

UNIVERSITE SULTAN MOULAY SLIMANE
Faculté des Sciences et Techniques
Béni-Mellal

Centre d'Etudes Doctorales « Sciences et Techniques »
Formation Doctorale « Ressources Naturelles, Environnement et Santé »

THESE

Présentée par

Hicham EL BATAL

Pour l'obtention du grade de

Doctorat

Spécialité : Chimie et Génie des Procédés Agroalimentaires

Contribution à la Valorisation de la Caroube Marocaine :

- **Caractérisation Morphologique et Physico-chimique.**
 - **Application de la Méthode des Plans d'Expériences pour l'Optimisation du Procédé d'Extraction de la Gomme de Graine et de Production du Sirop de Pulpe.**
-

Soutenue le 05 Avril 2014 devant la commission d'examen :

Président :

Pr. J. El Hajri Université Sultan Moulay Slimane – Béni-Mellal

Rapporteurs :

Pr. M. Bouchdoug Université Cadi Ayyad – Marrakech

Pr. A. M. Alaoui Université Sultan Moulay Slimane – Béni-Mellal

Pr. S. Salmaoui Université Sultan Moulay Slimane – Béni-Mellal

Examineurs :

Pr. A. Boulli Université Sultan Moulay Slimane – Béni-Mellal

Pr. M. Naimi Université Sultan Moulay Slimane – Béni-Mellal

Pr. A. Ouatmane Université Sultan Moulay Slimane – Béni-Mellal (Co-encadrant)

Pr. A. Jaouad Université Cadi Ayyad – Marrakech (Co-encadrant)

Pr. A. Hasib Université Sultan Moulay Slimane – Béni-Mellal (Directeur de thèse)

Remerciements

Mes plus vifs remerciements vont d'abord à Monsieur le Président de l'Université Sultan Moulay Slimane et Monsieur le Doyen de la Faculté des Sciences et Techniques de Béni-Mellal. Qu'ils veuillent bien trouver ici mes vifs remerciements et mes profonds respects.

Je saisis cette occasion pour présenter mes vifs remerciements aux lecteurs attentifs de ce manuscrit les Professeurs: *J. El Hajri, M. Bouchdoug, A. M. Alaoui, S. Salmaoui, M. Naimi, A. Boulli, A. Ouatmane, A. Jaouad, A. Hasib* qui m'ont fait l'honneur de juger ce travail. Qu'il me soit permis de leur exprimer ma reconnaissance et mon respect.

Mes pensées se dirigent tout d'abord au Professeur *Aziz Hasib*, pour m'avoir accueilli et avoir accepté de diriger ce travail avec beaucoup de patience et de présence. Il est à l'origine de cette étude; il a mis à ma disposition les moyens matériels nécessaires et a assuré l'encadrement technique et scientifique de mes travaux de thèse. Qu'il soit remercié en premier pour sa grande disponibilité, son suivi continu, ses aides utiles, ses discussions fructueuses et ses conseils constructifs et précieux. La qualité de ses idées m'a permis d'atteindre la finalité de ce travail. Qu'il veuille bien trouver ici mes vifs remerciements et mes profonds respects.

Ma profonde gratitude et mes sincères remerciements vont également à Messieurs *Aaziz Ouatmane*, professeur à la Faculté des Sciences et Techniques de Béni- Mellal et *Abderrahim Jaouad*, professeur à la Faculté des Sciences Semlalia de Marrakech, pour l'encadrement et les conseils scientifiques dont ils m'ont fait bénéficier pendant la réalisation de ce travail. Leurs conseils prodigieux et leurs efforts considérables m'ont permis d'avancer dans cet axe de recherche.

J'adresse mes chaleureux remerciements au Professeur *Abdelali Boulli* qui m'a fait profiter de sa longue expérience en matière de recherche forestière. Qu'il trouve ici toute ma reconnaissance pour les services déployés.

Je tiens à remercier Mr. *Abdelmajid Zyad*, responsable de cette formation Doctorale, Mr. *Khalid Habbari*, Vice Doyen Chargé de la Recherche Scientifique et Mr. *Abderrazak El Harti*, Directeur du CED, à qui nous devons beaucoup, pour l'intérêt qu'ils portent au déroulement des activités de recherche au sein de la Faculté.

D'autre part, je transmets mes sincères remerciements au Pr. *Mohammed Naimi* pour l'aide et le temps qu'il m'a accordé au niveau de l'étude rhéologique et l'interprétation des résultats.

Je voudrais exprimer également ma reconnaissance au Pr. **Abdelaziz Baçaoui**, FSS de Marrakech, pour l'aide et le temps qu'il m'a accordé pour la construction du plan d'expériences et l'interprétation des résultats.

Mes remerciements vont aussi à tous les **Enseignants** et les **Administrateurs** de la FST de Béni Mellal qui ont contribué de près ou de loin à l'élaboration de ce travail.

Enfin, j'exprime toute mon affection et ma gratitude à ma famille (mes parents, mes frères, mes sœurs, mes oncles, mes tantes et ma femme avec sa famille...) pour leur patience et leur soutien indéfectible.

Je remercie également tous mes collègues du Centre de Recherche doctoral, pour leurs encouragements et pour les bons moments passés ensemble (**Tilaoui. M**, **Maimouni. S**, **Ghezal. J**, **Ould Sidina. M.H**), Une mention particulière pour Madame **Zaki. N**, pour ses encouragements et la bonne ambiance qu'elle créait au laboratoire.

Avant propos

– **Nom et prénom de l’auteur:** Hicham EL BATAL

– **Intitulé du travail:**

Contribution à la Valorisation de la Caroube Marocaine :

- **Caractérisation Morphologique et Physico-chimique**
- **Application de la Méthode des Plans d'Expériences pour l'Optimisation du Procédé d'Extraction de la Gomme de Graine et de Production du Sirop de Pulpe.**

Les travaux présentés dans cette thèse ont été effectués au Laboratoire d’environnement et valorisation agro-ressources (EVAR) de la Faculté des Sciences et Techniques de Béni-Mellal Université Sultan Moulay Slimane

- **Noms et prénoms des directeurs de recherche:**

- Encadrant : Professeur Aziz HASIB (Faculté des Sciences et Techniques, Université Sultane Moulay Sliman, Béni-Mellal)
- Co-Encadrant : Professeur Aaziz OUATMANE (Faculté des Sciences et Techniques, Université Sultane Moulay Sliman, Béni-Mellal).
- Co-Encadrant : Professeur Abderrahim JAOUAD (Faculté des Sciences Semlalia, Université Cadi Ayyad, Marrakech)

- **Principales Publications et Communications**

A. Publications

1. Hicham El Batal, Aziz Hasib*, Aziz Ouattmane, Abderrahim Jaouad, Mohammed Naïmi **(2012)**. Rheology and influence factor of *Locust Bean Gum* solution. **Revue de Génie Industriel**, 8, 55-62
2. H. El Batal, A. Hasib*, A. Ouattmane, A. Boulli, F. Dehbi, A. Jaouad **(2013)**. Yield and composition of carob bean gum produced from different Moroccan populations of carob (*Ceratonia siliqua* L.). **J. Mater. Environ. Sci.** 4 (2) 309-314.
3. Hicham El Batal, Aziz Hasib*, Aziz Bacaoui, Fatima Dehbi, Aziz Ouattmane, Abderrahim Jaouad **(2013)**. Syrup of natural carob sugars and a process for its production using Response Surface Methodology. **Chemical and Process Engineering Research**. ISSN 2224-7467 (Paper) ISSN 2225-0913 (Online) Vol.10, 44-50.
4. Hicham El Batal, Aziz Hasib*. **(2013)**. Optimization of extraction process of carob bean gum purified from carob seeds by response surface methodology. **Chemical and Process Engineering Research**. ISSN 2224-7467 (Paper) ISSN 2225-0913 (Online), Vol.12, 01-08.

5. Hicham el Batal, A. Hasib*, F. Dehbi, A. Ouattmane, A. Jaouad, A. Boulli (2011). Sugar composition and yield of syrup production from the pulp of Moroccan carob pods (*Ceratonia siliqua* L.). *Arabian Journal of Chemistry*, doi:10.1016/j.arabjc.2011.10.012

B. Communications orales

1. **H. EL BATAL**, A. HASIB, A. OUATMANE, A. BACAOUI, A. BOULLI, A. JAOUAD. «Influence of the extraction conditions on the polysaccharides gum yield from Moroccan carob seeds» *4th International Meeting on Molecular Chemistry and Development "RICMD4'2010", on 24th- 27th November 2010 at Marrakesh, Morocco*
2. S. NABBOUTI, **H. EL BATAL**, A. HASIB, A. OUATMANE, A. JAOUAD. Extraction and characterization of cellulose from Moroccan carop pods (*Ceratonia Siliqua* L.). *Colloque international VII^{EME} JOURNEES sur les polymères Organiques et leurs applications du 5 au 7 mai 2011 Tanger, Maroc.*

C. Communications par affiche

1. **H. EL BATAL**, A. HASIB, A. OUATMANE, A. BOULLI, A. JAOUAD. «Physical-Chemical Characterization of Moroccan Carob pods (*Ceratonia Siliqua* L.)» *The First International Symposium on Analytical Chemistry for Sustainable Development – ACSD 2010 Mohammedia, Morocco 17th – 19th March 2010.*
2. **H. EL BATAL** , F.DEHBI , S. NABBOUTI , A. HASIB , A. OUATMANE ,A. BACAOUI , A. JAOUAD, A. BOULLI. Chemical Characterization and Industrial Valorisation of Moroccan carob pods. Troisième édition du congrès international sur l'amélioration de la production agricole APA3, du 17 – 18 Mars 2011 à **Settat**, Maroc.
3. S. NABBOUTI, **H. EL BATAL**, A. HASIB, A. OUATMANE, A. JAOUAD. Extraction and characterization of cellulose from Moroccan carob pods (*Ceratonia Siliqua* L.). *Colloque international VII^{EME} JOURNEES sur les polymères Organiques et leurs applications du 5 au 7 mai 2011Tanger, Maroc.*
4. **H. EL BATAL**, F.DEHBI, S. NABBOUTI, A. HASIB, A. OUATMANE, A. BACAOUI, A. JAOUAD, A. BOULLI. Characterization and Industrial Valorization of Moroccan carob pulp (*Ceratoni Siliqua* L). Congrès international sur la recherche, la biotechnologie et le consommateur au service de l'environnement et de l'industrie agroalimentaire du 19 au 20 mai 2011 à **Kénitra**, Maroc.
5. **H. EL BATAL**, A. HASIB, F.DEHBI, M.NAIMI, A. BACAOUI, A. OUATMANE, N. ZAKI, A. JAOUAD. Response surface methodology for optimization of rheological

properties of locust bean gum solution. Deuxième rencontre international sur la chimiométrie, RICH2, du 08 au 09 octobre 2012 à **Marrakech**, Maroc

RESUME

Le caroubier (*Ceratonia siliqua L.*) est un arbre forestier fruitier et fourrager très répandu au Maroc. Il présente de nombreuses potentialités écologiques, socio-économiques et industrielles. Cependant, son exploitation au niveau nationale reste très limitée.

Le présent travail s'intègre dans le cadre de la caractérisation et la valorisation industrielle de la caroube. Pour ce faire, nous avons réalisé en premier partie une caractérisation morphologique et physico-chimique détaillée de son fruit au niveau de sept régions de provenance représentatives du Maroc.

Dans la seconde partie du travail, nous avons étudié l'influence des conditions expérimentales sur le procédé d'extraction et de clarification de la gomme de graine de caroube (CBG) en utilisant la méthodologie de la recherche expérimentale. Les trois facteurs les plus influents, à savoir, la température, le temps et le rapport (eau/endosperme) ont été optimisés en utilisant un plan composite centré. Les rendements obtenus sont très intéressants pour une future valorisation industrielle.

Ensuite, et pour mieux comprendre le comportement rhéologique de la CBG, la viscosité d'une solution aqueuse à 1% de CBG a été étudiée à différents taux de cisaillement, différentes températures et différents pH. La solution étudiée montre un comportement cisaillement-amincissant. On a également observé une diminution de la viscosité effective avec la température, ce qui indique un comportement thermo-dépendant d'une telle solution.

Nous avons également, élaboré un sirop à partir de la pulpe de caroube. Pour ce faire, nous avons identifié les facteurs influents en se basant sur nos études préliminaires. Ces trois facteurs : température, temps et rapport (eau/pulpe) ont été optimisés à l'aide d'un plan d'expérience de type Box Behnken. L'étude des surfaces de réponses a révélé l'existence d'un rendement de production de sirop qui peut atteindre 38.7% dans les conditions optimales.

Mots clés : Caroube, pulpe, graine, gomme de graine de caroube, sirop, composition physico-chimique, plans d'expériences, plan composite centré, Box Behnken, viscosité.

ABSTRACT

The carob tree (*Ceratonia siliqua* L.) is currently considered among the most widespread fruit in the forest trees in Morocco. It has various environmental, socio-economic and industrial potentials. However, operations at national level remain very limited.

The purpose of this study is to evaluate the important characteristics of the Moroccan carob taken from seven regions representative from Morocco.

Response surface methodology (RSM) was applied to optimize the extraction of CBG. A central composite design was used for experimental design and analysis of the results searching for the optimal extraction conditions: Extraction temperature, extraction time and water to endosperm seeds ratio Based on the RSM analysis. The yields obtained are very important for future industrial.

The viscosity of 1% (CBG) aqueous solution has been studied at different shear rates, temperatures, and pH values. The studied solution exhibits a shear-thinning behavior. A decrease of the effective viscosity with temperature has been also observed indicating a thermo-dependent behavior of such a solution.

The performance of the production of the syrup from carob pulp was studied with a statistical method based on the response surface methodology in order to identify and quantify the variables, which may maximize the yield of syrup. The extracting parameters (temperature, time and ratio of water to pulp) were optimized by using three-factor-three-level Box Behnken design (BBD). As results, the optimum yield of syrup extracted is 38.73 %.

Keywords: Carob tree, Carob, Carob bean Gum (CBG), Pulp, Syrup, physical and chemical composition, Design expert, Central composite design, Box Behnken, Viscosity.

ملخص

تعتبر شجرة الخروب من الأشجار الغابوية المثمرة والعلفية الواسعة الانتشار بالمغرب وبرغم توفرها على مجموعة من المؤهلات البيئية والسوسيواقتصادية بالإضافة الى المؤهلات الصناعية يبقى استغلالها على الصعيد الوطني جد محدود.

تدخل دراستنا هذه في إطار التوصيف والتنمين الصناعي لفاكهة الخروب ولأجل هذه الغاية قمنا بإجراء دراسة للميزات المورفولوجية وللجودة التكنولوجية لفاكهة الخروب منتقاة من سبع مناطق تمثل المغرب.

تمت دراسة تأثير الظروف التجريبية على عملية استخراج وتنقية صمغ البذور باستخدام منهجية البحوث التجريبية للعوامل الثلاثة الأكثر تأثيرا والمتمثلة في درجة الحرارة، الوقت ثم نسبة الماء/ أندوسبيرمعن طريق استعمال تقنية سطح مركب متركز، هذه النسب المحصل عليها من الصمغ جد مشجعة للتنمية الصناعية في المستقبل.

من أجل فهم جيد لربولوجيا الصمغ تمت دراسة لزوجة هذا الأخير بنسبة تركيز تعادل 1% في محلول مائي وذلك باستعمال معدلات قصود درجات حرارة ثم درجة حموضة مختلفة، وقد أظهر هذا المحلول سلوك قص-انحلاقي بحيث كلما ارتفع معدل القص في درجة حرارة معينة تناقصت اللزوجة. كما لاحظنا أيضا تناقص اللزوجة الفعالة حسب درجة الحرارة مما يشير بالتبعية الحرارية لهذا المحلول.

قمنا أيضا بإنتاج شراب لباب الخروب، على ضوء النتائج الأولية التي حددنا بها العوامل المؤثرة في إنتاجه والمتمثلة في درجة الحرارة والوقت ونسبة (الماء / لب) باستخدام التصميم التجريبي من نوع بوكس بينكين. عن طريق استجابة خطاطة السطوح تم الحصول على مردودية قصوى تساوي 38.73% من الشراب في ظروف ملائمة.

الكلمات المفتاحية: شجرة الخروب، فاكهة الخروب، صمغ الخروب، اللباب، الشراب، التركيبة الفيزيوكيميائية، التصميم التجريبي، سطح مركب متركز، بوكس بينكين، لزوجة.

Liste d'abréviations

a_0	Constante du modèle représentant la moyenne des réponses pour l'ensemble des essais
a_i	Quantifie l'effet direct de X_i
a_{ii}	Quantifie l'effet quadratique du facteur X_i
a_{ij}	Quantifie l'effet d'interaction de X_i et X_j
a_j	Quantifie l'effet direct de X_j
a_{jj}	Quantifie l'effet quadratique du facteur X_j
aw	Activité de l'eau
°C	Degré Celsius
Ca	Calcium
CBG	Carob bean gum (gomme de caroube)
CCD	Centre composite design (central composite design)
CT	Cendres brutes
Cu	Cuivre
CV	Coefficient de variance
Dh	Dirham
$\dot{D}$	Taux de cisaillement
e	Electron
EACCE	Etablissement Autonome de Contrôle et de Coordination des Exportations
FAOSTAT	Food And Agriculture Organisation Of the United Nations (Organisation des Nations unies pour l'alimentation et agriculture)
Fe^{2+}	Ions ferreux
Fe^{3+}	Ions ferriques
FG	Gomme de fenugrec
G	Galactose
g	Gramme
GG	Gomme de guar
H	La teneur en humidité
K	Potassium
K	Indice de consistance
l	Largeur
L	Longueur
LBG	Locust bean gum (gomme de caroube)
LRC	Linear regression coefficients
M	Manose
MF	Matière fraîche
M_F	Microfiltration
Mn	Manganèse
Mol	Mole
Mp	Poids en grammes de la prise d'essai

mPa	Millipascal
MPE	Méthodologie des plans d'expériences
Mrc	Poids en grammes du résidu après incinération à 500°C
Mr	Poids en grammes du résidu sèche
MS	Matière sèche
Mw	Masse molaire
N	Indice d'écoulement
Na	Sodium
NF	Nanofiltration
P	Phosphore
P _r	Probabilité
Pa	Pascal
PE	Plans d'expériences
PVPP	Polyvinylpolypyrrolidone
R ²	Coefficient de corrélation multiple ou coefficient de détermination
Ra ²	Coefficient de corrélation ajusté
RSM	Méthodologie de la recherche expérimentale (Response surface methodolgy)
S	Seconde
T	Température
t	Temps
TG	Gomme de tara
UF	Ultrafiltration
v	Volume
W	Poids (weight)
X _i	Niveaux des facteurs
X _j	Niveaux des facteurs
Y	La réponse étudiée
Zn	Zinc
α	Alpha
β	Beta
ε	Erreur expérimentale
η	Viscosité
τ	Contrainte de cisaillement

Liste des tableaux

<i>Tableau 1: Comparaison de la rentabilité économique de la culture du caroubier à l'hectare par rapport aux autres récoltes</i>	<i>09</i>
<i>Tableau 2: Evolution de la Production mondiale de la caroube entre 1997 et 2008</i>	<i>11</i>
<i>Tableau 3: Composition chimique (en %) de la gomme de caroube brute et purifiée.....</i>	<i>23</i>
<i>Tableau 4: Ratios Mannose/ Galactose des principales légumineuses.....</i>	<i>26</i>
<i>Tableau 5: Quelques caractéristiques sur la qualité des 4 catégories de plans d'expériences.....</i>	<i>42</i>
<i>Tableau 6: Exemple de matrice d'expériences.....</i>	<i>46</i>
<i>Tableau 7 : Caractéristiques géographiques et écologiques des régions étudiées.....</i>	<i>51</i>
<i>Tableau 8: Composition physicochimique de la pulpe de la caroube des sept régions de provenance Marocains</i>	<i>60</i>
<i>Tableau 9: Composition minérale de la graine de caroube (exprimée en mg par 100 g MS) de sept régions de provenance Marocains.....</i>	<i>64</i>
<i>Tableau 10: Composition physicochimique de la graine de caroube dans sept régions de provenance... Marocains</i>	<i>65</i>
<i>Tableau 11 : Composition minérale des graines de caroube (exprimée en mg par 100 g MS) de sept régions de provenance Marocaines.....</i>	<i>68</i>

Liste des figures

Figure 1 : inflorescence de caroubier ((A) fleurs males ; (B) fleurs male-femelles ; (C) fleurs femelles)	06
Figure 2(a et b) photos et stade de développement du fruit.....	07
Figure 3 : Centre d'origine et distribution du caroubier dans le monde (Batlle et Tous, 1997)	08
Figure 4 : peuplement du caroubier au Maroc.....	08
Figure 5 : Evolution des valeurs d'importations et exportations des produits de caroubier entre 2000 et 2010.	10
Figure 6: Structure des composés isolés et purifiés de la fibre de caroube (Owen et al., 2003)....	16
Figure 7 : Coupe transversale d'une graine de caroube (DAKIA et al., 2008).....	17
Figure 8 : Schéma du process d'extraction et de purification de la gomme de caroube (KAWAMURA, 2008).	22
Figure 9 : Structure moléculaire des galactomannanes suivant le type de plante	25
Figure 10 : Différents types de distribution des résidus de galactose le long de la chaîne de mannane : disposition régulière (a), disposition aléatoire (b), disposition en blocs uniformes (c).....	27
Figure 11: Procédé de production du sirop de caroube clarifié	36
Figure 12: Représentation d'un domaine d'étude à deux facteurs.....	38
Figure 13: Plans factoriels complet et fractionnaire.....	39
Figure 14: Plan composite pour deux facteurs.....	41
Figure 15: Plan de Box- Behnken pour trois facteurs.....	41
Figure 16: Plan de Doehlert.....	42
Figure 17: Valeurs expérimentales = f(valeurs calculées).	46
Figure 18: Résidus = f(valeurs expérimentales)	46
Figure 19: Représentation iso-surface.....	47
Figure 20: Représentation surface réponse.....	47
Figure 21: Caractéristiques agro-morphologique (L,l et e) des gousses et % des graines et de pulpe de caroube issus de sept provenances Marocaines.....	56
Figure 22: Caractéristiques agro-morphologique (L, l, e et p) des graines de sept provenances Marocaines.....	58

Table des matières

INTRODUCTION GENERALE.....	01
PARTIE I: ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE.....	04
Chapitre I.1 : Généralités sur le caroubier.....	05
I. 1.1. Taxonomie.....	05
I. 1.2. Biologie du caroubier.....	05
I. 1.3. Répartition géographique.....	07
I. 1.4. Importance économique.....	09
I. 1.5. Production du caroubier.....	10
I. 1.6. Intérêts et utilisations du caroubier.....	11
I. 1.7. Composition générale.....	13
- Conclusion 1.....	18
Chapitre I.2 : La gomme de caroube.....	20
- Introduction.....	20
I.2.1. Extraction et purification de la gomme de caroube.....	21
I.2.2. Composition et structure de la gomme de caroube.....	23
- Conclusion 2.....	30
Chapitre I.3 : Production industrielle du sirop.....	31
I.3.1. Définition.....	31
I.3.2. Les différents sirops.....	31
I.3.3. Technologie de fabrication du sirop de caroube.....	32
- Conclusion 3.....	36
Chapitre I.4 : Méthode des plans d'expériences.....	37
I.4.1. Aperçu historique.....	37
I.4.2. Définitions des termes utilisés à la méthode des plans d'expériences.....	38
I.4.3. Les différents types de plans de modélisation.....	39
I.4.4. Méthodologie.....	43
- Conclusion 4.....	47
PARTIE II: CARACTERISATION MORPHOLOGIQUE ET PHYSICO-CHIMIQUE DE LA CAROUBE MAROCAINE.....	49
- Introduction.....	50
II.1. Matériel et méthodes.....	51
II.1.1. Matériel végétal.....	51
II.1.2. Détermination des caractéristiques morphologiques.....	51
II.1.3. Détermination des caractéristiques physico-chimiques.....	51
II.2. Résultats et discussion.....	55
Chapitre II.2.1 : Caractéristiques morphologiques du caroubier.....	55
Chapitre II.2.2 : Caractérisations physico-chimiques de la pulpe.....	59
II.2.2.1. Matière sèche.....	59
II.2.2.2. Teneur en cendre.....	60
II.2.2.3. Protéines.....	60
II.2.2.4. Matière grasse.....	61
II.2.2.5. Teneurs en sucres totaux et réducteurs.....	61
II.2.2.6. Teneur en poly phénols des extraits de caroube.....	62
II.2.2.7. Composition minérale.....	62
Chapitre II.2.3 : Caractérisation physico-chimique de la graine de caroube	65
II.2.3.1. Matière sèche.....	65
II.2.3.2. Teneur en cendre.....	65

II.2.3.3.	Protéines.....	66
II.2.3.4.	Matière grasse.....	66
II.2.3.5.	Teneur en poly phénols des extraits de caroube.....	67
II.2.3.6.	Composition minérale.....	67
II.3.	Synthèse et conclusion.....	69

PARTIE III : VALORISATION DE LA GRAINE DE CAROUBE : OPTIMISATION DE L'EXTRACTION DE LA GOMME ET ETUDE DE SON COMPORTEMENT RHEOLOGIQUE.....

-	Introduction.....	74
		75
Chapitre III.1: Optimization of extraction process of carob bean gum purified from carob seeds by response surface methodology.....		77
III.1.1.	Introduction.....	78
III.1.2.	Materials and methods.....	79
III.1.2.1.	Samples.....	79
III.1.2.2.	Extraction procedure.....	79
III.1.2.3.	Experimental design.....	80
III.1.2.4.	Statistical analyses.....	81
III.1.3.	Results and discussion.....	82
III.1.3.1.	Preliminary study.....	82
III.1.3.1.1.	Temperature.....	82
III.1.3.1.2.	Time.....	83
III.1.3.1.3.	Ratio of water to endosperm of seeds.....	83
III.1.3.2.	Predicted model and statistical analysis.....	84
III.1.3.3.	Response surface plot.....	87
III.1.3.4.	Optimization of extracting parameters and validation of the model.....	89
III.1.4.	Conclusion.....	89
Chapitre III.2: Yield and composition of carob bean gum produced from different Moroccan populations of carob (<i>Ceratonia siliqua L.</i>).....		92
III.2.1.	Introduction.....	93
III.2.2.	Materials and methods.....	94
III.2.2.1.	Selection and preparation of samples.....	94
III.2.2.2.	Extraction procedure.....	95
III.2.2.3.	Chemical composition.....	96
III.2.3.	Results and discussion.....	97
III.2.3.1.	Measurement of carob pods.....	97
III.2.3.2.	Comparison of samples from different carob tree populations in Morocco.....	98
III.2.4.	Conclusion.....	100
Chapitre III.3: Rheology and influence factor of Locust Bean Gum solution.....		103
III.3.1.	Introduction.....	104
III.3.2.	Methodology.....	105
III.3.2.1.	Experimental device for the viscosity measurement.....	105
III.3.2.2.	Materials.....	106
III.3.2.3.	Extraction of the seed gum and measurement of viscosity.....	107
III.3.3.	Results and discussion.....	107
III.3.3.1.	Variation of the viscosity of LBG solution with the shear rate.....	107
III.3.3.2.	Effect of temperature on viscosity.....	109
III.3.3.3.	Influence of pH on LBG solution viscosity.....	111
III.3.4.	Conclusion.....	112
III.4.	Synthèse et conclusion.....	115

PARTIE IV : VALORISATION DE LA PULPE DE CAROUBE : OPTIMISATION DE LA PRODUCTION DU SIROP.....	120
- Introduction.....	121
Chapitre 1V.1: Syrup of natural carob sugars and a process for its production using Response Surface Methodology.....	123
IV.1.1. Introduction.....	124
IV.1.2. Materials and methods.....	124
IV.1.2.1. Selection and preparation of samples.....	124
IV.1.2.2. Experimental design.....	125
IV.1.3. Results and discussion.....	126
IV.1.3.1. Preliminary study.....	126
IV.1.3.1.1. Temperature.....	126
IV.1.3.1.2. Time.....	127
IV.1.3.1.3. Ratio of water to pulp.....	128
IV.1.3.2. Predicted model and statistical analysis.....	128
IV.1.3.3. Analysis of response surface.....	130
IV.1.3.4. Verification of predictive model.....	132
IV.1.4. Conclusion.....	132
Chapitre 1V.2: Sugar composition and yield of syrup production from different crops Moroccan carob pulp.....	134
IV.2.1. Introduction.....	135
IV.2.2. Materials and methods.....	136
IV.2.2.1. Selection and preparation of samples.....	136
IV.2.2.2. Determination of total and reducing sugars.....	137
IV.2.2.3. Production of syrup.....	137
IV.2.2.4. Statistical analysis.....	137
IV.2.3. Results and discussion.....	138
IV.2.3.1. Measurement of carob pods.....	138
IV.2.3.2. Total and reducing sugar values from pods.....	140
IV.2.3.3. Syrup yield.....	141
IV.2.4. Conclusion.....	142
IV.3. Synthèse et conclusion.....	144
- Conclusion générale.....	147
- Références bibliographiques.....	153
- Annexes.....	165
- Annexe 1 : L'arbre du caroubier (<i>Ceratonia siliqua</i> L.)	166
- Annexe 2 : Le fruit du caroubier (gousse)	166
- Annexe 3 : Inventaire des unités industrielles exportatrices de la caroube d'après l'EACCE	167
- Annexe 4 : Les graines de caroube employées comme unité de mesure des diamants et des pierres précieuses.	168
- Annexe 5 : La gomme de caroube	168
- Annexe 6 : Procédé de préparation de sirop constitué des sucres naturels de caroube	169

- INTRODUCTION GENERALE

Le caroubier (*Ceratonia siliqua* L.) est un arbre forestier fruitier et fourrager qui présente de nombreuses potentialités écologique, socio-économique et industriel. Le caroubier est rencontré principalement à l'état naturel en Espagne, Italie, Maroc, Portugal, Grèce, Turquie, suivie de Chypre, Algérie, Liban et en Tunisie (Rejeb al., 1991; Sbay et Abourouh, 2006).

Au Maroc, le caroubier recouvre une superficie qui dépasse les 12000 ha (Ait Chitt *et al.*, 2007, FAOSTAT 2010), il est localisé dans les régions situées entre 600 et 1000 m d'altitude dans des bioclimats de type subhumide, semi-aride et aride côtier à variantes chaude et tempérée (Aafi, 1996; Ait Chitt *et al.*, 2007 ; sedina *et al.*, 2009).

Sur le plan environnemental, le caroubier joue un grand rôle dans la protection, la restauration et la valorisation des sols, en plus de la régénération et le reboisement des forêts. En effet, depuis plus d'un quart de siècle, plusieurs pays, y compris le Maroc, sont souvent soumis à de sévères sécheresses aux conséquences néfastes sur l'agriculture et l'activité économique de ces pays. Cette sécheresse est devenue une donnée structurelle qu'il faudra désormais affronter par l'adaptation d'une agriculture dans ces régions pour devenir moins dépendante des aléas climatiques; il est donc impératif de trouver des cultures de remplacement. Parmi les espèces culturales résistantes au stress hydrique et tolérantes aux sols pauvres, le caroubier constitue une alternative de premier choix.

La production mondiale de caroube est estimée à 191 355,64 tonnes/an (FAOSTAT 2010). La production marocaine en gousses 60.000 tonnes/an et graines 12.000 tonnes/an de caroube, elle est relativement importante, puisqu'elle représente 24 et 38 % de la production mondiale en gousses et graines. Ceci place le Maroc comme premier producteur mondial de graines et troisième producteur de gousses après l'Espagne et l'Italie (FAOSTAT 2010).

Actuellement, une grande importance a été accordée à la production de graine de caroube dont une partie importante est destinée à l'exportation vers le marché européen. Mais, sur ce marché, le Maroc se trouve concurrencé par un grand nombre de pays producteurs ; en plus, les sous produits de la caroube sont redevables d'une normalisation relativement rigoureuse. Dans ce cadre de compétition internationale, les industries marocaines de

transformation de la caroube sont amenées à élargir la gamme proposée, améliorer les techniques de traitement et fournir des produits de qualité beaucoup plus compétitifs et répondant aux exigences de la législation en vigueur des pays importateurs.

Cependant, le Maroc possède un avantage concurrentiel structurel qui lui permet d'augmenter sa production de 5 à 10% par an à grace notamment de son meilleur rendement mondial en graines. Par ailleurs, les tendances du marché révèlent que la production en Espagne, en Italie et au Portugal tend à stagner, sinon à diminuer à cause de la faiblesse du rendement en graines (8 à 10% en moyenne) en comparaison avec le Maroc (18 à 22% en moyenne) (Sidina *et al.*, 2009). Par contre, la production nationale du caroubier augmente et nous assistons ces dernières années à un regain d'intérêt de la population pour le caroubier. Mais l'extension des plantations reste timide à cause notamment des contraintes d'ordre agronomiques. Il y a aussi les contraintes d'ordre juridique, il est considéré comme arbre forestier ce qui effrayé les populations usagères. Il y a également des contraintes relatives à la valorisation, notamment l'absence d'unités de conservation et de transformation, 75% du potentiel de production est non exploité.

C'est dans cette lignée que nous avons focalisé nos objectifs sur l'étude et la valorisation des sous produits de la caroube marocaine, aussi bien sur le plan scientifique que sur le plan économique :

- Sur le plan scientifique, cette étude devrait permettre une adaptation avec une introduction de nouvelles techniques industrielles innovantes et adaptées à résoudre les problèmes posés par le tissu agro-industriel.
- De point de vue économique, cette étude nous permettra de :
 - valoriser la production de la caroube dans les différentes régions par diversification de leurs produits de transformation ;
 - participer à l'amélioration de la qualité de ces produits afin qu'ils répondent aux exigences et aux normes du marché national et international.

En plus, ce travail s'inscrit dans le cadre de la politique nationale pour la décentralisation, du projet Maroc vert et de la politique internationale de développement des régions méditerranéennes. En effet, le Maroc est un pays où l'industrie est axée sur l'agriculture; cette étude permettra aux régions agricoles et forestières de se doter de technologies

industrielles locales performantes et compétitives permettant une stabilisation de la production agricole et des potentiels humains.

La première partie de ce travail expérimentale; porte sur la caractérisation morphologique et physico-chimique des deux composantes principales de la caroube : la pulpe et les graines à travers les échantillons recueillis au niveau de sept régions de provenance afin de différencier les collections locales.

La seconde partie de ce travail, se situe dans la perspective de la valorisation des graines de caroube. Elle consiste à l'étude de l'influence des conditions expérimentales sur le procédé d'extraction et de clarification de la CBG, en utilisant la méthodologie de la recherche expérimentale. Ceci par le biais de l'optimisation des trois facteurs qui influencent les performances de l'extraction, à savoir, la température, le temps et le rapport (eau/endosperme). Ensuite, une étude comparative du rendement et de la qualité en gomme de caroube clarifiée au niveau de sept régions de provenance est réalisée dans les conditions optimisées.

Nous avons effectué également une étude rhéologique de la GBG. En effet, la viscosité d'une solution aqueuse (CBG) à 1% a été étudiée à différents taux de cisaillement ($10-1000 \text{ s}^{-1}$), différentes températures ($10-60 \text{ }^{\circ}\text{C}$) et différents pH ($3.0-6.0$). Cette étude fournit des informations très importantes pour mieux comprendre le comportement rhéologique de la gomme pendant son utilisation industrielle.

La dernière partie de notre travail consiste à l'élaboration d'un sirop à base de la pulpe de caroube. Pour ce faire, nous avons identifié les facteurs influençant notre procédé en réalisant des études préliminaires. Ensuite, ces facteurs : température, temps et rapport (eau/pulpe) sont optimisés à l'aide d'un plan d'expérience de type Box Behnken (Box & Behnken, 1960).

Enfin, les conditions d'extraction optimisées sont utilisées pour réaliser une étude biochimique comparative sur le rendement de production du sirop dans les échantillons recueillis au niveau des sept régions étudiées.

Partie I : Etude Bibliographique

Chapitre I.1 : Généralités sur le caroubier (*Ceratonia siliqua* L.)

Le caroubier (*Ceratonia siliqua* L.), appartenant à la grande famille des légumineuses, est une essence presque endémique du pourtour méditerranéen, utilisé depuis longtemps pour ses produits dérivés mais aussi pour sa parfaite adaptation aux conditions édapho-climatiques locales.

I. 1.1.Taxonomie

Le nom scientifique du caroubier, *Ceratonia siliqua* L. dérive du grec Keras (=corne) et du latin siliqua désignant une silique ou gousse et faisant allusion à la dureté et à la forme du fruit, il est connu aussi sous le nom de pain de St. Jean-Baptiste (Battle et Tous, 1997). *Kharroub* en arabe, *algarrobo* en espagnol, *carroubo* en italien, *caroubier* en français etc. (Boudy, 1950), cette espèce appartient au genre *Ceratonia* de la sous- famille des *Caesalpinioïdæ*, de la famille des *Fabaceæ* (Légumineuses), qui fait partie de l'ordre des *Fabales* (Rosales), Classe des *Magnoliopsida* (Quezel et Santa, 1962).

Certains auteurs ont désigné *Ceratonia* comme étant l'un des genres les plus archaïques des légumineuses (Tucker, 1992) et qui serait complètement isolé des autres genres de sa famille (Zohary, 1973).

I.1.2.Biologie du caroubier

Le caroubier est un arbre ou arbuste sclérophylle sempervirent, qui peut atteindre 7 à 20 m de hauteur et une circonférence à la base du tronc de 2 à 3m. Il a une écorce lisse et grise lorsque la plante est jeune et brune, rugueuse à l'âge adulte. Son bois de couleur rougeâtre est très dur (Annexe 1). Le caroubier peut vivre jusqu'à 200 ans (Boudy, 1950; Rejeb *et al.*,1991; Ait Chitt *et al.*,2007).

Les feuilles du *Ceratonia*, de 10 à 20 cm de longueur, sont persistantes, coriaces, alternes et caractérisées par un pétiole sillonné. Elles sont composées de 4 à 10 folioles, avec ou sans foliole terminale. Les folioles ont de 3 à 7 cm de longueur, de forme ovale ou elliptique, opposées, de couleur vert luisant sur la face dorsale et vert pâle sur la face ventrale (Rejeb *et al.*,1991 ; Battle et Tous, 1997; Ait Chitt *et al.*,2007). Le caroubier perd ses feuilles tous les deux ans, au mois de juillet. Cet arbre développe un système racinaire pivotant, qui peut atteindre 18m de profondeur (Aafi, 1996 ; Gharnit, 2003).

Le caroubier est un arbre dioïque et parfois hermaphrodite, dont on distingue trois formes de fleurs (fleurs mâles, fleurs femelles et fleurs hermaphrodites) qui sont portées sur différents pieds. Initialement, les fleurs sont bisexuées, mais durant le développement de la fleur (ontogenèse florale), il y a suppression d'un sexe (Rejeb, 1995 ; Konaté *et al.*, 2007).

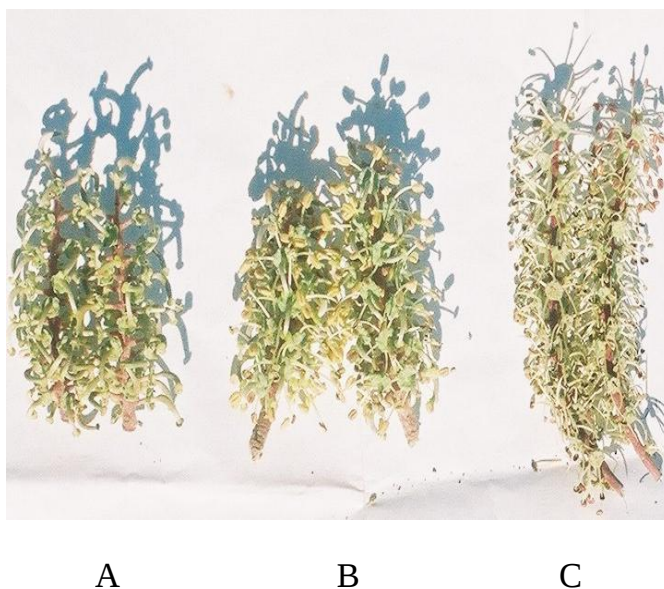


Figure 1 : Inflorescence du caroubier ((A) fleurs mâles; (B) fleurs male-femelles ; (C) fleurs femelles)
(Photo prise par A. Boulli, équipe EVAR)

Le fruit du caroubier, appelé caroube, est une gousse indéhiscente à bords irréguliers, de forme allongée, rectiligne ou courbée, de 10 à 20 cm de longueur, 1,5 à 3 cm de largeur et de 1 à 2,5 cm d'épaisseur. La gousse est composée de trois parties: l'épicarpe, le mésocarpe et les graines, elle est séparée à l'intérieur par des cloisons pulpeuses transversales et renferme de 4 à 16 graines (Rejeb, 1995 ; Ait Chitt *et al.*, 2007; Sedina *et al.*, 2009) (annexe 2).

Le développement du fruit est lent et nécessite généralement entre 9 à 10 mois pour arriver à maturité et donner un fruit brun foncé à noir entre juillet et septembre (figure 2a), la croissance du fruit passe par trois stades (Ilahi et Vardar, 1976 ; Rejeb *al.*, 1991; Batlle et Tous, 1997) (figure 2b).

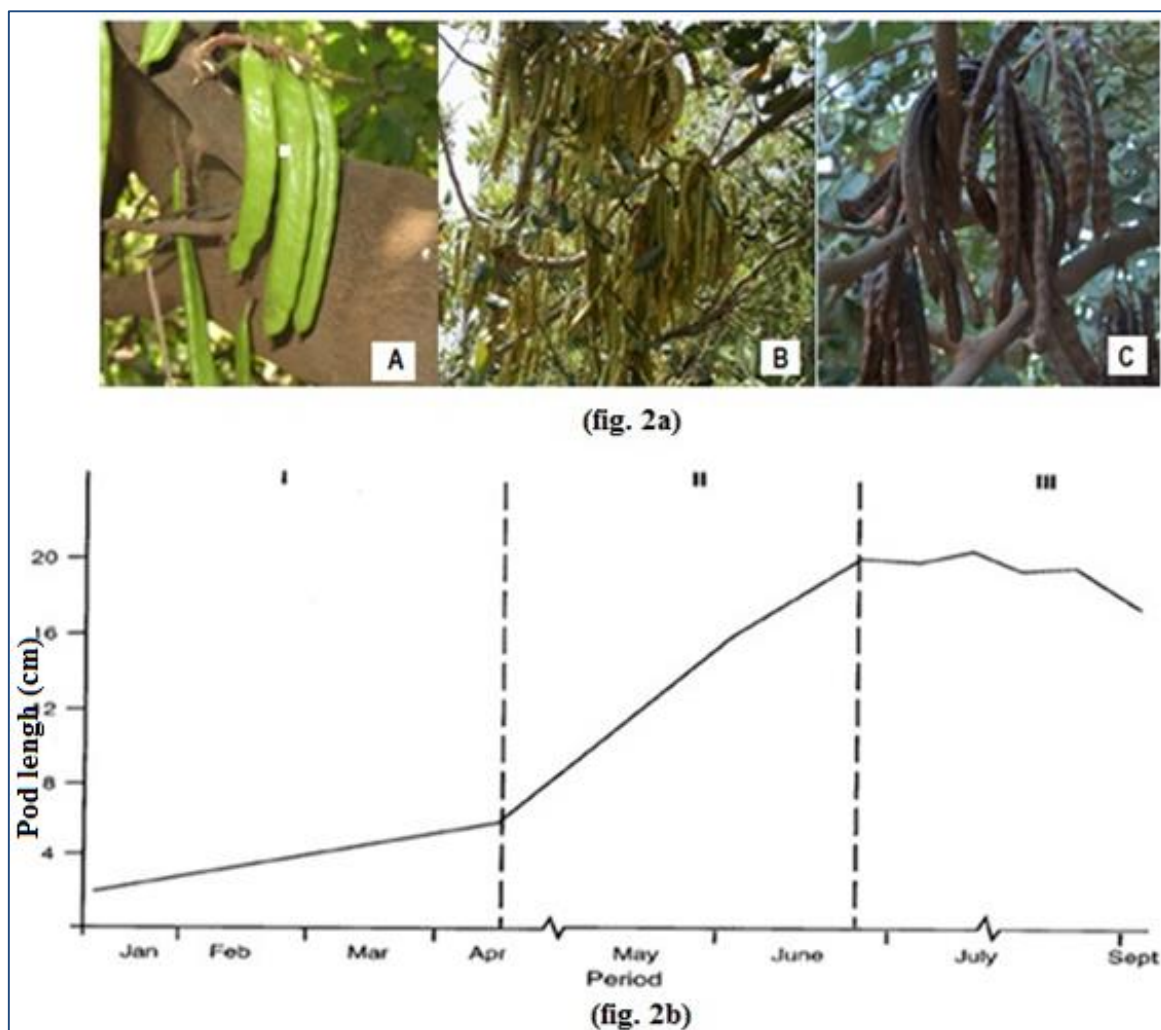


Figure 2 : Stade de développement du fruit. Figure 2a : fruits du caroubier (A) fruits verts non mûres, (B) fruits moitié-mûres, (C) fruits mûres. Figure 2b : Développement du fruit de caroubier en fonction de la saison (I) Croissance lente avec une légère augmentation du poids (janvier-avril), (II) Croissance rapide (avril-juin) (III) Croissance lente et maturation du fruit (juin-septembre). (Ilahi et Vardar, 1976).

I. 1.3. Répartition géographique

Originaire du Moyen-Orient, le caroubier est un arbre essentiellement méditerranéen d'importance écologique, industrielle et ornementale (Hariri *et al.*, 2009). On le rencontre à l'état naturel principalement en Espagne, Portugal, Maroc, Grèce, Italie, Turquie, Algérie, Tunisie, Égypte et Chypre. Il a été introduit avec réussite dans d'autres pays, notamment en Australie, en Afrique du Sud, aux Etats-Unis, aux Philippines, ainsi qu'en Iran (Reje *al.*, 1991; Sbay et Abourouh, 2006) (Figure 3).

Généralement, la distribution des espèces arborescentes, telle que *C. siliqua* est limitée par des stress liés aux froids (Mitrakos, 1981). Dans les zones basses méditerranéennes (0-500m, rarement 900m d'altitude), le caroubier constitue une essence dominante et caractéristique du maquis des arbres sclérophylles (Zohary et Orshan 1959; Folch et Guillen, 1981).

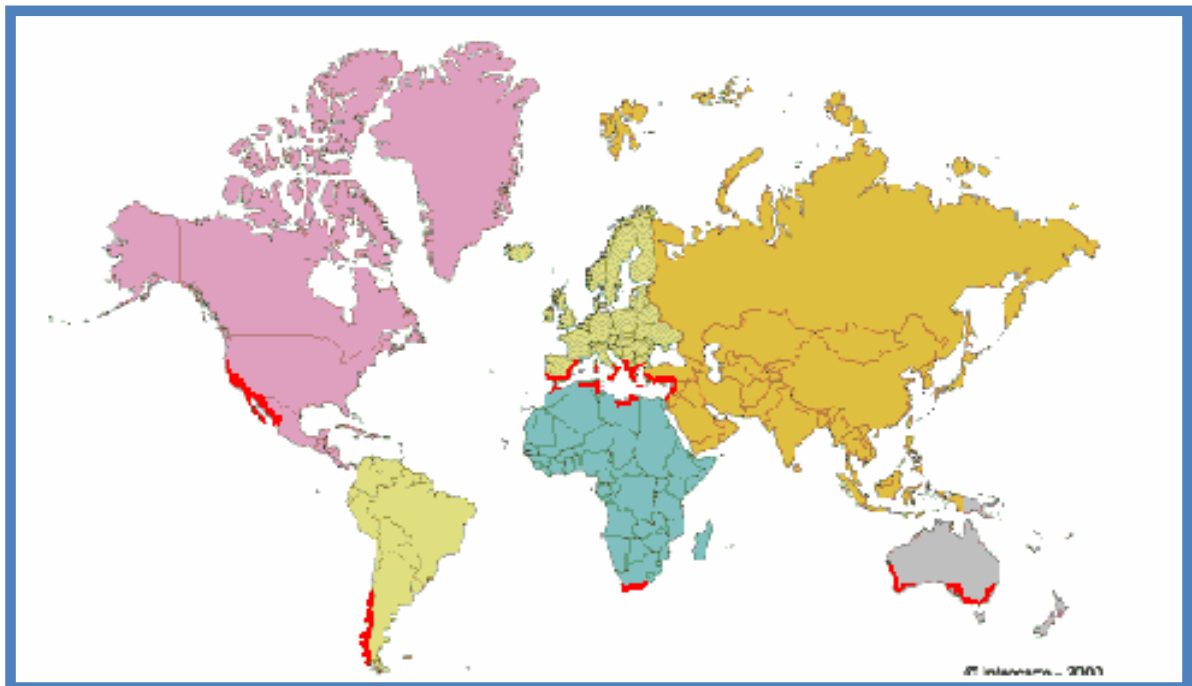


Figure 3. Centre d'origine et distribution du caroubier dans le monde (Batlle et Tous, 1997)

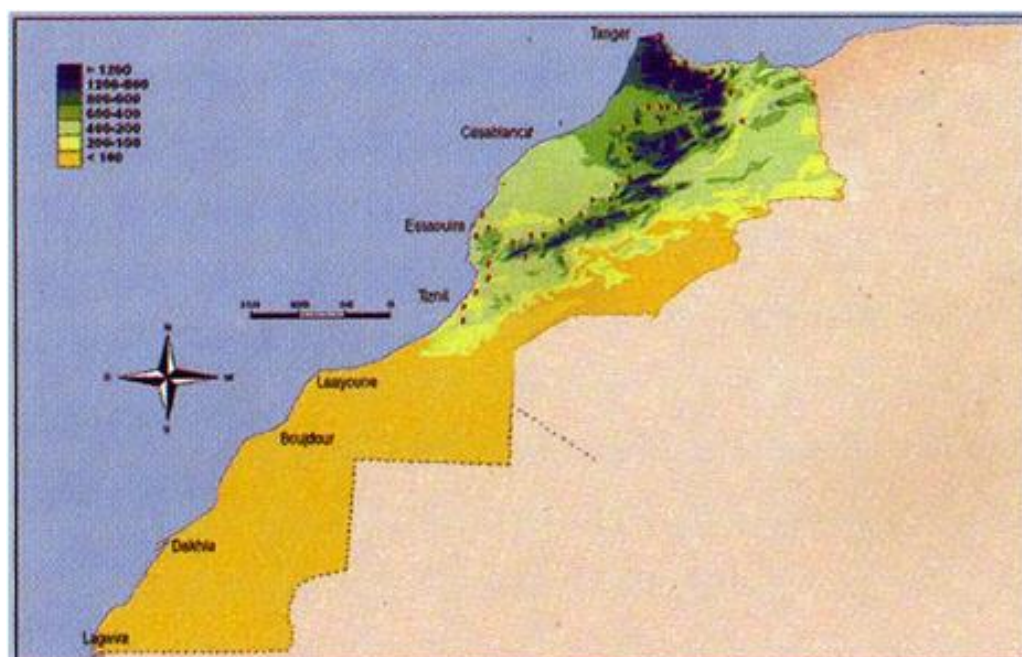


Figure 4 : Région du caroubier au Maroc (Sbay & Abrouch, 2006)

Au Maroc, le caroubier est localisé dans les plaines et les moyennes montagnes du Rif, du Moyen Atlas, du Haut Atlas et de l'Anti-Atlas et dans des bioclimats de type humide, subhumide, semi-aride et aride côtier à variantes chaude et tempérée. Il est souvent en association avec l'olivier, le lentisque, le thuya ou l'arganier. La principale population spontanée de caroubier est localisée dans les régions situées entre 600 et 1000 m d'altitude, en association avec d'autres espèces forestières pour l'abriter des vents et du froid (Aafi, 1996; Ait Chitt *et al.*, 2007; sedina *et al.*, 2009) (Figure 4).

