

Fibres et confitures

La récupération des pectines par cuisson-extrusion.

Le spectre de la confiture qui ne prend pas hante les cuisinières et les cuisiniers dès l'hiver, quand se préparent les marmelades d'oranges : parfois le jus reste jus, au lieu de former la masse semi-solide attendue. Comment éviter cette Berezina culinaire ? Au Centre INRA de Nantes, Jean-François Thibault, Catherine Renard, Monique Axelos et Marie-Christine Ralet répondent à cette question, mais leur objectif et leur intérêt sont surtout industriels : ils montrent que la technique de cuisson-extrusion utilisée notamment pour préparer les petits biscuits pour apéritifs permet de récupérer une grande quantité de pectine, c'est-à-dire de la protéine gélifiante, de pulpes de citrons, d'oranges, de betteraves...

L'échec occasionnel des confitures semble paradoxal : les pectines sont des molécules qui, associées à la cellulose et à d'autres polysaccharides (de longues molécules formées par l'enchaînement de sucres simples), composent les parois végétales de la plupart des végétaux ; seules les céréales n'en comportent pas. Pourquoi ne parvient-on pas toujours à les extraire ? Parce que le chauffage modéré auquel on procède afin de ne pas évaporer les arômes volatils des fruits ne dissocie pas bien les parois cellulaires ; les pectines sont présentes, mais elles ne sont

pas libres et, de ce fait, ne s'associent pas en un réseau qui occupe tout le volume de la solution, formant un gel.

Industriellement un problème différent se pose : les résidus de la pression des pommes, lors de la fabrication du jus de pommes ou du cidre, les pulpes de citrons et d'oranges qui proviennent de la préparation des jus de fruits, ou, enfin, les pulpes de betteraves, après l'extraction du sucre, laissent une quantité considérable de fibres végétales, qu'on souhaiterait valoriser. Classiquement on récupère les pectines à partir de ces fibres en les traitant à l'acide, à chaud : on détache ainsi des pectines, que l'on doit ensuite purifier. La matière produite sert de gélifiant, d'épaississant ou d'enrobage des chips, et on envisage de l'utiliser pour dépolluer les eaux usées (les pectines se lient fortement aux ions métalliques qui polluent ces eaux).

Toutefois l'extraction à l'acide a plusieurs inconvénients : elle risque de dégrader les molécules de pectine, en coupant les liaisons entre les sucres constitutifs ou en modifiant les groupes chimiques portés par les sucres et responsables des propriétés de gélification, et elle pollue.

À Nantes, les physico-chimistes, qui étudient depuis plusieurs années la cuisson-extrusion pour le filage des viandes ou le traitement de l'amidon, ont

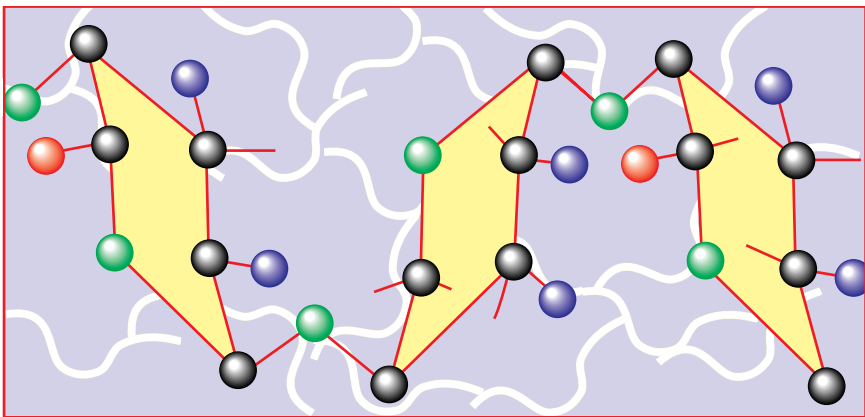
eu l'idée de reprendre le processus pour traiter les pulpes de fruits et extraire les pectines. Dans les appareils de cuisson-extrusion utilisés dans l'industrie agro-alimentaire (la méthode provient de l'industrie des polymères), une ou plusieurs vis d'Archimède à pas variable cisailent la matière en la convoyant vers une buse de sortie, où a lieu une détente rapide ; sur la longueur de l'appareil, plusieurs zones de chauffage portent la matière à des températures contrôlées.

