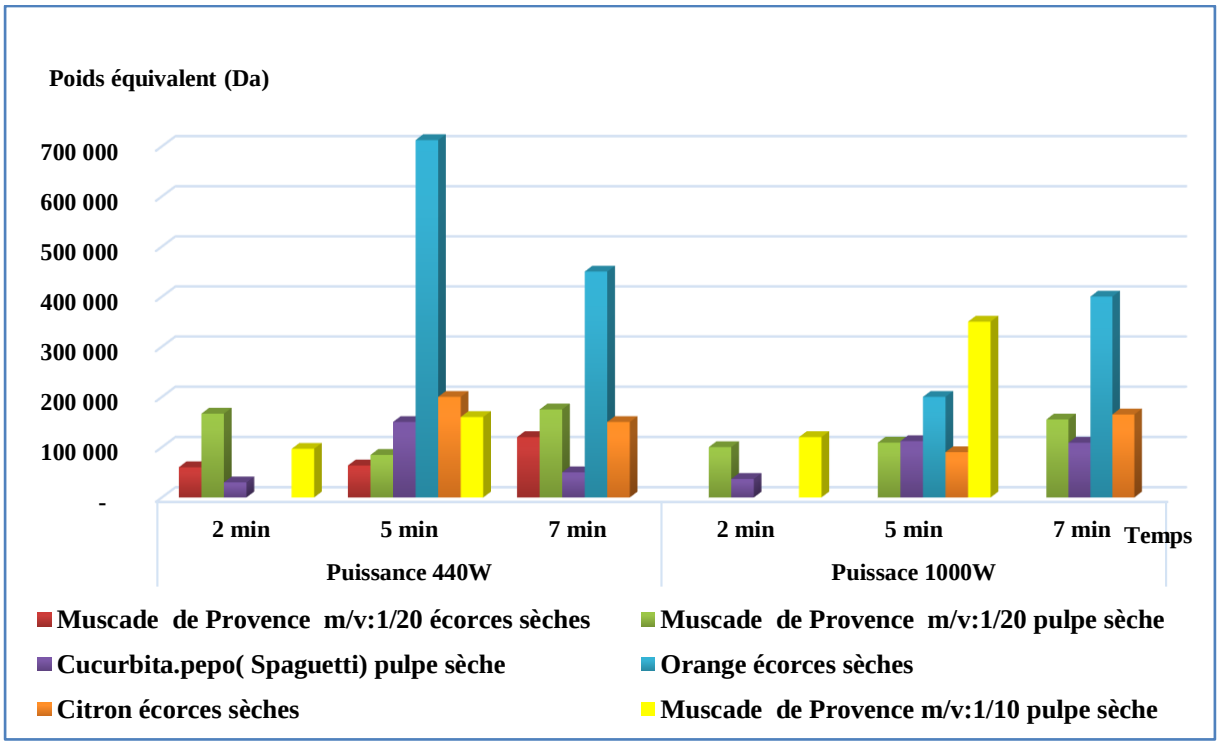


Figure IV.8 : Effet de la durée d'extraction par micro-onde sur le poids équivalent des pectines.

Le degré d'estérification des pectines extraites (figure IV.9) permet de classer toutes les pectines extraites à partir des sources végétales étudiées comme pectines hautement méthylées avec un DE allant de 50% jusqu'au 94%. Cette observation n'a pas été corroborée par des études antérieures qui concluaient à la constatation que des conditions d'extraction puissantes comme une extraction prolongée, pourraient mener à une d'estérification accrue de la chaîne polygalacturonique**[83].**

Le temps d'extraction de 2 minutes correspond au plus haut DE pour la pectine des pulpes sèches de *Muscade de Provence*(1000W, 1/20*)*, par contre le plus faible DEa été rencontré à 5minutes pour les écorces de citron.

Le plus général dans notre travail, une prolongation de temps de micro-ondes fait croitre le DE des pectines sauf pour :

- Les écorces de *Muscade de Provence* (440W et m/v : 1/10).
- Les écorces d'orange (1000W et m/v :1/10).
- La pulpe de *Muscade de Provence* (1000W et m/v : 1/20).

Plusieurs auteurs reportent que l'extraction par micro-onde engendre des pectines hautement méthylées en comparaison avec celles extraites par les méthodes conventionnelles **[84].**
Le DE de la pectine extraite dépend généralement de la source, de la méthode d'extraction et des conditions de séchage et les fruits possèdent généralement possèdent un degré d'estérification plus élevé dans leur structure de pectine.
Selon les résultats rapportés, la DE de pectine provenant de sources potentielles varie de 70 à 95 (Citrus *medica* , marc de pêche, écorce de citron vert, écorce de fruit du dragon ,déchets de tomate, kiwi, citrouille, écorce de papaye et écorce de pomelo) ; 50 à 70 % (écorce de fruit de la passion,peau d'aubergine, déchets de noix, peau de pamplemousse, écorce de pastèque, gombo, peau de banane, peau de kaki, coque de soja, écorce de grenade et écorce de jacquier). **[85].**

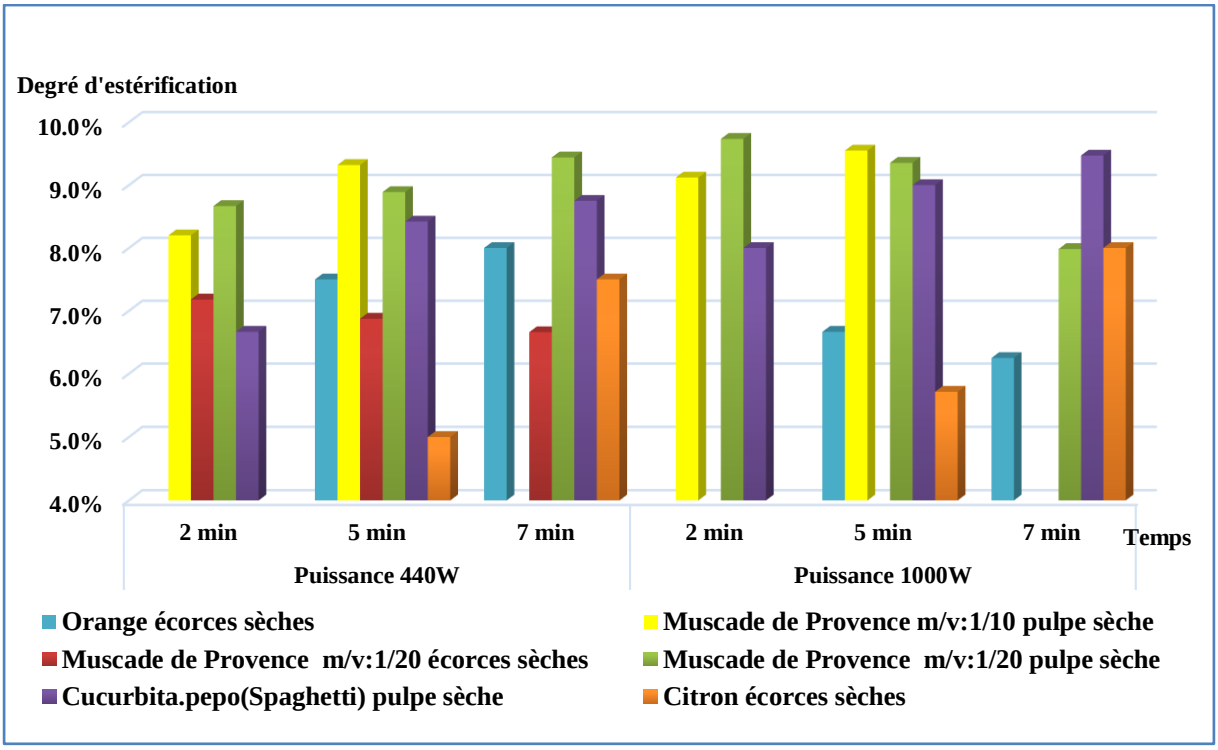


Figure IV.9 : Effet de la durée d'extraction par micro-onde sur le DE des pectines extraites.

Le taux en groupements Méthoxyl MeO % des pectines extraites trouvé dans les différentes conditions opératoires par un chauffage assisté par micro-onde sont présentées sur la figure (IV.10).

