

**CARACTÉRISATION CHIMIQUE ET HISTOLOGIQUE DES
TÉGUMENTS DE LA CHÂTAIGNE.**

GLOAGUEN V.¹, MAS L.² et H. MORVAN²

¹ Laboratoire de Chimie des Substances Naturelles, Faculté des Sciences, 123 rue A. Thomas, 87060 Limoges.

² Laboratoire de Biochimie Moléculaire et Cellulaire, Université d'Artois, Faculté J. Souvraz, 62300 Lens.

RESUME

Des analyses par triméthyl silylation directes des poudres de péricarpe et de tan réalisées sur quatre variétés de châtaignes (*Bouche de Betizac*, *Marigoule*, *Goujounac* et *Bournette*) indiquent que le xylose et l'acide galacturonique sont les monosaccharides principaux qui peuvent être identifiés dans ces tissus. L'extraction séquentielle suivie d'une purification chromatographique des polymères pariétaux a été réalisée sur les téguments de la variété *Marigoule* conduisant à l'obtention de polysaccharides pectiques et hémicellulosiques. Les pectines sont principalement représentées par les acides polygalacturoniques fortement méthyl-estérifiés et les hémicelluloses par les xylanes. Une étude histologique du tan et du péricarpe met en évidence une organisation complexe des tissus qui apparaissent souvent fortement lignifiés.

Mots Clés : tan, péricarpe, paroi cellulaire, pectine, hémicellulose, châtaigne

HISTOLOGICAL AND CHEMICAL CHARACTERIZATION OF CHESTNUT ENVELOPES .

ABSTRACT

Direct trimethyl silylation analyses of both pericarp and tegument powders of four chestnut fruit varieties (*Bouche de Betizac*, *Marigoule*, *Goujounac* and *Bournette*) showed that xylose and galacturonic acid were the main monosaccharides found in this material. A sequential extraction procedure performed on the *Marigoule* variety, followed by chromatographic purification, allowed us to obtain pectic and hemicellulosic polysaccharides from the cell walls of the chestnut teguments. Pectic polysaccharides were mainly composed of highly methyl-esterified polygalacturonic acids and hemicellulosic compounds were identified as acid xylans. Moreover, histological investigations revealed the presence of a highly lignified structure associated to a complex organization of the tissue (vascularized parenchyme).

Key Words : tan, pericarp, cell wall, pectin, hemicellulose, chestnut

Tél : 05.55.45.74.90 ; Fax : 05.55.45.72.02 ; email : vgloaguen@unilim.fr

-I- INTRODUCTION

La châtaigne est un fruit qui a constitué la base alimentaire des populations paysannes des régions pauvres telles que le Limousin, les Cévennes ou la Corse. La consommation des châtaignes a beaucoup baissé depuis le début du siècle, d'une part pour des raisons socio-culturelles (évolution des habitudes alimentaires) et d'autre part parce que la production française a fortement régressé (exode rural, maladie de l'encre, chancre de l'écorce, abattage massif pour l'industrie des tanins). Outre les transformations classiques (marrons glacés, purée et crème de marrons), de nouveaux produits sont apparus sur le marché (liqueurs, apéritifs, bières, pâtes, produits lactés ou encore flocons déshydratés à base de châtaignes) et des voies traditionnelles d'utilisation de la farine de châtaigne en boulangerie et biscuiterie sont en cours de relance. De la même manière, la châtaigne décortiquée est désormais proposée comme produit frais emballé sous vide ou sous forme surgelée. Il semble que le consommateur soit prêt à accueillir ce type de produits dont les qualités organoleptiques, diététiques et la richesse nutritionnelle sont redécouvertes. Le développement du marché a imposé la mise au point de procédés mécanisés qui reprennent des grands principes traditionnels en substituant l'épluchage manuel par des étapes mécaniques. L'épluchage reste cependant, une opération délicate, coûteuse en main d'oeuvre et en énergie. Il se heurte à plusieurs sortes de difficultés : (1) l'adhérence du tan qui est souvent corrélée avec sa finesse ; (2) les pénétrations du tan lorsqu'elles sont à la fois fines et profondes ; (3) l'état sanitaire, lorsqu'il est mauvais, fait baisser le rendement brut de l'épluchage ; (4) le manque d'homogénéité du calibre est aussi une cause de mauvais rendement. Dans l'industrie, deux grands types de méthodes sont utilisés : l'épluchage à la vapeur, dite méthode italienne, ou l'épluchage à la flamme *via* le four

Aubert. Deux inconvénients majeurs subsistent : si l'intervention mécanique est limitée, l'épluchage est insuffisant car une partie importante des téguments de la graine restent adhérents à l'amande, notamment parce qu'ils s'insinuent dans ses sillons. Par contre, l'intensification de l'action mécanique a souvent pour conséquence de fragiliser l'amande qui se fracture rendant le produit beaucoup moins présentable.

Pour contribuer à résoudre ces problèmes, ce travail a été entrepris avec pour objectif de caractériser histologiquement et chimiquement les téguments de la châtaigne, avant d'entreprendre une étude dont l'objectif ultime serait de proposer une nouvelle voie technologique d'épluchage des châtaignes : *l'épluchage enzymatique*. L'existence de procédés similaires d'élimination par voie enzymatique de parois indésirables (rouissage du lin, extraction des pigments de la peau de raisin pour l'amélioration des vins, préparation de jus de fruits ...), qui, de plus, sont déjà utilisés à une échelle industrielle, témoigne à eux seuls de l'intérêt de cette étude. La mise au point d'un tel procédé requiert néanmoins deux préalables : une connaissance précise de la nature des parois à dégrader et notamment de ses composantes polysaccharidiques, ainsi que des enzymes à employer. Cette observation est à l'origine de la démarche scientifique et du protocole opératoire qui sont présentés dans cet article.