I. 1.4. Importance économique

Le caroubier présente un intérêt de plus en plus vif en raison non seulement de sa rusticité, son indifférence vis-à-vis de la nature du sol, son système racinaire très développé, mais surtout de ses fruits qui font l'objet de transactions commerciales annuelles. Comparée aux céréales et à d'autres espèces fruitières, le caroubier est économiquement plus rentable (tableau 1).

Tableau 1 : Comparaison de la rentabilité économique de la culture du caroubier à l'hectare par rapport aux autres récoltes. (Office Régionale de Mise en Valeur Agricole de Tadla (2005)).

	Caroubier	Olivier	Amandier	Blé tendre	Orge
III.2. Dépenses :					
Location du terrain/ha	500	500	500	500	500
Travaux mécaniques	500	500	500	300	300
Main d'œuvre	700	600	400	200	200
Autres	1100	1100	1200	1050	950
Total des dépenses (dh/ha)	2800	2700	2600	2050	1950
III.2. Recettes :					
Densité de plantations	100	100	200		
Nombre d'arbres fructifères	87	100	200		
Rendement (Kg)	5000	1500	600	1000	1500
Foin (botte)				50	75
Prix de vente (dh/unité)	3	3	10	2.5	2 et 4
Total des recettes (dh)	15000	4500	6000	2625	3225
Bénéfice (dh)	12200	1800	3400	575	1275

Il existe au Maroc une vingtaine d'unités concasseurs, de transformation et de production de la gomme (Annexe 3) dont la capacité dépasse les 80 000 tonnes. Les unités de transformations ont recours à l'importation de certains dérivés de la caroube pour faire face

au déficit d'approvisionnement, l'Algérie est le principal fournisseur du Maroc. Tous ces produits sont par la suite, après transformation, exportés vers l'Espagne.

Les gousses entières, la pulpe, les graines et la gomme font l'objet d'un commerce important en direction de l'Europe.

En 2010, la valeur des importations était de 999 1000 US\$. Tandis les exportations pendant la même année s'élevaient à 17297 1000 US\$. La balance commerciale du secteur est de 16298 1000 US\$ en faveur des exportations (Figure 5).

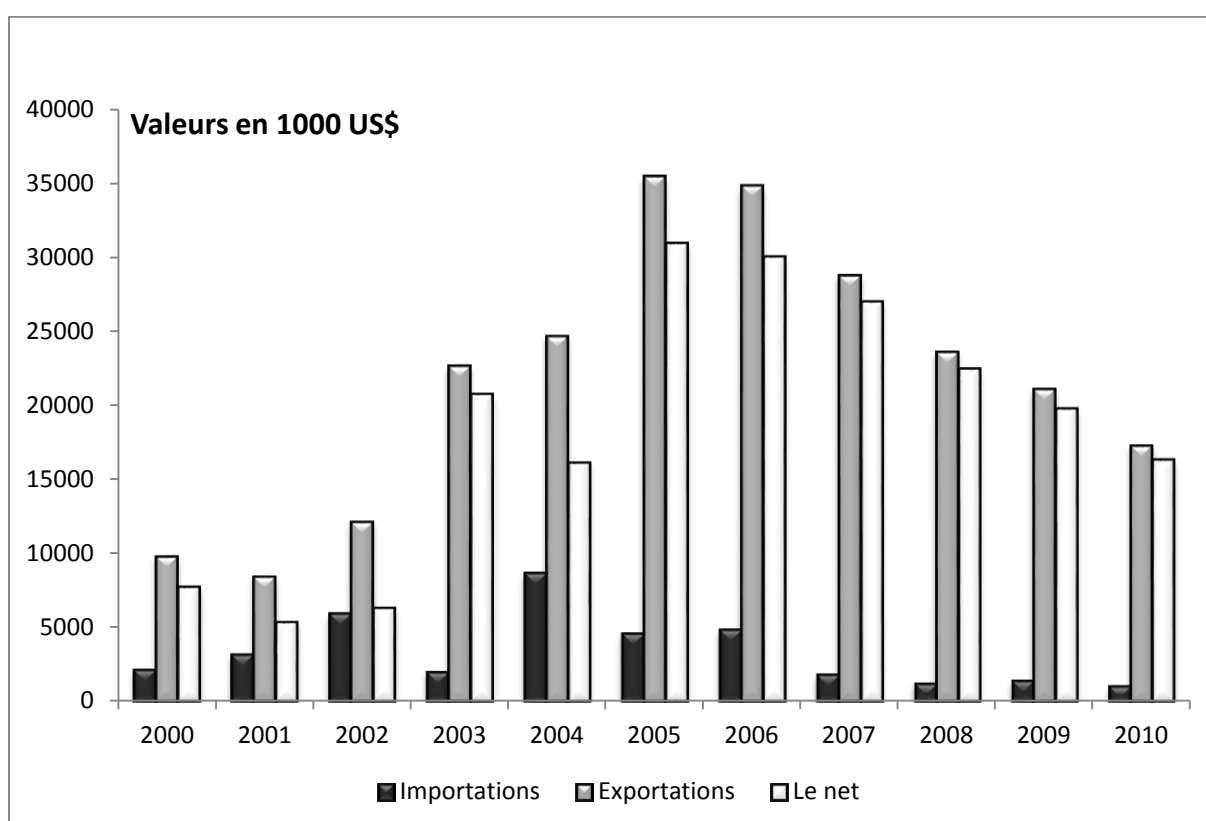


Figure 5 : Evolution des valeurs d'importations et exportations des produits de caroubier entre 2000 et 2010.

I. 1.5. Production du caroubier :

La production mondiale de caroube est estimée à 191 355,64 tonnes. Elle est essentiellement concentrée en Espagne, Italie, Maroc, Portugal, Grèce, Turquie, suivie de Chypre, Algérie, Liban, et en dernier la Tunisie (Tableau2).

Tableau2 , Evolution de la production mondiale de la caroube entre 1997 et 2008 (FAOSTAT 2010)

Pays	Production en tonnes (1997)	Production en tonnes (2004)	Production en tonnes (2006)	Production en tonnes (2008)
Espagne	300000	67000	70000	72000
Italie	19000	24000	26110	31224
Maroc	24000	26000	26000	25000
Portugal	15000	20000	20000	23000
Grèce	20000	19000	14815	15000
Turquie	14000	14000	12388	12100
Chypre	7000	7000	5650	3915
Algérie	4500	4600	3000	3600
Liban	3000	3200	2500	2800
Tunisie	1000	1000	1000	1000
Monde	408500	182680	186279	191167

Durant le siècle dernier, la production mondiale de caroube a connu une chute dramatique, elle est passée de 650.000t en 1945 (Orphanos et Papaconstantinou 1969) à 408.500t en1997. La grande perte a été enregistrée en Espagne où la production a chuté de 300.000tonne en1997 à 72.000tonne en2008 (MAPA, 1994).

Selon Batlle (1997), la régression accusée dans la production du caroubier a été principalement liée à la baisse des prix et aux programmes du développement des zones côtières au dépend des plantations de caroubier.

I. 1.6.Intérêts et utilisations du caroubier

Le caroubier est un arbre de grande importance écologique, socio-économique et industrielle. En terme de produits, l'arbre et toutes ses composantes (feuilles, fleurs, fruits, graines) sont utiles.

Basé sur sa faible exigence en culture, sa grande tolérance vis-à-vis des sols pauvres, sa rusticité et son adaptation aux contraintes de l'environnement, **le caroubier** est de plus en

plus recommandé pour le reboisement et la reforestation des zones affectées par l'érosion et la désertification (Batlle et Tous, 1997 ; Biner *et al.*, 2007). Il est également utilisé comme plante ornementale en bordure des routes et dans les jardins (Batlle et Tous, 1997).

Le fruit du caroubier ou la caroube, est une gousse indéhiscence de 10 à 30 cm de longueur sur quelques centimètres de largeur. Ses principaux composants sont la pulpe et les graines.

La pulpe de caroube est utilisée principalement en alimentation animale et humaine (Biner *et al.*, 2007). Elle est employée depuis longtemps, comme complément dans les aliments composés pour bétail (Ait Chitt *et al.*, 2007). Elle est utilisée dans l'industrie alimentaire humaine. Grâce à sa teneur élevée en sucres et en composés phénoliques comme substituant du cacao pour la fabrication de chocolat, car elle ne contient ni caféine ni théobromine (alcaloïdes). La farine de la pulpe entre dans la composition de plusieurs aliments comme, les biscuits, les farines lactées etc. Elle est également employée pour la production d'alcool (éthanol), de sirop et d'acide citrique (Rejebet *al.*, 1991 ; Yousif *et al.*, 2000 ; Makris et Kefalas, 2004 ; Dakia *et al.*, 2007).

En pharmacopée traditionnelle, la pulpe est utilisée contre la diarrhée et pour le traitement de certaines maladies comme la gastrite, l'entérite, les angines, les rhumes, le cancer etc. (Crosi *et al.*, 2002 ; Gharnit, 2003 ; Ait Chitt *et al.*, 2007).

Les graines de caroube ont longtemps été employées comme unité de mesure des diamants et des pierres précieuses (Annexe 4). Un carat correspond à la masse d'une graine de caroube soit environ 200 mg (Dakia *et al.*, 2003). Actuellement, elles jouent un rôle industriel et médical important, mais la gomme (endosperme) (Annexe 5) reste la plus importante, puisqu'elle est utilisée, comme agent stabilisateur, gélifiant, fixateur dans différents domaines comme l'agroalimentaire (fromage, mayonnaise, salades etc.), la cosmétique (crèmes, dentifrices etc.), l'industrie pharmaceutique (médicaments, sirops etc.), la tannerie, le textile etc. (Batlle et Tous, 1997 ; Biner *et al.*, 2007 ; Dakia *et al.*, 2007).

Les autres parties de l'arbre sont aussi exploitées, en effet, la fleur est utilisée par les apiculteurs pour la production du miel de caroube ou miel d'automne, alors que les feuilles sont utiles pour l'alimentation des animaux.

I. 1.7.Composition générale

La pulpe et les graines représentent respectivement 90% et 10% du poids total de la gousse du caroubier (Petit et Pinilla, 1995; Battle and Tous, 1997; Biner *et al.*,2007).

I. 1.7.1.Les principaux constituants de la pulpe

Selon plusieurs auteurs, la composition chimique de la pulpe dépend, en général, du cultivar, de l'origine et parfois de la période de récolte (Orphanos et Papaconstantinou, 1969; Vardar *et al.*,1972; Calixto et Cañellas, 1982; Albanell *et al.*,1991). En Turquie, une étude comparant les profils des sucres de pulpe de caroube appartenant à des variétés cultivées et sauvages, a montré que le saccharose est le sucre le plus abondant avec des petites quantités de glucose et fructose, et que les variétés cultivées ont une plus grande concentration de saccharose par rapport aux variétés sauvages (Biner *et al.*,2007). La pulpe de caroube est généralement constituée par: L'eau, les minéraux, les glucides, les protéines, les lipides et les composés phénoliques (Battles et Tous, 1997 ; Roukas, 1999 ; Sánchez *et al.*,2010).

La teneur en eau de la pulpe de caroube évolue en fonction du stade de maturation. L'humidité décroît des stades verts aux stades mûrs (Booij *et al.*,1992).D'une manière générale, la teneur moyenne en eau de la pulpe de caroube varie de 10% à 20% MF (Batlle et Tous, 1997 ; Yousif et Alghazawi, 2000). Une humidité de l'ordre de 11% MF correspond à une activité de l'eau (aw) de l'ordre de 0,45 ; ce qui explique la préservation des gousses de caroube contre les altérations microbiologiques et leur conservation pour une longue période (Yousif et Alghazawi, 2000 ; Hadrich, 2011).

La pulpe de caroube est riche en **éléments minéraux** et constitue de ce fait un aliment intéressant. Les teneurs en minéraux sont comprises entre 1 et 3% (Batlle et Tous, 1997 ; Sánchez *et al.*,2010).La fraction minérale est dominée par le potassium (0.60 – 0.97 g/100 g de pulpe). Elle est composée également du calcium (0.09 – 0.35 g/100 g de pulpe), du sodium (0.04 – 0.08 g/100 g de pulpe), du fer (0.03 – 0.29 g/100 g de pulpe), du phosphore (0.02-0.07 g/100 g de pulpe), et des traces d'autres minéraux tels que le cuivre (0.23 g/100 g de pulpe), le manganèse (0.4 - 0.56 g/100 g de pulpe) et le zinc (0.6 – 0.7 23 g/100 g de pulpe) (Petit et Penilla, 1995 ; Batlle et Tous, 1997 ; Ayaz *et al.*,2007).

La pulpe de caroube est riche en **sucres solubles** (40-60%) représentés essentiellement par le saccharose (30-75%), le glucose (5-40%) et le fructose (4-20%) (Avallone *et al.*,1997 ; Biner *et al.*,2007 ; Turhan *et al.*,2010). Grace à cette teneur élevée en sucres, la caroube peut être considérée comme un édulcorant naturel non calorifique (Yousif alghazawi, 2000).

La pulpe de caroube représente aussi une source de **fibres alimentaires** (Marakis, 1996), leur teneur se situe entre 6 et 11.5% (Petit et Penilla, 1995 ; Yousif alghazawi, 2000 ; Sánchez *et al.*,2010). Les fibres alimentaires de caroube sont composées de pectines (1-2%) et de cellulose et hémicellulose (12-18%) (Battle et Tous, 1997 ; Roukas, 1999). Ainsi, les fibres alimentaires jouent un rôle important dans la prévention contre certaines maladies telles que la constipation, le diabète, l'obésité et les maladies cardiovasculaires (Ramulu et Rao, 2003).

La pulpe de caroube contient une teneur appréciable en **protéines** qui se situe entre 3 et 6% (Avallone *et al.*,1997 ; Yousif alghazawi, 2000 ; Sánchez *et al.*,2010). Selon Battle et Tous (1997), la composition de ces protéines montre une richesse en certains acides aminés notamment alanine, glycine, leucine, proline, valine, tyrosine et phénylalanine; L'acide aspartique, est l'acide aminé prédominant de la fraction protéique de la pulpe de caroube (18.25 mg/g de masse protéique sèche) (Ayaz *et al.*,2007).

La pulpe de caroube se caractérise par une faible teneur en **lipides** (0.2-1%) (Battle et Tous, 1997 ; Roukas, 1999 ; Biner *et al.*,2007). Ces lipides sont composés des proportions égales des acides gras saturés et des acides gras insaturés (Battle et Tous, 1997). Grâce à cette faible teneur en lipides, la caroube peut être considérée comme un aliment naturel diététique (Yousif et Alghazawi, 2000).

Les polyphénols se trouvent dans la fraction fibreuse de la pulpe sous forme de granules bruns, clairs, de taille entre 100 et 500 μm (Würsch *et al.*,1984). Peu d'études ont été consacrées à l'analyse des polyphénols de caroube, les teneurs et la composition en polyphénols diffèrent d'un auteur à autre. Les fluctuations obtenues doivent être dues à différents facteurs comme variété de la caroube, le pays producteur, la partie analysée (pulpe ou graine), les méthodes utilisées pour l'extraction des polyphénols ou leur détermination (Marakis, 1996).

Selon Saura-Claixto (1988), la teneur en polyphénols de la pulpe de caroube est de l'ordre de 19,2 % (17,9 % de tanins condensés et 1,3% de tanins hydrosolubles).Avallone et al. (1997) rapporte aussi des teneurs importantes en polyphénols. En effet, la pulpe de caroube contient, en moyenne, 19 mg de polyphénols totaux/g de matière sèche, 2,75 mg/g de tanins condensés (proanthocyanidines) et 0,95 mg/g de tanins hydrosolubles représentés par les ellagitannins (0,51 mg/g) et les gallotannins (0,44 mg/g). L'étude réalisée par Ayaz et al. (2007) montre ainsi une composition en polyphénols comparable à celle rapportée par Avallone et al. (1997). La fraction phénolique de la pulpe de caroube est composée des polyphénols totaux (13,51 mg d'équivalents d'acide gallique/g de matière sèche), des proanthocyanidines (0,36 mg d'équivalents d'acide gallique/g de matière sèche), des gallotannins (0,41 mg d'équivalents d'acide gallique/g de matière sèche) et des flavanols (3,21 mg d'équivalents d'acide gallique/g de matière sèche).

Une étude menée par Owen et al. (2003) pour l'élucidation de la structure des polyphénols présents dans la fibre de caroube conduit à l'identification et à l'isolement de 24 composés différents (Figure 6). Ces composés se groupent en acides phénoliques (acide cinnamique, acide coumarique, acide férulique, acide syringique, acide gallique, méthyl gallate), flavones (apigénine, chrysoeriol, tricétine 3',5'-diméthyl éther, lutéoline), flavonols (quercétine, isorhamnétine, myricétine, kaempferol), glycosides de flavonol (kaempferol-3-O- α -L-rhamnoside, quercétine-3-O- α -L-rhamnoside, quercétine arabinoside, myricétine-3-O- α -L-rhamnoside, glycoside de myricétine), flavanones (naringénine), isoflavone (génistéine), gallotannins (1,6-di-O-galloyl- β -D-glucose, 1,2,6-tri-O-galloyl- β -D-glucose, 1,2,3,6-tétra Ogalloyl- β -D-glucose).

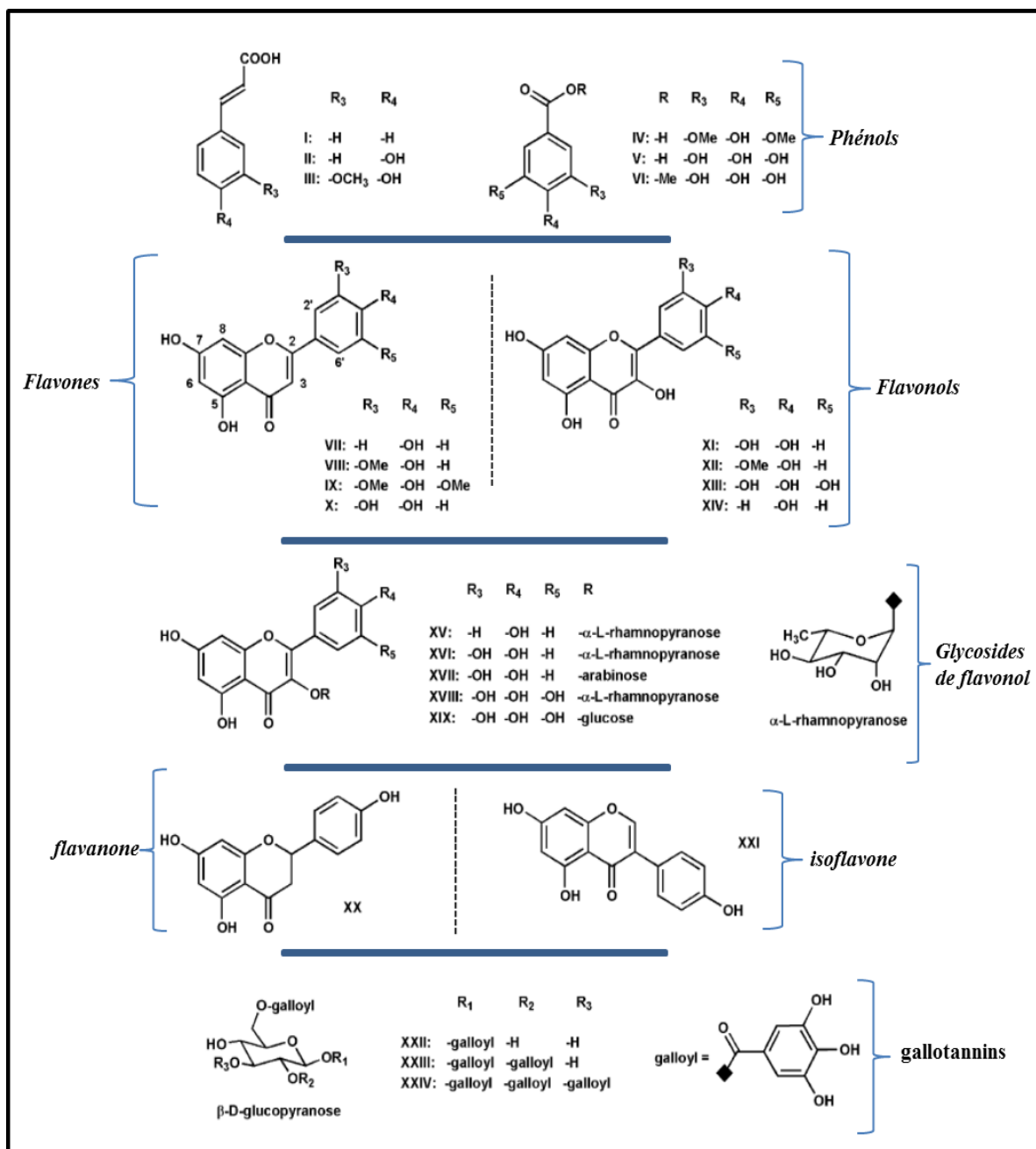


Figure 6. Structure des composés isolés et purifiés de la fibre de caroube (Owen et al., 2003). **Phénols:** I = acide cinnamique, II = acide p-coumarique, III = acide férulique, IV = acide syringique, V = acide gallique, VI = méthyl galate. **Flavones:** VII = apigénine, VII = chrysoeriol (lutéoline 3'-méthyl éther), IX = tricétine 3',5'-diméthyl éther, X = lutéoline. **Flavonols:** XI = quercétine, XII = isorhamnétine (quercétine 3'-méthyl éther), XIII = myricétine, XIV = kaempférol. **Glycosides de flavonol:** XV = kaempférol-3-O-α-L-rhamnoside, XVI = quercétine-3-O-α-L-rhamnoside, XVII = quercétine arabinoside, XVIII = myricétine-3-O-α-L-rhamnoside, XIX = myricétine glucoside (configurations pour arabinoside XVII et glucoside XIX non confirmées); **flavanone:** XX = naringénine; **isoflavone:** XXI = genistéine. **Gallotannins:** XXII = 1,6-di-O-galloyl-β-D-glucose, XXIII = 1,2,6-tri-O-galloyl-β-D-glucose, XXIV = 1,2,3,6-tétra-O-galloyl-β-D-glucose.

I. 1.7.2. Les principaux constituants de la graine

Chaque graine de caroube est composée de trois parties: enveloppe (30-33 %), endosperme (42-46 %) et germe (23-25 %) (Battle et Tous, 1997 ; Dakia *et al.*, 2007) (figure 7).

La composition de la graine varie d'une partie à une autre (Avallone *et al.*, 1997), mais elle est généralement présentée par l'eau, les minéraux, les glucides, les protéines, les lipides et les polyphénols (Avallone *et al.*, 1997 ; Dakia *et al.*, 2007 ; Bengoechea *et al.*, 2008).

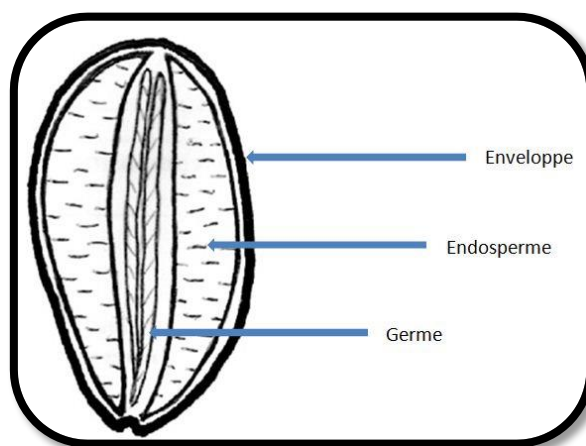


Figure 7. Coupe transversale d'une graine de caroube (Dakia et al., 2008).

L'**humidité** de la graine entière est de l'ordre de 9 % à la MF (Avallone *et al.*, 1997), elle est de 4 à 8,3 % au niveau du germe (Avallone *et al.*, 1997 ; Dakia *et al.*, 2007 ; Bengoechea *et al.*, 2008) et elle varie de 5,9 à 11 % au niveau de l'endosperme (Dakia *et al.*, 2007 ; Kök *et al.*, 2007).

La teneur en **minéraux** ne dépasse pas 1 % dans la graine de caroube (Avallone *et al.*, 1997), mais elle est plus élevée au niveau du germe (6%) (Avallone *et al.*, 1997 ; Dakia *et al.*, 2007 ; Bengoechea *et al.*, 2008) et au niveau de l'endosperme (4 %) (Bouzouita *et al.*, 2007).

Selon Avallone et al. (2007), la graine entière est pauvre en **sucres** solubles (0,6%) composés du saccharose (0,4 %) du glucose (0,1 %) et du fructose (0,1 %). Au niveau du germe, la teneur en sucres solubles est plus élevée (3-5 %) (Avallone *et al.*, 1997 ; Bengoechea *et al.*, 2008).

Ces sucres sont représentés par 4,5 % saccharose 0,2 % glucose et 0,3 % fructose (Avallone *et al.*, 1997). Ainsi, les fibres alimentaires sont présentes dans le germe avec une teneur importante (24,3 %) (Bengoechea *et al.*, 2008).

L'endosperme contient des molécules de **galactomannane** (c'est un polysaccharide composé de quatre unités de mannose liées à une unité de galactose) (Battle et Tous, 19997 ; Bouzouita *et al.*,2007 ; Dakia *et al.*,2007) (voir paragraphe II).

La graine entière de caroube contient des traces de **protéines** (1 %) (Avallone *et al.*,1997), alors que la germe est riche en protéines (48-67 %) (Battle et Tous, 19997 ; Dakia *et al.*,2007 ; Bengoechea *et al.*,2008). Les protéines du germe sont composées des acides aminés essentiels ainsi que l'acide glutamique, l'acide aspartique et l'arginine (Dakia *et al.*,2007 ; Bengoechea *et al.*,2008). L'endosperme renferme aussi des protéines mais avec une teneur inférieure (2-5 %) (Bouzouita *et al.*,2007).

L'étude réalisée par Avallone et al. (2007) montre que le germe est plus riche en **lipides** que la graine entière de caroube (2,8 % contre 1,1 %). D'autres études confirment encore ce résultat : en effet Bengoechea et al. (2008) constate une teneur en lipides dans le germe comparable à celle d'Avallone et al. (2007) (2,27 %), alors que Dakia et al. (2007) rapporte une teneur plus élevée (6,6 % de lipides contenant ~ 21 % des lipides polaires) ainsi que la composition lipidique du germe : acide oléique (34,4 %), acide linoléique (44,5 %), acide palmitique (16,2 %) et acide stéarique (3,4 %).

Avallone et al. (2007) a bien étudié la composition **phénolique** de la graine de caroube ainsi que son germe. Cette étude montre que le germe est plus riche en composés phénoliques totaux (40,8mg/g contre 0,66 mg/g) constitués des tanins condensés (proanthocyanidines) (16,2 mg/g contre 0,19 mg/g) et des tanins hydrosolubles (ellagitannins et les gallotannins) (2,98 mg/g contre 0,04 mg/g).

L'enveloppe de la graine de caroube contient aussi des polyphénols qui jouent le rôle des antioxydants naturels (Battle et Tous, 1997 ; Barracosa *et al.*,2007).

- **Conclusion 1**

Le caroubier est une espèce qui appartient au genre *Ceratonia* de la sous- famille des *Caesalpinioideae*, de la famille des *Fabaceae* (Légumineuses), qui fait partie de l'ordre des *Fabales* (Rosales), Classe des *Magnoliopsida*. Géographiquement on le rencontre à l'état naturel principalement dans le bassin méditerranéen. L'Espagne, le Maroc et le Portugal possèdent les surfaces productives les plus productives.

Au Maroc, le caroubier présente de nombreuses potentialités : **écologiques** dans la mesure où il forme de nombreuses formations forestières, notamment dans les zones semi-arides, **socio-économiques** par le biais des emplois que son exploitation crée dans les zones rurales et **industrielles** en raison de la valeur ajoutée de sa commercialisation au niveau national et international.

La pulpe est riche en sucre, fibres alimentaires, éléments minéraux et protéines. **La graine** est constituée de **l'enveloppe** riche en cellulose, fibres et composé phénoliques, de **germe** riche en protéine et de **l'endosperme** qui contient la gomme de caroube riche en galactomannane. Cette richesse nutritionnelle permet de classer les fruits du caroubier parmi les aliments nutraceutiques par excellence méritant ainsi des recherches poussées pour son exploitation alimentaire.

Chapitre I.2 : La gomme de caroube

- Introduction

La gomme de caroube est composée principalement de galactomannanes. Il s'agit de polysaccharides de réserve que l'on retrouve dans l'endosperme translucide de nombreuses graines de plantes légumineuses dont celles de caroube (Daas *et al.*,2000). Différents procédés industriels permettent l'obtention de gomme de caroube à partir de graines de caroube (Lopez Da Silva *et al.*,1990).

En anglais, la gomme de caroube est traduite « carob bean gum » ou plus couramment « locust bean gum » (LBG). En tant qu'additif, la gomme de caroube est appelée E410. Elle est commercialisée sous forme de poudre blanchâtre (Dakia *et al.*,2003). On retrouve des applications de la gomme de caroube dans le secteur alimentaire en tant qu'additif et dans les domaines non-alimentaires (Dakia *et al.*,2007).

En ce qui concerne les industries agroalimentaires, la gomme de caroube est utilisée dans plusieurs produits commerciaux comme agent stabilisateur, épaississant, agglomérant et gélifiant (Batlle & tous, 1997). En plus, elle est utilisée pour la fabrication d'un grand nombre de denrées alimentaires : crème glacée, soupe, sauce, biscuit, tourte, confiserie, produits de boulangerie et nourriture des animaux (Biner *et al.*,2007; Kawamura, 2008). Dans les produits de boulangerie, l'ajout de gomme de caroube prévient ou retarde la rétrogradation des amidons et des amidons modifiés (Wielinga, 1990). La gomme de caroube est également utile chez le patient diabétique non insulino-dépendant puisqu'elle induit une diminution de la réponse glycémique suite à l'ingestion d'aliments riches en hydrates de carbone (Feldman *et al.*,1995).

La gomme de caroube est plus particulièrement intéressante car, de par sa nature, elle est compatible avec d'autres composés notamment des hydrocolloïdes, et donc peut être utilisée en association avec ceux-ci pour produire des effets synergiques en terme de texture. Par exemple, en association avec la gomme xanthane ou les carraghénanes, des gels de différentes forces et de consistance plus ou moins élastique peuvent être obtenus.

Dans cette section, les méthodes d'extraction et de purification ainsi que la structure, la composition et les propriétés de la gomme de caroube seront abordées.

I.2.1.Extraction et purification de la gomme de caroube

Kawamura (2008) expose un procédé général d'extraction et de purification de la gomme de caroube à partir des gousses et plus spécifiquement des graines de caroube (figure 8). La mise en œuvre d'un tel protocole est difficile en raison de la solidité et de la dureté de l'enveloppe brune recouvrant les graines.

Premièrement, les gousses de caroube sont concassées et les graines récupérées. Deuxièmement, les téguments des graines sont enlevés. Pour ce fait, deux procédés distincts peuvent être utilisés :

- Le premier consiste à carboniser les enveloppes coriaces à l'aide d'un traitement à l'acide sulfurique. Un lavage et un brossage permettent l'élimination des fragments restants. Ce processus permet l'obtention d'une gomme de caroube blanche et de haute viscosité.
- Le second procédé repose sur l'éclatement plus ou moins complet de l'enveloppe par rôissage. Celle-ci se détache du reste de la graine. La gomme de caroube obtenue est un peu plus foncée (Dakia *et al.*, 2008 ; Kawamura, 2008).

Ensuite, les radicules sont écrasées par broyage mécanique et enlevées principalement par tamisage. Il ne reste alors plus que les endospermes qui sont broyés en fines particules et ainsi, la gomme de caroube est obtenue.

Par ailleurs, la gomme de caroube peut subir différentes étapes de clarification. Dans ce cas, elle est solubilisée dans l'eau par augmentation de la température. Le matériel insoluble est ensuite éliminé à l'aide d'une étape de filtration. Ensuite, la gomme de caroube est précipitée à l'aide d'éthanol ou d'isopropanol. Le précipité est récupéré par filtration, séché et broyé en fines particules. La gomme de caroube obtenue est dite clarifiée (extraite et purifiée) (Kawamura, 2008).

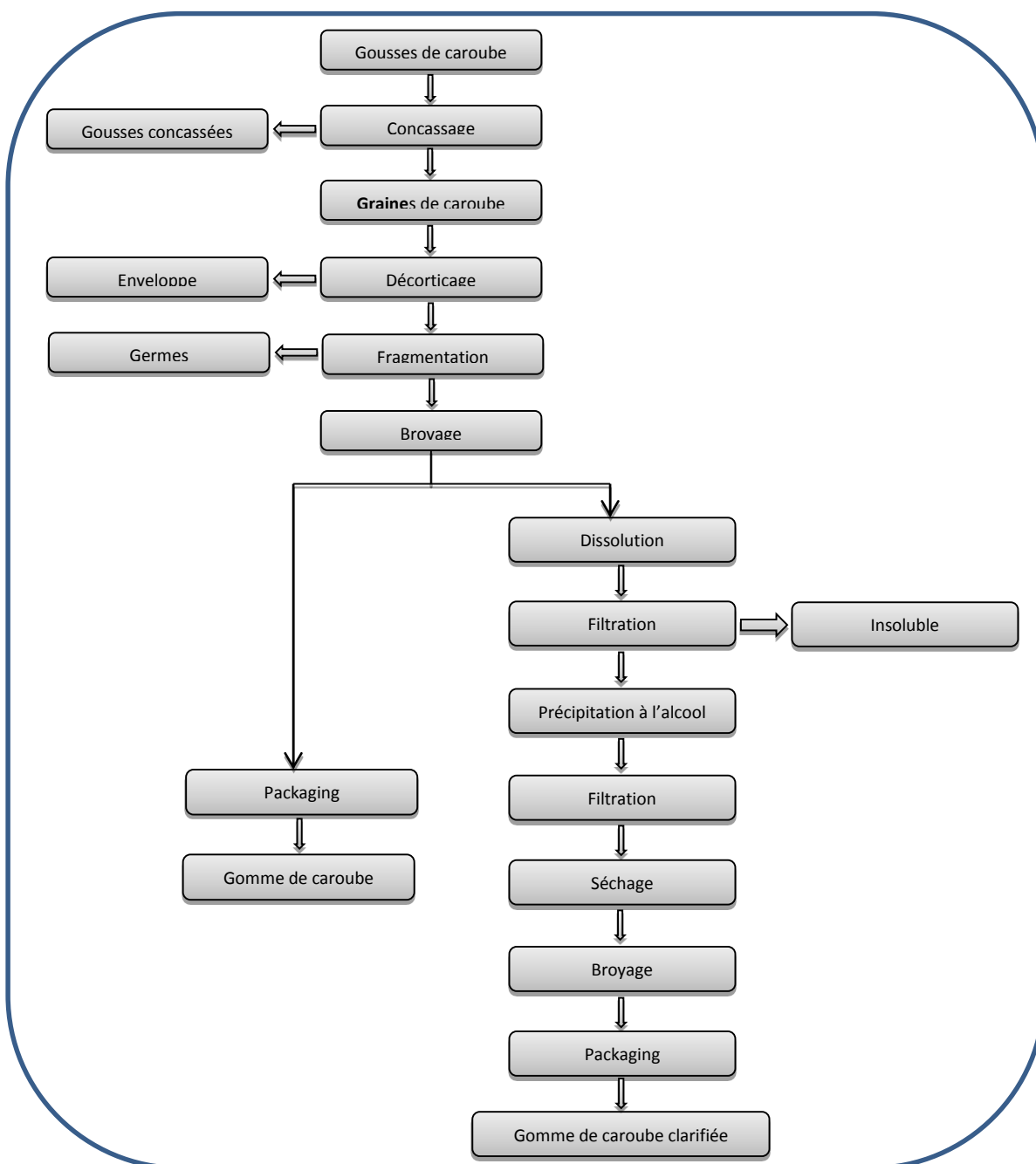


Figure 8 : Schéma du process d'extraction et de purification de la gomme de caroube (Kawamura, 2008).

D'autres techniques d'extraction et de purification de la gomme de caroube existent dans la littérature. Ainsi, Lopez Da Silva *et al.* (1990) citent la purification au méthanol ou à l'aide de complexes de cuivre ou de baryum.

L'état de purification a une grande influence sur la composition et les propriétés de la gomme de caroube.

I.2.2.Composition et structure de la gomme de caroube

La gomme qui provient de l'endosperme de la graine n'est autre qu'un galactomannane représentant une molécule d'un polysaccharide composé de manose et de galactose dans une proportion de 4/1, ses propriétés sont globalement semblables aux propriétés des galactomannanes qui la constituent. Il s'agit de l'exemple le plus connu d'un polysaccharide co-gélifiant qui interagit par association avec des polysaccharides hélicoïdaux comme l'agar-agar. Ainsi, dans cette section, les deux dénominations seront considérées comme synonymes.

I.2.2.1.Composition chimique de la gomme de caroube

La composition chimique de la gomme de caroube a été évaluée par Lopez Da Silva *et al.* (1990), qui a démontré que la gomme de caroube brute contient environ 93% de galactomannanes, par contre elle contient une teneur de 4% de protéines, 1% de cellulose et de lignine, 1% de lipides et 1% de minéraux. La purification par précipitation à l'isopropanol permet d'éliminer les fibres (cellulose et lignine) et les lipides et de diminuer considérablement les quantités de minéraux et de protéines.

Lopez Da Silva *et al.* (1990) et Andrade *et al.* (1999) ont déterminé la composition chimique d'une gomme de caroube commerciale brute et purifiée par précipitation à l'isopropanol. Leurs résultats sont présentés dans le tableau 3. Ils sont exprimés en pourcentage de poids sec, mis à part l'humidité exprimée en poids humide.

Tableau 3. Composition chimique (en %) de la gomme de caroube brute et purifiée (Lopez Da Silva *et al.*,1990 ; Andrade *et al.*,1999).

	Lopez Da Silva <i>et al.</i> ,1990		Andrade <i>et al.</i> ,1999	
	LBG brute	LBG purifiée	LBG brute	LBG purifiée
Humidité (%MF)	8.49±0.03	12.70±0.03	11.33	7.5
Cendre (%MS)	0.71±0.01	0.25±0.01	0.95	0.28
Protéine (%MS)	4.66±0.33	0.78±0.01	4.64	0.64
Lipides (%MS)	0.92±0.08	traces	n.d	n.d
Celluloseet lignine (%MS)	1.55±0.08	0.19±0.04	n.d	n.d
Galactomannanes (%MS)	92.20	98.80	94.40	99.10

I.2.2.2. Les Galactomannanes

Du point de vue chimique, les galactomannanes sont des polysaccharides de masse moléculaire élevée située entre 30000 et 300000 g/mol (McCleary *et al.*,1976 ; Moreira *et al.*,2008). Ils présentent une structure primaire similaire consistant en une chaîne principale d'unités de β -D-mannose liées en (1 $\rightarrow$ 4) avec des ramifications d'unité α -D-galactose liée en (1 $\rightarrow$ 6) à la chaîne principale de mannane (Sabater de Sabates, 1979 ; Mallett *et al.*,1987 ; McCleary *et al.*,1988 ; Richardson *et al.*,1998 ; Dakia *et al.*,2010). La structure du galactomannane de la gomme de caroube est illustrée à la figure 9.

Suivant l'origine botanique de la gomme, il existe différents galactomannanes se distinguant par le poids moléculaire, le ratio mannose/galactose et la distribution des résidus Dgalactopyranoses sur le squelette mannane (McCleary, 1980 ; Moreira *et al.*,2008 ; Vendruscolo *et al.*,2009).

Tout d'abord, le ratio mannose/galactose peut varier de 10 à 1 en fonction de l'espèce végétale (Daas *et al.*,2000). La gomme de caroube possède un des plus faibles taux de galactose (Dakia *et al.*,2008). En effet, le ratio mannose/galactose de la gomme de caroube (LBG) est approximativement égal à 4:1, tandis que celui de la gomme de tara (TG) est d'environ 3:1, celui de la gomme de guar (GG) est d'environ 2:1 et celui de la gomme de fenugrec (FG) d'environ 1:1. (Parvathy *etal.*, 2005). Le tableau 4 présente les rapports mannose/galactose de différentes légumineuses figure 9.

Des auteurs, partant du même type de plante ou de la même source de galactomannanes (GM), ont montré que les caractéristiques moléculaires des GM, telles que le rapport M/G et la masse molaire (Mw), peuvent varier en fonction de la variété et des conditions de culture (climat, sol) (Bargallo *et al.*,1997 ; Lazaridou *et al.*,2000 ; Rizzo *et al.*,2004), ainsi que de la méthode d'extraction ou de préparation du polymère (da Silva *et al.*,1990 ; Sittikijyothin *et al.*,2005 ; Dakia *et al.*,2008).

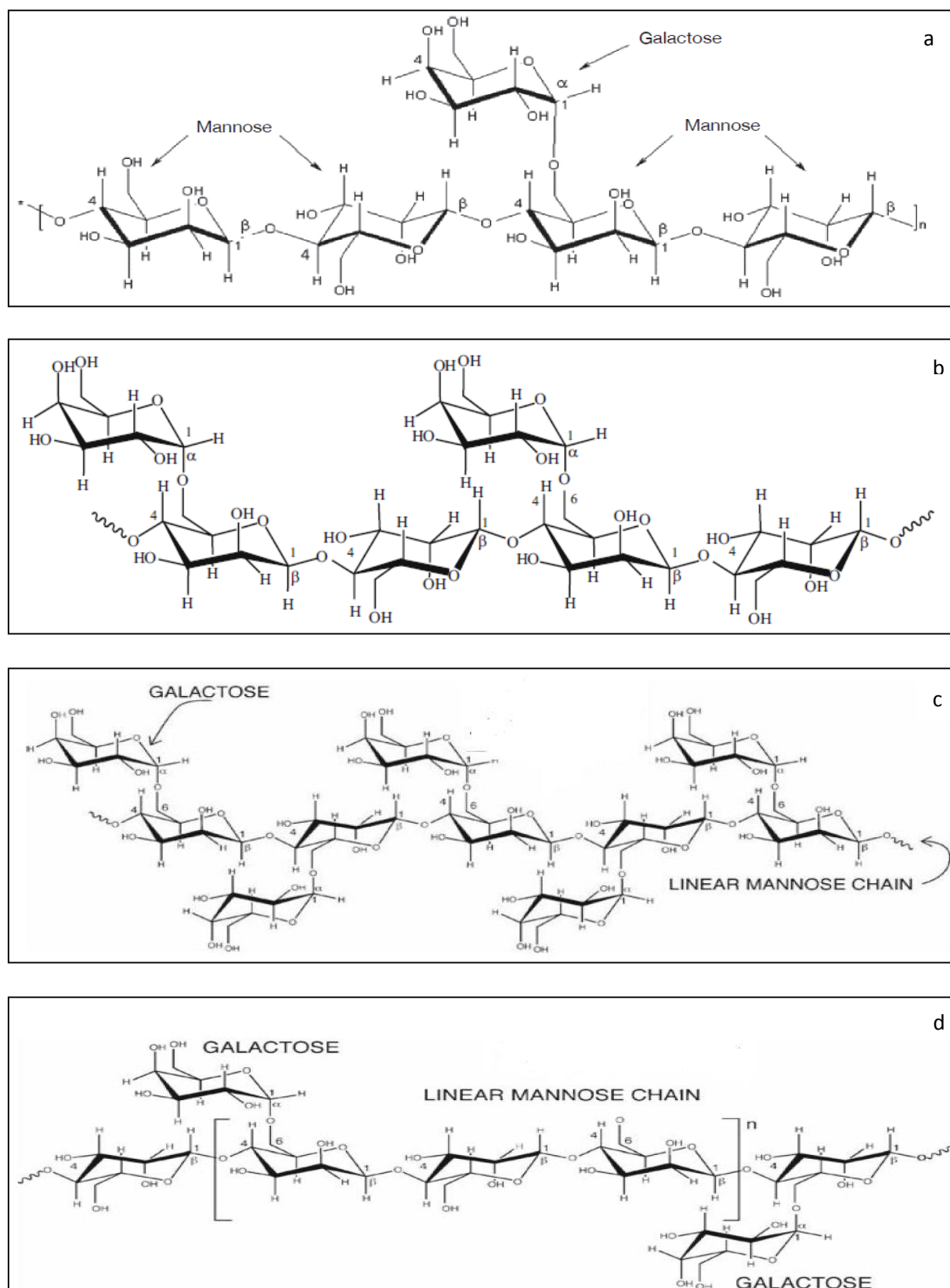


Figure 9. Structure moléculaire des galactomannanes suivant le type de plante (rapport M/G : 1:1, 2:1, 3:1 et 4:1 pour les gommes de caroube (a), de guar (b), de tara(c) et de fenugrec (d), respectivement) (Sittikijyothin et al.,2005).

Tableau 4. Ratios Mannose/ Galactose des principales légumineuses

Source	Ratio Man/Gal	Référence
<i>Ceratonia siliqua</i> (Caroube, LBG)	3.50 4.00	Dakia et al.,2008 Rizzo et al.,2004
<i>Caesalpinia spinosa</i> (Tara, TG)	2.95 3.00	Sittikijyothin et al.,2005 Parvathy et al.,2005
<i>Cyamopsis tetragonolobus</i> (Guar, GG)u	2.00	Parvathy et al.,2005
<i>Trigonella foenum graecum</i> (Fenugrec, FG)	1.00 1.00	Garti et al.,1997 Funami et al.,2007

I.2.2.3.Répartition des unités de galactose sur la chaîne de mannane

Il existe plusieurs types de galactomannanes de structure générale similaire, mais différents dans le nombre de galactose exprimé par le rapport mannose sur galactose (M/G). De plus, certains auteurs ont montré que la distribution des unités galactose sur la chaîne de mannose n'obéissait pas à une simple répartition statistique. L'utilisation d'enzyme (telle que la β -mannanase issue d'*Aspergillus niger* ou de graines de guar en germination) permet de dégrader le polymère de galactomannane. L'enzyme coupe les liaisons β -1,4 de la chaîne de mannane aux endroits dépourvus de galactose. L'analyse de la composition en monosaccharides sur les produits de dégradation (oligosaccharides) a permis de proposer trois types de distribution des unités galactose (Figure 10) :

- une disposition ordonnée ou régulière,
- une disposition aléatoire,
- une disposition en blocs uniformes (où les « zones lisses » totalement dépourvues de ramification de galactoses alternent avec les « zones hérissées » où les résidus galactose sont présents sur toutes les unités mannose) (Dea et al.,1975 ; Aspinall, 1983 ; Mc Cleary et al.,1984 ; 1985 & 1988).

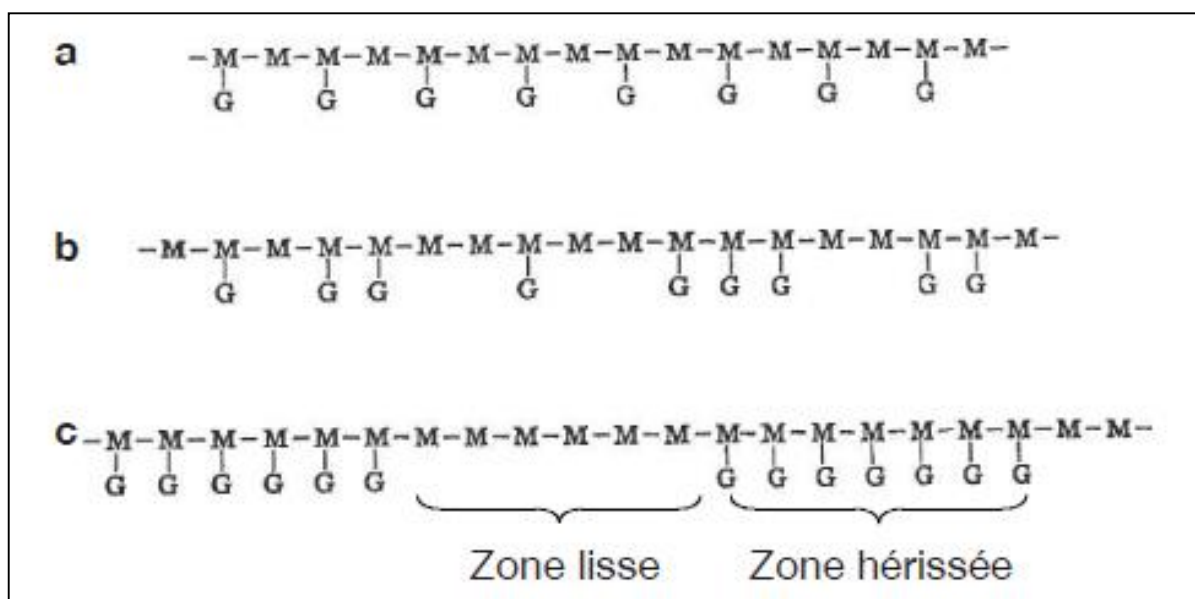


Figure 10 : Différents types de distribution des résidus de galactose le long de la chaîne de mannane : disposition régulière (a), disposition aléatoire (b), disposition en blocs uniformes (c) pour chaque Ratio (manose/galactos).

I.2.2.4. Propriétés de solubilité et de viscosité de la gomme de caroube

La gomme de caroube, la gomme de guar et la gomme de tara constituent les trois principaux galactomannanes utilisés à l'échelle industrielle et notamment dans le domaine de l'agroalimentaire (Daas *et al.*, 2000). Les propriétés rhéologiques des galactomannanes sont influencées par leurs masses moléculaires et par leurs structures, caractérisées par le ratio mannose/galactose et la distribution des résidus galactose (Andrade *et al.*, 1999). Le ratio mannose galactose ainsi que la distribution des galactoses substitués influencent la viscosité et la solubilité des galactomannanes. Les propriétés de solubilité et de viscosité seront abordées dans ce chapitre.

La solubilité s'exprime par le biais d'un pourcentage mesurant la proportion du produit restant en solution. Elle dépend des dissolutions préalables, de l'équilibre entre les interactions molécules-molécules et molécules-solvant, de la nature physico-chimique des molécules (Blecker, 2009).

La viscosité est définie en mécanique des fluides comme étant la résistance d'un fluide à toute modification irréversible des éléments de son volume (Sindic, 2008), en chimie, elle reflète les interactions entre des molécules dans un fluide.

Le ratio mannose galactose ainsi que la distribution des galactoses substitués influencent la viscosité et la solubilité des galactomannanes.

Les zones des galactomannanes non-substituées par des galactoses sont responsables des interactions intra- et intermoléculaires grâce à l'intervention de ponts hydrogènes (Brummer *et al.*, 2003).

Du fait de ces liaisons, les galactomannanes pauvres en galactose présentent une viscosité plus élevée que les galactomannanes hautement substitués. Cependant, ils posent des difficultés de solubilisation contrairement aux galactomannanes riches en galactose (Dakia *et al.*, 2009).