Quelles matières végétales pouvaient fournir des pectines susceptibles de gélifier ? Les propriétés des pectines dépendent de leur composition chimique, qui varie selon les végétaux : si les pectines des citrons verts, des citrons, des oranges ou des pommes font de bons gélifiants, celles des pulpes de betteraves ne gélifient pas, mais permettraient de complexer les ions lourds ou de produire des gels superabsorbants après modification chimique. Les différences de propriétés des pectines tiennent surtout à leur méthoxylation : les sucres dont l'enchaînement forme le squelette de la molécule portent des quantités variées de groupes latéraux méthoxy $-COOCH_3$, qui s'associent en milieu acide. Cette association assure la prise en gel. En conséquence, toute extraction destinée à produire des pectines gélifiants ou épaississants doit respecter ces chaînes latérales.

La cuisson-extrusion a plusieurs atouts : non seulement l'équipement est bien plus simple et bon marché que les installations d'extraction classique (les vis testées à Nantes mesurent un mètre de long seulement), mais le traitement est rapide et automatisable. Elle procure autant de pectines que le traitement classique, à l'acide et respecte la composition des molécules. Les chercheurs nantais ont observé que, lors de la cuisson-extrusion des matières végétales, le cisaillement est le facteur principal ; en évitant le chauffage, on respecte les pectines.

Comment tirer parti de ces résultats dans votre cuisine ? À froid, séparez le jus des fruits de la matière fibreuse et broyez finement cette matière, qui renferme les pectines (en l'absence d'un cuiseur-extrudeur, utilisez le robot-coupe) ; puis ajoutez la matière broyée au jus et cuisez doucement. Enfin, comme les molécules de pectine risquent de se lier plutôt aux atomes de cuivre de votre bassine qu'entre eux, ne laissez pas refroidir votre confiture dans la bassine : faites la plutôt prendre dans des récipients en verre.

Hervé THIS



Les pectines sont de longues molécules composées par l'enchaînement de sucres simples (hexagones déformés). Les atomes de carbones, d'oxygène et les groupes hydroxyle (OH) sont respectivement en noir, vert et bleu ; les groupes méthoxy $-COOH_3$ (représentés par des boules rouges) assurent des liaisons entre molécules adjacentes, ce qui assure la prise en gel des confitures. En fond, on voit un cuiseur-extrudeur à deux vis, ouvert.

Prochain rendez-vous France Info et Pour la Science, le 27 février 1995, avec la chronique Info Sciences de Marie-Odile Monchicourt.

Un reptile dans une souris

La mutation d'un gène qui commande le développement d'un os de l'oreille, chez la souris, fait apparaître un os spécifique des reptiles.

Les biologistes ont observé que les structures de l'embryon d'animaux supérieurs ressemblent à celles d'espèces d'animaux antérieurs à partir desquels ils ont évolué : l'embryogenèse, disaient-ils, retrace la phylogenèse. Filippo Rijli, Manuel Mark, Pierre Chambon et leurs collègues de l'École de médecine de Strasbourg ont vérifié expérimentalement cette idée, montrant que les mammifères ont conservé dans leur patrimoine génétique des programmes présents chez les reptiles.

L'équipe de Strasbourg s'intéresse aux gènes *Hox* de souris, apparentés aux gènes «homéotiques» de la drosophile, qui commandent le développement de l'embryon. Chez la mouche, par exemple, ces gènes sont répartis sur l'ADN dans le même ordre que les organes de l'animal dont ils commandent l'assemblage, le long de l'axe tête-queue. Des expériences sur la drosophile ont montré que certaines parties du corps se développent là où elles ne devraient pas quand les gènes homéotiques sont mutés.