-II- MATERIEL ET METHODE

II-1 Matériel biologique

Les variétés de châtaignes qui ont été utilisées pour cette étude (Marigoule, Bouche de Bétizac, Goujounac et Bournette) ont été obtenues auprès de l'Association Interrégionale de Recherche et d'Expérimentation Légumière d'Objat (Corrèze). Après 24 heures de trempage dans de l'eau froide, les châtaignes ont été épluchées manuellement afin d'éliminer le péricarpe d'une part et de séparer le tan de l'amande d'autre part. Chacun de ces deux composants a été déshydraté (80 °C - 2 heures, puis 60 °C - 48 heures) et broyé avant les analyses.

II-2 Etude histologique

La structure du matériel étudié étant assez rigide, elle facilite la réalisation de coupes de faible épaisseur (~ 100 µm). La structure histologique des téguments de la châtaigne a été caractérisée par la technique dite de double coloration (vert d'iode et carmin aluné ; Seguy, 1951). Cette technique permet de distinguer sur les coupes, les zones pecto-cellulosiques (coloration rose) des structures lignifiées (coloration vert-bleu).

II-3 Extraction et purification des polysaccharides pariétaux

Le protocole expérimental adopté pour l'extraction séquentielle et sélective des polysaccharides pariétaux du tan et du péricarpe est un protocole classique qui a été adapté de Bailey (1966) et Carpita (1984). Ce protocole a été décrit en détail par Gloaguen *et al.* (1999) et résumé, de plus, sur la figure 1.

Les différents extraits sont ensuite analysés selon les méthodes suivantes :

- Les sucres totaux sont estimés par la méthode au phénol sulfurique (Dubois *et al.*, 1956) et les acides uroniques par la méthode au méta-hydroxydiphényl-phénol (Blumenkrantz & Absoe-Hansen, 1973).
- Le dosage des sucres circulants (glucose, fructose et saccharose) et de réserve (amidon) des extraits éthanoliques et eau chaude obtenus à partir du tan et du péricarpe est réalisé par la méthode enzymatique décrite par Bergmeyer *et al.* (1974) et Bernt et Bergmeyer (1974).
- Les taux de méthylation des extraits pectiques sont estimés par la méthode colorimétrique décrite par Wood et Siddiqui (1971).
- Les monosaccharides neutres et les acides uroniques qui sont les constituants des polysaccharides étudiés sont méthanolysés, identifiés et dosés selon la méthode de Kamerling *et al.* (1975) modifiée par Montreuil *et al.* en 1986. Cette analyse, qui a été adaptée à l'analyse de poudres d'origine végétale par Marga *et al.* (1996), a été également utilisée pour l'étude de la composition monosaccharidique du tan, du péricarpe et des résidus d'extraction.

Figure 1 :
protocole expérimental d'extraction des polysaccharides pariétaux
constitutifs du tan et du péricarpe.