Dans l'intervalle [2-7min] les taux de MeO % de toutes les pectines extraites de [4%-17.8%]. Le plus faible s'attribue à la pectine de la pulpe sèche de la *Muscade de Provence* (2min, 440W, 1/20), tandis que le plus haut taux de MeO % correspond à la pectine des écorces sèches de citron. En général, les pectines à faible MeO % forment un gel thermo-irréversible, ce qui signifie qu'il restera gélifié même lorsqu'il sera chauffé à des températures qui le feraient normalement fondre **[86].**

En examinant l'évolution du taux de MeO %, Il est à constater que ce taux est impacté par les conditions opératoires, il peut atteindre son maximum à :

- 2 min pour la pulpe sèche de la Muscade de Provence (1000W, 1/10) et pour ses écorces sèches (440W, 1/20).
- 5 min pour la pulpe sèche de la Muscade de Provence (440W, 1/20).
- 7min pour les écorces sèches du citron et d'orange (1000W, 1/10) ainsi que pour la pulpe du Spaghetti (440W, 1/10).

Bien que le DE et le MeO % soient basés sur le même titrage, le calcul du DE indique le rapport des groupes acides estérifiés par rapport aux groupes acides non estérifiés indépendamment de la pureté en HG de l'échantillon. Une diminution du rendement en HG (si DE est constant) n'affecterait donc que le MeO %.

Hua et autres ont rapporté que la viscosité apparente de la pectine provenant du chauffage par micro-ondes était supérieure à celle provenant du chauffage conventionnel. Cela pourrait s'expliquer par la différence de la teneur en groupements Méthoxyl et la méthode de chauffage. Une teneur élevée en Méthoxyl signifie un petit nombre de molécules et une plus grande distance entre les molécules, ce qui entraîne une faible viscosité de la pectine extraite par chauffage conventionnel **[87].**

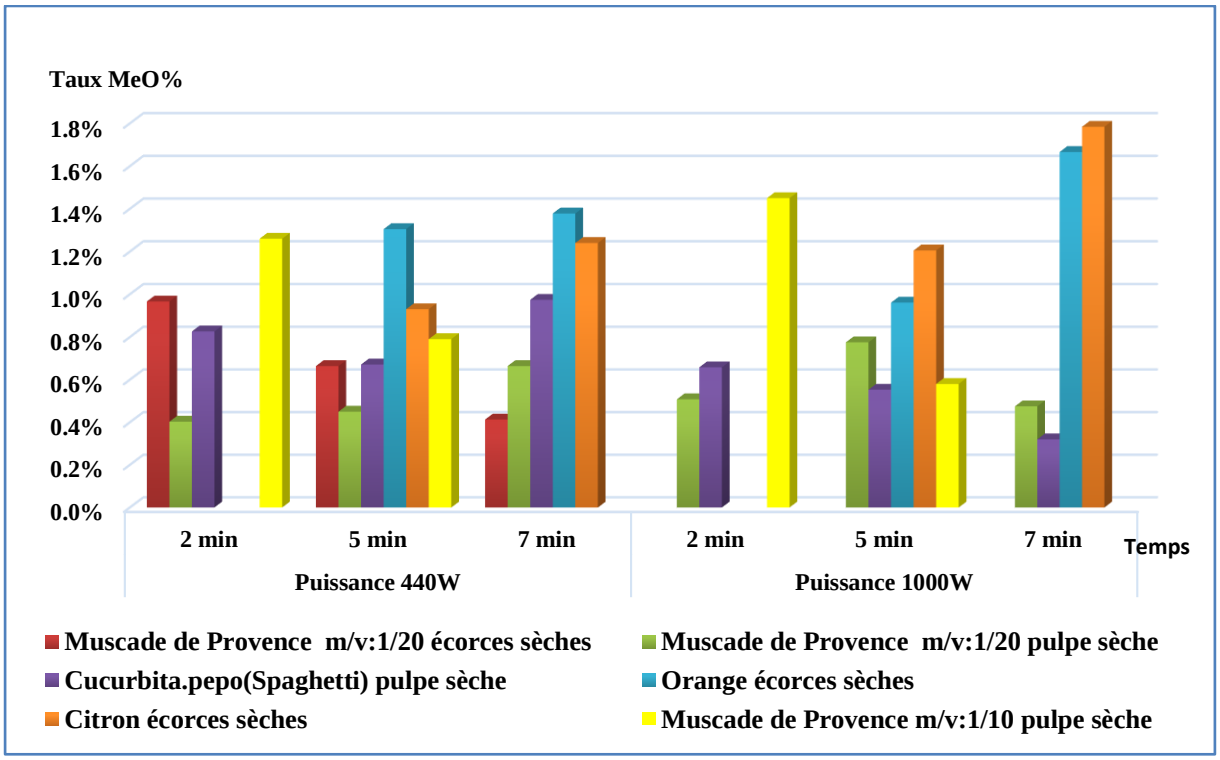


Figure IV.10 : Effet de la durée d'extraction par micro-onde sur le taux MeO % des pectines extraites.

A la lumière des résultats organisés sur les histogrammes des figures IV.11, IV.12 et IV.13, il est à noter que le passage d'une puissance faible à celle forte engendre une

ampleur variable d'influence, elle est plus prononcée pour les propriétés physico-chimiques suivantes:

- **Le poids équivalent** pour une période d'irradiation de la matière végétale par micro-ondes de:
  - 5min et un rapport m/v de (1/10) pour la pulpe sèche de la *Muscade de Provence* ainsi que les écorces d'orange et de citron.
  - 7min pour la pulpe sèche de *Spaghetti* et un rapport m/v de 1/10.
  - 2min et un rapport m/v de (1/20) pour la pulpe sèche de la *Muscade de Provence.*

- **Le taux de MeO%** pour une durée d'exposition aux radiations micro-ondes de 7minutes.

- **La masse molaire moyenne viscosimétrique** pour laquelle la variation est modérée et s'étend de 60,845kDa à 76,026kDa. Cette propriété est moins sensible à la puissance avec un écart très clair pour une période d'irradiation de :
  - 7min et un rapport m/v de 1/10 pour les écorces sèche de citron et d'orange ainsi que la pulpe de *Spaghetti*.
  - 2min et un rapport m/v de (1/20) la pulpe sèche de la *Muscade de Provence*

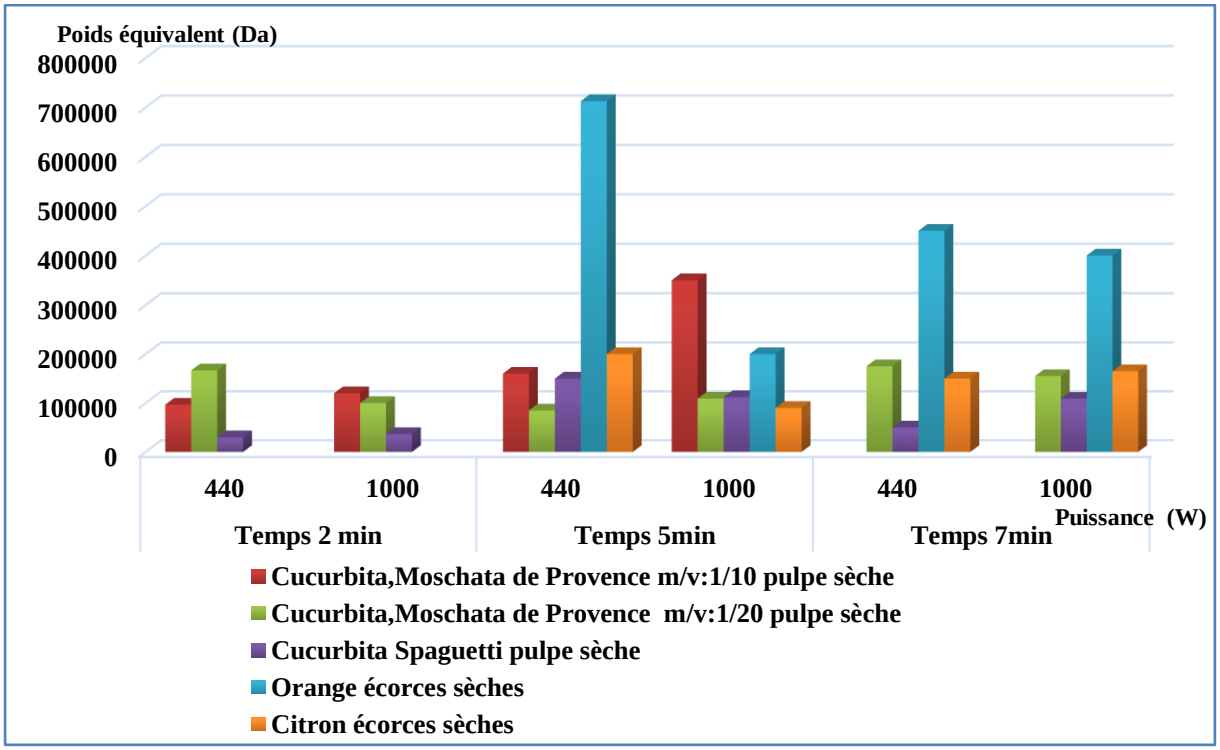


Figure IV.11 : Effet de la puissance d'irradiation par micro-onde sur le poids équivalent des pectines extraites.