En effet, les résidus galactopyranoses représentent les parties hydrophiles de la molécule de galactomannane. Plus le degré de substitution en galactose est élevé, plus la solubilité dans l'eau des galactomannanes est augmentée (Kök *et al.*, 1999 ; Moreira *et al.*, 2008). Sans la présence de ces groupes galactopyranoses, le polysaccharide serait insoluble en solution et pourrait cristalliser ou précipiter (Pollard *et al.*, 2007).

Grâce à sa teneur en galactose plus élevée, la gomme de guar est soluble dans l'eau froide alors que la gomme de caroube ne l'est pas. En effet, la gomme de caroube présente une faible solubilité dans l'eau à température ambiante. Un traitement thermique de chauffage sous forte agitation (85°C pendant 10 minutes par exemple) est nécessaire pour la solubiliser totalement (Kök *et al.*, 1999).

En outre, les galactomannanes sont des liquides rhéofluidifiants. Lorsque le gradient de vitesse de cisaillement (exprimé en s^{-1}) augmente, la viscosité apparente (exprimée en Pa.s) diminue. Sous un effet de cisaillement grandissant, les chaînes de galactomannanes vont se désenchevêtrer et s'orienter parallèlement. Cette réorganisation des molécules est responsable de la diminution de la viscosité. L'effet rhéofluidifiant est réversible (Dakia *et al.*, 2009).

Lopez Da Silva et Gonclaves (1990) ont comparé les propriétés de solubilité et de viscosité de la gomme de caroube brute et purifiée. Ils ont pu observer que la gomme de caroube purifiée est plus soluble que la gomme brute. En effet, la purification permet l'élimination des composés insolubles et la gomme purifiée devient totalement soluble (98% contre 89% pour la gomme non clarifiée). En ce qui concerne la viscosité, les solutions de gomme brute

présentent une viscosité plus élevée que les solutions de gomme purifiée à des concentrations similaires. Ce phénomène pourrait être expliqué par une dépolymérisation des macromolécules lors des étapes de purification ou par une agrégation inter-macromoléculaire due à l'augmentation de l'homogénéité des échantillons purifiés.

Il est à noter que la gomme de caroube est insoluble dans la plupart des solvants organiques, l'éthanol inclus. Elle peut également être précipitée par des solutions aqueuses ou par des électrolytes comme l'acétate de plomb (Kawamura, 2008).

Enfin, grâce à leur capacité de liaison à l'eau, les galactomannanes sont capables de former des solutions très visqueuses même à de faibles concentrations. Ces solutions visqueuses ne sont affectées que légèrement par le pH, les sels et les variations thermiques (Lopez Da Silva *et al.*, 1990 ; Daas *et al.*, 2000).

I.2.2.5. Synergie de viscosité entre les polysaccharides

La combinaison de polysaccharides est souvent recherchée pour des considérations d'ordre économique, organoleptique (texture, effet en bouche) et de disponibilité. Le fait de mélanger deux polysaccharides dans une solution aqueuse entraîne des interactions intermoléculaires entre les régions linéaires d'un même polysaccharide, les régions linéaires des polysaccharides anioniques affectés par la présence de cations divalents et les régions linéaires des deux différents polysaccharides (Ghotra, 2006). Toutefois, la force de l'interaction entre les composés dépend des ratios, mais également de la concentration totale des composés (Nnanna & Dawkins, 1996).

Pour vérifier si deux substances présentent des effets synergétiques ou antagonistes, il est courant de mesurer la viscosité du mélange et des composés seuls. En fait, lorsque le mélange procure une plus grande viscosité que la somme des viscosités de chaque constituant séparément, la situation est caractérisée de synergisme et dans le cas contraire, d'antagonisme (Ghotra, 2006). Quelques auteurs ont étudié l'effet de synergie de viscosité de la gomme de caroube avec d'autres polymères tels que les carraghénanes (Dunstan *et al.*, 2001 ; Hernandez *et al.*, 2001), le xanthane (Ramírez, 2002 ; Secouard *et al.*, 2007), l'agar (Gonçalves *et al.*, 2005), l'agarose (Viebke *et al.*, 1996 ; Child *et al.*, 2004), la cellulose (Newman *et al.*, 1998).

D'autres chercheurs ont également démontré que la force des interactions dans ces mélanges augmente avec la diminution de la teneur en galactose dans le galactomannane. Ainsi, la gomme de caroube ($M/G = 4$) interagit mieux que le guar ($M/G = 2$) avec les carraghénanes pour former des gels plus consistants et plus élastiques (Andrade *et al.*, 1999 ; Dunstan *et al.*, 2001 ; Hernandez *et al.*, 2001). Cette association avec les carraghénanes est développée pour fabriquer des substituts de gélatine.

Par ailleurs, l'utilisation d' α -D-galactosidase permet de réduire la teneur en galactose du guar (au départ avec 40 % de teneur en galactose, $M/G = 2$) pour aboutir à la production de galactomannanes qui interagissent mieux avec le xanthane, parfois au même degré que la caroube (20 % de teneur en galactose, $M/G = 4$) (McClearly, 1981 ; 1984).

Cependant, plusieurs autres facteurs peuvent également influencer la synergie entre les polysaccharides comme la configuration ordonnée ou non de la gomme de caroube, la concentration de sel, le niveau d'hydratation des composés, le ratio et la concentration finale en polysaccharides de même que la température de mise en mélange (Fitzsimons *et al.*, 2008 ; Secouard *et al.*, 2007 ; Morris, 1995). Ainsi, tous ces aspects doivent être pris en considération lors de la préparation de mélange.

- Conclusion 2

Cette revue bibliographique nous a permis de conclure que cette gomme est un polysaccharide (galactomannane) qui se caractérise par des propriétés fonctionnelles très recherchées. En effet, elle peut interagir en synergie avec d'autres polysaccharides notamment le carraghénane, l'agar et le xanthane pour former des gels plus fortes et plus élastiques.

Chapitre I.3. Production industrielle du sirop.

I.3.1. Définition

Au terme du décret européen n°97-914, les **sirops** regroupent les produits dont les teneurs en matières sucrantes glucidiques sont supérieures à 55% du poids du produit fini. Cette teneur peut être ramenée à 50% lorsque le ou les jus de fruits présents dans les sirops consistent exclusivement en jus d'agrumes ou lorsque la matière sucrante glucidique ajoutée est du fructose.

I.3.2. Les différents sirops

✓ Sirops traditionnels

Des sirops sont obtenus à partir, de céréales, de plantes, d'arbres et de fruits suivant différentes techniques. Le goût sucré et la couleur de ces sirops sont nuancés (translucide, ambré, brun, plus foncé ou coloré) suivant son origine et le degré de raffinage utilisé. Les sirops non-raffinés sont plus riches en minéraux et souvent colorés. La plupart de ces sirops sont connus depuis longtemps et ont été développés par diverses civilisations tel que l'amazake, d'origine asiatique, qui est obtenu par le mélange de riz et de kôji, d'autres sont de facture plus récente tels que le sirop de maïs.

Les sirops de céréales sont principalement obtenus à partir de blé, de maïs, d'orge et de riz, par hydrolyse des glucides complexes qu'elles contiennent (glucane (amidon), Inuline (fructane), etc.). Ce sont le sirop de riz brun, le sirop d'orge malté, sirop de maïs et le sirop de glucose (Lefrançois & Ruby, 2008).

Les sirops de plantes sont principalement obtenus à partir de la tige (canne à sucre, sorgho commun), du tubercule (*Smallanthus sonchifolius*, Betterave sucrière) ou de l'ensemble de la plante (Agave) (Morris *et al.*, 1987). Du *Smallanthus sonchifolius*, une plante de la Cordillère des Andes, est obtenu le sirop de poire de terre, un mélange sucrant de glucides complexes et simples. Le jus obtenu par pressage de l'agave, un cactus mexicain, sert à fabriquer le sirop d'agave. Le jus est chauffé pour hydrolyser l'inuline (glucide complexe) en sucre simple et sucrant le fructose.

Les sirops d'arbres proviennent principalement de la sève du bouleau, de l'érable et des palmiers. De ces trois arbres, les sirops sont obtenus de la même façon; la sève récoltée est

ensuite concentrée par chauffage (Réjean Beaumont, 2010 ; Eagleson & Hasner, 2006; Elliot, 20006 ; Mimouni & Siboukeur, 2011).

Les sirops de fruits proviennent des jus extraits du fruit et concentrés par chauffage pour donner un sirop épais et riche en glucide. À partir du raisin est obtenu le Pekmez, l'Arrope et le Sapa (Dale & Ray, 1993; ghafoor *et al.*, 2011). De la datte est fabriqué le sirop de datte (Mimouni & Siboukeur, 2011). L'algarrobina, ou sirop de mesquite, est un sirop tiré du fruit du *Prosopis* (gousse de mesquite), un arbre d'Amérique centrale, largement utilisé dans la cuisine péruvienne (Bravo *et al.*, 1998 ; Guilherme *et al.*, 2009).

✓ **Sirops aromatisés**

Les sirops aromatisés sont destinés à la boisson et aux desserts. Ils sont fabriqués à partir de sucre et d'un composant alimentaire au goût particulier. On trouve, entre autres, du sirop de fraise, du sirop de grenadine, du sirop de menthe, du sirop de cassis, du sirop d'orgeat, du sirop de caramel, du sirop de chocolat, du sirop de gingembre etc.

Des arômes et des colorants sont souvent ajoutés afin que le sirop destiné aux boissons corresponde au goût et à la couleur du fruit original (Randall *et al.*, 1994; Al-Farsi *et al.*, 2007)

✓ **Sirops pharmaceutiques**

De nombreux médicaments sont présentés sous forme de sirop. La tendance est de les remplacer par des *sirops sans sucre* moins cariogènes, qui, bien évidemment, ne sont plus des sirops au sens strict du terme, mais des suspensions édulcorées grâce à l'aspartame, l'isomalt, l'acésulfame K, etc. et épaissies grâce à des gélifiants souvent extraits d'algues (carraghénanes par exemple) ou dérivés de la cellulose.

1.3.3. Technologie de fabrication du sirop de caroube

La préservation des qualités organoleptiques et nutritionnelles du sirop au cours de leur élaboration implique une adaptation permanente de l'outil de production. L'obtention de sirop de fruits prêts à être consommé nécessite une succession d'opérations unitaires qui doivent être optimisées pour assurer un niveau de production suffisant sans nuire ni à la qualité, ni à la sécurité (Annexe 6). La fabrication de sirop de fruit de caroube telle qu'elle est pratiquée au niveau industriel peut être schématisée dans les grandes étapes successives de la production (Figure 11).

I.3.3.1. Nettoyage de la caroube

Le fruit des champs est normalement accompagné d'une série d'éléments étrangers, tels que pierres, brindilles, éléments métalliques ainsi que de la terre adhérant à la caroube, en particulier si elle a été récoltée en période de pluie.

La première opération consiste à nettoyer la caroube de tous ces éléments étrangers, en les séparant mécaniquement, à nettoyer la caroube avec de l'eau et à la sécher, pour obtenir le fruit propre, exempt d'autres matières, de sorte qu'elle soit hygiéniquement prête à la phase de découpe.

I.3.3.2. Découpage

Profitant de la fragilité de la caroube et de la dureté de la graine de caroube, on la fait passer dans un broyeur à marteau où la gousse est suffisamment découpée pour libérer la graine. Dans la pratique, elle est broyée jusqu'à ce qu'elle passe à travers un tamis en tôle perforée, d'un diamètre de trous de 12 à 20 mm, situé à l'intérieur du broyeur. Cette phase produit une matière brute remplissant les conditions d'hygiène requises pour les aliments, ce qui est totalement impossible lorsqu'on utilise le produit découpé et actuellement disponible sur le marché, du fait de son utilisation traditionnelle comme ingrédient d'aliments mixtes, les installations actuelles ne remplissant pas les conditions sanitaires minimales requises (brevet 617133).

I.3.3.3. Classification

Les matières découpées obtenues du broyeur sont amenées en continu vers un séparateur-tamis qui sépare, d'une part, la graine de caroube et, d'autre part, la pulpe selon que les particules sont de grandeur inférieure ou égale/supérieure à la graine de caroube. Cette dernière fraction est ramenée vers le broyeur, pour obtenir une granulométrie inférieure à 10 mm.

Une granulométrie élevée empêche d'obtenir un bon rendement à la phase de diffusion qui suit. La formation importante de particules de petites tailles constituerait un obstacle pour l'opération de diffusion et provoquerait des problèmes de colmatage (Leybros et Frémeaux, 1990). Une grosseur de particule d'environ 5 à 6 mm doit être recherchée, avec une formation minimale de farine. Bien entendu, le comportement du fruit au cours de

l'opération mécanique variera en fonction de la teneur en humidité et de la variété agronomique, ce qui implique la nécessité de réglages différents.

I.3.3.4.Extraction

L'extraction dépend de la structure du fruit, sa composition chimique et les caractères du jus obtenu (J.Cheftel et H.Cheftel, 1984). L'essentiel est d'extraire les composés nobles présents dans les fruits notamment les substances aromatiques, les sucres, les pigments, les vitamines et les pectines dans le cas des jus troubles (J.Cheftel et H.Cheftel, 1984; Vierling, 1999).

Les procédés usuels d'extraction sont généralement des procédés mécaniques tels que la pression, l'aspiration ou l'essorage centrifuge (Codex Alimentarius, 2005). Certains fruits tels que la caroube, la banane, la sapotille et le tamarin ne peuvent pas être traités par les procédés mécaniques pour extraire du jus vu leur faible teneur en eau. Ils nécessitent une extraction hydrique à l'eau chaude (Lee *et al.*, 2006 ; Sin *et al.*, 2006a ; Ahmed *et al.*, 2007 ; Turhan *et al.*, 2010).

Quelque soit le procédé utilisé, le jus doit être extrait par des procédés bien adaptés qui conservent les caractéristiques physiques, chimiques, organoleptiques et nutritionnelles essentielles des jus du fruit dont il provient (Codex Alimentarius, 2005).

I.3.3.5. Pressage des déchets de pulpe

L'opération de pressage permet d'extraire mécaniquement un pourcentage considérable de l'eau transportée par la pulpe, ladite eau contenant encore en solution des sucres et différents non-sucres. Cette eau est utilisée pour extraire les sucres au stade précédent, obtenant ainsi une économie d'eau considérable et évitant des gaspillages non souhaitables.

Les conditions de travail dans cette phase sont :-Temps d'égouttage (il dépend du type de presse), La température de pressage qui est fonction de la sortie de diffusion, bien que, compte tenu du fait que plus la température est basse, plus la viscosité dynamique de l'eau de pressage est élevée, il n'est pas avantageux d'effectuer un stockage entre les deux opérations (brevet 617133).

I.3.3.6.Filtration :

Le jus brut obtenu de l'opération de pressage transporte de grandes particules de caroube en

suspension, étant donné qu'elles sont évacuées pendant l'opération d'extraction. Pour éviter des problèmes mécaniques dans les colonnes de décalcification, ces particules sont éliminées à l'aide d'une opération de filtration en continu en faisant passer le jus par des filtres industriels.

I.3.3.7. Clarification

Le jus extrait, ou jus brut, peut subir des traitements pour assurer la stabilité colloïdale ou la clarification (Albagnac et al, 2002). La clarification ne s'applique qu'à certains jus de fruits, dont les matières en suspension s'oxydent rapidement et donnent au jus un aspect brunâtre désagréable (Espiard, 2002). Selon le produit souhaité, les procédés technologiques mis en œuvre diffèrent mais ils ont tous pour but la séparation des particules en suspension (J.Cheftel et H.Cheftel, 1984; Albagnac et al, 2002).

I.3.3.7.1. Clarification chimique

Certains agents clarifiants ont été utilisés dans l'industrie des jus tels que la gélatine, le charbon actif et le polyvinylpolypyrrolidone (PVPP). Ces agents ont pour rôle d'écarter les substances colloïdales comme les polysaccharides, les tanins et les protéines (J.Cheftel et H.Cheftel, 1984; Codex Alimentarius, 2005).

I.3.3.7.2. Clarification physique

Les procédés membranaires sont les plus utilisés pour la clarification des jus. Il s'agit d'un procédé de séparation en phase liquide sous l'effet d'un gradient de pression appliqué à travers une membrane jouant le rôle de tamis et assurant la sélectivité des molécules. Les procédés membranaires sont classés en quatre types selon la taille des pores : la microfiltration (M_F), l'ultrafiltration (UF), la nanofiltration (NF) et l'osmose inverse, le gradient de pression augmente si la taille des pores des membranes diminue. (OI) (Charpentier, 1996).

I.3.3.7.3. Clarification enzymatique

L'utilisation des enzymes dans l'industrie des jus a profondément modifié les techniques de fabrication. Une bonne connaissance des phénomènes est indispensable à l'optimisation de chaque étape du traitement. De plus, la maîtrise des conditions de production et de purification de ces enzymes par les microorganismes permet de promouvoir de nouvelles

préparations mieux adaptées aux différents problèmes technologiques en reformulant des associations d'enzymes (Liew Abdullah *et al.*, 2007).

I.3.3.8. Evaporation et concentration

L'opération de concentration est réalisée dans des évaporateurs à effet multiple, compte tenu du fait que le jus ne doit pas être soumis à de la chaleur prolongée, afin d'éviter la formation de nouveaux sucres réducteurs et la destruction du sucre par la formation de caramel, ce qui entraînerait initialement une augmentation assez importante de la coloration et une dégradation de la qualité du sucre final.

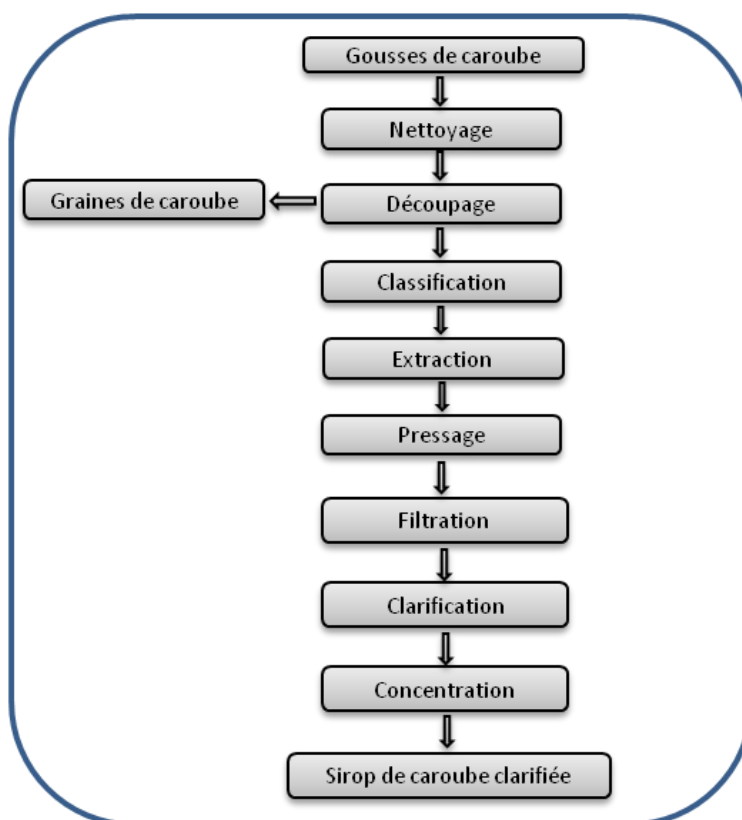


Figure 11. Procédé de production du sirop de caroube clarifié

- Conclusion 3

Cette partie de la recherche bibliographique présente les différents types de sirop ainsi que les principales étapes du procédé de fabrication du sirop à partir de la pulpe de caroube. Ce procédé est influencé par plusieurs paramètres technologiques qui nécessitent d'être optimisées à fin d'améliorer le rendement d'extraction tout en maintenant la qualité nutritionnel et hygiénique du sirop produit.

Chapitre I.4 : Méthode des plans d'expériences

La méthode des plans d'expériences peut nous aider à comprendre l'influence des différents facteurs tout en limitant le nombre d'expériences à réaliser. En effet, la méthode des plans d'expériences propose le recours à une série d'expériences construites à priori et garantissant dès le départ la meilleure qualité de l'information qui sera exploitée ultérieurement. Les plans d'expériences vont nous permettre de faire varier tous les facteurs simultanément de manière programmée et raisonnée (Goupy J., 1996).

Les avantages de cette méthode sont notamment une diminution du nombre d'essais, un nombre plus important de facteurs étudiés, une détection des interactions entre facteurs, une détection des optimums ainsi qu'une optimisation et une modélisation des résultats.

I.4.1. Aperçu historique

Initialement développés et mis en pratique par le mathématicien britannique Sir Ronald Fisher (1949). Au début des années 30, les plans d'expériences ont servi à quantifier l'effet des facteurs contrôlés par l'expérimentateur dans un contexte soumis à de nombreuses sources d'hétérogénéité. Après 1945, les plans d'expériences suscitent de nombreuses publications et de recherches dans le monde anglo-saxon. Des statisticiens comme Yates, Cochran, Placket et Burmann, enrichissent et divulguent la méthode (Cochran and Cox, 1957; Yates, 1937 ; Placket et Burmann, 1946). Box et Hunter (1978), s'appuyant sur les travaux de Yates (1937), développent des méthodes particulières de construction de plans d'expériences fractionnaires à deux niveaux (criblage). Ils s'intéressent à l'étude des facteurs quantitatifs et introduisent, dans les années 60, les modèles de surface de réponses associés à des plans comme des plans composites centrés (Myers et Montgomery, 1995 ; Khuri, 1996).

De plus, la durée des expériences constituait une contrainte supplémentaire forte. C'est Fisher, (Fisher, 1925), qui, pour la première fois en 1925, proposa une méthode avec laquelle on étudiait plusieurs facteurs à la fois. Cette méthode fut reprise puis développée par des statisticiens et des mathématiciens qui définirent des tables d'expériences permettant de réduire considérablement le nombre d'expériences à effectuer sans diminuer la pertinence de la campagne d'essais. Les grandes entreprises se sont ensuite intéressées à cette méthodologie dans le cadre de l'approche qualité à la suite des travaux du Docteur

Taguchi, (Taguchi et Wu, 1985). Il a fortement contribué à l'expansion de l'utilisation des plans d'expériences en milieu industriel au Japon dans les années 1960. Au cours de ces dernières années, de nombreux auteurs ont utilisé les plans d'expériences en agro-alimentaire pour étudier l'influence de procédé industriel sur le rendement et la qualité du produit (Pena *et al.*, 2006; RenJie, 2008; Qiao *et al.*, 2009; Wardhani *et al.*, 2010; Firatligil-Durmus&Evranuz, 2010)

I.4.2. Définition des termes utilisés dans la méthode des plans d'expériences

Les variables étudiées sont des **facteurs**. Ils sont définis comme une variable qui agit sur le procédé étudié. Un facteur peut être de type continu (une vitesse) ou discret (un type d'équipement). Un facteur peut prendre n'importe quelle valeur entre une limite haute (+1) et une limite basse (-1) sur un axe gradué et orienté. La graduation peut être en grandeurs normales spécifiques à chaque domaine d'expérience, ou en grandeurs codées qui confèrent aux plans d'expériences une présentation unifiée et générale.

Un Traitement est une combinaison spécifique des niveaux de tous les facteurs étudiés.

L'unité expérimentale est l'unité élémentaire qui reçoit un traitement et sur laquelle est faite chaque mesure.

Le domaine expérimental est l'espace défini par la variation des facteurs quantitatifs et/ou par les combinaisons des modalités des facteurs qualitatifs (figure 12) (Lewis, 1999).

Un domaine d'étude est défini donc un espace m-dimensionnel, dans lequel chaque point représente un "traitement".

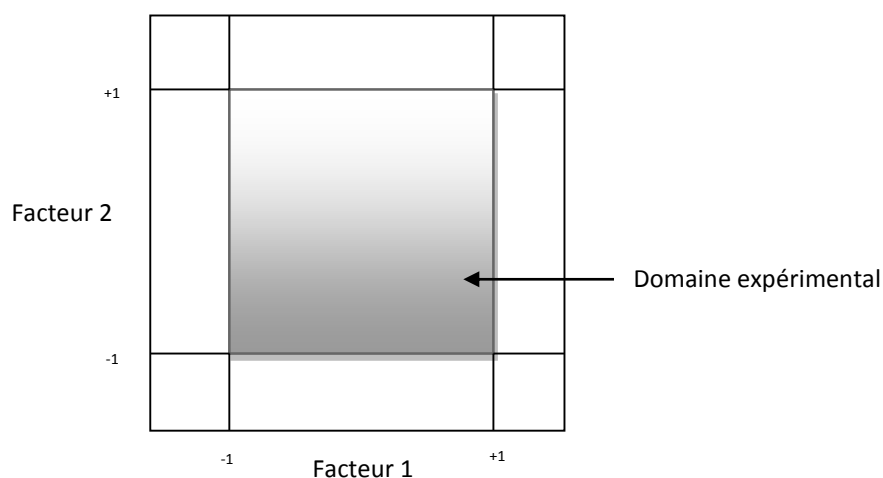


Figure 12. Représentation d'un domaine d'étude à deux facteurs (Goupy, 2005a).

Le choix du nombre et de l'emplacement des points correspondant aux expériences dans le domaine d'étude est le problème fondamental des plans d'expériences :

Une réponse expérimentale ou variable dépendante, est une manifestation mesurable que l'on observe lorsqu'on fait varier les facteurs étudiés.

Le choix de réponses caractéristiques du procédé à étudier relève d'une analyse minutieuse des phénomènes, des objectifs et des contraintes mis en jeu.

Lorsque le modèle postulé est validé, il permet de décrire le phénomène dans le domaine expérimental étudié.

I.4.3. Différents types de plans de modélisation

Les plans de modélisation, dont l'objectif est de trouver la relation mathématique qui lie la réponse mesurée aux facteurs étudiés. Les plans factoriels complets et fractionnaires (2 niveaux par facteurs avec modèles linéaires). Selon le type, ils permettent de mesurer les effets des facteurs étudiés et leur interaction sur le phénomène (Lewis, 1999 ; Cardot, 2007).

I.4.3.1. Plans factoriels complets

Avec les plans factoriels complets, toutes les combinaisons d'ordre 1 sont effectuées. La figure 13.a présente un exemple de plan factoriel complet avec trois facteurs à deux niveaux et un total de 8 essais. (Goupy, 2006)

Avec ce type de plan, le nombre d'expériences augmente considérablement avec l'augmentation du nombre de facteurs et de niveaux.

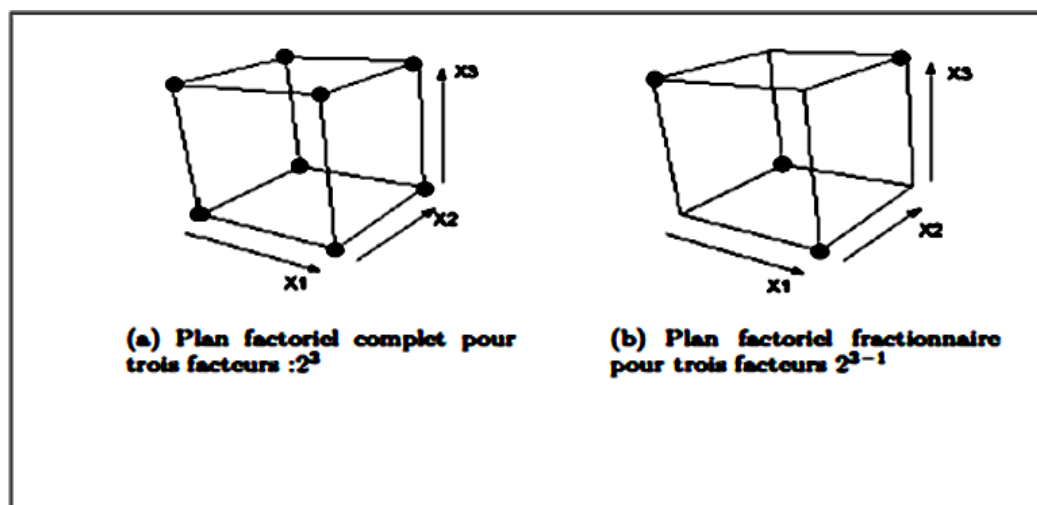


Figure 13: Plans factoriels complet et fractionnaire

I.4.3.2. Plans factoriels fractionnaires

Avec l'augmentation du nombre de facteurs les plans factoriels fractionnaires sont une alternative pour remplacer les plans factoriels complets. Avec ces plans nous étudions une partie du plan complet factoriel en réduisant le nombre d'essais à effectuer.

L'objectif est souvent l'évaluation de l'influence des facteurs. On appelle aussi ces plans des plans de criblage. (Goupy, 2006)

En prenant l'exemple de 3 facteurs à 2 niveaux présenté à la figure 13b, avec un plan fractionnaire on peut utiliser un plan avec 2^{3-1} soit 4 essais en divisant par deux le nombre d'essais à effectuer par rapport à un plan factoriel complet.

I.4.3. Différents types de plans d'optimisation

Ces plans sont utilisés avec des variables continues. Il y a plusieurs types de plans parmi lesquels on peut citer les plans composites, les plans de Box-Behnken et les plans de Doehlert. (Myers et Montgomery, 1995 ; Box Et Behnken, 1960 ; Doehlert, 1970).

✓ Les plans composites

Les plans composites centrés (Myers et Montgomery, 1995 ; Khuri, 1996) prennent facilement la suite d'un premier plan factoriel dont les résultats sont insuffisamment expliqués par un modèle du premier degré. Il suffit d'effectuer les expériences correspondant aux points en étoile et de faire les calculs sur l'ensemble de toutes les expériences. Les plans composites sont parfaitement adaptés à une acquisition progressive des résultats. Ils sont cependant assez gourmands en termes de nombre d'essais par rapports à d'autres types de plans (Louvet, 2005), mais ce nombre reste raisonnable lorsque le nombre de facteurs étudiés reste faible (entre 2 et 4 paramètres). Un autre inconvénient vient du fait que ce type de plan nécessite 5 niveaux par facteur et qu'il peut être parfois difficile matériellement de les réaliser.

Un plan composite est composé de trois parties :

- un plan factoriel complet ou fractionnaire à deux niveaux.
- des points axiaux sur les bords du domaine : ces points sont situés à une distance α du centre.
- un point central pour pouvoir estimer la variance expérimentale.

La figure 14 est la représentation d'un plan à deux facteurs composé par des points axiaux.

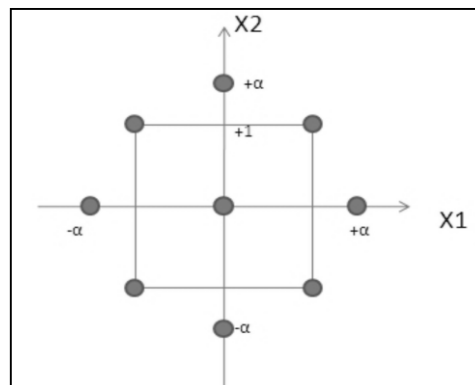


Figure 14. Plan composite pour deux facteurs.

✓ Les plans de Box-Behnken

Les plans de Box-Behnken (Box et Behnken, 1960) sont une alternative aux plans composites. Avec ces plans les points expérimentaux sont au centre des arêtes. Ils permettent de traiter un plan avec au moins trois facteurs. La figure 15 montre un exemple de plan de Box-Behnken pour trois facteurs. Ce plan contient 13 essais : 12 points sur la zone médiane des arêtes et un point central pour le 13^{ème} essai. Avec ce plan de Box-Behnken, 13 tests sont suffisants au lieu de 3^3 , c'est-à-dire 27 tests. Les niveaux (-1, 0 et 1) correspondent respectivement aux niveaux bas, moyen et haut de chacun des facteurs 1, 2 et 3.

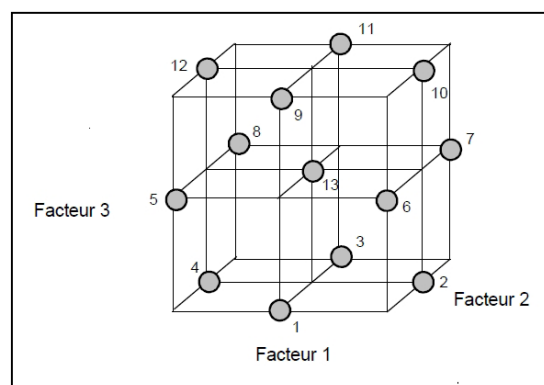


Figure 15. Plan de Box- Behnken pour trois facteurs.

✓ Les plans de Doehlert

La caractéristique principale des plans de Doehlert (Doehlert, 1970) est d'avoir une répartition uniforme des points expérimentaux dans l'espace expérimental. La Figure 16 donne la disposition de ces points pour un plan à deux facteurs (essais 1 à 7). Tous les points

sont à la même distance du centre du domaine d'étude et sont situés sur le cercle trigonométrique. Ils forment un hexagone régulier.

Si l'expérimentateur est obligé à explorer le domaine expérimental, il peut facilement ajouter des points d'expériences supplémentaires et retrouver une disposition identique à celle de départ.

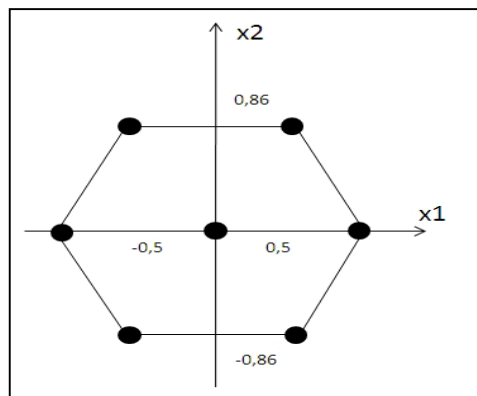


Figure 16: Plan de Doehlert.

Dans le tableau 5, nous avons regroupé quelques caractéristiques importantes sur la qualité des 4 catégories de plans d'expériences pour l'étude des surfaces de réponse.

Tableau 5 : quelques caractéristiques sur la qualité des 4 catégories de plans d'expériences

	Composite centré				Box-Behnken				Doehlert				Hybride		
Nombre de facteurs	3	4	5	6	3	4	5	6	3	4	5	6	3	4	6
Nombre d'essais par coefficient à calculer	1.8	2	1.5	1.8	1.6	2	2.2	1.9	1.3	1.4	1.5	1.5	1.1	1.1	1
Qualité du modèle	***	***	**	***	***	***	***	***	**	***	***	***	*	*	*
Qualité des coefficients	***	***	***	***	***	***	***	***	**	**	*	*	***	***	***

*Faible ; **moyenne ; ***grande

I.4.3.4. Les plans de mélange

Les plans de mélange sont des plans d'expériences que l'on utilise lorsque l'on étudie des produits composés de plusieurs constituants, dont la somme ne peut dépasser la proportion de 1 ou la valeur de 100%, donc la somme est considérée comme une constante (Goupy, 2005a, Cardot, 2007).

I.4.4. Méthodologie

Toute expérience doit être l'objet d'une planification précise qui se concrétise sous la forme d'un plan d'expériences ou protocole expérimental. La démarche méthodologique d'un PE peut être décomposée en différentes étapes (Louvetet Luc Delplanque, 2005 ; Pillet, 97).

I.4.4.1. Définition de la problématique

En tenant compte des objectifs à atteindre, il est d'abord nécessaire de faire la liste des réponses expérimentales qui peuvent être étudiées. Cette étape permet également de mettre en place les moyens et le budget nécessaires à l'étude.

I.4.4.2. Choix des facteurs et du domaine expérimental

-  **Définir clairement les objectifs**
-  Etablir la liste des réponses
-  Etablir la liste des facteurs étudiés et non étudiés
-  Choisir le domaine expérimental

-  **Construire le plan d'expériences**
-  Lister l'ensemble des contraintes
-  Réaliser les expériences selon le plan prévu

-  **Analyser et interpréter les résultats**
-  Valider le plan.

I.4.4.3. Construction du plan

Qui dépend généralement des objectifs, sachant que trois principaux objectifs sont possibles. Par exemple, dans le cas d'une optimisation de réponse, pour une détermination de la position d'un optimum situé à l'intérieur de la région étudiée, un modèle quadratique sera choisi. De plus, le modèle quadratique permet d'observer d'éventuels phénomènes non linéaires. Donc, il se trouve un bon compromis entre le plan factoriel et le modèle cubique où les interactions du deuxième ordre sont souvent négligeables. Une fois le type de modèle est sélectionné, il faut choisir les répétitions afin de pouvoir évaluer leur reproductibilité et estimer une erreur sur les résultats obtenus.

Il existe différents types de modèles qui sont représentés par une fonction polynomiale du premier degré ou du second degré :

- Modèle linéaire avec une réponse du type :

$$Y = a_0 + \sum a_i X_i + \varepsilon$$

- Modèle factoriel (linéaire avec des interactions d'ordre 1) donc une réponse du type

$$Y = a_0 + a_i X_i + a_j X_j + a_{ij} X_i X_j + \varepsilon$$

- Modèle quadratique avec une réponse du type :

$$Y = a_0 + \sum a_i X_i + \sum a_{ii} X_i^2 + \sum a_{ij} X_i X_j + \varepsilon$$

- Modèle cubique partiel avec une réponse du type :

$$Y = a_0 + \sum a_i X_i + \sum a_{ii} X_i^2 + \sum a_{ij} X_i X_j + \sum a_{ijk} X_i X_j X_k + \varepsilon$$

Où Y représente la réponse étudiée, et X_i et X_j représentent les niveaux des facteurs ; a_0 est la constante du modèle représentant la moyenne des réponses pour l'ensemble des essais ; a_i et a_j des coefficients qui quantifient respectivement l'effet des facteurs X_i et X_j ; a_{ii} , a_{jj} et a_{ij} des coefficients quantifient respectivement l'effet quadratique du facteur X_i et X_j et de l'interaction entre X_i et X_j . Le coefficient correspondant à un facteur ou à une interaction montre l'importance globale de ce facteur ou de cette interaction sur la réponse étudiée. Le symbole ε représente l'erreur expérimentale.

I.4.4.4. Conduite des essais

Au cours des différentes expériences, il est important de conserver l'environnement et le maximum de conditions opératoires "invariantes" (mode d'introduction de l'eau par exemple).

I.4.4.5. Interprétations des résultats

A ce stade, les facteurs de l'étude et les réponses sont définis, le plan d'expériences a été réalisé et le modèle selon lequel les réponses expérimentales seront exploitées a été

sélectionné. L'analyse des réponses constitue une étape clé puisqu'à son issue, le modèle, qui sera à la base des prédictions et des conclusions de l'étude, sera accepté. Cette analyse s'effectue en plusieurs étapes où la pertinence et l'adéquation du modèle postulé sont jugées [Ozil, 1993 ; Goupy, 2005b].

Etude de la pertinence du modèle

Un modèle est dit pertinent lorsque l'écart type résiduel et l'écart type de l'erreur expérimentale sont numériquement proches. L'écart type résiduel correspond à l'écart type basé sur la somme des carrés des écarts entre expérience et modèle. L'écart type de l'erreur expérimentale représente l'erreur commise lorsque la même expérience est répétée.

Etude de l'adéquation du modèle

Cette étude se réalise en plusieurs étapes :

- Comparaisons entre les valeurs des réponses expérimentales et celles calculés par le modèle (figure 17).
- Comparaison des écarts types liés aux écarts expérience-modèle et à l'erreur expérimentale.
- Etude des résidus : le résidu est la différence entre la réponse mesurée et celle prédite par le modèle. L'analyse des résidus consiste à comparer les résidus en fonction, par exemple, des réponses expérimentales. Le diagramme obtenu ne doit pas laisser apparaître de relation ou de tendance entre les deux grandeurs (figure 18).

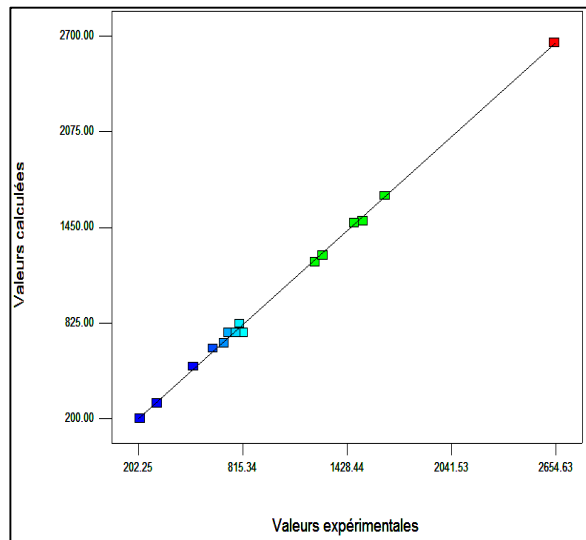


Figure 17:

Valeurs expérimentales = f (valeurs calculées).

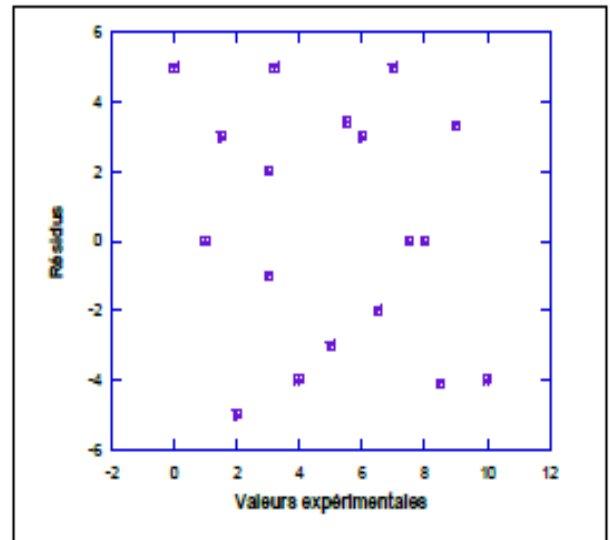


Figure 18:

Résidus = f (valeurs expérimentales)

I.4.4.6. Présentation des résultats

La matrice d'expériences

La représentation géométrique d'un plan d'expériences est utile pour imaginer la position des points expérimentaux dans le domaine d'étude mais celle-ci devient difficile lorsque le nombre de facteurs est supérieur à trois. Aussi, il est préférable d'adopter une représentation sous forme de matrice d'expériences (tableau 6).

Tableau 6 : Exemple de matrice d'expériences.

N° Essais	Facteur 1	Facteur 2
1	-1	-1
2	+1	-1
3	-1	+1
4	+1	+1

Le tableau des coefficients

La table des coefficients du modèle renferme toutes les informations nécessaires à sa validation et à son interprétation. La valeur numérique des différents coefficients est le reflet du poids du facteur ou de l'interaction sur la réponse étudiée et la valeur du coefficient de corrélation (R^2_{adj}) est le reflet de l'ajustement entre la valeur de la réponse calculée par le modèle mathématique postulé et sa valeur déterminée expérimentalement. L'effet d'un facteur sur une réponse particulière est évalué en comparant le poids du coefficient de ce facteur au terme constant (a_0).

La représentation graphique

L'exploitation graphique des modèles mathématiques permet de décrire l'évolution des réponses en traçant des courbes iso-réponses (2D) (figure 19) et des surfaces de réponses (3D) (figure 20).

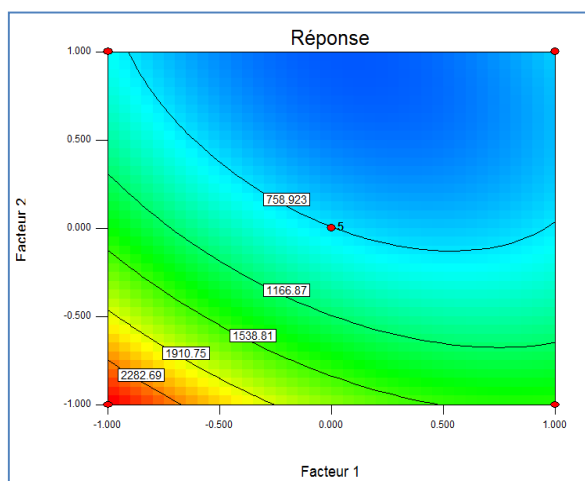


Figure 19 : Représentation iso-surface

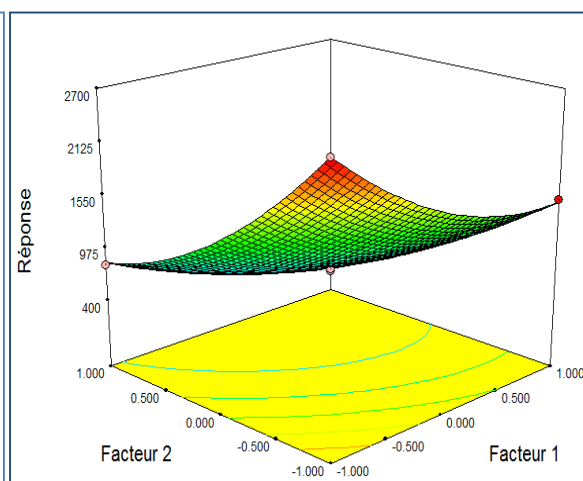


Figure 20. Représentation surface des réponses

- Conclusion 4 :

Nous avons présenté dans ce chapitre des éléments bibliographiques essentiels relatifs à la méthodologie des plans d'expériences. En tout premier lieu, les différents types de variables ont été recensés et présentés. Nous avons aussi donné la définition du domaine d'étude. Le deuxième volet de ce chapitre a porté sur un aspect fondamental: la modélisation, avec les principales techniques mathématiques utilisées pour exprimer les variations des réponses en fonction des valeurs des facteurs.

Pour résumer, la méthodologie des plans d'expériences est donc un ensemble de d'outils aidant son utilisateur dans la détermination des expériences à réaliser ainsi que dans la l'exploitation des résultats obtenus.

Ces outils s'appuient essentiellement sur des bases statistiques et algébriques. Cette particularité induit la possibilité quasi-permanente de connaître les erreurs concédées sur les données expérimentales et sur celles qui en sont déduites.

Partie II :

Caractérisation morphologique et physico-chimique de la caroube Marocaine

II : Caractérisation morphologique et physico-chimique de la caroube Marocaine

- Introduction

Dans la perspective de traiter et valoriser le fruit du caroubier, l'évaluation qualitative et quantitative de la composition physico-chimique demeure une étape d'importance capitale.

Dans cette optique, cette première partie de l'étude expérimentale a pour objectif : la caractérisation morphologique et physicochimique de la caroube Marocaine. Elle est subdivisée en deux sections : (matériel et méthodes) et (résultats et discussion).

Le premier chapitre des résultats présente une étude morphologique de la gousse de caroube afin de différencier les collections locales et les comparer à celles des autres pays. Chaque caractère de la gousse est discriminatoire et représente un intérêt majeur dans le choix et la sélection du cultivar ou des donneurs de greffon destinés à l'établissement des vergers commerciaux.

Les deux derniers chapitres sont consacrés à la détermination de la composition physico-chimique des deux composantes principales de la caroube : la pulpe et les graines (*à travers l'analyse des échantillons recueillis au niveau de sept régions de provenance.*)

II.1. Matériel et méthodes

II.1.1. Matériel végétal

Ce travail a été entrepris sur 21 sites de caroubier domestiqué sous forme d'agroforesteries systèmes correspondant à 7 régions de provenance qui couvrent la majorité de l'aire de distribution du caroubier au Maroc. Les caractéristiques géographiques et les moyennes de précipitations sont résumées dans le tableau 7.

Tableau 7 : Caractéristiques géographiques et écologiques des régions étudiées

Provenance	Région biogéographique	Latitude N	Longitude W	Altitude (m)	Pluviométrie annuelle (mm)
Taroudant	Haut Atlas (sud-ouest)	30°37'	8°20'	200-400	250
Agadir	Côte Ouest	30°41'	9°33'	150-350	300
Essaouira	Côte Ouest	31°20'	9°40'	100-200	300
Marrakech	Haut Atlas (central)	31°29'	7°43'	700-1000	500
Beni Mellal	Moyen et Haut Atlas	32°30'	6°03'	500-800	550
Taza	Moyen Atlas	34°08'	4°08'	500-600	700
El Houceima	Côte Nord	35°11'	3°57'	50-250	327

Le matériel végétal consiste à une large collection de gousses de caroubier effectué par l'équipe environnement et valorisation des agro-ressources (EVAR) que nous avons complétés. Les arbres ont été choisis fortuitement (5 à 9 par site) distants d'au moins 50 m. Les gousses ont été prélevées de la partie moyenne du houppier (2 à 5kg/arbre), ce qui correspond à un total de (30 à 40 arbres/région). Les lots de gousses de chacune des sept régions de provenance ont fait l'objet d'une étude morphologique et physico-chimique.

II.1.2. Détermination des caractéristiques morphologiques

Les mesures des caractéristiques de la gousse et de la graine tel que la longueur, la largeur, l'épaisseur, le nombre de graines par gousse, le poids de la pulpe ainsi que la proportion pondérale des graines ont été effectuées afin de déterminer la forme des fruits dans les différents lots.

II.1.3. Détermination des caractéristiques physico-chimiques

Humidité

La matière sèche est déterminée par étuvage des échantillons de pulpe ou de graines de

caroube à une température de 103°C jusqu'à l'obtention d'une masse constante.

Cendres brutes

Le dosage des cendres brutes est réalisé suivant les instructions de la norme française (AFNOR, 1977). Une quantité connue d'échantillon est carbonisée sur un bec de gaz puis calcinée avec précaution dans un four à moufle à une température voisine de 500°C. La pesée du résidu obtenu, permet de calculer la teneur en cendres totales dans l'échantillon.

Teneurs en sucres

L'analyse des sucres a été réalisée par emploi de la méthode de Bertrand (Browne & Zerban, 1955). Le dosage proprement dit consiste à recueillir le précipité d'oxyde cuivreux Cu_2O formé par réduction de la liqueur cupro-alkaline en présence des sucres directement réducteurs et à le doser par manganimétrie.

Protéines

La teneur en azote total a été déterminée par utilisation de la méthode de Kjeldahl (Pomeranz & Clifton, 1987). Le principe de cette méthode consiste à convertir l'azote en ammoniacque par une série de réactions chimiques qui incluent:

La digestion ou minéralisation: qui consiste à transformer l'azote organique en azote minéral sous forme ammoniacal $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$. Ceci se fait par l'action oxydante de l'acide sulfurique bouillant sur la matière organique en présence d'un catalyseur (K_2SO_4 et CuSO_4) et la réduction de l'azote organique en ammoniac. Celui-ci est retenu dans le digestat acide sous forme sulfatée.

L'alcalinisation: où l'ammoniac du digestat est déplacé par une base forte (NaOH) que l'on ajoute en excès. L'ammoniacque est ensuite distillée et fixée dans un mélange d'acide borique et d'indicateur coloré (rouge de méthyle + vert de bromocrésol); puis titrée par une solution d'acide sulfurique 0,1 N.

La reproductibilité est assurée par un traitement en série en utilisant des blocs chauffants pouvant recevoir un nombre important d'échantillons et contrôlés par des thermostats de précision (G. Boyer Buchi Distillation Unité B-324).

Le contenu protéique s'évalue en multipliant la teneur en azote total par un facteur de conversion généralement égal à 6.25. Ce facteur représente le pourcentage d'azote total

dans les protéines qui est évalué à 16 % (Pomeranz & Clifton, 1987).