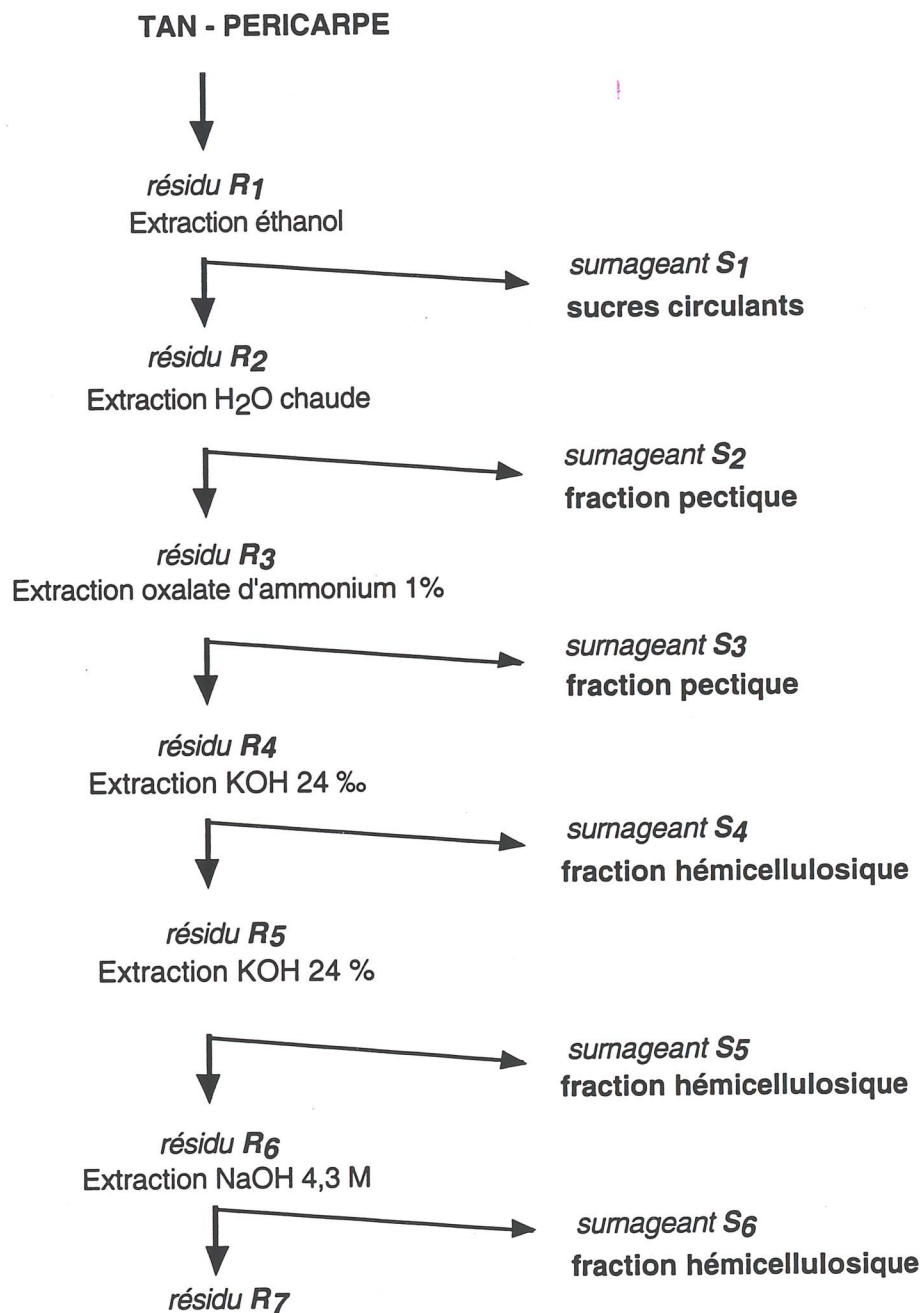
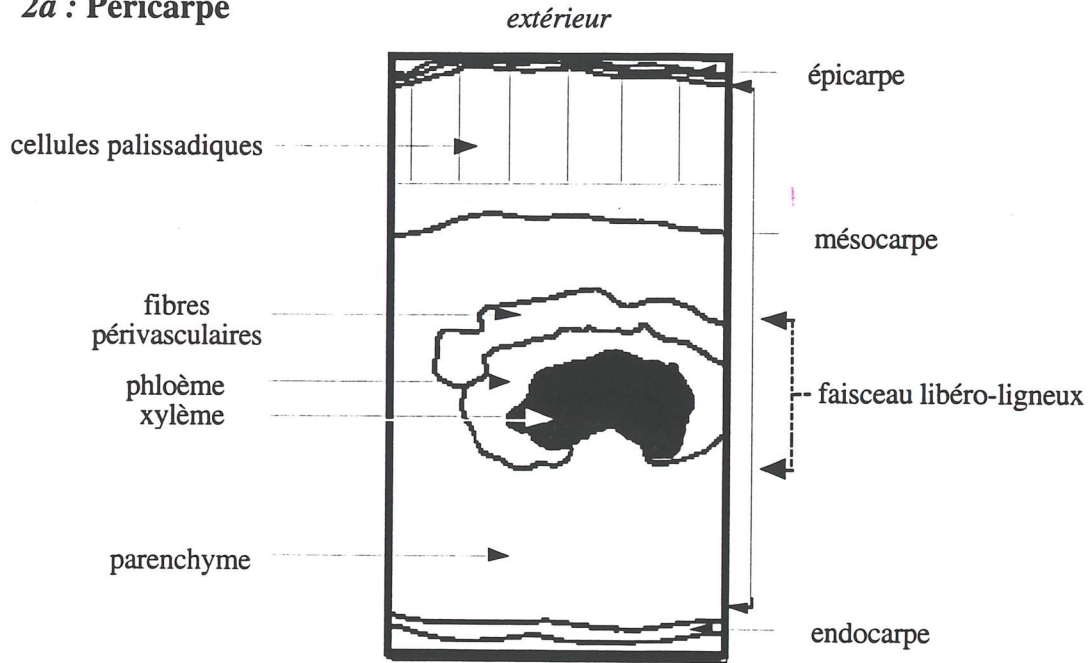
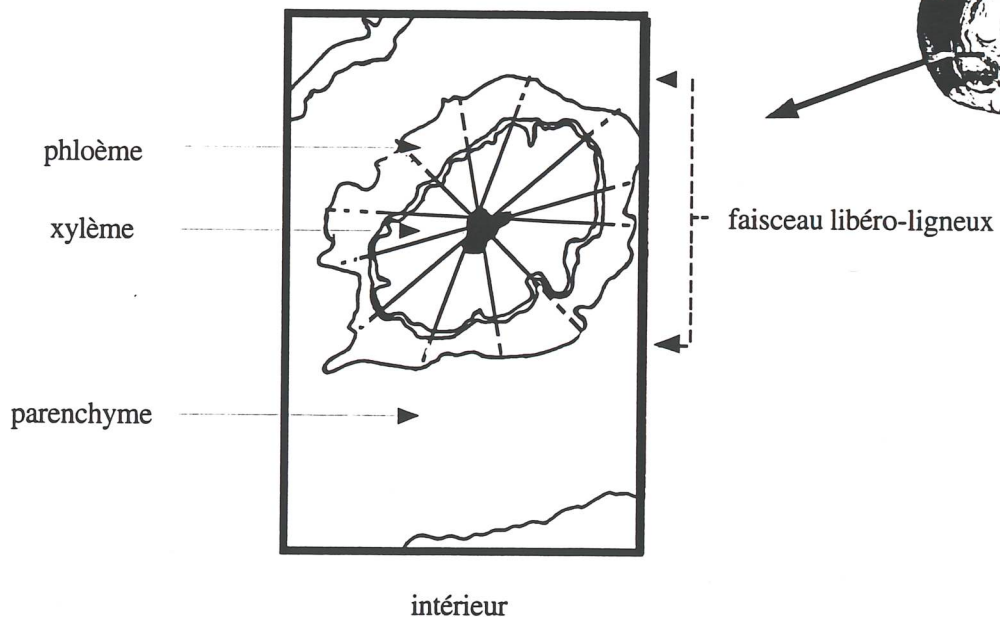


Figure 2 :
 caractérisation histologique de coupes transversales de
 péricarpe (2a, g x 100) et de tan (2b, g x 400).