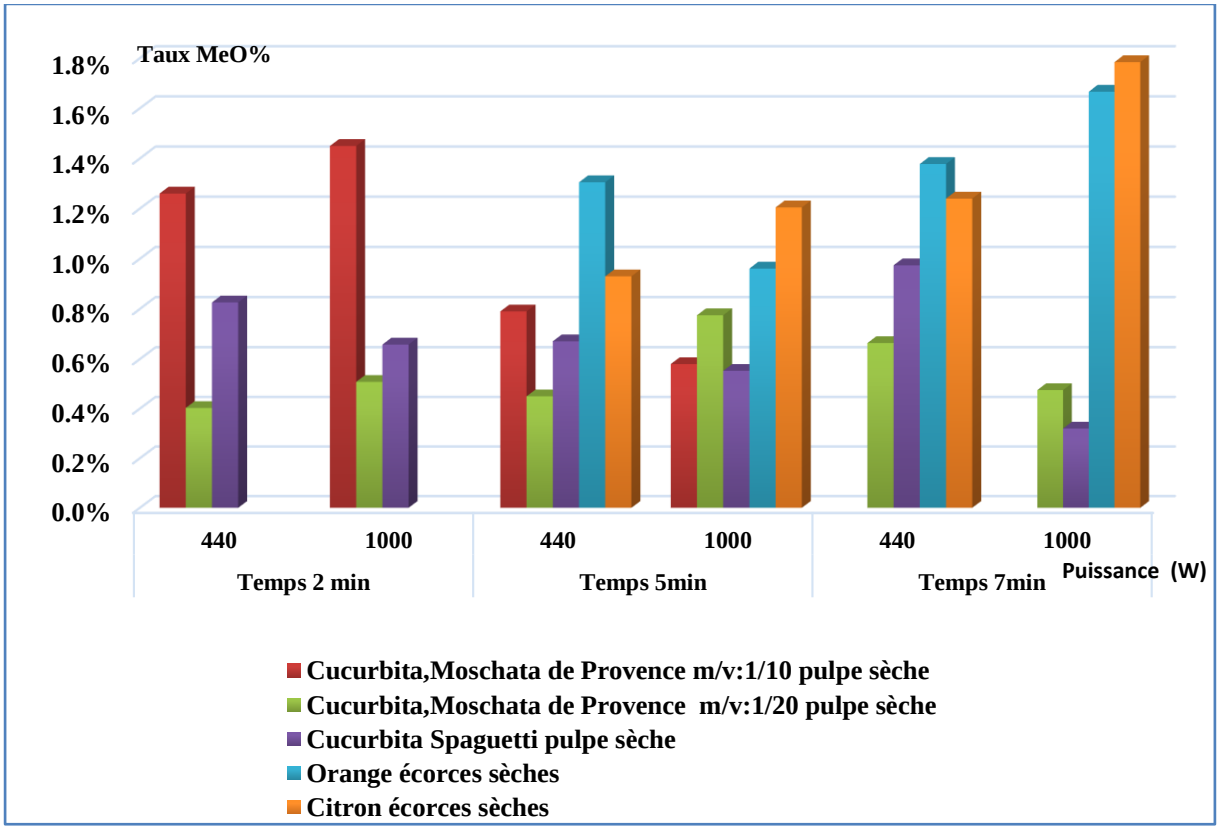


Figure IV.12 : Effet de la puissance d'irradiation par micro-onde sur le poids équivalent des pectines extraites.

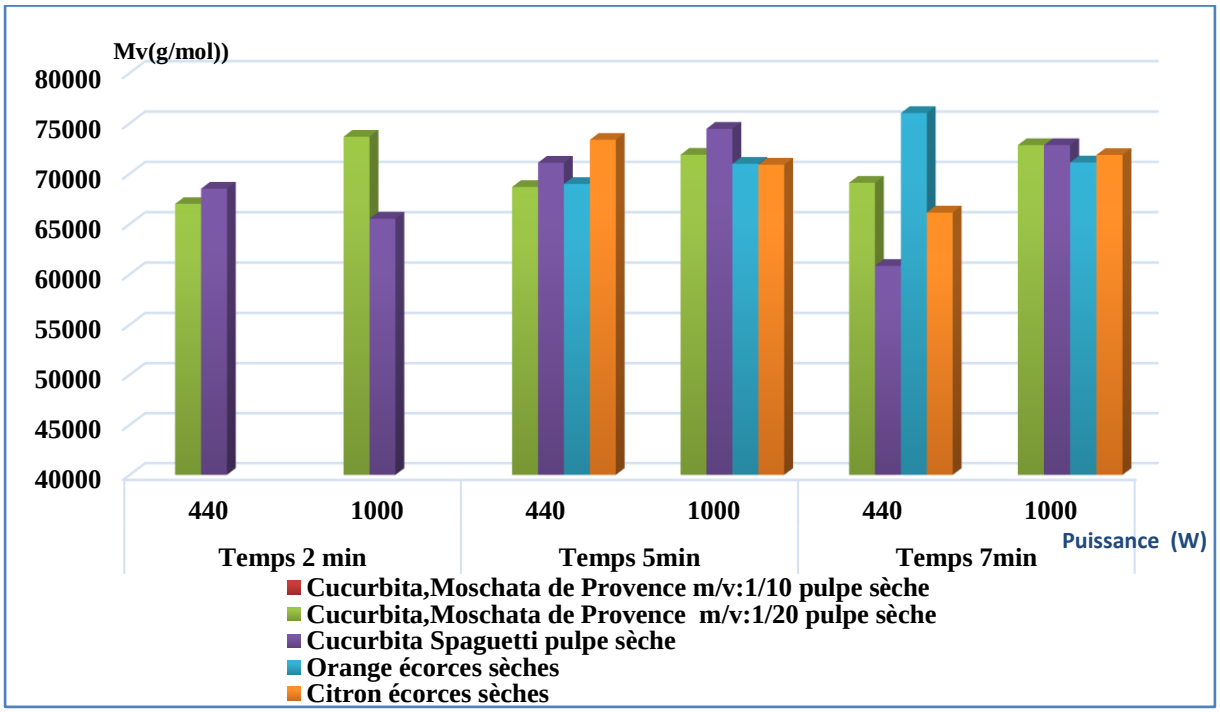


Figure IV.13 : Effet de la puissance d'irradiation par micro-onde sur le poids équivalent des pectines extraites.

IV.2.4. Résultats de l'analyse par FTIR :

Les résultats de l'analyse par spectroscopie FTIR sont montrés dans les figures. Ces résultats nous ont permis de tirer plusieurs informations sur la structure de la pectine extraite en fonction des paramètres étudiés.

