

Synthèse bibliographique de l'influence du procédé d'extraction et de purification sur les caractéristiques et les propriétés d'une gomme de caroube

Sébastien Gillet, Mathilde Simon, Michel Paquot, Aurore Richel

Univ. Liège - Gembloux Agro-Bio Tech. Unité de Chimie Biologique Industrielle (CBI). Passage des Déportés, 2. B-5030 Gembloux (Belgique). E-mail : sebastien.gillet@ulg.ac.be

Reçu le 8 février 2013, accepté le 20 août 2013.

Le caroubier est une essence cultivée pour ses graines dans le bassin méditerranéen. Ces graines contiennent un endosperme riche en galactomannanes très prisé, notamment par l'industrie agro-alimentaire, pour ses propriétés texturantes. Après récolte, les graines subissent une décutilation et une dégermination. Les endospermes ainsi nettoyés sont ensuite broyés pour donner la gomme de caroube brute. L'étape de purification consiste en une solubilisation de la farine et une précipitation des galactomannanes. Cette étape influence particulièrement les caractéristiques de la gomme obtenue. La température de solubilisation est le paramètre qui impacte le plus sur les caractéristiques finales du produit. Elle permet, selon qu'elle soit faible ou élevée, de sélectionner des galactomannanes de caractéristiques structurales différentes, qui présenteront de ce fait des propriétés physiques fort différentes en solutions aqueuses.

Mots-clés. Caroube, gomme de caroube, galactomannane, propriété rhéologique, traitement des aliments, extraction, purification.

Review of the influence of the extraction and purification process on the characteristics and properties of locust bean gum. The carob tree is a species cultivated for its seeds in Mediterranean countries. These seeds contain an endosperm rich in galactomannans, which are used by the food industry for their texturing properties. After harvesting, the seeds pass through a decutilation and a degermination process. Cleaned endosperms are then milled to give crude locust bean gum. The purification step consists of solubilization of the flour followed by precipitation of the galactomannans. Purification influences the characteristics of the resulting gum. The solubilization temperature is the parameter that has the greatest effect on the final characteristics of the product. Depending on whether the solubilization temperature is hot or cold, galactomannans with different structural characteristics (and thus with very different physical properties in aqueous solutions) will be selected.

Keywords. Locust beans, locust bean gum, galactomannans, rheological properties, food processing, extraction, purification.

1. INTRODUCTION

Le caroubier ou *Ceratonia siliqua* L., de la famille des Caesalpiniaceae, est un arbuste dioïque à feuilles persistantes et de croissance lente (Biner et al., 2007 ; Bouzouita et al., 2007). C'est une essence thermophile cultivée en climat méditerranéen, mais originaire des pays arabes (Petit et al., 1995). On le retrouve dans la région méditerranéenne, principalement en Espagne, en Italie, en Grèce, au Portugal et au Maroc (Biner et al., 2007 ; Dakia et al., 2008). Le caroubier présente une bonne résistance à la sécheresse, mais est sensible au froid (Biner et al., 2007). Il peut atteindre une taille allant de 8 à 15 m et vivre jusqu'à 500 ans. Cette essence est souvent utilisée pour lutter contre la déforestation et la désertification, en limitant l'érosion

des sols (Correia et al., 2005). Les petites fleurs rouges du caroubier fleurissent à partir de septembre jusqu'au mois de novembre (Dakia, 2003). Ce sont elles qui, après fécondation, vont donner naissance aux fruits appelés gousses. Celles-ci contiennent les graines de caroube qui sont utilisées pour produire de la gomme de caroube. Cet additif est fort recherché dans l'industrie agro-alimentaire – notamment pour ses propriétés texturantes (Avallone et al., 1997) – ainsi que dans le secteur pharmaceutique (Prajapati et al., 2013).

En termes de surface cultivée, la culture du caroubier représente un peu plus de 100 000 ha (102 939 ha en 2008) à travers le monde. L'Espagne, le Maroc et le Portugal possèdent les surfaces cultivées les plus importantes, de l'ordre de 60 000, 12 000 et 10 000 ha respectivement. Le **tableau 1** présente la production de

Tableau 1. Production de caroube dans le monde et dans le bassin méditerranéen de 2000 à 2008 — *Locust bean production in the world and in the Mediterranean Basin from 2000 to 2008* (FAOSTAT).

Pays	Production (tonnes)								
	2000	2001	2002	2003	2004	2005	2006	2007	2008
Espagne	93 863	73 211	74 736	67 403	79 200	64 100	70 000	72 000	72 000
Italie	38 079	16 282	24 015	18 637	19 060	31 665	26 110	32 784	31 224
Grèce	20 192	16 464	15 015	14 789	14 594	14 815	14 506	15 000	15 000
Maroc	23 000	24 000	24 000	25 000	25 000	25 000	25 000	25 000	25 000
Portugal	20 000	20 000	20 000	20 000	20 000	20 000	22 000	23 000	23 000
Turquie	14 000	13 500	13 500	14 000	14 000	12 000	12 388	12 161	12 100
Chypre	7 300	2 850	7 200	6 550	6 250	6 942	5 650	3 839	3 915
Monde	226 829	177 787	188 070	174 365	186 595	181 830	184 115	193 250	191 167

caroube dans le monde et pour le bassin méditerranéen de ces dernières années. On estime à plus de 15 000 t la production mondiale annuelle de gomme de caroube (Dakia et al., 2008).

2. LA COMPOSITION DE LA CAROUBE

La gousse du caroubier, nommée caroube, est une gousse indéhiscente de 10 à 30 cm de longueur sur quelques centimètres de largeur. À maturité, la caroube change de couleur et devient brune. Ses composants majeurs sont la pulpe et les graines contenues dans les logettes de la gousse (Simon, 2010).

La composition de la pulpe de caroube dépend de la variété, du climat et des techniques de cultures. Toutefois, on peut avancer que la pulpe de caroube représente 90 % de la masse du fruit. Elle est riche en tanins et en sucres, dont le saccharose représente 65 à 75 % des sucres totaux. Les taux de protéines et de lipides sont faibles (Petit et al., 1995). Les principales applications de la pulpe de caroube sont l'alimentation animale et humaine en tant que substitut du cacao (Biner et al., 2007). Elle présente l'avantage d'être exempte de théobromine et de caféine, contrairement au cacao qui en contient des quantités importantes (Yousif et al., 2000). Dans de nombreux pays arabes, une boisson consommée lors du Ramadan est fabriquée à partir de caroube (Yousif et al., 2000). La pulpe de caroube est souvent consommée sous forme de poudre (Dakia et al., 2007). Dans les pays occidentaux, celle-ci est produite par égrenage, concassage, broyage et torréfaction des gousses de caroube (Yousif et al., 2000).