2a : Péricarpe



2b : Tan



III - Résultats et discussion

III-1 Histologie

Rappelons tout d'abord que les châtaignes sont enfermées, à raison de une à neuf unités (le plus souvent trois) dans une bogue piquante. Chaque fruit comprend de 1 à 5 graines ou amandes, recouvertes par un fin tégument laineux, le tan qui est protégé par la paroi épaisse, brune et luisante du fruit, le péricarpe. Que ce soit pour le péricarpe ou le tan, l'observation en microscopie optique des coupes réalisées (figure 2) permet de révéler un édifice très structuré, naturellement coloré (tannins, poly-phénols) et présentant plusieurs niveaux d'organisation.

Plusieurs zones d'épaisseurs variables et plus ou moins lignifiées sont visibles dans le péricarpe (figure 2a). De l'extérieur vers l'intérieur de la coupe, il est possible d'observer une cuticule qui vient recouvrir un épiderme externe, ou *épicarpe*, de faible épaisseur (1 couche de cellules). Sous ce dernier, le *mésocarpe* se divise en deux grandes zones. La première, lignifiée, est constituée de cellules palissadiques très allongées qui sont disposées perpendiculairement à l'*épicarpe* et qui sont suivies de cellules aplaties disposées parallèlement à l'*épicarpe*. La seconde, plus épaisse est formée par l'association de cellules de tailles variables qui présentent des parois arrondies de nature pecto-cellulosique. Elle constitue un parenchyme hétérogène où sont disposés des faisceaux libéro-ligneux. Enfin, un épiderme interne ou *endocarpe*, de faible épaisseur (1 à 2 couches cellulaires), recouvre le *mésocarpe*.

Tout comme le péricarpe, le tan présente plusieurs structures d'épaisseurs variables plus ou moins lignifiées (figure 2b). De l'extérieur vers l'intérieur, il comprend une assise de cellules arrondies, parfois divisées et portant des poils tecteurs, une zone parenchymateuse contenant des faisceaux libéro-ligneux à structures centriques (xylème au centre et phloème périphérique) et une zone plus interne, constituée de 5 à 6 couches de petites cellules aux parois pecto-cellulosiques épaisses d'un aspect collenchymateux.

III-2 Composition monosaccharidique des téguments de la châtaigne

La composition monosaccharidique des téguments des quatre variétés de châtaigne analysées (tableau I) a été déterminée par micro-analyse directe. Cette dernière met en évidence une grande diversité de composition qui se traduit par la grande variété des monosaccharides identifiés (rhamnose (Rha), fucose (Fuc), arabinose (Ara), xylose (Xyl), mannose (Man), glucose (Glc), galactose (Gal), acides galacturonique (GalA) et glucuronique (GlcA)). Une première analyse de ces résultats suggère la présence de composés pariétaux caractéristiques révélés par la présence de monosaccharides marqueurs telles que les pectines (GalA, Rha) et les hémicelluloses (Man, Xyl, Glc, GlcA), sachant que le Glc identifié ne provient pas de la cellulose, non dégradée par la méthanolyse. En outre, il est intéressant de constater que la répartition des différents monosaccharides identifiés diffère sensiblement d'une variété à l'autre, bien que le GalA (25,2 à

Tableau I – Composition monosaccharidique (en % molaire) des téguments (T : tan, P : péricarpe) de quatre variétés de châtaignes estimées par triméthyl silylation directe (TMS_d).

		Marigoule	Goujounac	Bournette	Bouche de Bétizac
Rha	T	7,2	6,8	8,3	8,1
	P	2,7	4,6	3,0	4,4
Fuc	T	0,0	0,0	0,0	0,0
	P	0,0	0,0	0,3	0,0
Ara	T	17,9	14,1	16,6	14,5
	P	11,2	14,1	11,5	19,7
Xyl	T	13,6	20,3	15,4	14,5
	P	45,8	34,1	23,5	20,5
Man	T	1,5	1,9	3,0	3,4
	P	1,5	2,8	1,6	1,9
Glc	T	18,3	16,6	7,5	18,7
	P	10,8	8,4	25,7	19,6
Gal	T	14,8	10,8	13,9	13,8
	P	8,4	8,8	11,9	10,1
GalA	T	25,2	27,0	28,8	25,5
	P	19,6	23,7	19,0	20,2
GlcA	T	1,5	2,5	6,5	1,5
	P	0,0	3,5	3,5	3,6

Tableau II – Composition monosaccharidique par triméthyl silylation (en % molaire) des extraits polysaccharidiques bruts du tan (T) et du péricarpe (P) de la variété Marigoule.

		S ₁	S ₂	S ₃	S ₄	S ₅	S ₆
Rha	T	0,0	1,5	1,9	6,7	1,0	0,0
	P	8,7	0,0	0,0	3,7	0,0	1,7
Fuc	T	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
	P	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Ara	T	0,0	3,3	3,3	0,0	0,0	0,0
	P	20,4	0,0	0,0	5,2	0,0	6,9
Xyl	T	0,0	0,6	1,0	17,9	93,5	67,3
	P	0,0	0,0	0,0	16,6	55,0	18,3
Man	T	0,0	0,5	2,2	10,8	1,5	17,6
	P	0,0	0,0	0,0	3,5	16,5	31,6
Glc	T	100,0	2,1	1,1	11,5	2,6	10,3
	P	14,9	0,0	0,0	3,6	18,4	24,7
Gal	T	0,0	2,3	2,0	5,5	1,4	4,8
	P	11,4	2,9	0,0	6,1	10,1	14,4
GalA	T	0,0	88,5	77,0	28,7	0,0	0,0
	P	44,6	97,1	100,0	61,3	0,0	2,4
GlcA	T	0,0	1,2	11,5	18,9	0,0	0,0
	P	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0

28,8 % pour le tan ; 19,0 à 23,7 % pour le péricarpe) et le Xyl (13,6 à 20,3 % pour le tan ; 20,5 à 45,8 % pour le péricarpe) soient toujours présents en quantités importantes.