IV.2.4.1. Effet de la durée d'extraction :

Les spectres FTIR (Figure IV.14) de la pectine extraite à partir de la pulpe de la muscade de provence montrent que la présence de certains groupements fonctionnels (empreinte de la pectine) est étroitement liée à la durée d'extraction. En effet, après 2 mn d'extraction, nous remarquons la présence d'un pic intense à 1627.17 cm^{-1} caractéristique de la liaison C=O des groupements COO^- avec un épaulement très faible à environ 1700-1750 cm^{-1} caractéristique de la liaison C=O des groupements $COOCH_3$ et COOH. Après 5 mn, nous remarquons l'apparition d'un pic d'intensité faible à moyenne et qui devient comparable en terme d'intensité par rapport à celui à 1651.12 cm^{-1} après 7 mn d'extraction. Ceci est en faveur d'une augmentation de la teneur en groupements méthyester de la pectine extraite ce qui en bon accord avec les résultats de la détermination du DE. Les mêmes observations ont été notées pour la pulpe et les écorces de Spaghetti et les écorces de la muscade de provence.

Concernant les écorces de citron, nous avons remarqué aussi l'apparition d'un pic entre 1740 et 1750 cm^{-1} après 7 mn d'extraction. Cependant, pour ce temps-là le pic des écorces d'orange entre 1740 et 1750 cm^{-1} est moins intense que celui de 5 mn. La bonne concordance avec les résultats de la détermination du DE s'attribue seulement aux écorces de citron.

IV.2.4.2. Effet de la puissance des micro-ondes

L'influence de la puissance des micro-ondes a été marquée, en comparant les deux spectres de la figure… La variation de l'intensité et de la largeur des deux pics à 1743 cm-1 et entre 1620 cm- et 1640 cm-1est non significative en augmentant la puissance, par contre pour la bande à 1435 cm^{-1} la variation est plus prononcée. Ceci est en bon accord avec les résultats de DE qui s'avoisinent (passage de 75 % à 80 %).

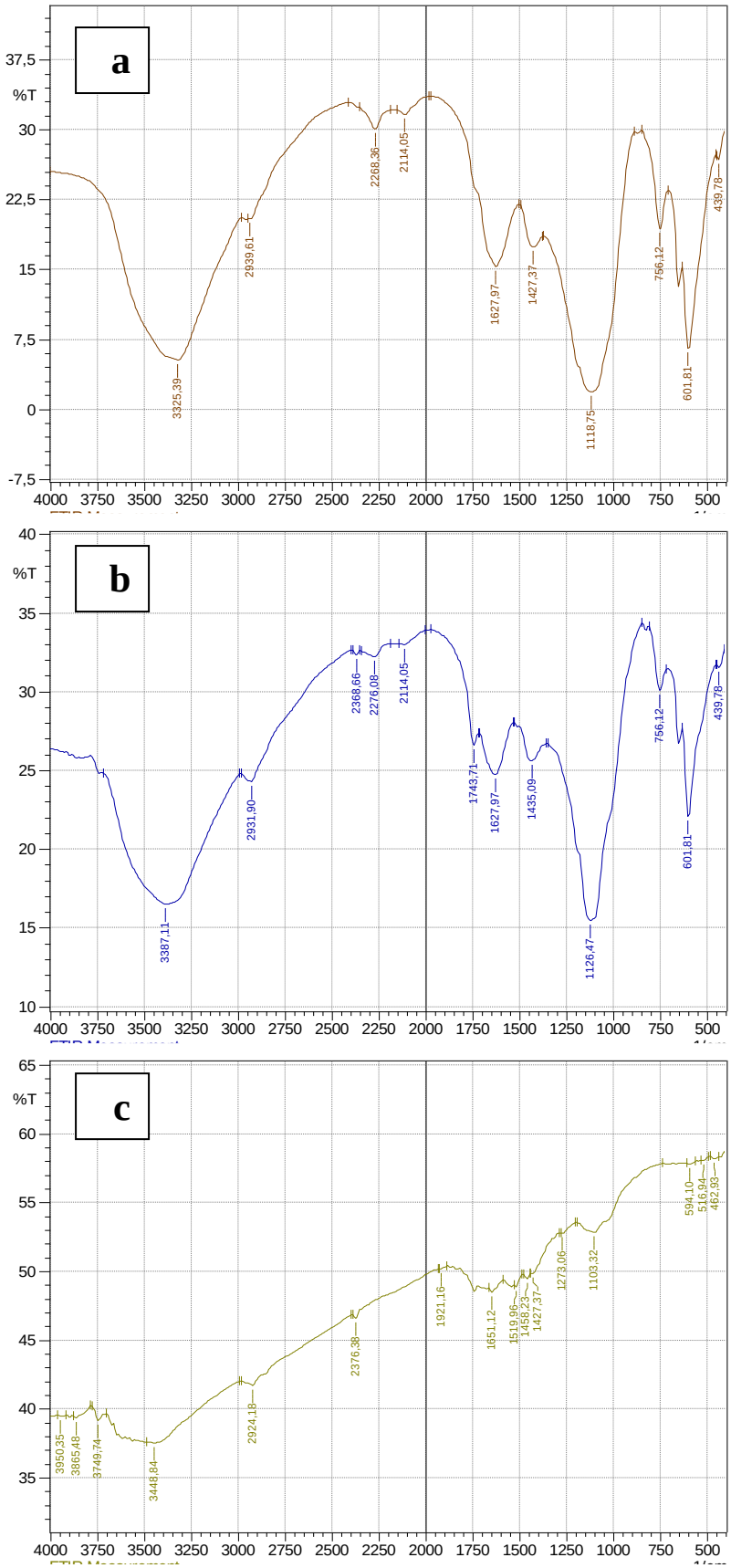


Figure IV.14 : Effet de la durée d'extraction sur la structure de la pectine extraite à partir de la pulpe de Muscade de provence: 2 mn (a), 5 mn (b) et 7 mn (c).

