

N° d'ordre :

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

UNIVERSITE MOULOUD MAMMERI DE TIZI-OUZOU
FACULTE DES SCIENCES

DEPARTEMENT DE CHIMIE



MEMOIRE

Présenté pour obtenir le Grade de

MASTER

Filière : Chimie

Spécialité : Chimie de l'Environnement

Par

BENCHABANE Celia

Thème

**OPTIMISATION DE L'EXTRACTION DE LA PECTINE A PARTIR
D'ECORCE DE CITRON EN UTILISANT LA METHODOLOGIE DES
SURFACES DE REPONSES**

Soutenu le 10 / 10 / 2013, devant le jury composé de :

M^r SAAL Amar
M^r MOUSSAOUI Ramdane
M^r KADI Hocine
M^r AMIR Youcef

MCB - UMMTO
MCA - UMMTO
Professeur - UMMTO
MCA - UMMTO

Président
Promoteur
Co-Promoteur
Examineur

Remerciements

Ce mémoire a été réalisé au Laboratoire de Chimie Appliquée et Génie Chimique (LCAGC) de l'Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou.

En premier lieu, je remercie Dieu le Tout Puissant de m'avoir donné la volonté, la santé et le courage pour réaliser ce travail.

*Je remercie le directeur du Laboratoire (LCAGC), Monsieur **TEZKRATT Saïd** pour m'y avoir accueillie.*

*Je tiens à adresser mes sincères remerciements à mon promoteur Monsieur **MOUSSAOUI Ramdane**, Maître de Conférences A à l'Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou qui m'a témoigné son soutien et m'a prodigué une orientation judicieuse et rigoureuse durant toutes les phases de ce mémoire. Qu'il trouve ici l'expression de ma sincère gratitude.*

*Je remercie profondément Monsieur **KADI Hocine**, Professeur à l'Université de Tizi-Ouzou pour l'intérêt constant qu'il a porté à ce travail en acceptant de le diriger, pour sa disponibilité, ses orientations et ses remarques mais aussi et surtout pour ses qualités humaines. Qu'il trouve ici ma profonde gratitude.*

*J'adresse mes sincères remerciements à Monsieur **SAAL Amar**, maître de conférences B à l'université Mouloud Mammeri de Tizi Ouzou qui m'a fait l'honneur de présider mon jury.*

*Un remerciement spécial à Monsieur **AMIR Youcef**, maître de conférences A à l'université Mouloud Mammeri de Tizi Ouzou pour m'avoir fait l'honneur de juger mon travail.*

Je remercie tout le personnel du Laboratoire LCAGC pour leur accueil et aide pendant mon travail.



DEDICACES

Aux joyaux de ma vie :

Ma très chère mère qui s'est tant sacrifiée pour les besoins de nos études

Mon très cher père pour tous les efforts consentis afin de nous armer du savoir

Je souhaite qu'ils trouvent à travers ce mémoire le faible témoignage de leurs efforts et sacrifices.

A mon cher frère

A ma chère sœur

A toute ma famille

A ma chère amie Ouiza

A tous mes amis (es)

A TARIK, ma source de réconfort et d'encouragement

Liste des figures

Figure 1. Molécule de la pectine	1
Figure 2. Motifs structuraux de la pectine	2
Figure 3. Structure de l'homogalacturonane (HG) d'après Ridley <i>et al.</i> , 2001	3
Figure 4. Structure du xylogalacturonane	4
Figure 5. Structure de l'apiogalacturonane	4
Figure 6. Représentation d'une portion d'homogalacturonane de type I avec des substituants arabinane, galactane et arabinogalactane	5
Figure 7. Structure d'un complexe de rhamnogalacturonane de type (II) selon Ridley <i>et al.</i> , (2002)	6
Figure 8. Structure du rhamnogalacturonane II (schéma selon Rodrigues-Carvajal <i>et al.</i> , 2003)	7
Figure 9. Structure en boîte à œuf	8
Figure 10. Détermination de la teneur en matière volatiles de zeste de citron	22
Figure 11. Ecorces de citron après découpage	24
Figure 12. Séchage des écorces de citron avec un séchoir	24
Figure 13. Ecorce de citron après séchage	25
Figure 14. Broyage du zeste de citron séché	25
Figure 15. Flowsheet de la Préparation de la poudre de zeste de citron	26
Figure 16. Montage d'extraction de la pectine	27
Figure 17. Pectine après coagulation	29
Figure 18. Etude graphique des effets du rendement	36
Figure 19. Variation de la réponse (Rendement)	42
Figure 20. Répartition des résidus en fonction de la réponse	46
Figure 21. Droite de Henry	46
Figure 22. Courbure de l'équation canonique.....	51
Figure 23. Variation de X_1 et X_3 en fonction de Z_1 et Z_2	52
Figure 24. Variation de la réponse (rendement)	53
Figure 25. Analyse du chemin optimal de la réponse (rendement en pectine)	54

Liste des tableaux

Tableau 1. Premières lignes de la matrice de Hadamard	18
Tableau 2. Masse de zeste de citron correspondant à chaque prise d'essai	23
Tableau 3. Domaine expérimental des facteurs (criblage)	31
Tableau 4. Matrice d'expériences	32
Tableau 5. Plan d'expérimentation	33
Tableau 6. Résultats des expériences	34
Tableau 7. Estimations et statistiques des coefficients	35
Tableau 8. Estimations des coefficients du modèle	35
Tableau 9. Domaine de variation de chaque facteur	38
Tableau 10. Matrice d'expériences	38
Tableau 11. Plan d'expérimentation	39
Tableau 12. Rendement en pectine	43
Tableau 13. Estimations et statistiques des coefficients	44
Tableau 14. Les tests statistiques appliqués aux points tests	45
Tableau 15. Coefficients du modèle	45
Tableau 16. Analyse de la variance	47

ABREVIATIONS

Api: Apiose

DA : Degré d'amidation

DE : Degré d'estérification

DM : Degré de méthylation (méthylestérification)

DMSO : Diméthylsulfoxyde

Gal A : Acide galacturonique

HGA : Acide homogalacturonique

HM : Pectines hautement méthylées

LM : Pectines faiblement méthylées

L/S : Rapport Liquide / Solide

M.R.E : Méthodologie de la recherche expérimentale

MSCE : Moyenne de la somme des carrés des écarts

MSCR : Moyenne de la somme des carrés des résidus

PME : Pectines méthyles estérases

RG I : Rhamnogalacturonane de type I

RG II : Rhamnogalacturonane de type II

SCE : Somme des carrés des écarts

SCR : Somme des carrés des résidus

Var : Variance

Xyl : Xylose

Table des matières

INTRODUCTION

PREMIERE PARTIE : ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE I : GENERALITES SUR LES PECTINES

I.1. DEFINITION DES PECTINES	1
I.2. LES DIFFERENTS DOMAINES PECTIQUES	2
I.2.1. L'homogalacturonane ou acide homogalacturonique (HGA)	3
I.2.2. Les galacturonanes substitués	4
I.2.3. Les rhamnogalacturonanes	4
I.3. LIAISONS CHIMIQUES DES PECTINES	7
I.3.1. Structure en « boîte à œufs »	7
I.3.2. Liaisons entre les groupements carboxyliques des GalA	8
I.4. TYPES DE PECTINES	8
I.5. PROPRIETES PHYSICO-CHIMIQUES DES PECTINES	9
I.5.1. Solubilité et précipitation	9
I.5.2. Propriétés gélifiantes et stabilisantes	9
I.6. PECTINES DANS L'INDUSTRIE ALIMENTAIRE	11
I.7. EXTRACTION DES PECTINES	11
I.7.1. Extraction par voie chimique	11
I.7.2. Extraction enzymatique	12
I.7.3. Extraction physique	12

CHAPITRE II : METHODOLOGIE DE LA RECHERCHE EXPERIMENTALE (M.R.E)

II.1. GENERALITES SUR LES PLANS D'EXPERIENCES	13
II.1.1. Réponse	13
II.1.2. Facteur	13
II.1.3. Domaine de variation du facteur	14
II.1.4. Domaine expérimentale d'intérêt	14
II.1.5. Variables centrées réduites	15
II.1.6. Matrice d'expériences	15
II.1.7. Plan d'expérimentation	15

II.2. METHODOLOGIE	16
II.3. OBJECTIFS DE LA METHODOLOGIE DE LA RECHERCHE EXPERIMENTALE	16
II.4. CRIBLAGE DE FACTEURS	17
II.5. SURFACES DE REPONSES	18
II.5.1. Formes du domaine expérimental	19
II.5.2. Modèles mathématiques	19
II.5.3. Matrice d'expériences	20

DEUXIEME PARTIE : ETUDE EXPERIMENTALE

CHAPITRE I : MATERIEL ET METHODES

I.1. MATERIELS ET METHODES	22
I.1.1. Matériel	22
a. Matériel végétal	22
b. Produits chimiques utilisés	22
I.1.2. Protocole expérimental	22
I.2.1. Teneur en matières volatiles (M.V)	22
I.2.2. Préparation de la poudre de zeste de citron	24
I.2.3. Préparation des solutions	26
I.2.4. Extraction de la pectine	27
a. Méthode d'ajustement du pH	28
b. Filtration sous vide	29
c. Séchage du gel obtenu	29
d. Broyage du film (polymère)	30
e. Rendement en pectine	30

CHAPITRE II : RESULTATS ET DISCUSSION

II.1. CRIBLAGE DE FACTEURS	31
II.1.1. Stratégie du criblage	31
II.1.2. Construction de la matrice d'expériences	32
II.1.3. Estimation des poids des facteurs	34
II.1.4. Rendement en pectine	35

II.1. METHODOLOGIE DE SURFACES DE REPONSES	36
II.2.1. Mise en place de la stratégie	36
II.2.2. Modèle mathématique	37
II.2.3. Matrice d'expériences	37
II.2.4. Qualité de prédiction	41
a. Fonction de variance	41
b. Isovariance par rotation	41
II.3. EXPERIMENTATION	42
II.3.1. Equation du modèle sans les points tests	43
II.3.2. Modèle mathématique affiné	45
II.3.3. Analyse des résidus	46
II.3.4. Analyse de la variance	46
a. Analyse canonique	49
b. Etude du chemin optimal	54
Conclusion	54
CONCLUSION GENERALE	
Références bibliographiques	

INTRODUCTION

Les substances pectiques et les polysaccharides du groupe des fibres alimentaires sont largement utilisés comme agents gélifiants et stabilisants dans l'industrie agroalimentaire, comme épaississant et émulsifiant dans les produits lactés. La pectine est aussi utilisée en pharmacie et dans les produits cosmétiques pour ses capacités gélifiantes.

Pour des raisons économiques et écologiques, il est préférable pour la production de pectines d'utiliser des sous produits de l'industrie des jus d'agrumes. L'Algérie compte parmi les pays importateurs de pectines malgré qu'elle dispose de ressources fruitières importantes. Ses industries de fabrication de jus rejettent annuellement des tonnages énormes de sous-produits qui peuvent constituer une source intéressante de matières premières pour la fabrication de la pectine.

Parmi les méthodes d'extraction existantes, (Jitra et al., 2005 ; Turakhozhaev et al., 1993), nous avons opté pour celle utilisant l'hydrolyse acide suivie d'une filtration et précipitation dans l'alcool.

Pour déterminer les conditions optimales conduisant au meilleur rendement en pectine, nous avons rationalisé la démarche en faisant appel à la méthodologie de recherche expérimentale (plans d'expériences). Dans une première étape, la stratégie de criblage nous a permis en utilisant une matrice de Hadamard d'identifier rapidement les facteurs ayant une influence sur la production en pectine. Ensuite, pour optimiser le process, nous avons réalisé une étude de surfaces de réponses. Pour des raisons liées aux contraintes imposées par le temps de contact et la température du milieu réactionnel, nous avons opté pour un domaine expérimental de forme cubique.

Première partie
Etude bibliographique

Chapitre I

Généralités sur les pectines

I.1. DEFINITION DES PECTINES

Les pectines sont des polysaccharides issus des parois pecto-cellulosiques des plantes. Ce sont les constituants essentiels de la lamelle moyenne à la base du « ciment » qui réunit les cellules entre elles. La structure principale des pectines est formée de chaînes faiblement polymérisées d'acides galacturoniques liés en α -(1→4) par une liaison glycosidique, appelée acides polygalacturoniques, et dans une faible proportion 1 à 4 %, d'unités L-rhamnose liées en α (1-2) (Goycoolea et Cardenas, 2003; Sharma et al., 2006). Chaque unité rhamnose introduit dans la chaîne un coude et confère donc à l'ensemble une configuration en zig-zag (figure 1). Des chaînes latérales de natures diverses, arabinane, galactane et arabinogalactane sont aussi greffées sur le squelette rhamnogalacturonique, d'où la grande diversité de ces polymères. Les fonctions acides sont souvent estérifiées par des groupements méthyles ou salifiées par des ions monovalents ou divalents tels que K^+ , Na^+ et Ca^{2+} .

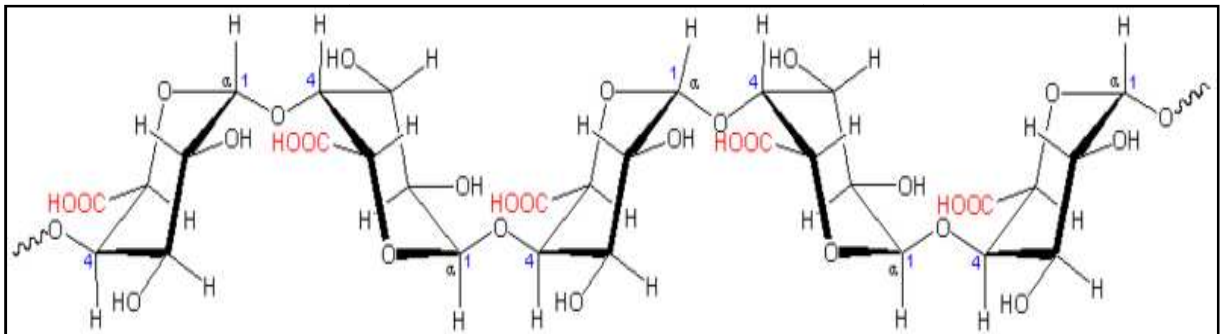


Figure 1. Molécule de la pectine

Du point de vue chimique, les pectines sont des polysaccharides anioniques ramifiés, se composant d'une chaîne linéaire de molécules d'acide galacturonique liées les unes aux autres. Elles renferment 39 à 46 % de carbone, 48 à 55 % d'oxygène et 5 à 6 % d'hydrogène. En présence d'eau, les pectines augmentent de volume et prennent la consistance d'une gelée ayant des propriétés laxatives et émollientes (ramollissant et relâchant les tissus).

I.2. LES DIFFERENTS DOMAINES PECTIQUES

Le terme de pectines désigne un groupe d'hétéropolysaccharides acides qui comporte des domaines structuraux distincts. Chez les végétaux supérieurs, les pectines représentent environ 30% de la masse des parois primaires de dicotylédones.

Elles sont soumises à des voies de biosynthèses complexes et leurs structures peuvent évoluer au cours du développement cellulaire. L'étude de la structure des pectines a fait l'objet d'un grand nombre de travaux. (Willats et al., 2001 ; Thibault et al., 2000 ; (Yapo et al., 2006 ; Goycoolea et Cardenas, 2003; Sharma et al., 2006).

La composition des pectines varie en fonction de l'espèce végétale qui est à l'origine de leur synthèse, des procédés d'extraction et de purification mis en œuvre pour les extraire ainsi que d'un certain nombre de facteurs édaphiques de l'environnement. En dépit de cette grande diversité, trois familles de polysaccharides pectiques ont été isolées des parois primaires : l'homogalacturonane, les galacturonanes substitués et les rhamnogalacturonanes (O'Neill et al., 1990).

Les motifs structuraux caractéristiques sont présentés dans la figure 2.