Les biologistes moléculaires ont provoqué des mutations d'un gène homéotique de la souris, le gène *Hoxa-2*, en y introduisant un autre gène qui sert de marqueur : le gène de la résistance à la néomycine (un antibiotique). Le gène modifié étant placé au contact de cellules souches de souris, l'application d'un champ électrique permet à la séquence d'ADN constituant ce gène de s'introduire dans les cellules et de remplacer le gène normal, par le phénomène de recombinaison homologue. Reste alors à sélectionner les cellules ainsi modifiées. On ajoute pour cela l'antibiotique au milieu de culture : toutes les cellules sont tuées, sauf celles qui résistent, en raison du gène marqueur introduit dans le gène *Hoxa-2*. Quand on injecte ces cellules à un embryon de souris au stade blastocyte, les cellules modifiées sont intégrées

dans les tissus, et des souris «chimériques» se forment, avec une mutation dans l'un de leurs deux allèles *Hoxa-2*. Ces souris sont viables, parce que le gène muté est récessif, mais, quand on les croise, elles ont, parmi leur descendance, des souris dont les deux allèles du gène sont mutés : en observant ces souris «homozygotes», on déduit la fonction du gène, par la disparition de son activité.

Les souris homozygotes pour la mutation «*Hoxa-2* nulle» ne sont pas viables (elles meurent dans les 24 heures après la naissance), mais les biochimistes ont observé que le gène muté a de profondes conséquences sur le développement du deuxième arc branchial. Cette structure de l'embryon est responsable, chez les poissons, de la formation d'une paire de branchies ; chez les mammifères, elle com-

mande la genèse de certaines structures squelettiques de la face et du cou. Et chez les souris où le gène *Hoxa-2* est muté, certains éléments dérivés du deuxième arc branchial, tel l'étrier de l'oreille moyenne (un des osselets) sont absents et remplacés par d'autres os de l'oreille (l'enclume et le marteau), normalement formés à partir du premier arc branchial.

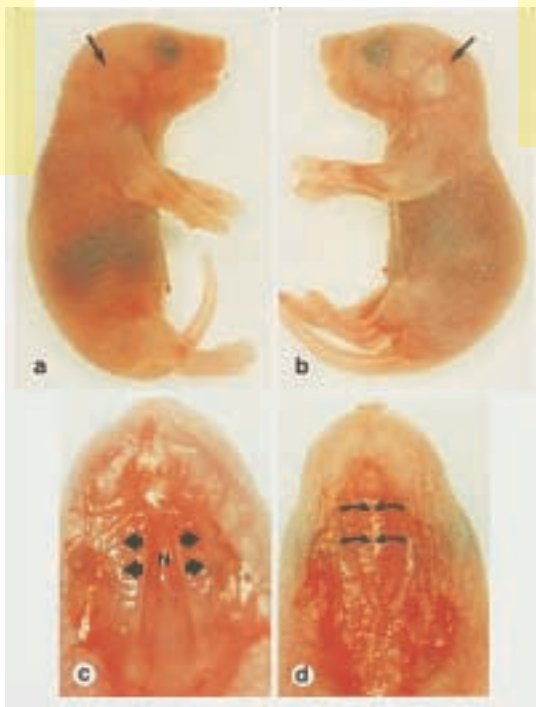
L'inactivation du gène *Hoxa-2* induit donc une transformation homéotique des éléments squelettiques dérivés du deuxième arc branchial en éléments du premier arc. Diverses autres anomalies ont été observées : une fente dans le palais empêche les souriceaux de téter et, plus généralement, les anomalies montrent que le deuxième et le premier arc branchial ont un programme morphogénétique commun. En l'absence du gène *Hoxa-2*, le deuxième arc branchial forme des structures identiques à celles du premier.

APPARITION DE L'OS REPTILIEN

Mieux encore, un os que le second arc branchial engendre chez les reptiles (le «palatocarré») apparaît chez les souris mutées, alors qu'il est normalement absent chez les mammifères, où l'enclume a pris sa place au cours de l'évolution. Cette découverte intéresse les paléontologues : les cellules ont une mémoire génétique des temps où les mammifères n'existaient pas encore ; nos programmes génétiques ataviques restent présents, mais ils ne sont pas réalisés, car ils ont été inhibés ou modifiés au cours de l'évolution.