Les graines constituent environ 10 % de la masse de la gousse de caroube (Petit et al., 1995 ; Bouzouita et al., 2007). Leur nombre varie généralement entre 10 et 15. Les graines de caroube ont longtemps été employées comme unité de mesure des diamants et des pierres précieuses, un carat correspondant à la masse

d'une graine de caroube, soit environ 200 mg (Dakia, 2003).

Les graines de caroube (**Figure 1**) sont constituées de trois éléments : les téguments, la radicule et l'endosperme. Les téguments sont une enveloppe résistante de couleur brune (Dakia et al., 2007 ; Dakia et al., 2008). Cette coque représente 30 à 35 % du poids sec de la graine (Neukom, 1988). Au centre de la graine se trouve une radicule (ou embryon). Elle représente entre 15 et 30 % du poids sec de la graine (Neukom, 1988). Celle-ci possède une valeur énergétique élevée due à son taux important de protéines principalement solubles dans l'eau et de lipides majoritairement insaturés. Elle est employée pour la nutrition du bétail et comme aliment diététique (Dakia et al., 2007). La radicule contient également un certain nombre d'enzymes susceptibles de s'attaquer à l'endosperme lors, par exemple, d'un processus de germination (Dea et al., 1975) : les endo-1,4- β -mannanases, les α -galactosidases, les β -mannosidases.

L'endosperme se trouve entre les téguments et la radicule. Il représente 40 à 50 % du poids de la graine et constitue la matière de base utilisée dans

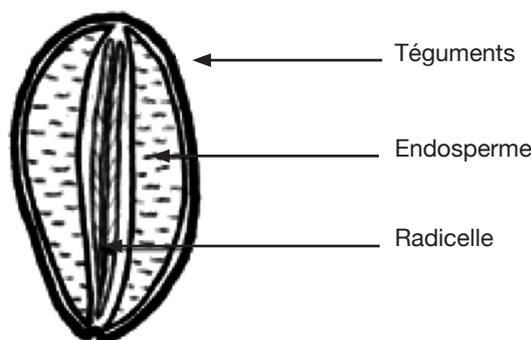


Figure 1. Coupe transversale d'une graine de caroube (d'après Dakia et al., 2008) — *Cross section in a carob seed* (according to Dakia et al., 2008).

la fabrication de la gomme de caroube (Neukom, 1988). Il s'agit de polysaccharides de réserve que l'on retrouve dans l'endosperme translucide de nombreuses graines de plantes légumineuses dont celles de caroube. Ces polysaccharides sont appelés galactomannanes (Daas et al., 2000). Les galactomannanes sont des hémicelluloses présentes dans le règne végétal. Ils sont produits en quantités variables notamment dans l'endosperme d'une grande proportion des graines de légumineuses (McCleary et al., 1974). Leur fonction est de servir de réserve de nourriture à l'embryon lors de la germination. Les galactomannanes sont constitués d'une chaîne principale de résidus D-mannopyranoses liés en β -(1 \rightarrow 4) sur laquelle se greffent des résidus D-galactopyranoses uniques grâce à une liaison de type α -(1 \rightarrow 6) (**Figure 2**) (McCleary, 1980 ; Moreira et al., 2008). Le rapport mannose/galactose des galactomannanes et la distribution des résidus galactose le long de la chaîne de mannose sont spécifiques de l'espèce végétale (McCleary, 1988). Ces deux éléments, ainsi que la longueur des chaînes, vont permettre d'établir une distinction entre les différents types de galactomannanes.

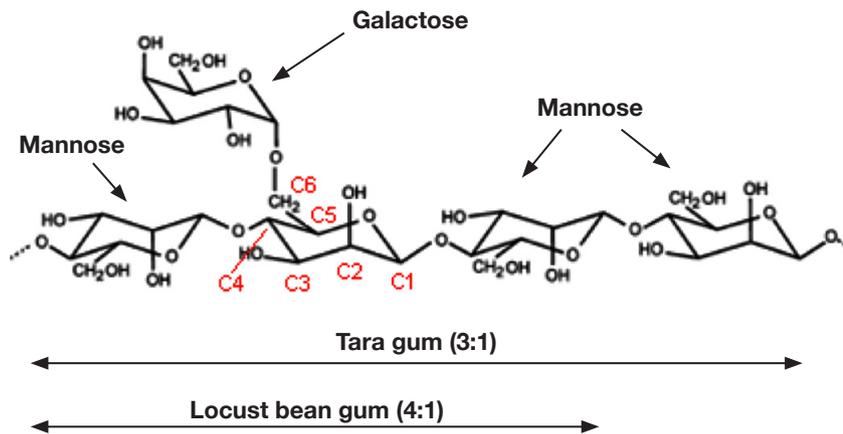


Figure 2. Structure des galactomannanes de la gomme de caroube et de la gomme tara (d'après Sittikijyothin et al., 2005) — *Locust bean gum and tara gum galactomannan's structure (according to Sittikijyothin et al., 2005).*

Le rapport mannose/galactose (M/G) est généralement déterminé par une hydrolyse acide des galactomannanes, suivie d'une dérivatisation des monosaccharides obtenus en acétates d'alditols (Blakeney et al., 1983). Les dérivés sont ensuite analysés en chromatographie en phase gazeuse. Le rapport M/G peut varier de 10 à 1 en fonction de l'espèce végétale (Daas et al., 2000). Les galactomannanes de caroube possèdent un M/G de 4, alors que pour la gomme de guar et la gomme tara – deux autres gommes commercialement importantes – il est de 2 et 3 respectivement (**Tableau 2**) (Parvathy et al., 2005). On utilise également dans la littérature le degré de substitution en galactose (DS_{Gal}) à la place du rapport M/G. Il correspond à la masse de galactose divisée par la masse de mannose ($DS_{Gal} = G/M = 1/(\text{ratio M/G})$). Le rapport M/G d'un galactomannane peut varier au sein des galactomannanes de caroube. Il est dépendant des conditions climatiques, de la composition du sol, de la variété et de l'âge de l'arbre (Dakia, 2009) et des conditions de culture (Bouzouita et al., 2007).