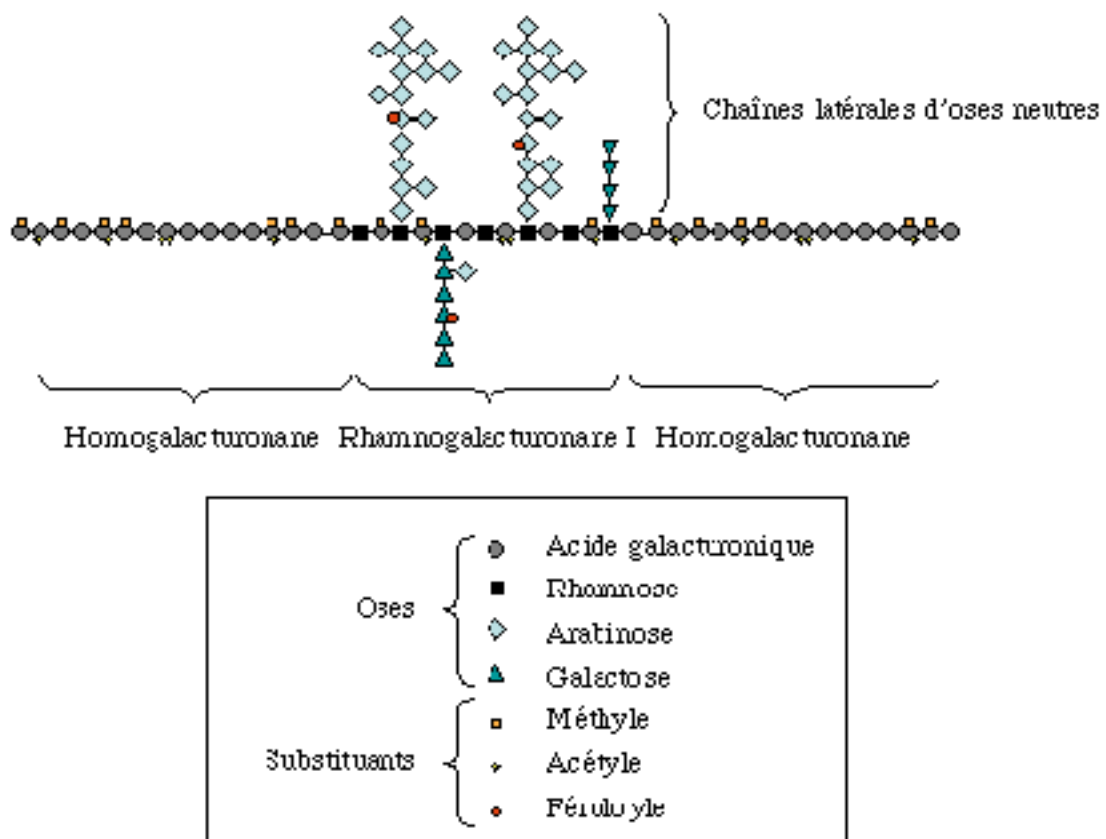


Figure 2. Motifs structuraux de la pectine

I.2.1. L'homogalacturonane ou acide homogalacturonique (HGA)

L'homogalacturonane est une chaîne linéaire d'acides α -D-galacturoniques liés en 1-4 dont certains sont méthylestérifiés ou acétylés (figure 3). En fonction de son taux de méthylestérification, l'HGA pourra être désigné par pectine (taux de méthylestérification élevé) ou acide pectique (taux de méthylestérification faible). L'HGA peut représenter jusqu'à 60% des pectines de la paroi primaire. Ses propriétés et ses fonctions biologiques sont souvent corrélées à sa capacité à établir des interactions électrostatiques.

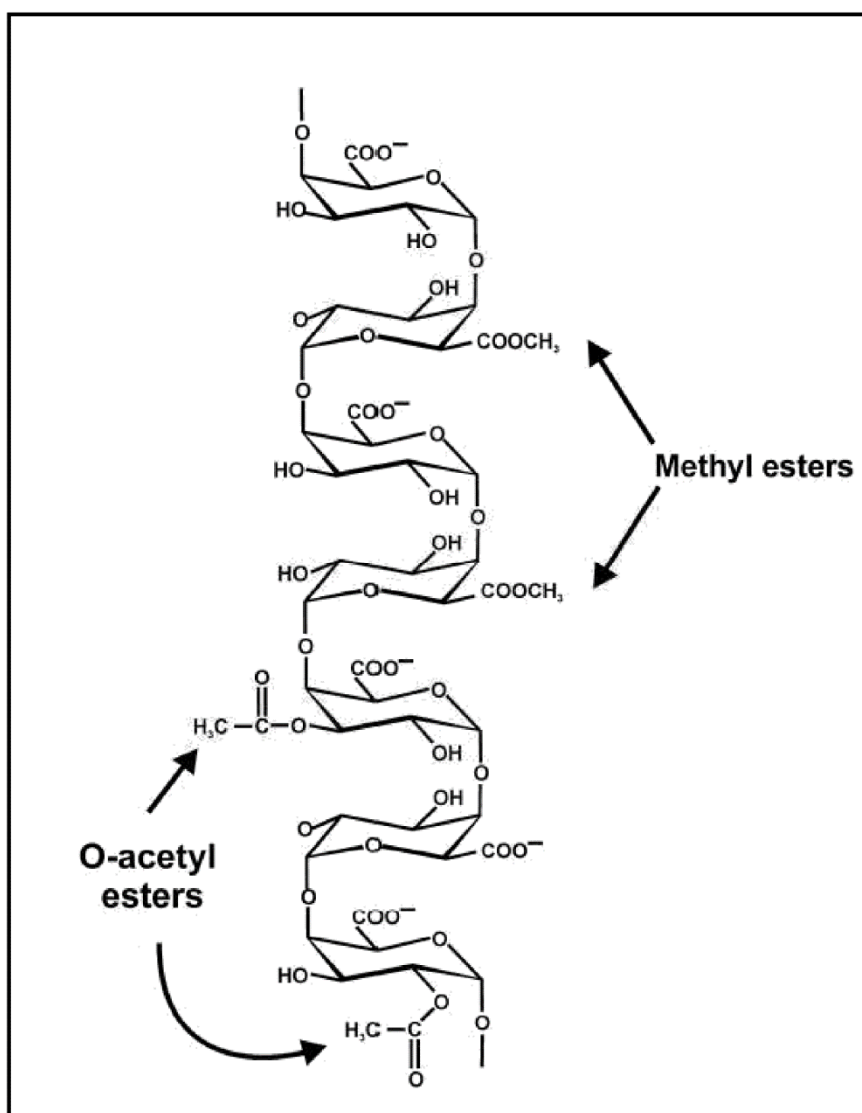


Figure 3. Structure de l'homogalacturonane (HG) d'après Ridley *et al.*, 2001.

I.2.2. Les galacturonanes substitués

Par substitution de l'homogalacturonane par des résidus de D-Xylp ou de D-Apif, deux polysaccharides pectiques ont été isolés et partiellement caractérisés. Il s'agit respectivement du xylogalacturonane (figure 4) et de l'apiogalacturonane (figure 5) d'après Schols et al (1995) et Golovchenko et al (2002).

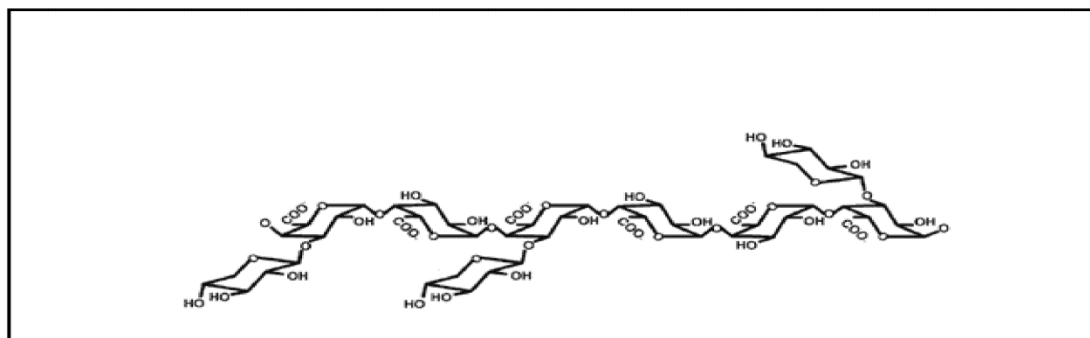


Figure 4. Structure du xylogalacturonane

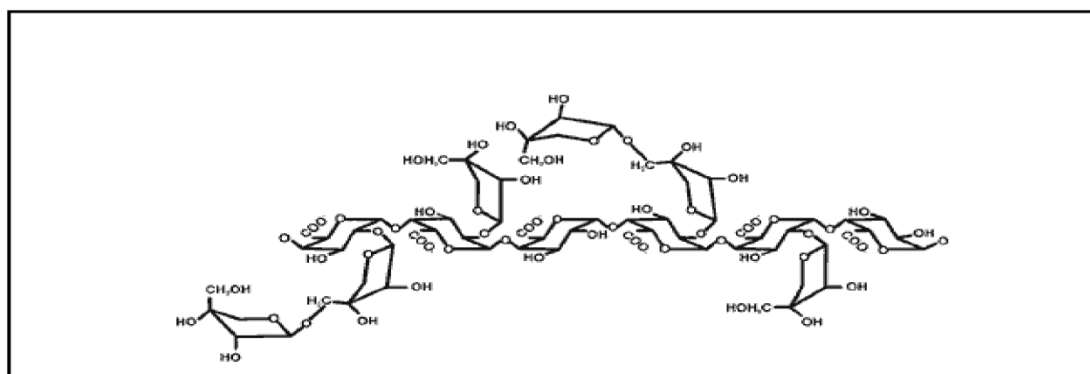


Figure 5. Structure de l'apiogalacturonane

I.2.3. Les rhamnogalacturonanes

Deux types de rhamnogalacturonane ont été mis en évidence : les rhamnogalacturonanes de type I (RG-I) et de type II (RG-II).

- Rhamnogalacturonanes I

Ils ont été décrits pour la première fois par l'équipe d'Albersheim (Talmadge et al., 1973).

Pour les RG (I), le squelette osidique comprend une succession de motifs du type acide α -D-galacturonique (Thibault et al., 2000 ; Ridley et al., 2002).

De nombreux oses peuvent se lier sur les résidus rhamnosyl en C- 4 ou sur les chaînes d'acide galacturonique, dont les plus dominants sont l'arabinose, le galactose et la xylose. (Thibault et al., 2000 ; Ralet et al., 2001).

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

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

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

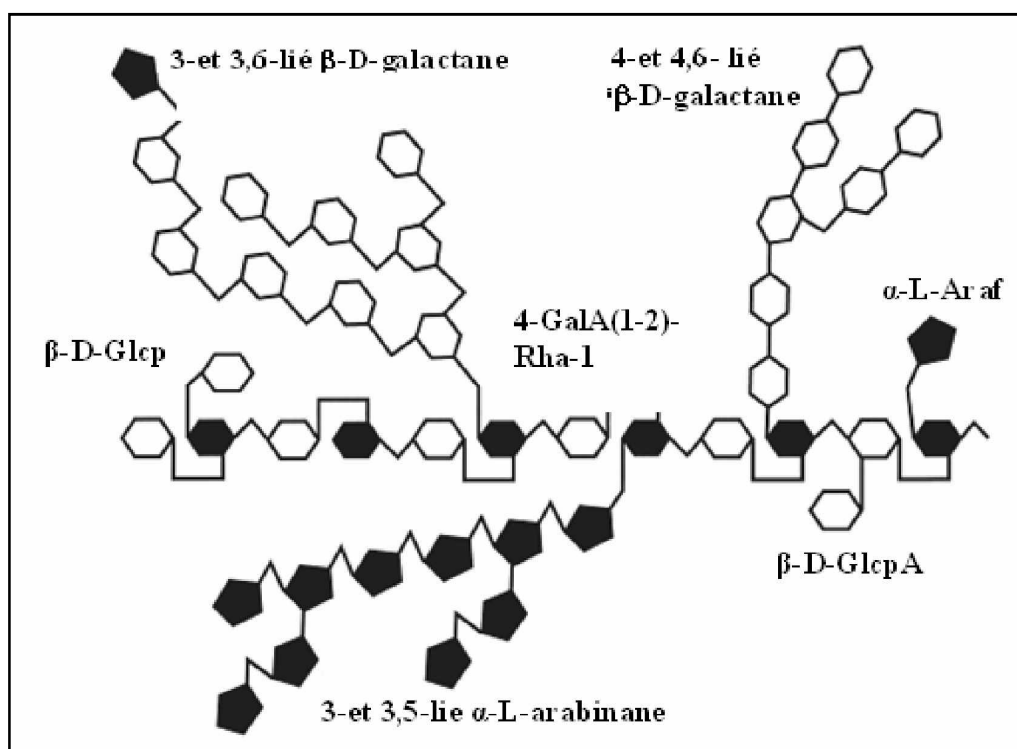


Figure 6. Représentation d'une portion d'homogalacturonane de type I avec des substituants arabinane, galactane et arabinogalactane

- Rhamnogalacturonane II

Concernant les RG de type **(II)** la structure est beaucoup plus complexe, la chaîne principale est formée par des β -D-galacturonane liés en (1-3) (Thibault et al., 2000 Habibi et al., 2004), elle-même partiellement interrompue en C-6 par de courtes chaînes du même composant (figures 7 et 8).

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

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

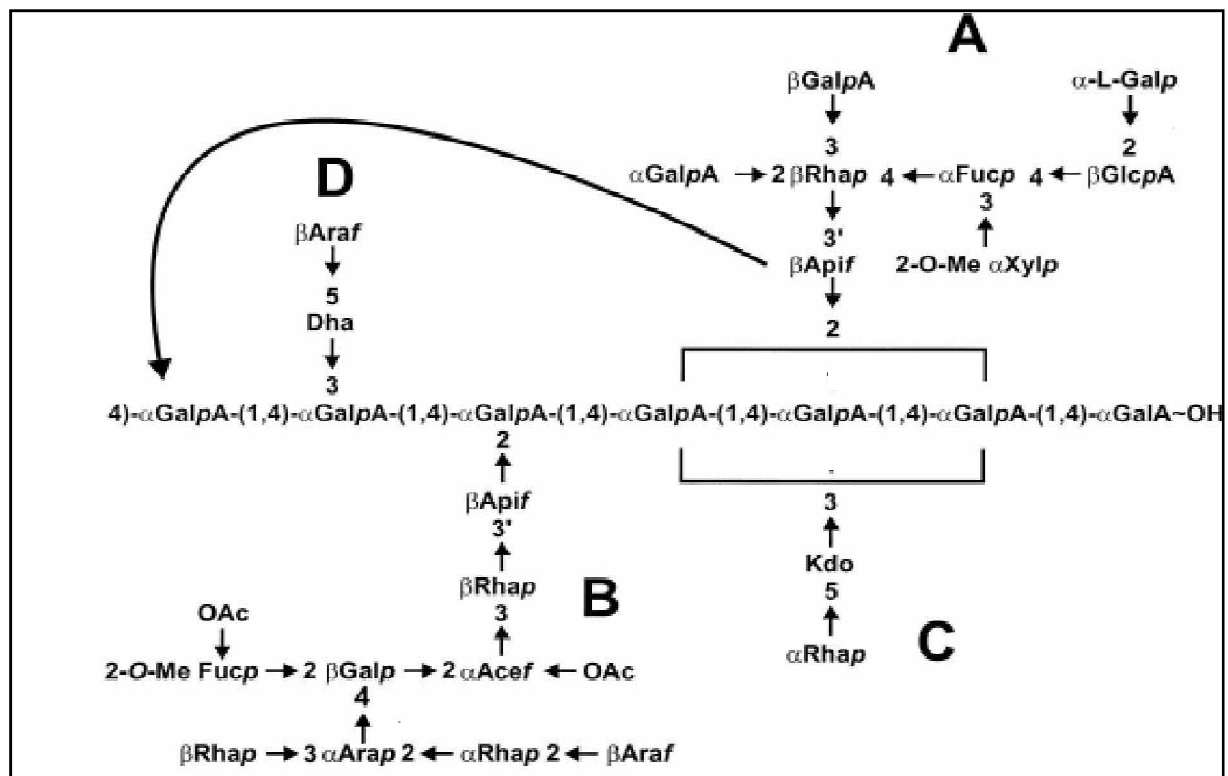


Figure 7. Structure d'un complexe de rhamnogalacturonane de type (II) selon Ridley et al., (2002)