La nature chimique des polysaccharides pariétaux a été plus précisément qualifiée dans le cas de la variété Marigoule grâce à une extraction fractionnée. Ainsi, les différents extraits bruts (tableau II) sont quantitativement et qualitativement très dépendants des extractants utilisés. Les sucres solubles (glucose, fructose et saccharose) et de réserve (amidon) déterminés enzymatiquement (résultats non présentés) ne sont présents qu'en très faible concentration ($< 0,1 \text{ mg.g}^{-1}$). Par conséquent, les téguments de la châtaigne peuvent être considérés comme des tissus morts.

Par ailleurs, la composition monosaccharidique des différents extraits indique la présence dans S_2 et S_3 , d'une part et S_4 , S_5 et S_6 , d'autre part, de pectines (monosaccharides marqueurs GalA et Rha) et d'hémicelluloses (monosaccharides marqueurs Xyl, Man, Glc et GlcA). L'extraction sélective de ces différents polysaccharides est, de plus, très clairement corroborée par la diminution sensible des teneurs en ces monosaccharides dans les résidus d'extraction correspondant à savoir le Glc dans R_1 , le GalA dans R_2 et R_3 , les Xyl, Man, Gal dans R_4 , R_5 et R_6 (tableau III).

III-3 Caractérisation chimique des polysaccharides pariétaux purifiés

L'utilisation du protocole expérimental de purification des polysaccharides pariétaux décrit dans la section matériel et méthode a permis de caractériser plus précisément la nature chimique des polymères extraits à partir du tan et du péricarpe et de les qualifier. Tout d'abord, la chromatographie d'échange d'ions, réalisée sur les surnageants S_2 et S_3 , a conduit à la séparation de fractions pectiques homogènes en charge (figure 3) et très riches en GalA (86,1 à 100 % , tableau IV). Par ailleurs, les acides polygalacturoniques purifiés à partir du tan et du péricarpe sont fortement méthyl-estérifiés (55 à 63 % et 74 à 80 %, respectivement : tableau IV). Plus généralement, la composition moyenne de la paroi des fruits et légumes (tableau V) est considérée comme proche de celle des parois primaires, ce qui reflète la prédominance des parenchymes de réserve dans ces tissus végétaux (Bonnin *et al.*, 1997) bien qu'ils comportent toujours une certaine proportion de parois secondaires, provenant des tissus conducteurs. Les substances pectiques regroupent dans ce contexte, un ensemble complexe de polysaccharides (figure 4) caractérisés par une forte teneur en acide galacturonique présentant des degrés de méthyl-estérification variables (Voragen *et al.*, 1995). Les pectines sont constituées par un squelette principal composé, dans sa version la plus simple, exclusivement d'acide galacturonique (acide homopolygalacturonique ou acide pectique, figure 4a) ou, plus souvent, par des acides galacturoniques associés au rhamnose (rhamnogalacturonane, figure 4b) et substitués par des monosaccharides (Ara, Gal) ou par des chaînes latérales plus ou moins ramifiées et volumineuses (arabinanes, arabinogalactanes, figure 4c). Les fruits et les légumes qui sont très riches en composés pectiques sont souvent utilisés comme matière première pour l'extraction de ces polymères d'intérêt industriel. Néanmoins, la variabilité des teneurs (tableau VI), des caractéristiques structurales et du degré de méthyl-estérification des pectines, étant entre autres très dépendante de leur origine botanique, rend très difficile l'établissement d'une classification précise. Toutefois, à l'état naturel, les pectines sont

Tableau III – Composition monosaccharidique (en % molaire) des résidus d'extraction du tan (T) et du péricarpe (P) de la variété Marigoule par triméthyl silylation.

		R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅	R ₆
Rha	T	6,7	6,5	9,2	7,2	11,0	10,2
	P	5,1	5,0	5,5	5,0	0,5	7,5
Fuc	T	0,5	0,5	5,6	0,9	0,4	0,3
	P	0,6	0,6	0,8	0,6	0,0	0,0
Ara	T	15,1	12,2	1,1	13,4	18,6	17,0
	P	14,8	14,7	17,9	38,9	25,3	24,8
Xyl	T	27,4	33,6	42,6	37,7	16,7	19,4
	P	36,1	35,7	39,8	30,5	34,6	25,2
Man	T	0,9	2,6	10,5	3,8	2,5	0,5
	P	2,5	1,9	2,1	2,3	2,5	0,0
Glc	T	6,6	7,3	2,4	7,7	19,3	24,0
	P	5,1	4,3	5,0	5,2	17,3	22,6
Gal	T	8,8	7,1	11,6	8,1	8,0	6,8
	P	11,9	6,0	8,6	7,9	8,3	5,9
GalA	T	34,0	27,1	15,2	19,9	20,7	20,5
	P	23,4	31,3	19,5	9,6	11,5	14,0
GlcA	T	0,0	3,1	1,8	1,3	2,8	1,3
	P	0,5	0,5	0,8	0,0	0,0	0,0

Tableau IV – Composition monosaccharidique (en % molaire) des polysaccharides purifiés à partir du tan (T) et du péricarpe (P) de la variété Marigoule et estimation du degré de méthyl-estérification (DM) des pectines.

		S ₂	S ₃	S ₅
Rha	T	2,3	1,4	0,0
	P	1,3	0,0	0,0
Fuc	T	0,0	0,0	0,0
	P	0,0	0,0	0,0
Ara	T	3,5	0,0	0,0
	P	1,1	0,0	0,0
Xyl	T	0,0	0,0	95,1 à 100,0
	P	0,6	0,0	25,4
Man	T	1,2	0,0	0,0
	P	0,0	0,0	21,2
Glc	T	1,8	2,8	0 à 4,9
	P	2,7	0,0	36,0
Gal	T	0,0	0,0	0,0
	P	0,9	0,0	17,4
GalA*	T	86,1	95,3	0,0
	P	88,1	94,9 à 100,0	0,0
GlcA	T	5,1	0,5	0,0
	P	5,3	0,0 à 5,1	0,0
* DM	T	63,0	55,6	-
	P	80,0	74,6	-

Tableau V - Composition (en % de la matière sèche) des parois des fruits et légumes et des céréales (d'après Bonnin *et al.*, 1997).