Plus que le rapport M/G, la répartition des unités galactose va influencer considérablement les propriétés des galactomannanes en solution aqueuse. Différents types de répartition, existant dans la nature, ont été proposés dans la littérature : la disposition régulière, la disposition aléatoire et la disposition en blocs uniformes (**Figure 3**). Des intermédiaires entre ces trois structures « types » peuvent également exister (Dea et al., 1975). Des études complémentaires ont permis de définir plus précisément la structure des galactomannanes de caroube. Celles-ci ont été réalisées par dégradation alcaline (Baker et al., 1975), par oxydation au periodate (Painter et al., 1979), par résonance magnétique nucléaire du ^{13}C (Grasdalen et al., 1980 ; Gidley et al., 1991 ; Izydorczyk et al., 1996), ainsi

Tableau 2. Ratios mannose/galactose des principales légumineuses utilisées industriellement — *Ratios mannose/galactose of the main Fabaceae used in industry.*

Source	Ratio mannose/galactose	Référence
<i>Schizolobium parahybum</i>	3 : 1	Bresolin et al., 1997
<i>Mimosa scrabella</i>	1,1 : 1	Bresolin et al., 1997
<i>Cyamopsis tetragonoloba</i> (gomme de guar)	2 : 1	Parvathy et al., 2005
<i>Caesalpinia spinosa</i> (gomme tara)	3 : 1	Parvathy et al., 2005
<i>Ceratonia siliqua</i> (gomme de caroube)	4 : 1	Parvathy et al., 2005
<i>Trigonella foenum-graecum</i> (gomme de fenugrec)	1 : 1	Garti et al., 1997

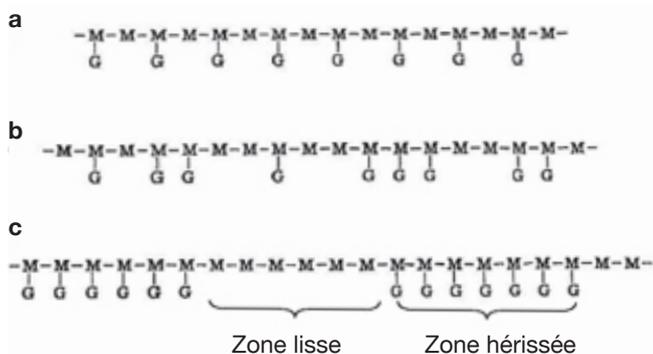


Figure 3. Distribution des résidus galactoses sur la chaîne de mannoses (d'après Dea et al., 1975) — *Galactose distribution along the main chain of mannose (adapted from Dea et al., 1975)*.

a : répartition régulière — *regular arrangement* ; **b :** répartition aléatoire — *random distribution* ; **c :** répartition en blocs uniformes — *distribution in uniform blocks* ; **M :** mannose — *mannose* ; **G :** galactose — *galactose*.

que par hydrolyse enzymatique suivie d'une simulation par ordinateur (McCleary et al., 1985 ; McCleary, 1991 ; Daas et al., 2000). Sur base de ces résultats, il apparaît que la structure fine des galactomannanes de caroube serait constituée de zones « lisses » faiblement substituées et de zones « hérissées » beaucoup plus denses en galactoses latéraux, sans pour autant qu'ils soient systématiquement adjacents.

La masse moléculaire est également un élément important à prendre en compte dans la caractérisation de la structure moléculaire d'un polysaccharide. Elle est en effet susceptible de modifier les propriétés physiques du polymère en solution. Les galactomannanes, comme beaucoup d'autres polysaccharides naturels, ont tendance à être polydispersés et, par conséquent, sont décrits par une masse moléculaire moyenne (Dea et al., 1975 ; Pollard et al., 2006a). La masse moléculaire moyenne en nombre (M_n) reprise généralement dans la littérature est située aux environs de 300 000 Daltons (Dea et al., 1975 ; McCleary et al., 1976).

3. EXTRACTION, PURIFICATION ET COMPOSITION DE LA GOMME

Les galactomannanes de caroube sont fort recherchés par l'industrie alimentaire pour leurs propriétés texturantes. Dans ce but, l'endosperme de la graine de caroube peut être extrait et broyé pour donner naissance à une poudre blanche commercialisée sous le nom de « gomme de caroube ». Le procédé d'extraction utilisé doit veiller à ne pas dégrader les galactomannanes afin que leurs propriétés technofonctionnelles demeurent intactes, tout en garantissant une certaine pureté à la

gomme obtenue. Les enzymes résiduelles doivent également être dénaturées afin de ne pas hydrolyser les galactomannanes lors de leur mise en solution aqueuse.

Les détails des techniques d'extraction et d'autres traitements de la gomme de caroube sont relativement confidentiels. On sait toutefois que les procédés d'extraction classiques des gommes naturelles ne peuvent être appliqués à la caroube à cause de l'extrême dureté de ses graines (Cui, 2001 ; Azero et al., 2002). Un procédé industriel général d'extraction et de purification adapté à la gomme de caroube à partir des gousses et plus spécifiquement des graines de caroube est proposé à la **figure 4**. Il comporte plusieurs grandes étapes.

3.1. Étape 1 : la séparation des graines

Dans un procédé classique, les cosses sont laissées à sécher pendant environ un mois. Elles sont ensuite écrasées dans les machines d'égrenage, qui sont habituellement des broyeurs à marteaux. Ces broyeurs-concasseurs sont assortis d'une série de tamis qui trient les morceaux cassés selon la taille. Les graines sont encore séparées des morceaux de cosses de même taille en soufflant de l'air dans le mélange (Dakia, 2003).

3.2. Étape 2 : l'élimination des téguments

Une fois les graines récoltées, la séparation de l'endosperme constitue le traitement primaire de la production de gomme. Les principes de base du processus sont une décultivation et une dégermination. La mise en œuvre d'un tel protocole est difficile en raison de la solidité et de la dureté des téguments. Le processus de décultivation consiste à enlever les téguments. Pour ce faire, quatre techniques principales peuvent être utilisées : un traitement chimique, un traitement physique, un traitement mécanique et un traitement par trempage.

Le traitement chimique consiste à carboniser les enveloppes coriaces à l'aide d'un traitement à l'acide sulfurique (Wielinga, 1990). Un lavage et un brossage permettent l'élimination des fragments restants. Ce processus permet l'obtention d'une gomme de caroube blanche et de haute viscosité (Kawamura, 2008). Toutefois, ce traitement entame et altère partiellement l'endosperme dans ses caractéristiques physiques et chimiques (Dakia, 2003). Le procédé physique repose sur l'éclatement plus ou moins complet de l'enveloppe par rôtissage (100 °C). Celle-ci se détache ensuite facilement du reste de la graine dans des machines abrasives (Wielinga, 1990). Yousif et al. (2000) recommandent un rôtissage de 60 min à 150 °C pour obtenir une gomme de bonne qualité. La gomme de caroube obtenue par rôtissage est toutefois un peu plus foncée (Kawamura, 2008). Les hautes températures