Dosage des minéraux

Les oligoéléments : Zinc, Cuivre, Cadmium, Fer, Magnésium et Manganèse ont été dosés par spectrophotométrie d'absorption atomique (UNICAM 929 AA Spectrometer "ATIUNICAM") sur les filtrats préparés à partir des cendres totales. Le spectrophotomètre d'absorption atomique est muni de lampes à cathode creuse spécifiques de chacun des éléments à doser et réglé à une longueur d'onde optimale. Les résultats sont déterminés par comparaison des densités optiques des échantillons avec celles correspondant aux solutions étalons. Ces dernières sont préparées au moment de l'analyse.

Le dosage du Calcium, Potassium et Sodium a été effectué par spectrophotométrie à flamme (SEDEL). Le dosage est effectué sur les filtrats préparés à partir des cendres. L'échantillon est atomisé dans une flamme chaude obtenue par un mélange butane/air. En pratique, les mesures s'effectuent simultanément pour des solutions étalons et les échantillons à doser.

Dosage du phosphore

Ce dosage a été effectué sur les filtrats préparés à partir des cendres totales. Le principe de la présente méthode repose sur la réduction du phosphomolybdate d'ammonium par le vanadate d'ammonium. Cette réduction provoque la formation d'un composé dont la coloration est proportionnelle à la teneur en phosphates. Les solutions étalons ont été préparées en même temps que les solutions à doser.

Matière grasse

Le pourcentage de graisses et de cires est déterminé après extractions successives par un mélange azéotrope toluène : éthanol (38 : 62). Les échantillons sont soumis à une extraction en continu pendant 24 heures à l'aide d'un soxhlet. La masse de graisses et de cires extraites est déterminée par pesée après évaporation du solvant.

Détermination de la teneur en polyphénols

○ Extraction des polyphénols

Il s'agit d'une extraction solide-liquide. Le solvant utilisé dans la présente étude est l'acétone (à 70%) ; celui-ci possède l'avantage de donner un meilleur rendement

d'extraction dépassant celui de l'eau, le méthanol et l'éthanol (Avallone et al, 1997). Le rendement d'extraction en polyphénols augmente aussi avec le temps de contact (Periago et al, 1993).

On mélange 1g d'échantillon broyé avec 50 ml de mélange acétone-eau (70/30), après macération de 15 mn, le mélange obtenu est filtré sur un papier filtre Whatman, la phase aqueuse récupérée est concentrée au Rota vapeur à 40°C. On obtient ainsi un extrait visqueux.

○ *Détermination de la teneur en polyphénols totaux*

La teneur en polyphénols totaux est déterminée selon la méthode de Folin Ciocalteu (Ibanes et al, 1983). Dans un tube à essai, on introduit 5ml d'eau distillée, 0.5ml de l'extrait obtenu et 0.5 ml du réactif de Folin Ciocalteu, on mélange correctement pendant 1 min, on ajoute 0.5 ml de solution aqueuse de carbonate de sodium à 20%. Le mélange est agité au vortex et conservé à température ambiante à l'abri de la lumière pendant 90min. On mesure l'absorbance à 760 nm. Le blanc est constitué par le méthanol. La concentration en composés phénoliques totaux est déterminée en se référant à la courbe d'étalonnage obtenue en utilisant l'acide gallique comme standard.

Analyse statistique

Chaque analyse a été faite au moins en triple et les résultats sont exprimés en tant qu'Ecartype moyen. Le test-student a été employé pour évaluer les différences entre les moyens de chaque groupe. $P_r < 0.05$ a été considéré comme statistiquement significatif.

II.2. Résultats

Chapitre II.2.1. Caractéristiques morphologiques du caroubier

Les moyennes et les écarts types des différentes caractéristiques mesurées sont présentés dans les **figures (21 et 22)**.

II.2.1.1. Taille des gousses

La taille des gousses, définie par la valeur moyenne de sa longueur a donné lieu à la classification des échantillons en trois catégories:

- Taille légèrement longue ($15 < L \leq 20$ cm),
- Taille moyenne avec ($14 \leq L \leq 15$ cm) et
- Taille légèrement courte avec ($10 \leq L < 14$ cm).

Cette catégorisation de taille a été faite par référence aux travaux de Tutin et al., (1993), de Tous et al., (1996) et de Batlle et Tous (1997) qui ont rapporté que la taille moyenne des gousses peut aller de 10 à 30 cm. Les échantillons de la région d'El Hoceima sont caractérisés par une taille moyenne de 14 cm. Tandis que les autres échantillons de gousses ont une taille courte (10.9 à 13.7 cm). Ces résultats sont compatibles avec ceux de Konaté (2007) qui a obtenu 14.3 cm comme valeur moyenne de la taille des fruits du caroubier originaire de la région d'El Hoceima et témoignent de l'existence d'une variabilité considérable de la taille des fruits du caroubier Marocaine.

II.2.1.2. Largeur des gousses

La largeur des gousses du caroubier a une indication d'ordre agronomique importante. Elle est indépendante de la taille de gousse et peut renseigner non seulement sur son état comprimé ou élargi, mais aussi sur le volume des graines et de la pulpe. Elle varie de 1.5 à 2.5 cm selon Tutin et al. (1993) et de 1.5 à 3.5 cm selon Batlle et Tous (1997).

Les gousses d'El Hoceima sont assez larges (1.85 cm). Tandis que les plus faibles largeurs ont été rencontrées dans celles de la région de Taza (1.5 cm), Béni-Mellal (1.54 cm) et Taroudant (1.56 cm). Par ailleurs, Konaté (2007) a rapporté que la région d'El Hoceima est caractérisée par des caroubiers dont les gousses sont plus larges que 1.93 cm.

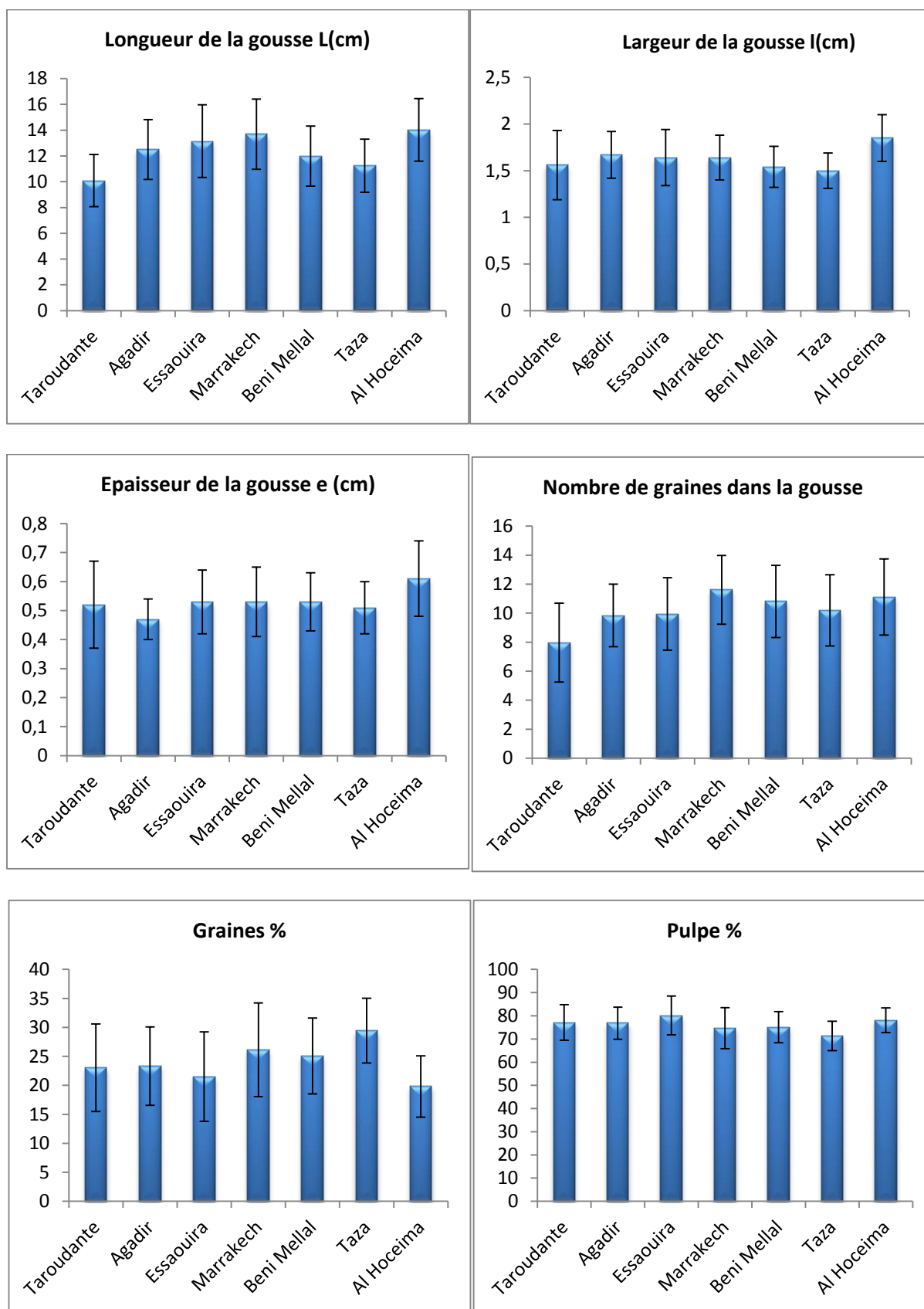


Figure 21. Caractéristiques agro-morphologique (L, l et e) des gousses et % des graines et de pulpe de caroube issus de sept provenances Marocaines

II.2.1.3. Epaisseur des gousses

Elle est également très variable d'une région de provenance à l'autre et constitue un critère de distinction des gousses comprimées ou volumineuses. Elle peut atteindre 1cm notamment chez les gousses charnues (Batlle et Tous, 1997).

Cette variable nous a permis de distinguer les provenances caractérisées par des gousses volumineuses à savoir celles d'El Hoceima (0.61cm), des autres provenances ayant des gousses aplaties ou comprimées : Agadir (0.67cm), Essaouira et Marrakech (0.64cm), Taroudant (0.56cm), Béni-Mellal (0.54cm) et Taza (0.50cm). Par ailleurs, Konaté (2007) a rapporté 0.97cm comme valeur moyenne de l'épaisseur des gousses provenant de la région d'Essaouira.

II.2.1.4. Poids des gousses et pourcentage de la pulpe

Les variables mesurées précédemment, longueur, largeur et épaisseur, influencent énormément le poids total des gousses ainsi que la quantité de sa pulpe. En effet, nous avons observé qu'en général, les provenances ayant un important poids de fruit et de pulpe sont celles qui ont des gousses assez longues, larges et épaisses, c'est le cas des échantillons d'El-Hoceima et d'Essaouira.

La pulpe qui est la principale composante de la gousse constitue, en général, 73 à 95 % de son poids total (Marakis et al., 1988). Selon nos résultats, elle constitue 71 à 80% du poids total de la gousse, elle dépasse les 75% dans les provenances d'Essaouira (80%), d'El Hoceima (78%), de Taroudant (77%) et d'Agadir (76%).

II.2.1.1. Caractéristiques morphologiques et rendement des graines

Comme la plupart des caractères, le nombre moyen des graines par gousse est très variable. Selon notre étude, nous avons obtenu en moyenne 7.97 à 11.61 graines par gousse. Les provenances ayant le plus grand nombre de graines par gousse sont celles de Marrakech (11.61), El Hoceima (11.11), par contre, celles caractérisées par un faible nombre de graines par gousse sont les provenances de Taroudant (7.97), Agadir (9.84) et Essaouira (9.94). Par ailleurs, certains auteurs ont rapporté que la gousse du caroubier peut renfermer entre 12 à 16 graines (Tutin et al., 1993; Gharnit, 1997).

L'abondance des graines dans les gousses d'une production de caroubier, serait un caractère distinctif entre les types sauvages et cultivés. En effet, les types sauvages sont

connus pour leur grande production de graines qui sont généralement petites et non charnues (Marakis et al., 1988; Ouchkif, 1988; Di Lorenzo, 1991).

Le rendement de gousse en graines par provenance varie de 19.81 à 29.44%. Il est très important chez la provenance de Taza (29.44%), moyen chez les cinq autres provenances : Essaouira (21.49%), Taroudant (23.04%), Agadir (23.33%), Marrakech (25.06%) et Béni Mellal (26.13%) et faible chez la provenance d'El Hoceima (19.81%) (**figure 22**).

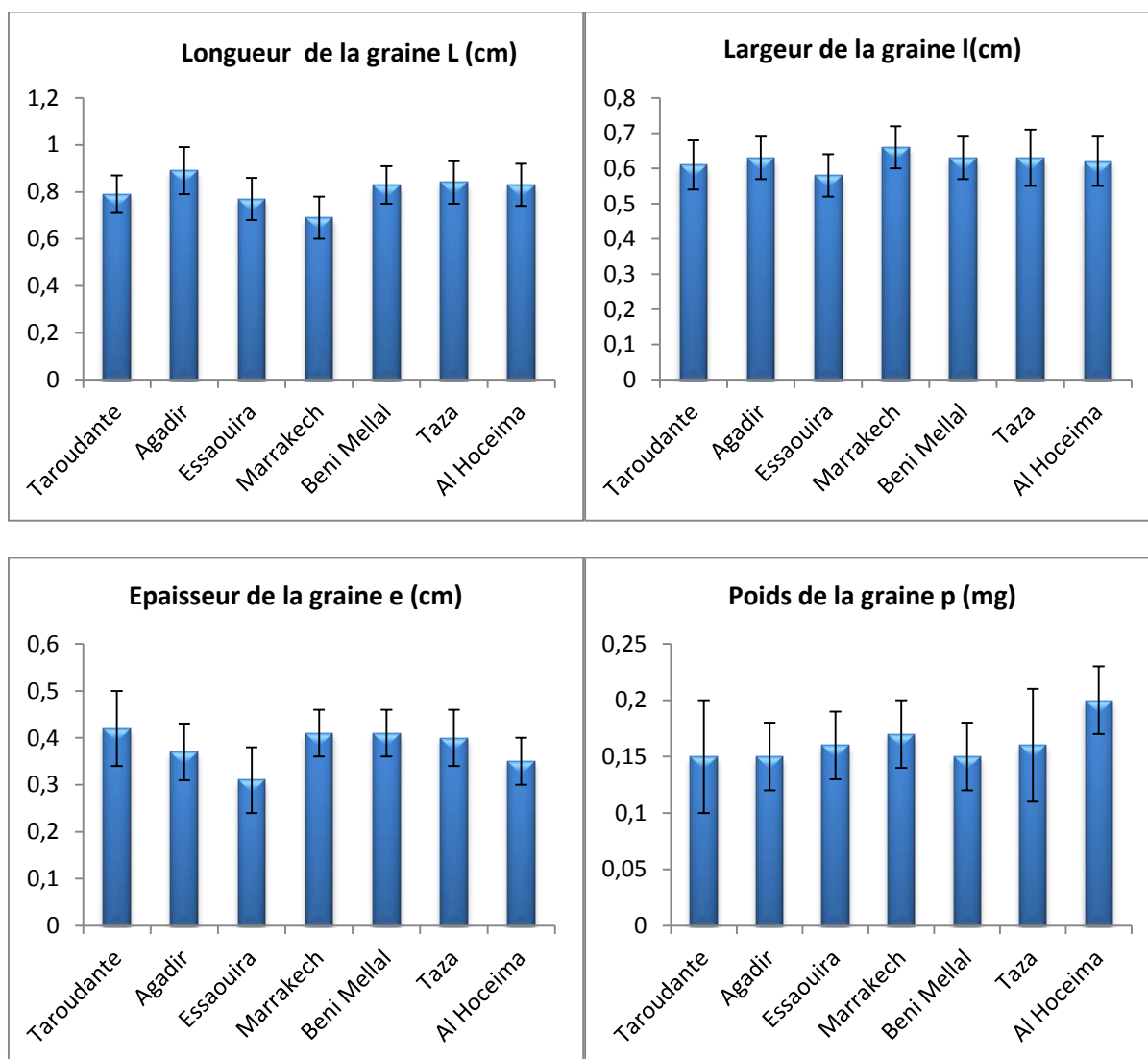


Figure 22. Caractéristiques agro-morphologique (L, l, e et p) des graines de sept provenances Marocaines

Ces données sont en parfaite concordance avec les résultats de certains travaux réalisés au Maroc, qui ont révélé une valeur de 15% (Ouchkif, 1988a) ou 12 à 25% (Gharnit, 1997; Gharnit et al., 2001) de rendement de gousse en graines. D'après plusieurs auteurs, ce

rendement est sensiblement variable, notamment dans les pays méditerranéens où il est de l'ordre de 5 à 27% (Caja et al., 1988; Crescimanno et al., 1988; Marakis et al., 1988). En Espagne, le rendement moyen en graines est estimé de 8 à 10%; mais peut être important chez certaines provenances, tel que 'Duraió' (16 à 17%), 'Sayalonga' (13 à 14%) et 'Banya Cabra' (13 à 14%) ou faible comme 'Negra' (7 à 9%) (Tous et al., 1996). En Italie, la production de graines par les provenances locaux est moyennement faible et estimée à 8% (Tous et al., 1996). Au Portugal, elle est moyenne et peut atteindre 12 à 14% chez le cultivar 'Mulata' ou 14 à 16% chez 'Galhosa' (Tous et al., 1996). En Chypre, elle est moyennement faible (8 à 11%) chez le cultivar 'Tyllirio' ou moyenne (14 à 15%).

Se basant sur le fait que la production des graines est plus importante chez le caroubier de types sauvages par rapport aux cultivars sélectionnés (Marakis et al., 1988; Di Lorenza, 1991; Tous et al., 1995; Batlle et Tous, 1997; Gharnit et al., 2001), nous pouvons insinuer que les provenances Marocaines, à l'image de nos différents échantillons, manifestent des traits typiquement sauvages. Ceci, confirme les rapports de Ouchkif (1988a), Batlle et Tous (1997) et Gharnit et al., (2001) qui ont souligné que la production massive des gousses et des graines, au Maroc, est assurée par les populations domestiquées.

Chapitre II.2.2. Caractérisations physico-chimiques de la pulpe

II.2.2.1. Matière sèche

A partir du **tableau 8**, les teneurs en matière sèche de la pulpe de caroube des différentes régions sont plus ou moins voisines les unes des autres. Les valeurs moyennes sont comprises entre 86.53g/100g et 87.84 g/100g. Les échantillons qui proviennent de Taroudant présentent une teneur relativement plus élevée égale à 87.84 g/100g, celle de Béni-Mellal vient en dernière position avec 86.53 g/100g. Pour tous les échantillons étudiés, aucune différence significative ($Pr > 0.05$) n'a été observée. Ces valeurs rejoignent celles de Stavroula et al., (2011), tandis qu'elles sont inférieures à celles obtenues par Yousif et Alghzawi (2000) qui sont de l'ordre de 91 g/100g, pour la caroube de Jordanie et celles d'Avallone et al. (1997) qui sont de l'ordre de 90-94 g/100g pour des provenances Italiennes.

Tableau 8 : Composition physicochimique de la pulpe de la caroube des sept régions de provenance Marocains.

Paramètres Régions de provenance	Matière sèche (g/100g MF)	Cendres (g/100g MS)	Protéines (g/100g MS)	Sucres totaux (g/100g MS)	Sucres réducteurs (g/100g MS)	Matière grasse (g/100g MS)	Polyphénol totaux (mg/g MS)
Taroudante	87.84±0.08	3.65±0.05	4.5 ± 0.2	37.2 ± 2.3	12.2 ± 0.8	0.67±0.07	3.00±0.30
Agadir	87.33±0.10	3.86±0.07	4.3 ± 0.2	31.5 ± 2.2	11.3 ± 0.8	0.57±0.03	4.30±0.50
Essaouira	87.26 ±0.09	3.18±0.01	3.9 ± 0.3	50.1 ± 3.1	14.6 ± 0.9	0.52±0.03	3.95±0.35
Marrakech	87.39±0.09	2.44±0.02	3.2 ± 0.3	40.1 ± 2.6	11.3 ± 0.8	0.54±0.04	2.85±0.05
Beni Mellal	86.53±0.08	3.13±0.02	4.1 ± 0.3	37.9 ± 2.0	12.5 ± 0.7	0.66±0.06	4.60±.20
Taza	86.56±0.09	2.97±0.05	3.1 ± 0.4	42.3 ± 2.7	11.9 ± 0.7	0.50±0.07	3.90±0.3
El Hoceima	87.18±0.09	3.89±0.03	4.3 ± 0.1	37.9 ± 2.3	13.5 ± 0.6	0.80±0.03	3.50±.03

II.2.2.2. Teneur en cendres

Les teneurs en cendres des échantillons des sept régions de provenance de caroube sont données dans le tableau 8. De façon générale, la teneur en cendres dans tous les échantillons étudiés varie entre 2.44 et 3.89 g/100g MS. La teneur en cendres de Taza a différé de manière significative ($P_r < 0.05$) de celle d'Agadir, de Marrakech et d'El Hoceima. Les valeurs trouvées sont tout à fait en conformité avec la gamme trouvée par d'autres chercheurs (1 à 3g/100g MS) (Petit et Pinilla, 1995 ; Battle et Tous, 1997; Sànchez et al., 2010).

II.2.2.3. Protéines

La teneur en protéines dans la pulpe de caroube des sept régions analysée est donnée dans le tableau 8. De façon générale, les échantillons contiennent des quantités appréciables de protéines (3.05 - 4.5 g/100g MS). Ces valeurs sont semblables aux résultats trouvés par d'autres chercheurs qui ont rapporté des gammes de 1.0 à 7.6 g/100g MS (Calixto &

Canellas, 1982 ; Owen et al, 2003). On n'a observé aucune différence significative ($P_r > 0.05$) entre la teneur en protéines des échantillons d'Essaouira, Béni-Mellal et El Hoceima. Les échantillons de Marrakech et Taza ont différé de manière significative ($P < 0.05$) de toutes les autres régions.

II.2.2.4. Matière grasse

Les teneurs en matière grasse des sept régions de provenance de caroube présentées dans le tableau 8 sont comprises entre 0.50 et 0.8 g/100g MS. Les échantillons qui proviennent d'El Hoceima présentent une teneur moyenne relativement élevée (0.80 g/100g MS) par rapport aux autres régions. Les échantillons de Béni-Mellal viennent en dernière position avec (0.5 g/100g MS). Cette étude a indiqué que les échantillons d'El Hoceima ont différé de manière significative ($P_r < 0.05$) de ceux d'Agadir, Essaouira, Marrakech et Taza. On n'a observé aucune ($P_r > 0.05$) différence significative entre les échantillons de Taroudant, Agadir, Essaouira, Marrakech, Béni-Mellal et Taza.

De façon générale, la teneur en matière grasse dans les échantillons de chacune des sept régions était très basse (en-dessous de 1g/100g MS). Ces résultats sont comparables à ceux obtenus par Marakis (1996) pour des échantillons originaires d'Espagne (0.2 et 2.3 g/100g MS).

Les fruits avec un contenu à haute teneur en matière grasse sont souvent fortement périssables en raison de l'hydrolyse et de l'oxydation de lipide menant à la rancidité. On peut, donc, assumer qu'une basse teneur en graisse à un effet positif sur la durée de conservation (2 à 3 ans) des pulpes de caroube (Curtis et Race, 1998).

II.2.2.5. Teneurs en sucres totaux et réducteurs

La caroube est un fruit riche en sucres simples, ce qui lui vaut sa saveur très sucrée et son utilisation comme aliment de bétail ou source de sirop. Selon les résultats de notre étude (tableau 8), les teneurs en sucres totaux varient entre 31.5 et 50.1 g/100g MS respectivement dans les échantillons des régions d'Agadir et d'Essaouira. Alors que les teneurs en sucres réducteurs varient entre 11.3 g/100g MS dans les échantillons de Marrakech et Agadir et 14.6 g/100g MS dans les échantillons d'Essaouira.

Ces résultats sont très similaires à ceux rapportés dans d'autres régions de la Méditerranée telle l'Espagne (46.9 g/100g MS pour les sucres totaux, 12.7 g/100g MS pour les sucres

réducteurs (Albanell et al 1991) et la turkey (43.8 g/100g MS pour les sucres totaux, 10.3 g/100g MS pour les sucres réducteurs) (Vardar et al. 1972).

II.2.2.6. Teneur en polyphénols totaux des extraits de la caroube

Les teneurs en polyphénols totaux, exprimées en équivalent d'acide gallique, des extraits de pulpe de la caroube varient de 2.85 mg/g MS à 4.60 mg/g MS (Tableau 8). Les pulpes de provenance de Béni-Mellal (4.60 mg/g MS) et Agadir (4.30 mg/g MS) étant les plus riches, tandis que les valeurs le plus basses sont obtenues pour les échantillons de Marrakech (2.85 mg/g MS).

La caroube de Béni-Mellal a un contenu significativement ($P_r < 0,05$) plus élevé en polyphénol que les autres provenances. Aucune différence significative n'a été observée ($P_r > 0.05$) dans les échantillons d'Agadir, Essaouira et Taza.

Les résultats que nous avons obtenus sont conformes avec les taux de polyphénols obtenus dans l'étude de Papagiannopoulos et al., (2004) de l'ordre de 4.14mg/g MS et celle de Bengoechea et al., (2008) de l'ordre de 4.5mg/g MS, tandis qu'ils sont inférieurs à ceux obtenus par Avallon et al. (1997) qui sont de l'ordre de 19mg/g de MS et d'Ortega et al., (2011) qui sont de l'ordre de 6.12mg/g MS.

La caroube étant riche en polyphénols, a suscité l'intérêt de plusieurs chercheurs qui ont trouvé que les polyphénols de la caroube réduisaient le taux de glucose dans le sang et qu'ils avaient un index glycémique de 83.4% (Doha et al., 2008). Selon les travaux de Ben Hsouna et al. (1986), les polyphénols de la caroube possèdent une activité antioxydante ainsi qu'antibactérienne et antifongique, de plus ils agissent contre le stress oxydatif au niveau des cellules du colon, ce qui leur confère la propriété anti-cancérigène (Klenow et al.2009).

II.2.2.7. Composition minérale

Le tableau 9 regroupe les résultats de dosage des minéraux contenus dans la pulpe de caroube: sodium, potassium, phosphore, calcium, magnésium, cuivre, zinc, manganèse et fer. Les teneurs moyennes obtenues sont de l'ordre de 237.1- 350.6mg/100g MS pour le calcium, 48.2- 86.4mg/100g MS pour le phosphore, 850.8-1169.3 mg/100g MS pour le potassium, 45.3- 137.7mg/100g MS pour le magnésium, 4.11 – 13.6 mg/100g MS pour le sodium, 0.27-1.25mg/100g MS pour le manganèse, 0.73-2.90mg/100g MS pour le fer,

0.16-0.85mg/100g MS pour le cuivre et 0.17-0.75mg/100g MS pour le zinc. On a également observé des différences significatives ($P_r < 0.05$) entre les différentes compositions minérales des échantillons de caroube étudiés.

Ces résultats sont très similaires à ceux rapportés dans d'autres régions de la Méditerranée telle que l'Espagne (Batlle et Tous, 1997), la Jordanie (Shawakfeh & Ereifej, 2005) et la Turquie (Ayaz et al., 2007).

Tableau 9. Composition minérale de la pulpe de caroube (exprimée en mg par 100 g MS) dans sept régions de provenance Marocaines

Région de Provenance	K	P	Ca	Mg	Na	Fe	Mn	Zn	Cu
<i>Taroudant</i>	970.0± 10.1	71.5± 2.3	300.8± 3.0	60.4± 1.5	4.5± 0.3	1.88± 0.08	1.29± 0.01	0.75± 0.08	0.85± 0.09
<i>Agadir</i>	860.5±7.6	82.3± 1.45	350.6± 2.7	50.2± 3.3	10.0± 0.6	2.90± 0.12	0.27± 0.01	0.21± 0.04	0.16± 0.06
<i>Essaouira</i>	1065.4± 13.3	52.1± 1.11	237.1± 1.2	66.8± 2.7	4.11± 0.9	0.73± 0.13	0.99± 0.03	0.69± 0.05	0.17± 0.07
<i>Marrakech</i>	852.3± 8.5	48.2± 0.8	301.5± 2.1	92.1± 1.8	13.6± 1.3	0.98± 0.03	1.23± 0.06	0.67± 0.04	0.23± 0.03
<i>Beni Mellal</i>	1169.3± 12.6	55.7± 2.0	332.2± 2.1	137.7± 3.8	9.6± 0.7	2.40± 0.16	1.25± 0.05	0.20± 0.01	1.28± 0.09
<i>Taza</i>	990.2± 12.3	78.8± 1.4	380.9± 4.8	90.1± 1.5	12.9± 1.3	2.16± 0.11	0.75± 0.06	0.23± 0.02	0.17± 0.02
<i>El Hoceima</i>	850.8± 7.6	86.4± 0.9	370.5± 2.7	45.3± 2.5	6.9± 0.5	1.15± 0.04	0.86± 0.07	0.17± 0.01	0.32± 0.06

Chapitre II.2.3. Caractérisation physico-chimique de la graine de caroube

II.2.3.1. Matière sèche

Les teneurs en matière sèche des graines de caroube dans les échantillons des différentes régions sont comprises entre 86.45 g/100g et 88.68 g/100g (tableau 10).

Les échantillons qui proviennent de Marrakech présentent une teneur moyenne relativement élevée égale à 88.68 g/100g, alors que la teneur minimale est enregistrée dans les échantillons en provenance de Taroudant qui est de l'ordre de 86.45 g/100g.

Pour tous les échantillons étudiés, aucune différence significative ($P_r > 0.05$) n'a été observée. Ces valeurs rejoignent celles obtenues par Vardar et al., (1972) et Fadel et al., (2011), tandis qu'elles sont moins élevées que celles obtenues par Avallone et al., (1997) (91 g/100g MF) pour des échantillons en provenance de l'Italie.

Tableau 10. Composition physicochimique de la graine de caroube dans sept régions de provenance Marocains.

Paramètres Régions de provenance	Matière sèche (g/100g MF)	Cendres (g/100g MS)	Protéines (g/100g MS)	Matière grasse (g/100g MS)	Polyphénol totaux (mg/g MS)
Taroudante	86.45±0.07	3.15±0.07	15.15±0.55	1.54±0.07	0.55±0.05
Agadir	89.23±0.06	3.31±0.06	15.15±0.36	1.47±0.05	0.56±0.07
Essaouira	88.65±0.03	3.27±0.07	14.16±0.37	1.64±0.03	0.53±0.11
Marrakech	88.69±0.09	2.89±0.06	13.17±0.67	1.56±0.04	0.55±0.12
Beni Mellal	87.26±0.06	3.46±0.05	15.15±0.45	1.54±0.02	0.59±0.10
Taza	87.84±0.08	3.02±0.04	13.16±0.56	1.50±0.09	0.54±0.09
El Hoceima	88.53±0.07	2.88±0.02	15.20±0.37	1.67±0.05	0.56±0.07

II.2.3.2. Teneur en cendres :

Les teneurs en cendres des graines de caroube dans les sept régions de provenance sont données dans le tableau 10. Les valeurs moyennes obtenues varient entre 2.88 et 3.46 g/100g MS. La teneur en cendres de la région de Béni-Mellal a différé de manière significative ($P_r < 0.05$) de toutes les autres régions. Pour les échantillons de Marrakech et

El Hoceima, aucune différence significative ($P_r > 0.05$) n'a été observée.

Les valeurs trouvées sont comparables avec la gamme trouvée par d'autres chercheurs (0.4-4.1 g/100g MS) (Vardar et al., 1972 ; Moh'd Khair et al., 2001 ; Calixto & Cañellas, 1982; Bravo et al., 1994; Avallone et al., 1997; Yousif & Alghzawi, 2000; El-Shatnawi & Ereifej, 2001).

II.2.3.3. Protéines

Les teneurs en protéines dans les graines de caroube des sept régions étudiées sont données dans le tableau 10. En moyenne, les échantillons analysés présentent des quantités appréciables en protéine qui varient entre 13.16 et 15.20 g/100g MS. Ces valeurs sont comparables à celles trouvées par d'autres chercheurs comprises entre 13.02 et 16.17 g/100g MS (Vardar et al., 1972; El-Shatnawi & Ereifej, 2001), inférieure à celles trouvées par Faudel et al. (2011) qui sont de l'ordre de 26.47-27.48 g/100g MS et supérieures à celles obtenues par Avallone et al. (1997) de l'ordre de 1 g/100g MS.

Lors de cette étude, aucune différence significative ($P_r > 0.05$) n'a été remarquée entre les échantillons en provenance de Taroudant, Agadir et Béni-Mellal.

Les échantillons en provenance de Marrakech et Taza se distinguent de manière significative ($P_r < 0.05$) de ceux en provenance de Taroudant, Agadir, Béni-Mellal et El Hoceima.

II.2.3.4. Matière grasse

Les teneurs en matière grasse des échantillons en provenance des sept régions sont données dans le tableau 10. Les résultats trouvés varient entre 1.50 et 1.67 g/100g MS.

Les échantillons qui proviennent d'El Hoceima présentent une teneur moyenne relativement plus élevée (1.67 g/100g MS) par rapport aux autres régions. Les graines de caroube de Taroudant viennent en dernière position avec (1.47 g/100g MS).

Les contenus en matière grasse des échantillons en provenance de Taroudant, Marrakech et Béni-Mellal sont semblables mais ils diffèrent de manière significative ($P_r < 0.05$) par rapport aux autres régions.

De façon générale, les résultats obtenus dans notre étude sont en accord avec les travaux de Faudel et al., (2011) (1.67-2.22 g/100g MS). Ils sont inférieurs à ceux trouvés par

Shawakfeh & Ereifej (2005) (2.8-3.1 g/100g MS), et supérieurs à ceux trouvés par Avallone et al., (1997) (1 g/100g MS).

II.2.3.5. Teneur en polyphénols des extraits de la graine de caroube

Les teneurs en polyphénols totaux, exprimée en équivalent d'acide gallique, des extraits des graines de caroube varient de 0.53 mg/g MS à 0.59 mg/g MS (Tableau 10). Les graines de provenance de Béni-Mellal (0,59 mg/g MS) sont les plus riches en polyphénol totaux, tandis que les valeurs les plus basses se trouvent dans les échantillons d'Essaouira (0,53 mg/g MS).

Les échantillons de Béni-Mellal ont un contenu phénolique significativement ($P_r < 0,05$) plus élevé que toutes les autres provenances. Les résultats obtenus sont inférieurs à ceux enregistrés par Avallone et al., (1997) qui sont de l'ordre de 0.66mg/g de MS pour les graines de la caroube Italienne.

II.2.3.6. Composition minérale

Le tableau 11 regroupe les résultats du dosage des minéraux: sodium, potassium, phosphore, calcium, magnésium, cuivre, zinc, manganèse et fer. Les teneurs moyennes exprimées en mg/100g MS sont de l'ordre de 280.5- 401.5 pour le calcium; 52.1- 75.0 pour le phosphore; 795.1-1175.8 pour le potassium; 65.2- 144.5 pour le magnésium; 4.53 – 14.8 pour le sodium; 0.99- 2.77 pour le manganèse; 2.82-9.80 pour le fer; 0.23-1.98 pour le cuivre et 0.26-1.98 pour le zinc.

Des différences significatives ($P_r < 0.05$) ont été constatées dans les compositions minérales des différents échantillons. Ces résultats rejoignent ceux obtenus par Shawakfeh & Ereifej (2005).

Tableau 11 : Composition minérale des graines de caroube (exprimée en mg par 100 g MS) de sept régions de provenance Marocaines

Région de Provenance	K	P	Ca	Mg	Na	Fe	Mn	Zn	Cu
Taroudant	1075.8± 9.3	57.7± 2.9	280.5± 5.5	76.52± 4.1	4.8± 0.8	4.88± 0.06	2.20± 0.03	0.93± 0.09	1.75± 0.05
Agadir	910.2± 9.8	64.3± 3.3	339.2± 4.3	65.2± 5.8	11.2± 1.5	9.80± 0.09	1.92± 0.02	0.28± 0.07	0.33± 0.04
Essaouira	936.5±7.6	66.4± 3. 1	337.67± 3.2	87.5± 2.7	4.53± 1.3	2.82± 0.12	1.47± 0.05	0.88± 0.07	0.37± 0.02
Marrakech	1002.6± 12.5	73.5± 1.9	401.5± 6.0	122.2± 10.0	14.8± 0.9	3.45± 0.07	2.77± 0.07	0.85± 0.08	0.23± 0.02
Beni Mellal	1166.3± 10.7	75.0± 2. 1	395.1± 4.2	144.5± 11.4	10.7± 1.5	7.22± 0.24	2.65± 0.08	0.26± 0.03	1.98± 0.04
Taza	845.4± 9.0	68.8± 4.0	394.4± 3.8	135.4± 9.5	8.5± 1.0	6.85± 0.09	1.33± 0.06	0.32± 0.02	0.45± 0.02
El Hoceima	795.1± 8.8	52.1± 1.1	365.6± 4.1	68.8± 3.3	7.2± 1.1	4.35± 0.10	0.99± 0.06	0.26± 0.01	0.77± 0.01

II.3. Synthèse et Conclusion de la partie II

Cette deuxième partie du travail avait pour objectif : la caractérisation morphologique et la détermination de la composition physico-chimique des deux composantes principales de la caroube : la pulpe et les graines à travers les échantillons recueillis au niveau de sept régions de provenance représentatives du Maroc, ceci afin de différencier les collections locales et les comparer à celles des autres pays.

Les mesures de la longueur, largeur et épaisseur des gousses donnent une indication d'ordre agronomique importante. Ils permettent également d'avoir des informations sur la forme des fruits de différentes provenances.

Les résultats observés montrent que les échantillons de la région d'El Hoceima sont caractérisés par une taille moyenne par rapport aux autres provenances qui ont une taille généralement courte.

La largeur des gousses est indépendante de sa taille et peut renseigner non seulement sur son état comprimé ou élargi, mais aussi sur le volume des graines et de la pulpe. Les gousses d'El Hoceima sont les plus larges. Les largeurs les plus faibles sont observées dans celles de la région de Taza, Béni-Mellal et Taroudant.

La mesure de l'épaisseur des gousses nous a permis de distinguer les accessions caractérisées par des gousses un peu volumineuses à savoir Al Hoceima, des autres accessions ayant des gousses aplaties ou comprimées : Agadir, Essaouira, Marrakech, Taroudant, Béni-Mellal et Taza.

A partir de ces résultats, on note l'existence d'une variabilité considérable de la forme des fruits du caroubier d'une région à l'autre, ce qui constitue un critère de distinction des gousses comprimées ou volumineuses.

Les variables morphologiques mesurées précédemment influencent énormément le poids total des gousses ainsi que la quantité de pulpe. En effet, nous avons observé qu'en général, les accessions ayant un important poids de fruit et de pulpe sont celles qui ont des gousses assez longues, larges et épaisses en particulier celles d'El Hoceima et Essaouira.

La pulpe constitue le principal composant de la gousse (71 à 80% du poids total), elle dépasse les 75% dans les accessions d'Essaouira, Al Hoceima, Taroudant et Agadir.

Comme la plupart des caractères, le nombre moyen des graines par gousse est très variable. Selon nos résultats, nous avons obtenu 8 à 12 graines par gousse. Les accessions ayant le plus grand nombre de graines par gousse sont celles de Marrakech et Al Hoceima, Par contre, celles de Taroudant, Agadir et Essaouira sont caractérisées par un faible nombre de graines par gousse. Par ailleurs, certains auteurs ont rapporté que la gousse du caroubier peut renfermer entre 12 à 16 graines (Tutin et al., 1993; Gharnit, 1997). L'abondance des graines dans les gousses d'une production de caroubier, serait un caractère distinctif entre les types sauvages et cultivars. En effet, les types sauvages sont connus pour leur grande production de graines qui sont généralement petites et non charnues (Marakis et al. 1988; Ouchkif, 1988; Di Lorenzo, 1991).

Le rendement de gousse en graines varie en moyenne de 19,8 à 29,4%. Il est très important chez l'accession de Taza, moyen chez les cinq autres accessions, Essaouira, Taroudant, Agadir, Marrakech et Béni-Mellal et faible chez l'accession d'El Hoceima. Ces données sont en parfaite concordance avec les résultats de certains travaux réalisés au Maroc (Ouchkif, 1988a ; Gharnit, 1997; Gharnit et al., 2001).

En conclusion, la détermination des caractéristiques morphologiques de différentes provenances étudiées nous a montré que les fruits de caroubier marocains sont généralement caractérisés par des formes légèrement courtes et comprimés. En ce qui concerne le poids du fruit et le pourcentage en pulpe, nous avons constaté que les fruits d'El Hoceima présentent les valeurs les plus importantes. Pour le rendement en graine, la caroube de Taza présente les valeurs les plus élevées. Les proportions en pulpes sont moins élevées par rapport aux fruits Portugaises, Espagnoles et Italiennes. Par contre, les proportions en graines sont relativement élevées.

Les valeurs agro-alimentaires et industrielles du caroubier résident, principalement, dans la teneur de ses fruits en pulpe, mais aussi dans la composition chimique de cette dernière. Selon Batlle et Tous (1997) et Barracosa et al. (2007), les provenances espagnoles et portugaises sont largement caractérisées par leur grande quantité de pulpe contenue dans la gousse. Cependant, la quantité de pulpe produite au Maroc est significative et son exportation a été estimée, par Ouchkif (1988a; cité dans Gharnit et al., 2001) à 20131 tonnes/an.

La composition physico-chimique de la pulpe et des graines des échantillons recueillis au

niveau des sept régions de provenance, montre une variabilité importante d'une région à l'autre. Celle-ci peut être liée aux provenances et aux conditions climatiques (Petit et Pinilla, 1995; Biner et al., 2007).

La pulpe de la caroube se caractérise par une faible teneur en eau (12.16 à 13.47%) par rapport aux d'autres fruits communs. Elle est nettement plus riche en sucres, puisqu'on en trouve 315 à 501 g par Kg en moyenne (dans la plupart des fruits communs, l'apport est généralement compris entre 80 et 100 g par Kg). Il s'agit à parts égales de glucose et de fructose, avec des traces de saccharose. Ces résultats sont comparables à ceux rapportés dans d'autres régions de la Méditerranée telle l'Espagne Pukhan et al (1996), l'Italie Avallon et al (1997) et la Jordanie Youssif et al (2000). Grâce à cette teneur élevée en sucres, la caroube peut être considérée comme un édulcorant naturel.

Par rapport aux autres fruits, la pulpe des fruits de caroubier se caractérise par un taux faible de matières grasses avec des valeurs de l'ordre de 0.50 à 0.8 g/100g MS qui les classe parmi les aliments non gras. Ces valeurs sont comparables à celles citées dans la littérature.

Les protéines sont très peu abondantes dans les sept régions de caroube analysée avec des teneurs comprises entre 3.05 - 4.5 g/100g MS. Ces résultats sont comparables à ceux rapportés par d'autres chercheurs de l'ordre de 1.0 à 7.6 g/100g MS (Ellas de Calixto et de CA D, 1982 ; Owen et al, 2003).

Les taux de polyphénol totaux varient entre 2.85 et 4.6 mg/g MS. Ces valeurs sont comparables aux résultats cités dans la littérature pour des variétés d'origine tunisienne (Bengoechea et al. 2008) et légèrement inférieurs par rapport aux variétés italiennes et espagnols (Avallon et al., 1997 ; Ortega et al., 2011).

Au niveau du profil minéral, le taux de cendres varie entre 2.44 et 3.89 g/100g MS. Ces valeurs sont en conformité avec la gamme trouvée par d'autres chercheurs (1.0 – 3 g/100g MS) (Petit et Pinilla, 1995 ; Battle et Tous, 1997; Sánchez et al., 2010). La variabilité importante des résultats d'une provenance à l'autre peut être expliquée par la relation entre les teneurs en constituants minéraux du fruit et la composition minérale des sols dans les régions de culture.

Parmi les minéraux, dont l'apport est très diversifié, le potassium occupe une place

privilegiée : du fait de sa relative abondance 850.8-1169.3 mg/100g MS. Phosphore, Calcium, sodium et magnésium font partie des minéraux dont la pulpe de caroube est bien pourvue. On note aussi la présence des oligo-éléments en quantités moyennes non négligeables, puisqu'on relève la présence de fer (0.73-2.90 mg/100g MS), manganèse (0.27-1.29 mg/100g MS), zinc (0.17-0.75 mg/100g MS) et cuivre (0.16-1.28 mg/100g MS). Ces résultats se concordent avec ceux rapportés dans d'autres régions de la Méditerranée telle l'Espagne, la Jordanie et la Turquie (Batlle et Tous 1997, Shawakfeh & Ereifej 2005, Ayaz et al. 2007). La pulpe de caroube contribue ainsi efficacement à la couverture du besoin minéral de l'organisme, grâce à ce large éventail d'apport.

Nous avons constaté également que les résultats obtenus pour les fruits étudiés sont très variables d'un échantillon à l'autre. Ceci peut être attribué à la variation des facteurs agronomiques caractérisant chaque région, du climat, de la composition du sol, des procédés agro techniques différents, des degrés de maturité à la récolte et de la fertilisation azotée et minérale.

Concernant la caractérisation chimique des graines, les teneurs en matière sèche pour les différentes régions sont comprises entre 86.45 et 88.68 g/100g MF. Les échantillons étudiés contiennent des quantités appréciables en protéine de l'ordre de 13.16 à 15.20 g/100g MS. Ces valeurs sont comparables aux résultats cités dans la littérature.

La teneur en matière grasse est relativement faible et varie entre 1.47 et 1.67 (g/100g MS). Les résultats obtenus sont en accord avec les travaux réalisés sur des graines de la caroube marocaine (Faudel et al., 2011), supérieurs à ceux obtenus pour les variétés Italiennes (Avallón et al., 1997) et moins élevés que ceux obtenus pour la caroube originaire de la Jordanie (Shawakfeh & Ereifej, 2005).

En ce qui concerne la composition en éléments minéraux, les graines de la caroube sont très riches en potassium 795.1-1175.8 mg/100g MS, suivie du calcium, magnésium, phosphore et sodium. Le fer est le plus abondant parmi les oligoéléments 2.82-9.80 mg/100g MS suivi du manganèse, cuivre et zinc. Ces résultats sont très similaires à ceux rapportés dans d'autres régions de la Méditerranée telle l'Espagne, la Jordanie et la Turquie (Batlle et Tous 1997, Shawakfeh & Ereifej 2005, Ayaz et al. 2007)

En conclusion, les différents provenances étudiés nous ont montrés que les fruits de

caroubier marocains sont généralement caractérisés par des formes légèrement courtes et comprimés. La pulpe de caroube est très riche en sucre et en éléments minéraux en particulier le potassium et le fer, et pauvre en matière grasses et protéine. Ces derniers sont concentrés dans les graines. Les teneurs en polyphénols dans les deux composantes du fruit sont appréciables.

Partie III :

Valorisation de la graine de caroube : Optimisation de l'extraction de la gomme et étude de son comportement rhéologique

Publication 1

Hicham El Batal, Aziz Hasib*, 2013. Optimization of extraction process of carob bean gum purified from carob seeds by response surface methodology. ***Chemical and Process Engineering Research***. (In press)

Publication 2

H. El Batal, A. Hasib*, A. Ouatmane, A. Boulli, F. Dehbi, A. Jaouad, 2013. Yield and composition of carob bean gum produced from different Moroccan populations of carob (*Ceratonia siliqua* L.) . ***J. Mater. Environ. Sci.*** 4 (2) 309-314

Publication 3

Hicham El Batal, Aziz Hasib*, Aziz Ouatmane, Abderrahim Jaouad, Mohammed Naïmi, 2012. Rheology and influence factor of *Locust Bean Gum* solution. ***Revue de Génie Industriel***, 8, 55-62

III. Valorisation de la graine de caroube : Optimisation de l'extraction de la gomme et étude de son comportement rhéologique

- Introduction :

De nos jours, la valeur commerciale principale de la culture du caroubier repose surtout sur les constituants de l'endosperme, qui n'est autre qu'un galactomannane représentant une molécule d'un polysaccharide composé de manose et galactose dans une proportion de 4/1. Ce polysaccharide obtenu par broyage de la graine de la caroube, peut être soumise à plusieurs degrés de pureté. La gomme de caroube, la plus pure, peut être utilisée comme additif alimentaire connu sous le sigle E410.

Cette partie se compose de trois chapitres :

Chapitre III.1: Optimization of extraction process of carob bean gum purified from carob seeds by response surface methodology(Publication 1)

Au cours de ce chapitre, nous avons étudié l'extraction de la gomme de caroube. Il a pour but d'optimiser les performances d'extraction en déterminant les valeurs optimales des paramètres opératoires de l'extraction, à savoir la température, le temps et le rapport (eau/endosperme). Pour ce faire un plan d'expérience de type composite centré est appliqué, et les courbes isoréponses, ainsi tracées, permettent de trouver l'ensemble des valeurs des facteurs opératoires donnant un rendement maximal.

Grâce au model du second degré élaboré, nous avons mis en évidence l'existence des effets d'interaction entre la Température et le temps et entre la température et le rapport (eau/endosperme).

Le tracé des surfaces de réponses révèle l'existence d'un maximum en rendement de l'extraction de 69% pour une température 97°C, un temps 36 min et un rapport (eau/endosperme) (197:1).

ChapitreIII.2: Yield and composition of carob bean gum produced from different Moroccan populations of carob (Ceratonia siliqua L.)(Publication 2)

Le deuxième chapitre a pour but d'identifier un ou plusieurs écotypes marocains de caroubier, plus productifs et présentant une performance biochimique importante.

En effet nous avons effectué une analyse biochimique comparative de la gomme de caroube entre 7 provenances du caroubier. Les caractères qui ont fait l'objet de notre étude sont le rendement en graine, endosperme et gomme. En plus de l'analyse de l'humidité, les cendres et les protéines brutes de la gomme obtenue. Au terme de ce travail il s'est avéré que le caroubier marocain présente un rendement élevé de graines qui fournissent un rendement élevé d'endosperme.

En dernier lieu, nous avons exposé les résultats obtenus afin de les comparer à d'autres travaux cités dans la bibliographie.

Chapitre III.3: Rheology and influence factor of Locust Bean Gum solution (Publication 3)

Le troisième chapitre est consacré à l'étude du comportement rhéologique de la gomme de graine de caroube en solution aqueuse. Les courbes d'écoulement ont été établies aux différents taux de cisaillement ($10-1000 \text{ s}^{-1}$), des températures ($10-60 \text{ }^{\circ}\text{C}$), et valeurs du pH ($3.0-6.0$) employant un viscosimètre concentrique de rotation de cylindres. Les résultats obtenus prouvent que la solution étudiée montre un comportement cisailleur-amincissant, qui se compose d'une diminution de la viscosité avec le taux de cisaillement à une température donnée. On a également observé une diminution de la viscosité efficace avec la température, ce qui indique un comportement thermo-dépendant d'une telle solution.

Chapitre III.1

Optimization of extraction process of carob bean gum purified from carob seeds by response surface methodology

Hicham El Batal¹, Aziz Hasib^{1*}

Laboratory of Environment and Valorization of Agro-resources; Faculty of Science and Technology of Beni-Mellal; University of Sultan Moulay Slimane; Morocco

* E-mail of the corresponding author: azhasib@yahoo.fr

Abstract

The carob product most widely used, especially for the food industry, is the carob bean gum (CBG), or locust bean gum (LBG). This gum comes from the endosperm of the seed and chemically is a polysaccharide, a galactomannan. It is used as thickener, stabilizer, emulsifier and gelling agent.