Ces expériences livrent plusieurs autres conclusions : tout d'abord, le premier et le deuxième arc branchial ont un programme génétique commun ; d'autre part, les «homologies», c'est-à-dire les ressemblances entre séquences d'ADN, déjà connues entre la drosophile et l'homme, par exemple, correspondent à des ressemblances de fonction ; enfin le gène homéotique agit comme un gène qui effectue une sélection dans un programme de base.

Les études se poursuivent aujourd'hui par la réalisation de mutations du gène *Hoxb-2*, sur un des quatre autres complexes homéotiques. La séquence du gène *Hoxb-2* ressemble à celle du gène *Hoxa-2* ; il est probablement dérivé du même gène ancestral. Quelles anomalies engendra son inactivation ? Quelle structure ancestrale réapparaîtra-t-elle ? □



Une souris mutante (à gauche) et une souris normale (à droite). La flèche montre la partie externe de l'oreille, absente chez la souris mutante. En bas, les images montrent le palais des animaux : la fente palatine est restée ouverte chez la souris mutante.

Vaccin plus stable contre la polio

Il est stabilisé par l'eau lourde.

En 1988, l'Organisation mondiale de la santé a déclaré que la poliomyélite pouvait être éradiquée d'ici l'an 2 000. Pourquoi cette maladie plutôt que la rage ou l'une des maladies parasitaires responsables d'une mortalité élevée ? D'une part, parce que l'on dispose d'un vaccin et, d'autre part, parce que l'homme est le seul hôte. Malheureusement le vaccin risque d'être inactivé par la chaleur, surtout dans les zones tropicales, en Afrique, par exemple. L'équipe de Radu Crainic, de l'Institut Pasteur, a découvert que l'utilisation d'eau lourde stabilise le vaccin.

Le virus de la poliomyélite résiste à l'acidité de l'estomac ; il se multiplie dans le pharynx et dans l'intestin, et est éliminé dans les selles. Cette première phase de la maladie n'est accompagnée d'aucun signe clinique spécifique. Puis, après avoir proliféré dans l'intestin, le virus passe dans le sang. Normalement, la barrière hémato-encéphalique protège le système nerveux central contre les micro-organismes pathogènes, mais quand la virémie est trop élevée ou que cette barrière n'assure pas sa fonction, des virus s'introduisent dans le système nerveux central (cerveau et moelle épinière).

Un à deux pour cent seulement des personnes contaminées par le poliovirus ont une atteinte neurologique : une dizaine de jours après la contamination, une paralysie brutale s'installe. Les neurones portent des récepteurs sur lesquels se fixe le virus ; lorsqu'il est à l'intérieur d'un neurone, le virus bloque tout mécanisme cellulaire qui n'est pas indispensable à sa propre réplication. Il «épuit» les ressources neuronales et détruit notamment les neurones des cornes antérieures de la moelle épinière, qui commandent le mouvement.

Rejeté dans la nature, le virus disparaît progressivement, mais comme ce sont des dizaines de millions de particules qui sont produites par un

même individu, des quantités notables de virus, résistant aux conditions extérieures, persistent dans l'environnement. Dans les pays développés, les enfants, les plus exposés, sont systématiquement vaccinés. Le vaccin oral contient le virus vivant atténué qui se multiplie dans l'intestin comme le virus naturel. Il provoque seulement une infection intestinale, et déclenche les mécanismes immunitaires. Comme le virus est atténué, il ne traverse pas la barrière hémato-encéphalique.

Pour éradiquer le virus, on doit respecter une bonne couverture vaccinale, les conditions d'hygiène doivent être correctes et la promiscuité faible. Les pays nordiques ont ainsi réussi à éradiquer la maladie. En France, aucun cas n'a été enregistré depuis 1988. Dans le monde, on estime à 100 000 le nombre d'enfants qui ont été atteints de poliomyélite avec séquelles en 1993, 50 000 en Inde. Comment améliorer la couverture vaccinale ? Pour que le vaccin soit efficace, il doit apporter entre 100 000 et un million de particules virales vivantes atténuées.