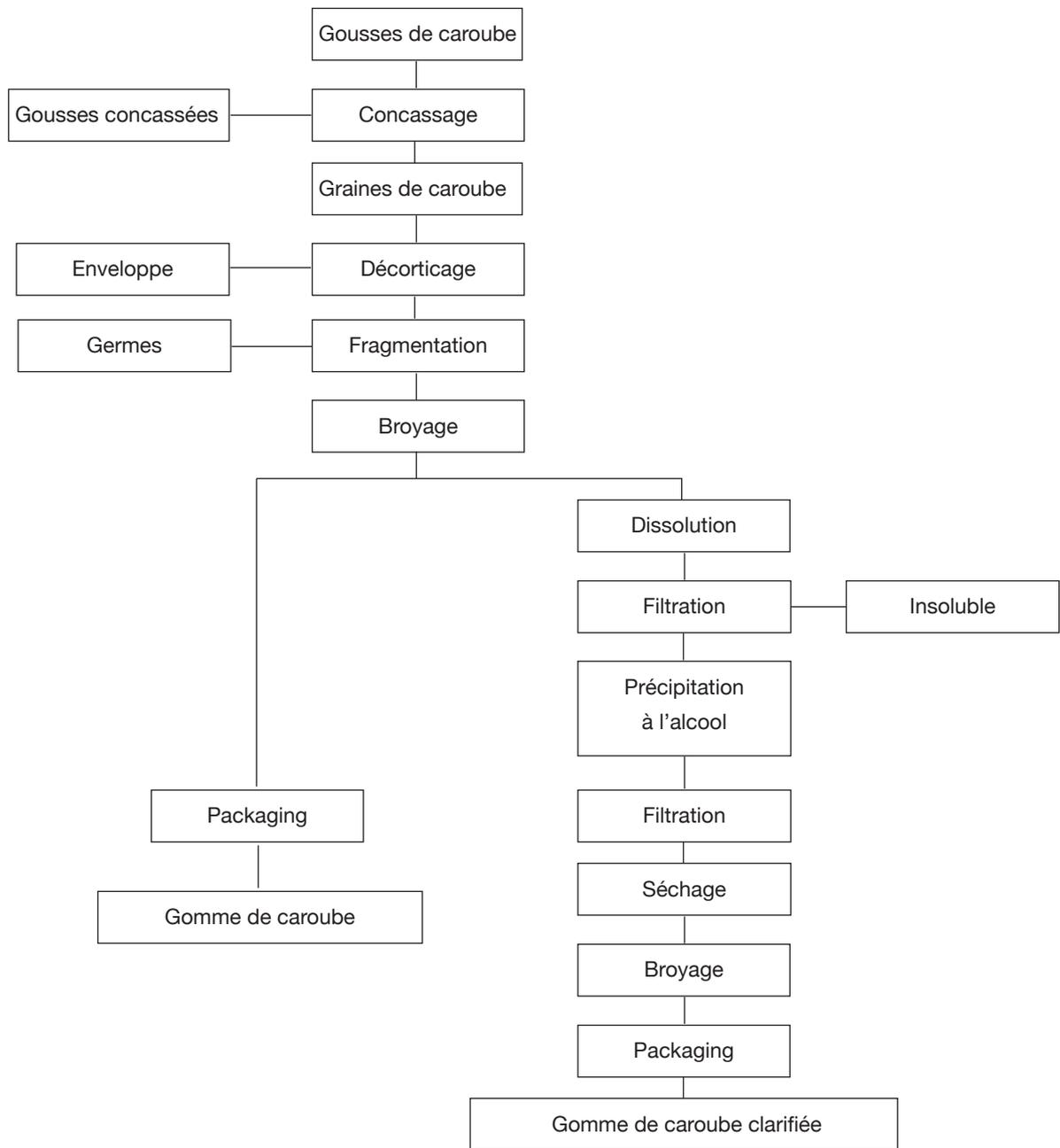


Figure 4. Schéma du processus d'extraction et de purification de la gomme de caroube (d'après Kawamura, 2008) — *Process of extraction and solubilisation of the locust bean gum (according to Kawamura, 2008).*

altèrent cependant l'endosperme ainsi que l'embryon et entraînent une séparation difficile des constituants. Le traitement mécanique va séparer la coque du mucilage de la graine, en passant ces dernières à travers des broyeurs à marteaux ou autre décortiqueuse et appareil dégermeur. Dans ce cas, il est possible d'obtenir des mucilages purs et intacts, en empêchant les fractions de coques et de germes de se retrouver mélangées à l'endosperme (Dakia, 2003). Une autre technique consiste à soumettre des graines entières ou en morceaux à un trempage dans une solution aqueuse

puis à une congélation (Hefti, 1953). La congélation du liquide absorbé augmente le volume des graines, entraînant un détachement substantiel des différents constituants, à tel point que la coque et l'embryon sont facilement enlevés par passage dans un séparateur mécanique.

3.3. Étape 3 : la dégermination

L'étape suivante consistera en l'élimination du germe. Celui-ci est écrasé par broyage mécanique et éliminé

principalement par tamisage. Il ne reste alors plus que les endospermes qui sont broyés en fines particules pour obtenir la gomme de caroube (Ind. Agrícolas levantinas, 1954).

Les rendements en endospermes, moulus et transformés en gomme de caroube, sont extrêmement variables et dépendent tant du procédé d'extraction utilisé que du cultivar ou des conditions de climat et de sol lors de la culture du caroubier (Dea et al., 1975). Généralement, il avoisine les 70 % en masse. Les contaminants principaux de cette méthode sont les arabinoxylyanes, présents à moins de 3 %. Il est possible de les éliminer enzymatiquement (Dakia, 2003). Des protéines sont également présentes à raison de 2 %. La dégradation enzymatique des protéines est aussi utilisée pour la purification des galactomannanes. Brummer et al. (2003) ont utilisé la pronase pour réduire la teneur en protéines de 2,36 % à 0,57 % de la gomme de fenugrec, proche de la caroube. La gomme de caroube subit parfois des traitements industriels ultérieurs dans lesquels elle est modifiée chimiquement, physiquement ou mélangée à d'autres gommages pour donner un produit final avec des propriétés physiques et fonctionnelles améliorées ou une solubilité accrue (Dakia, 2003).

3.4. Étape 4 : la clarification

Des traitements de purification (appelés également clarification) ont ensuite lieu dans le but d'éliminer les odeurs de la farine brute, les impuretés et les enzymes endogènes (Lopez da Silva et al., 1990). Pour ce faire, la gomme de caroube subit une clarification. Celle-ci réside en une solubilisation dans l'eau (Kawamura, 2008). Parfois, des solutions de soude diluées ou d'acide acétique à 1 % sont utilisées (Dea et al., 1975). Plus la température de solubilisation est élevée, plus la matière en solution est importante. Le rendement de purification sera donc amélioré en augmentant la température. Le matériel insoluble est ensuite éliminé à l'aide d'une étape de filtration (Kawamura, 2008) ou de centrifugation (Dea et al., 1975).

Enfin, la gomme de caroube est précipitée soit à l'aide d'un non-solvant du polysaccharide (miscible à l'eau), soit par formation de complexes métalliques. Le précipité est récupéré par filtration, séché et broyé en fines particules. Cette dernière opération peut être répétée plusieurs fois selon le degré de pureté attendu (Dea et al., 1975). La gomme de caroube obtenue est dite clarifiée (extraite et purifiée) (Kawamura, 2008).