Response surface methodology (RSM) was applied to optimize the extraction of CBG from Moroccan carob seeds. A central composite design was used for experimental design and analysis of the results searching for the optimal extraction conditions: Extraction temperature, extraction time and water to endosperm seeds ratio. Based on the RSM analysis, optimum conditions were: temperature 97°C, time 36 min and water to endosperm of seeds ratio of (197:1). Under the optimized conditions, the experimental values were in close agreement with values predicted by the model and for wish. Predicted yield of carob gum extracted is 69% of endosperm seeds.

Keywords: Carob bean gum; Extraction; Central composite design; Optimization experiment.

III.1.1. Introduction

Carob (*Ceratonia siliqua* L.) is a typical tree of the semiarid environments in the Mediterranean area. This species belongs to the subfamily Caesalpinioideae of the Leguminosae family (Biner et al. 2007). It produces edible pods used as a fodder for breeding cattle; it has also a long history of application as a source of health products. World production is estimated at about 315 000 tons per year, produced from about 200 000 hectares with very variable yields depending on the cultivar, region, and farming practices (Makris & Kefalas 2004) and the main producers for (pulp, seeds) respectively are Spain (36%, 28%), Morocco (24%, 38%), Italy (10%, 8%), Portugal (10%, 8%), Greece (8%, 6%), Turkey (4%, 6%) and Cyprus (3%, 2%) (Ait chitt et al. 2007).

The two main carob pod constituents are pulp (90%) and seeds (10%) by weight (Tous et al. 1995). Carob pulp is high (48–56%) in total sugar content that include mainly sucrose, glucose, fructose and maltose. In addition it contains about 18% cellulose and hemicelluloses, (3–4%) protein and (0.4–0.8%) lipids (Santos et al. 2005). Also, ripe carob pods contain a large amount of condensed tannins (16–20%, d.b.). The pulp of carob pods is used extensively as a raw material for the production of syrups (Petit & Pinilla 1995; El Batal et al. 2011; El Batal et al. 2013) and crystallized sucrose for the food industry. On the other hand, carob seed constituents are seed coat (23–33%), endosperm (42–56%) and embryo (20–25%) by weight (Dakia et al. 2008).

Carob bean gum (CBG), is the refined endosperm of the seed of the carob pods (*Ceratonia siliqua*) by extraction of the seeds with water or aqueous alkaline solutions. The extraction of the gum from the seeds is a slow, difficult process, due principally to the hardness of the seed coat. Many bibliographical studies showed the effect of the conditions of extraction on the yield of extracted polysaccharides (XuJie & Wei 2008; RenJie 2008; Qiao et al. 2009; Firatligil-Durmus & Evranuz 2010).

CBG is a galactomannan composed of a linear chain 1→4 linked β -D-mannopyranosyl units, with α -D-galactopyranosyl residues 1→6 joined as irregularly spaced side chain (Belitz & Grosch 1999).

Featuring different physicochemical properties, CBG is a versatile material used for many applications: they are excellent stiffeners and stabilizers of emulsions, and the absence of toxicity allows their use in the textile, pharmaceutical, biomedical, cosmetics, nutrition sciences, and food industries (Srivastava & Kapoor 2005; Vieira et al. 2007; Matthausa & Ozcanb 2011; Vilà et al. 2012; Karababaa & Coskunerb 2013).

An important application of this biopolymer is its ability to form very viscous solution at relatively low concentration, to stabilize dispersion and emulsion and to replace fat in many dairy products. Carob gum properties are generally unaffected by pH, salts, or heat processing because it is non-ionic (Pollard et al. 2010; El Batal et al. 2011). It is also compatible with other gums and thickening agents (carraghenan, agar, xanthan) to form a more elastic and stronger gel (Puhan & Wielinga 1996). These properties of CBG allow its use as interesting additives for several industries, in particular for the food industry.

The objective of the present work was to optimize and study the effect of extraction temperature, extraction time and water to endosperm seeds ratio on the aqueous extraction yield of gum polysaccharide from carob seeds using the response surface methodology (RSM) widely applied in the food industry to determine the effects of several variables and optimize conditions.

III.1.2.Materials and methods

III.1.2.1.Samples

Samples of carob were collected during August–September, in 2009; from Morocco (Beni-Mellal region) in here they grow naturally. Sample were taken from 60 pods and stored at ambient temperature.

III.1.2.2.Extraction procedure

Figure 1 show the extraction and purification processes used in this work to obtain the purified CBG. The seeds are dehusked by treating the kernels with thermal mechanical treatments, followed by milling and screening of the peeled seeds to obtain the endosperm (native carob bean gum). The pretreated dry powder of crude carob bean gum was extracted with distilled water (ratio of water to endosperm of seeds ranging from (100 to 300), while

the temperature of the water bath ranged from (70°C to 90°C), for a given time (extraction time ranging from 20 to 60 min).

The solution and the solid-phase were separated by centrifugation at (21875rpm, 1h). The Carob Bean Gum is precipitated with one volume excess of isopropanol. The white fibrous precipitate formed was collected by filtration with screen 45µm, and washed twice with isopropanol and with acetone. After drying under vacuum overnight at 30°C, the precipitate was ground to a fine powder.

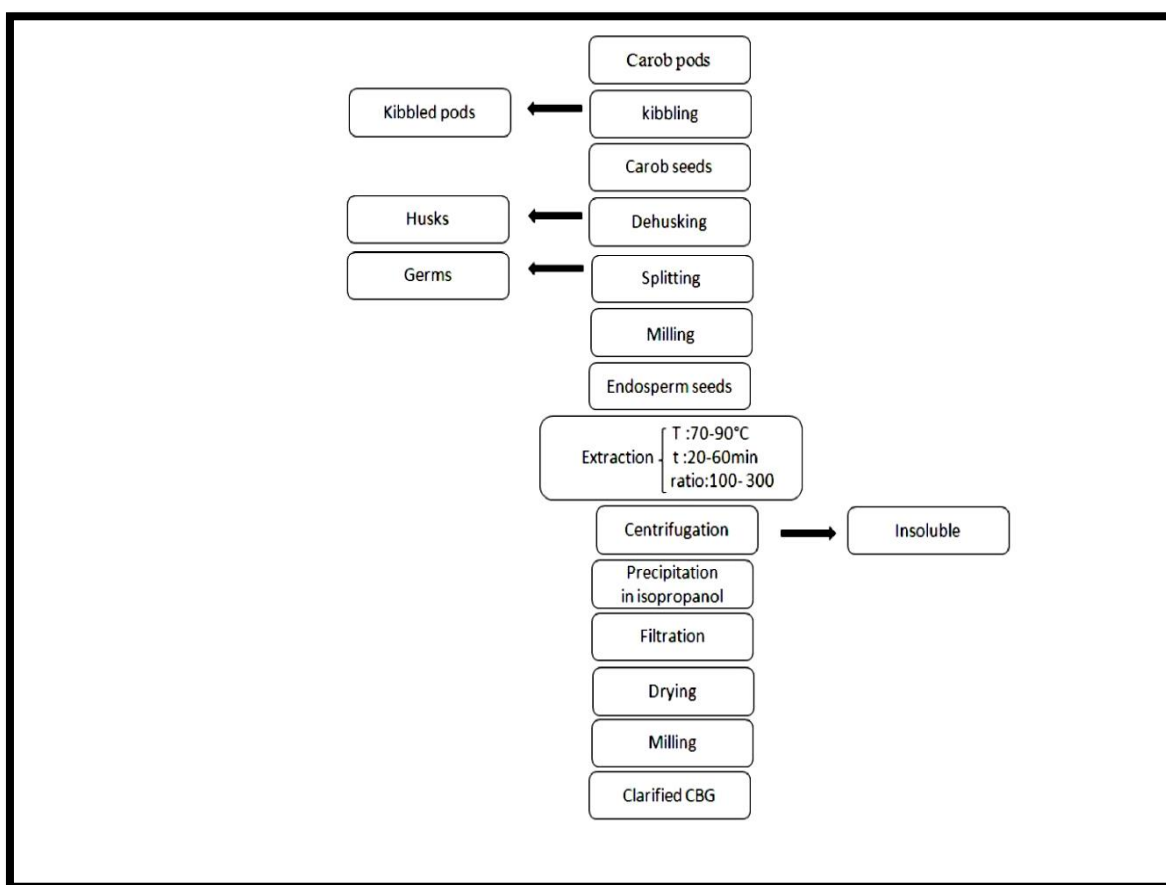


Figure 1. Extraction process of carob bean gum.

III.1.2.3. Experimental design

The extraction parameters were optimized using RSM (Myers & Montgomery, 1995). The central composite design (CCD) was employed in this regard. The range and center point values of three independent variables presented in Table 1 were based on the results of preliminary experiments and on the results of other authors (Bouzouita et al. 2007; Pollard et al. 2010).

Table 1. Independent variables and their levels used for central composite rotatable design

	-1.68	-1	0	1	1.68
Extraction temperature °C	63.18	70	80	90	96.81
Extraction time (min)	6.36	20	40	60	73.63
Ratio of water to endosperm of seeds	31.82	100	200	300	368.17

CCD in the experimental design consists of eight factorial points, six axial points and six replicates of the central point (Table 2). Extraction temperature (X_1), extraction time (X_2) and ratio of water to endosperm of seeds (X_3) were chosen for independent variables. Yield of polysaccharides was selected as the response for the combination of the independent variables given in (Table 2). Experimental runs were randomized to minimize the effects of unexpected variability in the observed responses.

The variables were coded according to the equation:

$$x_i = (X_i - X_0) / \Delta X \quad (1)$$

Where is the (dimensionless) coded value of the variable X_i , X_0 is the value of X_i at the centre point, and ΔX is the step change. Table 3 shows the actual design of experiments. The behavior of the system was explained by the following second degree polynomial equation:

$$Y = A_0 + \sum_{i=1}^3 A_i X_i + \sum_{i=1}^3 A_{ii} X_i^2 + \sum_{i=1}^2 \sum_{j=i+1}^3 A_{ij} X_i X_j \quad (2)$$

III.1.2.4. Statistical analyses

Analysis of the experimental design and calculation of predicted data were carried out using NEMRODW Software to estimate the response of the independent variables. Subsequently, three additional confirmation experiments were conducted to verify the validity of the statistical experimental strategies.

III.1.3. Result and discussion

III.1.3.1. Preliminary study

Single-factor experimental designs (extracting temperature, extracting times, and ratio of water to endosperm of seeds ratio) were carried out before RSM experiments, in order to determine the experimental fields.

III.1.3.1.1. Temperature

To investigate the effect of extracting temperature on the yield of carob been gum, extraction process was carried out using different extraction temperature of 60, 70, 80, 90 and 100°C, while other extracting parameters were fitted as following: extracting time 40 min and extracting ratio of water to endosperm of seeds 200. As shown in Figure 2, there was an increasing trend in the yield of carob gum from 60 to 90°C. This tendency was in agreement with other reports in extracting polysaccharides (Vinogradov et al. 2003).

The maximum yield (68.7%) of polysaccharides was observed when extraction temperature was 95°C; the effect is not significant when extracting temperature is higher than 90°C. Therefore, 80°C was selected as the centre point of extracting temperature in the RSM experiments as higher temperature will bring about the energy waste and cost increase for extraction process.

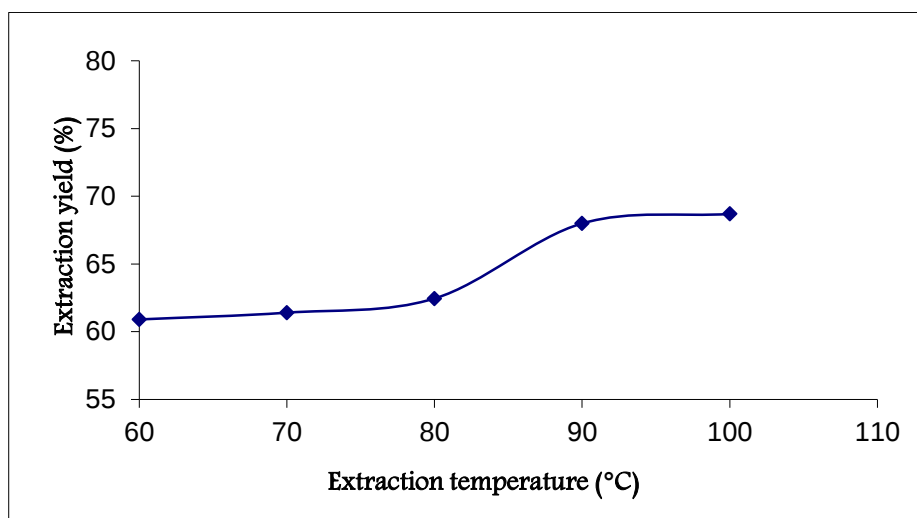


Figure 2. Effect of extraction temperature on extraction yield (Time = 40 min; Ratio of water to endosperm of seeds = 200).

III.1.3.1.2. Time

Extraction time is another factor that would influence the extraction efficiency and selectivity of the fluid. It was reported that a long extraction time also presents a positive effect on the yield of polysaccharides (Hou & Chen 2008). Extraction was carried out at different time conditions (10 to 70 min) while other extraction parameters were fixed at temperature = 80 °C and ratio of water to endosperm of seeds = 200.

The effect of different time on extraction yield of gum polysaccharides (CBG) is shown in Figure 3. When extraction time varied from 10 to 40 min, the variance of extraction yield was relatively rapid, and CBG yield reached a maximum at 40-60 min, and then became stable as the extraction proceeded. This indicated that 60 min was sufficient to obtain maximum yield of CBG extraction.

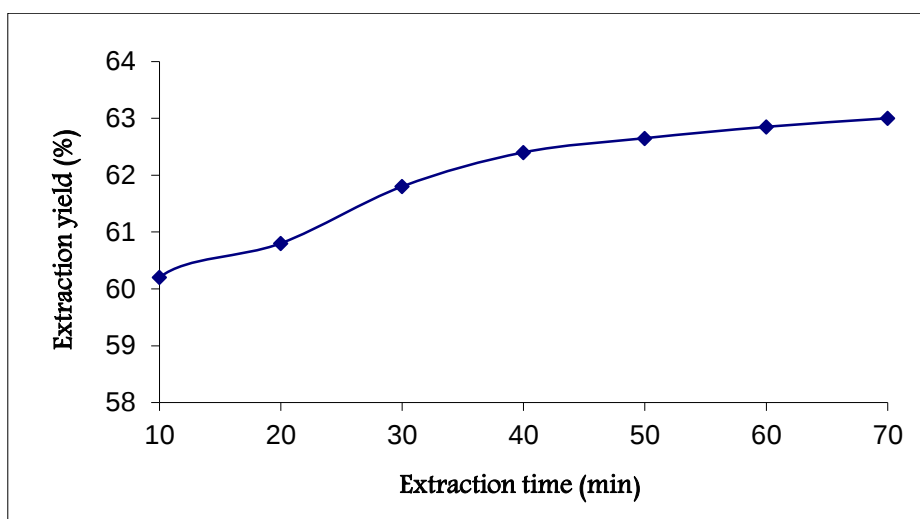


Figure 3. Effect of extraction time on extraction yield (Temperature = 80°C; Ratio of water to raw material = 200).

III.1.3.1.3. Ratio of water to endosperm of seeds

The effect of different ratio of water to endosperm of seeds on extraction yield of polysaccharides is shown in Figure 4. The extraction was carried out with ratios which vary between 50 and 350 under the following conditions of extraction: temperature = 80°C and Time = 40 min.

Figure 4 shows that the CBG yield increased significantly from 56.3% to 63.9% as the ratio of water to the endosperm of seeds increased from 50 to 350; this is due to the increase of

the driving force for the mass transfer of polysaccharides (Bendahou et al. 2007). However, when the ratio continued to increase, the extraction yields no longer changed.

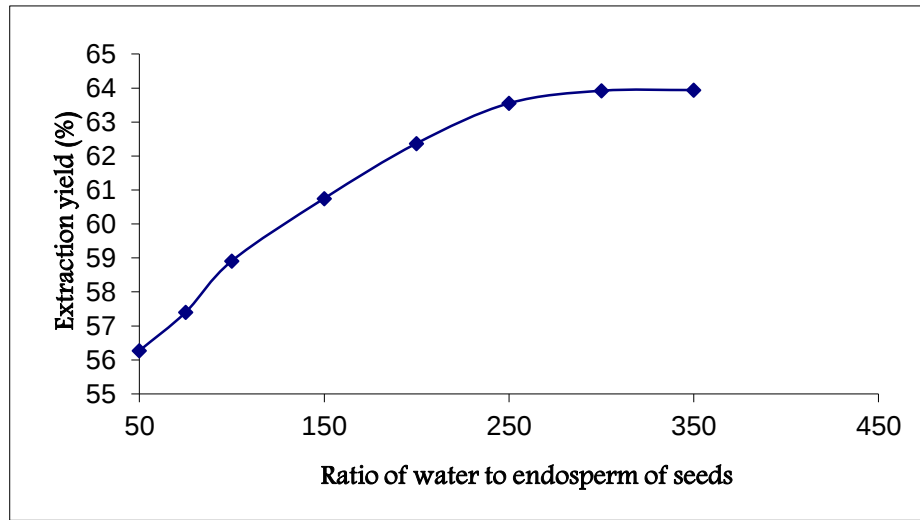


Figure 4. Effect of ratio of water to endosperm of seeds on extraction yield (Temperature = 80 °C; Time = 40 min).

III.1.3.2. Predicted model and statistical analysis

Table 3 shows the process variables and experimental data. The results of the analysis of variance, goodness-of-fit and the adequacy of the models are summarized. The percentage yield ranged from 54.3% to 69.1%. The maximum value was found at the extraction temperature 96.82°C, extraction time 40 min and ratio of water to endosperm of seeds 200. The application of RSM offers, based on parameter estimates, an empirical relationship between the response variable (extraction yield of gum) and the test variables under consideration. By applying multiple regression analysis on the experimental data, the response variable and the test variables are related by the following second-order polynomial equation (3):

$$Y = 62.39 + 2.09 * X_1 + 0.87 * X_2 + 2.68 * X_3 - 0.87 * X_1 * X_2 - 1.30 * X_1 * X_3 + 0.075 * X_2 * X_3 + 1.08 * X_1 * X_1 - 0.32 * X_2 * X_2 - 0.89 * X_3 * X_3$$

Where X_1 , X_2 and X_3 were the coded values of the test variables: extracting temperature (°C), extracting time (min) and ratio of water to endosperm of seeds, respectively.

Table 2. The central composite experimental design (in actual level of three variables) employed for extraction of CBG.

Run	Temperature (X1)	Time (X2)	Ratio of water to endosperm of seeds (X3)	* CBG yield (%)	
				Experimental	Predicted
1	70	20	100	54.3	54.3
2	90	20	100	63.1	62.5
3	70	60	100	57.8	57.9
4	90	60	100	62.6	63.1
5	70	20	300	62.4	61.9
6	90	20	300	65.5	65.4
7	70	60	300	65.7	65.4
8	90	60	300	65.8	65.8
9	63.18	40	200	62.1	62.4
10	96.81	40	200	69.1	69.1
11	80	6.36	200	60.1	58.9
12	80	73.63	200	63.2	62.4
13	80	40	31.82	55.6	55.6
14	80	40	368.17	64.5	64.4
15	80	40	200	62.4	62.4
16	80	40	200	62.5	62.4
17	80	40	200	62.5	62.4
18	80	40	200	62.0	62.4
19	80	40	200	62.5	62.4
20	80	40	200	62.4	62.4

* % per report has one grams of crude CBG.

The statistical significance of regression equation was checked by F-test, and the analysis of variance (ANOVA) for response surface quadratic polynomial model was done by software Nemrodw. The ANOVA of quadratic regression model demonstrated that the model was highly significant. And the Fisher's F-test had a very high model F-value (396.72) and a very low P-value ($P < 0.0001$). The value of R^2_{Adj} (0.9947) for Eq. (3) is reasonably close to 1, and indicates a high degree of correlation between the observed and predicted values. A very low value of coefficient of the variation (C.V.) (0.40 %) clearly indicated a very high degree of precision and a good deal of reliability of the experimental values. The lack-of-fit measures the failure of the model to represent the data in the experimental domain at points which are not included in the regression. The F-value (2.28) and P-value (0.1938) of lack-of-fit implied the lack-of-fit was not significant relative to the pure error. It indicates that the model equation is adequate for predicting the yield of carob gum under any combination of values of the variables. The lack-of-fit measures the failure of the model to represent the data in the experimental domain at points which are not included in the regression. The coefficient estimates of model equation, along with the corresponding P-values, were presented in Table 3. The P-values are used as a tool to check the significance of each coefficient, which also indicate the interaction strength between each independent variable. Smaller the P-value is, more significant the corresponding coefficient is (Muralidhar et al. 2001). When value of “probability > F” is less than 0.05. It can be seen from this table that the linear coefficients (a_1, a_2, a_3), a quadratic term coefficient (a_1^2, a_2^2, a_3^2) and cross product coefficients (a_1a_2, a_1a_3) were significant, with very small P values ($P < 0.01$). The other term (a_2a_3) are not significant ($P > 0.05$).

Table 3. Test of significance for regression coefficients

Effect	Coefficient estimate	Standard error	F-value	P value
a ₁	2.0921	0.0672	968.8117	< 0.0001
a ₂	0.8650	0.0672	165.6162	< 0.0001
a ₃	2.6776	0.0672	1586.8752	< 0.0001
a ₁ a ₁	1.0768	0.0654	99.2654	< 0.0001
a ₂ a ₂	-0.3197	0.0654	219.1133	0.0006
a ₃ a ₃	-0.8853	0.0654	0.7292	< 0.0001
a ₁ a ₂	-0.8750	0.0878	270.8269	< 0.0001
a ₁ a ₃	-1.3000	0.0878	23.8719	< 0.0001
a ₂ a ₃	0.0750	0.0878	183.0890	0.4131

III.1.3.3. Response surface plot

The 3D response surfaces are the graphical representations of regression equation. They provide a method to visualize the relationship between responses and experimental levels of each variable and the type of interactions between two test variables. In the present study, the effects of the three factors as well as their interactive effects on the extraction rate are shown in figure 5(a), figure 5(b).

Figure 5a denotes the three dimensional surfaces plots of effect of extraction temperature (X_1) and the time of extraction (X_2) on response. As can be seen, enhancing the extraction temperature (X_1) from 70 to 90°C could increase the yield of CBG. Also, this increase is more significant on the yield of CBG when the time of extraction (X_2) is minimal. In the same way, the increase in the time of extraction from 20 to 60 min increases the yield of CBG significantly when temperature of extraction (X_1) is minimal.

Figure 5b shows the effect of extraction temperature (X_1) and the ratio of water to endosperm of seeds (X_3) on the yield of polysaccharides. It was observed that yield of CBG increased with the increase in the temperature of extraction (X_1) from 70 to 90°C. Also, this increase is more significant on the yield of extraction when the ratio of water to endosperm of seeds (X_3) is minimal. In the same way, the increase in the ratio of water to endosperm of seeds (X_3) from 100 to 300 increases the yield of CBG significantly when temperature of extraction (X_1) is minimal.

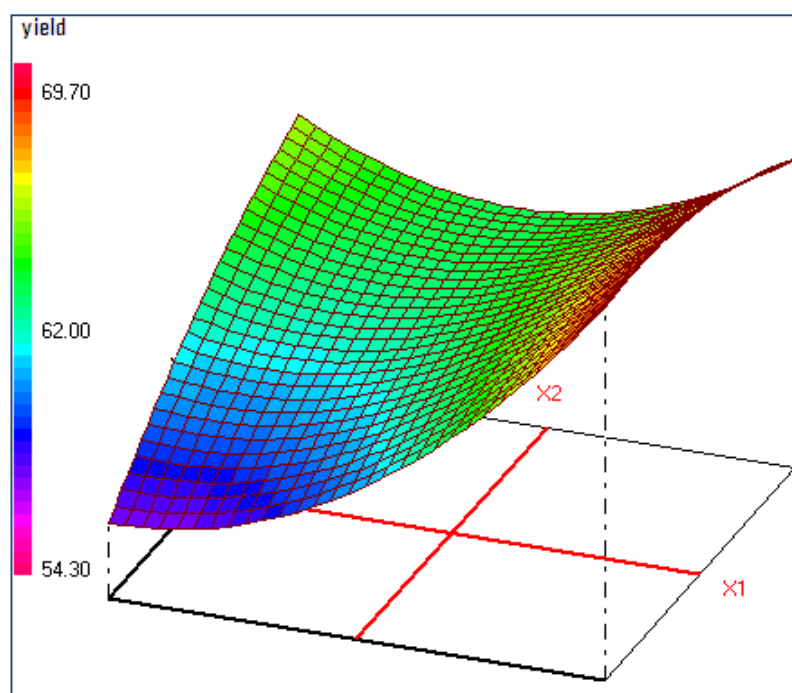


Figure 5a. Response surface plots and showing the effect of extracting temperature (X_1) and time (X_2) on the yield of CBG.

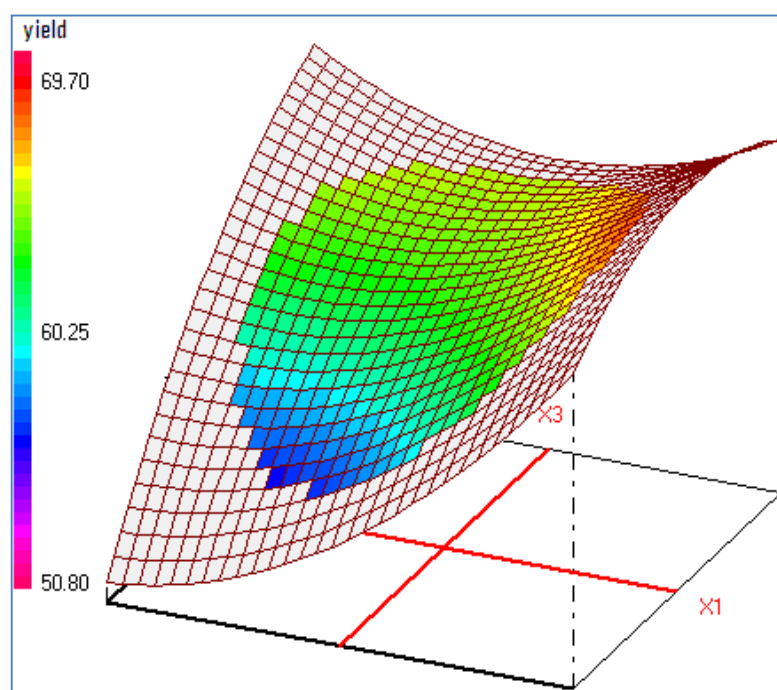


Figure 5b. Response surface plots and showing the effect of extracting temperature (X_1) and ratio of water to endosperm of seeds (X_3) on the yield of CBG.

III.1.3.4. Optimization of extracting parameters and validation of the model

The optimum conditions were: Temperature 97°C, time 36 min and water to endosperm of seeds ratio at (197:1). To ensure the predicted result was not biased toward the practical value, experimental rechecking was performed using this deduced optimal condition. A mean value of 69.7 ± 1.03 (N = 3), obtained from real experiments, demonstrated the validation of the RSM model. The good correlation between these results confirmed that the response model was adequate for reflecting the expected optimization

III.1.4. Conclusion

The performance of the extraction of carob bean gum was studied with a statistical method based on the response surface methodology in order to identify and quantify the variables which may maximize the yield. The three variables chosen, namely extraction Temperature, extraction time, and ratio of water to endosperm of seeds ratio all have a positive influence on the yield of polysaccharides using the extraction method. The optimal conditions obtained by RSM for production of CBG include the following parameters: extraction temperature 97°C, extraction time 36 min, and ratio of water to endosperm of seeds 197.

Reference

- Ait Chitt, M., Belmir, H. & Lazrak, A. (2007), "Production de plants sélectionnés et greffés de caroubier", *In Bulletin mensuel d'information et de liaison du PNTTA MAPM/DERD***153**, 1-4.
- Belitz H. D. and Grosch W. (1999). *Food Chemistry*. Springer-Verlag, New York.
- Bendahou, A., Dufresne, A., Kaddami, H. & Habibi, Y. (2007), "Isolation and structural characterization of hemicelluloses from palm of *Phoenix dactylifera* L", *Carbohydrate Polymers***68**, 601–608.
- Biner, B., Gubbuk, H., Karham, M., Aksu, M. & Pekmeczi, M. (2007), "Sugar profiles of the pods of cultivated and wild types of carob bean (*Ceratonia siliqua* L.) in Turkey". *Food Chemistry***100**, 1453-1455.
- Bouzouita, N., Khaldi, A., Zgoulli, S., Chebil, R., Chekki, R., Chaabouni, M.M. & Thonart, P. (2007), "The analysis of crude and purified locust bean gum: A comparison of samples from different carob tree populations in Tunisia". *Food Chemistry***101**, 1508-1515.
- Dakia, P. A., Bleckerb, C., Roberta, C., Watheleta, B. & Paquota, M. (2008), "Composition and physicochemical properties of locust bean gum extracted from whole seeds by acid or water dehulling pre-treatment" *Food Hydrocolloids***22**, 807–818.

- El Batal, H., Hasib, A., Ouattmane, A., Dehbi, F., Jaouad, A. & Boulli, A. (2011), "Sugar composition and yield of syrup production from the pulp of Moroccan carob pods" (*Ceratonia siliqua* L.). *Arabian Journal of Chemistry*. doi:10.1016/j.arabjc.2011.10.012 (in press).
- El Batal, H., Hasib, A., Ouattmane, A., Jaouad, A. & Naïmi, M. (2012), "Rheology and influence factor of Locust Bean Gum solution" *Revue de génie industriel* **8**, 55-62
- Firatligil-Durmus, E. & Evranuz, O. (2010), "Response surface methodology for protein extraction optimization of red pepper seed (*Capsicum frutescens*)". *LWT - Food Science and Technology* **43**, 226–231.
- Hou, X. J. & Chen, W. (2008), "Optimization of extraction process of crude polysaccharides from wild edible BaChu mushroom by response surface methodology" *Carbohydrate Polymers* **72**, 67–74.
- Karababaa, E. & Coskunerb, Y. (2013), "Physical properties of carob bean (*Ceratonia siliqua* L.): An industrial gum yielding crop". *Industrial Crops and Products* **42**, 440– 446
- Makris, D.P. & Kefalas, P. (2004), "Carob pods (*Ceratonia siliqua* L.) as a source of polyphenolic antioxidants" *Food Technology and Biotechnology* **42**, 105-108.
- Matthausa, B. & Ozcanb, M.M. (2011), "Habitat effects on yield, fatty acid composition and tocopherol contents of prickly pear (*Opuntia ficus-indica* L.) seed oils" *Scientia Horticulturae* **131**, 95–98.
- Muralidhar, R. V. , Chirumamila, R. R. , Marchant, R. & Nigam, P. (2001), "A response surface approach for the comparison of lipase production by *Candida cylindracea* using two different carbon sources", *Biochemical Engineering Journal* **9**, 17–23.
- Myers, R.H. & Montgomery, D.C. (1995), "Response Surface Methodology", Process and product optimization using designed experiments, New York: Wiley & sons. ISBN: 0-471-58100-3.
- Petit, M.D. and Pinilla, J.M. (1995), "Production and purification of a sugar pods syrup from carob", *Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie* **28**, 145–152.
- Pollard, M. A., Eder, B., Fischer, P. F., Windhab, E. J. (2010), "Characterization of galactomannans isolated from legume endosperms of *Caesalpinioideae* and *Faboideae* subfamilies by multidetection aqueous SEC" *Carbohydrate Polymers* **79**, 70–84.
- Puhan, Z. & Wielinga, M.W. (1996), "Products derived from carob pods with particular emphasis on carob bean gum (CBG)" *Report Technical Committee of INEC* (unpublished).
- Qiao, D., Hua, B., Gan, D., Sun, Y., Ye, H. & Zeng, X. (2009), "Extraction optimized by using response surface methodology, purification and preliminary characterization of polysaccharides from *Hyriopsis cumingii*" *Carbohydrate Polymers* **76**, 422–429.
- RenJie, L. (2008), "Optimization of extraction process of *Glycyrrhiza glabra* polysaccharides by response surface methodology" *Carbohydrate Polymers* **74**, 858–861.
- Santos, M., Rodrigus, A. & Teixeira, J. A. (2005), "Production of dextran and fructose from carob pod extract and cheese whey by *Leuconostoc mesenteroides* NRRL B512(f)", *Biochemical Engineering Journal*, **25**(1) 1–6.

- Srivastava, M. & Kapoor V. P. (2005), "Seed galactomannans: An overview" *Chemistry and Biodiversity* **2**, 295–317
- Tous, J., Batlle, I. & Romero, A. (1995), "Prospección de variedades de algarrobo en Andalucía" *Información Técnica Económica Agraria*, 91V(3).
- Vinogradov, E. V., Brade, L., Brade, H. & Holst, O. (2003), "Structural and serological characterisation of the O-antigenic polysaccharide of the lipopolysaccharide from *Acinetobacter baumannii* strain 24" *Carbohydrate Research* **338**, 2751–2756.
- Vieira, I. G. P. V., Mendes F. N. P., Gallao M. I. & Brito E. S. (2007), "NMR study of galactomannans from the seeds of mesquite tree (*Prosopis juliflora* (Sw) DC)" *Food Chemistry* **101**, 70–73.
- Vilà, B., de Queiroz, D., Badiola, I., Pérez-Vendrell, A. & Brufau, J. (2012), "Effects of carob bean gum on performance, nutrient digestibility and *Salmonella enterica* var. Enteritidis colonisation in chickens" *Food Research International* **45**, 1133–1138.
- XuJie, H. & Wei, C. (2008), "Optimization of extraction process of crude polysaccharides from wild edible BaChu mushroom by response surface methodology" *Carbohydrate Polymers* **72**, 67–74.

Chapitre II.2:

Yield and composition of carob bean gum produced from different Moroccan populations of carob (*Ceratonia siliqua* L.)

H. El Batal, A. Hasib*, A. Ouatmane, A. Boulli, F. Dehbi, A. Jaouad

Laboratory of Environment and Valorisation of Agro-resources; University of Sultan Moulay Slimane; Faculty of Science and Technology of Beni Mellal;

* Corresponding author. E mail: azhasib@yahoo.fr

Abstract

The carob product most widely used, especially for the food industry, is the carob bean gum (CBG), or locust bean gum (LBG). This gum comes from the endosperm of the seed and chemically is a polysaccharide, a galactomannan. It is used as thickener, stabilizer, emulsifier and gelling agent.

This study was carried out to determine and to compare the characteristics of LBG in terms of yield, moisture and ash content and protein content. Samples were collected from different regions in the agro-forestry system of Morocco.

The results showed that the Moroccan cultivars are characterized by a high yield of seeds that provide a high yield of endosperm. The purified CBG from different population of Moroccan carob tree had 60.63–72.49% yield, 6.36–8.63% moisture, 0.36–0.99% ash and 0.52–0.62% protein. The protein, moisture and ash, and the yields of purified locust bean gum are comparable to those reported in the literature from other countries.

Keywords: Carob pulp; Carob seeds; Carob bean gum; yield; Composition.

III.2.1.Introduction

Carob (*Ceratonia siliqua* L.) is a typical tree of the semiarid environments in the Mediterranean area. This species belongs to the subfamily Caesalpinioideae of the Leguminosae family [1]. It produces edible pods used as a fodder for breeding cattle; it has also a long history of application as a source of health products. World production is estimated at about 315 000 tons per year, produced from about 200 000 hectares with very variable yields depending on the cultivar, region, and farming practices [2] and the main producers for (pulp, seeds) respectively are Spain (36%, 28%), Morocco (24%, 38%), Italy (10%, 8%), Portugal (10%, 8%), Greece (8%, 6%), Turkey (4%, 6%) and Cyprus (3%, 2%) [3].

The carob distribution in Morocco is centred in the north selvage of the Atlas chain, the Rif Mountain and in some valleys of the South-West of the Anti-Atlas confined to arid and semi-arid bioclimates with an extension to sub-humid bioclimate in some stands [4].

Chemical composition of the carob pod depends on cultivar, origin and harvesting time [5]. The two main carob pod constituents are pulp (90%) and seeds (10%) by weight [6]. Carob pulp is high (48–56%) in total sugar content that include mainly sucrose, glucose, fructose and maltose. In addition it contains about 18% cellulose and hemicelluloses, (3–4%) protein and (0.4–0.8%) lipids [7]. Also, ripe carob pods contain a large amount of condensed tannins (16–20%, d.b.). The pulp of carob pods is used extensively as a raw material for the production of syrups [8,9] and crystallized sucrose for the food industry. On the other hand, carob seed constituents are seed coat (23–33%), endosperm (42–56%) and embryo (20–25%) by weight [10].

Nowadays, carob is exploited prevalently for the industrial transformation of the seeds, for obtaining flour called carob bean gum (CBG), used as thickening agent in food preparations [7]. The European Codex classifies CBG as a fully accepted food additive for human use (E 410).

Carob bean gum (CBG), is the refined endosperm of the seed of the carob pods (*Ceratonia siliqua*) by extraction of the seeds with water or aqueous alkaline solutions. The extraction of the gum from the seeds is a slow, difficult process, due principally to the hardness of the seed coat. Different mechanical, physical and chemical methods have been studied for the removal of the seed coat and for separating the coat, the endosperm (gum) and the cotyledons [11, 12]. CBG is a galactomannan composed of a linear chain 1→4 linked β -D-

mannopyranosyl units, with α -D-galactopyranosyl residues 1→6 joined as irregularly spaced side chain [13].

Featuring different physicochemical properties, CBG is a versatile material used for many applications: they are excellent stiffeners and stabilizers of emulsions, and the absence of toxicity allows their use in the textile, pharmaceutical, biomedical, cosmetics, nutrition sciences, and food industries [14, 15, 16, 17, 18].

An important application of this biopolymer is its ability to form very viscous solution at relatively low concentration, to stabilize dispersion and emulsion and to replace fat in many dairy products. Carob gum properties are generally unaffected by pH, salts, or heat processing because it is non-ionic [19, 20]. It is also compatible with other gums and thickening agents (carraghenan, agar, xanthan) to form a more elastic and stronger gel [21]. These properties of CBG allow its use as interesting additives for several industries, in particular for the food industry.

Therefore, the purpose of this study is to identify rich gum carob provenance in the agro-forestry system of Morocco to be use for industrial carob bean gum extraction.

III.2.2.Materials and methods

III.2.2.1.Selection and preparation of samples

The material collection was carried out during summer. For each provenance (Figure 1) 30 trees were randomly chosen for collection of composite samples. These later were characterized according to the following morphological parameters: pods weight, seed yield and pulp yield.

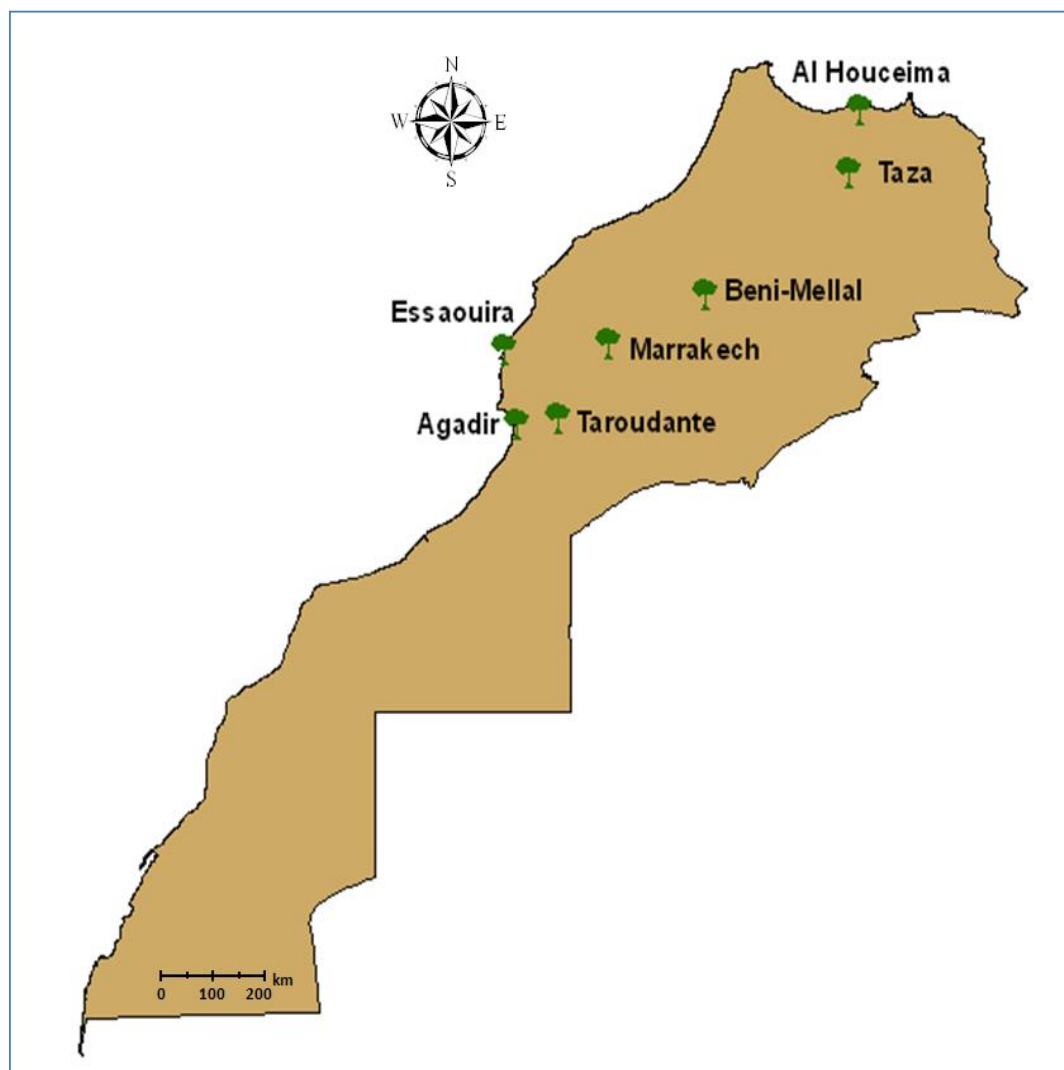


Figure 1. Map repartition of Moroccan populations of carob

III.2.2.2. Extraction procedure:

Figure 2 show the extraction and purification processes used in this work to obtain the purified CBG. The seeds are dehusked by treating the kernels with thermal mechanical treatments, followed by milling and screening of the peeled seeds to obtain the endosperm (native carob bean gum). The pretreated dry powder of crude carob bean gum CBG was extracted with distilled water (ratio of water to endosperm of seeds (197:1), temperature of the water bath 97°C, for a given time (extraction time 36 min).

The solution and the solid-phase were separated by centrifugation at (21875rpm, 1h). The Carob Bean Gum is precipitated with one volume excess of isopropanol. The white fibrous precipitate formed was collected by filtration with screen 45µm, and washed twice with

isopropanol and with acetone. After drying under vacuum overnight at 30°C, the precipitate was ground to a fine powder.

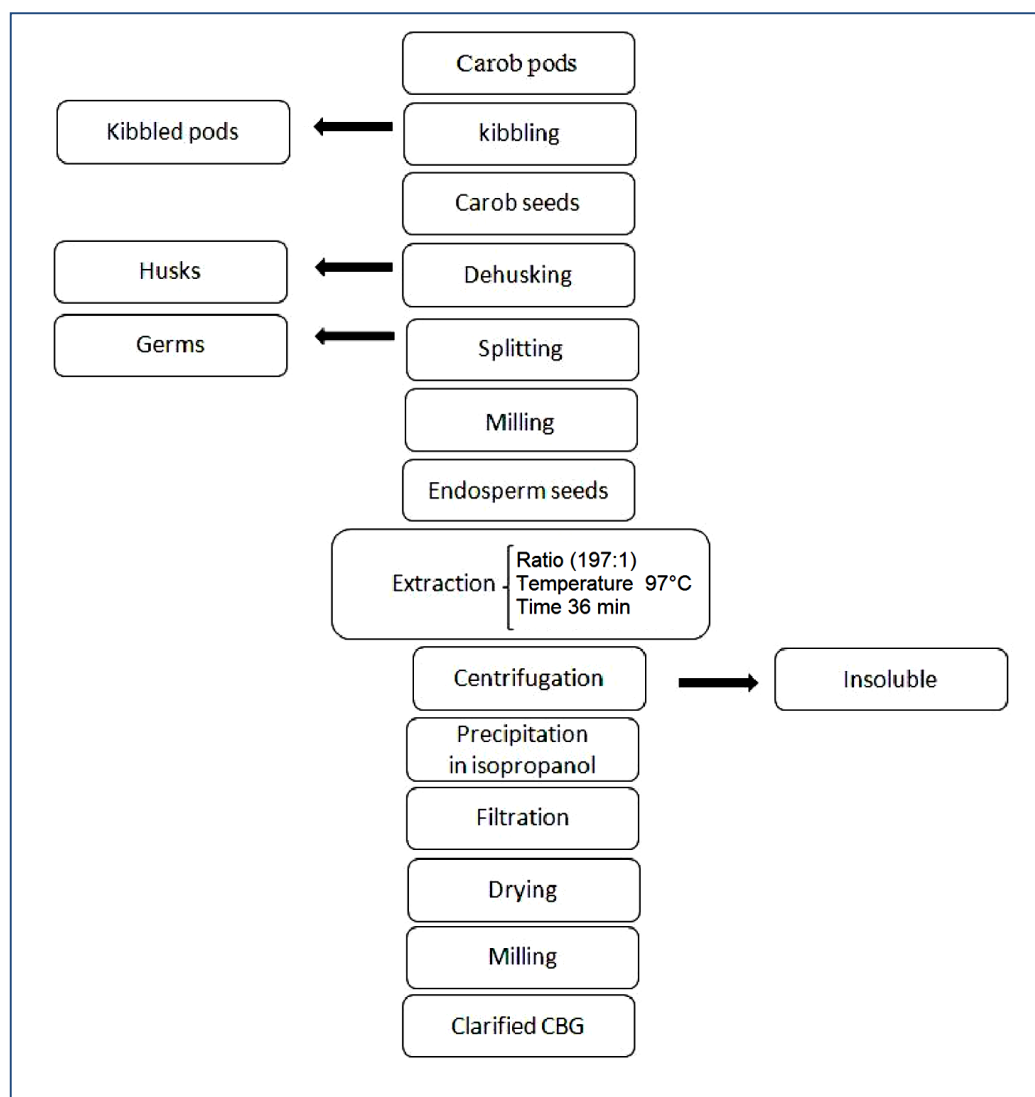


Figure 2. Extraction and purification process of carob bean gum.

III.2.2.3. Chemical composition:

Moisture and ash content were determined according to the AOAC methods [22]. Total nitrogen was determined by the Kjeldahl modified method; a conversion factor of 6.25 was used to obtain the protein content [23].

III.2.3.Results and discussion

This work was carried out on different geographic regions of carob trees in agro-forestry systems. Climatic data were analyzed all over Morocco, a stratified sampling method was used in which topography, vegetation homogeneity and altitude were regrouped in 7 geographic entities (Figure 1). Each entity (provenance) is here defined as a region characterized by similar topographic and climatic conditions with a homogeneous flora. Geographic characteristics such as altitude slice, central latitude and longitude as well as the mean precipitation of these provenances are summarized in Table 1.

Table 1. Geographic and meteorological conditions of provenance of carob.

<i>Provenance</i>	Geographic region	Latitude	Longitude	Altitude	Rainfall
		N	W	(m)	(mm)
<i>Taroudant</i>	High Atlas (South-West)	30°37'	8°20'	200-400	250
<i>Agadir</i>	West costal	30°41'	9°33'	150-350	300
<i>Essaouira</i>	West costal	31°20'	9°40'	100-200	300
<i>Marrakech</i>	High Atlas mountain	31°29'	7°43'	700-1000	500
<i>Beni Mellal</i>	Middle Atlas mountain	32°30'	6°03'	500-800	550
<i>Taza</i>	Middle Atlas mountain	34°08'	4°08'	500-600	700
<i>El Houceima</i>	North-costal	35°11'	3°57'	50-250	327

III.2.3.1.Measurement of carob pods

Results of carob pod measurements are shown in Figure 3. The overall mean values for all parameters measured and their standard deviations are presented. High levels of variation were found considering the 7 provenance studied. The data from this study showed that there were no significant differences ($P>0.05$) among the seven crops as far as yield of pulp and seeds is concerned (Figure 3).

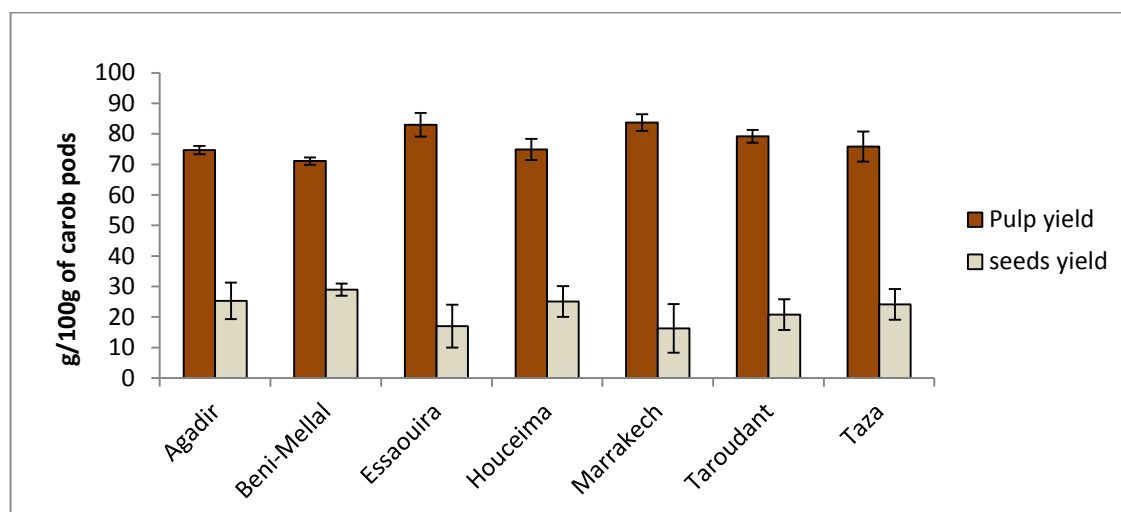


Figure 3. Yield of pulp and seeds of carobs pods from different provenances

Data obtained from other studies (Table 2) showed a high diversity in the yield of pulp and seeds of carob. Moroccan crops are largely characterized by high seeds yield average [17.47-29.44%] content and medium pulp yield average [71.30-82.30%]. Spanish, Tunisian, Portuguese and Turkey crops produce low to medium seeds yield and medium to high pulp yield [24, 25, 1, 26]. The results obtained in this study, however, were in agreement with the literature.