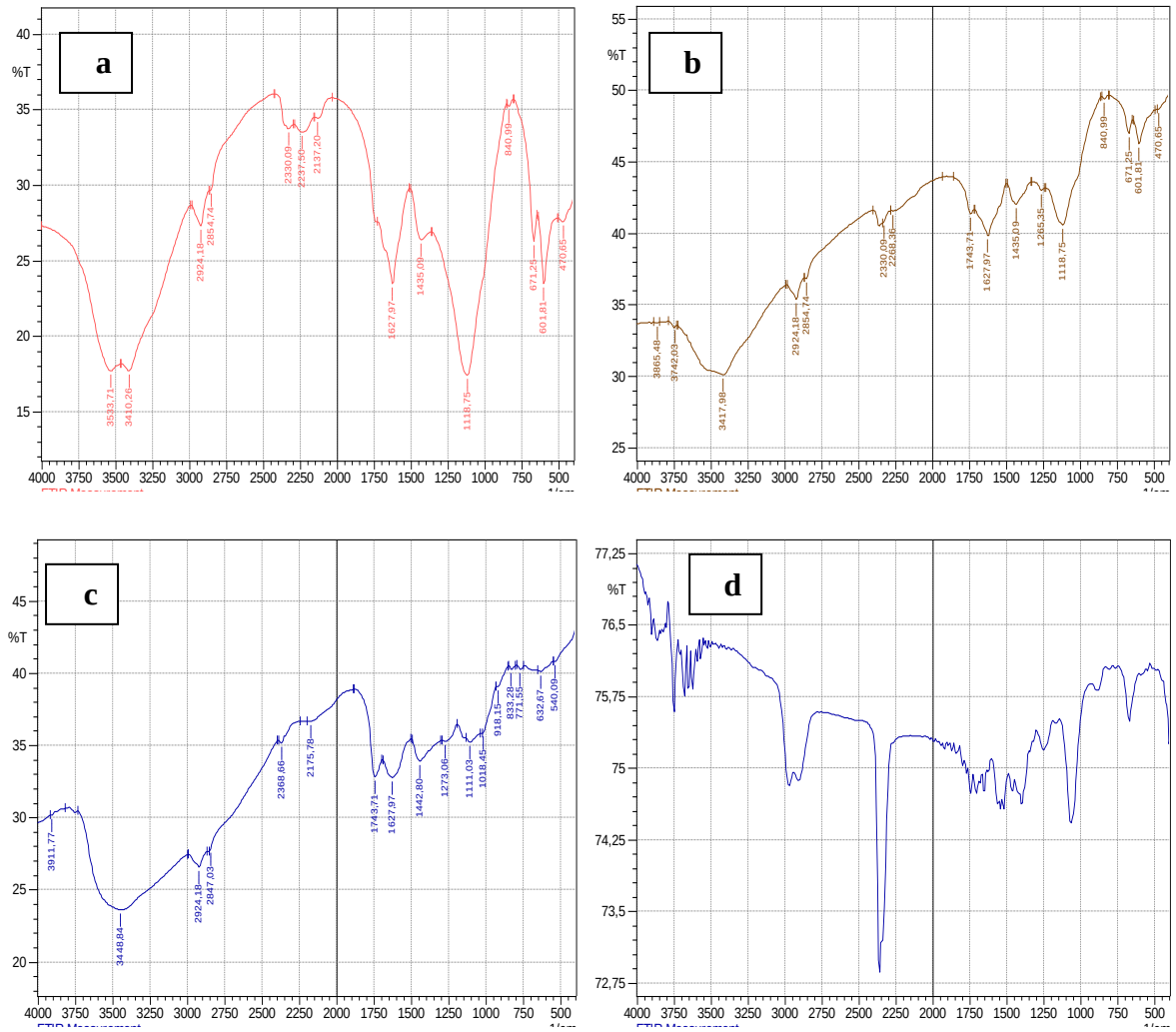


Figure IV.15 : Effet de la durée d'extraction sur la structure de la pectine extraite à partir des écorces de citron (5 mn, a ; et 7 mn, b) et d'orange (5 mn, c ; et 7 mn, d)

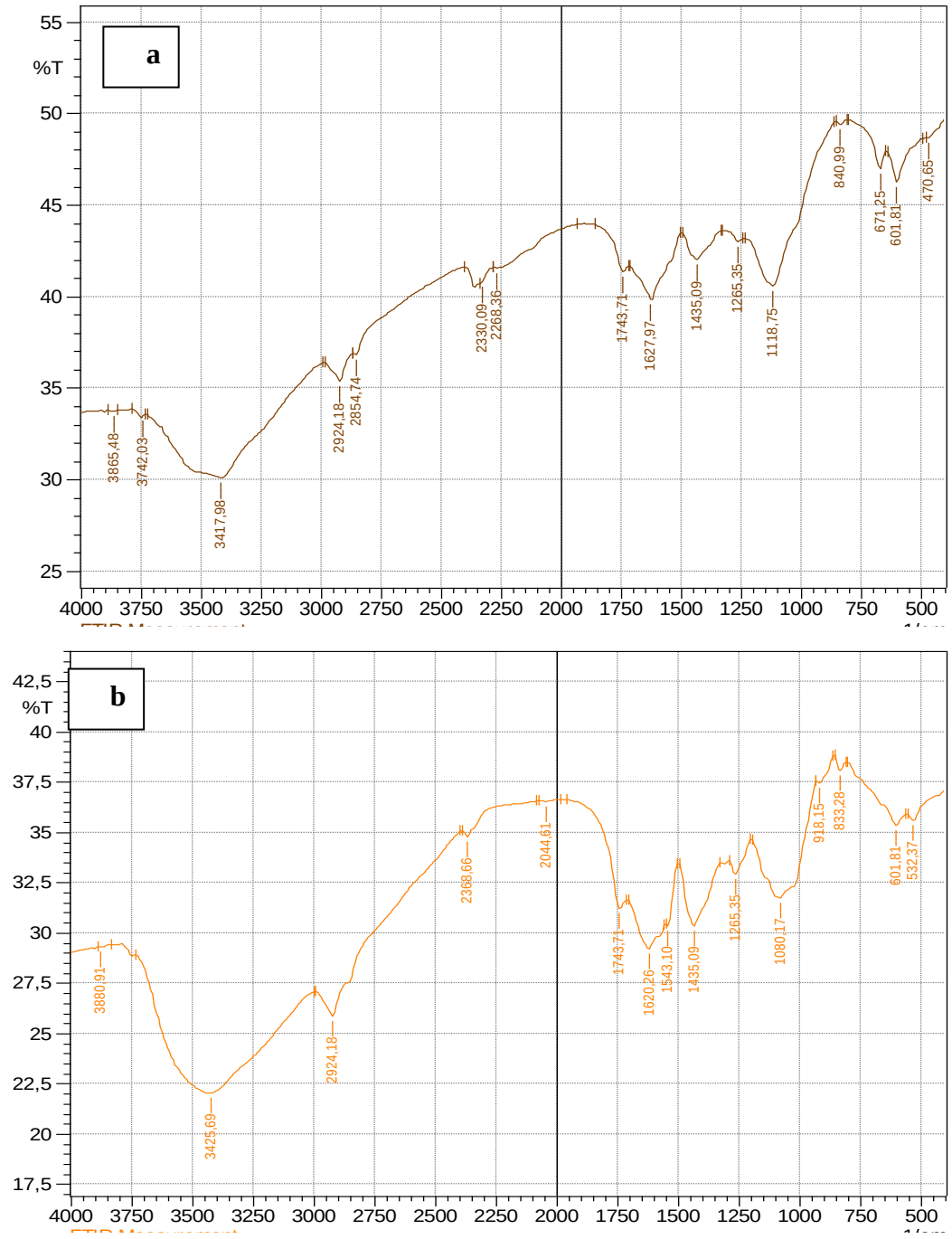


Figure IV.16 Effet de la puissance des micro-ondes sur la structure de la pectine extraite à partir des écorces de citron (7 mn) : (a) 440 W et (b) 1000 W

IV.2.4. Activité antibactérienne :

D'après les résultats présentés sur le tableau IV-2, il est clair que pour toutes les séries de dilutions la DO_{630} diminue pour une augmentation de concentration, ceci traduit une diminution de la croissance d'*E.Coli*en présence des pectines testées.

L'effet d'inhibition d'*E. Coli* exercé par les pectines extraites de deux variétés différentes de l'espèce de Cucurbita est différent. Il peut même varier avec les conditions opératoires (puissance des micro-ondes, temps d'extraction).

Pour les deux temps 2 et 5 min d'extraction des pectines de la pulpe de la *Muscade de Provence*, les séries de dilutions de pectines issues à 1000W ; qui sont plus concentrées en pectines que les séries réalisées par les pectines extraites à 440 W ; font diminuer la DO_{630} d'une magnitude comparable de celles enregistrées à 440W. Ceci peut indiquer que les pectines extraites à une puissance faible sont de meilleur effet inhibiteur d'*E. Coli* que celle extraite à une puissance forte.

Tableau IV-2 : Valeurs des mesures par spectrophotomètre UV de la DO_{630}des séries de dilutions des pectines extraites des suspensions bactériennes d'*E. Coli* après incubation

	Cucurbita *moschata (Muscade de Provence)*								*Cucurbita pepo (Citrouille)*			
	Puissance 440W				Puissance1000 W				Puissance 270W			
Solutions g/ml	2min	DO	5min	DO	2min	DO	5min	DO	10min	DO	15min	DO
C1	2.8	0.58	1.2	0.666	3.6	0.46	15.4	0.55	24	0.43	18	0.62
C2	0.56	0.64	0.24	0.71	0.72	0.57	3.08	0.60	4.8	0.59	3.6	0.70
C3	0.112	0.67	0.048	0.83	0.144	0.65	0.616	0.76	0.96	0.69	0.72	0.78
C4	0.0224	0.85	0.0096	0.88	0.0288	0.81	0.1232	0.82	0.192	0.43	0.144	0.84

L'effet antibactérien et antifongique du C. moschata a été dévoilé contre plusieurs souches antibactériennes et fongiques Kamarudin **[88].** et Wan et al. rapportent aussi des taux d'inhibition de bactéries pathogènes par des extraits de courge Curcubitamoschata plus élevés. L'activité antibactérienne la plus forte vis-à-vis de S. aureus, B. cereus et de P.aeruginosa a été respectivement observée avec les extraits DCM, MEOH et aqueux de Curcubita moschata.