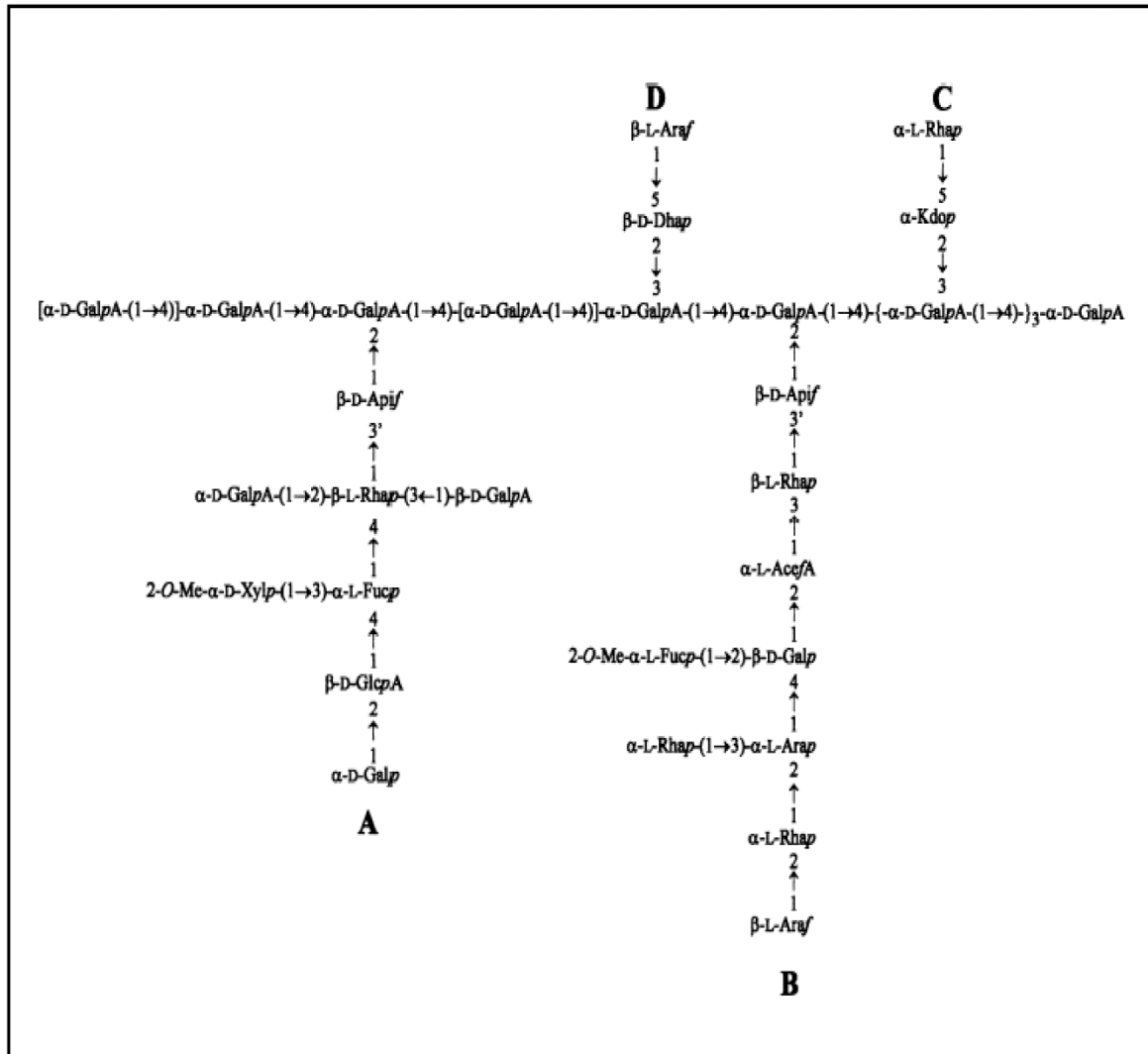


Figure 8. Structure du rhamnogalacturonane II, schéma selon Rodrigues-Carvajal *et al*, 2003

I.3. LIAISONS CHIMIQUES DES PECTINES

I.3.1. Structure en « boîte à œufs »

Lorsque deux portions de chaînes sont constituées d'acide galacturonique non méthylé, elles peuvent se lier en présence d'ions divalents, le calcium notamment. Dans ce cas, l'interaction implique 9 atomes d'oxygènes d'une même chaîne ou de deux chaînes d'HGA contigües. Parmi ceux-ci, deux proviennent des liaisons glycosidiques, deux des cycles, deux autres oxygènes des fonctions acides carboxyliques et trois sont issus des fonctions alcools secondaires. La nature de la liaison est de coordination (figure 10).

La propagation de cette interaction explique l'apparition de gels de bonne tenue en solution ou la mise en place d'interactions intermoléculaires au sein de la paroi cellulaire contribuant ainsi à sa stabilité.

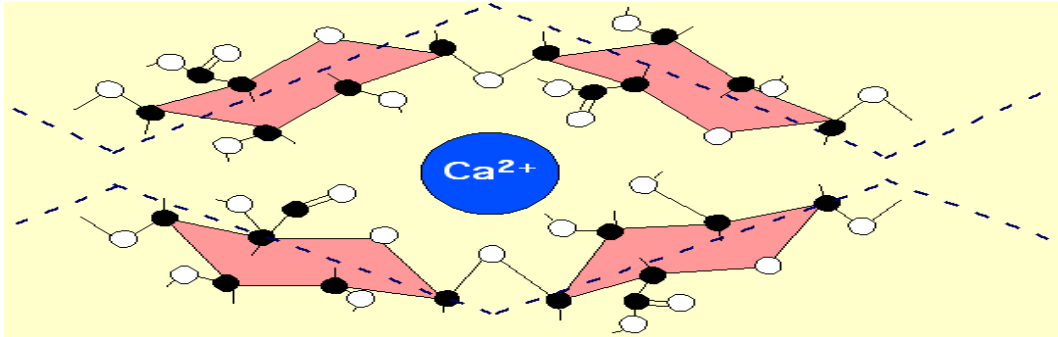


Figure 9. Structure en boîte à œuf

I.3.2. Liaisons entre les groupements carboxyliques des GalA

Environ 2% des résidus GalA peut s'associer par transestérification. Une telle réaction peut être catalysée par certaines catégories de pectines méthyles estérases (PME) (Ridley *et al*, 2001 ; Vincken *et al*, 2003).

I.4. TYPES DE PECTINES

Les fonctions acides carboxyliques sont plus ou moins estérifiées par du méthanol. On définit ainsi le degré de méthylation (DM) des pectines, plus communément appelé degré d'estérification (DE), comme étant le nombre de fonctions carboxyliques méthylées pour cent motifs d'acide galacturonique de la chaîne principale

Les pectines sont divisées en deux catégories. Selon leur degré de méthylation, on distingue:

- Les pectines hautement méthylées (HM) : ce sont des pectines dont plus de 50% des groupements carboxyles sont estérifiés avec le méthanol.
- Les pectines faiblement méthylées (FM) : ce sont des pectines dont moins de 50% de groupements carboxyles sont estérifiés.

Les mêmes fonctions acides peuvent, au cours du traitement industriel de déméthylation en milieu ammoniacal, être amidées. Dans ce cas, on parlera du degré d'amidation (DA).

I.5. PROPRIETES PHYSICO-CHIMIQUES DES PECTINES

Parmi les propriétés physico-chimiques des pectines, nous avons :

I.5.1. Solubilité et précipitation

Les pectines sont des hydrocolloïdes, c'est-à-dire des polysaccharides qui, par définition, sont solubles ou solubilisables dans l'eau et insolubles dans la plupart des solvants organiques. Cette propriété est à la base même de leur valorisation dans le secteur agro-alimentaire. Toutefois, lors de la solubilisation d'un polymère, il y a compétition entre les interactions macromolécule / solvant et les interactions macromolécule / macromolécule.

La solubilité des pectines est conditionnée par un certain nombre de facteurs liés essentiellement à leurs structures et notamment : leur masse moléculaire, l'importance de leur taux de ramification, la valeur de leur degré de méthylestérification ainsi que la répartition des groupements méthylester le long de la chaîne pectique.

Il est admis qu'une pectine sera d'autant plus soluble que sa masse moléculaire est faible, que sa structure est fortement ramifiée et que ces fonctions carboxyliques sont engagées dans une estérification avec le méthanol (taux de méthylestérification fort). Le pKa intrinsèque des Gal A est de l'ordre de 3. Ainsi, lorsque le pH des solutions est supérieur à 3, les pectines sont sous leur forme ionique (Thakur et al. 1997). En règle générale, la solubilité diminue avec l'augmentation de la force ionique. Il n'existe pas de saturation limite pour les pectines, mais il est difficile d'obtenir une concentration supérieure à 3-4%.

Les pectines sont, par ailleurs, solubles dans le Diméthylsulfoxyde (DMSO), le formamide, le diméthylformamide et le glycérol (Voragen et al. 1991 et Thibault, 1980).

Elles peuvent être aisément précipitées en présence de solvants organiques (acétone, éthanol, isopropanol), de détergents quaternaires (cetavlon ou Cetyl-Triméthyl-Ammonium-Bromide, bromure de cetyltriméthylammonium), de cations mono et multivalents (Na^+ , Ca^{2+} , H^+ , Al^{3+}) et de polymères basiques (protéines et polyamides) (Brillouet et al., 1990).

I.5.2. Propriétés gélifiantes et stabilisantes

Les substances pectiques peuvent former des gels sous certaines conditions (pH, Température, temps...). Ces propriétés sont très largement utilisées en industrie agroalimentaire où les pectines sont utilisées comme épaississant des solutions et stabilisant des émulsions.

Un gel est un réseau tridimensionnel de macromolécules incluant un solvant. Celui-ci, est provoqué par des changements physiques ou chimiques qui tendent à diminuer la solubilité de la pectine, favorisant la cristallisation locale.

Le réseau tridimensionnel retient entre ses mailles la phase liquide, les macromolécules doivent donc fortement s'associer entre elles. Dans le cas des substances pectiques, les groupes hydroxyles et les fonctions acides peuvent permettre l'établissement de liaisons hydrogènes ou de liaisons de type ioniques. Les substances pectiques hautement et faiblement méthylées donnent des gels dans des conditions différentes (Thibault, 1980).

Le degré de méthylation ou d'estérification des pectines joue un grand rôle dans la formation de gel. Les pectines hautement et faiblement méthylées forment un gel. Ce gel est formé dans le premier cas en présence de sucres neutres, dans le deuxième cas en présence de calcium.

- Gels de pectines hautement méthylestérifiées (pectines HM)

Ces pectines ont un DM compris entre 60 à 75%, elles gélifient en milieu acide ($2.5 \leq \text{pH} \leq 3$) en présence de sucre (masse de sucre $> 55\%$). En solution aqueuse diluée, les macromolécules pectiques sont fortement hydratées et chargées négativement du fait de la dissociation des acides carboxyliques. Pour qu'elles puissent se rapprocher et former un gel, il faut donc que l'hydratation diminue et que la répulsion entre les groupes ioniques soit rendue aussi faible que possible (diminution du pH).

La diminution de l'hydratation est réalisée par addition de saccharose, qui joue le rôle d'un fixateur d'eau puissant et détruit l'enveloppe d'hydratation des pectines (Rees, 1972). Ce comportement des pectines HM est utilisé dans l'industrie des confitures et gelées.

- Gels de pectines faiblement méthylestérifiées (FM)

Ces pectines de faible DM, obtenues par déestérification contrôlée des pectines HM, gélifient en présence de cations alcalino-terreux (le calcium pour les gels alimentaires). Le pH de gélification est large et compris entre 2 et 6 (Ralet et al, 2002).

L'ion Ca^{2+} prendrait part à 9 liaisons de coordination formant une structure originale dite en « boîte à œufs » (Axelos et Thibault, 1991 ; Morris et al, 1978). Une telle structure ne peut se former que par interaction entre régions homogalacturoniques suffisamment longues des macromolécules pectiques (au minimum 15 à 20 résidus de GalA). La présence de substitutions méthylester et/ou acétyle gêneront la formation de cette association et donc limiteront la gélification des solutions.

Enfin, pour obtenir un gel plutôt qu'un précipité, la réaction entre le Ca^{2+} et les pectines faiblement méthylées (FM) doit être lente (Thibault, 1980). Ce comportement des pectines FM est utilisé dans l'industrie des produits lactés.

I.6. PECTINES DANS L'INDUSTRIE ALIMENTAIRE

La propriété gélifiante des pectines leur donne un grand intérêt dans l'industrie alimentaire. Elles sont utilisées aussi comme ingrédient dans la préparation des confitures, des marmelades et des gelées.

Des études récentes (Sriamornsak, 2003; Voragen et al., 1996 cités par Visser et Voragen, 1996) ont montré que les pectines peuvent être utilisées comme stabilisateur d'émulsion.

Ces dernières sont également utilisées comme stabilisateur pour les acides (des produits laitiers). On leur trouve des applications dans le domaine pharmaceutique où elles sont utilisées comme agents anti diarrhée, pour la désintoxication, régulateurs et protecteurs gastro-intestinaux. Elles ont notamment un effet efficace pour l'élimination du cholestérol dans le sang (Garcia-Diez F et al., 1996).

I.7. EXTRACTION DES PECTINES

Il n'existe pas à proprement parler de normes d'extraction des pectines. Parmi les pratiques utilisées, beaucoup reposent sur un savoir faire propre à chaque laboratoire. Nous citons quelques unes de ces pratiques qui sont données dans la littérature (Jittra S et al., 2005 ; Manel M et al., 2010 ; M .T. Turakhozhaev et al., 1993)

I.7.1. Extraction par voie chimique

L'extraction par voie chimique consiste à solubiliser les pectines restant dans la pulpe ou les écorces, à l'aide d'acide dilué, à chaud.

Le processus de production de pectine comprend trois étapes principales :

- Préparation de la matière première et solubilisation de la protopectine.
- Précipitation alcoolique des pectines.
- Lavage, séchage, broyage et standardisation des pectines extraites.

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

Pour des pH de l'ordre de 1.5 à 3 et des températures de 40 à 90° C, la durée de l'extraction peut varier de 10mn à 90 min (Erika K et al., 2009)

I.7.2. Extraction enzymatique

Les enzymes non pectolytiques sont les cellulases, hémicellulases et protéases. Ces enzymes solubiliseraient les pectines par destruction des réseaux celluloses, hémicelluloses et protéiques

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

Les pectines extraites par voie enzymatique ont un degré d'estérification élevé, ce qui augmente leur solubilité dans l'eau (Turakhozhaev et al., 1993).

En comparaison avec l'extraction acide, l'extraction des pectines par les enzymes non pectolytiques conduit à un rendement plus important (Panouillé et al., 2006 ; Zykwiniska et al., 2008 ; Mahsa et al., 2012).

I.7.3. Extraction physique

De nombreux procédés d'extraction des pectines sont considérés comme physiques (ou mécaniques). Parmi ces procédés on trouve :

- Procédé thermique
- Extraction par irradiation micro onde : elle permet d'obtenir un bon rendement en pectine avec le moindre temps de réaction (Fishman et al., 2000), (Zhongdong et al., 2005).
- Irradiation γ : induit principalement à la formation de radicaux hydroxyles libres qui catalysent la dépolymérisation du polysaccharide (Anna-Maija Sjoberg, 1987)

Cependant, à une température supérieure à 100 °C des quantités résiduelles de protéines ou de peptides présentes dans l'échantillon peuvent générer des molécules indésirables.

Chapitre II
Méthodologie de la recherche expérimentale
(M.R.E)

La méthodologie de la recherche expérimentale (M.R.E), aussi appelée plans d'expériences, est préconisée afin d'optimiser l'organisation des essais. Cette organisation permet d'obtenir le maximum d'informations avec le minimum d'essais. L'information doit être de qualité.

La M.R.E est basée sur des règles mathématiques strictes et exige une démarche rigoureuse de la part de l'expérimentateur.

II.1. GENERALITES SUR LES PLANS D'EXPERIENCES

Pour approfondir cette approche, il faut introduire quelques notions particulières et une terminologie spécifique aux plans d'expériences.

De manière générale, on cherchera à déterminer et établir le (s) lien (s) existant entre les facteurs et une ou plusieurs réponses.

II.1.1. Réponse

C'est une grandeur physique qui représente le résultat d'une expérience ou d'une simulation numérique. Ainsi, une étude peut se traduire par plusieurs réponses.

La valeur d'une réponse ne peut être modifiée qu'en agissant d'une manière indirecte, c'est-à-dire en faisant varier les facteurs.

II.1.2. Facteur

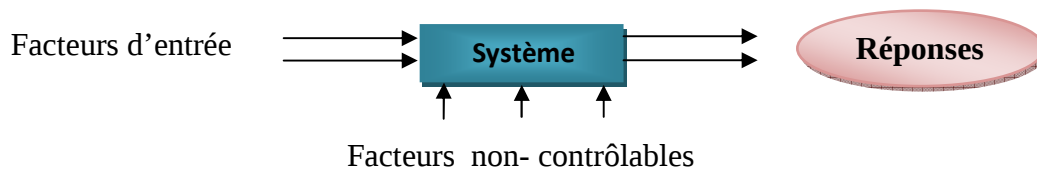
Un facteur est une variable qui peut éventuellement avoir une influence sur la réponse observée. Il peut être qualitatif ou quantitatif, continu ou discontinu (discret).

Parmi ces facteurs, on distingue :

✓ **Les facteurs contrôlables** : qui dépendent directement du choix du technicien (température, pression, matériau,...)

✓ **Les facteurs non-contrôlables** : qui varient indépendamment du choix du technicien (conditions climatiques, environnement,...)

Les facteurs incontrôlables sont des variables perturbatrices, difficiles à maîtriser et les plans d'expériences peuvent nous aider à nous affranchir ou du moins à les atténuer.



En général, un facteur varie entre deux bornes :

- La borne inférieure (niveau bas)
- La borne supérieure (niveau haut)

Dans le langage des plans d'expériences, le niveau bas est généralement noté -1 et le niveau haut +1. Ces variables sont dites codées, normées ou centrées réduites.