La précipitation à l'éthanol est la plus largement utilisée (McCleary et al., 1974). La purification par précipitation à l'isopropanol, qui est peu utilisée dans les laboratoires, est une méthode de choix en génie des procédés industriels (Dea et al., 1975 ; Alves et al., 1999 ; Andrade et al., 1999 ; Azero et al., 2002). La

précipitation au méthanol existe également (Rafique et al., 1950). Certains auteurs utilisent également la précipitation à l'aide des complexes de cuivre (Andrews et al., 1952 ; McCleary et al., 1974) ou de baryum (Kapoor, 1972). Dans ces complexes, les ions cuivre et baryum établissent des interactions entre les groupes *cis*-hydroxyles des résidus de mannose (Lopez da Silva et al., 1990). Toutefois, les plus faibles masses moléculaires observées lors de ce type de purification pourraient s'expliquer par un clivage des chaînes de molécules de la gomme. Cela aura un impact évident sur les propriétés finales du produit (Dea et al., 1975). De plus, cette méthode ne permet pas d'éliminer les arabinoxylyanes, car ils précipitent (Dakia, 2003). Il existe enfin une précipitation dans du tampon borate à l'aide de bromure de cétyltriméthylammonium (cetavlon). Ici également, le groupement hydroxyle en position *cis* est essentiel pour la précipitation (Lopez da Silva et al., 1990).

Les compositions de gommages de caroube brutes et clarifiées ont été investiguées par certains auteurs (Lopez da Silva et al., 1990 ; Andrade et al., 1999 ; Azero et al., 2002). Il ressort de leurs résultats (**Tableau 3**) que la gomme de caroube est principalement composée de galactomannanes (environ 93 %, déterminés par différence gravimétrique), de protéines (environ 4-5 %), de lipides (1 %) et de minéraux (1 %). La purification permet d'éliminer la cellulose, la lignine et les lipides, ainsi que de diminuer considérablement les quantités de minéraux et de protéines (Lopez da Silva et al., 1990).

4. INFLUENCE DE LA PURIFICATION SUR LES PROPRIÉTÉS DE LA GOMME

4.1. La solubilisation

Le point crucial du processus de clarification se situe lors des étapes de filtration ou de centrifugation. C'est à ce niveau que les matériaux solubles et insolubles seront séparés. La solubilité est donc le facteur clé qui permettra de sélectionner ou non des galactomannanes de caractéristiques données qui généreront des gommages aux propriétés et aux applications différentes.

La solubilité de la gomme de caroube n'est pas liée à une quelconque fusion de zones cristallines (Gidley et al., 1991). D'après Pollard et al. (2006b), la dissolution correspond principalement à une extraction polymère-solvant. Elle peut ainsi être représentée par le partitionnement thermodynamique des chaînes de polymères entre la phase solide amorphe du polymère, gonflée par le solvant et la phase de solvant pure environnante. La solubilité des galactomannanes est liée aux caractéristiques structurales de la gomme de caroube. Le degré de substitution en galactose (DS_{Gal})

Tableau 3. Composition chimique (en %) de la gomme de caroube (LBG) brute et purifiée exprimée par rapport à la matière sèche — *Chemical composition (%) relative to the dry matter of crude and purified locust bean gum (LBG).*

	Lopez da Silva et al., 1990		Andrade et al., 1999	
	LBG brute	LBG purifiée	LBG brute	LBG purifiée
Cendres	0,71 ± 0,01	0,25 ± 0,01	0,95	0,28
Protéines	4,66 ± 0,33	0,78 ± 0,01	4,64	0,64
Lipides	0,92 ± 0,08	traces	n.d	n.d
Cellulose et lignine	1,55 ± 0,08	0,19 ± 0,04	n.d	n.d
Galactomannanes	92,2	98,8	94,4	99,1
TOTAL	100	100	100	100
% Matière sèche	91,51 ± 0,03	87,3 ± 0,03	88,7	92,5

et la masse moléculaire (M_w) sont les principaux paramètres dont l'influence a été étudiée (Pollard et al., 2006a ; Pollard et al., 2007), mais la distribution des galactoses le long de la chaîne semble également impacter la mise en solution.

Sans les groupements latéraux présents à une certaine concentration, le polysaccharide isolé est instable en solution et va cristalliser ou précipiter (Pollard et al., 2007). En réalité, les zones non substituées en galactose des galactomannanes sont le siège d'interactions intra- et inter-moléculaires générées par la présence de ponts hydrogène entre ces zones conduisant, dans les cas extrêmes, à l'agrégation et à la précipitation (Brummer et al., 2003). Les galactomannanes avec un rapport M/G généralement en dessous de 2,5, tels que la gomme de guar (2) ou de fenugrec (1,1), sont considérés comme solubles dans des solutions aqueuses diluées ou semi-diluées et thermodynamiquement stables. Plus le degré de substitution en galactose est élevé, plus la solubilité dans l'eau des galactomannanes est augmentée. Pour certains auteurs, les résidus galactopyranoses représentent donc les parties hydrophiles du galactomannane (Kök et al., 1999 ; Moreira et al., 2008). Ils pourraient cependant également empêcher la formation de liaison coopérative entre les segments de mannoses libres. Les galactomannanes de rapport M/G intermédiaires à élevés (> 2,5) sont constitués de chaînes qui affichent une solubilité partielle dépendant de la valeur exacte du rapport M/G (Pollard et al., 2006a). Les galactomannanes de caroube font partie de cette dernière catégorie et sont généralement considérés comme partiellement solubles (Richardson et al., 1999). Certains constituants se dissolvent donc directement dans de l'eau froide, mais une dissolution totale accompagnée d'une viscosité importante nécessitent une haute température et un long trempage (Pollard et al., 2006a) ou une forte agitation (Kök et al., 1999).

La température de solubilisation, lors de la clarification, va donc influencer considérablement les

caractéristiques de la gomme, en sélectionnant des galactomannanes plus ou moins riches en galactose.

D'après Pollard et al. (2007), approximativement la moitié – en masse – d'un échantillon de gomme de caroube brute est soluble à 5 °C, les autres constituants se solubilisent progressivement avec l'augmentation de la température. Plusieurs études montrent ainsi que le DS_{Gal} est inversement lié aux températures de fractionnement et de solubilisation (**Figure 5**). Les fractions solubilisées à des températures de plus en plus hautes contiennent de moins en moins de galactose (McCleary et al., 1985 ; Gaisford et al., 1986 ; Richardson et al., 1998). À l'inverse, les fractions solubles à froid sont donc celles qui contiennent le plus de galactose (Pollard et al., 2007).

Pollard et al. (2007) ont également constaté une tendance à obtenir de plus hauts poids moléculaires (M_w) lorsque la température de dissolution augmente, tel que mis en évidence par chromatographie d'exclusion stérique couplée à une triple détection (**Figure 6**). Les composants polysaccharidiques qui se dissolvent avec une augmentation progressive de la température possèdent des chaînes de plus en plus longues, de l'ordre de 1 000 000 daltons. Ils fournissent donc une contribution positive à la masse moléculaire globale. Par conséquent, une gamme assez large de valeurs peut être observée, dans le même matériel, selon la température de dissolution (Pollard et al., 2007).