Table 2. Measurement average of carob in this study and from other studies

Country	Seed Yield (g/100g of Carob pods)	Pulp Yield (g/100g of Carob pods)
Morocco (present work)	17.47-29.44	71.30-82.30
Portugal[25]	12.00-14.00	86.00-88.00
Tunisia[26]	13.00-18.00	82.00-87.00
Spain [24]	7.00-16.00	84.00-93.00
Turkey[1]	10.02-17.77	82.23-89.98

III.2.3.2. Comparison of samples from different carob tree populations in Morocco:

Results of carob seeds yield are shown in Table 3. High variation was found considering the 7 provenances studied. The seeds yield ranged from 19.81% to 29.44% for *El houceima* and *Taza* respectively. Data obtained from other studies showed a high diversity in the yield

of carob seeds. Moroccan cultivars are largely characterized by high seeds yield. Portuguese cultivars produce from 12.00 to 14.00% [25], Tunisian: 13.00 to 18.00% [26], Spanish: 7.00 to 16.00% [24] and Turkish: 10.02 to 17.77 [1]. The separation of the seed components furnished a higher yield of yellowish endosperm: 50.76-57.40 g per 100 grams of seed.

Table 3. Yields of seeds, endosperm and purified CBG from seven different carob samples.

Provenance	Seeds yield (g/100g of Carob pods)	Endosperm yield (g/100g of seeds)	CBG Yield	
			(g/100 g of dry endosperm)	(g/100 of seeds)
<i>Taroudannt</i>	23.04±7.56	54.24± 0.62	72.50±2.12	40.05±4.02
<i>Agadir</i>	23.33±6.75	50.76 ±1.39	65.47±1.03	34.55±5.46
<i>Essaouira</i>	21.49±7.72	57.40± 2.30	65.73±2.86	39.38±4.94
<i>Marrakech</i>	26.13±8.08	54.15± 1.70	68.97±1.77	38.03±4.98
<i>Beni Mellal</i>	25.06±6.55	57.00± 1.67	61.91±1.79	36.59±5.53
<i>Taza</i>	29.44±5.60	54.28± 1.12	62.78±1.55	35.70±6.19
<i>El Hoceima</i>	19.81±5.28	55.07± 0.07	60.63±1.44	34.65±6.43

The obtained purified gum is a white to yellowish white, nearly odorless powder. The mean value of CBG yield varied from 60.63 to 72.49 g per 100 grams of dry endosperm and from 34.55 to 40.05 g per 100 grams of seeds in the samples from *El Hoceima* and *Taroudannt* respectively. Battle [27] reported that by weight, about a third of the seed consists of gum. In Cyprus carob, one hundred kg of seeds yields an average of 20 kg of pure dry gum [28]. Moisture, ash and protein contents of the purified carob bean gum are shown in Table 4. There are significant differences in the contents between the analyzed samples. The amounts of Moisture varied between 6.44 and 8.63 %, Ash varied between 0.36 and 0.99 % and protein varied between 0.54 and 0.62 %. In the literature, Kawamura [29] reported that the samples of Italian clarified carob bean gum contain approximately 3-10% moisture, 0.1-1% ash, and 0.1-0.7% protein. The purified CBG from seven areas of the north and centre of Tunisia had 3.43–6.99% moisture, 0.87–2.06% ash, and 0.61–2.46% protein [30].

Table 4. Compositions of CBG from seven different carob samples

Provenance	Composition in g/100g of CBG		
	Moisture	Ash	Protein
<i>Taroudannt</i>	7.05±1.15	0.68±0.03	0.62±1.30
<i>Agadir</i>	6.85±0.14	0.59±0.02	0.59±0.41
<i>Essaouira</i>	7.47±0.37	0.64±0.02	0.55±0.77
<i>Marrakech</i>	8.63±0.53	0.99±0.01	0.52±0.73
<i>Beni Mellal</i>	6.36±0.31	0.36±0.00	0.55±0.39
<i>Taza</i>	6.44±0.62	0.66±0.04	0.56±1.19
<i>El Hoceima</i>	6.44±0.62	0.77±0.03	0.54±0.38

III.2.4. Conclusion

The proportions of carob pulp and seeds, the yield and the composition of CBG show a great diversity between the populations of the Moroccan carob tree. This diversity seems to take place according to the geographical origin of the population. The obtained results are comparable with those reported in other studies for crops of various origins.

The obtained CBG yield ranging between 34 and 40 g per 100g of seeds are very interesting for industrial exploitation. According to this study, the most interesting samples for extraction of high CBG yield are those collected in the region of *Taroudant*, *Essaouira* and *Marrakech*.

References

1. Biner, B., Gubbuk, H., Karham, M., Aksu, M. & Pekmeczi, M., Sugar profiles of the pods of cultivated and wild types of carob bean (*Ceratonia siliqua* L.) in Turkey. *Food Chemistry*, 100 (2007)1453-1455
2. Makris, D.P., Kefalas, P., Carob pods (*Ceratonia siliqua* L.) as a source of polyphenolic antioxidants. *Food Technology and Biotechnology*, 42 (2004) 105-108
3. Ait Chitt, M., Belmir, H., Lazrak, A., Production de plants sélectionnés et greffés de caroubier. In *Bulletin mensuel d'information et de liaison du PNTTA MAPM/DERD*. 153 (2007) 1-4
4. Sidina, M. M., El Hansali, M., Wahid, N., Ouattmane, A., Boulli, A., Haddioui, A., Fruit and seed diversity of domesticated carob (*Ceratonia siliqua* L.) in Morocco. *Scientia Horticulturae*. 123(2009) 110–116
5. Albanell, E., Caja, G., Plaixats, J., Characteristics of Spanish carob pods and nutritive value of carob kibbles. *Cahiers Options Méditerranéennes*, 16 (1991) 135-136
6. Tous, J., Batlle, I., Romero, A., Prospección de variedades de algarrobo en Andalucía. *Información Técnica Económica Agraria*. 3 (1995) 164-174

7. Santos, M., Rodrigues, A., Teixeira, J. A., Production of dextran and fructose from carob pod extract and cheese whey by *Leuconostoc mesenteroides*. *Biochemical Engineering Journal*, 25 (1) (2005)1–6.
8. Petit, M. D., Pinilla, J. M., Production and Purification of a Sugar Pods Syrup from Carob. *Lebensm.-Wiss. u.-Technol.* 28 (1995) 145-152.
9. El Batal, H., Hasib, A., Ouattmane, A., Dehbi, F., Jaouad, A., Boulli, A., Sugar composition and yield of syrup production from the pulp of Moroccan carob pods (*Ceratonia siliqua* L.). *Arabian Journal of Chemistry* (2011), doi:10.1016/j.arabjc.2011.10.012 (in press)
10. Dakia, P. A., Bleckerb, C., Roberta, C., Wathelata, B., Paqueta, M., Composition and physicochemical properties of locust bean gum extracted from whole seeds by acid or water dehulling pre-treatment. *Food Hydrocolloids*, 22 (2008) 807–818
11. Wielinga, W.C., Galactomannans. In: Handbook of Hydrocolloids. Ed. By Phillips, G.O. and Williams, P.A. CRC Press, Boca Raton, FL, (2000)138-154.
12. Cerqueira, M.A., Pinheiro, A.C., Souza, B.W.S., Lima, A.M.P., Ribeiro, C., Miranda, C., Teixeira, J.Á., Moreira, R.A., Coimbra, M.A., Gonçalves, M.P., Vicente, A.A., Extraction, purification and characterization of galactomannans from non-traditional sources. *Carbohydrate Polymers*. 75 (2009) 408-414
13. Belitz H. D. and Grosch W. *Food Chemistry*. Springer-Verlag, New York (1999)
14. Srivastava, M., Kapoor V. P., Seed galactomannans: An overview. *Chemistry and Biodiversity*, 2 (2005) 295–317
15. Vieira, I. G. P. V., Mendes F. N. P., Gallao M. I., Brito E. S., NMR study of galactomannans from the seeds of mesquite tree (*Prosopis juliflora* (Sw) DC). *Food Chemistry*, 101 (2007) 70–73
16. Vilà, B., de Queiroz, D., Badiola, I., Pérez-Vendrell, A., Brufau, J., Effects of carob bean gum on performance, nutrient digestibility and *Salmonella enterica* var. Enteritidis colonisation in chickens. *Food Research International*, 45 (2) (2012) 1133–1138.
17. Karababaa, E., Coskunerb, Y., Physical properties of carob bean (*Ceratonia siliqua* L.): An industrial gum yielding crop. *Industrial Crops and Products*, 42 (2013) 440– 446
18. Matthausa, B., Ozcanb, M.M., Habitat effects on yield, fatty acid composition and tocopherol contents of prickly pear (*Opuntia ficus-indica* L.) seed oils. *Scientia Horticulturae*, 131 (2011) 95–98
19. Pollard, M. A., Eder, B., Fischer, P. F., Windhab, E. J., Characterization of galactomannans isolated from legume endosperms of Caesalpinioideae and Faboideae subfamilies by multidetection aqueous SEC. *Carbohydrate Polymers*, 79 (2010) 70–84
20. El Batal, H., Hasib, A., Ouattmane, A., Jaouad, A., Naïmi, M., Rheology and influence factor of *Locust Bean Gum* solution. *Revue de génie industriel*, 8 (2012) 55-62
21. Puhani, Z. and M.W. Wielinga., Products derived from carob pods with particular emphasis on carob bean gum (CBG). *Report Technical Committee of INEC* (unpublished) (1996)
22. AOAC., Association of Official Chemists. *Official methods of analysis of AOAC international*. AOAC International, Maryland (1997)
23. Pomeranz, Y., Clifton, M.E. *Food analysis: Theory and practice*. 2nd edition Van Nostrand Reinold, New- York (1987) 797
24. Haselberg, C. Von., A contribution to the classification and characterisation of female and male varieties of *Ceratonia siliqua* L. in Proceedings of the II International Carob Symposium (P. Fito and A. Mulet, eds.). Valencia, Spain (1988) 137-151
25. Barracosa, P.; Osorio, J.; Cravador, A., Evaluation of fruit and seed diversity and characterization of carob (*Ceratonia siliqua* L.) cultivars in Algarve region. *Sci. Hortic.*, 114 (2007) 250–257

26. Naghmouchi, S., Khouja, M.L.; Romero, A., Tous, J., Boussaid, M., Tunisian carob (*Ceratonia siliqua* L.) populations: Morphological variability of pods and kernel. *Sci. Hortic*, 121 (2009) 125-130
27. Battle, I.; Tous, J., Carob tree. *Ceratonia siliqua* L. promoting the conservation and use of underutilized and neglected crops. 17. Institute of Plant Genetics and Crop Plant Research. Gatersleben/International Plant Genetic Resources Institute, Rome (1997) 1–79
28. Jones, D.K., Carob culture in Cyprus. FAO 53/2/1225, FAO, Rome (1953)
29. Kawamura Y., CAROB BEAN GUM. Chemical and Technical Assessment (CTA). The 69th meeting of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (*JECFA*), Rome, Italy (2008) 17-26
30. Bouzouita, N., Khaldi, A., Zgoulli, S., Chebil, R., Chekki, R., Chaabouni, M.M., Thonart, P., The analysis of crude and purified locust bean gum: A comparison of samples from different carob tree populations in Tunisia. *Food Chemistry*, 101 (2007) 1508-1515.

Chapitre III.3:

Rheology and influence factor of Locust Bean Gum solution

H. EL BATAL¹, M. NAÏMI², A. HASIB¹, D. FATIMA¹, A. OUATMANE¹, A. JAOUAD¹

¹Sultan Moulay Slimane University, Faculty of Sciences and Technologies, Laboratory of Environment and Valorization of Agro-resources (EVAR), B.P. 523, Beni-Mellal, Morocco

²Sultan Moulay Slimane University, Faculty of Sciences and Technologies, Laboratory of flows and Transfers Modeling (LAMET), B.P. 523, Beni-Mellal, Morocco

Corresponding author: azhasib@yahoo.fr

Abstract

The viscosity of 1% Locust Bean Gum (LBG) aqueous solution has been studied at different shear rates (10-1000 s⁻¹), temperatures (10-60 °C), and pH values (3.0-6.0) using a rotational concentric cylinders viscometer. The obtained results show that the studied solution exhibits a shear-thinning behavior, which consists of a decrease of the viscosity with the shear rate at a given temperature. A decrease of the effective viscosity with temperature has been also observed indicating a thermo-dependent behavior of such a solution. Finally, the pH appears to have an influence on the viscosity, since this quantity varies with this parameter at both acid and alkaline conditions.

Mots-clés : *Caroube ; Gomme de caroube ; extraction ; viscosité*

Keywords: *Carob; Locust bean gum; extraction; viscosity*

III.3.1.Introduction

Locust bean gum (LBG), or carob gum, is the refined endosperm of the seed of the carob pods (*Ceratonia siliqua*) by extraction of the seeds with water or aqueous alkaline solutions. It grows mostly in Morocco, Spain and in other Mediterranean countries [1]. LBG is a galactomannan composed of a linear chain 1→4 linked β -D-mannopyranosyl units, with α -D-galactopyranosyl residues 1→6 joined as irregularly spaced side chain [2]. Its structure is shown in Figure. 1. The galactose distribution in the mannose linear chain controls the rheological properties of LBG; particularly, a higher mannose/galactose ratio (M/G) leads to a higher thickening ability [3] and influences the solubility [4], mechanism and temperature of gel formation [5]. In their basic state galactomannans are not greatly soluble “random coils”; for this reason high temperature and vigorous agitation are required for their complete dissolution in water, to achieve the best water-binding capacity.

Seed galactomannans are important agro-chemicals used in various worldwide industries [6]. Featuring different physicochemical properties, LBG is a versatile material used for many applications: they are excellent stiffeners and stabilizers of emulsions, and the absence of toxicity allows their use in the textile, pharmaceutical, biomedical, cosmetics and food industries [7, 8].

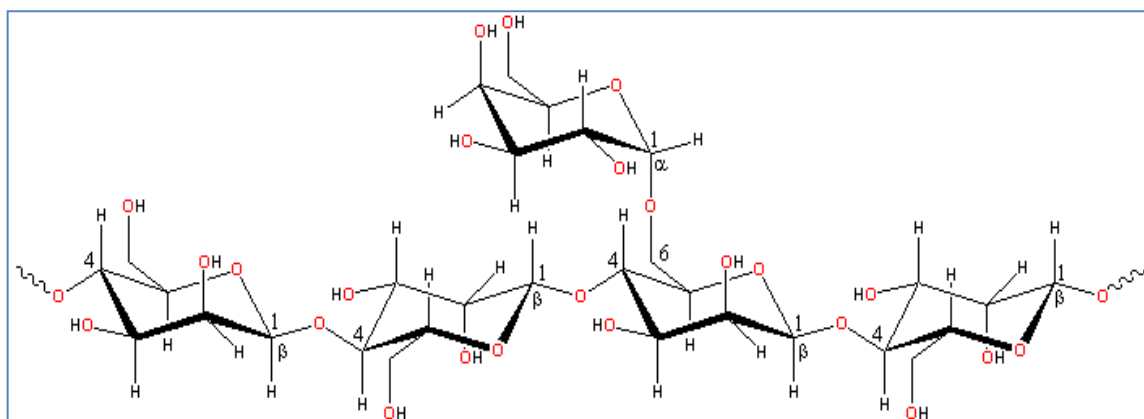


Figure 1. LBG molecular structure.

One of the key parameters to measure LBG rheological behavior is to study the intrinsic viscosity, η , which is not a very specific parameter and depends on several factors [9], namely:

- The hydrodynamic volume occupied per unit mass of the macromolecule, which consists of the intrinsic volume occupied by the polymer chain and its excluded free volume;
- The hydrodynamic properties, which include a measure of the permeability of the polymer coil to solvent and the chain anisotropy.

In order to get a better understanding of the behavior of LBG solution and the influence factors, its viscosity has been mainly tested with different shear rates, temperature and pH values.

III.3.2. Methodology

III.3.2.1. Experimental device for the viscosity measurement

The rheological characterization of LBG solution has been performed using a rotational rheometer, shear rate imposed (RM180), shown in Figure. 2. This unit basically consists of two concentric cylinders making, between them, a small annular space (gap) that contains the test fluid whose viscosity is to be determined. The inner cylinder (bob) is driven at constant rotation speed by direct-current motor, while the outer one (tube) is rigidly coupled to a measuring head which maintains it at rest.

A built-in microprocessor calculates the values for the viscosity, η , with the aid of the measured torque, M , on the bob, the set rotation speed, Ω , and the measurement system used, according to the formula:

$$\eta = \frac{\tau}{\dot{D}}$$

where $\dot{D}$ is the shear rate and τ is the shear stress, which are given, respectively, by:

$$\dot{D} = k_D \Omega \text{ and } \tau = k_\tau M$$

k_D and k_τ being conversion factors related to the geometry of the system.

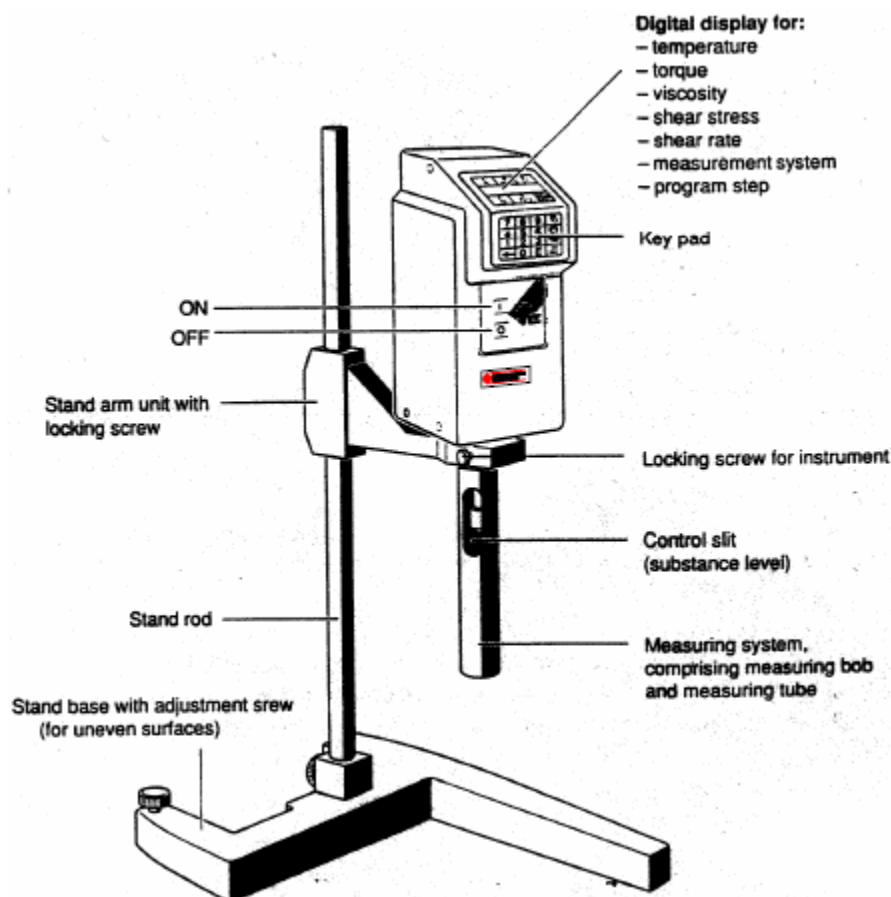


Figure 2. Used torsion Couette viscometer.

To perform measurements at different temperatures, the measuring system (bob and tube) has been soaked in a thermostat tank thermally controlled and the sample temperature has been measured by a Pt100 probe immersed in the substance.

More details related to the design, functioning and use of RM180 can be found in [10].

III.3.2.2. Materials

Carob samples have been collected during the period from August to September 2009 in the region of Beni-Mellal (Morocco), where they grow naturally. They have been taken from 60 pods and stored at ambient temperature. The composition (% w/w) of the carob pod has been pulps 64.8%, seeds 35.0%, husks of seeds 2.6%, endosperms 9.3% and germs 2.7%.

III.3.2.3.Extraction of the seed gum and measurement of viscosity

The seeds have been dehusked by treating the kernels with thermal and mechanical treatments, followed by milling and screening of the peeled seeds to obtain the endosperm (native locust bean gum). LBG solution (1 wt%) has been prepared by dispersing the powder under vigorous stirring for 1 h, at room temperature, followed by heating the dispersion at 85°C in a water bath for 30 min, under continuous stirring.

Conventional rheometrical tests, at different temperature, have been carried out for carob gum in aqueous solutions using the RM180 above described. Before each measurement, a pre-shear at 50 s⁻¹ has been applied to each sample. Then the apparent shear rate has been increased step by step from 10 s⁻¹ to 1000 s⁻¹.

III.3.3.Results and discussion

III.3.3.1.Variation of the viscosity of LBG solution with the shear rate

The effect of the shear rate, $\dot{D}$, on the viscosity of LBG in 10 mgg⁻¹ aqueous solution, η , is shown in Figure. 3. As can be seen, for a given temperature, η evolves as a hyperbolic function of $\dot{D}$. In fact, η seems to be higher at low $\dot{D}$ ($\dot{D} = 10 \text{ s}^{-1}$) and diminishes sharply with $\dot{D}$ until $\dot{D} \approx 100 \text{ s}^{-1}$ beyond which it decreases slowly to reach an asymptotic evolution where it tends to be lower. It is clear that this behavior is typically shear-thinning (or pseudo-plastic), which means that the LBG solution is a non-Newtonian fluid. As reported in the book of Couarraze and Grossiord [11], the simplest molecular interpretation of such a behavior is to assume that the molecules or structural units are aligned progressively in the direction of flow as far as the shear rate increases, which promotes the flow of the different liquid layers. According to the same reference, another interpretation is to consider a molecular structural change of the liquid (disintegration by breaking liaisons or deflocculating of particles) as a function of shear rate. On the other hand, no mathematical model can describe, accurately and rigorously, the most general shear-thinning behavior. However, when the viscosity curves of Figure. 3 are plotted in logarithmic scales, it is found that such plots can give straight lines with good linear regression coefficients (LRC) of more than 0.963, as shown in Table 1.

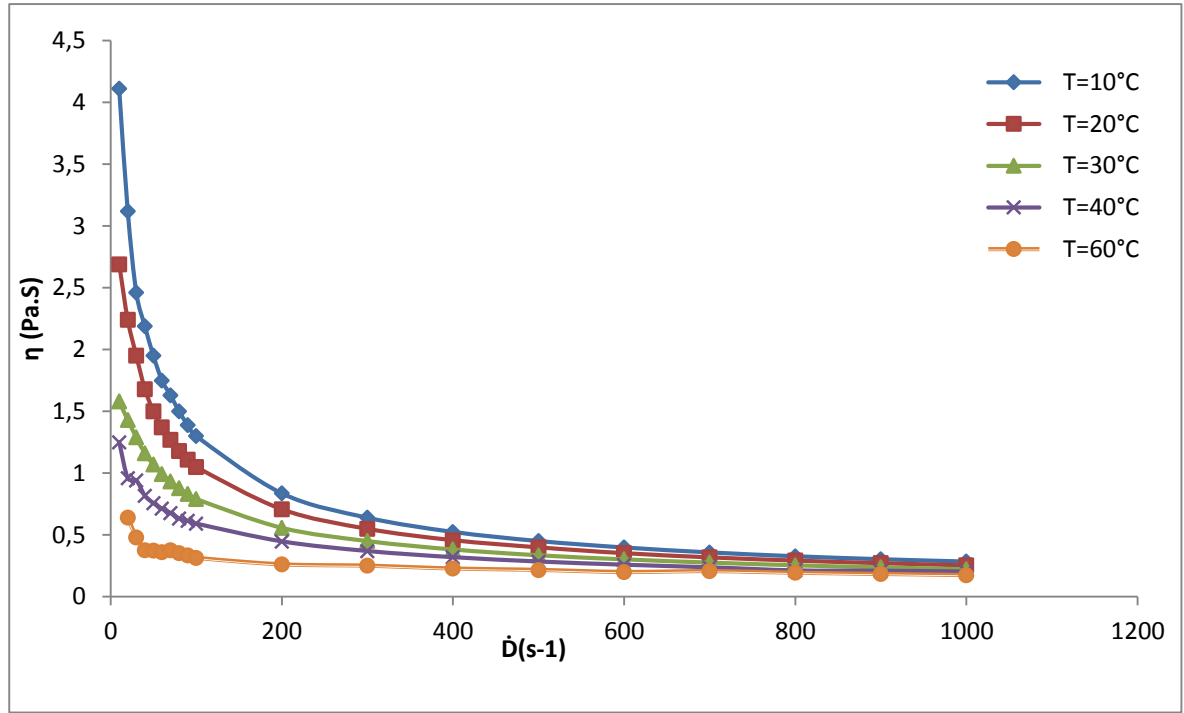


Figure 3. Evolution of the effective viscosity (η) with the shear rate ($\dot{D}$) for different temperatures at $pH=6$.

This fact indicates that the pseudo-plastic behavior exhibited by aqueous solution of LBG derivative can be well quantified by the following power-law model, due originally to Ostwald-de Waele:

$$\eta = K \dot{D}^{n-1} \quad (3)$$

where n and K are the flow behavior and consistency indexes, respectively. Then, the degree of shear-thinning for LBG aqueous solution could be measured by the value of n , which decreases when the pseudo-plasticity increases. From the results listed in Table 1, lower n values ranging from 0.391 to 0.724 are observed for three derivative solutions, showing their stronger shear-thinning property. These results substantiate the entanglement theory proposed by Graessley [12] according to which the interpenetration of polymer chains in concentrated solutions gives rise to a dynamic entangled network. With increasing shear rate, the cross-link density of the network is depleted and viscosity is reduced.

Table 1. Flow behavior index (n), consistency index (K) and corresponding linear regression coefficient (LRC) for different temperatures (T).

T (°C)	n	K (Pa.s)	LRC
10	0,391	20,136	0,995
20	0,449	12,304	0,989
30	0,532	6,247	0,979
40	0,585	3,734	0,988
60	0,724	1,185	0,963

III.3.3.2. Effect of temperature on viscosity

As can be seen from Figure. 3, a temperature increase, over a range of 10–60 °C, reduces the viscosity of LBG solution, which indicates the thermo-dependent behavior of such a solution. This result corroborates the microscopic model of liquids viscosity according to which this quantity is a decreasing function of the temperature [13]. However, this effect seems to be more pronounced for lower than for higher values of the shear rate as shown in Figure. 4.

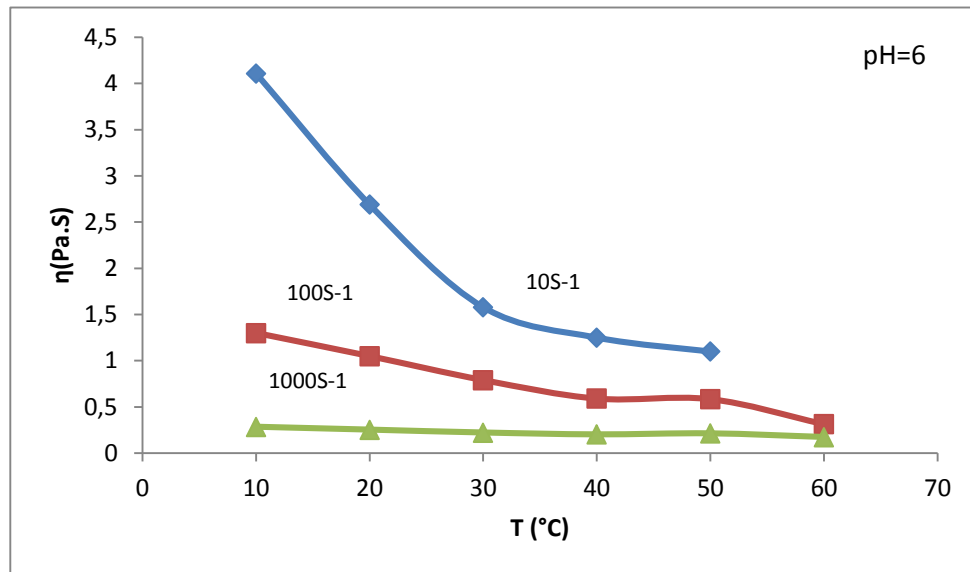


Figure 4. Evolution of the effective viscosity (η) with the temperature (T) for different values of the shear rate ($\dot{\gamma}$).

In fact, according to the above figure 4, an augmentation of the temperature from 10 to 60 °C causes a drop in the viscosity value of about 73% at a shear rate of 100 s⁻¹ and 41.3% at 1000 s⁻¹. Similar findings were reported by Rizzo *et al.*, [14] for 1% aqueous solution of a

high-grade LBG and by Amiza *et al.*, [15] for guar gum aqueous solutions. This expresses the dependence of the temperature effect on the shear rate and can be explained by the fact that at weak strain rates the molecular structural disintegration is not complete, which opens the way to the temperature to manifest its effect, while at strong rates of strain the intermolecular liaisons are completely broken and the temperature cannot bring more effect.

In terms of rheological parameters n and K , the temperature effect is illustrated in Figures. 5 and 6. It is to observe that n increases linearly with T , which means that the temperature acts such that the pseudo-plastic behavior tends to be Newtonian, while K undergoes a decrease with this quantity, like the viscosity. Such trends can be approached, with a linear regression coefficient (LRC) of about 0.998, by:

$$n = 0.0067 \times T(^{\circ}\text{C}) + 0.3222 \quad (4)$$

$$K = 36.395 \times e^{-0.057 \times T(^{\circ}\text{C})} \quad (5)$$

The last empirical relation is as an approximation of the Arrhenius model provided the temperature variation is relatively small, which is the case in this study.

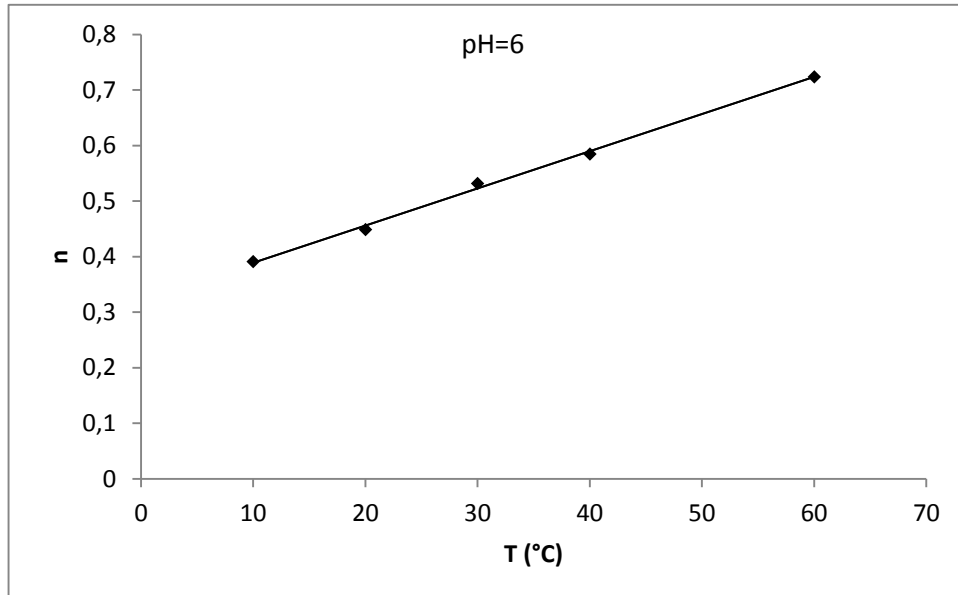


Figure 5. Variation of the behavior index (n) with the temperature (T).

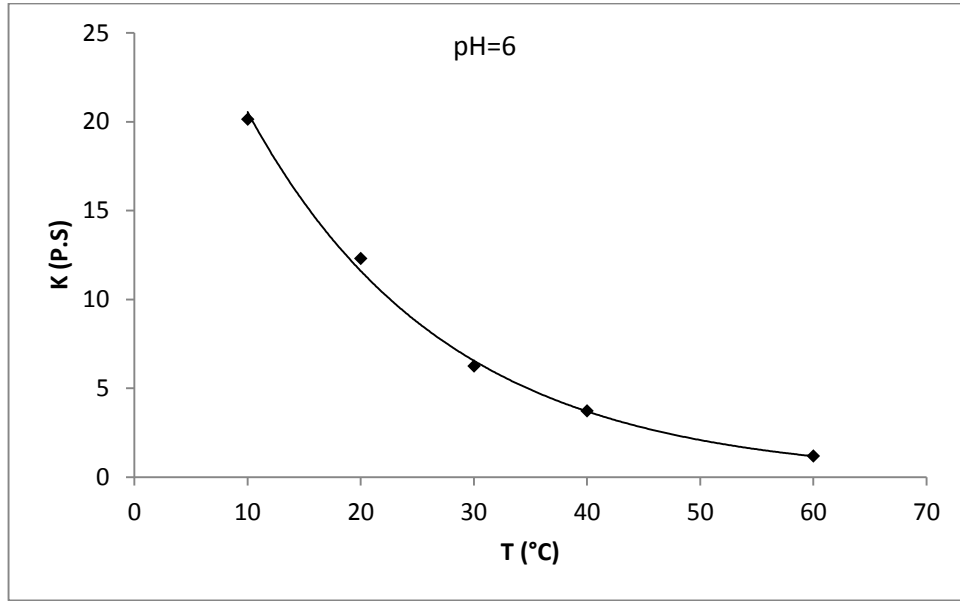


Figure 6. Variation of the consistency index (K) with the temperature (T).

III.3.3.3. Influence of pH on LBG solution viscosity

The viscosity variations with pH are displayed in Figure. 7 for $T = 30\text{ °C}$ and various values of the shear rate. $\dot{D}$ (S^{-1}) First of all, lower shear rate induces highest viscosity whatever the pH value imposed by the experience, as mentioned before. On the other hand, the viscosity evolution presents a maximum and a minimum at respectively $\text{pH} = 4.2$ and 5 for all the explored values of the shear rate. This appears clearer for $\dot{D} = 10\text{ s}^{-1}$. The maximum viscosity results in alkalescency of the solution. As galactomannans are neutral polysaccharides this behavior can be ascribed to the presence of charged contaminants (proteins), which can modify the ionic strength of the solutions depending on pH value [14].

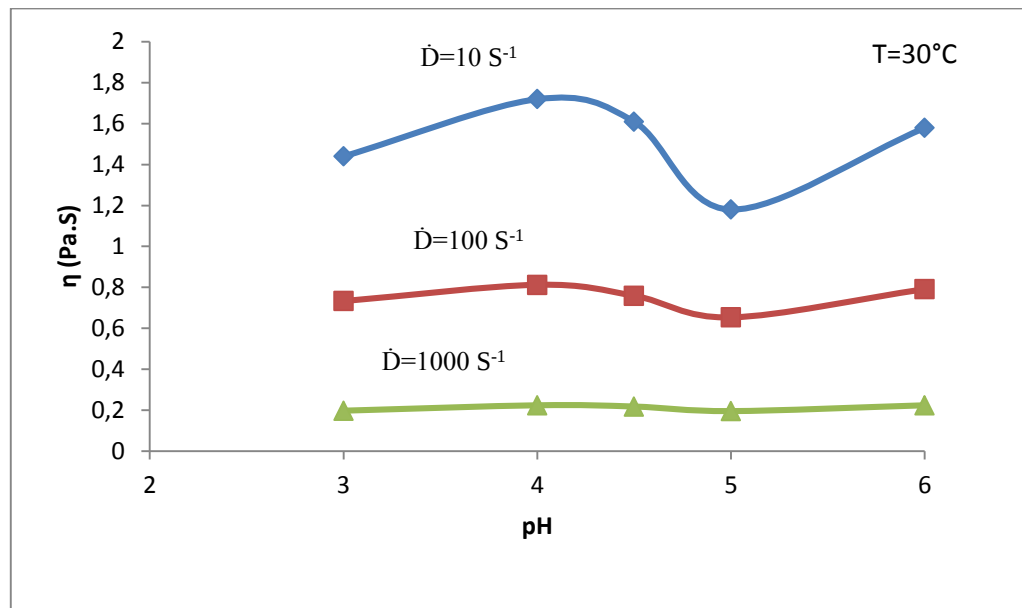


Figure 7. pH effect on effective viscosity (η) for different values of the shear rate ($\dot{D}$)

III.3.4. Conclusion

In this study the influence of shear rate, temperature and pH on viscosity of 1% LBG aqueous solution has been investigated by experimental way. The corresponding main conclusions are summarized in the following:

- The LBG solution exhibits a pseudo-plastic behavior, since its effective viscosity is a decreasing function of the shear rate, and therefore can be classified as a non-Newtonian fluid.
- The LBG solution is a thermo-dependent fluid in as much as its effective viscosity decreases with the temperature, depending on whether the shear rate is lower or higher.
- The effect of the pH is such that the viscosity of LBG solution reaches a maximum at a pH value of 4.2.

In short, LBG can be made to reach the best useful effect according to its rheological property through suitable processing technology in concrete productive practice.

Acknowledgements

We thank Professor M. Naïmi for the helpful discussions and the generous access to the rheometer.

Références bibliographiques

1. Maier M., Anderson M., Karl C. and Magnuson K. Guar, Locust bean, Tara, and Fenugreek Gums. In: Whistley RL, BeMiller JN (eds) Industrial gums: Polysaccharides and Their Derivatives 3rd edn **1993**.
2. Belitz H. D. and Grosch W. Food Chemistry. Springer-Verlag, New York, **1999**.
3. Richardson P. H., Willmer J. and Foster T. J. Dilute solute properties of guar and LBG in sucrose solution. Food Hydrocolloids **1998**, 12, 339-348.
4. Kok M. S., Hill S. E. and Mitchell, J. R. A comparison of the rheological behaviour of crude and refined locust bean gum preparations during thermal processing. Carbohydr. Polym **1999**, 38, 261-265.
5. Bresolin T. M. B., Milas M., Rinaudo M., Reicher, F. and Ganter J. L. M. S. Role of galactomannan composition on the binary gel formation with xanthan. Int. J. Biol. Macromol **1999**, 26, 225-231.
6. Chaubey M. and Kapoor P. V. Structure of galactomannan from the seeds of *Cassia angustifolia* Vahl. Carbohydrate Research **2001**, 332, 439-444.
7. Srivastava M. and Kapoor V. P. Seed galactomannans: An overview. Chemistry and Biodiversity **2005**, 2, 295-317.
8. Vieira I. G. P. V., Mendes F. N. P., Gallao M. I. and Brito E. S. NMR study of galactomannans from the seeds of mesquite tree (*Prosopis juliflora* (Sw) DC). Food Chemistry **2007**, 101, 70-73.
9. Bohdanecky M. and Kovar J. The Viscosity of Polymer Solutions of Finite Concentration. Elsevier, Amsterdam. In: Jenkins AD (eds) Viscosity of Polymer Solutions **1982**, 166-220.
10. www.mapleinstrument.com.
11. Couarraze G. and Grossiord J.L. Initiation à la rhéologie. Lavoizier – Tec & Doc **1991**, Chap. 3, p. 60-91.
12. Graessley W.W. The entanglement concept in polymer rheology. Adv. Polym. Sci **1974**, 16, 1-179.
13. Guyon E., Hulin J. P. and Petit L. Hydrodynamique physique. Savoirs Actuels, Inter Editions/Editions du CNRS **1991**, Chap. 2, p. 65-87.
14. Rizzo V., Tomaselli F., Gentile A., La Malfa S. and Maccarone E. Rheological Properties and Sugar Composition of Locust Bean Gum from Different Carob Varieties (*Ceratonia siliqua* L.). J. Agric. Food Chem **2004**, 52, 7925-7930.

15. Amiza M. A., Shamsuddin A. A., Yap Y. Y., Norfariza, Y. and Norhayati I. Extraction, purification and characterization of durian (*Durio zibethinus*) seed gum. *Food Hydrocolloids* **2007**, 21, 273–279.

III.4. Synthèse et conclusion de la partie III.

Dans cette deuxième partie de l'étude expérimentale, nous nous sommes intéressés à l'optimisation de l'extraction de la gomme de caroube en utilisant la méthodologie du plan d'expériences suivie de l'étude rhéologique du comportement de la gomme en milieu aqueux.

L'extraction de la gomme de caroube est dépendante de plusieurs paramètres opératoires. Il peut être utile de connaître leur effet et de pouvoir les modéliser. L'utilisation de la méthodologie des plans d'expérience (MPE) à travers un plan central composite (CCD), nous a permis de déterminer l'influence et de l'optimisation de plusieurs paramètres opératoires sur les performances de l'extraction.

Notre démarche pourra être résumée en trois étapes essentielles. Une première, durant laquelle le nombre et les niveaux des paramètres à tester sont choisis. Un modèle polynomiale est proposé et sa validité est discutée. Une deuxième étape, basée sur l'utilisation des graphes des effets des facteurs, a permis d'évaluer les effets des différents paramètres sur les performances du procédé. Enfin, en dernière étape, une optimisation et une identification des interactions sont réalisées grâce aux représentations des surfaces de réponses.

Les résultats de la conception expérimentale ont été étudiés et interprétés par le logiciel Nemrodw pour estimer la réponse de la variable dépendante dans l'ensemble des expériences. La conception centrale composite (CCD) se compose de trois variables indépendantes à savoir X_1 (température), X_2 (temps) et X_3 (rapport : eau/endosperme). Aussi, à part les effets linéaires, le modèle prend en compte les effets quadratiques X_i^2 et les effets d'interaction X_{ij} .

La réponse est le rendement de la gomme de caroube clarifiée (en %). Elle est représentée par les modèles de second ordre suivants :

$$Y = 62.39 + 2.09 * X_1 + 0.87 * X_2 + 2.68 * X_3 - 0.87 * X_1 * X_2 - 1.30 * X_1 * X_3 + 0.075 * X_2 * X_3 + 1.08 * X_1^2 - 0.32 * X_2^2 - 0.89 * X_3^2$$

L'analyse de la variance (ANOVA) du modèle de régression quadratique montre que les modèles sont hautement significatifs au seuil de 1 %.

Les probabilités (P-valeurs) indiquent la signification du modèle. La P-valeur relative au modèle de régression est très faible (P-valeur = 0.0001), ce qui montre la signification du modèle. De plus, la contribution de chacun des termes linéaires, quadratiques et interactions est hautement significative au seuil de 1% (P-valeur < 0,01). Par conséquent, on peut conclure que le modèle de prédiction est hautement significatifs et estiment de manière adéquate les données observées. La valeur de coefficient de détermination du rendement du CBG est $R^2 = 0.9967$. Cette valeur élevée indique que 99,67 % d'une simple variation du rendement de la gomme de caroube est expliquée par les variables indépendantes. La valeur du coefficient de détermination ajustée est également très élevée, soit $R^2_{adj} = 0.9947$, suggérant une haute signification du modèle et une bonne corrélation de ce dernier par rapport aux données expérimentales.

Les effets linéaires, quadratiques et les interactions sont significatifs pour la réponse, hormis l'interaction ($X_2 X_3$).

L'étude des représentations tridimensionnelles des surfaces de réponses est une méthode simple d'optimisation du rendement d'extraction et d'identification des interactions entre les variables. Chaque courbe représente, dans notre cas, une infinité de combinaisons entre deux variables quand le troisième variable est maintenu à un niveau constant. Ces niveaux constants sont les niveaux centraux de chacune des variables.

Les principales informations que l'on peut en tirer concernant les conditions optimales de l'extraction sont :

- L'augmentation de la température de 70 à 90°C entraîne une augmentation du rendement. En outre cette augmentation est plus significative sur le rendement de l'extraction quand le temps est minimal.

- L'augmentation du temps de 20 à 60min entraîne une augmentation du rendement. En outre cette augmentation est plus significative sur le rendement de l'extraction quand la température est minimale.
- le rendement de CBG accru avec l'augmentation de la température de l'extraction de 70 à 90°C. En outre, cette augmentation est plus significative sur le rendement de l'extraction quand le rapport de l'eau à l'endosperme des graines (X3) est minimal.
- l'augmentation du rapport de l'eau à l'endosperme de l'extraction de 100 à 300 entraîne une augmentation du rendement en CBG. En outre, l'effet de cette augmentation est plus significatif quand la température est minimale.

Le deuxième chapitre de cette partie avait pour but de comparer le rendement d'extraction de la gomme, dans les conditions d'extraction optimisées, dans les échantillons de caroube récoltés au niveau des sept régions marocaines étudiées. Une analyse chimique comparative de la gomme de caroube obtenue dans les 7 provenances a été également effectuée. Ceci afin d'identifier un ou plusieurs écotypes marocains de caroubier, plus productifs et présentant une performance biochimique importante.

Les caractères qui ont fait l'objet de notre étude sont le rendement en graine, endosperme et gomme. En plus de l'analyse de l'humidité, des cendres et des protéines brutes dans la gomme obtenue.

Les valeurs moyennes du rendement de CBG varient entre 60.63 et 72.49g/100g d'endosperme sèche, soit 34.55 à 40.05 g /100 g de graines. Battle et al (1997) a rapporté qu'environ un tiers de la graine se compose de la gomme. En Chypre, cent kilogrammes de graines rapportent une moyenne de 20 kilogrammes de gomme sèche pure (Jones, 1953).

L'analyse de la gomme obtenue montre que l'humidité varie entre 6.44 et 8.63 g/100g de CBG, les cendres varient entre 0.36 et 0.99 g/100g de CBG et les protéines varient entre 0.54 et 0.62 g/100g de CBG. Ces valeurs sont comparables à ceux cités

dans la littérature ; en effet Kawamura (2008) a signalé que les la gomme de caroube clarifiée italienne contiennent approximativement 3-10% d'humidités, 0.1-1% de cendres, et 0.1-0.7% de protéine. Le CBG clarifiée de sept secteurs du nord et du centre de la Tunisie a eu 3.43-6.99% d'humidités, 0.87-2.06% de cendres totales et 0.61-2.46% de protéine (Bouzouita *et al.*,2007).

Le rendement en CBG obtenu dans les conditions d'optimisation est très intéressant pour une valorisation industrielle. Selon cette étude, les cultivars les plus intéressants pour l'extraction de la gomme sont ceux récoltés dans les régions de Taroudant, Essaouira et Marrakech.

Dans le troisième chapitre de cette partie, nous avons réalisé une étude rhéologique pour comprendre le comportement de la gomme de caroube en solution aqueuse au dépend des facteurs température, temps et taux de cisaillement. Ces informations sont très importantes pour l'utilisation industrielle de la gomme.

Les résultats obtenus montrent que toutes les solutions présentent un écoulement non Newtonien. La variation de la viscosité des dispersions aqueuses de CBG, à différentes températures, a été examinée en fonction du gradient du taux de cisaillement. En effet, la viscosité est élevée aux faibles taux de cisaillement mais diminue pour les plus grands, ceci est dû à la désagrégation du réseau macromolécules et à son alignement dans la direction du cisaillement.

En fixant le pH et la vitesse de cisaillement, l'augmentation de la température provoque un abaissement de la viscosité apparente et donc de l'indice de consistance K , alors que l'indice d'écoulement n tend vers 1. Cette diminution peut être due à la linéarisation des macromolécules (Garcia-Ochoa & Casas, 1992, 1999), ou en raison du mouvement macromoléculaire accru et de la diminution du poids moléculaire dû à leur dégradation thermique (Kök *et al.*,1999).

L'évolution de la viscosité présente un maximum et un minimum respectivement à $\text{pH} = 4.2$ et 5 pour toutes les valeurs explorées du taux de cisaillement. Cela semble plus clair pour le taux de cisaillement de 10s^{-1} . Comme les galactommananes sont

des polysaccharides neutres, ce comportement peut être attribué à la présence de contaminants chargés (protéines), ce qui peut modifier la force ionique des solutions en fonction de la valeur du pH (Rizzo *et al.*, 2004).

En conclusion,

- La solution de gomme de caroube montre un comportement pseudo-plastique, en effet la viscosité effective diminue en fonction du taux de cisaillement et donc cette solution peut être classée comme fluide non-Newtonien.
- La solution de CBG est un fluide thermo-dépendant puisque la viscosité effective diminue avec la température pour les différents taux de cisaillement.
- L'effet du pH montre que la viscosité de la solution de CBG atteint son maximum à un pH de 4.2.

Partie IV :

Valorisation de la pulpe de caroube : Optimisation de la production du sirop

Publication 4

Hicham El Batal, Aziz Hasib, Abdelaziz Bacaoui, Fatima Dehbi, Aziz Ouattmane & Abderrahim Jaouad (2013). Syrup of natural carob sugars and a process for its production using Response Surface Methodology. Chemical and Process Engineering Research . Vol.10, 44-50

Publication 5

Hicham el Batal, A. Hasib, F. Dehbi, A. Ouattmane, A. Jaouad, A. Boulli 2011. Sugar composition and yield of syrup production from the pulp of Moroccan carob pods (*Ceratonia siliqua* L.). Arabian Journal of Chemistry (2011), doi:10.1016/j.arabjc.2011.10.012

IV. Valorisation de la pulpe de caroube : Optimisation du procédé de la production du sirop

- Introduction :

La présente partie de notre travail se situe dans la perspective de la valorisation de la pulpe de caroube. Ce patrimoine nécessite d'être préservé et valorisé par la mise en œuvre de techniques de transformation adéquates, visant le développement de « nouveaux produits permettant par la même occasion d'améliorer le niveau de vie des cultivateurs. Dans ce contexte, nous nous sommes fixé comme objectif d'élaborer des sirops à base de pulpe de caroube.

Cette partie est subdivisée en deux chapitres :

Chapitre 1: Syrup of natural carob sugars and a process for its production using Response Surface Methodology (Publication 4).

Le premier volet de ce chapitre est consacré à l'optimisation du processus de la production de sirop. Dans une première étape, nous avons identifié rapidement les facteurs influents en se basant sur nos résultats préliminaires et sur les résultats d'autres chercheurs. Dans un deuxième temps, les trois facteurs influents, à savoir, la température, le temps et le rapport (eau/pulpe) ont été étudiés et optimisés à l'aide d'un plan d'expérience de type Box Behnken.

Les données obtenues à partir du Plan Box Behnken (rendement) ont été analysées par le logiciel des plans d'expériences statistiques (Design Expert). La méthodologie des surfaces de réponses nous a permis de modéliser les réponses étudiées sous la forme d'une équation polynomiale du second degré.

Le tracé des surfaces de réponses révèle l'existence d'un rendement maximal de production de sirop de l'ordre de 38.73% pour une température de 43.45°C, un temps de 2.4 h et un rapport (eau/pulpe) de 2.27.

Chapitre 2: Sugar composition and yield of syrup production from the pulp of Moroccan carob pods (*Ceratonia siliqua* L.)(Publication 5).

Le second chapitre a pour but d'identifier un ou plusieurs écotypes marocains de caroubier, plus productifs et présentant une performance biochimique importante.

Nous avons entrepris une étude biochimique comparative sur la pulpe de caroube de sept régions de Maroc.

Les caractères qui ont fait l'objet de notre étude sont la teneur en sucre total et en sucre réducteur et le rendement en sirop. Les populations d'Essaouira et de Beni-Mellal ont des niveaux plus élevés de sucre et de rendement de sirop par rapport aux autres régions.

En dernier lieu, nous avons présenté les résultats obtenus afin de les comparer à d'autres travaux cités dans la bibliographie.

Chapitre IV.1:

Syrup of natural carob sugars and a process for its production using Response Surface Methodology

Hicham El Batal¹, Aziz Hasib^{1*}, Abdelaziz Bacaoui², Fatima Dehbi¹, Aziz Ouatmane¹, Abderrahim Jaouad².