	Fruits et légumes		Céréales	
	Parenchymes	Tissus lignifiés	Parenchymes	Tissus lignifiés
Substances pectiques	35 - 40	5	0 - 0,5	0 - 0,5
Cellulose	35	40	3 - 5	30 - 35
Autres polysaccharides dont hémicelluloses	10	25 - 30	80 - 85	45 - 50
Glycoprotéines	10 - 20	5	10	5 - 10
Lignines et acides phénoliques	5	20 - 25	5	15

Tableau VI - Teneur en substances pectiques de quelques fruits et légumes (d'après Neukom, 1967).

Origine	Teneur en pectine (% de la matière sèche)
<i>Tégument de châtaigne</i>	4 - 5
<i>Carotte</i>	10
<i>Raifort</i>	15
<i>Tomate</i>	3
<i>Pomme</i>	4 - 7
<i>Marc de pomme</i>	15 - 20
<i>Capitules de tournesol</i>	25
<i>Marc de betterave</i>	15 - 20
<i>Albedo des agrumes</i>	30 - 35
<i>Pépins de citron</i>	6
<i>Ecorce de citron</i>	32
<i>Pulpe de citron</i>	25

généralement assez fortement méthyl-estérifiées et sous forme de rhamnogalacturonanes plus ou moins ramifiées. Seuls quelques rares exemples d'acides pectiques ont été signalés dans la littérature, notamment dans les capitules de tournesol, le fruit du jacquier ou l'ail (Thibault, 1980).

La chromatographie d'exclusion stérique des extraits S₅ (figure 3) conduit, quant à elle, à la purification d'un polysaccharide de composition monosaccharidique homogène pour le tan (essentiellement du Xyl) et d'un mélange de polysaccharides plus hétérogènes de type xylane, galactane, glucomannane pour le péricarpe (Xyl, Man, Glc, Gal). Les parois des fruits sont généralement riches en xyloglucanes (voir figure 5a), qui peuvent constituer jusqu'à 20 % du poids sec des parois primaires (Hayashi, 1989). Par contre, les parois des céréales comportent essentiellement des β -glucanes dits mixtes car formés d'un squelette linéaire de résidus glucoses connectés par des liaisons $\beta(1,4)$ (environ 70 %) et $\beta(1-3)$ (environ 30 %). Enfin, les hétéroxylanes (xylanes, glucuronoxylane ; figure 5b) sont moins abondants dans les parois primaires des fruits et des légumes, dont ils représentent approximativement 5 % (McNeil *et al.*, 1984 ; Selvendran 1985) que dans les parois des céréales (20-30 %) et dans les parois secondaires des dicotylédones (20 %).

Ainsi, les cellules identifiées dans les enveloppes de la châtaigne diffèrent plus ou moins des modèles les plus couramment décrits (figures 4 et 5). L'ensemble des données expérimentales collectées au cours de ce travail, comparées à celles de la littérature, renseigne sur l'originalité structurale des polysaccharides pariétaux (pectines et hémicelluloses) de ces téguments. L'obtention et la caractérisation chimique de xylanes purs à partir du tan et d'acides homopolygalacturoniques à partir du tan et du péricarpe est, de ce point de vue, tout à fait remarquable.

-IV- Conclusion

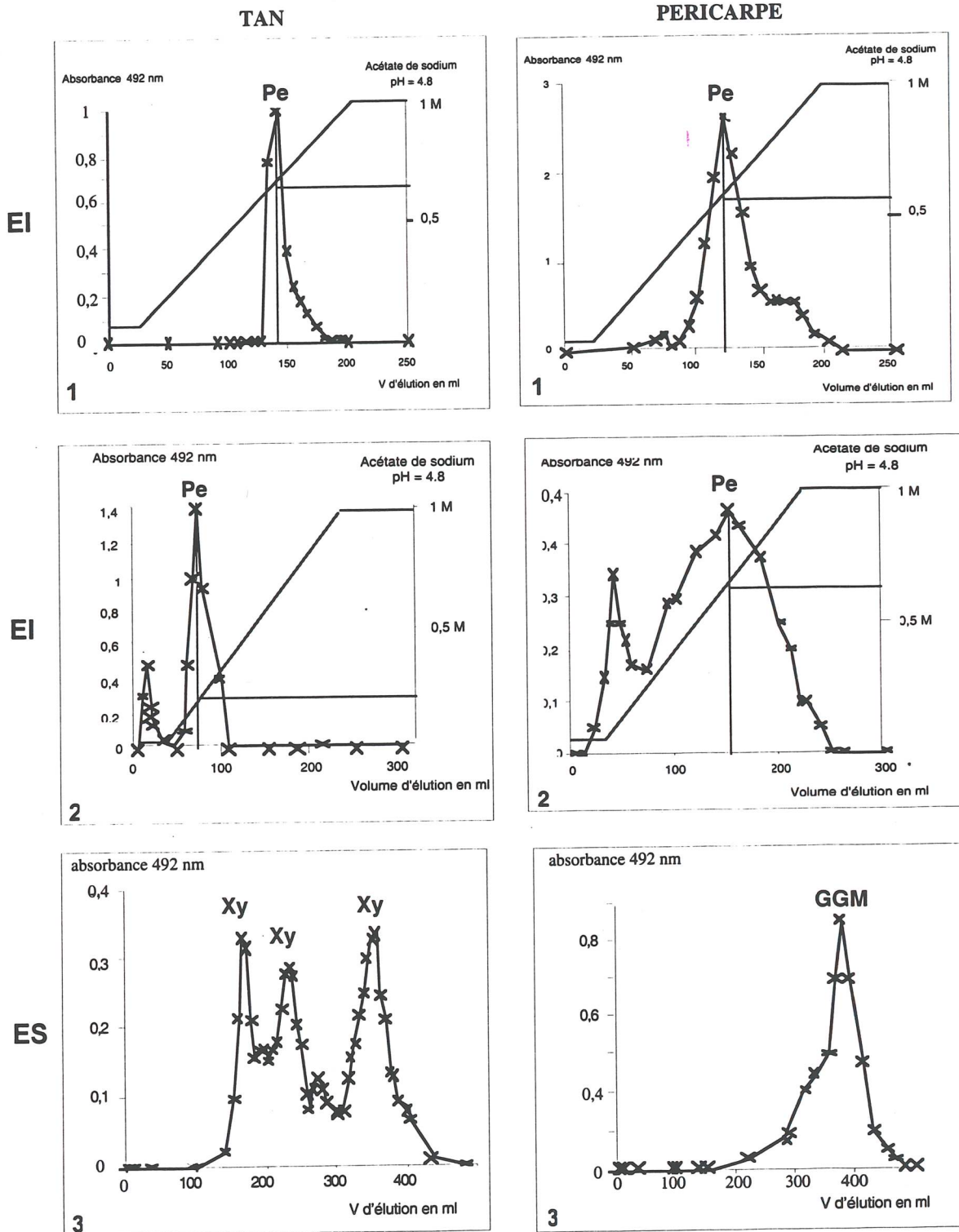
Les travaux illustrés dans cet article sont, à notre connaissance, les premiers concernant les téguments de la châtaigne. La caractérisation chimique et histologique de ces téguments a été réalisée pour combler l'absence de données à ce sujet et avec pour objectif second d'élaborer un procédé plus efficace d'épluchage des châtaignes. L'originalité de ce travail repose sur l'analyse simultanée de la structure histologique et de la composition polysaccharidique de ces téguments, les deux aspects étant au cœur de notre problématique.