4.2. Le fractionnement

Dès lors, les propriétés de solubilité de la gomme de caroube sont également utilisées pour la séparer en fractions de structures fines différentes (DS_{Gal} et M_w différents) (Gaisford et al., 1986 ; Izydorczyk et al., 1996 ; Pollard et al., 2006a). Deux techniques de fractionnement existent. La première se réalise de la même manière que l'étape de clarification d'un procédé industriel de purification de la gomme de caroube. La farine brute d'endosperme de caroube est

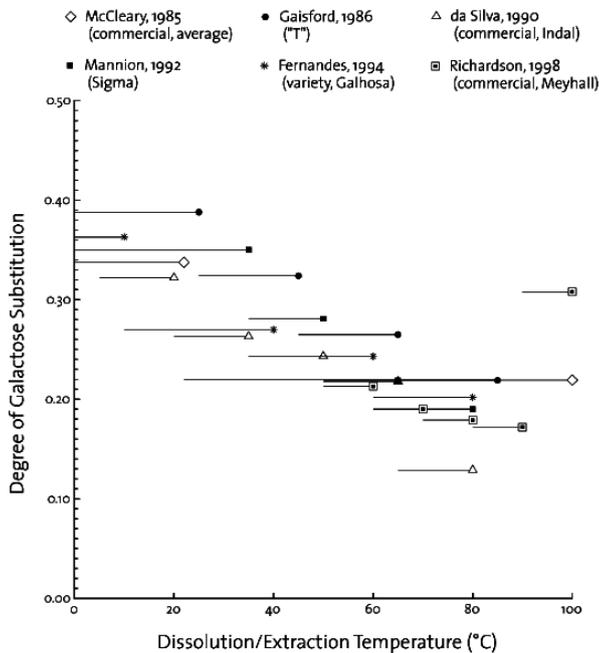


Figure 5. Composition moyenne en monomère de fractions de galactomannanes obtenues sur une large variété de sources de gomme de caroube, parfois par fractionnement de solubilité — Average composition in monomer of galactomannan's fractions, obtained from a wide variety of sources of locust bean gum, sometimes fractionated by solubility (Pollard et al., 2006a. Copyright © 2013 Elsevier Masson SAS. All rights reserved).

dissoute à des températures données et rigoureusement contrôlées, puis les fractions solubles et insolubles à ces températures sont séparées par centrifugation. Enfin, le surnageant soluble est ensuite précipité par un volume d'éthanol afin de récupérer la fraction spécifique. Wielinga (1990) met toutefois en évidence le fait que le volume d'éthanol utilisé influence la composition de la fraction récoltée. En effet, pour une température de solubilisation donnée, un surnageant obtenu après centrifugation donnera une gomme contenant une proportion croissante de galactose au fur et à mesure que la quantité d'éthanol utilisée lors de la précipitation augmente. L'adjonction de grands volumes d'éthanol permet donc de précipiter une fraction plus soluble de la gomme (car plus riche en galactoses latéraux). La seconde, une technique par épuisement (soustractive), consiste à réextraire successivement le même échantillon dans des volumes d'eau de températures croissantes, pour générer les fractions suivantes, jusqu'à ce que plus aucune matière supplémentaire ne puisse être extraite (Pollard et al., 2006a). Elle donne également des fractions de caractéristiques plus marquées que dans le premier cas de fractionnement, car la matière récupérée correspond à celle possédant les caractéristiques structurales la rendant soluble

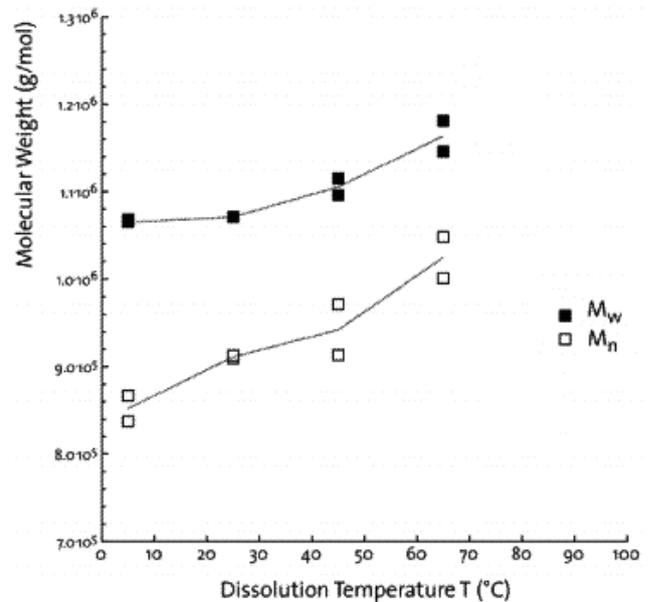


Figure 6. Masse moléculaire (déterminée par SEC) de fractions de gomme de caroube commerciale, solubilisée entre 5 °C et 65 °C (Pollard et al., 2006b) — Molecular weight (determined by SEC) of commercial locust bean gum fractions solubilized between 5°C and 65°C (Pollard et al., 2006b).

dans une gamme étroite de température. En utilisant la première technique de fractionnement, une grande quantité de galactomannanes solubles à de plus basses températures vient enrichir la fraction concernée.

4.3. La relation structure-fonction

Le choix d'une température de travail lors de la clarification ou du fractionnement influera donc considérablement sur la structure chimique de la gomme obtenue. Une température de dissolution plus importante permettra de produire une gomme, clarifiée ou fractionnée, non seulement avec un rendement plus important, mais aussi avec une plus grande proportion de galactomannanes longs et plus pauvres en galactose. Ces fractions seront les plus efficaces pour promouvoir la gélification et les interactions synergétiques avec d'autres biopolymères (Pollard et al., 2006a). Des compositions de gomme différentes, dues à des structures différentes, génèrent ainsi des propriétés physiques et fonctionnelles différentes en solution aqueuse (Gaisford et al., 1986 ; McCleary, 1988 ; Izydorczyk et al., 1996 ; Pollard et al., 2006a). De nombreuses études permettent d'établir un lien entre la structure – principalement la longueur des chaînes et le rapport M/G – et les propriétés du galactomannane en solution.