Les pouvoirs antibactérien et antifongique du *Cucurbita pepo* peuvent être attribués à cette plante grâce à sa composition phytochimique riche en caroténoïdes, cucurbitosides, multi furanes et en scalènes (583.2-747mg/100g), ce dernier composé est un triterpène précurseur

des hormones stéroïdes, cholestérol et la vitamine D dans le corps humain. Il est très effectif dans le traitement de certain type de cancer **[89 - 90].**

Conclusion générale

Conclusion générale

Notre étude vise la contribution à dévoiler l'impact des propriétés physico-chimiques et la structure de la molécule pectine sur sa fonctionnalité biologique. Cette vision revête des objectifs multiples :

- ☞ Améliorer du pouvoir extractif de l'eau vis-à-vis les pectines qui reste depuis le temps limité par sa nécessité à un temps prolongé en le renforçant par l'utilisation du chauffage assisté par micro-ondes.
- ☞ Mise en œuvre par l'utilisation de l'eau d'une méthode extractive qui répond au besoins de la chimie verte.
- ☞ Balayer les conditions opératoires de l'extraction par hydrolyse par l'eau à chaud utilisant le chauffage par micro-ondes pour voir leur impact sur la quantité les propriétés physico-chimiques des pectines issues de biomasses végétales.
- ☞ Dévoiler l'impact de la source végétale sur l'effet antibactérien des pectines extraites.

Au terme de notre étude nous avons arrivé à que :

- ✓ La présence de l'eau règne presque la totalité de la masse de la pulpe du *Cucurbit pepo (Spaghetti) et Cucurbita moschata (muscade de Provence)* avec 92% et 87%.
- ✓ Les écorces du fruit de citron sont plus riches en eau que celle d'Orange où la présence de l'eau recouvre 78,5% et 65,5%.
- ✓ Le balayage des sources végétales de pectine ainsi que les conditions opératoires de l'hydrolyse par l'eau à chaud assisté par micro-ondes fait varier l'aspect, la quantité, les propriétés physicochimiques ainsi que la structure des pectines extraites.
- ✓ Les rendements en pectines extraites par l'eau à chaud utilisant le chauffage assisté par micro-ondes à partir des différentes parties (pulpe et écorces) du fruit de Muscade de Provence séchées à l'air libre varient de 0,8 % à 7,7% et de 1,8% à 2,8% respectivement.

  Ceux obtenus pour le fruit de Spaghetti varient de 0,9% à 2,6% pour la pulpe et n'excède pas un rendement de 0,8% pour les écorces du même fruit.
- ✓ Les rendements en pectines extraites des différentes parties séchées à l'air libre (écorces de citron, écorces d'orange) varient respectivement de 1 % à2 % et 1.7 % à3 %.
- ✓ L'effet du temps sur le rendement en pectine manifeste plusieurs allures de variations qui différent avec le type de la biomasse, la puissance et la partie de la plante végétale.

- ✓ Les pectines issues des écorces diffèrent en quantité de celles issues de la pulpe avec une supériorité manifestée par les pulpes des deux variétés Muscade de Provence et Spaghetti.
- ✓ Variations avec un ordre d'importance différent des propriétés (degré d'estérification, poids équivalent, masse molaire viscosimétrique, taux de groupements MeO% en fonction de la durée d'extraction, la puissance des micro-ondes, du rapport m/v ainsi que le type et la partie des biomasses utilisées.
- ✓ L'extraction par micro-onde engendre des pectines hautement méthylées, d'un poids équivalent et masse molaire viscosimétrique importants, ce qui la qualifie d'être une méthode qui conserve les propriétés des pectines natives.
- ✓ L'effet d'inhibition d'*E. Coli* exercé par les pectines extraites de deux variétés différentes de l'espèce de *Cucurbita* est différent. Il peut même varier avec les conditions opératoires (puissance des micro-ondes, temps d'extraction).

Plusieurs pistes peuvent être investiguées pour accomplir ce qui a été visé comme objectif de cette étude on propose :

- ➢ Optimisation des conditions opératoires de l'extraction des pectines en utilisant l'hydrolyse par l'eau à chaud assisté par le chauffage par induction magnétique et par micro-onde par voie d'un plan d'expérience.
- ➢ Etendre le nombre de source végétale et les souches bactériennes.

Références bibliographiques

References et bibliographiques

[1]. Bibliographie de l'Article Integral use of pectin-rich by-products in a biorefinery context: A holistic approach.

[2]. Adiletta et al., 2020 ; Brachi et al., 2017.

[3]. Smith BD (1997) The initial domestication of Cucurbitapepo in the Americas 10,000 yearsago. Sci 276: 932-934.

[4]. BotineaU M. (2010) Botanique systématique et appliquée des plantes à fleurs. Ed Tec & Doc, Lavoisier, p722-733.

[5]. Benariba N., Djaziri R., Bellakhdar W., Belkacem N., Kadiata M., Malaisse W.J., Sener A.2013. Phytochemical screening and free radical scavengingactivity of Citrulluscolocynthi seeds extracts. Asian Pac. J.Tropical Biomed., 3(1): 35-40.

[6]. Gry J., Søborg I., Andersson H.C. 2006. Cucurbitacins in plant food EkspressenTryk&Kopicenter. Copenhagen. 55

[7]. Priyanka Dash, GoutamGhosh (2016). Proteolytic and antioxidant activity of protein fractions of seeds of Cucurbitamoschata.Food Biosci..

[8]. Genevois C. Flores S., M. de Escaladapla (2014). Effect of iron and ascorbic acid addition on dry infusion process and final color of pumpkin tissue. LWT- Food sci. technol. V 58: 563-570.Genevois et al., 2014.

[9]. QianZ.G.(2014).Cellulase-assisted extraction of polysaccharides from Cucurbitamoschata and their antibacterial activity.Carbohydr.Polym.101 : 432– 434.

[10]. Livrelégumes G.j.HGrubbrn 2004

[11]. Cronquist , 1981.

[12]. Tamer et al. 2010 Tamer, C.E., Incedayi, B., ParsekerY€onel, S., Yonak, S., ‚Copur, €O.U., 2010. Evaluation of several quality criteria of low calorie pumpkin dessert.NotulaeBotanicaeHortiAgrobotanici 38, 76–80. https://doi.org/10.15835/nbha3813557.

[13]. Wood R, (1999). The New Whole Foods Encyclopedia: A Comprehensive Resource for Healthy Eating. Middlesex, England: Penguin Books Ltd; 464pp

[14]. Mateljan G. (2007) The World's Healthiest Foods. Seattle, WA: George Mateljan Foundation Publishing;[en ligne]. http://www.whfoods.com/genpage.php?tname=foodspice&dbid=63page consultée (le 27/04/2018)

[15]. Bamba D, Donogui B, Trokourey A, ElogneZoro G, Athéba G P, Didier R, Wéber J V, 2009. Etude compares des méthodes de préparation du charbon actif, suivies d'un test de dépollution d'une eau contaminée au diuron.J. Soc.Ouest-afr. Chim.028.

[16]. Wichtl et Anton, 2003. Plantes thérapeutiques tradition, pratique officinale, science et thérapeutique.

[17]. DeimelT, 2007. Important facts about award-winning styrian pumpkin seed oil and Yourhealth. Retrievedfrom: www.deimel.biz/_biz/info/pumpkinoil.htm.

[18]. Younsi M., (1990). AmeliorationVarietabes: Selection nucléaire de Valencia late (citrus sinensis L.) I.N.E.S. Blida, p63.

[19]. Nicolosi E., Deng Z.N., Gentile A., La Malfa S., Continella G. and Tribulato E. (2000): Citrus phylogeny and genetic origin of important species as investigated by molecular markers. Theor. Appl. Genet. 100: 1155-1166.

[**20].** McMurry, J. (2008). Organic Chemistry.Thomson Brooks/Cole.]. [Sun, S. F. (2004). Physical Chemistry of Macromolecules: Basic Principles and Issues. New Jersey: John Wiley & Sons.

[21]. Williams, P. A., & Phillips, G. O. (2000). Introduction of food hydrocolloids.In G. O. Phillips & P. A. Williams (Eds.). Handbook of Hydrocolloids (pp. 3-22). USA: CRC Press.

[22]. Srivastava, R., &Kulshreshtha, D. K. (1989). Bioactive polysaccharides from plants.Phytochemistry, 28(11), 2877-2883.