II.1.3. Domaine de variation du facteur

Il s'agit de l'ensemble de toutes les valeurs que peut prendre le facteur entre le niveau bas et le niveau haut.

Un facteur peut prendre plusieurs niveaux à l'intérieur de son domaine de variation.



II.1.4. Domaine expérimentale d'intérêt

Le domaine expérimental d'intérêt est le domaine expérimental possible. Il présente la réunion des domaines de variation de chaque facteur. Ainsi, les informations tirées des résultats expérimentaux ne seront valables que dans ce domaine.

II.1.5. Variables centrées réduites

L'intérêt des unités codées est d'obtenir la même représentation pour tous les facteurs.

Soit A la variable réelle dont le niveau bas A_- correspond à la normée -1 et le niveau haut A_+ à +1

La valeur centrale ou centre du domaine est :

$$A_0 = \frac{A_+ + A_-}{2}$$

On introduit également la notion de pas :

$$\text{pas} = \frac{A_+ - A_-}{2}$$

Le passage de variables d'origine A aux variables codées X et inversement est donné par la formule suivante :

$$X = \frac{A - A_0}{\text{pas}}$$

A_0 : valeur centrale en unités courantes.

II.1.6. Matrice d'expériences

Une matrice d'expériences est un objet mathématique qui peut être utilisé dans divers domaines (chimie, physique, biologie, ...). Toujours écrite sous forme codée, elle représente l'ensemble des expériences à réaliser. Elle comprend N lignes et K colonnes correspondant respectivement à N expériences à réaliser et à K facteurs à faire varier.

II.1.7. Plan d'expérimentation

Le plan d'expérimentation correspond à la traduction de la matrice d'expériences en variables réelles. L'expérimentateur doit analyser le plans d'expérimentation pour voir si toutes les expériences sont réalisables et ne présentent pas de risques.

II.2. METHODOLOGIE

Dans toute étude, il est utile de respecter la démarche suivante :

- 1-Définition de l'objectif
- 2-Choix des réponses permettant d'atteindre l'objectif
- 3-Choix des facteurs et du domaine expérimental d'intérêt
- 4-Etablissement de la stratégie expérimentale
 - Construction de la matrice d'expériences
 - Construction du plan d'expérimentation
 - Expérimentation
 - Calcul des estimations des informations recherchées
- 5-Interprétation des résultats

II.3. OBJECTIFS DE LA METHODOLOGIE DE LA RECHERCHE EXPERIMENTALE

La stratégie adaptée doit apporter les informations sensées répondre à l'objectif fixé. Ainsi, le choix de la stratégie dépend du type d'objectif. Les objectifs sont classés en cinq classes :

Recherche exploratoire

Il s'agit du cas où on ne connaît presque rien sur le domaine. La M.R.E propose des techniques permettant de rationaliser la démarche pour éviter de mener les expériences d'une manière anarchique.

Criblage de facteurs (screening)

Le criblage consiste à identifier rapidement parmi un ensemble de facteurs potentiellement influents, ceux qui le sont réellement.

Etude quantitative de facteurs

Contrairement à la stratégie classique où le nombre d'essais est élevé, la M.R.E permet d'avoir les informations désirées avec un minimum d'essais. Elle permet de connaître l'effet de chaque facteur et celui des éventuelles interactions entre les facteurs.

Etude des surfaces de réponses

Appelée aussi optimisation, les surfaces de réponses permettent de calculer toutes les valeurs de la réponse dans le domaine expérimental d'intérêt avec une précision au moins égale à celle qu'on obtiendrait si on faisait l'expérience. Ainsi, l'expérimentateur peut accéder à la zone la plus intéressante du domaine.

Mélanges

L'indépendance entre les facteurs présente dans les surfaces de réponses n'existe plus dans les mélanges. Dans ce cas, les facteurs représentent les proportions des constituants du mélange. En effet, la somme des proportions de chaque constituant est toujours égale à l'unité.

II.4. CRIBLAGE DE FACTEURS

Il est souvent utile de réaliser une étude de criblage pour ne retenir que les paramètres influents. Ainsi, le nombre d'expériences à exécuter dans les études ultérieures (étude quantitative, surfaces de réponses ou mélange) sera réduit.

Les matrices de Hadamard sont les matrices les plus utilisées pour un criblage de facteurs. Dans ces matrices, les niveaux des facteurs ne prennent généralement que deux niveaux distincts notés -1 et +1 en variables codées. Elles permettent d'estimer le poids de chaque facteur.

La variance de l'estimation de chaque facteur est donnée par la relation :

$$\text{Var}(b_j) = \sigma^2 / N$$

σ^2 : variance expérimentale de la réponse

N : nombre d'expériences à réaliser

b_j : estimation du poids du facteur j

Pour K facteurs à deux niveaux, le nombre d'expériences N qui est toujours un multiple de 4 doit satisfaire la condition : $N \geq K+1$

Les premières lignes des matrices de Hadamard sont données par le tableau 1.

Tableau 1. Premières lignes de la matrice de Hadamard

Nombre de facteurs	Nombre d'expériences	Ligne de départ
$K \leq 3$	4	+ + -
$4 \leq K \leq 7$	8	+ + + - + - -
$8 \leq K \leq 11$	12	+ + - + + + - - - + -
$12 \leq K \leq 15$	16	+ + + + - + - + + - - - -
$16 \leq K \leq 19$	20	+ + - - + + + + - + - + - - - + + -
$20 \leq K \leq 23$	24	+ + + + + - + - + + - - + + - - + - - - -

Construction de la matrice selon la méthode de Plaquett et Buriman

L'algorithme de construction d'une matrice de Hadamard à K facteurs et N expériences est le suivant :

- Ecrire la première ligne ou la première colonne
- Les autres lignes ou colonnes sont générées par permutation circulaire à droite ou à gauche, vers le haut ou vers le bas.
- On s'arrête à $(N-1)^{ième}$ ligne
- La dernière ligne ne comporte que des -1
- Supprimer les colonnes superflues et garder le nombre de lignes.

II.5. SURFACES DE REPONSES

Cette technique vise à déterminer, en tout point du domaine expérimental, la valeur de la réponse étudiée. Comme la démarche consistant à réaliser toutes les mesures possibles est non acceptable en raison de son coût et du temps nécessaire pour le faire, on utilise des relations mathématiques dites modèle à priori "postulé" car la M.R.E impose son choix avant les essais. La réponse calculée doit être au moins d'une précision égale à celle qu'on obtiendrait si on faisait l'expérience.

II.5.1. Formes du domaine expérimental

La relation entre les valeurs codées et les valeurs réelles est donnée par :

$$U_{ij} = U^{\circ}_j + X_{ij} \cdot \Delta U_j$$

$$X_{ij} = \frac{U_{ij} - U^{\circ}_j}{\Delta U_j}$$

X_{ij} : Valeur de la variable codée j à l'expérience i

U_{ij} : Valeur de la variable réelle j à l'expérience i

U°_j : Valeur de la variable réelle j au centre du domaine d'étude

ΔU_j : Variation de la variable réelle correspondant à une variation de la variable codée correspondante.

$$\Delta U_j = (U_{j \max} - U_{j \min}) / 2$$

$U_{j \max}$: Valeur maximale de la variable réelle

$U_{j \min}$: Valeur minimale de la variable réelle

II.5.2. Modèles mathématiques

Généralement, la réponse est prédite en utilisant des modèles polynomiaux qui sont des modèles linéaires faciles à traiter en utilisant le calcul matriciel. Ils sont donc simples et permettent une démarche séquentielle.

Chaque point expérimental apporte une valeur de la réponse. Or cette réponse est modélisée par un polynôme dont les coefficients sont les inconnues qu'il faut déterminer.

À la fin du plan d'expériences, on a un système de n équations (n essais) à p inconnus (p coefficients dans le modèle choisi a priori). Ce système s'écrit d'une manière simple en notation matricielle :

$$\mathbf{Y} = \mathbf{X} \boldsymbol{\beta} + \mathbf{e}$$

Où :

- $\mathbf{Y}$ est le vecteur des réponses
- $\mathbf{X}$ est la matrice de calcul des coefficients ou matrice du modèle qui dépend des points expérimentaux choisis pour exécuter le plan et du modèle postulé
- $\boldsymbol{\beta}$ est le vecteur des coefficients
- $\mathbf{e}$ est le vecteur des écarts.

Ce système ne peut pas, en général, être résolu simplement car le nombre d'équations est inférieur au nombre d'inconnues. En effet, il y a n équations et $p + n$ inconnus.

Cette résolution ne peut être menée à bien que si l'on utilise une méthode de régression multilinéaire. La plupart du temps, cette méthode est basée sur le critère d'optimisation des moindres carrés. La somme des carrés des résidus s'écrit sous la forme matricielle $e^t.e$

Où e^t est la matrice transposée de e .

On peut minimiser cette somme en cherchant la dérivée $\delta e^t.e$ par rapport à β

$$\frac{\delta e^t.e}{\delta \beta} = 0$$

Cette relation apporte au système les équations qui lui manquent pour être résolu.

Le nouveau système à résoudre :
$$\left\{ \begin{array}{l} Y = X\beta + e \\ \frac{\delta e^t.e}{\delta \beta} = 0 \end{array} \right\}$$

On obtient ainsi les estimations des coefficients que l'on note **b**

$$b = (X^t.X)^{-1}.X^t.Y$$

Où b représente l'estimation de β

La matrice X^t est la matrice transposée de X et Y est la réponse étudiée.

Deux matrices interviennent constamment dans la théorie des plans d'expériences:

- la matrice d'information X^tX ,
- la matrice de dispersion $(X^tX)^{-1}$.

Il existe de nombreux logiciels qui exécutent ce calcul et qui donnent directement les valeurs des coefficients. Dans notre cas, nous avons effectué nos calculs à l'aide du logiciel NEMRODW.

II.5.3. Matrices d'expériences

Les matrices des surfaces de réponses sont utilisées pour un domaine expérimental de forme cubique ou sphérique. Généralement, la forme cubique est conseillée quand le domaine est borné par des contraintes individuelles. On préfère utiliser un domaine sphérique quand celui-ci est limité au voisinage d'un point.

Dans la forme cubique, les points sont disposés sur un hyper cube (d'arrête 2), les niveaux de variables seront -1, +1 et 0.

Dans les matrices sphériques, les points seront disposés sur une sphère ou hyper sphère.

Dans le cas du domaine sphérique, les matrices d'expériences utilisées sont :

- Les matrices composites
- Les matrices de Doehlert
- Les matrices de Box – Behnken
- Les matrices hybrides
- Les matrices équiradiales

Dans le cas du domaine cubique, on utilise les matrices suivantes :

- Les matrices de Box –Behnken
- Les matrices composites
- Les matrices de Hoke

Deuxième Partie
Etude Expérimentale

Chapitre I
Matériel et méthodes

Dans ce chapitre, est décrit le matériel utilisé et les méthodes suivies lors des procédés expérimentaux.

I.1. MATERIEL

a. Matériel végétal

-Le citron utilisé dans cette étude a été récolté durant les mois de Mars / Mai 2013 et il est issu du commerce algérien.

-La poudre de citron : elle a été obtenue à partir des écorces de citron après séchage et broyage.

b. Produits chimiques utilisés

- Acide chlorhydrique (HCl), de pureté 37-38,5 %. Il est issu du commerce ;
- Acide acétique (CH₃COOH), de pureté 99 – 100 %. Il est issu du commerce ;
- Ethanol (C₂H₅O), de pureté 95,5 %. Il est issu du commerce ;
- Ethanol : d'une pureté de 70 % ;
- Ethanol acidifié.

I.2. PROTOCOLE EXPERIMENTAL

I.2.1. Teneur en matières volatiles (M.V)

La teneur en matières volatiles du zeste du citron a été déterminée de la manière suivante :

Une masse de 10 g du zeste du citron a été introduite dans une étuve portée à une température de $(103 \pm 1) ^\circ\text{C}$. Ce matériel végétal reste soumis au séchage jusqu'à ce que son poids devienne constant (figure 10). Cette opération a été répétée quatre fois.



Figure 10. Détermination de la teneur en matière volatiles de zeste de citron

La teneur en matières volatiles est donnée par la relation suivante :

$$M.V (\%) = \frac{m_0 - m_1}{m_0} \times 100$$

m_0 : masse de la prise d'essai avant le séchage (10g).

m_1 : masse de la prise d'essai après le séchage.

L'expérience a été répétée quatre fois ; les masses correspondantes aux différentes prises d'essai sont données par le tableau 2.

Tableau 2. Masse de zeste de citron correspondant à chaque prise d'essai

N° Essai	m_i (g)
01	1.53
02	1.54
03	1.54
04	1.53

$$m_1 = \Sigma m_i / 4 = 1.535 \text{ g}$$

Où m_1 est la moyenne des m_i

$$M.V = \frac{10 - 1.535}{10} = 84.65 + \Delta (M.V) \%$$

$$\Delta (M.V) = \frac{t_{\alpha} \cdot \sigma}{\sqrt{n}}$$

t représente le t de student

α est le seuil de signification qui est généralement de 5 %

σ est l'écart-type

n représente le nombre d'expériences effectuées (4 expériences)

La teneur en matières volatiles de la matière première est de $84.65 \pm 0.01 \%$.

I.2.2. Préparation de la poudre de zeste de citron

Les peaux ont été séparées de l'endocarpe à l'aide d'un couteau après lavage. Dans un premier temps, ces peaux ont été découpées en dés (figure 11) et séchées à une température de 60°C dans un séchoir (marque Retsch) sous convection forcée (figures 12 et 13). Ces écorces ont été ensuite triturerées (figure14) à l'aide d'un broyeur (marque Samap). La poudre obtenue a été conservée dans des boites hermétiques à une température de 4 à 6 °C jusqu'à utilisation.



Figure 11. Ecorces de citron après découpage



Figure 12. Séchage des écorces de citron avec un séchoir



Figure 13. Ecorce de citron après séchage



Figure 14. Broyage du zeste de citron séché

Les différentes opérations réalisées sont décrites par le flowsheet donné par la figure 15.

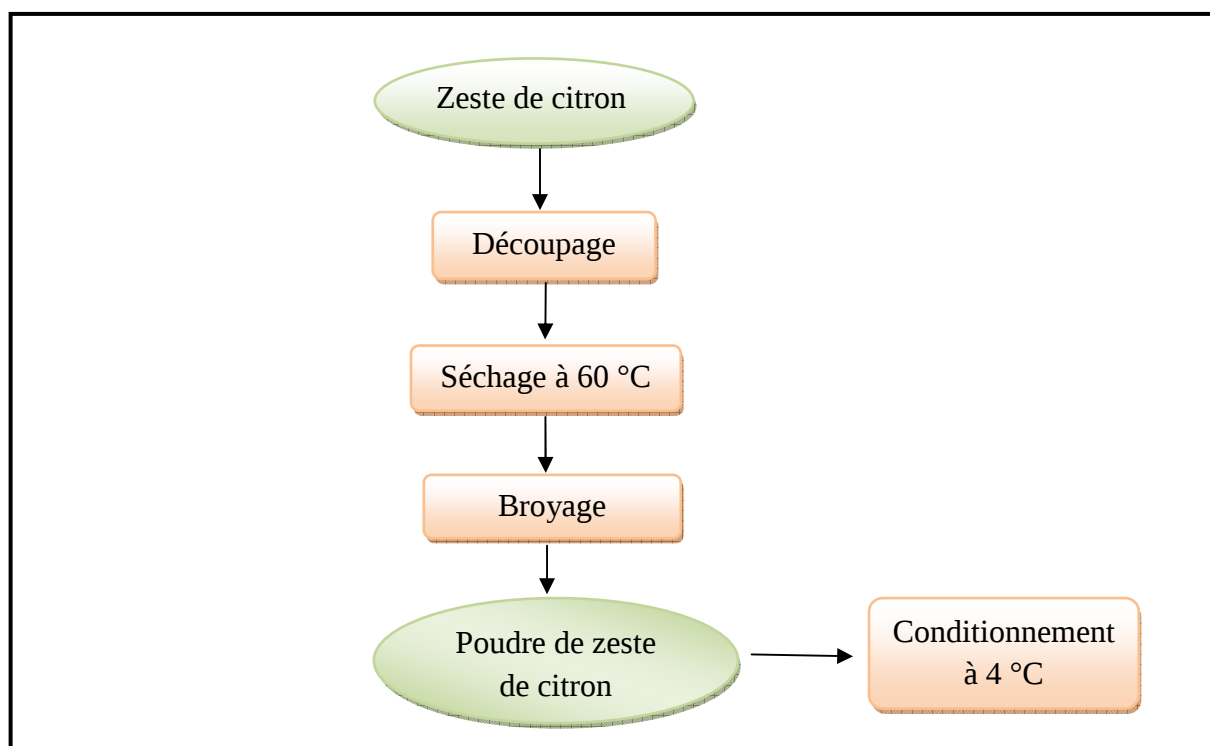


Figure 15. Flowsheet de la préparation de la poudre de zeste de citron

I.2.3. Préparation des solutions

o Solution d'acide chlorhydrique 2N

La solution d'acide chlorhydrique HCl a été préparée à partir d'une solution commerciale de pureté 37 à 38%.

o Solution : éthanol à 70 % et éthanol acidifié

L'éthanol à 70 % a été préparé par dilution de l'éthanol 95,5 %. Ainsi, pour préparer 1 L d'éthanol à 70 %, 732,98 mL ont été prélevés de la solution d'éthanol mère et complétés jusqu'au trait de jauge de la fiole avec 267,02 mL d'eau distillée.