En effet, la viscosité intrinsèque d'une solution est proportionnelle à sa masse moléculaire moyenne (Richardson et al., 1998). Ainsi, plus un galactomannane possède de chaînes longues, plus sa viscosité en solution est importante. Le comportement visqueux, bien que dépendant de la concentration, est également fortement influencé par le rapport M/G. Ainsi, des polysaccharides en possédant un faible présentent une viscosité peu importante (Dea et al., 1975 ; Doublier et al., 1981 ; Rizzo et al., 2004). L'étude de la viscoélasticité révèle aussi une influence de la structure du galactomannane sur les propriétés de la solution. Des chaînes plus longues et moins substituées généreront plus rapidement un comportement élastique (Fernandez, 1994 ; Lazaridou et al., 2000). Enfin, des structures différentes de galactomannanes se comportent différemment lors de la formation de gels par association à d'autres polysaccharides tels que les κ -carraghénanes (Dea et al., 1975 ; Rochas et al., 1990), l'agarose (Dea et al., 1975) et – le modèle le plus étudié – le xanthane. Il a ainsi été démontré que le degré d'interaction avec le xanthane est inversement proportionnel au DS_{Gal} (Dea et al., 1977 ; McCleary et al., 1981). La tendance observée est la même lors de l'association aux κ -carraghénanes et à l'agarose. Ces comportements physiques résultent principalement des interactions intra-, inter-moléculaires et inter-polyholosidiques, favorisés par les zones pauvres en galactose (Dea et al., 1986).

5. CONCLUSION

Le procédé industriel de fabrication et de purification de la gomme de caroube conditionne les caractéristiques de celle-ci et, par conséquent, ses potentialités d'applications. Dans ce procédé, la température de solubilisation des polysaccharides est le paramètre critique à contrôler.

Une température relativement basse sélectionne des galactomannanes de faibles masses molaires et de contenu en galactose important. Ces fibres ont un caractère hydrophile plus marqué. *A contrario*, une température de travail plus importante permet de solubiliser des galactomannanes plus longs et très pauvres en galactose, qui apporteront leurs contributions aux caractéristiques globales de la gomme obtenue. Cette gomme possédera une masse moléculaire moyenne plus importante et un degré de substitution en galactose plus faible. Ces deux types de gomme présenteront des propriétés physiques différentes en solutions aqueuses. Les premières possèdent une viscosité plus faible mais immédiate (car solubles à faible température), tandis que les secondes présentent un comportement visqueux plus marqué mais nécessitent un chauffage préalable. Ces dernières

sont également plus efficaces dans la formation de gels par association à d'autres polysaccharides, grâce aux possibilités d'interactions plus nombreuses qu'elles offrent de par leurs structures.

Bibliographie

- Alves M.M., Antonov Yu A. & Gonçalves M., 1999. The effect of phase viscosity ratio on the rheology of liquid two phase gelatin-locust bean gum systems. *Int. J. Biol. Macromol.*, **26**(5), 333-336.
- Andrade C., Azero E., Luciano L. & Gonçalves M., 1999. Solution properties of the galactomannans extracted from the seeds of *Caesalpinia pulcherrima* and *Cassia javanica*: comparison with locust bean gum. *Int. J. Biol. Macromol.*, **26**, 181-185.
- Andrews P., Hough L. & Jones J., 1952. Mannose-containing polysaccharides. I. The galactomannans of lucerne and clover seeds. *J. Am. Chem. Soc.*, **74**, 4029-4032.
- Avallone R., Plessi M., Baraldi M. & Monzani A., 1997. Determination of chemical composition of carob (*Ceratonia siliqua*): protein, fat, carbohydrates, and tannins. *J. Food Compos. Anal.*, **10**, 166-172.
- Azero E.G. & Andrade C.T., 2002. Testing procedure for galactomannan purification. *Polym. Test.*, **21**, 551-556.
- Baker C. & Whistler R., 1975. Distribution of D-galactosyl groups in guaran and locust-bean gum. *Carbohydr. Res.*, **45**, 237-243.
- Biner B. et al., 2007. Sugar profiles of the pods of cultivated and wild types of carob bean (*Ceratonia siliqua* L.) in Turkey. *Food Chem.*, **100**, 1453-1455.
- Blakeney A., Harris P., Henry R. & Stone B., 1983. A simple and rapid preparation of alditol acetates for monosaccharide analysis. *Carbohydr. Res.*, **113**, 291-299.
- Bouzouita N. et al., 2007. The analysis of crude and purified locust bean gum: a comparison of samples from different carob tree populations in Tunisia. *Food Chem.*, **101**, 1508-1515.
- Bresolin T. et al., 1997. Viscosimetric studies on xanthan and galactomannan systems. *Carbohydr. Polym.*, **33**, 131-138.
- Brummer Y., Cui W. & Wang Q., 2003. Extraction, purification and physicochemical characterization of fenugreek gum. *Food Hydrocolloids*, **17**, 229-236.
- Correia P. & Martins-Loucao M., 2005. The use of macronutrients and water in marginal Mediterranean areas: the case of carob tree. *Field Crops Res.*, **91**, 1-6.
- Cui S., 2001. *Polysaccharide gum from agricultural products: processing, structures and functionality*. Lancaster, PA, USA: Technomic Publishing Co.
- Daas P., Schols H. & de Jongh H., 2000. On the galactosyl distribution of commercial galactomannans. *Carbohydr. Res.*, **329**, 609-619.
- Dakia P., 2003. *Extraction et caractérisation de la gomme de caroube (Ceratonia siliqua L.)*. Mémoire : Faculté