1. Laboratory of Environment and Valorization of Agro-resources; Faculty of Science and Technology of Beni-Mellal; University of Sultan Moulay Slimane; Morocco
2. Laboratory of Applied Organic Chemistry; Faculty of Science Semlalia; University of Cadi Ayyad Marrakesh, Morocco

* E-mail of the corresponding author: azhasib@yahoo.fr

Abstract

Experimental design was used to investigate the effect of three parameters (extraction temperature, extraction time and ratio of water to pulp) on syrups yields. The ranges of the factors investigated were 20–45°C for extraction temperature (X_1), 1–3h for extraction time (X_2) and 1–3 for extraction ratio of water to pulp (X_3). The extracting parameters for syrups yields were optimized by using three-factor-three-level Box Behnken design (BBD) and response surface methodology based on the single-factor experiments. As results, the optimum conditions were extracting temperature 43.45°C, extracting time 2.40 h and the ratio of extraction solvent (water) to pulp (v/w) 2.27. Under these conditions, the experimental values were in close agreement with values predicted by the model and for wish. Predicted yield of syrup extracted is 39.51 %.

Keywords: Carob pods; pulp; Syrup yield; Optimization experiment; Box Behnken design.

IV.1.1.Introduction

The carob tree (*Ceratonia siliqua* L.) belonging to the family Cesalpiniaceae sub family of the family Leguminoseae, is widely used in the Mediterranean regions (Batle & Tous 1997; Yousif & Alghzawi 2000) cultivated for ornamental and industrial purposes.

World production is estimated at about 315 000 tons per year, produced from about 200 000 hectares with very variable yields depending on the cultivar, region, and farming practices (Makris et al. 2004) and the main producers for (pulp, seeds) respectively are Spain (36%, 28%), Morocco (24%, 38%), Italy (10%, 8%), Portugal (10%, 8%), Greece (8%, 6%), Turkey (4%, 6%) and Cyprus (3%, 2%) of the world production (Ait Chitt et al. 2007).

Chemical composition of the carob pod depends on cultivar, origin and harvesting time (Albanell et al. 1991). The two main carob pod constituents are (by weight): pulp (90%) and seed (10%) (Tous et al. 1995).

The pulp of carob pods (fruit of *Ceratonia siliqua* L.) contains a high content of sugar is 40–60% sugar, predominantly sucrose, which constitutes about 30%. It is low in protein (3–4%) and lipids (0.4–0.8%) (Yousif & Alghzawi 2000; Santos et al. 2005). The pods also contain a high amount of dietary fiber and polyphenols (Marakis 1996). The pulp of carob pods is used extensively as a raw material for the production of syrups (Petit & Pinilla 1995; Özcan 2007 et al.) and crystallized sucrose for the food industry.

Today, carob fruits have a variety of uses. Carob fruits can be made into syrup, honey, bean meal powder, and alcohol. Carob alcohol is used in the pharmaceutical industry and in wine; carob honey is used in cakes and pastries and as a sweetener for compotes and jams; and carob powder is used in baby foods and baked goods (Shaouli & Fisher 1997). The objective of this present study was to optimize the process for production of the syrup from carob pulp, using response surface methodology (RSM), employing a three-factor-three-level Box–Behnken design (BBD) (Box & Behnken 1960).

IV.1.2.Materials and methods

IV.1.2.1.Selection and preparation of samples

The material collection was carried out during summer, in 2009; from Morocco (Beni-Mellal region) in here they grow naturally. 30 trees were randomly chosen for collection of composite samples.

For the production of syrup from the pods, the samples were separated from seeds and dried at 40 °C for 1 day. Then, 100 g of pulp, with an average size between 0.5 and 1.0 cm, was suspended in water (ratio of water to raw material, 1 to 3 in v/w) and stirred under experimental conditions ($T = [20 - 45] ^\circ \text{C}$, $t = [1 - 3] \text{ h}$). The sugars extract and solid phase were separated by centrifugation.

The juice obtained in the previous stage, has to be concentrated to the commercial levels of 66.5 °Brix .The concentration of sugar must approach but not quite reach the super-saturation point: the sugar concentration should be between 65 and 67% in weight. A lower percentage of sugar makes the syrup an excellent nutriment for yeast and other microorganisms. A sugar saturated syrup lead to crystallization of a part of the sugar under conditions of changing temperature.

IV.1.2.2. Experimental design

On the basis of single-factor experiment for the syrup production, proper ranges of extraction temperature, extraction time and ratio of water to raw material were preliminarily determined. A three-level, three-variable BBD (software Design-Expert) was applied to determine the best combination of extraction variables for the production of syrup. Based on the investigations on single-factor experiment, the variables considered are extraction temperature, extraction time and ratio of water to raw material in this experimental design. Table 1 lists BBD matrix and the response values that were carried out for developing the model.

The whole design consisted of 17 experimental points carried out in random order. Five replicates (treatment 13–17) at the centre of the design were used to allow for estimation of a pure error sum of squares. The response value in each trial was average of duplicates.

Based on the experimental data, regression analysis was performed and was fitted into an empirical second-order polynomial model equation (1):

$$Y = A_0 + \sum_{i=1}^3 A_i X_i + \sum_{i=1}^3 A_{ii} X_i^2 + \sum_{i=1}^2 \sum_{j=i+1}^3 A_{ij} X_i X_j \quad (1)$$

where Y is the response variable, A₀, A_i, A_{ii}, A_{ij} are the regression coefficients of variables for intercept, linear, quadratic and interaction terms respectively, and X_i, X_j are independent variables (i – j). The coefficients of the second polynomial model and the responses obtained from each set of experimental design were subjected to multiple nonlinear regressions using software Design-Expert. The fitness of the polynomial model equation was expressed by the coefficient of determination R², and its statistical significance was checked by F-test at a probability (P) of 0.001, 0.01 or 0.05. The significances of the regression coefficients were also tested by F-test.

Table 1. Independent variables and their levels used for Box Behnken design (BBD)

	-1	0	1
Extraction temperature °C	20	32.5	45
Extraction time (h)	1	2	3
Ratio of water to pulp	1	2	3

IV.1.3.Results and discussion

IV.1.3.1. Preliminary study

Single-factor experimental designs (extracting temperature, extracting times, and ratio of water to pulp) were carried out before RSM experiments, in order to determine the experimental fields.

IV.1.3.1.1 Temperature

To study effect of different temperature on extraction yield of syrup, extraction process was carried out using the different extraction temperature of 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45 and 50 °C when other extraction condition was as following: extraction time 2 h and ratio of water to pulp 2. The extraction yield of polysaccharides had been increasing when extraction temperature increased from 15 to 45 °C. As shown in Figure 1, the maximum yield (35.6%) of syrup was observed when extraction temperature was 40 °C.

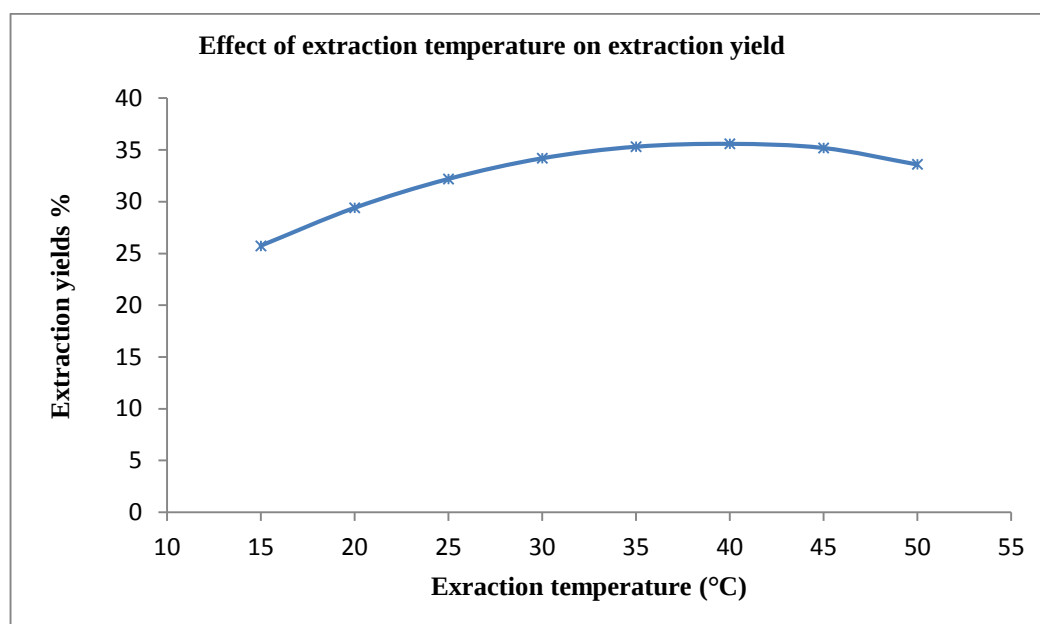


Figure 1. Effect of extraction temperature on extraction yield

IV.1 3.1.2 Time

The effect of different time on extraction yield of syrup is shown in Figure 2. When extraction time varied from 0.5 to 2h, the variance of extraction yield was relatively rapid, and syrup yield reached a maximum at 2-3h, and then became stable as the extraction proceeded. This indicated that 3 h was sufficient to obtain maximum yield of syrup.

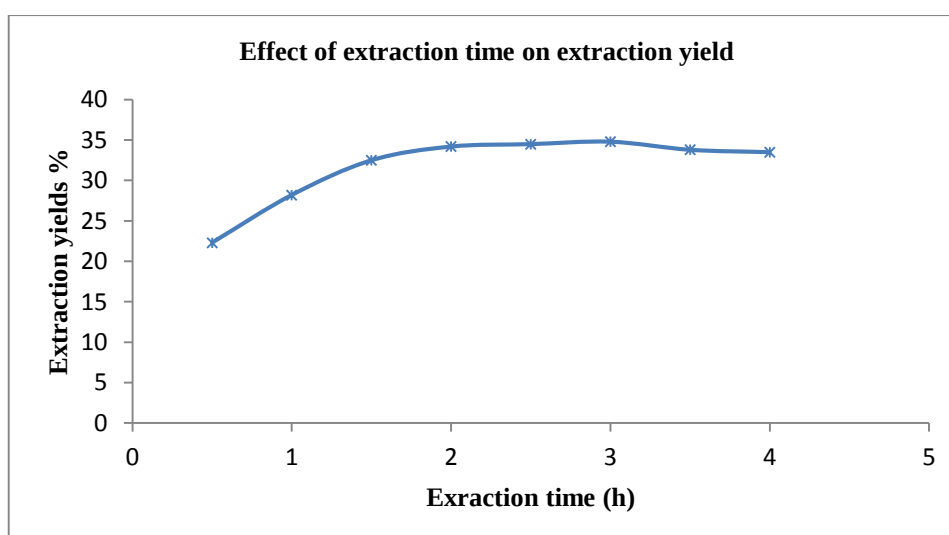


Figure 2. Effect of extraction time on extraction yield

IV.13.1.3. Ratio of water to pulp

The effect of different ratio of water to pulp on extraction yield of syrup is shown in Figure 3. The extraction was carried out with ratios which vary between 1 and 4 under the following conditions of extraction: temperature = 32.5°C and Time = 2h.

Figure 3 shows that the syrup yield increased significantly from 28.03% to 37% as the ratio of water to the pulp increased from 1 to 4; this is due to the increase of the driving force for the mass transfer of polysaccharides (Bendahou et al. 2007). However, when the ratio continued to increase, the extraction yields no longer changed.

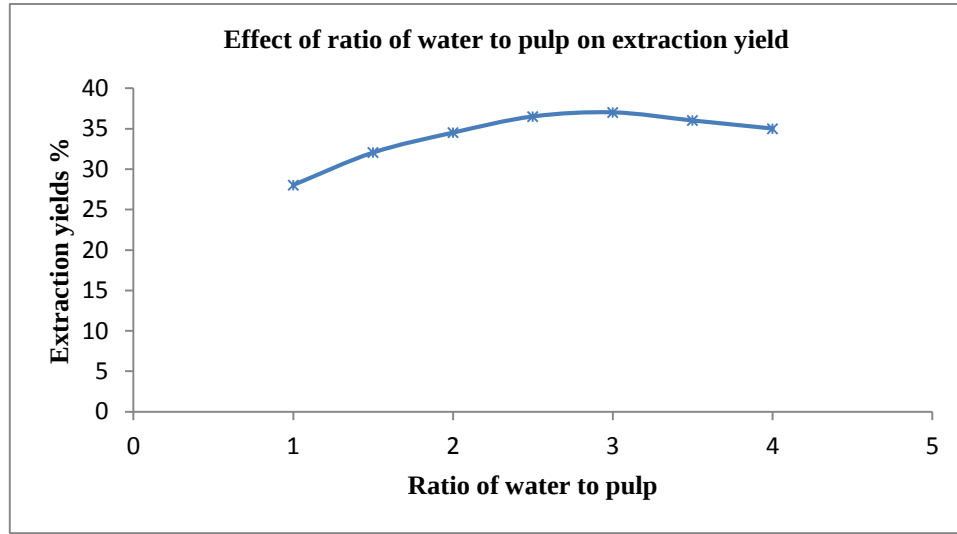


Figure 3. Effect of ratio of water to pulp on extraction yield

IV.1.3.2 Predicted model and statistical analysis

Table 3 shows the process variables and experimental data. The results of the analysis of variance, goodness-of-fit and the adequacy of the models are summarized. The percentage yield ranged from 22.6% to 40.15%. The maximum value was found at the extraction temperature 45°C, extraction time 3h and ratio of water to pulp 2. The application of RSM offers, based on parameter estimates, an empirical relationship between the response variable (extraction yield of syrup) and the test variables under consideration. By applying multiple regression analysis on the experimental data, the response variable and the test variables are related by the following second-order polynomial equation (2):

$$Y = 34.86 + 2.81 \cdot X_1 + 3.13 \cdot X_2 + 4.44 \cdot X_3 + 5.55 \cdot X_1 \cdot X_2 + 1.54 \cdot X_1 \cdot X_3 + 1.68 \cdot X_2 \cdot X_3 - 2.65 \cdot X_1^2 - 3.51 \cdot X_2^2 - 2.39 \cdot X_3^2 \quad (2)$$

Where X_1 , X_2 and X_3 were the coded values of the test variables: extracting temperature ($^{\circ}\text{C}$), extracting time (min) and ratio of water to pulp, respectively.

Table 2. The Box Behnken experimental design (in actual level of three variables) employed for production of syrup of carob

Run	Temperature X1	Time X2	Ratio of water to pulp X3	Syrup yield (%)	
				Experimental	Predicted
1	-1	-1	0	28,36	28,31
2	1	-1	0	23,69	22,83
3	-1	1	0	22,6	23,45
4	1	1	0	40,15	40,19
5	-1	0	-1	24,42	24,1
6	1	0	-1	26,15	26,65
7	-1	0	1	30,42	29,91
8	1	0	1	38,3	38,61
9	0	-1	-1	22,72	23,07
10	0	1	-1	26,52	25,97
11	0	-1	1	28,06	28,6
12	0	1	1	38,56	38,2
13	0	0	0	35,1	34,86
14	0	0	0	34,25	34,86
15	0	0	0	35,26	34,86
16	0	0	0	35,21	34,86
17	0	0	0	34,5	34,86

The statistical significance of regression equation was checked by F-test, and the analysis of variance (ANOVA) for response surface quadratic polynomial model was done by software Design-Expert. The ANOVA of quadratic regression model demonstrated that the model was highly significant. And the Fisher's F-test had a very high model F-value (112.62) and a very low P-value ($P < 0.0001$). The value of $R^2\text{Adj}$ (0.9843) for Eq. (3) is reasonably close to 1, and indicates a high degree of correlation between the observed and predicted values. A very low value of coefficient of the variation (C.V.) (2.41 %) clearly indicated a very high degree of precision and a good deal of reliability of the experimental values. The F-value (4.80) and P-value (0.0819) of lack-of-fit implied the lack-of-fit was not significant relative to the pure error. It indicates that the model equation is adequate for predicting the yield of syrup under any combination of values of the variables. The coefficient estimates of model equation, along with the corresponding P-values, were presented in Table 3. The P-values are used as a tool to check the significance of each

coefficient, which also indicate the interaction strength between each independent variable. Smaller the P-value is, more significant the corresponding coefficient is (Muralidhar et al. 2001). When value of “probability > F” is less than 0.05, the model terms is significant. It can be seen from Table 2 that all regression coefficients were highly significant, and a_1 , a_2 , a_3 , a_1a_2 , a_1a_3 , a_2a_3 , a_1a_1 , a_2a_2 , a_3a_3 were significant model terms.

Table 3. Test of significance for regression coefficients

Effect	Coefficient			
	estimate	Standard error	F-value	P value
a_1	2,8112	0,2629	114,2882	< 0.0001
a_2	3,125	0,2629	141,2221	< 0.0001
a_3	4,4412	0,2629	285,2418	< 0.0001
a_1a_1	5,555	0,3718	223,1212	< 0.0001
a_2a_2	1,5375	0,3718	17,0923	0.0044
a_3a_3	1,675	0,3718	20,2862	0.0028
a_1a_2	-2,6532	0,3624	53,5803	0.0002
a_1a_3	-3,5107	0,3624	93,8099	< 0.0001
a_2a_3	-2,3882	0,3624	43,4118	0.0003

IV.1.3.3 Analysis of response surfaces

The effects of the three factors as well as their interactive effects on the syrup yield are shown in Figure 4. Figure 4 denotes the three dimensional surfaces plots of effect of extraction temperature (X_1) and extraction time (X_2) on response. As can be seen, enhancing the extraction temperature (X_1) from 15 to 45°C could increase the syrup yield. Enhancing the time (X_2) from 1 to 3h could also increase the syrup yield. It is concluded that a high syrup yield could be obtained by combining appropriate extraction temperature (X_1) and extraction time (X_2).

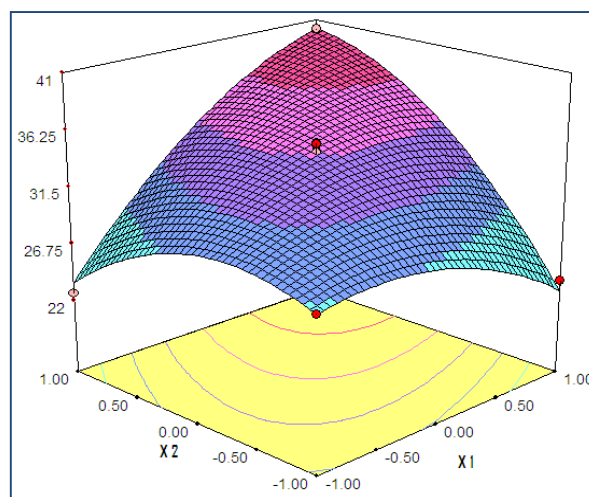


Figure 4. Response surface curve for syrup yield of carob showing the interaction between X_1 and X_2 at $X_3 = 0$.

Figure. 5 depict the effect of extraction time (X_1) and extraction temperature (X_3) on the syrup yield. It was observed that syrup yield increased with the increase in extraction time (X_1). Also, extraction rate increased with the increase in extraction temperature (X_3).

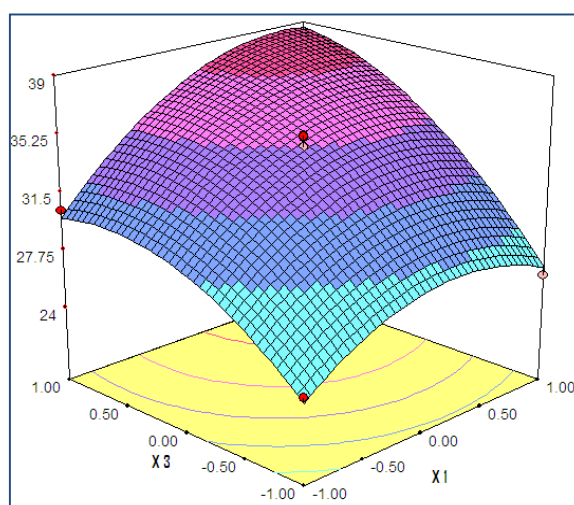


Figure 5. Response surface curve for syrup yield of carob showing the interaction between X_1 and X_3 at $X_2 = 0$.

Figure 6 shows the effect of ratio of liquid to solid (X_3) and extraction time (X_2) on the syrup yield. It was observed that syrup yield increased with the increase in ratio of liquid to solid (X_3). Also, extraction rate increased with the increase in extraction time (X_2).

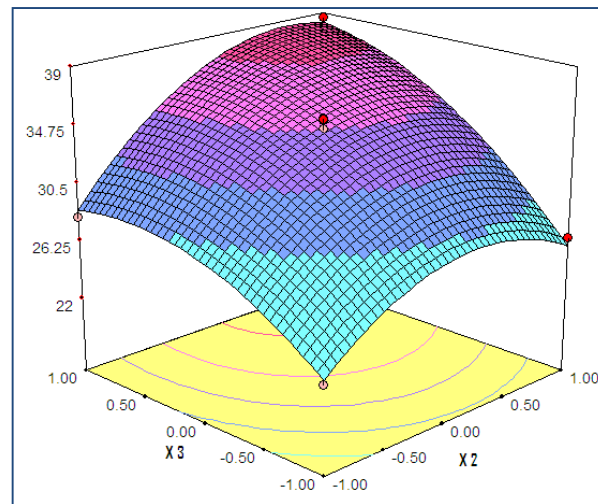


Figure 6. Response surface curve for syrup yield of carob showing the interaction between X_2 and X_3 at $X_1 = 0$.

IV.1.3.4. Verification of predictive model

To ensure the predicted result was not biased toward the practical value, experimental rechecking was performed using this deduced optimal condition. A mean value of 38.73 ± 1.72 ($N = 3$), obtained from real experiments, demonstrated the validation of the RSM model. The good correlation between these results confirmed that the response model was adequate for reflecting the expected optimization.

IV.4.Conclusion

The performance of the production of the syrup from carob pulp was studied with a statistical method based on the response surface methodology in order to identify and quantify the variables which may maximize the yield of syrup. The three variables chosen, namely extraction temperature, extraction time, and ratio of water to pulp all have a positive influence on the yield of syrup using the extraction method.

Through optimization, the optimal conditions for the production of syrup are as the following: extracting temperature 43.45°C , extracting time 2.40 h and the ratio of water to pulp 2.27. Under these conditions, the experimental yield of syrup was 38.73%.

References

Ait Chitt, M., Belmir, H. & Lazrak, A, (2007), "Production de plants sélectionnés et greffés de caroubier", *In Bulletin mensuel d'information et de liaison du PNTTA MAPM/DERD***153**, 1-4.

- Albanell, E., Caja, G. & Plaixats, J. (1991), "Characteristics of Spanish carob pods and nutritive value of carob kibbles". *Cahiers Options Mediterranean***16**, 135–136.
- Battle, I, and Tous, J (1997), "Carob tree. *Ceratonia siliqua* L. promoting the conservation and use of underutilized and neglected crops", 17. Institute of Plant Genetics and Crop Plant Research. Gatersleben/ International Plant Genetic Resources Institute, Rome.
- Bendahou, A., Dufresne, A., Kaddami, H. & Habibi, Y. (2007), "Isolation and structural characterization of hemicelluloses from palm of *Phoenix dactylifera* L", *Carbohydrate Polymers***68**, 601–608.
- Box, G. E. P. & Behnken, D. W. (1960), "Some new three level designs for the study of quantitative variables", *Technometrics***2**, 455–475.
- Marakis, S. (1996), "Carob bean in food and feed: current status and future potentials a critical appraisal", *Journal of Food Science and Technology***33**, 365–383.
- Muralidhar, R. V. , Chirumamila, R. R. , Marchant, R. & Nigam, P. (2001), "A response surface approach for the comparison of lipase production by *Candida cylindracea* using two different carbon sources", *Biochemical Engineering Journal***9**, 17–23.
- Makris, D.P. and Kefalas, P, (2004), "Carob pods (*Ceratonia siliqua* L.) as a source of polyphenolic antioxidants", *Food Technology and Biotechnology* vol. **42**, 105–108.
- ÖZcan, M.M., Arslan, D. & Gökçalik, H, (2007), "Some compositional properties and mineral contents of carob (*Ceratonia siliqua*) fruit, flour and syrup" *International Journal of Food Sciences and Nutrition* **58**(8): 652-658
- Petit, M.D. and Pinilla, J.M. (1995), "Production and purification of a sugar pods syrup from carob", *Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie*, 28, 145–152.
- Santos, M., Rodrigus, A. & Teixeira, J. A. (2005), "Production of dextran and fructose from carob pod extract and cheese whey by *Leuconostoc mesenteroides* NRRL B512(f)", *Biochemical Engineering Journal*, **25**(1) 1–6.
- Tous, J., Battle, I. & Romero, A. (1995) , "Prospección de variedades de algarrobo en Andalucía" *Información Técnica Económica Agraria*, 91V(3).
- Turkish Food Codex, (2000), Honey notification. No. 25347. Turkish Republic Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Ankara, Turkey.
- Yousif, A. K. & Alghzawi, H. M, (2000), "Processing and characterization of carob powder", *Food Chemistry***69**, 283–287.

Chapitre IV.2:

Sugar composition and yield of syrup production from different crops Moroccan carob pulp

H. EL BATAL¹, A. HASIB^{1*}, F. DEHBI¹, A. OUATMANE¹, A. JAOUAD², A.
BOULLI¹

*1. Laboratory of Environment and Valorisation of Agro-resources; University of
Sultan Moulay Slimane; Faculty of Science and Technology of BENI-MELLAL;*

*2. Laboratory of Applied Organic Chemistry; Faculty of Science Semlalia;
University of Cadi Ayyad Marrakesh, Morocco*

** Correspondence authors. E-mail: azhasib@yahoo.fr*

Abstract

The aim of this work is to provide a process for obtaining natural carob syrup of Morocco carob pods and their total and reducing sugar. Samples were collected from different regions in the agro-forestry system of Morocco. The total sugar and reducing sugar in pods obtained from different regions were 31.5–50.1 and 10.2–14.6 g/100 g “%w/w”, respectively. The yield of syrup from the different regions varies between 28.76 and 37.22 g/100 g “%w/w”. Populations from Essaouira and Beni-mellal have higher levels of sugar and yield of syrup. The values obtained vary according to the origin of the samples.

Keywords: Carob pods; provenance of carob; pulp yield; total sugars; reducing sugars; syrup yield.

IV.2.1. Introduction

The carob tree (*Ceratonia siliqua* L.) belonging to the family Cesalpiniaceae sub family of the family Leguminosae, is widely used in the Mediterranean regions (Battle and Tous, 1997; Yousif and Alghzawi, 2000) cultivated for ornamental and industrial purposes (Girolamo and Laura, 2002).

World production is estimated at about 315 000 ton per year, and the main producers for pulp, seeds, respectively are Spain (36%, 28%), Morocco (24%, 38%), Italy (10%, 8%), Portugal (10%, 8%), Greece (8%, 6%), Turkey (4%, 6%) and Cyprus (3%, 2%) of the world production (Ait Chitt *et al.*, 2007).

The total area is approximately 200,000 hectares and the yield depends on cultivar, region and cultural practices (Makris and Kefalas, 2004).

The carob distribution in Morocco is centered in the north selvage of the Atlas chain, the Rif Mountain and in some valleys of the south-west of the Anti-Atlas confined to arid and semi-arid bioclimates with an extension to sub-humid bioclimate in some stands (Sidina *et al.*, 2009).

Chemical composition of the carob pod depends on cultivar, origin and harvesting time (Albanell, 1991). The two main carob pod constituents are (by weight): pulp (90%) and seed (10%) (Tous *et al.*, 1995).

The seeds, covered with a tight-fitting brown coat, contain a white and translucent endosperm (containing galactomannans), also called Carob gum, Locust bean gum (LBG) or E411. Locust bean gum is utilized in food and non-food industries for its ability to form a very viscous solution at relatively low concentration. It is also exploited for its synergy property with carrageenan, agar and xanthan to form stronger and more elastic gels (Hoichman *et al.*, 2007).

Nowadays, the main application of the pulp is as an animal feed (Manso *et al.*, 2010). In human the carob pulp has been used mainly as cocoa substitute (Kumazawa *et al.*, 2002; Bengoechea *et al.*, 2008), in pharmaceutical products (Calixto and Canellas, 1982) and in ethanol production (Turhan *et al.*, 2010).

The pulp of carob pods (fruit of *Ceratonia siliqua* L.) contains high contents of sugar (sucrose, fructose and glucose) and can be employed as a raw material for the production of syrups (Petit and Pinilla, 1995) and crystallized sucrose (Lafuente, 1961) for the food industry.

The aim of the present work is to identify rich sugar carob provenance to be use for industrial carob syrup extraction.

IV.2.2. Materials and methods

IV.2.2.1. *Selection and preparation of samples*

The material collection was carried out during summer. For each provenance (Figure 1) 30 trees were randomly chosen for collection of composite samples. These later were characterized according to the following morphological parameters: pods weight, seed yield and pulp yield.

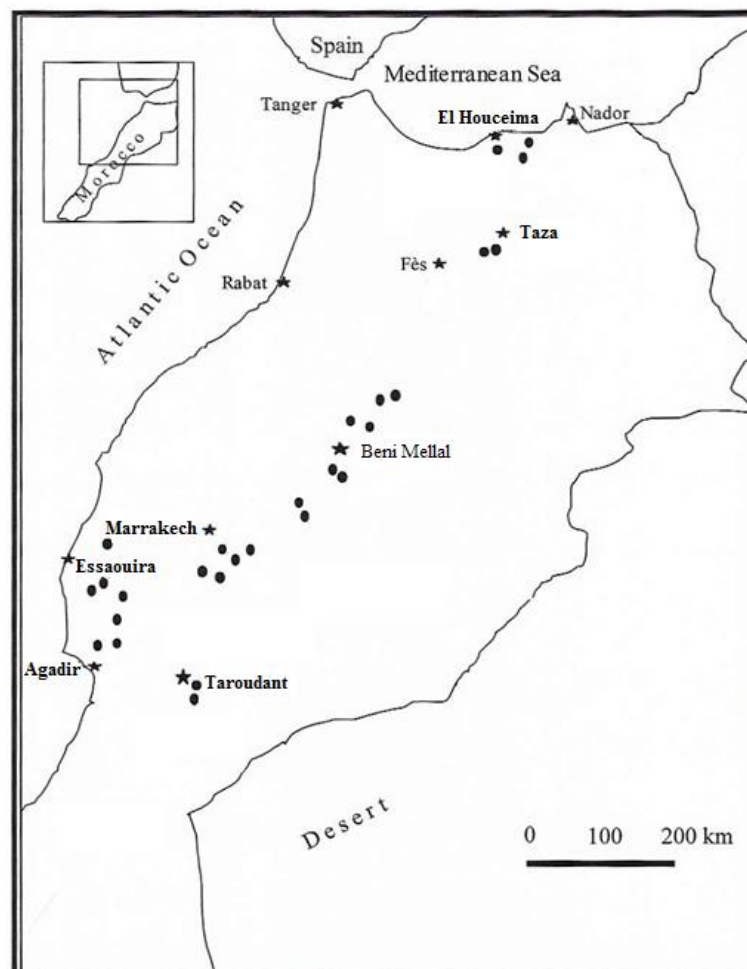


Figure 1. Repartition map of Morocco carob populations

IV.2.2.2.Determination of total and reducing sugars

Analyses of sugar in various food products are based on the determination of total sugar, sucrose and reducing sugars, with little emphasis on the other individual sugars. Precise, easy to use and cost effective, the Bertrand's method (Browne and Zerban, 1955) of analysis remains a widely used industrially to estimate the total sugar and reducing sugars content of syrups and other sugar solutions.

In this work, we used this method for the analysis of sugars in the extracts of carob pulp. The assay itself involves collecting the precipitate of cuprous oxide formed by reduction of the copper-alkaline liquor in the presence of reducing sugars and assayed by the manganimetric. Bertrand tables give a direct correspondence between the volumes of potassium permanganate (0.1 N) used and the reducing sugar content of the sample.

IV.2.2.3.Production of syrup

For the production of syrup from the carob, the samples were separated from seeds and dried at 40 ° C for 1 day. In the extraction process 100 g of pulp, with a mean particle size between 0.5 and 1.0 cm, was suspended in water (1:2) ratios (pulp/water) and stirred under optimum conditions ($T = 43^{\circ}\text{C}$, $t = 160 \text{ min}$). The sugars extract and solid phase were separated by centrifugation.

The juice obtained in the previous stage has to be concentrated using a rotary evaporator to the commercial levels of 66.5°Brix. The concentration of sugar must approach but not quite reach the super-saturation point: the sugar concentration should be between 65 and 67% in weight. A lower percentage of sugar makes the syrup an excellent nutriment for yeast other microorganisms. A sugar saturated syrup lead to crystallization of a part of the sugar under conditions of changing temperature.

IV.2.2.4.Statistical analysis

Each analysis was done at least in triplicate and the results are expressed as mean and standard deviation (SD).The Student's t-test was used to evaluate the differences between the means of eachgroup. $P < 0.05$ was considered to be statistically significant.

IV.2.3. Résulte and discussion

This work was carried out on different geographic regions of carob trees in agro-forestry systems. Based on previous study (Wahid *et al.*,2006) in which climatic data were analyzed all over Morocco, a stratified sampling method were used in which topography, vegetation homogeneity and altitude were regrouped in seven geographic entities (Figure 1). Each entity (provenance) is here defined as a region characterized by similar topographic and climatic conditions with a homogeneous flora. Geographic characteristics such as altitude slice, central latitude and longitude as well as the mean precipitation of these provenances are summarized in Table 1.

Table 1. Geographic and meteorological conditions of provenance of carob (*Ceratonia siliqua* L.) used in the study.

Provenance	Geographic region	Latitude	Longitude	Altitude	Rainfall
		N	W	(m)	(mm)
<i>Taroudant</i>	High Atlas (South-West)	30°37'	8°20'	200-400	250
<i>Agadir</i>	West costal	30°41'	9°33'	150-350	300
<i>Essaouira</i>	West costal	31°20'	9°40'	100-200	300
<i>Marrakech</i>	High Atlas mountain	31°29'	7°43'	700-1000	500
<i>Beni Mellal</i>	Middle Atlas mountain	32°30'	6°03'	500-800	550
<i>Taza</i>	Middle Atlas mountain	34°08'	4°08'	500-600	700
<i>El Houceima</i>	North-costal	35°11'	3°57'	50-250	327

IV.2.3.1 Measurement of carob pods

Results of carob pod measurements are shown in (Figure 2). The overall mean values for all parameters measured and their standard deviations are presented. High levels of variation were found considering the seven provenance studied. The data from this study showed that there were no significant differences ($P>0.05$) among the seven crops as far as the yield of pulp and seeds is concerned (Fig. 2).

Data obtained from other studies (Table 2) showed a high diversity in the yield of pulp and seeds of carob. Moroccan crops are largely characterized by high seeds yield average

[17.47-29.44g/100 g “%w/w”] content and medium pulp yield average [71.30-82.30g/100 g “%w/w”]. Spanish, Tunisian, Portuguese and Turkey crops produce low to medium seeds yield and medium to high pulp yield (Haselberg, 1988; Barracosa et al.; 2007; Biner et al.; 2007; Naghmouchi et al.; 2009). The results obtained in this study, however, were in agreement with the literature.

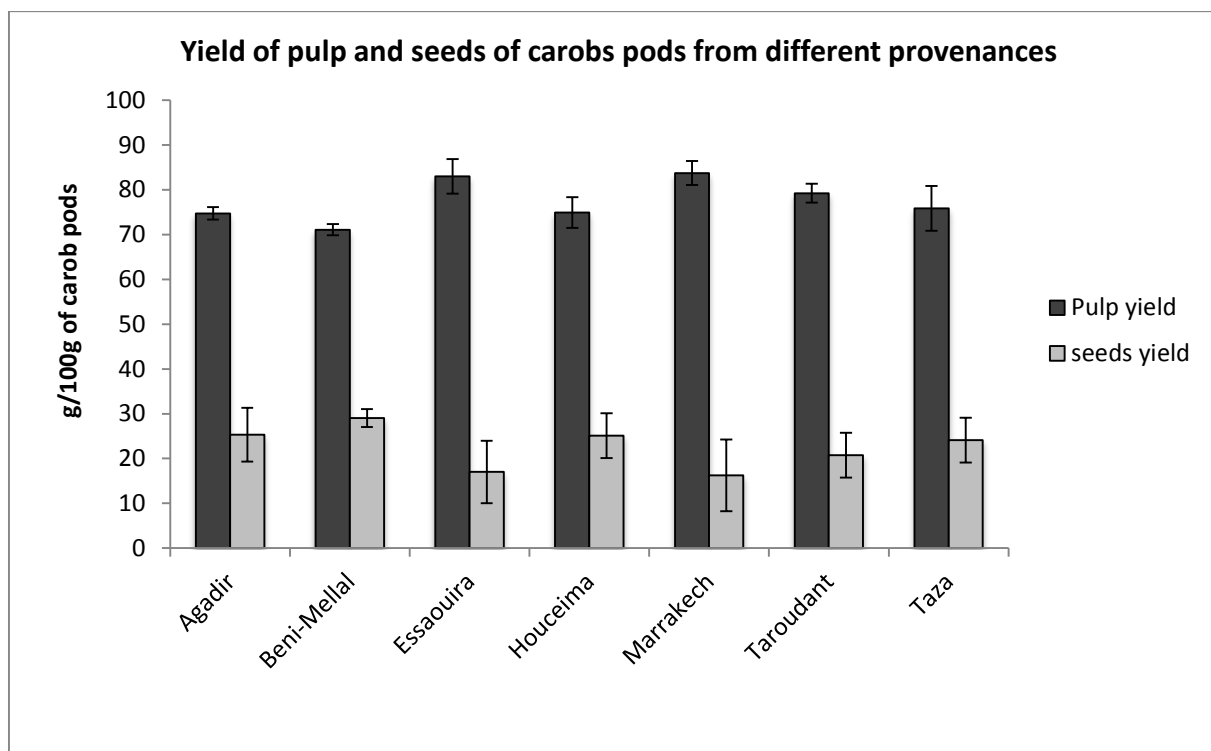


Figure 2. Yield of pulp and seeds of carobs pods from different provenances

Table 2. Measurement average of carob in this study and from other studies

Country	Seed Yield (g/100g of Carob pods)	Pulp Yield (g/100g of Carob pods)
Morocco (present work)	17.47-29.44	71.30-82.30
Portuguese (Barracosa <i>et al.</i> ,2007)	12.00-14.00	86.00-88.00
Tunisia (Naghmouchi <i>et al.</i> ,2009)	13.00-18.00	82.00-87.00
Spanish (Haselberg, 1988)	7.00-16.00	84.00-93.00
Turkey (Biner <i>et al.</i> ,2007)	10.02-17.77	82.23-89.98

IV.2.3.2. Total and reducing sugar values from pods

The overall means values for the total sugar and reducing sugar and their standard deviation were presented in (Fig. 3). The total sugar content varied between 31.5 and 50.1 g/100 g “%w/w” of dry pulp in populations of *Agadir* and *Essaouira* respectively. There was only one carob for *Essaouira*, which values were the highest averages. In this study it was found that no significant ($P>0.05$) difference was observed between *Taroudannt*, *Marrakech*, *Beni Mellal*, *Taza* and *El Hoceima*. *Essaouira* had a significantly ($P<0.05$) higher Total sugar content than all the others crops (Fig. 3).

The levels of reducing sugars varied between 11.3 and 14.6 g/100 g “%w/w” of dry pulp, respectively, in the regions of *Agadir*, *Marrakech* and *Essaouira*. There was a relatively high average value (14.6 g/100 g “%w/w” of dry pulp) among the native population of the West Coast (*Essaouira*). *Taroudannt*, *Agadir*, *Marrakech*, *Beni Mellal* and *Taza* did not differ ($P>0.05$), but significantly differed ($P<0.05$) from *El Hoceima* and *Essaouira*.

These results are comparable to those reported by Albanell *et al.* (1991) in Spanish crops of about 46.95 and 12.75 g/100 g “%w/w” of dry pulp for total and reducing sugars respectively.

IV.2.3.3. Syrup yield

The results of syrup (66.5°Brix) yield obtained in experimental conditions are presented in fig. 3. The obtained average values vary between 28.7 and 37.2 g/100 g “%w/w” of dry pulp. The samples with the higher yield were from *Essaouira* and *Beni-Mellal*, with averages of 37.21 and 36.61 g/100 g “%w/w” of dry pulp respectively. The regions with the lower yield were *Agadir* and *Taroudannt* with averages of 28.76 and 29.27 g/100 g “%w/w” of dry pulp respectively. No significant ($P>0.05$) differences were observed between the Syrup yield of *Taroudannt*, *Agadir*, *Taza*, and the *El Hoceima*. The *Essaouira* and the *Marrakech* differed from one another and from the *Taroudannt*, *Agadir* and *Taza*. The *Taroudannt* was significantly ($P<0.05$) lower in syrup yield than the other crops. These results are less than with those reported by Petit and Pinilla (1995) in Spanish crops of about 54.24 g/100 g “%w/w” of dry pulp for the syrup yield.

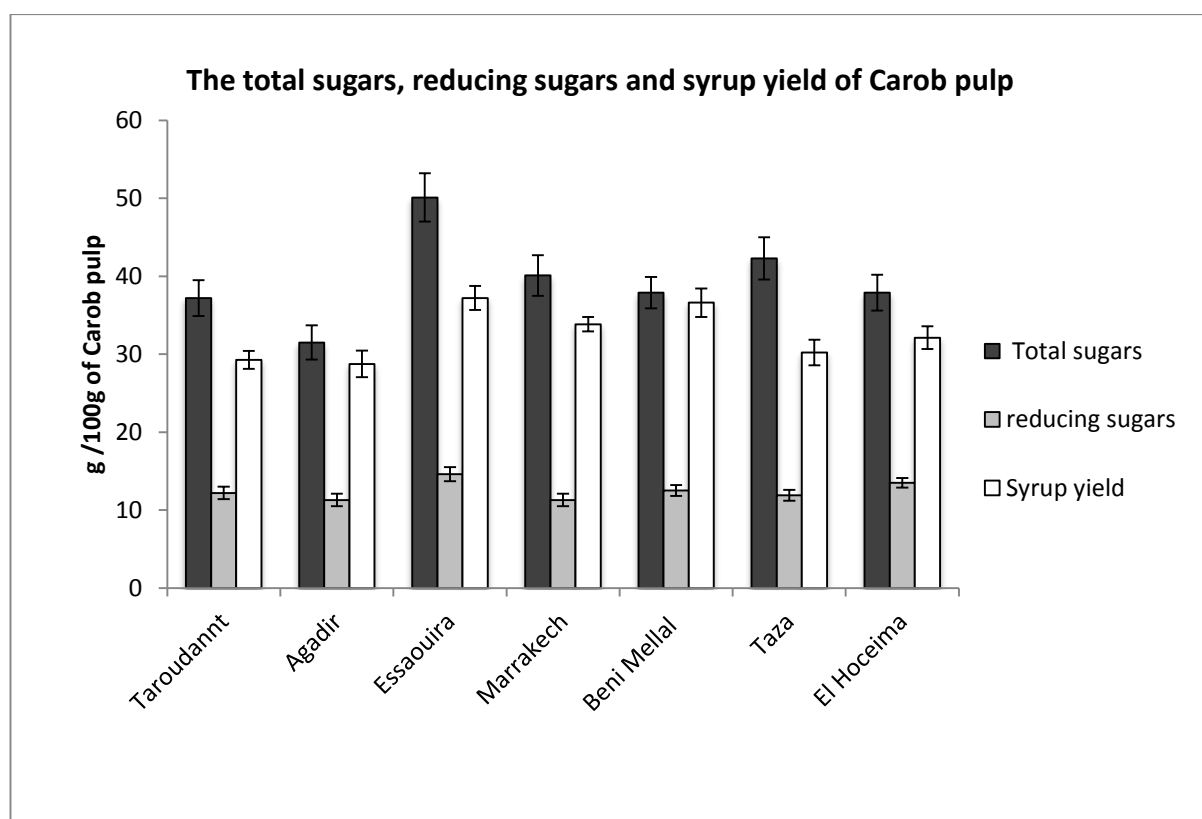


Figure 3. The overall mean values for the total sugars, reducing sugars and syrup yield of Carob pulp

IV.2.4. Conclusion

The proportions of carob pulp and seeds and the contents of total and reducing sugars in pulp show a great diversity between the populations of the Moroccan carob tree. This diversity seems to take place according to the geographical origin of the population. The obtained results are comparable with those reported in other studies for crops of various origins.

The obtained carob syrup yields ranging between 28 and 39 g/100 g “%w/w” of dry pulp are very interesting for industrial exploitation. According to this study, the most interesting samples for production of high syrup yield are those collected in the region of *Essaouira* and *Beni Mellal*.

References

- Ait Chitt; Belmir; Lazrak 2007. Bulletin mensuel d'information et de liaison du PNTTA MAPM/DERD, **153**, 1-4.
- Albanell, E.; Caja, G.; Plaixats, J. 1991. Characteristics of Spanish carob pods and nutritive value of carob kibbles. *Cahiers Options Mediterranean*, **16**, 135-136.
- Barracosa, P.; Osorio, J.; Cravador, A. 2007. Evaluation of fruit and seed diversity and characterization of carob (*Ceratonia siliqua* L) cultivars in Algarve region. *Sci. Hortic.* **114**, 250–257.
- Battle, I.; Tous, J. 1997. Carob tree. *Ceratonia siliqua* L. promoting the conservation and use of underutilized and neglected crops. 17. Institute of Plant Genetics and Crop Plant Research. Gatersleben/International Plant Genetic Resources Institute, Rome.
- Bengoechea, C.; Romero, A.; Villanueva, A.; Moreno, G.; Alaiz, M.; Milla'n, F.; Guerrero, A.; Puppo, M.C. 2008. Composition and structure of carob (*Ceratonia siliqua* L.) germ proteins. *Food Chemistry*. **107**, 675–683.
- Biner, B.; Gubbuk, H.; Karhan, M.; Aksu, M.; Pekmezci, M. 2007. Sugar profiles of the pods of cultivated and wild types of carob bean (*Ceratonia siliqua* L.) in Turkey. *Food Chemistry*. **100**, 1453–1455.
- Browne, C.A.; Zerban, F.W., F.W. 1955. Physical and Chemical Methods of Sugar Analysis, 3rd Ed. John Wiley and Sons. 497-512.
- Calixto, F. S.; Canellas, J. 1982. Components of nutritional interest in carob pods *Ceratonia siliqua*. *Journal of the Science of Food Agriculture*. **33**, 1319–1323.
- Girolamo R. & Laura D., 2002. Evaluation and preservation of genetic resources of carob (*Ceratonia siliqua* L.) in southern of Italy for pharmaceutical use. *Breed. Res.Aromat. Med. Plants*. **9**, 367-372.
- Haselberg, C. von. 1988. A contribution to the classification and characterisation of female and male varieties of *Ceratonia siliqua* L. in Proceedings of the II International Carob Symposium (P. Fito and A. Mulet, eds.). Valencia, Spain. 137-151.

- Hoichman, D.; Gromova.; L. I.; Sela, J. 2007. Synergistic gel formation in aqueous solutions of guar – gellan composition. *Pharmaceutical Chemistry Journal*.**41**, 42 – 45.
- Kumazawa, S.; Taniguchi, M.; Suzuki, Y.; Shimura, M.; Kwon, M. S.; Nakayama, T. Antioxidant activity of polyphenols in carob pods. *J. Agric. Food Chem.* **2002**, 50, 373–377.
- Lafuente, B. 1961. Azticares de la algarroba I. La fermentaci6n selectiva de las hexosas en la obtenci6n de sacarosa. *Revista deAgricultura y Tecnologia de Alimentos*. **1**, 1-7.
- Manso, T.; Nunes, C.; Raposo, S.; Lima-Costa, M. E. 2010. Carob pulp as raw material for production of the biocontrol agent *P. agglomerans* PBC-1. *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology*. 1367-5435.
- Makris, D. P.; Kefalas, P. 2004. Carob pods (*Ceratonia siliqua* L.) as a source of polyphenolic antioxidants. *Food Technology and Biotechnology*. **42**, 105–108.
- Naghmouchi, S.; Khouja, M.L.; Romero, A.; Tous, J.; Boussaid, M. 2009. Tunisian carob (*Ceratonia siliqua* L.) populations: Morphological variability of pods and kernel. *Sci. Hortic.* **121**, 125-130.
- Petit, M. D.; Pinilla , J. M.1995. Production and Purification of a Sugar Pods Syrup from Carob. *Lebensm.-Wiss. u.-Technol.* **28**, 145-152.
- Sidina , M. M.; El Hansali , M.; Wahid , N.; Ouatmane , A .;Boulli , A .; Haddioui , A. 2009. Fruit and seed diversity of domesticated carob (*Ceratonia siliqua* L.) in Morocco. *Scientia Horticulturae*. **123**, 110–116.
- Tous, J.; Batlle, I.; Romero, A. 1995. Prospección de variedades de algarrobo en Andalucía. *Información Técnica Económica Agraria*. **3**, 164-174.
- Yousif, A. K.; Alghzawi, H. M. 2000. Processing and characterization of carob powder. *Food Chemistry*. **69**, 283–287.
- Turhan, I.; Bialka ,K.L.; Demirci, A.; Karhan, M. 2010. Ethanol production from carob extract by using *Saccharomyces cerevisiae*. *Bioresource Technology*. **101**, 5290–5296.
- Wahid, W., Gonza´lez-Martí´nez, S.C., El Hadrami, I., Boulli, A., 2006. Variation of morphological traits in natural populations of maritime pine (*Pinus pinaster* Ait) in Morocco. *Ann. For. Sci.* **63**, 83–92.

IV.3. Synthèse et conclusion de la partie VI.

La dernière partie de notre travail, subdivisée en deux chapitres, se situe dans la perspective de la valorisation de la pulpe de caroube en essayant de mettre au point un sirop de caroube.

Le premier volet de cette partie est consacré à l'optimisation du processus de la production de sirop. Dans une première étape, nous avons identifié les facteurs influents en se basant sur les résultats de notre étude préliminaire et sur les résultats cités dans la littérature par d'autres chercheurs. Dans un deuxième temps, les trois facteurs influents, à savoir, la température, le temps et le rapport (eau/pulpe) ont été étudiés et optimisés à l'aide d'un plan d'expérience de type Box Behnken.

La réponse choisie est le rendement en sirop (66.5°Brix) produit à partir de la pulpe de caroube. Elle est représentée par les modèles de second ordre suivants :

$$Y = 34.86 + 2.81 \cdot X_1 + 3.13 \cdot X_2 + 4.44 \cdot X_3 + 5.55 \cdot X_1 \cdot X_2 + 1.54 \cdot X_1 \cdot X_3 + 1.68 \cdot X_2 \cdot X_3 - 2.65 \cdot X_1^2 - 3.51 \cdot X_2^2 - 2.39 \cdot X_3^2$$

L'analyse de la variance (ANOVA) du modèle de régression quadratique montre que les modèles sont hautement significatifs au seuil de 1 %.

Les probabilités (P-valeurs) indiquent la signification du modèle. La P-valeur relative au modèle de régression est très faible (P-valeur = 0.0001), ce qui montre la signification du modèle. De plus, la contribution de chacun des termes linéaires, quadratiques et d'interactions est hautement significative au seuil de 1 % (P-valeur < 0,01). Par conséquent, on peut conclure que le modèle de prédiction est hautement significatif et estime de manière adéquate les données observées. La valeur du coefficient de détermination du rendement de sirop est $R^2 = 0.9931$. Cette valeur élevée indique que 99,31% d'une simple variation du rendement de sirop est expliquée par les variables indépendantes. La valeur du coefficient de détermination ajustée est également très élevée, soit $R^2_{adj} = 0.9843$, suggérant une haute signification du modèle et un bon ajustement de ce dernier aux données expérimentales.