La préparation de la solution de l'éthanol acidifié (V= 100 mL) se fait par addition de 0,5 mL d'acide chlorhydrique à 99,5 mL d'éthanol à 70 %.

I.2.4. Extraction de la pectine

Le système d'extraction utilisé est composé d'un réacteur cylindrique de capacité 600 mL qui contient le mélange réactionnel (zeste de citron + solvant) muni d'un réfrigérant afin d'obtenir un reflux total. Ce réacteur baigne dans un cristalliseur rempli d'huile de silicone déposée sur une plaque chauffante munie d'une agitation magnétique. Le montage est illustré par la figure 16.

La prise d'essai soumise à l'extraction est de 5g. Cette quantité de poudre de zeste de citron est introduite dans le réacteur contenant de l'eau distillée. Le pH de la solution obtenue est ensuite ajusté en ajoutant de l'acide.



Figure 16. Montage d'extraction de la pectine

a. Méthode d'ajustement du pH

Pour ajuster le pH du mélange réactionnel à la valeur désirée, nous devons déterminer les volumes d'eau et d'acide à mettre dans le réacteur. On a :

$$V_T = V_e + V_a$$

V_T est le volume total du mélange

V_e est le volume d'eau

V_a est le volume d'acide

Le volume V_T est imposé par le rapport L/S où S représente la masse du solide (m = 5g)

Pour déterminer le volume d'acide V_a à ajouter pour chaque cas (pour L/S et un pH donnés), il faut réaliser au moins une expérience. Dans cette expérience, à un volume V'_e d'eau, on ajoute la quantité nécessaire de solide (pectine) et le volume adéquat d'acide V'_a pour atteindre le pH désiré. Le volume total V'_T est :

$$V'_T = V'_a + V'_e$$

Si on considérait que le volume d'acide est une fonction linéaire du volume total, on pourrait écrire :

$$\frac{V'_a}{V'_T} = \frac{V_a}{V_T}$$

Donc
$$V_a = \frac{V'_a}{V'_T} V_T$$

Les différentes extractions ont été réalisées dans les conditions suivantes :

- pH : 1,5 et 2,5
- Rapport liquide /solide : L/S = 25 et 50 mL / g
- Nature de l'acide : CH_3COOH et HCl
- Température : 40 et 80 °C
- Temps d'extraction : 20 et 60 minutes
- Vitesse d'agitation : 200 et 400 tr/min.

b. Filtration sous vide

Chaque extraction est suivie d'une filtration sous vide et à chaud pour isoler le gâteau de la solution où le vide est assuré par une trompe à eau. Le filtrat obtenu est refroidi à 4°C et coagulé pendant 24 heures en lui ajoutant un volume équivalent d'éthanol 95,5 %.

La pectine ainsi coagulée (figure 17) a été séparée par filtration sous vide, lavée avec de l'éthanol acidifiée 70 %, puis avec l'éthanol 70 % et enfin avec l'éthanol 95,5 % pour se débarrasser des impuretés. La pectine obtenue est sous forme de gel.

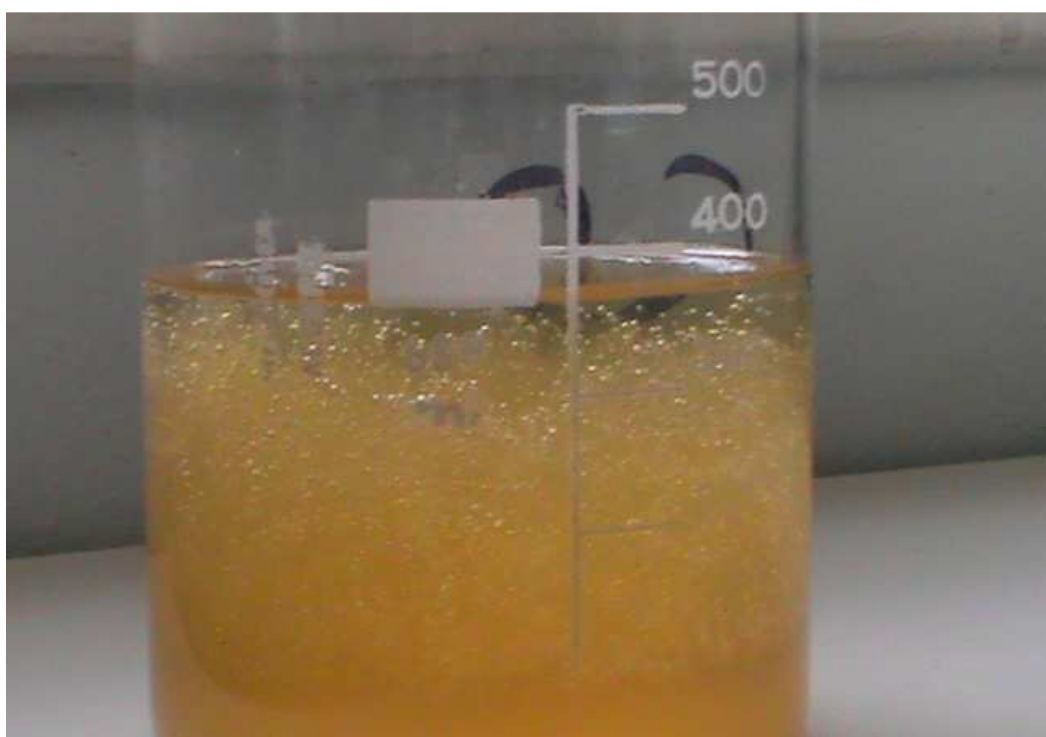


Figure 17. Pectine après coagulation

c. Séchage du gel obtenu

Le gel récupéré a été séché avec un séchoir à lit fluidisé à une température de 35 à 40 °C sous convection forcée jusqu'à obtention d'une masse constante. La pectine obtenue est sous forme d'un film fin.

d. Broyage du film (polymère)

La pectine obtenue sous forme d'un film a été broyée avec un moulinex à café afin d'obtenir une poudre fine qui a été conditionnée dans des boîtes hermétiquement fermées à une température inférieure à 10 °C.

e. Rendement en pectine

Le rendement en pectine Y est déterminé suivant la formule :

$$Y (\%) = 100 \frac{m_2}{m_1}$$

Où :

m_2 est la masse de la pectine après séchage

m_1 est la masse de la poudre de zeste de citron introduite dans le réacteur (5g)

Chapitre II
Résultats et discussion

II.1. CRIBLAGE DE FACTEURS

On rappelle que le criblage est une stratégie qui permet d'identifier parmi un ensemble de facteurs potentiellement influents ceux qui le sont réellement.

Les facteurs qui peuvent avoir une influence sur l'extraction de la pectine sont :

- pH du mélange réactionnel
- Rapport Liquide / Solide (mL/g)
- Nature de l'acide
- Température (°C)
- Vitesse d'agitation du mélange réactionnel (tours/minute)
- Temps de contact (minutes)

Les conditions opératoires choisies pour réaliser les expériences sont les suivantes (tableau 3):

Tableau 3. Domaine expérimental des facteurs (criblage)

Facteurs	Symboles	Niveau (-)	Niveau (+)
U ₁ : pH	pH	1.5	2.5
U ₂ : Rapport Liquide/Solide	L/S	25	50
U ₃ : Nature de l'acide	/	HCl	CH ₃ COOH
U ₄ : Température	T	40	80
U ₅ : Vitesse d'agitation	Va	200	400
U ₆ : Temps de contact	t	20	60

II.1.1. Stratégie du criblage

Dans le criblage, en plus du principe de parcimonie, l'additivité est une hypothèse forte : on détermine donc le poids de chacun des facteurs en considérant qu'il n'y a pas d'interactions. Ainsi, le modèle mathématique utilisé est un modèle linéaire du 1er degré.

$$Y = b_0 + b_1 X_1 + b_2 X_2 + \dots + b_k X_k \quad k = 1 \text{ à } n.$$

Les estimations des b_j sont calculées par le logiciel Nemrodw (cité par Boudissa et al., 2013).

II.1.2. Construction de la matrice d'expériences

Nous avons utilisé une matrice de Hadamard. Comme le nombre de facteurs est $k = 6$, le nombre d'expériences N à réaliser est un multiple de 4 et doit satisfaire à la relation :

$$N \geq k + 1 \quad \text{Donc } N = 8 \text{ expériences.}$$

Pour obtenir une variance expérimentale de la réponse, nous avons répété deux fois le plan. La matrice d'expériences, construite par permutation circulaire à partir de la droite est donnée par le tableau 4.

Tableau 4 : Matrice d'expérience (criblage)

N°Exp	X1	X2	X3	X4	X5	X6
1	1	1	1	-1	1	-1
2	1	1	1	-1	1	-1
3	-1	1	1	1	-1	1
4	-1	1	1	1	-1	1
5	-1	-1	1	1	1	-1
6	-1	-1	1	1	1	-1
7	1	-1	-1	1	1	1
8	1	-1	-1	1	1	1
9	-1	1	-1	-1	1	1
10	-1	1	-1	-1	1	1
11	1	-1	1	-1	-1	1
12	1	-1	1	-1	-1	1
13	1	1	-1	1	-1	-1
14	1	1	-1	1	-1	-1
15	-1	-1	-1	-1	-1	-1
16	-1	-1	-1	-1	-1	-1

La traduction de cette matrice en variables naturelles est consignée dans le tableau 5.

Tableau 5. Plan d'expérimentation (criblage)

N°Exp	pH	L/S	Nature de l'acide	Température	Vitesse d'agitation	Temps
		mL/g		°C	trs/min	minutes
1	2.5	50	HCl	40	200	60
2	2.5	50	HCl	40	200	60
3	1.5	50	HCl	80	400	20
4	1.5	50	HCl	80	400	20
5	1.5	25	HCl	80	200	60
6	1.5	25	HCl	80	200	60
7	2.5	25	CH ₃ COOH	80	400	60
8	2.5	25	CH ₃ COOH	80	400	60
9	1.5	50	CH ₃ COOH	40	400	60
10	1.5	50	CH ₃ COOH	40	400	60
11	2.5	25	HCl	40	400	20
12	2.5	25	HCl	40	400	20
13	2.5	50	CH ₃ COOH	80	200	20
14	2.5	50	CH ₃ COOH	80	200	20
15	1.5	25	CH ₃ COOH	40	200	20
16	1.5	25	CH ₃ COOH	40	200	20

Les résultats des expériences sont regroupés dans le tableau 6.

Tableau 6. Résultats des expériences

N° Essai	Rendement (%)	N° Essai	Rendement (%)
1	1.20	9	10.60
2	2.00	10	13.60
3	8.40	11	2.60
4	7.60	12	4.00
5	9.40	13	14.00
6	3.20	14	11.80
7	18.00	15	12.80
8	22.40	16	8.60

II.1.3. Estimation des poids des facteurs

Les estimations des poids b_j , les écart-types ainsi que le seuil de signification sont calculées par le logiciel Nemrodw (Tableaux 7).

Pour identifier les effets principaux et les interactions entre les facteurs, nous devons calculer l'écart-type, le t de Student et le seuil de signification (%) pour chaque coefficient.

$$\text{Var}(b_j) = \frac{\text{Var}(Y)}{N} \quad \text{donc} \quad \sigma(b_j) = \sqrt{\frac{\text{Var}(Y)}{N}}$$

$$t_{\text{exp}} = \frac{b_j}{\sigma(b_j)}$$

σ est l'écart-type

N est le nombre d'essais

Connaissant t_{exp} et le nombre de degrés de liberté (ddl), on détermine le seuil de signification (%) en utilisant la loi de Student.

On considère généralement que si le seuil de signification est inférieur à 5 %, l'effet est significatif.

II.1.4. Rendement en pectine

Le tableau 8 et la figure 18 montrent que les facteurs présentant un poids significatifs sont les suivants :

- Nature de l'acide
- Température
- Temps de contact

Tableau 7. Estimations et statistiques des coefficients

Ecart Type de la réponse	2.471
R^2	0.898
R^2_A	0.831
Nombre de degrés de liberté	9

Tableau 8. Estimations des coefficients du modèle

Nom	Coefficient	F.Inflation	Ecart-Type	t.exp.	Signif. %
b0	9.387		0.618	15.19	< 0.01 ***
b1	0.112	1.00	0.618	0.18	86.0
b2	-0.737	1.00	0.618	-1.19	26.3
b3	-4.587	1.00	0.618	-7.43	< 0.01 ***
b4	2.463	1.00	0.618	3.99	0.318 **
b5	0.662	1.00	0.618	1.07	31.1
b6	1.512	1.00	0.618	2.45	3.69 *

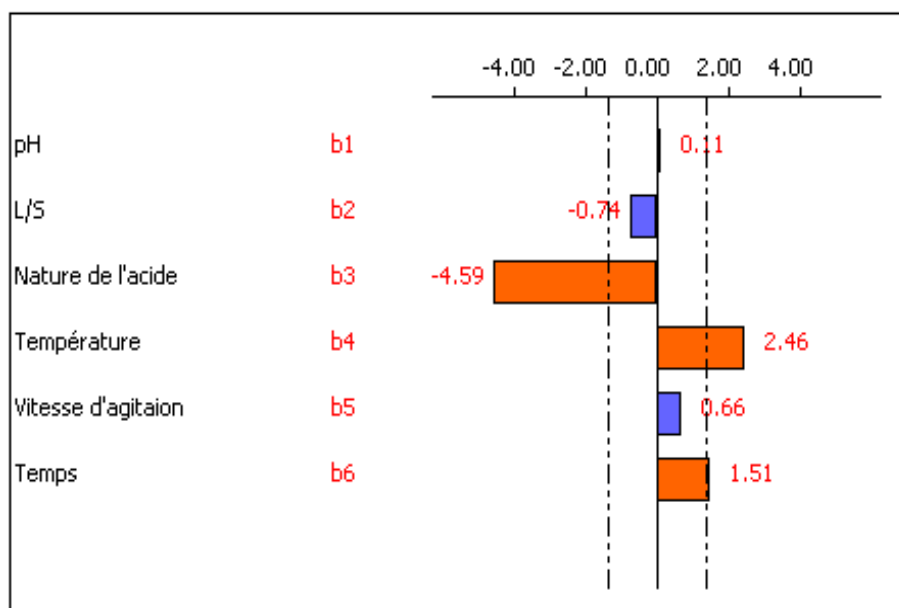


Figure 18. Etude graphique des effets du rendement

II.2. METHODOLOGIE DES SURFACES DE REPONSES

II.2.1. Mise en place de la stratégie

L'étude des surfaces de réponses permet de calculer en chaque point du domaine expérimental d'intérêt la valeur de la réponse avec une précision au moins égale à celle qu'on obtiendrait si l'on faisait l'expérience.

Dans cette étude, les facteurs à prendre en compte sont les suivants :

- Le temps d'extraction
- La température
- Le pH
- Le rapport L/S

Le pH et le rapport L/S non significatifs (voir criblage) ne devraient pas faire parti de l'étude des surfaces de réponses. Ces deux paramètres influents d'après certaines études (Jittra et al., Erika et al.,) ont été réintroduits car les résultats obtenus lors du criblage pouvaient être altérés par la filtration difficile à maîtriser au cours de l'expérimentation.