- universitaire des Sciences agronomiques de Gembloux (Belgique).
- Dakia P., Wathelet B. & Paquot M., 2007. Isolation and chemical evaluation of carob (*Ceratonia siliqua* L.) seed germ. *Food Chem.*, **102**, 1368-1374.
- Dakia P. et al., 2008. Composition and physicochemical properties of locust bean gum extracted from whole seeds by acid and water dehuling pre-treatment. *Food Hydrocolloids*, **22**, 807-818.
- Dakia P., 2009. *Propriétés chimiques et rhéologiques des polysaccharides de l'endosperme des graines de caroubier (Ceratonia siliqua L.)*. Thèse de doctorat : Faculté universitaire des Sciences agronomiques de Gembloux (Belgique).
- Dea I. & Morrison A., 1975. Chemistry and interactions of seed galactomannans. *Adv. Carbohydr. Chem. Biochem.*, **31**, 241-312
- Dea I. et al., 1977. Association of like and unlike polysaccharides: mechanism and specificity in galactomannans, interacting bacterial polysaccharides, and related systems. *Carbohydr. Res.*, **57**, 249-272.
- Dea I., Clark A. & McCleary B., 1986. Effect of the molecular fine structure of galactomannans on their interaction properties – the role of unsubstituted sides. *Food Hydrocolloids*, **1**, 129-140.
- Doublier J. & Launay B., 1981. Rheology of galactomannan solutions: a comparative study of guar gum and locust bean gum. *J. Texture Stud.*, **12**, 151-172.
- FAOSTAT, <http://faostat.fao.org/>, (13/03/2010).
- Fernandes P., 1994. Determination of the physical functionality of galactomannans in kappa-carrageenan/galactomannan mixed systems by periodate oxidation. *Food Chem.*, **49**, 367-371.
- Gaisford S., Harding S., Mitchell J. & Bradley T., 1986. A comparison between the hot and cold water soluble fractions of two locust bean gum samples. *Carbohydr. Polym.*, **6**, 423-442.
- Garti N. et al., 1997. Fenugreek galactomannans as food emulsifiers. *Lebensm. Wiss. Technol.*, **30**, 303-311.
- Gidley M., McArthur A. & Underwood D., 1991. ¹³C NMR characterization of molecular structures in powders, hydrates and gels of galactomannans and glucomannans. *Food Hydrocolloids*, **5**, 129-140.
- Grasdalen H. & Painter T., 1980. NMR studies of composition and sequence in legume-seed galactomannans. *Carbohydr. Res.*, **81**, 59-66.
- Hefti M., 1953. *Process for the extraction of mucilages from seeds*. UK Patent application GB19530014813 19530527. 1953-05-27.
- Ind Agrícolas Levantinas, 1954. *Improvements relating to the treatment of carob beans*. UK Patent application GB19540017447 19540614. 1954-06-14.
- Izydorczyk M. & Biliaderis C., 1996. Gradient ammonium sulphate fractionation of galactomannans. *Food Hydrocolloids*, **10**, 295-300.
- Kapoor V., 1972. A galactomannan from the seeds of *delonix regia*. *Phytochemistry*, **11**, 1129-1132.
- Kawamura Y., 2008. *Carob bean gum. Chemical and Technical Assessment for the 69th JECFA*, http://www.fao.org/fileadmin/templates/agns/pdf/jecfa/cta/69/Carob_bean_gum.pdf, (08/05/12).
- Kök M., Hill S. & Mitchell J., 1999. Viscosity of galactomannans during high temperature processing: influence of degradation and solubilisation. *Food Hydrocolloids*, **13**, 535-542.
- Lazaridou A., Biliaderis C. & Izydorczyk M., 2000. Structural characteristics and rheological properties of locust bean galactomannans: a comparison of samples from different carob tree populations. *J. Sci. Food Agric.*, **81**, 68-75.
- Lopez da Silva J. & Gonçalves M., 1990. Studies on a purification method for locust bean gum by precipitation with isopropanol. *Food Hydrocolloids*, **4**, 277-287.
- McCleary B., 1980. Hydrolysis of galactomannans by α -D-galactosidase and β -D-mannanase. In: Marshall J.J., ed. *Mechanisms of saccharide polymerization and depolymerisation*. New York, USA: Academic Press, 285-300.
- McCleary B., 1988. Guar and carob galactomannans. *Methods Enzymol.*, **160**, 523-527.
- McCleary B., 1991. Enzymic analysis of the fine-structure of galactomannan. *Methods Carbohydr. Chem.*, **10**.
- McCleary B. & Matheson N., 1974. A-D-galactosidase activity and galactomannan and galactosylsucrose oligosaccharide depletion in germinating legume seeds. *Phytochemistry*, **13**, 1747-1757.
- McCleary B., Matheson N. & Small D., 1976. Galactomannans and galactoglucomannan in legume seed endosperms: structural requirements for β -mannanase hydrolysis. *Phytochemistry*, **15**, 1111-1117.
- McCleary B., Amado R., Waibel R. & Neukom H., 1981. Effect of galactose content on the solution and interaction properties of guar and carob galactomannans. *Carbohydr. Res.*, **92**, 269-285.
- McCleary B., Clark A., Dea I. & Rees D., 1985. The fine structures of carob and guar galactomannans. *Carbohydr. Res.*, **139**, 237-260.
- Moreira L. & Filho E., 2008. An overview of mannan structure and mannan degrading enzyme systems. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **79**, 165-178.
- Neukom H., 1988. Carob bean gum: properties and applications. In: Fito P. & Mulet A., eds. *Proceedings of the II International Carob Symposium, 29 September-1 October 1987, Valencia, Spain*, 551-555. Valencia, Spain: Generalitat Valenciana.
- Painter T., Gonzalez J. & Hemmer P., 1979. The distribution of D-galactosyl groups in guaran and locust bean gum: new evidence from periodate oxidation. *Carbohydr. Res.*, **69**, 217-226.

- Parvathy K., Susheelamma N., Tharanathan R. & Gaonkar A., 2005. A simple non-aqueous method for carboxymethylation of galactomannans. *Carbohydr. Polym.*, **62**, 137-141.
- Petit M. & Pinilla J., 1995. Production and purification of a sugar syrup from carob pods. *Lebensm. Wiss. Technol.*, **28**, 145-152.
- Pollard M. & Fischer P., 2006a. Partial aqueous solubility of low galactose-content galactomannans – What is the quantitative basis? *Curr. Opin. Colloid Interface Sci.*, **11**, 184-190.
- Pollard M. et al., 2006b. Why are locust bean galactomannans partially soluble? In: *Proceedings of the 4th International symposium on food rheology and structure, February 19-23, Zurich, Switzerland*, 373-376.
- Pollard M. et al., 2007. Investigation of equilibrium solubility of a carob galactomannan. *Food Hydrocolloids*, **21**, 683-692.
- Prajapati V. et al., 2013. Locust bean gum: a versatile biopolymer. *Carbohydr. Polym.*, **94**, 814-821.
- Rafique C. & Smith F., 1950. The constitution of guar gum. *J. Am. Chem. Soc.*, **72**, 4634-4637.
- Richardson P., Willmer J. & Foster T., 1998. Dilute properties of guar and locust bean gum in sucrose solutions. *Food Hydrocolloids*, **12**, 339-348.
- Richardson P. et al., 1999. Galactomannan gelation: a thermal and rheological investigation analyzed using the cascade model. *Macromolecule*, **32**, 1519-1527.
- Rizzo V. et al., 2004. Rheological properties and sugar composition of locust bean gum from different carob varieties (*Ceratonia siliqua* L.). *J. Agric. Food Chem.*, **52**(26), 7925-7930.
- Rochas C., Taravel F. & Turquois T., 1990. N.m.r. studies of synergistic kappa carrageenan-carob galactomannan gels. *Int. J. Biol. Macromol.*, **12**, 353-358.
- Simon M., 2010. *Production enzymatique d'oligosaccharides à partir de gomme de caroube*. Mémoire : Faculté universitaire des Sciences agronomiques de Gembloux (Belgique).
- Sittikijyothin W., Torres D. & Gonclaves M.P., 2005. Modelling the rheological behaviour of galactomannan aqueous solutions. *Carbohydr. Polym.*, **59**, 339-350.
- Wielinga W., 1990. Production and application of seed gums. In: Phillips G.O., Wedlock D.J. & Williams P.A., eds. *Proceedings of 5th International Conference, Gums and stabilisers for the food industry, July 1989, Wrexham, UK*. Oxford, UK: IRL Press, 383-403.
- Yousif A. & Alghzawi H., 2000. Processing and characterization of carob powder. *Food Chem.*, **69**, 283-287.

(61 réf.)