Or, dans chaque dose vaccinale, la proportion de particules vaccinales diminue, une partie s'inactivant avec le temps

et surtout avec la température. Afin de conserver vivantes et immunogènes suffisamment de particules virales, le vaccin doit être conservé au froid.

Afin de minimiser l'action de la température, on cherche à stabiliser le vaccin. Or, dans les années 1960, on a étudié le comportement de divers organismes, tels des bactéries ou des virus, et on a constaté qu'ils résistent bien aux températures élevées à condition d'être maintenus dans de l'eau lourde. L'eau est essentiellement constituée de molécules H_2O ; toutefois, l'hydrogène, H, a un isotope, le deutérium, D, qui a un électron comme l'hydrogène, mais dont le noyau contient un neutron de plus que l'hydrogène ; l'eau usuelle contient un mélange d' H_2O (à 99,985 pour cent) et de D_2O (à 0,015 pour cent).

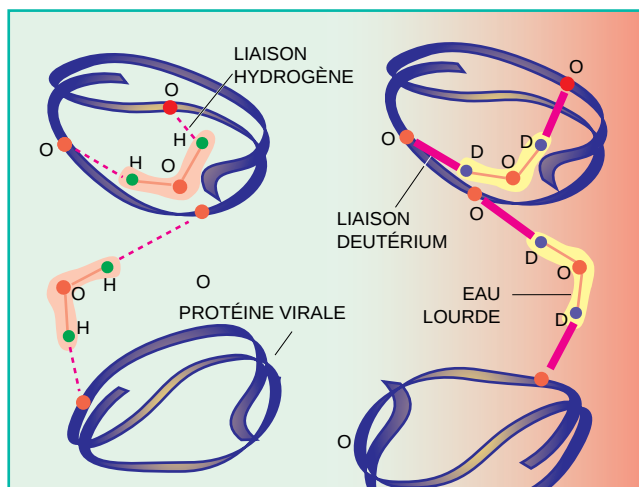
Des liaisons hydrogène s'établissent entre atomes d'oxygène et d'hydrogène du solvant et du soluté ; les liaisons entre atomes de deutérium et atomes d'oxygène sont plus fortes que les liaisons hydrogène. Plus les interactions sont nombreuses et fortes, plus la solution est stable : c'est le cas lorsque les particules virales sont en solution dans de l'eau lourde pure.

LA FIN DE LA CHAÎNE DU FROID

On connaissait déjà un autre stabilisateur, le chlorure de magnésium, et lorsque l'on mélange ce chlorure et de l'eau lourde, on potentialise leur action respective ; on peut alors conserver le vaccin pendant sept jours à 37 °C tout en préservant son activité.

L'utilisation de l'eau lourde devrait entraîner un surcoût limité, de l'ordre de 20 pour cent, augmentation partiellement compensée par les économies réalisées sur la chaîne du froid. Après avoir pris un brevet sur cette méthode, l'équipe de Pasteur teste aujourd'hui l'efficacité d'un tel vaccin contre le virus de la fièvre jaune.

On peut espérer la disparition de la poliomyélite dans le monde entier, mais la couverture vaccinale doit être optimisée. Un vaccin efficace et stable, qui peut être conservé à température ambiante, devrait aider les médecins à vaincre ce fléau. En Chine, en 1994, 80 millions d'enfants ont été vaccinés en deux jours ; un seul cas a été enregistré en 1995. Une telle campagne de vaccination de masse est prévue en Inde. □



Les liaisons hydrogène (en pointillés) au sein d'une molécule ou entre deux molécules stabilisent les solutions. Ces liaisons stabilisatrices sont plus fortes lorsque l'eau H_2O (à gauche) est remplacée par l'eau lourde, D_2O (à droite) ; les liaisons deutérium (traits roses épais) stabilisent le vaccin contre la poliomyélite, qui n'est plus dégradé par la chaleur.