II.2.2. Modèle mathématique

Le modèle mathématique postulé qui est un polynôme du second degré est donné par l'équation suivante :

$$Y = b_0 + b_1X_1 + b_2X_2 + b_3X_3 + b_4X_4 + b_{11}X_1^2 + b_{22}X_2^2 + b_{33}X_3^2 + b_{44}X_4^2 + b_{12}X_1X_2 + b_{13}X_1X_3 + b_{14}X_1X_4 + b_{23}X_2X_3 + b_{24}X_2X_4 + b_{34}X_3X_4$$

II.2.3. Matrice d'expériences

Le nombre d'expériences à réaliser N

$$N = N_f + N_\alpha + N_0$$

N : nombre total de points

N_f : nombre de points du plan factoriel

N_α : nombre de points sur les axes (deux par axe)

N_0 : Nombre de points au centre du domaine d'étude

Le nombre de facteurs à étudier étant $k = 4$, nous aurons :

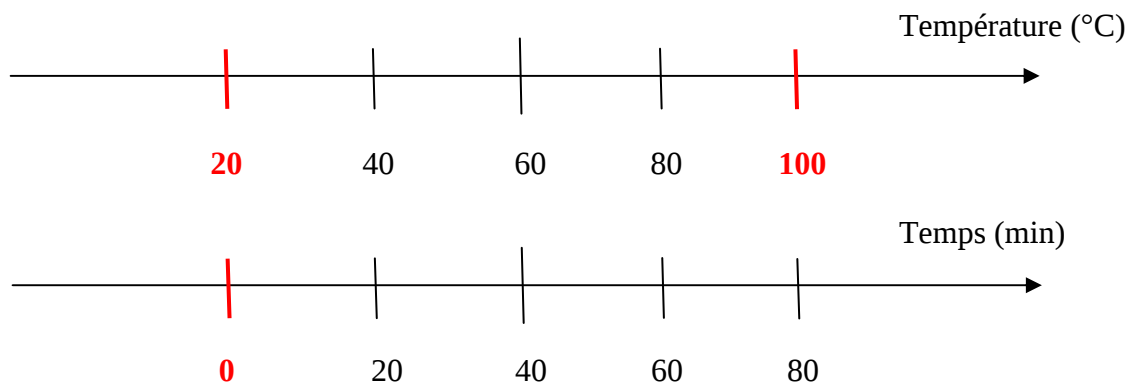
$$N_f = 2^4 = 16 \text{ points}$$

$$N_\alpha = 2 \times 4 = 8 \text{ points}$$

$$N_0 = 5 \text{ points}$$

Ainsi, le nombre d'expériences à réaliser est $N = 29 = (16 + 8 + 5)$, auxquelles nous avons ajouté cinq autres points (points tests) qui permettront de tester le modèle en des points particuliers du domaine expérimental d'intérêt. Dans l'ensemble, nous aurons au total 34 expériences données dans le tableau 4.

Si on prenait un domaine sphérique, on devrait avoir $\alpha = (N_f)^{1/4} = 2$. Avec cette valeur de α , nous aurons des contraintes de température et de temps qui perturberaient notre réaction.



On observe sur les schémas précédents que le temps de contact correspondant à la borne inférieure ($X = -2$) est irréaliste puisqu'il correspond à $t = 0$ min. Par ailleurs, la température correspondant au niveau haut ($T=100$ °C) risque de poser des problèmes. Ces contraintes nous imposent d'utiliser un domaine cubique. Le domaine de variation de chacun des facteurs est donné par le tableau 9.

Tableau 9. Domaine de variation de chaque facteur

Facteurs	Unité	Niveau -1	Niveau +1	Centre	Pas
U_1 : PH	/	1,5	2,5	2.00	0.5
U_2 : Rapport L/S	mL/g	25	50	37.5	12.5
U_3 : Température	°C	40	80	60	20
U_4 : temps	Min	20	60	40	20

La matrice d'expériences est donnée par le tableau 10.

Tableau 10. Matrice d'expériences

N°Exp	X1	X2	X3	X4
1	-1.00000	-1.00000	-1.00000	-1.00000
2	1.00000	-1.00000	-1.00000	-1.00000
3	-1.00000	1.00000	-1.00000	-1.00000
4	1.00000	1.00000	-1.00000	-1.00000
5	-1.00000	-1.00000	1.00000	-1.00000
6	1.00000	-1.00000	1.00000	-1.00000
7	-1.00000	1.00000	1.00000	-1.00000
8	1.00000	1.00000	1.00000	-1.00000
9	-1.00000	-1.00000	-1.00000	1.00000
10	1.00000	-1.00000	-1.00000	1.00000
11	-1.00000	1.00000	-1.00000	1.00000
12	1.00000	1.00000	-1.00000	1.00000
13	-1.00000	-1.00000	1.00000	1.00000
14	1.00000	-1.00000	1.00000	1.00000
15	-1.00000	1.00000	1.00000	1.00000

16	1.00000	1.00000	1.00000	1.00000
17	-1.00000	0.00000	0.00000	0.00000
18	1.00000	0.00000	0.00000	0.00000
19	0.00000	-1.00000	0.00000	0.00000
20	0.00000	1.00000	0.00000	0.00000
21	0.00000	0.00000	-1.00000	0.00000
22	0.00000	0.00000	1.00000	0.00000
23	0.00000	0.00000	0.00000	-1.00000
24	0.00000	0.00000	0.00000	1.00000
25	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000
26	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000
27	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000
29	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000
30	-0.39528	-0.22822	-0.16137	-0.12500
31	0.39528	-0.22822	-0.16137	-0.12500
32	0.00000	0.45644	-0.16137	-0.12500
33	0.00000	0.00000	0.48412	-0.12500
34	0.00000	0.00000	0.00000	0.50000

La traduction de la matrice d'expériences en valeurs réelles est donnée par le tableau 11.

Tableau 11. Plan d'expérimentation

N°Exp	pH	L/S	Température	Temps
	Unité1	mL/g	°C	Minutes
1	1.5	25.0	40	20
2	2.5	25.0	40	20
3	1.5	50.0	40	20
4	2.5	50.0	40	20
5	1.5	25.0	80	20
6	2.5	25.0	80	20
7	1.5	50.0	80	20

8	2.5	50.0	80	20
9	1.5	25.0	40	60
10	2.5	25.0	40	60
11	1.5	50.0	40	60
12	2.5	50.0	40	60
13	1.5	25.0	80	60
14	2.5	25.0	80	60
15	1.5	50.0	80	60
16	2.5	50.0	80	60
17	1.5	37.5	60	40
18	2.5	37.5	60	40
19	2.0	25.0	60	40
20	2.0	50.0	60	40
21	2.0	37.5	40	40
22	2.0	37.5	80	40
23	2.0	37.5	60	20
24	2.0	37.5	60	60
25	2.0	37.5	60	40
26	2.0	37.5	60	40
27	2.0	37.5	60	40
28	2.0	37.5	60	40
29	2.0	37.5	60	40
30	1.8	34.6	57	38
31	2.2	34.6	57	38
32	2.0	43.2	57	38
33	2.0	37.5	70	38
34	2.0	37.5	60	50

II.2.4. Qualité de prédiction

a. Fonction de variance

Avant l'expérimentation, il est impératif de connaître la variance de la valeur calculée de la réponse. Cette variance, pour par exemple un point A du domaine expérimental, est donnée par la relation

$$\text{Var}(Y_{A, \text{cal}}) = d_A \sigma^2$$

σ^2 : variance expérimentale de la réponse

d_A est la fonction de variance

$$d_A = X_A^t \cdot (X_A^t \cdot X_A)^{-1} \cdot X_A$$

Cette fonction de la variance ne dépend que des coordonnées du point considéré, de la matrice d'expériences, du modèle postulé et de la variance expérimentale de la réponse σ^2 . Elle ne dépend pas donc des résultats expérimentaux. Ainsi, on déterminera la fonction de variance maximale $d_{\max}$ qui doit être inférieure ou voisine de l'unité, c'est-à-dire $d_{\max} \leq 1$.

Il est très utile de connaître la valeur de $d_{\max}$ pour juger si on peut commencer à réaliser l'expérimentation.

Dans notre cas $d_{\max} = 0,76$. Nous pouvons donc passer à l'expérimentation.

b. Isovariance par rotation

La fonction de variance dépend des coordonnées du point pour lequel la valeur de la réponse est calculée. Nous savons également que nous ne pouvons pas comparer les valeurs calculées d'une réponse au point A et au point B si les variances en ces points sont différentes.

Une première approche consiste à rendre l'erreur de prédiction identique pour tous les points situés à égale distance au centre du domaine, c'est-à-dire rendre la fonction de variance indépendante de l'orientation. Cette propriété appelée isovariance par rotation est relativement bien assurée comme le montre la figure 19.

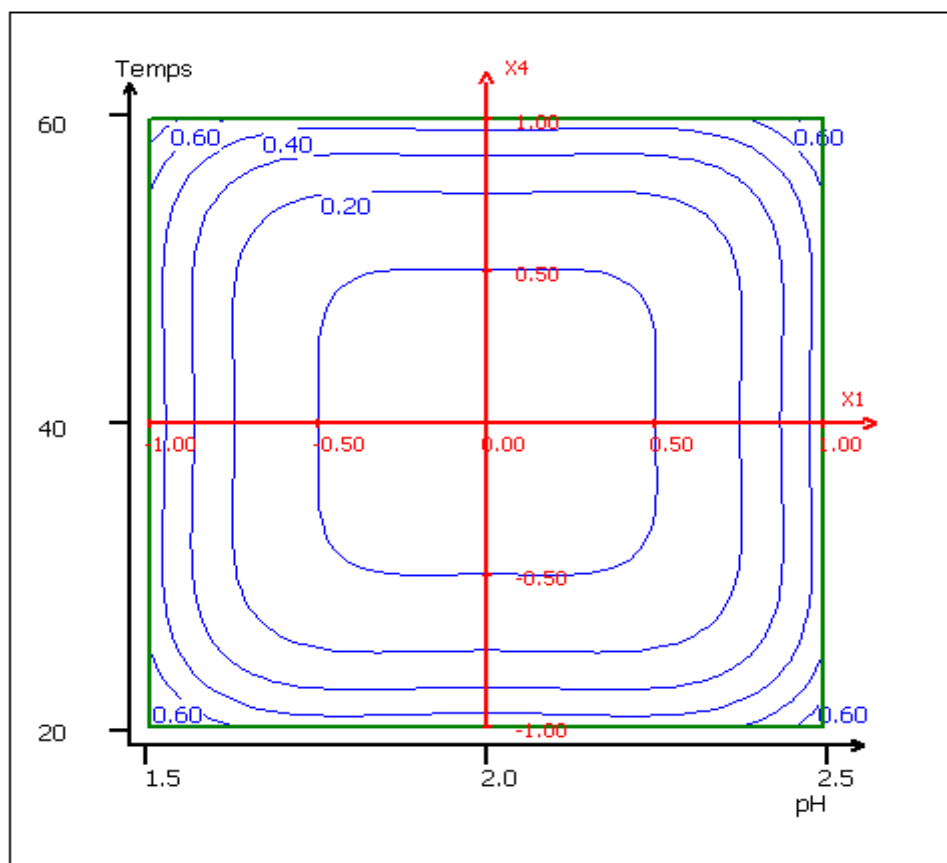


Figure 19. Variation de la réponse (Rendement)

II.3. EXPERIMENTATION

Etant donné que la fonction de variance $d_{\max}$ est inférieure à l'unité et que l'isovariance par rotation est respectée, nous pouvons réaliser l'expérimentation.

Les résultats expérimentaux (rendement en pectine) sont donnés dans le tableau 12.

Tableau 12. Rendement en pectine

N° Essais	Rendement (%)	N° Essais	Rendement (%)
1	8.4	18	19.6
2	12.6	19	15.0
3	11.2	20	11.8
4	9.8	21	11.8
5	10.8	22	23.4
6	13.8	23	12.0
7	13.6	24	15.6
8	16.6	25	14.4
9	13.2	26	11.4
10	10.2	27	19.0
11	15.2	28	15.4
12	10.2	29	17.4
13	16.4	30	16.8
14	23.6	31	12.0
15	19.0	32	10.2
16	20.0	33	13.4
17	15.4	34	14.8

II.3.1. Equation du modèle sans les points tests

Les relations permettant le calcul des coefficients de détermination R^2 et R^2_A sont :

$$R^2 = 1 - \frac{\sum(Y_{cal}-Y_{exp})^2}{\sum(Y_{exp}-Y_{moy})^2}$$

$$R^2_A = 1 - \frac{\sum(Y_{cal}-Y_{exp})^2/(N-P)}{\sum(Y_{exp}-Y_{moy})^2/(N-1)}$$

Où :

R^2 est le coefficient de détermination

R^2_A est le coefficient de détermination ajusté

Les estimations des coefficients sont données par le logiciel NEMRODW (tableau 13).

Tableau 13. Estimations et statistiques des coefficients

Ecart Type de la réponse	2.46
R^2	0.805
R^2_A	0.609
Nombre de degrés de liberté	14

Nom	Coefficient	F.Inflation	Ecart-Type	t.exp.	Signif. %
b0	15.78		0.81	19.60	< 0.01 ***
b1	0.73	1.00	0.58	1.26	22.7
b2	0.19	1.00	0.58	0.33	75.0
b3	3.03	1.00	0.58	5.22	0.0129 ***
b4	1.92	1.00	0.58	3.31	0.517 **
b1-1	1.50	2.64	1.53	0.98	34.6
b2-2	-2.60	2.64	1.53	-1.70	11.1
b3-3	1.60	2.64	1.53	1.04	31.6
b4-4	-2.20	2.64	1.53	-1.44	17.2
b1-2	-0.86	1.00	0.62	-1.40	18.3
b1-3	1.21	1.00	0.62	1.97	6.9
b2-3	0.16	1.00	0.62	0.26	79.6
b1-4	-0.54	1.00	0.62	-0.87	39.8
b2-4	-0.29	1.00	0.62	-0.47	64.8
b3-4	1.09	1.00	0.62	1.77	9.9

Le tableau 13 donne aussi les valeurs du coefficient de détermination et du coefficient de détermination ajusté (R^2 et R^2_A). Leurs valeurs qui sont respectivement de 0,805 et de 0,609 montrent que l'ajustement n'est pas de bonne qualité.

Pour valider le modèle, nous avons réalisé des expériences en des points tests de telle façon qu'ils soient les plus éloignés possible des points expérimentaux. Les résultats obtenus en ces points n'ont pas participé au calcul des estimations des coefficients du modèle.

Les tests statistiques appliqués à la différence ($Y_{cal} - Y_{exp}$) ne permettent pas de dire que les points tests sont mal représenté par le modèle (tableau 14).

Tableau 14. Les tests statistiques appliqués aux points tests

N°Exp	Yexp.	Ycalc.	Différence	texp	dU	Nombre de ddl	Ecart- type	Signif. %
30	16.80	14.82	1.98	0.761	0.114	14	2.601	45.9
31	12.00	15.45	-3.45	-1.327	0.114	14	2.601	20.6
32	10.20	14.63	-4.43	-1.698	0.122	14	2.610	11.2
33	13.40	17.29	-3.89	-1.486	0.127	14	2.616	16.0
34	14.80	16.19	-1.39	-0.532	0.130	14	2.620	60.3

II.3.2. Modèle mathématique affiné

On peut obtenir un modèle mathématique plus précis en intégrant dans l'estimation des coefficients, les valeurs de la réponse aux points tests. Les nouveaux coefficients sont consignés dans le tableau 15.

Tableau 15. Coefficients du modèle

Nom	Coefficient	F.Inflation	Ecart-Type	t.exp.	Signif. %
b0	15.02		0.70	21.35	< 0.01 ***
b1	0.62	1.00	0.61	1.01	32.4
b2	0.10	1.00	0.61	0.16	87.3
b3	2.98	1.00	0.6	4.90	< 0.01 ***
b4	1.95	1.00	0.61	3.20	0.468 **
b1-1	1.92	3.09	1.60	1.20	24.4
b2-2	-2.55	3.09	1.60	-1.59	12.7
b3-3	1.62	3.08	1.60	1.02	32.3
b4-4	-1.91	3.07	1.59	-1.20	24.5
b1-2	-0.83	1.00	0.65	-1.28	21.6

b1-3	1.23	1.00	0.65	1.90	7.3
b2-3	0.18	1.00	0.65	0.27	78.6
b1-4	-0.52	1.00	0.65	-0.80	43.3
b2-4	-0.27	1.00	0.65	-0.42	67.8
b3-4	1.09	1.00	0.65	1.68	10.9

II.3.3. Analyse des résidus

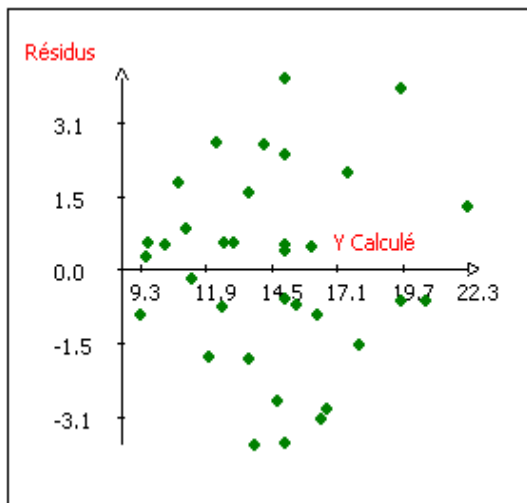


Figure 20. Répartition des résidus en fonction de la réponse

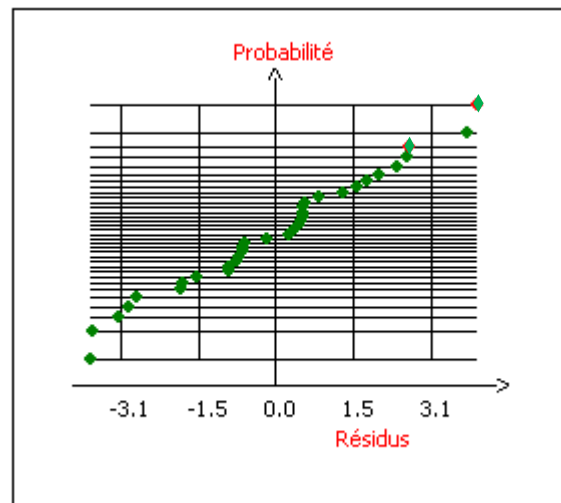


Figure 21. Droite de Henry

La dispersion des résidus ne présente pas vraiment de tendance particulière. Rien de spécial n'apparaît sur ce graphique (figure 20) et les résidus semblent bien répartis au hasard.