La principale information donnée par l'analyse histologique est très certainement la grande complexité de ces tissus ainsi que la très forte cohésion intercellulaire. Les parois cellulaires sont par ailleurs, souvent renforcées par la lignine ou la cellulose, que ce soit dans le tan ou le péricarpe. En ce qui concerne la purification des polysaccharides pariétaux, l'efficacité des séparations chromatographiques s'explique par leurs caractéristiques : *i*) les acides polygalacturoniques sont séparés les uns des autres par chromatographie d'échange d'ions en raison de taux de leurs méthyl-estérification variables, *ii*) les xylanes purs du surnageant S₅, ont été séparés par chromatographie d'exclusion stérique sur la base de la variabilité de leurs masses moléculaires.

En comparant les résultats obtenus sur le tan et le péricarpe, il apparaît que les polymères extraits du tan sont pratiquement tous des homopolymères (homopolygalacturonanes, xylanes) ce qui justifie de tenter de les dégrader par l'intermédiaire d'enzymes.

Figure 3 :

séparations chromatographiques par échange d'ions (EI) ou exclusion stérique (ES) des polysaccharides pectiques (Pe) extraits à l'eau chaude (1) ou à l'oxalate d'ammonium (2) et hémicellulosiques de type xylane (Xy) ou galacto-glucomannane (GGM) (3) isolés à partir du tan et du péricarpe.



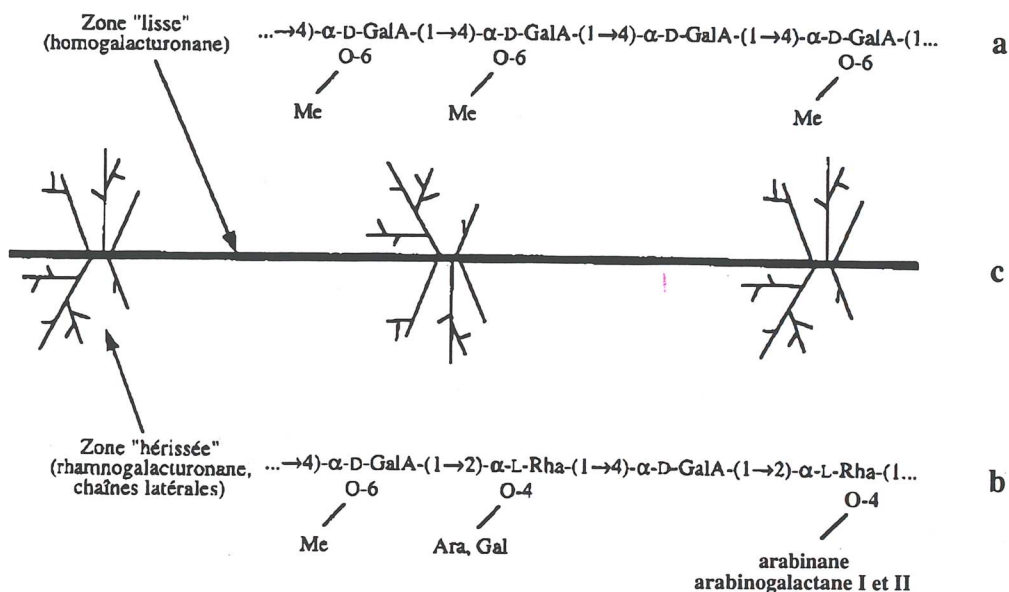


Figure 4 :
 modèle structural des composés pectiques rencontrés dans la paroi cellulaire végétale.
 (a) acide pectique ou homogalacturonane, (b) rhamnogalacturonane et (c) répartition spatiale des chaînes latérales