[23]. Zong, A., Cao, H., & Wang, F. (2012). Anticancer polysaccharides from natural resources: A review of recent research. Carbohydrate Polymers, 90(4), 1395-1410.

[24]. Gawkowska, D.; Cybulska, J.; Zdunek, A. Structure-related gelling of pectins and linking with other natural compounds: Areview. Polymers 2018, 10, 762.

[25]. Maxwell, E.G.; Belshaw, N.J.;Waldron, K.W.; Morris, V.J. Pectin—An emerging new bioactive food polysaccharide. Trends Food Sci. Technol. 2012, 24, 64–73.

[26]. Prades, J.-B., N. Prades et V. Renaud. 1995. Le grand livre des courges. Éditions Rustica. Paris. 183 pages.

[27]. [Mohnen, D. Pectin structure and biosynthesis.Curr. Opin. Plant Biol. 2008, 11, 266–277.]La présence d'une faible proportion de ces résidus est suffisante pour augmenter la flexibilité de la pectine. Cette zone de flexibilité, appelée 'coude pectique', faciliterait la formation d'un réseau tridimensionnel lors de la gélification.

[28]. (Zykwinska et al., 2005).

[29]. Ridley et al., 2001 ; « Pectins : structure, biosynthesis, and oligogalacturonide-related signaling ».

[30]. Varki, A.; Cummings, R.D.; Aebi, M.; Packer, N.H.; Seeberger, P.H.; Esko, J.D.; Stanley, P.; Hart, G.; Darvill, A.; Kinoshita, T.; et al.Symbol nomenclature for graphical representations of glycans. Glycobiology 2015, 25, 1323–1324.

[31]. Ben aicha Y &Boukhouidem F.(2018)<< Extraction de quelques substances macromoléculaire présentes dans l'écorce du cucurbita.moschata>.Master. Université Médéa.

[32]. DeFreitasPedrosa, L.; Lopes, R.G.; Fabi, J.P. The acid and neutral fractions of pectins isolated from ripe and overripe papayas differentially affect galectin-3 inhibition and colon cancer cell growth. Int. J. Biol. Macromol. 2020, 164, 2681–2690] [Wu, D.; Zheng, J.; Hu, W. Zheng, X.; He, Q.; Linhardt, R.J.; Ye, X.; Chen, S. Structure-activity relationship of Citrus segment.

[33]. Schols H. A., Bakx, E. J., Schipper, D., &Voragen, A. G. J. (1995a). « A xylogalacturonan subunit present in the modified hairy regions of apple pectin. ».

[34]. De FreitasPedrosa, L.; Lopes, R.G.; Fabi, J.P. The acid and neutral fractions of pectins isolated from ripe and overripe papayas differentially affect galectin-3 inhibition and colon cancer cell growth. Int. J. Biol. Macromol. 2020, 164, 2681–2690] [Wu, D.; Zheng, J.; Hu, W.; Zheng, X.; He, Q.; Linhardt, R.J.; Ye, X.; Chen, S. Structure-activity relationship of Citrus segment.

[35]. membrane RG-I pectin against Galectin-3: The galactan is not the only important factor. Carbohydr.Polym.2020, 245, 116526.][Zhang, T.; Lan, Y.; Zheng, Y.; Liu, F.; Zhao, D.; Mayo, K.H.; Zhou, Y.; Tai, G. Identification of the bioactive components frompH-modified citrus pectin and their inhibitory effects on galectin-3 function. Food Hydrocoll. 2016, 58, 113–119.].

[36]. Thakur, Singh, Handa et Rao, 1997)Thakur, B. R., Singh, R. K., Handa, A. K., &Rao, M. A. (1997). Chemistry and uses of pectin — A review. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 37(1), 47-73

[37]. Sperling, 2006)Sperling, L. H. (2006). Introduction to Physical Polymer Science. New Jersey: Wiley-Interscience.

[38]. rigidité (Axelos, M.A.V. &Thibault, J.F. (1991. "Influence of the substituents of the carboxylsgroups and the rhamnose content on the properties and flexibility of pectins." InternationalJournal of Biological Macromolecules 13: 77-82.).

[39]. Hwang, J., &Kokini, J. L. (1992). Contribution of side branches to rheologicalproperties of pectins. Carbohydrate Polymers, 19, 41-50.

[40]. VORAGEN A.G. & VISSER J. (1996). « Pectins and pectinas .In Progress in Biotechnology.Elsevier Science B.V., 14, 715- 725. ».

[41]. Elhadi, I.M.; Koko, S.W.; Thibault J.F., « Les pectines, Dans :les polymères végétaux,polymères pariétaux et alimentaires non azotés, Ed Gauthier-Villars, Paris, 1980, 232-251.

[42]. Darvill A.G., Mc Neil M., Albersheim P. (1978). « Structure of plant cell wall. 8. A new pectic polysaccharides », Plant physiol,62, 418.

[43]. Denna, D.W. and H.M. Munger. 1963. Morphology of the bush and vine habits and the allelism of the bush genes in Cucurbita maxima and C. pepo squash. Proc. Amer. Soc. Hort. Sci. 82: 370-377.

[44]. Thibault J.F., « Les pectines, Dans :les polymères végétaux,polymères pariétaux et alimentaires non azotés, Ed Gauthier-Villars, Paris, 1980, 232-251). »

[45]. Bamba D, Donogui B, Trokourey A, ElogneZoro G, Athéba G P, Didier R, Wéber J V, 2009. Etude compares des méthodes de préparation du charbon actif, suivies d'un test de dépollution d'une eau contaminée au diuron.J. Soc.Ouest-afr. Chim.028.

[46]. Maziero, Neto et al. 2012; « The osr1 and osr2 genes act in the pronephric anlage downstream of retinoic acid signaling and upstream of wnt2b to maintain pectoral fin development. Development (Cambridge, England). 139(2):301-11. »

[47]. Fishman et al., 2000.

[48]. Zhongdong et al., 2005.

[49]. Fishman M. L., Chau H. K., Hoagland P., et al. 1999. « Characterization of pectin, flashextractedfrom orange albedo by microwaveheating, under pressure ». carbohydrateresearch 323: 126–138.

[50] . Srivastava P. et Malviya R. 2011. « Sources of Pectin, Extraction and Its Applications inPharmaceutical Industry − An Overview ». Indian Journal of Natural Products andResources 2(1): 10-18.

[51]. Dranca F., Oroian M. 2018. « Extraction, Purification and Characterization of PectinfromAlternative Sources withPotentialTechnological Applications ».Food Research International 113: 327-350

[52]. WM. Kulicke, C. Clasen, Viscosimetric Determination of the Molar Mass, Viscosimetry of Polymers and Polyelectrolytes. Springer Laboratory.Springer, Berlin, Heidelberg, pp. 69-89, (2004).

[53]. Singthonga, J., Cuib(2004),

[54]. SebaouiOuiza.(2018). «Modélisation et optimisation de l'extraction de la pectine à partir du zeste de citron et de son utilisation dans l'encapsulation des composés phénoliques des margines de l'industrie oléicole». Doctorat. UniversitéMouloud Mammeri de TiziOuzou.

[55]. BartoszKulczy ´nski * and Anna Gramza-Michałowska. The Profile of Secondary Metabolites and Other Bioactive Compounds in Cucurbitapepo L. and Cucurbitamoschata Pumpkin Cultivars.molecules 24, 2945.

[56]. Joslyn, M. A. (1970). Methods in Food Analysis.2nd ed. Academic Press.New York and London.Pp,(565-599).

[57]. Pearson, 1976

[58]. Funaokaet Abe, 1989. « Rapid separation of wood into carbohydrate and lignin with concentrated acid-phenol system »

[59]. Stenius, 2000 ; « Immediate and long term effects of weight reduction in obese people with asthma: randomised controlled study ; 2000 Mar 25;320(7238):827-32. doi: 10.1136/bmj.320.7238.827 »

[60]. FlorinaDranca[a]MaríaVargas[b]MirceaOroian Physicochemical properties of pectin from *Malusdomestica* 'Fălticeni' apple pomace as affected by non-conventional extraction techniques. Food Hydrocolloids. Volume 100, March 2020, 105383.