On observe sur la figure 21 que les résidus semblent alignés sur une droite (droite de Henry). Ils respectent bien l'hypothèse de normalité.

II.3.4. Analyse de la variance

Le modèle mathématique postulé représente bien le phénomène si les résidus sont de l'ordre de l'erreur expérimentale. Le tableau 16 donne les résultats de l'analyse de la variance.

Tableau 16. Analyse de la variance

Source de variation	Somme des carrés	Degrés de liberté	Carré moyen	Rapport	Signif
Régression	339.0981	14	24.2213	3.5705	0.554 **
Résidus	128.8925	19	6.7838		
Validité	95.0045	15	6.3336	0.7476	69.8
Erreur	33.8880	4	8.4720		
Total	467.9906	33			

$$r_i = Y_{\text{exp},i} - Y_{\text{cal},i} = e_i$$

On peut accéder à la variance expérimentale si l'hypothèse précédente est vérifiée en calculant la somme des carrés des écarts (SCE) et en la divisant par (N-p) pour obtenir la moyenne de la somme des carrés des écarts (MSCE)

$$SCE = \sum (Y_{\text{exp},i} - Y_{\text{cal},i}) = 128.8925$$

$$MSCE = \frac{SCE}{N-p} = \frac{128.8925}{19} = 6.7838$$

N est le nombre d'expérience et p le nombre de coefficients du modèle

$$p = \frac{(k+1)(k+2)}{2} = \frac{5 \times 6}{2} = 15$$

Nous pouvons vérifier si cette hypothèse est acceptable en comparant ces résidus à l'erreur expérimentale.

Nous pouvons à partir de l'ensemble des points expérimentaux obtenir deux sortes d'informations indépendantes :

Aux points répétés :

L'expérience a été faite 4 fois au centre du domaine. Comme la dispersion des résultats obtenus ne dépend pas du modèle mais seulement de l'erreur expérimentale, on peut donc avoir une estimation de la variance expérimentale à partir de ces résultats.

$$S^2 = [\sum (Y_{0,i} - \bar{Y}_0)^2] / (N_0 - 1) = \frac{33.8880}{4} = 8.4720$$

Où $\bar{Y}_0$ est la moyenne des valeurs de la réponse au centre du domaine et N_0 le nombre d'expériences en ce point.

Aux autres points :

La somme des carrés des écarts calculée précédemment peut être scindée en deux parties.

$$SCE = SCE_1 + SCE_2$$

SCE_1 : Somme des carrés des écarts pour les points au centre.

SCE_2 : somme des carrés des écarts pour les autres points

$$SCE_2 = SCE - SCE_1 = 128.8925 - 33.8880 = 95.0045$$

Si l'hypothèse est vérifiée, on peut obtenir une autre estimation de la variance expérimentale en utilisant la relation: $SCE_2 / [(N-P) - (N_0 - 1)]$

Nous disposons donc de deux estimations indépendantes de la variance :

$$MSCE_1 = SCE_1 / (N_0 - 1) = 33.8880 / 4 = 8.4720 \quad \text{avec } ddl = 4$$

$$MSCE_2 = SCE_2 / [(N - P) - (N_0 - 1)] = 95.0045 / (19 - 4) = 6.3336 \quad \text{avec } ddl = 15.$$

$MSCE_1$ et $MSCE_2$ sont deux estimations indépendantes d'une même variance.

$$MSCE_2 / MSCE_1 = 6.3336 / 8.4720 = 0.7476$$

Le test statistique montre que la probabilité pour que ces deux valeurs représentent une même variance est de 69.8 %. Le modèle peut donc être validé.

Représentativité du modèle

Le modèle étant validé, nous pouvons prendre comme variance expérimentale :

$$MSCE = (SCE_1 + SCE_2) / (N - P) = (33.8880 + 95.0045) / 19 = 6.7838 \quad \text{avec } ddl = 19.$$

Le modèle apporte-t-il quelque chose ? Pour le savoir, calculons :

$$SCR = \sum (Y_{cal,i} - Y_{moy})^2 = 339.0981$$

$$MSCR = SCR / (p-1) = 339.0981/14 = 24.2213$$

Si la variance MSCR est de l'ordre de l'erreur expérimentale, on peut écrire

$$E(MSCR) = \sigma^2 \quad \text{avec ddl} = 14$$

E (MSCR) : Espérance mathématique.

On peut comparer E (MSCR) avec l'estimation de la variance expérimentale calculée plus haut.

Le test statistique (loi F) permettant de voir si les deux estimations indépendantes MSCR et MSCE représentent la même variance conduit à une probabilité très faible (0.55 %). Donc la variation de la réponse calculée n'est pas due à l'erreur expérimentale.

Le modèle postulé étant déjà validé, il peut être maintenant utilisé pour calculer la valeur de la réponse en tout points du domaine expérimental.

a. Analyse canonique

Le modèle mathématique donné est le suivant :

$$Y = 15.02 + 0.62 X_1 + 0.10 X_2 + 2.98X_3 + 1.95 X_4 + 1.92 X_1^2 - 2.55 X_2^2 + 1.62X_3^2 - 1.91X_4^2 - 0.83X_1X_2 + 1.23X_1X_3 + 0.18 X_2X_3 - 0.52X_1X_4 - 0.27X_2X_4 + 1.09X_3X_4$$

Ce modèle peut être écrit sous la forme matricielle suivante :

$$Y = b_0 + X^t b + X^t B X$$

Où :

X est la matrice du modèle

X^t est la matrice transposée de X

B représente les coefficients du modèle

$$Y = 15.02 + (X_1 X_2 X_3 X_4) \begin{pmatrix} 0.62 \\ 0.10 \\ 2.98 \\ 1.95 \end{pmatrix} + (X_1 X_2 X_3 X_4) \begin{pmatrix} +1.920 & -0.415 & +0.615 & -0.260 \\ -0.415 & -2.550 & +0.090 & -0.135 \\ +0.615 & +0.090 & +1.620 & +0.545 \\ -0.260 & -0.135 & +0.545 & -1.910 \end{pmatrix} \begin{pmatrix} X_1 \\ X_2 \\ X_3 \\ X_4 \end{pmatrix}$$

Les coordonnées du point stationnaire peuvent être calculées en utilisant la relation

$$X_S = - \frac{1}{2} B^{-1} b_k$$

Où:

B^{-1} est la matrice inverse de B

$$\begin{pmatrix} X_{1,s} \\ X_{2,s} \\ X_{3,s} \\ X_{4,s} \end{pmatrix} = - 1/2 \begin{pmatrix} +0.538 & - 0.087 & - 0.161 & - 0.113 \\ -0.087 & - 0.379 & + 0.038 & + 0.049 \\ -0.161 & + 0.038 & + 0.611 & + 0.194 \\ -0.113 & + 0.049 & + 0.194 & - 0.456 \end{pmatrix} \begin{pmatrix} 0.62 \\ 0.10 \\ 2.98 \\ 1.95 \end{pmatrix}$$

Le calcul donne les coordonnées du point stationnaire dans le repère initial

$$X_{1,s} = + 0.188$$

$$X_{2,s} = - 0.058$$

$$X_{3,s} = - 1.052$$

$$X_{4,s} = + 0.189$$

La distance du point stationnaire à l'origine OS est donnée par la relation suivante :

$$(OS)^2 = X_{1,s}^2 + X_{2,s}^2 + X_{3,s}^2 + X_{4,s}^2$$

$$OS = \sqrt{(X_{1,s}^2 + X_{2,s}^2 + X_{3,s}^2 + X_{4,s}^2)} = 1.08$$

Le point stationnaire de la conique représentative de la réponse est situé à l'intérieur du domaine d'étude. On oriente la suite de l'analyse vers l'analyse canonique.

L'équation de la réponse écrite en fonction des axes Z_i de la conique est :

$$Y1 = 13.69 + 0.00 Z_1 + 0.00 Z_2 + 0.00 Z_3 + 0.00 Z_4 \\ + 2.43 Z_1^2 + 1.27 Z_2^2 - 1.97 Z_3^2 - 2.65 Z_4^2$$

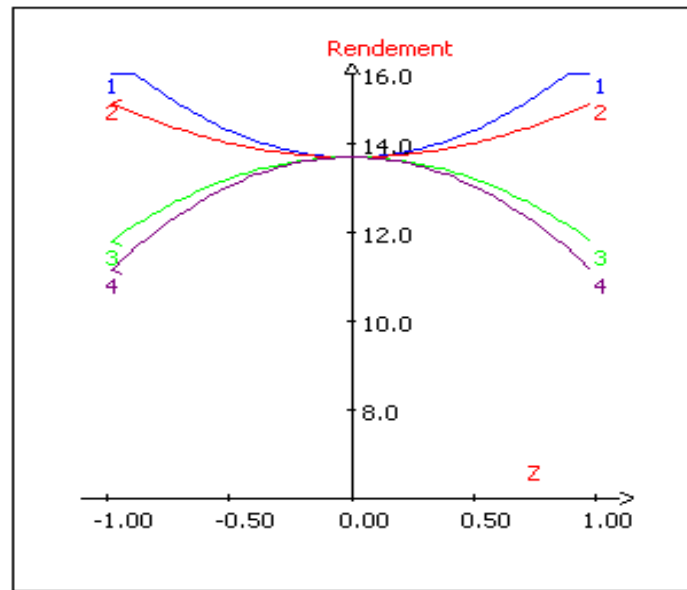


Figure 22. Courbure de l'équation canonique

Les équations qui permettent le passage des axes Z_i à X_i sont :

$$X_1 = 0.78 Z_1 - 0.61 Z_2 + 0.06 Z_3 + 0.11 Z_4 + 0.190$$

$$X_2 = -0.06 Z_1 + 0.08 Z_2 - 0.29 Z_3 + 0.95 Z_4 - 0.059$$

$$X_3 = 0.62 Z_1 + 0.77 Z_2 - 0.15 Z_3 - 0.07 Z_4 - 1.053$$

$$X_4 = 0.03 Z_1 + 0.18 Z_2 + 0.95 Z_3 + 0.27 Z_4 + 0.187$$

Les coefficients de l'équation canonique sont :

$$b_{11} = 2.43$$

$$b_{22} = 1.27$$

$$b_{33} = -1.97$$

$$b_{44} = -2.65$$

Pour augmenter la valeur de la réponse, il est nécessaire de

- Prendre $Z_3 = Z_4 = 0$
- Se déplacer (dans le sens positif ou négatif) le long de Z_1 et Z_2
- Privilégier l'axe Z_1 car $b_{11} \approx 2b_{22}$

En prenant $Z_3 = 0$ et $Z_4 = 0$, les équations de passage des X aux Z sont :

$$X_1 = 0.78 Z_1 - 0.61 Z_2 + 0.190$$

$$X_2 = -0.06 Z_1 + 0.08 Z_2 - 0.059$$

$$X_3 = 0.62 Z_1 + 0.77 Z_2 - 1.053$$

$$X_4 = 0.03 Z_1 + 0.18 Z_2 + 0.187$$

On observe que X_2 varie très faiblement avec Z_1 (-0.06) et Z_2 (+0.08), donc $X_2 \approx -0.06$

Par ailleurs, X_4 varie très faiblement avec Z_1 (0.03), on peut écrire :

$$X_4 = 0.18 Z_2 + 0.187$$

Comme la valeur de X_2 est maintenue connue, il suffit de connaître la valeur codée d'une seconde variable pour accéder à la surface de réponse en fonction des deux autres variables restantes.

Pour retrouver le facteur pour lequel il est facile de déterminer la valeur qui maximalise la réponse, cherchons dans quel sens évolue X_1 et X_3 en fonction de Z_1 et Z_2 (figure 23).

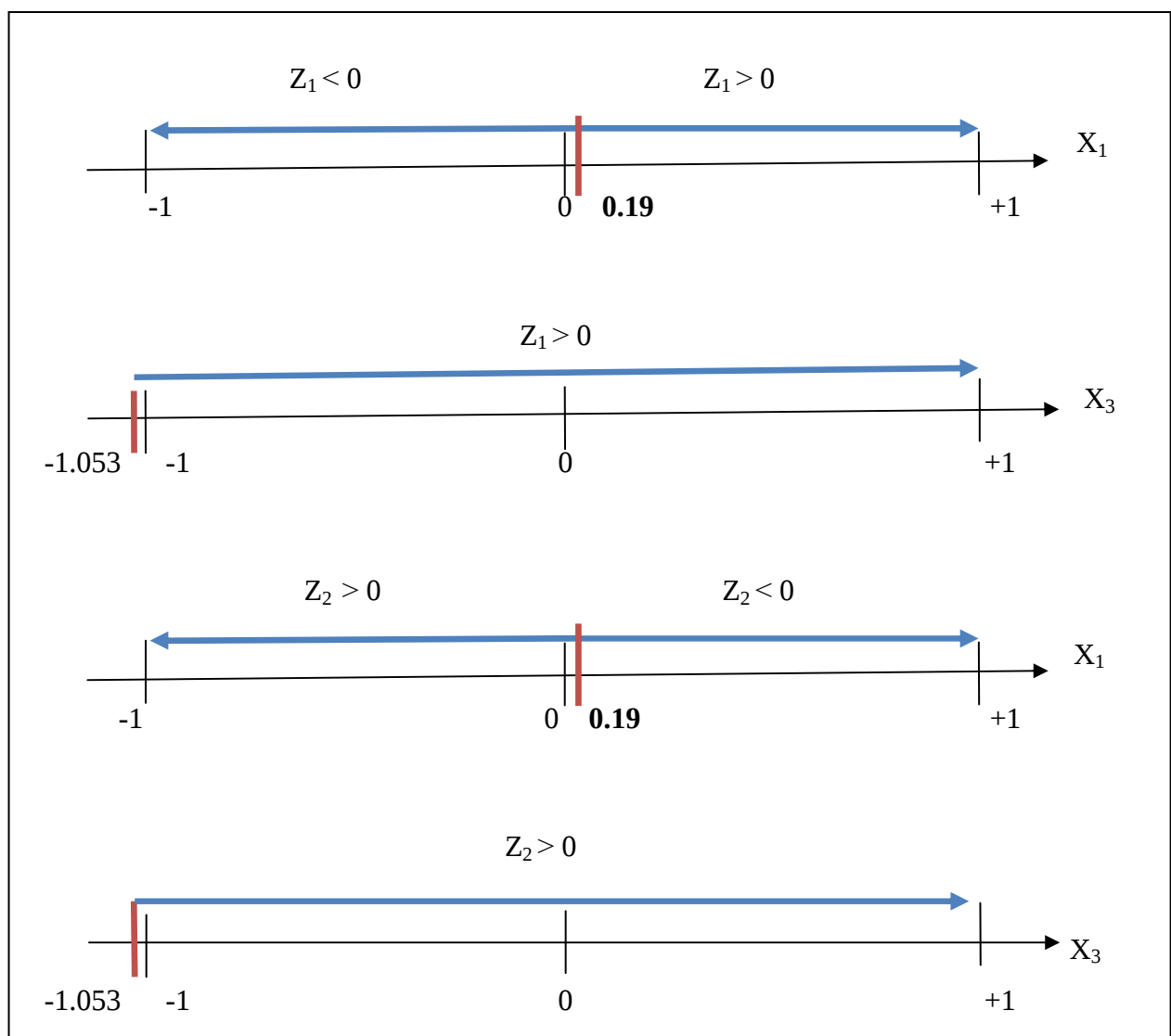


Figure 23. Variation de X_1 et X_3 en fonction de Z_1 et Z_2

On observe sur cette figure que la variable X_3 ne varie que lorsqu'on se déplace suivant les axes Z_1 et Z_2 dans le sens positif. Comme $Z_1 \approx 2Z_2$, on doit avoir $X_3 = +1$.

La connaissance de X_2 et X_3 conduit à la figure 24 donnant les surfaces de réponses.