Les effets linéaires, quadratiques et les interactions sont significatifs pour la réponse.

L'étude des représentations tridimensionnelles des surfaces de réponses est une méthode simple d'optimisation du taux de production du sirop et d'identification des interactions entre les variables. Chaque courbe représente, dans notre cas, une infinité de combinaisons entre deux variables quand la troisième variable est maintenue à un niveau constant. Les niveaux constants sont les niveaux centraux de chacune des variables.

Les principales informations que l'on peut en tirer concernant les conditions optimales de la production sont :

- L'augmentation de la température de 15 à 45°C et le temps de 1 à 3h entraîne une augmentation du rendement. On conclut qu'un rendement élevé de sirop pourrait être obtenu en combinant le rapport approprié de la température (X_1) et au temps d'extraction (X_2).
- le rendement de sirop a augmenté avec l'augmentation du temps (X_2). En outre, le taux de sirop a augmenté avec l'augmentation du rapport de l'eau à la pulpe (X_3).
- l'augmentation du rapport de l'eau à la pulpe de 1 à 3 entraîne une augmentation du rendement. En outre, cette augmentation est plus significative sur le rendement quand la température est maximale.

Dans le second chapitre de cette partie, nous avons utilisé les conditions d'extraction optimisées pour faire une étude biochimique comparative sur le rendement de production du sirop à partir de la pulpe de caroube des sept régions étudiées.

Les caractères qui ont fait l'objet de notre étude sont la teneur en sucre total et en sucre réducteur de la pulpe et le rendement en sirop produit. Les résultats obtenus montrent que les échantillons d'Essaouira et de Béni-Mellal ont des niveaux plus élevés en sucre et en rendement de sirop par rapport aux autres régions.

Les teneurs en sucres totaux varient entre 31.5 et 50.1 g pour 100 g de pulpe sèche respectivement dans les régions d'Agadir et d'Essaouira. Alors que les teneurs en sucres réducteurs varient entre 11.3 dans la caroube d'Agadir et Marrakech et 14.6 g pour 100 g de pulpe sèche dans la caroube d'Essaouira.

Les rendements en sirop varient entre 28.7 et 37.2 g pour 100 g de pulpe sèche respectivement pour les échantillons d'Agadir et Essaouira. Ces résultats sont moins élevés

que ceux obtenus par Petit & Panila (1995) pour de la pulpe de caroube originaire d'Espagne, de l'ordre de 54.24 g pour 100 g de pulpe sèche.

Ainsi, à part les potentialités de réhabilitation des milieux arides et semi-arides du Maroc, le caroubier peut constituer également une ressource très importante en matière de développement industriel.

Conclusion générale

Le caroubier (*Ceratonia siliqua L.*) est un arbre forestier fruitier et fourrager très répandu au Maroc. Il présente de nombreuses potentialités écologiques, socio-économiques et industrielles. Dans cette étude bibliographique approfondie, nous avons décrit, les caractères botaniques du caroubier, sa répartition géographique au Maroc et son importance agro-économique. Ensuite, nous avons rappelé les résultats cités dans la littérature concernant la composition physico-chimique de la caroube, les techniques d'extraction et de clarification de la gomme, en plus de la technologie de fabrication du sirop à base de pulpe. Nous avons présenté également, des éléments bibliographiques essentiels relatifs à la méthodologie des plans d'expériences.

La première partie bibliographique nous a permis de conclure que le caroubier est l'exemple typique d'espèce parfaitement convenable pour la mise en valeur des zones arides et semi-arides du Maroc. Sa culture peut contribuer au développement agricole dans ces zones. Ces fruits présentent un intérêt nutritionnel intéressant qui permet de les classer parmi les aliments nutraceutiques par excellence.

La deuxième partie du travail a été consacrée à la caractérisation morphologique et physico-chimique des deux composantes principales de la caroube : la pulpe et les graines à travers l'analyse des échantillons recueillis au niveau de sept régions de provenance représentatives du Maroc. Les résultats obtenus, nous ont montré l'existence d'une variabilité considérable de la forme des fruits du caroubier d'une région de provenance à l'autre. Les fruits de caroubier marocains sont généralement caractérisés par des formes légèrement courtes et comprimés. En termes de poids du fruit et pourcentage en pulpe, les fruits d'El Hoceima présentent les valeurs les plus importantes. La caroube de Taza donne les rendements en graine les plus élevées. Les proportions en pulpes sont moins élevées comparativement aux fruits Portugaises, Espagnoles et Italiennes. Par contre, les proportions en graines sont relativement très élevées.

La pulpe de la caroube se caractérise par une faible teneur en eau. Elle est nettement plus riche en sucres ce qui lui confère les propriétés d'un édulcorant naturel. Ces teneurs sont comparables à ceux rapportés dans d'autres régions de la Méditerranée telle l'Espagne et la Jordanie.

Par rapport aux autres fruits, la pulpe de la caroube se caractérise par un taux faible de matières grasses qui la classe parmi les aliments naturels diététiques. Les protéines sont très

peu abondantes dans les échantillons de la caroube analysée avec des teneurs comparables à ceux rapportés dans la littérature. Les taux de polyphénole totaux varient entre 2.85 et 4.6 mg/g MS. Ces valeurs sont comparables aux résultats cités dans la littérature pour des variétés d'origine tunisienne et légèrement inférieurs par rapport aux variétés italiennes et espagnoles.

Au niveau du profil minéral, le taux de cendres varie entre 2.44 et 3.89 g/100g MS. Le potassium est relativement le plus abondant. Le Phosphore, Calcium, sodium et magnésium font partie des minéraux dont la pulpe de caroube est bien pourvue. On note aussi la présence des oligo-éléments en quantités moyennes non négligeables, puisqu'on relève la présence de fer, manganèse, zinc et cuivre. Ces résultats se concordent avec ceux rapportés dans d'autres régions de la Méditerranée telle l'Espagne, la Jordanie et la Turquie. La pulpe de caroube contribue ainsi efficacement à la couverture du besoin minéral de l'organisme, grâce à ce large éventail d'apport.

Concernant la caractérisation chimique des graines, les échantillons étudiés contiennent des quantités appréciables en protéine comparables aux résultats cités dans la littérature. Les teneurs en matière grasse sont relativement faibles.

En ce qui concerne la composition en éléments minéraux, les graines de la caroube sont très riches en potassium, suivie du calcium, magnésium, phosphore et sodium. Le fer est le plus abondant parmi les oligoéléments suivi du manganèse, cuivre et zinc. Ces résultats sont très similaires à ceux rapportés dans d'autres régions de la Méditerranée telle l'Espagne, la Jordanie et la Turquie.

La variabilité importante au niveau de la composition physico-chimique de la pulpe et des graines d'une région à l'autre peut être attribuée aux cultivars et aux conditions pédoclimatiques.

Dans la troisième partie, nous nous sommes intéressés à la valorisation de la graine de caroube. Le premier volet de cette partie a été consacré à l'optimisation de l'extraction de la gomme à partir de la graine de caroube. Dans une première étape, nous avons identifié les facteurs influents en se basant sur les résultats de notre étude préliminaire et sur les résultats bibliographiques. Dans un deuxième temps, les trois facteurs les plus influents, à savoir, la température, le temps et le rapport (eau/endosperme) ont été étudiés et optimisés

en utilisant la méthodologie de la recherche expérimentale (RSM) à travers un plan d'expérience de type composite centré.

Les données obtenues à partir du plan composite centré (rendement) ont été analysées par le logiciel des plans d'expériences statistiques (Nemrodw). La méthodologie des surfaces de réponses nous a permis de modéliser la réponse (le rendement d'extraction de la gomme clarifiée) étudiée sous forme d'une équation polynomiale du second degré. Ce modèle nous a permis de mettre en évidence l'existence des effets d'interaction entre la température et le temps d'une part, et entre la température et le rapport (eau/endosperme) d'autre part. Ces trois variables choisies ont toutes une influence positive sur le rendement de CBG.

Un meilleur rendement de l'ordre de 69% en CBG a été enregistré dans les conditions optimales suivantes: température d'extraction (97°C), durée d'extraction (36 min) et rapport eau /endosperme (197:1).

Le deuxième chapitre de cette troisième partie avait pour but de comparer le rendement d'extraction de la gomme, dans les conditions d'extraction optimisées, pour les sept régions étudiées. Ceci afin d'identifier un ou plusieurs écotypes marocains de caroubier, plus productifs et présentant une performance biochimique importante. Les rendements obtenus sont très intéressants pour une future valorisation industrielle en particulier ceux correspondant aux cultivars récoltés dans les régions de *Taroudant*, *Essaouira* et *Marrakech*.

La gomme obtenue est constituée généralement de 6.44 à 8.63 g/100g d'eau, 0.36 à 0.99 g/100g de cendres totales et 0.54 et 0.62 g/100g de protéines. Ces valeurs sont comparables à ceux cités dans la littérature ce qui montre que la CBG marocaine est de très bonne qualité.

Dans le troisième chapitre de cette troisième partie, nous avons réalisé une étude rhéologique pour comprendre le comportement de la gomme de caroube en solution aqueuse au dépend des facteurs température, temps et taux de cisaillement.

Les résultats obtenus montrent que toutes les solutions présentent un écoulement non Newtonien. La variation de la viscosité des dispersions aqueuses de CBG, à différentes températures, a été examinée en fonction du gradient du taux de cisaillement. L'augmentation de la température provoque un abaissement de la viscosité et donc de l'indice de consistance K , alors que l'indice d'écoulement n tend vers 1. L'évolution de la

viscosité présente un maximum et un minimum respectivement à pH = 4.2 et 5 pour toutes les valeurs explorées du taux de cisaillement. Les résultats obtenus suite à cette étude, fournissent des informations importantes pour comprendre l'effet des contraintes industrielles en cas d'utilisation de la gomme.

La dernière partie de notre travail se situe dans la perspective de la valorisation de la pulpe de caroube, dont l'objectif est d'élaborer un sirop à base de pulpe de caroube. Les résultats obtenus sont très encourageants et les rendements de sirop produit sont intéressants.

Le premier volet de cette quatrième partie a été consacré à l'optimisation du procédé de production de sirop. Ainsi, nous avons identifié les facteurs influents en se basant sur nos résultats préliminaires et sur les résultats cités par d'autres chercheurs. Ensuite, les trois facteurs influents, à savoir, la température, le temps et le rapport (eau/pulpe) ont été optimisés à l'aide d'un plan d'expérience de type Box Behnken

La méthodologie des surfaces de réponses, nous a permise de mettre la réponse étudiée (rendement du sirop à 66.5°Brix) sous forme d'une équation polynomiale du second degré. Le tracé des surfaces de réponses révèle l'existence d'un rendement maximal de production de sirop qui peut atteindre 38.73% dans les conditions optimales suivantes : une température de 43.45°C, un temps de 2.4 h et un rapport (eau/pulpe) de 2.27.

Ces conditions d'extraction optimisées ont été utilisées pour faire une étude comparative sur le rendement de production du sirop à partir de la pulpe de caroube en provenance des sept régions d'étude. Les résultats obtenus montrent que les échantillons d'Essaouira et de Béni-Mellal ont des niveaux plus élevés en teneur de sucre et en rendement de sirop produit par rapport aux autres régions. Cependant, ces valeurs sont moins élevées que celles obtenues à partir de la pulpe de caroube originaire d'Espagne.

Les résultats obtenus sont très encourageants et les rendements de sirop produit, comprises entre 28.7 et 37.2 g/100 g de pulpe sont intéressants pour l'industrie de transformation.

En perspective, nous comptons

- étendre cette étude à toutes les variétés de caroube Marocaines et étudier l'évolution de leur qualité technologique en fonction de la maturité,

- Caractériser et quantifier les (galacto)-manno-oligosaccharides de la gomme de caroube.
- La production d'oligosaccharides par hydrolyse enzymatique de la gomme de caroube. Ceux-ci, pourraient présenter un riche potentiel en prébiotiques.
- contribuer à la stabilisation de la qualité physico-chimique, organoleptique et nutritionnelle du sirop de caroube.
- procéder à la formulation de boissons à base du jus de caroube et suivre l'évolution des critères de sa qualité sensorielle, microbiologique et nutritionnelle

Références bibliographiques

- Aafi A., 1996. Note technique sur la caroubier (*Ceratonia siliqua* L.). Centre Nationale de la Recherche Forestière, 10p, Rabat (Maroc).
- AFNOR., 1977. Produit agricoles alimentaires, NF V03-040. AFNOR, Paris
- Ahmed J., Ramaswamy H.S. & Sashidhar K.C., 2007. Rheological characteristics of tamarind (*Tamarindus indica* L.) juice concentrates, *Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie*, 40, 225-231.
- Ait Chitt M., Belmir H. & Lazrak A., 2007. Production de plants sélectionnés et greffés de caroubier, *In Bulletin mensuel d'information et de liaison du PNTTA MAPM/DERD*, 153, 1-4.
- Albagnac P.G., Varoquaux J. & Montigaud C.I., 2002, *Technologies de transformation des fruits*. Paris : Lavoisier-Tec & Doc.
- Albanell E., Caja G. & Plaixats J., 1991. Characterization of Spanish carob pod and nutritive value of carob kibbles. *Options Méditerranéennes*, 16, 135-136.
- Al-Farsi M., Alasalvar C., Al-Abid M., Al-Shoaily K., Al-Amry M., Al-Rawahy F., 2007. Compositional and functional characteristics of dates, syrups, and their by-products. *Journal of Food Chemistry*, 104, 943–947.
- Andrade C.T., Azero E.G., Luciano L. & Goncalves M.P., 1999. Solutions properties of the galactomannans extracted from the seeds of *Caesalpinia pulcherrima* and *Cassia javanica*: comparaison with locust bean gum. *International Journal of Biological Macromolecules*, 26, 181-185.
- Aspinall G.O., 1983. *The polysaccharides*. Vol. 2. New York, USA: Academic Press.
- Avallone R., Plessi M., Baraldi M. & Monzani A., 1997. Determination of Chemical Composition of Carob (*Ceratonia siliqua*): Protein, Fat, Carbohydrates, and Tannins. *Journal of food composition and analysis*, 10, 166–172.
- Ayaz F. A., Torun H., Ayaz S., Correia P. J., Alaiz M., Sanz C., Gruz J. & Strnad M., 2007. Determination of chemical composition of Anatolian carob pod (*Ceratonia siliqua* L.): sugars, amino and organic acids, minerals and phenolic compounds. *J. Food Quality*, 30, 1040-1055
- Bargallo M.G., Di Lorenzo R., Meli R. & Crescimanno F.G., 1997. Characterization of carob gerplasm (*Ceratonia siliqua* L.) in Sicily, *J. Hortic. Sci.*, 72, 537-543.
- Barracosa P., Osorio J. & Cravador A., 2007. Evaluation of fruit and seed diversity and characterization of carob (*Ceratonia Siliqua* L.) cultivars in Algarve region. *Scientia Horticulturae*, 114, 250-257.
- Batlle I. & Tous J., 1997. Carob tree. *Ceratonia siliqua* L. Promoting the conservation and use of underutilized and neglected crops. 17. Institute of Plant Genetic and Crops Plant Research. Gatersleben/International Plant Resources Institute. Rome. Italy.
- Ben Hsouna A., Trigui M. & Jaoua S., 1986, Evaluation of antimicrobial and antioxidant activities of the ethyl acetate extract of endemic *Ceratonia siliqua* leaves. *Journal of agricultural and food chemistry*, 34, 827-829.

- Bengoechea C., Romero A., Villanueva A., Moreno G., Alaiz M., Millan F., Guerro A. & Puppo M.C., 2008. Composition and structure of carob (*Ceratonia siliqua* L.) germ proteins. *Food chemistry*, 107, 675-683.
- Biner B., Gubbuk H., Karham M., Aksu M. & Pekmeczi M., 2007. Sugar profiles of the pods of cultivated and wild types of carob bean (*Ceratonia siliqua* L.) in Turkey. *Food Chemistry*, 100, 1453-1455.
- Blecker C., 2009. Ingénierie des formulations alimentaires. Notes de cours : Gembloux Agro-Bio Tech (Belgique).
- Booij N., Holthuijsen L.H. & de Lange P.H.M., 1992. The penetration of short-crested waves through a gap, in *Proceedings of 23rd International Conference on Coastal Engineering*, 1044–1052, Am. Soc. of Civ. Eng, New York.
- Boudy P., 1950. Economie forestière Nord Africain, Tome II : Monographie et traitement des essences forestières. *Ed. Larose*, 443-445, Paris.
- Bouzouita N., Khaldi A., Zgoulli S., Chebil R., Chekki R., Chaabouni M.M. & Thonart P., 2007. The analysis of crude and purified locust bean gum: A comparison of samples from different carob tree populations in Tunisia, *Food Chemistry*, 101, 1508-1515.
- Box G.E.P. & Behnken D.W., 1960. Some New Three-Level Designs for the Study of Quantitative Variables, *Technometrics*, 2, 455-475.
- Box G.E.P., Hunter W.G. & Hunter J.S., 1978. Statistics for Experimenters : An introduction to design, data analysis and model building, Wiley, New York.
- Bravo N.G. & F Saura-Calixto., 1998. Characterization of Syrups and Dietary Fiber Obtained from Mesquite Pods (*Prosopis pallida* L), *J. Agric. Food Chem*, 46(5), 1727–1733.
- Browne C.A. & Zerban F.W., 1955. Physical and Chemical Methods of Sugar Analysis, In J. Wiley and Sons (ed.), New York.
- Brummer Y., Cui W. & Wang Q., 2003. Extraction, purification and physiochemical characterization of fenugreek gum, *Food Hydrocolloids*, 17, 229-236.
- Caja G., Albanell E. & Casanova R., 1988. Caracterización morfológica de fructose de algarrobo cultivados en España, 119-229 in *Proceedings of the II International Carob Symposium* (P. Fito and A. Mulet, eds.), Valencia, Spain.
- Calixto F. S. & Cañellas J., 1982. Components of nutritional interest in carob pods (*Ceratonia siliqua*), *J.Sci. Food Agric*, 33, 1319- 1323.
- Cardot H., Mas A. & Sarda P., 2007. CLT in Functional Linear Regression Models, *Probability Theory and Related Fields*, 138, 325-361.
- Charpentier J.C., 1996. Génie des procédés. Techniques de l'ingénieur, 3, 3-14.

Cheftel J. C. & Cheftel H., 1984. Introduction à la biochimie et à la technologie des aliments. Volume 1, 209-235, Ed. Technique et Documentation, Lavoisier, Paris.

Child T.F. & Pryce N.G., 2004. Steady-state and pulsed NMR studies of gelation in aqueous agarose, *Biopolymers*, 11, 409-429.

Cochran W.G. & Cox G.M., 1957. Experimental Designs. pp. 127-131.

Codex Alimentarius, 2005 : <http://www.codexalimentarius.org/50th-anniversary/>

Curtis A. & Race D., 1998. Carob agroforestry in the low rainfall Murray valley: A market and economic assessment. Publication N°98/8. Rural Industry Research and Development Corporation (RIRDC), Australia

Crosi L., Avallone R., Cosenza F., Farina F., Baraldi C. & Baraldi M., 2002. Antiproliferative effects of *Ceratonia siliqua* L. on mouse hepatocellular carcinoma cell line. *Fitoterapia*, 73, 674-684.

Daas P.J.H., Schols H.A. & De Jongh H.H.J., 2000. On the galactosyl distribution of commercial galactomannans, *Carbohydrate research*, 329, 609-619.

Dakia P.A., 2003. Extraction et caractérisation de la gomme de caroube (*Ceratonia siliqua* L.). Mémoire : Faculté Universitaire des Sciences Agronomiques de Gembloux (Belgique).

Dakia P.A., Wathelet B. & Paquot M., 2007. Isolation and chemical evaluation of carob (*Ceratonia siliqua* L.) seed germ. *Food Chemistry*, 102, 1368-1374.

Dakia P. A., Bleckerb C., Roberta C., Watheleta B. & Paquota M., 2008. Composition and physicochemical properties of locust bean gum extracted from whole seeds by acid or water dehulling pre-treatment, *Food Hydrocolloids*, 22, 807-818.

Dakia P. A., 2009. Propriétés chimiques et rhéologiques des polysaccharides de l'endosperme des graines de caroubier (*Ceratonia siliqua* L.). Thèse de doctorat : Faculté Universitaire des Sciences Agronomiques de Gembloux (Belgique).

Dakia P.A., Wathelet B. & Paquot M., 2010. Influence de la teneur en galactose sur les interactions moléculaires et sur les propriétés physico-chimiques des galactomannanes en solution, *Biotechnol. Agron. Soc. Environ*, 14, 213-223.

Dale H. & Ray V., 1993. Grape juice concentrate emerging as a sweetener in juices, food products california agriculture, volume 47, number 5

Dea I.C.M. & Morrison A., 1975. Chemistry and interactions of seed galactomannans. *Advances in Carbohydrate Chemistry and Biochemistry*, 31, 241-242.

Di Lorenzo R., 1991. Carrubo Frutticoltura speciale. Ed. REDA, Rome.

Doehlert D.H., 1970. Uniform shell designs, *Journal of the Royal Statistical Society*, serie C, N° 19.

- Doha M. A., Hamed I.M., Al-Okbi S. Y., 2008. Ceratonia siliqua Pods as a Cheap Source of Functional Food Components, *Deutsche Lebensmittel-Rundschau*, 104(1), 25-29.
- Dunstan D.E., Chen Y., Liao M.L., Salvatore R., Boger, D.V. & Prica, M., 2001. Structure and rheology of the κ -carrageenan/locust bean gum gels, *Food Hydrocolloids*, 15 (4), 475-484.
- Eagleson J., Hasner R., 2006. *The Maple Syrup Book*. The Boston Mills Press, ISBN 978-1-55046-411-5.
- Elliot E., 2006. Maple Syrup: recipes from Canada's best chefs. Formac Publishing Company. ISBN 978-0-88780-697-1.
- El-Shatnawi M.K.J. & Ereifej. K.I., 2001. Chemical composition and livestock ingestion of carob (*Ceratonia siliqua L.*) seeds J. *Range Manage*, 54, 669-673 .
- Espiard E., 2002. *Introduction à la transformation industrielle des fruits*. Paris : Lavoisier-Tec & Doc
- FAOSTAT .,2010. www.fao.org
- Feldman N., Norenberg C., Voet H., Manor E., Berner Y., Madar Z., 1995. Enrichment of an Israeli ethnic food with fibres and their effects on the glycaemic and insulinaemic responses in subjects with non-insulin dependent diabetes mellitus, *Br. J. Nutr*, 74, 681-688.
- Firatligil-Durmus E. & Evranuz O., 2010. Response surface methodology for protein extraction optimization of red pepper seed (*Capsicum frutescens*), *LWT - Food Science and Technology*, 43, 226–231.
- Fisher R.A., 1925. Statistical methods for research workers. Edinburgh, Oliver and Boyd, p 239 .
- Fisher R.A., 1949. The Theory of Inbreeding, pp. 49-50. Hafner, New York.
- Fitzsimons S.M., Tobin J.T. & Morris E.R., 2008. Synergistic binding of konjac glucomannan to xanthan on mixing at room temperature, *Food Hydrocolloids*, 22, 36-46.
- Folch I. & Guillen R., 1981. La vegetació dels Països Catalans. Ed. Ketres, Barcelona.
- Funami K., Sasai M., Ohba Y., 2007. Functions of iota-carrageenan on the gelatinization and retrogradation behaviors of corn starch in the presence or absence of various salts, *Food Hydrocolloids*, 22, 1273-1282.
- Garti N., Madar Z., Aserin A. & Sternheim B., 1997. Fenugreek galactomannans as food emulsifiers, *Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie*, 30, 305-311.
- Ghafoor K., Al-Juhaimi f. & Hee Choi Y., 2011. effects of grape (*Vitis labrusca* b.) Peel and seed extracts on phenolics, antioxidants and anthocyanins in grape juice, *Pak.J. Bot*, 43(3), 1581-1586.

- Gharnit N., 1997. Le caroubier (*Ceratonia siliqua* L.), Essais de propagation *in vitro* et intérêt socioéconomique au cercle de MOKRISSET (NW. Maroc). Dans le mémoire du D.E.S.A., n° 576.5 GHA. Univ. Abdel Malek E. Fac. Sci. Tétouan.
- Gharnit N., Et Mtili N., Ennabili A.T. & Ennabili A., 2001. Social characterization and exploitation of carob tree (*Ceratonia siliqua* L.) from Mokrisset and Bab Taza (NW of Morocco), *Sci. Lett*, 3, 2.
- Gharnit N., 2003. Caractérisation et essai de régénération *in vivo* du caroubier (*Ceratonia siliqua* L.) originaire de la province de Chefchaouen. Thèse pour l'obtention du Doctorat en Science : Faculté des Sciences et Technologie de Tanger, Université Abdelmalek Essaadi (Maroc).
- Guilherme A.A., Honorato T.L., Dornelles A.S., Pinto G.A.S., Brito E.S. & Rodrigues S., 2009. Quality evaluation of mesquite (*Prosopis juliflora*) pods and cashew (*Anacardium occidentale*) apple syrups, *Journal of food process engineering*, 32(4), 606-622.
- Ghotra B.S., 2006. Cereal beta-glucan: Structure and function. Thèse de doctorat. University of Alberta, 175 pages, Edmonton, Canada,.
- Gonçalves S. & Romano A., 2005. Locust bean gum (LBG) as a gelling agent for plant tissue culture media, *Sci. Hortic*, 106, 129-134.
- Goupy J., 1996. La méthode des plans d'expériences – Optimisation du choix des essais et de l'interprétation des résultats", Ed. Dunod, 1996.
- Goupy J., 2005a, Les phases de construction d'un plan d'expériences, in *Pratiquer les plans d'expériences*. Dunod, Paris, 11-28
- Goupy J., 2005b. Les phases de l'interprétation des résultats d'un plan d'expériences, in *Pratiquer les plans d'expériences*. Dunod, Paris, 29-52
- Goupy J., 2006. Tutorial, Les Plans d'Expériences, *Revus Modulad*, N° 34.
- Hadrich., 2011. Contribution à la valorisation alimentaire et non alimentaire e la caroube d'origine tunisienne. These de doctorat en génie chimique de l'école nationale d'ingénieurs de gabes.
- Hariri A., N.Ouis., Sahnouni F. & Bouhadi D., 2009. mise en oeuvre de la fermentation de certains ferments lactiques dans des milieux a base des extraits de caroube, *rev. microbiol. ind. san et environn*, 37-55.
- Hernandez M.J., Dolz J., Dolz M., Delegido. & Pellicer J., 2001. Viscous synergism in carrageenans (κ and λ) and locust bean gum mixtures: influence of adding sodium carboxymethylcellulose. *Food Sci. Technol. Int.*, 7(5), 383-391.

- Ibanes C.R. & Meckes L.M., 1983. Effect of semi-purified product obtained from *Opuntia streptacantha* L. (a Cactus) on glycemia and triglyceridemia of rabbit, *Journal of Chromatography*, 913, 415-420.
- Ilahi I. & Vardar Y., 1976. Studies in Turkish carob (*Ceratonia siliqua* L.). IV Acidic Auxin-like and inhibitory substances in fruit morphogenesis, *Planta* 129:105-108.
- Kawamura Y., 2008. Carob bean gum. Chemical and Technical Assessment (CTA). The 69th meeting of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA), 17-26, Rome, Italy
- Khuri A.L. & Cornell J.A., 1996. Response surface, Designs and Analyses, Marcel Dekker, seconde edition.
- Kök M. S., Hill S. E. & Mitchell J. R., 1999. Viscosity of galactomannans during high temperature processing: influence of degradation and solubilisation, *Food Hydrocolloids*, 13, 535-542.
- Konaté I.; Filali-Maltouf A.; Berraho B., 2007. Diversity analysis of Moroccan carob (*Ceratonia siliqua* L.) accessions using phenotypic traits and markers, *Acta Botanica Malacitana*, 32, 79-90.
- Klenow S. & Glei M., 2009. New insight into the influence of carob extract and gallic acid on hemin induced modulation of HT29 cell growth parameters, *Toxicology in Vitro*, 23, 1055-1061.
- Lazaridou A., Biliaderis C.G. & Izydorczyk M.S., 2000. Structural characteristics and rheological properties of locust bean galactomannans: a comparison of samples from different carob tree populations, *J. Sci. Food Agric*, 81, 68-75.
- Lee WC., Yusof Y., Hamid N.S.A. & Baharin B.S., 2006. Optimizing conditions for hot water extraction of banana juice using response surface methodology (RSM), *J. Food Eng*, 75(4), 473-479.
- Lewis G.A., Mathieu D. & Phan-Tan-Luu R., 1999. Pharmaceutical experimental design, Inc., New York. Basel.
- Leybros J. & Fremeaux P., 1990. Extraction solide-liquide - Aspects théoriques. Techniques de l'Ingénieur (traité Génie des procédés), J 2780.
- Liew Abdullah A.G., Sulaiman N.M., Aroua M.K. & Megat Mohd Noor M.J., 2007. Response surface optimization of conditions for clarification of carambola fruit juice using a commercial enzyme, *Journal of Food Engineering*, 81, 65-71.
- Lopez Da Silva J.A. & Goncalves M.P., 1990. Studies on a purification method for locust bean gum by precipitation with isopropanol, *Food Hydrocolloids*, 4, 277-287.

- Louvet F. & Delplanqu L., 2005. Les plans d'expériences par la méthode Taguchi, Expérimentique.
- Makris D.P. & Kefalas P., 2004. Carob pods (*Ceratonia siliqua* L.) as a source of polyphenolic antioxidant, *Food Technol Biotechnol*, 42, 105- 108.
- Mallett I., McCleary B.V. & Matheson N.K., 1987. Galactomannan changes in developing *Gleditsia triacanthos* seeds, *Phytochemistry*, 26, 1889-1894.
- MAPA., 1994. Ministerio de Agriculture, Pesca Y Alimentación. Anuario de Estadística Agraria. Ed. Secretaría General Técnica, Madrid, Spain.
- Marakis S., 1996. Carob bean in food and feed: current status and future potentials – a critical appraisal. *Journal of Food Science and Technology*, 33(5), 365–383.
- Marakis S., Kalaitzakis J. & Mitrakos K., 1988. Criteria for recognizing carob tree varieties. 558-566 in *Proceedings of the II International Carob Symposium* (P. Fito and Mulet, eds.) Valencia, Spain.
- McCleary B.V., Matheson N.K. & Small D.M., 1976b. Galactomannans and a galactoglucomannan in legume seed endosperms: structural requirements for β -mannanase hydrolysis, *Phytochemistry*, 15, 1111-1117.
- McCleary B.V., Amado R., Waibel R. & Neukom H., 1981. Effect of galactose content on the solution and interaction properties of guar and carob galactomannans. *Carbohydr. Res.*, 92(2), 269-285.
- McCleary B.V., Dea I.C.M., Windust J. & Cooke D., 1984. Interaction properties of D-galactose-depleted guar galactomannan samples, *Carbohydr Polym*, 4(4), 253-270.
- McCleary B.V., Clark A.H., Dea I.C.M. & Rees D.A., 1985. The fine structure of carob and guar galactomannans, *Carbohydr. Res*, 139, 237-60.
- McCleary B.V., 1988. Carob and guar galactomannans. *Methods Enzymol*, 160, 523-527.
- McCleary B.V., 1980. Hydrolysis of galactomannans by α -D-galactosidase and β -D-mannanase. In: Marshall J. J., ed. *Mechanisms of saccharide polymerization and depolymerisation*, Academic Press, 285-300, New York, USA.
- Mimouni Y. & Siboukeur., 2011. Etude des propriétés nutritives et diététiques des sirops de dattes extraits par diffusion, en comparaison avec les sirops à haute teneur en fructose (isoglucoses), issus de l'industrie de l'amidon *Annales des Sciences et Technologie* Vol. 3, N° 1,
- Mitrakos K., 1981. Temperature germination responses in three Mediterranean evergreen sclerophylls. 277-279 in *Components of Productivity of Mediterranean-climate Regions Basic and Applied Aspects* (N.S. Margaritis and H. A. Mooney, eds.). Dr. W. Junk Publishers, The Hague/Boston/London.

- Moreira L.R.S. & Filho E.X.F., 2008. An overview of mannan structure and mannan degrading enzyme systems, *Applied Microbiology and Biotechnology*, 79, 165-178.
- Morris M., Guilloteau S., Lucas R. & Omont A., 1987. The rich molecular spectrum and the rapid outflow of OH 231.8 + 4.2, *Astrophysical Journal*, Part 1 (ISSN 0004-637X), 321, 888-897.
- Morris E.R., 1995. Polysaccharide synergism- More questions than answers? dans: S.E. Harding, S.E. Hill, et J.R. Mitchell. Biopolymer Mixtures, *Nottingham University Press*, 247-288, Nottingham.
- Myers R.H. & Montgomery D.C., 1995. Response Surface Methodology, Process and product optimization using designed experiments, New York: Wiley & sons. ISBN: 0-471-58100-3.
- Newman CW. & Newman R.K., 1998. Nutritional aspects of barley as a food grain. In Barley for Food and Malt. (pp. 134-138). ICC/SCF International Symposium, Sept 7-10, The Swedish University of agricultural Sciences (Uppsala).
- Nnanna I.A. & Dawkins N.L., 1996. Adsorption-isotherm and effect of gum blends on viscosity and microstructure of oat gum (β -D-glucan), *Journal of Food Science*, 61, 121 - 126.
- Ouchkif M., 1988a. Etude sur le caroubier. Append number 8 of Project Ouest Srou. MARA (Morocco). GTZ (Germany), DPA of Khenefra (unpublished).
- Orphanos P.I. & Papaconstantinou J., 1969. The carob varieties of Cyprus. Tech. Bull. 5. Cyprus Agricultural Research Institute. Ministry of Agriculture and Natural Resource, Nicosia.
- Ortega N., Macià A., Romero M.P., Reguant J. & Motilva M.J., 2011. Matrix composition effect on the digestibility of carob flour phenols by an in-vitro digestion model, *Food Chemistry*, 124(1), 65-71.
- Owen R.W., Haubner R., Hullb W.E., Erbenb G., Spiegelhaldera B., Bartscha H., Haberc B., 2003. Isolation and structure elucidation of the major individual polyphenols in carob fibre, *Food and chemical toxicology*, 41(12), 1727-1738.
- Ozil P., 199. Le logiciel ECHIP, De l'élaboration des plans d'expériences à l'interprétation des modèles, Ecole Nationale Supérieure d'Electrochimie et d'électrometallurgie
- Papagiannopoulos M., Wollseifen H., Mellenthin A., Haber B. & Galensa R.J., 2004. Identification and quantification of polyphenols in caros fruit (*Ceratonia siliqua* L.) and derived products by HPLC-UV-ESI/MSⁿ. *Agric Food Chem*, 52, 3784-3791.
- Parvathy K.S., Susheelamma N.S., Tharanathan R.N. & Gaonkar A.K., 2005. A simple non-aqueous method for carboxymethylation of galactomannans, *Carbohydrate polymers*, 62, 137-141.

- Pena A., Ruano F., Mingorance M.D., 2006. Ultrasound-assisted extraction of pesticides from olive branches: a multifactorial approach to method development, *Analytic. Bioanalytic. Chem*, 385, 918-925.
- Periago M.J., Ros G., Lopez G., Martinez M.C. & Rincon F., 1993. Componentes de la fibra dietética y sus efectos fisiológicos, *Revista española de ciencia y tecnología de alimentos*, 33(3), 229-246.
- Petit M.D. & Pinilla J.M., 1995. Production and purification of a sugar syrup from carob pods, *Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie*, 28, 145-152.
- Plackett R.L. & Burman J.P., 1946. The design of optimum multifactorial experiments, *Biometrika*, 33 (4), 305-325.
- Pollard M., Kelly R., Wahl C., Fischer KP., Windhab E. & Eder B., 2007. Investigation of equilibrium solubility of a carob galactomannan, *Food Hyd*, 21, 683-92.
- Pomeranz Y. & Clifton M.E., 1987. Food analysis: theory and practice. 2nd edition van nostrand reinold, 797p, new-york.
- Qiao D., Hua B., Gan D., Sun Y., Ye H. & Zeng X., 2009. Extraction optimized by using response surface methodology, purification and preliminary characterization of polysaccharides from *Hyriopsis cumingii*, *Carbohydrate Polymers*, 76, 422-429.
- Quezel P. & Santa S., 1962/63. Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méditerranéennes. Tome 1. Edit CNRS. Paris
- Ramirez J.A., 2002. Effect of xanthan and locust bean gums on the gelling properties of myofibrillar protein. *Food Hydrocolloids*, 16, 11-16.
- Ramulu P. & Rao, P.U., 2003. Total, insoluble and soluble dietary fiber contents of Indian fruits, *Journal Of Food Composition and Analysis*, 24, 54-59.
- Randall E. & Barbara H., 1994. Consumer Preferences For Maple Syrup Grade Names, *Journal of Food Distribution Research*.
- Rejeb M.N., Laffray D. & Louguet P., 1991. Physiologie du caroubier (*Ceratonia siliqua* L.) en Tunisie. Physiologie des arbres et arbustes en zones arides et semi-arides, Groupe d'étude de l'Arbre, P:417-426, Paris, France.
- Rejeb M.N., 1995. Le caroubier en Tunisie: Situations et perspectives d'amélioration. Dans: Quel avenir pour l'amélioration des plantes? Edit. AUPELF-UREF. John Libbey Eurotext, pp: 79-85, Paris.
- Réjean B., 2010, La transformation de la sève du bouleau blanc en sirop, Forêt modèle du Lac-Saint-Jean.

- RenJie L., 2008. Optimization of extraction process of Glycyrrhiza glabra polysaccharides by response surface methodology, *Carbohydrate Polymers*, 74, 858–861.
- Richardson P.H., Willmer J. & Foster T.J., 1998. Dilute properties of guar and locust bean gum in sucrose solutions. *Food Hydrocolloids*, 12, 339-348.
- Rizzo V., Tomaselli F., Gentile A., La Malfa S. & Maccarone E., 2004. Rheological Properties and Sugar Composition of Locust Bean Gum from Different Carob Varieties (*Ceratonia siliqua* L.), *J. Agric. Food Chem*, 52, 7925-7930.
- Roukas T., 1999. Citric acid production from carob pod by solid-state fermentation, *Enzyme and Microbiological Technology*, 24, 54-59.
- Sabater de Sabates A., 1979. Contribution à l'étude des relations entre caractéristiques macromoléculaires et propriétés rhéologiques en solution aqueuse concentrée d'épaississant alimentaire: la gomme de caroube. PhD thesis. Paris XI University-ENSIA, France.
- Sánchez S., Lozano L.J., Godínez C., Juan D., Pérez A. & Hernández F.J., 2010. Carob pod as a feedstock for the production of bioethanol in Mediterranean areas, *Applied Energy*, 87, 3417-3424.
- Saura-Claixto, F., 1988. Effet of condensed tannins in the analysis of dietary fiber in carob pods. *J. food. Sci*, 53, 1769-1771
- Sbay H. & Abrouch M., 2006. Apport des espèces à usages multiples pour le développement durable : cas du pin pignon et du caroubier. Centre de Recherche Forestière Haut Commissariat aux Eaux et Forêts et à la Lutte Contre la Désertification, p.1-9. Rabat
- Shawakfeh K. & Ereifej K.I., 2005. Pod Characteristics of two *Ceratonia siliqua* L. Varieties from Jordan. *Ital, J. Food Sci*, 17 (2), 187–194.
- Schimmering P., Sisson J.C. & Zaidi A., 1998. *Pratique des plans d'expériences*, Ed. lavoisier Tec & Doc.
- Secouard S., Grisel M. & Malhiac C., 2007. Flavour release study as a way to explain xanthan-galactomannan interactions, *Food Hydrocolloids*, 21(8), 1237-1244.
- Sin H.N., Yusof S., Abdul Hamid N.S. & AbdRahman R., 2006. Optimization of hot water extraction for sapodilla juice using response surface methodology. *Journal of Food Engineering*, 74(3), 352-358.
- Sindic M., 2008. Physico-chimie. Notes de cours, Gembloux Agro-Bio Tech (Belgique).
- Sittikijyothin W., Torres D & Gonclaves M. P., 2005. Modelling the rheological behaviour of galactomannan aqueous solutions. *Carbohydrate Polymers*, 59, 339-350.
- Taguchi G. & Wu Y., 1985. Introduction to off-line quality control, Central Japan Quality Control Association.
- Tucker S.C., 1992. The developmental basis for sexual expression in *Ceratonia siliqua* (Leguminosae: Ceasalpinoideae: Cassieae), *Am. J. Bot*, 79(3), 367-327.

- Turhan I., Bialka K.L., Demirci A. & Karhan M., 2010. Ethanol production from carob extract by using *Saccharomyces cerevisiae*, *Bioresour. Technol.*, 101, 5290-5296.
- Tutin T.G., Burges N.A., Chater A.O., Heywood V. H., Moore D.M., Valetine D.H., Waters S. M. & Webb D.A., (1990/93). *Flora Europaea*. Cambridge University Press. UK.
- Vardar Y., Seçurenand Ö. & Ahmed M., 1972. Preliminary results on the chemical composition of the Turkish carob beans, *Qual. Plant Mater Veg*, XXI (4), 318- 327.
- Vendruscolo C.W., Ferrero C., Pineda E.A.G.; Silveira J.L.M., Freitas R.A., Jimenez-Castellanos M.R. & Bresolin T.M.B., 2009. Physiochemical and mechanical characterization of galactomannan from *Mimosa scabrella*: effect of drying method, *Carbohydrate Polymers*, 76, 86-93.
- Viebke C. & Piculell L., 1996. Adsorption of galactomannans onto agarose. *Carbohydr. Polym*, 29, 1-5.
- Viera I. G. P. V., Mendes F. N. P., Gallao M. I. & Brito E. S., 2007. NMR study of galactomannans from the seeds of mesquite tree (*Prosopis juliflora* (Sw) DC), *Food Chemistry*, 101, 70-73.
- Vierling E., 1999. Aliments et boissons, Filières et produits. Centre régional de documentation pédagogique d'aquitaine, Doin éditeur, 148-223
- Wardhani D.H., Vázquez J.A., & Pandiella S.S., 2010. Optimisation of antioxidants extraction from soybeans fermented by *Aspergillus oryzae*, *Food Chemistry*, 118(3), 731–739.
- Wielenga W. C., 1990. Production and applications of seed gums. In: Gums and Stabilisers for the Food Industry, Proceedings of 5th International Conference, Wrexham, July, 1989. Oxford, UK: IRL Press, 383-403.
- Wûrsch P., Vedovo S., Rosset J., Smiley M., 1984. The tannins granules from ripe carob pod, *Lebensm.-Wiss.u.-Technol*, 17, 351-354.
- Yates F., 1937. The design and analysis of factorial experiments. Harpenden, Imperial Bureau of Soil Science, 95 p.
- Yousif A.K. & Alghzawi H.M., 2000. Processing and characterization of carob powder. *Food chemistry*, 69, 283-287.
- Zohary M. & Orshan P., 1959. The maquis of *Ceratonia siliqua* in Israel, Palest. *J. Bot. Jerusalem*, 8, 385-397.
- Zohary M., 1973. Geobotanical Foundations of the Middle East, 2 vols. Stuttgart

ANNEXES

Annexe 1: L'arbre du caroubier (*Ceratonia siliqua* L.)



Annexe 2 : Le fruit du caroubier (gousse)



Annexe 3 : Inventaire des unités industrielles exportatrices d'après l'EACCE

<i>Compagnie</i>	<i>Ville</i>	<i>Production</i>
Anciens Ets Wahbi	Agadir	Caroubes graines
-----	Agadir	Caroubes concassés
-----	Agadir	Caroubes entières
Assedk Trait. Leg.	Beni Mellal	Caroubes concassés
-----	Beni Mellal	Caroubes entières
-----	Beni Mellal	Caroubes graines
CAROGUM	Essaouira	Caroubes entières
Caroub Industries	Essaouira	Caroube gomme/farine
-----	Essaouira	Caroubes concassés
-----	Essaouira	Caroubes entières
-----	Essaouira	Caroubes graines
COGECAL	Fès	Caroubes concassés
-----	Fès	Caroubes entières
-----	Fès	Caroubes graines
Omar Raham	Essaouira	Caroubes concassés
-----	Essaouira	Caroubes entières
-----	Essaouira	Caroubes graines
Raham Abderahmane	Essaouira	Caroubes concassés
-----	Essaouira	Caroubes entières
-----	Essaouira	Caroubes graines
SEBTI-GRAINS	Casablanca	Caroube gomme/farine
-----	Casablanca	Caroubes concassés
-----	Casablanca	Caroubes entières
-----	Casablanca	Caroubes graines
SOLICOMA	Agadir	Caroube gomme / farine
-----	Agadir	Caroubes concassés
-----	Agadir	Caroubes entières
-----	Agadir	Caroubes graines
SOMEDCA	Ouezzane	Caroubes concassés
-----	Ouezzane	Caroubes entières
-----	Ouezzane	Caroubes graines
TALDI, ets	Marrakech	Caroubes concassés
-----	Marrakech	Caroubes entières
-----	Marrakech	Caroubes graines
MAROC GUM	Sidi Slimane	Caroubes graines et concassées

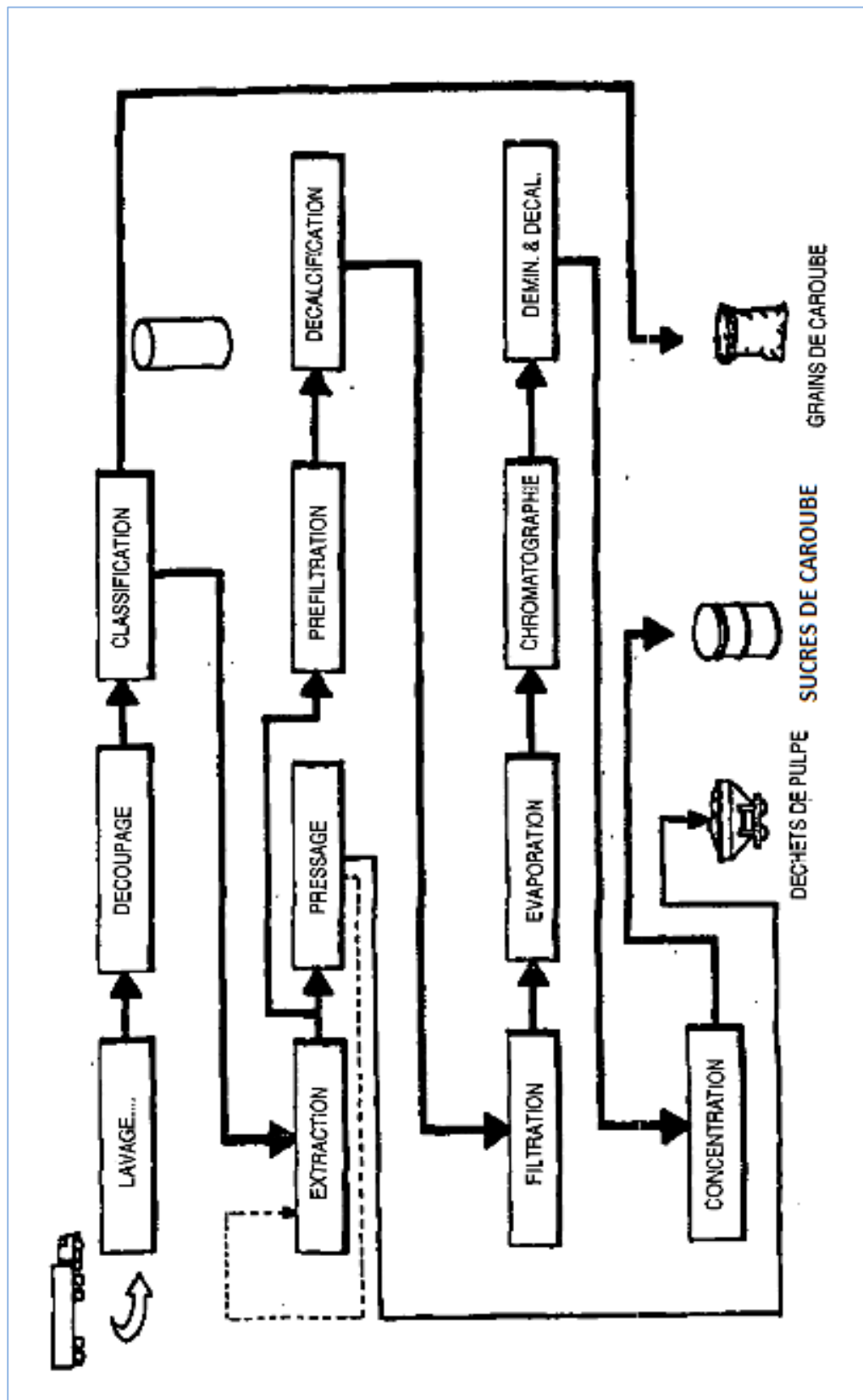
Annexe 4 : Les graines de caroube employées comme unité de mesure des diamants et des pierres précieuses.



Annexe 5 : La gomme de caroube



Annexe 6 : Procédé de préparation de sirop constitué des sucres naturels de caroube



RESUME

Le caroubier (*Ceratonia siliqua* L.) est un arbre forestier fruitier et fourrager très répandu au Maroc. Il présente de nombreuses potentialités écologiques, socio-économiques et industrielles. Cependant, son exploitation au niveau nationale reste très limitée.

Le présent travail s'intègre dans le cadre de la caractérisation et la valorisation industrielle de la caroube. Pour ce faire, nous avons réalisé en première partie une caractérisation morphologique et physico-chimique détaillée de son fruit au niveau de sept régions de provenance représentatives du Maroc.

Dans la seconde partie du travail, nous avons étudié l'influence des conditions expérimentales sur le procédé d'extraction et de clarification de la gomme de graine de caroube (CBG) en utilisant la méthodologie de la recherche expérimentale. Les trois facteurs les plus influents, à savoir, la température, le temps et le rapport (eau/endosperme) ont été optimisés en utilisant un plan composite centré. Les rendements obtenus sont très intéressants pour une future valorisation industrielle.

Ensuite, et pour mieux comprendre le comportement rhéologique de la CBG, la viscosité d'une solution aqueuse à 1% de CBG a été étudiée à différents taux de cisaillement, différentes températures et différents pH. La solution étudiée montre un comportement cisaillement-aminissant. On a également observé une diminution de la viscosité effective avec la température, ce qui indique un comportement thermo-dépendant d'une telle solution.

Nous avons également, élaboré un sirop à partir de la pulpe de caroube. Pour ce faire, nous avons identifié les facteurs influents en se basant sur nos études préliminaires. Ces trois facteurs : température, temps et rapport (eau/pulpe) ont été optimisés à l'aide d'un plan d'expérience de type Box Behnken. L'étude des surfaces de réponses a révélé l'existence d'un rendement de production de sirop qui peut atteindre 38.7% dans les conditions optimales.

Mots clés : caroube, pulpe, graines, caractérisation, procédé, gomme, sirop, optimisation, plans d'expériences, plan composite centré, box behnken, rhéologie, viscosité.