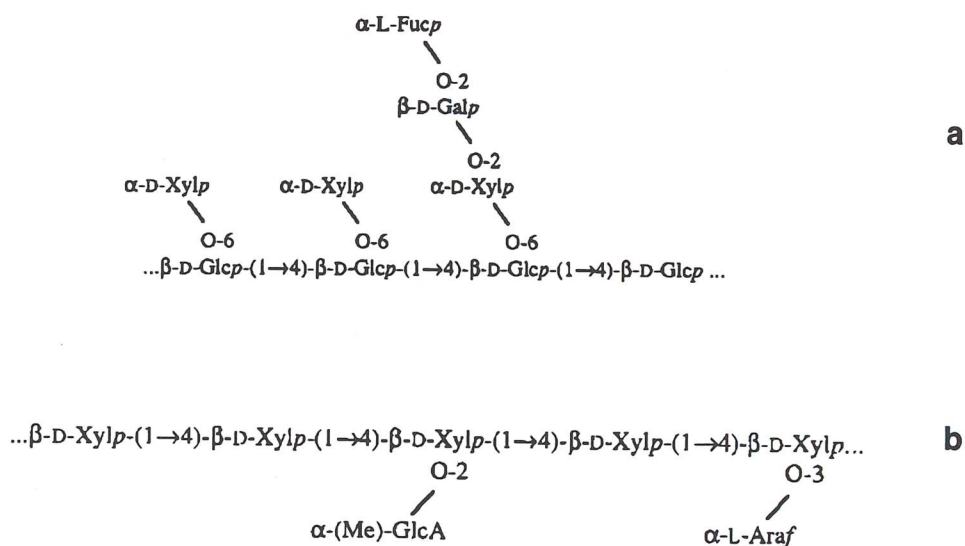


Figure 5 :
 modèle structural de deux hémicelluloses rencontrés dans la paroi cellulaire végétale.
 (a) xyloglucane et (b) glucuronoxylane.

V - Bibliographie

- Bailey, R.W., 1966.- *J. Agric. Res.*, **10**, 15-32.
- Bernt, E., Bergmeyer, H.U., 1974.- Methods of enzymatic analysis, H.U. Bergmeyer, ed., Academic Press, New-York, p. 1304-1307.
- Bergmeyer, H.U., Bernt, E., Schmidt, F., Stork, H., 1974.- Determination with hexokinase and glucose-6P deshydrogenase. Methods of enzymatic analysis, H.U. Bergmeyer, ed., Academic Press, New-York, p. 1196-1201.
- Blumenkrantz, N., Absoe-Hansen, G., 1973.- A new method for quantitative determination of uronic acids. *Anal. Biochem.*, **54**, 484-489.
- Bonnin, E., Renard, C., Thibault, J.F., Ducroo, P., 1997. Les enzymes de dégradation des parois végétales : mode d'action et utilisations alimentaires. In : Enzymes en agro-alimentaire, collection Sciences et Techniques Agro-alimentaires, Tec & Doc, Lavoisier, pp. 168-200.
- Carpita, N.C., 1984.- Fractionation of hemicelluloses from maize cell walls with increasing concentrations of alkali. *Phytochem.*, **23(5)**, 1089-1093.
- Dubois, M., Gilles, K.A., Hamilton, J.K., Rebers, P.A., Smith, F., 1956.- Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Anal. Chem.*, **28**, 350-356.
- Gloaguen, V., Nourani, D., Morvan, H., 1999.- Chestnut envelopes contain xylan- and polygalacturonic acid-rich polysaccharides. *Acta Hort.*, **494**, 139-145.
- Hayashi, T., 1989.- Xyloglucans in the primary cell wall. *Plant Physiol.*, **40**, 139-168.
- Kamerling, J.P., Gerwig, G.J., Vliegthart, J.F.G., Clamp, J.R., 1975.- Characterization by gas-liquid chromatography mass spectrometry of pertrimethylsilyl glycosides obtained in the methanolysis of glycoproteins and glycolipids. *Biochem. J.*, **151**, 491-495.
- McNeil, M., Darvill, A.G., Fry, S.C., Albersheim, P., 1984.- Structure and function of the primary cell walls of plants. *Ann. Rev. Biochem.*, **53**, 625-663.
- Marga, F., Freyssac, V., Morvan, H., 1995.- Rapid gas liquid chromatography microanalysis of carbohydrates in woody plant tissues. *J. Trace Microprobe Tech.*, **13 (4)**, 473-478.
- Montreuil, J., Bouquelet, S., Debray, H., Fournet, B., Spik, G., Strecker, G., 1986.- Glycoproteins. In : Carbohydrate analysis, a practical approach. Eds Chaplin M.F. and Kennedy J.F. IRL Press, Oxford, Washington D.C., p. 143-204.
- Neukom, H., 1967.- Pectic substances. In : Encyclopedia of chemical technology, 2nd edition, Vol. 14, J. Wiley (ed.).
- Seguy, E., 1951.- Le microscope : emploi et applications, Encyclopédie pratique du naturaliste. p. 272-586.
- Selvendran, R.R., 1985.- Developments in the chemistry and biochemistry of pectic and hemicellulosic polymers. *J. Cel. Sci. Suppl.*, **2**, 51-88.
- Thibault, J.F., 1980.- Les substances pectiques. In : Les polymères végétaux, Gauthier-Villars, Paris, pp. 232-251.
- Voragen, A.G.J., Pilnik, W., Thibault, J.F., Axelos, M.A.V., Renard, C., 1995.- Pectins. In : Food polysaccharides. Eds Stephen A.M. and Dea I., p. 287-339.
- Wood, P.J., Siddiqui, I.R., 1971.- Determination of methanol and its application to measurement of pectin ester content and pectin methyl esterase activity. *Anal. Biochem.*, **39**, 418-428.