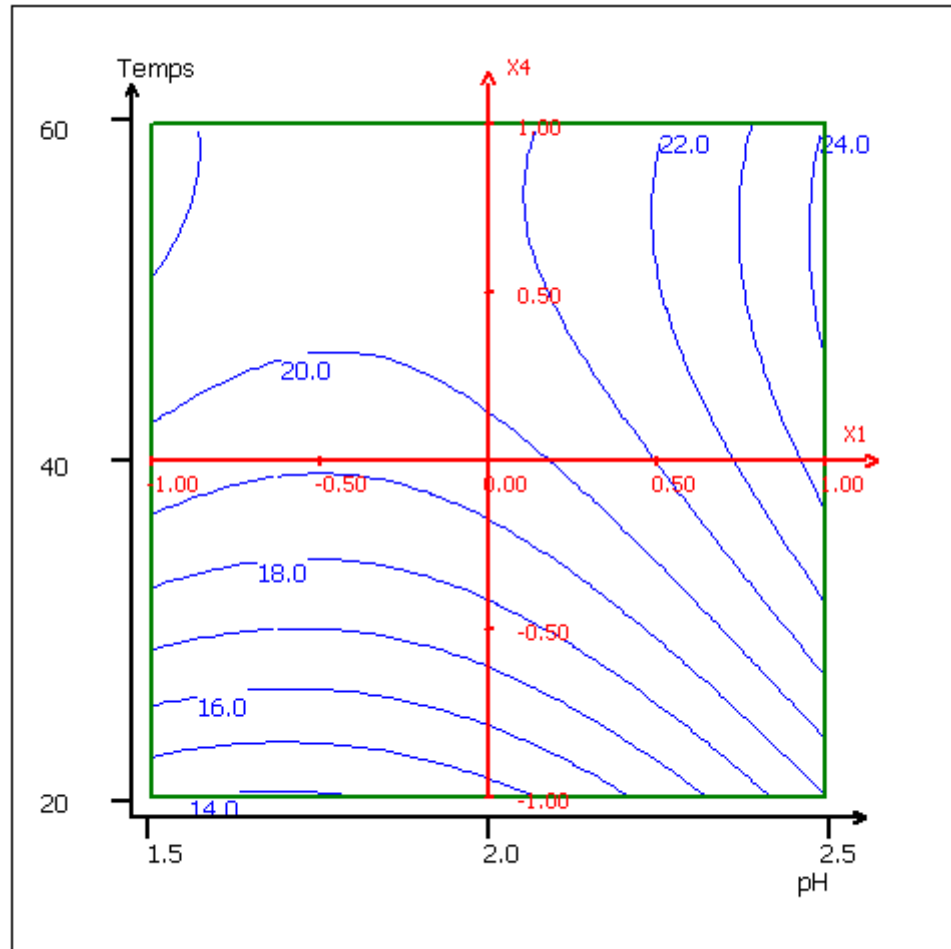


Figure 24. Variation de la réponse (rendement)

La valeur maximale ($Y = 24 \pm 4.3$) correspond aux conditions optimales suivantes:

$$X_1 = +1$$

$$X_2 = -0.06$$

$$X_3 = +1$$

$$X_4 = +0.40 \text{ à } +0.50$$

Les conditions optimales en variables réelles sont :

$$U1: \text{pH} = 2.5$$

$$U2: L/S = 37.5 \text{ mL/g}$$

$$U3: T^{\text{re}} = 80 \text{ } ^\circ\text{C}$$

$$U4: t = 48 \text{ à } 50 \text{ min}$$

b. Etude du chemin optimal

L'analyse du chemin optimal permet de déterminer le point où la réponse étudiée est optimale.

Le logiciel Nemrodw présente les résultats sous forme de graphes indiquant, à chaque distance du centre du domaine, la valeur optimale de la réponse étudiée, ainsi que les niveaux optimums à attribuer aux facteurs (figure 25).

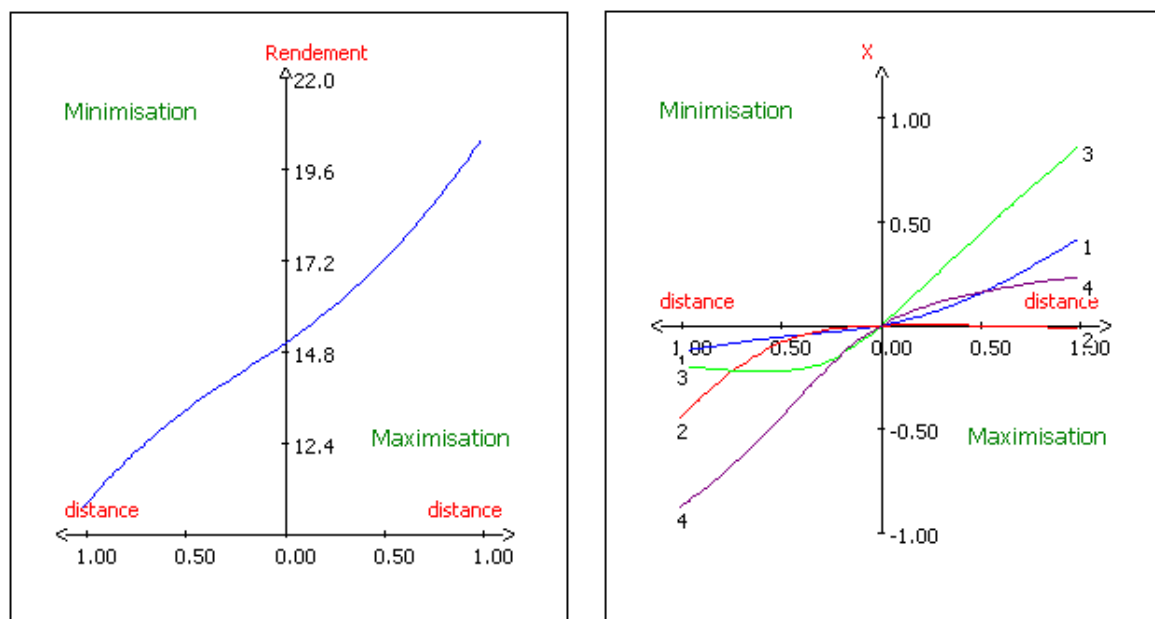


Figure 25. Analyse du chemin optimal de la réponse (rendement en pectine)

Conclusion

Les expériences réalisées dans les conditions optimales données par le calcul conduisent à une valeur moyenne de la réponse $Y = 22.3 \pm 3.8 \%$. En dépit de la dispersion des résultats (variance expérimentale élevée), nous pouvons dire que ce résultat correspond à celui donné par le modèle ($24.0 \pm 4.4 \%$). Il est nécessaire cependant de souligner que le modèle mathématique mis en place est fragile et doit être utilisé avec précaution.

CONCLUSION GENERALE

Pour mettre au point le procédé de production de la pectine à partir des écorces de citron par hydrolyse acide, nous avons utilisé la méthodologie de la recherche expérimentale (plans d'expériences).

En amont de l'étude dédiée aux surfaces de réponse qui est l'objectif essentiel de ce travail, nous avons réalisé un criblage de facteurs. Cette stratégie, en permettant d'identifier très rapidement les paramètres ayant un effet significatif sur la réponse étudiée (rendement en pectine) nous a permis d'alléger l'étude d'optimisation où sont éliminés les paramètres non influents.

Des six facteurs mis en jeu, seuls la température, le temps de contact et l'acide chlorhydrique (plus efficace que CH_3COOH) ont été retenus. Le pH et le rapport L/S pourtant non significatifs, ont été réinjectés par précaution dans l'étude des surfaces de réponse pour deux raisons. D'abord parce qu'ils sont sans doute altérés par l'opération de filtration très difficile à réaliser. De plus, plusieurs études ont montré que ces deux paramètres auraient un impact sur la production en pectine.

Pour des raisons liées aux contraintes imposées par le temps de contact et la température du milieu réactionnel, nous avons choisi un domaine expérimental cubique. La matrice d'expériences utilisée est une matrice composite.

La validation du modèle mathématique postulé par les points tests puis par l'analyse de la variance une fois le modèle affiné en intégrant les résultats expérimentaux dans le calcul des coefficients atteste que l'équation empirique mise en place peut permettre de calculer la valeur de la réponse en tout point du domaine expérimental.

L'interprétation de l'équation canonique nous a permis de déterminer les conditions optimales qui conduisent au meilleur rendement en pectine ($24.0 \pm 4.4 \%$). Ce résultat ne semble pas éloigné de celui trouvé expérimentalement (22.3 ± 3.8).

Fragile, en raison d'un écart-type élevé dû probablement aux difficultés inhérentes à la filtration, le modèle ne peut être utilisé qu'avec précaution.

Il est important de compléter et d'approfondir cette recherche pour apporter des renseignements sur :

- ✓ Le poids moléculaire et la viscosité des pectines, paramètres qui influencent leurs propriétés fonctionnelles.
- ✓ La teneur en groupements acétyles de la pectine extraite qui jouent deux effets contradictoires: ils gênent la gélification et améliorent les propriétés émulsifiantes.
- ✓ L'influence du mode de séchage de la matière première et des pectines extraites sur leur qualité et donc sur les constituants structuraux et les propriétés fonctionnelles.
- ✓ L'étude de l'activité anti-oxydante par encapsulation d'un composé phénolique par la pectine de citron.

Références bibliographiques

- Anna-Maija Sjöberg. The effects of γ irradiation of the structure of apple pectin (1987).
- Axelos M.A, Thibault J.F. The chemistry of low methoxyl pectin gelation. The chemistry and technology of pectins, Academic press New York, 1991.
- Brillouet J.M, Bosso C, Moutonet M. Isolation, purification and characterization of an arabinogalacturonan from a red wine, American Journal of Technology and Viticulture, 1990.
- Erika Kliemann, Karina Nunes de Sinas, Edna R. Amante, Elane Schwinden Prudencio, Reinaldo F. Teolilo, Marcia M.C.Ferreira, Renata D.M.C. Amboni. Optimization of pectin acid extraction from passion fruit peel (*Passiflora edulis* flavicarpa) using response surface methodology. International Journal of Food and Technology, 2009.
- Farida Boudissa&Hocine Kadi. Transfer of Phenolic Compounds from Olive Mill Wastewater to Olive Cake Oil. Journal of the American Oil Chemists' Society, 2013.
- Fishman M.L, Chau H.K, Hoagland P, Ayyad K. Characterization of pectin, flash extracted from orange albedo by microwave heating, under pressure, Carbohydrate Research, 2000.
- Garcia-Diez F, Garcia Mediavilla V, Bayon JE, Gonzales-Gallego J. Pectin feeding influences fecal bile acid excretion, hepatic bile acid and cholesterol synthesis and serum cholesterol in rats, 1996.
- Goycolea F.M & Cárdenas A. Pectins from opuntia spp. Journal of the Professional Association for Cactus Development, 2003.
- Golovchenko V.V, Ovodova R.G, Shashkov A.S, Ovodov Y.S, Structural studies of the pectic polysaccharide from duckweed *Lemna minor* L, Phytochemistry, 2002.
- Guillotin S. Studies on the intra –and intermolecular distribution of substituents in commercial pectins, 2005.

- Habibi T, Heyraud A, Mahrouz M, & Vignon M.R. Structural features of pectic polysaccharides from the skin of *Opuntia ficus-indica* prickly pear fruits. Carbohydrate Research, 2004.
- Jittra Singthong, Suwayd Ningsanond, Steve W.Cui, H.Dougalas Goff. Extraction and physicochemical characterization of krueo Ma Noy pectin. Food hydrocolloids, 2005.
- Morris E.R, Rees D.A, Thom D, Boyd J. Chiroptical and stoichiometric evidence of a specific primary dimerisation process in alginate gelation. Carbohydrate Research, 1978.
- Manel M, souhail B, Fatma A, Christelle R, Michel P, Christophe B, Hamadi A. Food bioprocess Technologic, 2012.
- O'Neill M, Albersheim P, Darvill A. The pectic polysaccharides of primary cell walls, methods in plants biochemistry. Academic press London.
- Paulsen B.S, Barsett H. Bioactive pectic polysaccharides. Advances Polymers Sciences, 2005.
- Ralet M.C, Bonnin E & Thibault J.-F. Chromatographic study of highly methoxylated lime pectins deesterified by different pectin methyl-esterases. Journal of Chromatography, 2001.
- Ralet M.C., Bonin E, Thibault J.F. Pectins. Biopolymers, Polysaccharides II, 2002.
- Rees D.A, Polysaccharide gel. A molecular view. Chemistry and Industry, 1972.
- Ridley B.L, O'Neill M.A. & Mohnen D. Pectins: structure, biosynthesis & oligalacturonides – related signaling. Phytochemistry, 2002.
- Sriamonrnsak P. Chemistry of pectin and its pharmaceutical uses, 2003.
- Schols H.A, Bakx E.J, Schipper D, Voragen A.G.J, A xylogalacturonan subunit present in the modified hairy regions of apple pectin. Carbohydrate Research, 1995.
- Schols H.A, Verhuis E, Bakx E.J & Voragen A.G.J. Different populations of pectic hairy regions occur in apple cell walls. Carbohydrate Research, 1995.

- Sharma B.R, Naresh L, Dhuldhoya N.C, Merchant S.U & Merchant U.C. An overview on pectins. Times Food Processing Journal, 2006.
- Talmadge K.W, Keegstra K, Bauer WD, Albersheim P. Structure of plant cell walls. Macromolecular components of the walls of suspension-cultured sycamore cells with a detailed analysis of the pectic polysaccharides, Plant Physiology, 1973.
- Thibault J.-F, Renard C.MG.C, Axelos M.A.V & Bonnin E (). Les pectines. INRA, Centre de Recherche Agro-alimentaire, 2000.
- Thibault J.F, Les pectines. Les polymères végétaux, polymères pariétaux et alimentaires non azotés, Ed Gauthier-Villars, Paris, 1980.
- Thakur B.R, Singh R.K, Handa A.K, Chemistry and uses of pectin. Critical reviews in food science and nutrition, 1997.
- Turakhozhaev M.T, Khodzhaev M.A. Plant pectin substances. Chemistry of Natural Compounds, 1993.
- Vincken J.P, Schols H.A, Oomen R.J.F.J, Mc Cann M, Uluskov P, Voragen A.G.J & Visser R.G.F. If homogalacturonan were a side chain of rhamnogalacturonan I ,implications for cell wall architecture. Plant Physiology, 2003.
- Voragen A.G.J, Pilnik W, Thibault J.F, Axelos M, Renard C, Pectins. Food polysaccharides, 1991.
- Willats W.G.T, Mc Carteny L, Mackie W & Knox J.P. Pectin: cell biology and prospects for functional analysis. Plant Molecular Biology, 2001
- Yapo B.M & Koffi K.L. Yellow passion fruit rind-a potential source of low – methoxyl pectin. Science et Technologie des aliments, 2006.
- Zandleven J, Sorensen S.O, Harholt J, Beldman G, Schols H.A, Scheller H.V, Voragen A.J. Xylogalacturonan exists in cell walls from various tissues of Arabidopsis thaliana. Phytochemistry, 2007.
- Zhongdong L, Guohua W, Yunchang G. & Kennedy J.F. Image study of pectin extraction from orange skin assisted by microwave. Carbohydrate Polymer, 2005.

Résumé

Cette étude porte sur l'extraction de la pectine à partir du zeste du citron en utilisant deux acides : un acide fort (chlorhydrique) et un acide faible (acétique) à différentes conditions de température, pH, rapport L/S, vitesse d'agitation et temps de contact. Cette extraction est réalisée en utilisant les plans d'expériences. La réponse étudiée est le rendement d'extraction en pectine. La stratégie du criblage a montré que la nature de l'acide, la température et le temps sont les paramètres influents. La méthodologie des surfaces de réponses a été utilisée pour optimiser cette extraction. Un rendement maximal de l'ordre de 24.0 % est observé aux conditions suivantes (pH = 2.5, Rapport liquide / solide (L/S) = 37.5 mL/g, Température = 80 °C, Temps d'extraction = 48 min).

Mots clés : écorce de citron, rendement d'extraction, pectine, criblage, surface de réponses.

Abstract

This study focuses on the extraction of pectin from lemon peel using two acids: a strong (chlorhydric acid) and a weak acid (acetic acid) to different conditions of temperature, pH, L/S ratio, stirring rate and contact time. This extraction is performed using the experimental design. The studied response is the yield of extraction in pectin. The strategy of screening showed that the nature of acid, the temperature and the time are the influential parameters. The response surface methodology was used to optimize this extraction. A maximal yield in the order of 24.0 % is observed under the following conditions (pH = 2.5, L/S ratio = 37.5 mL/g, Temperature = 80°C, extraction time = 48 min).

Keywords: Citrus peel, yield of extraction, pectin, screening, response surface.