[61]. Petra Cserjési, KatalinBélafi-Bakó,*, ZsófiaCsanádi, SándorBeszédes, Cecilia Hodúr. Simultaneous Recovery of Pectin and Colorants from Solid Agro-wastes Formed in Processing of Colorful Berries. Progress in Agricultural Engineering Sciences 7 (2011), 65–80.

[62]. Torkova AA, Lisitskaya KV, FilimonovIS,Glazunova OA, Kachalova GS, Golubev VN,(2018) Physicochemical and functionalpropertiesofCucurbita maxima pumpkinpectinandcommercial citrus and applepectins: Acomparative evaluation. PLoS ONE 139.

[63]. KosÏtÏaÂlovaÂ Z, Aguedo M, HromaÂdkovaÂ Z.;(2016)Microwave-assisted extraction of pectinfromunutilizedpumpkin biomass. ChemEngProcessProcessIntensif. Elsevier; 102: 9±15.

[64]. PreethiRamachandran, anjuK.Dhiman and SurekhaAttri .(2017) ''Extraction of Pectinfrom Ripe Pumpkin (CucurbitamoschataDuchex.Poir) usingeco-freindly technique'' Indian journal of ecology 44:685-689.

[65]. PreethiRamachandran, Anju K Dhiman, SurekhaAttri and TejpreetKaur.(2020Influence of Various Factors on Yield and Quality of Pumpkin Pectin Extracted with Water).ChemSciRevLett 9 (34), 388-397.

[66]. José RR de Souza, Jeanny S Maciel, Edy S Brito, et al. (2017)PectinfromCucurbitamoschataPumpkinMesocarp. MacromolInd J.;12(3):110.

[67]. Torkova AA, Lisitskaya KV, FilimonovIS,Glazunova OA, Kachalova GS, Golubev VN,(2018) Physicochemical and functionalpropertiesofCucurbita maxima pumpkinpectinandcommercial citrus and applepectins: Acomparativeevaluation. PLoS ONE 13.

[68]. Smith BD .(1997). The initial domestication of Cucurbitapepo in the Americas 10,000 yearsago.Sci 276: 932-934

[69]. REZZOUG Sid-Ahmed* , MAACHE-REZZOUG Zoulikha, ALLAF Karim Etude de la disponibilité de la pectine extraite à partir d'écorces d'oranges suite a un prétraitement thermomécanique . Récents Progrès en Génie des Procédés – Numéro 96 – 2007],

[70]. Abid, H., Hussain, A., Ali, S., Ali, J. (2009). Technique for optimum extraction of pectin from sour orange peels and its chemical evaluation. J. Chem. Soc. Pak. 31, 459 - 461.

[71]. Masmoudi, M., Besbes, S., Chaabouni, M., Robert, C., Paquot, M., Blecker, C., Attia, H.(2008). Optimization of pectin extraction from lemon by-product with acidified date juice using response surface methodology.Carbohydr. Polym.74, 185 - 192.

[72]. SebaouiOuiza.(2018). «Modélisation et optimisation de l'extraction de la pectine à partir du zeste de citron et de son utilisation dans l'encapsulation des composés phénoliques des margines de l'industrie oléicole». Doctorat. UniversitéMouloud Mammeri de Tizi Ouzo

[73]. these VALORISATION DES DECHETS VERTS ET DE BIOMASSES EN TRAITEMENT DES EAUX

[74]. Hadkar, U.; Dhruv, N.; Malode, Y.; Chavan, B. Microwave assisted extraction of phytoconstituents. Asian J. PhytomedicineClin. Res. 2013, 2, 73–86.

[75]. PreethiRamachandran, anjuK.Dhiman and SurekhaAttri . (2017) « Extraction of Pectinfrom Ripe Pumpkin (CucurbitamoschataDuchex.Poir) usingeco-freindly technique'' Indian journal of ecology 44:685-689. »

[76]. Chandel V, Vaidya D, Kaushal M, Gupta A and Verma AK; (2016) .«Standardization of eco-friendly technique for extraction of pectinfromapplepomace. Indian Journal of Natural ProductsandResources7(1): 69-73. ».

[77]. Hosseini, S.S.; Khodaiyan, F.; Yarmand, M.S. Optimization of microwave assisted extraction of pectin from sour orange peel and its physicochemical properties.

Carbohydr.Polym. 2016, 140, 59–65.] [Rahmani, Z.; Khodaiyan, F.; Kazemi, M.; Sharifan, A. Optimization of microwave-assisted extraction and structural characterization of pectin from sweet lemon peel. Int. J. Biol. Macromol. 2020, 147, 1107–1115].

[78]. Bagherian, H.; Ashtiani, F.Z.; Fouladitajar, A.; Mohtashamy, M. Comparisons between conventional, microwave-and ultrasoundassisted methods for extraction of pectin from grapefruit. Chem. Eng. Process.Process.Intensif. 2011, 50, 1237–1243

[79]. Maran, J.P.; Sivakumar, V.; Thirugnanasambandham, K.; Sridhar, R. Microwave assisted extraction of pectin from waste Citrulluslanatus fruit rinds. Carbohydr.Polym. 2014, 101, 786–791.

[80]. Kulkarni, S.; Vijayanand, P. Effect of extraction conditions on the quality characteristics of pectin from passion fruit peel (Passifloraedulis f. flavicarpa L.). LWT-Food Sci. Technol. 2010, 43, 1026–1031. [Freitas, C.; Sousa, R.; Dias, M.; Coimbra, J. Extraction of Pectin from Passion Fruit Peel. Food Eng. Rev. 2020] [AnissaBelkheiri, Ali Forouhar, Alina-VioletaUrsu, Pascal Dubessay, Guillaume Pierre, et al..Extraction, Characterization, and Applications of Pectins from Plant By-Products. Applied Sciences, MDPI, 2021, 11 (14), pp.6596.

[81]. Lucas de FreitasPedrosa 1 , AvrahamRaz 2 and João Paulo Fabi 1,3,4,* The Complex Biological Effects of Pectin: Galectin-3 Targeting as Potential Human Health Improvement?

[82]. Dranca, F.; Vargas, M.; Oroian, M. (2020). Physicochemical properties of pectin from Malusdomestica 'Falticeni' apple pomace as affected by non-conventional extraction techniques.Food Hydrocolloids. 100:1-14. https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2019.105383

[83]. Ma, S.; Yu, S.; Zheng, X.;Wang, X.; Bao, Q.; Guo, X. Extraction, characterization and spontaneous emulsifying properties of pectin from sugar beet pulp. Carbohydr.Polym. 2013, 98, 750–753.

[84]. Rodsamran&Sothornvit, 2019; Bagherian et al., 2011; Fishman, Chau, Hoagland, & Hotchkiss, 366 2006.

[85]. Structural-functional Variability in Pectin and Effect of Innovative Extraction Methods: An Integrated Analysis for Tailored Applications SuchetaKhubbera, MiladKazemib, Sara AmiriSamanic, Jose M. Lorenzo d,e, Jesus Simal- Gandara f, and Francisco J. Barba g].

[86]. Fakayode, O. A., &Abobi, K. E. (2018). Optimization of oil and pectin extraction from orange (Citrus sinensis) peels: a response surface approach. Journal of Analytical Science and Technology, 9(1), 20.

[87]. Hua, X.;Wang, K.; Yang, R.; Kang, J.; Zhang, J. Rheological properties of natural low-methoxyl pectin extracted from sunflower head. Food Hydrocoll. 2015, 44, 122–128.]

[88]. Kamarudin El Zawane, QamarUddin Ahmed, AbulBashar Mohammed Helaluddin, ZuvaireaNazrenMohdSirajudin, Ahmad Jalal Khan Chowdhury (2014). Studies on bactericidalefficacy of pumpkin (Cucurbitamoschata Duchesne) peel. J. Coastal Life Med. 2014: 146-153.

[89]. Rosa Martha Perez Gutierrez(2016)Review of Cucurbitapepo (Pumpkin) itsPhytochemistry andPharmacology.6(1): 012-021

[90]. Dutta D, Chaudhuri UR, Chakraborty, R. (2006). Effect of thermal treatment on the β-carotene content, colour and textural properties of pumpkin.Journal of Food Science and Technology,; 43(6):607-611.