

ANALYSE DES SOUS-UNITES PECTIQUES ET DE LA REPARTITION DES GROUPEMENTS METHYLES SUR LES HOMOGALACTURONANES PAR DES OUTILS ENZYMATIQUES

BONNIN Estelle, HELLIN Pilar, DOLO Elisabeth, LE GOFF Angélique,
RALET Marie-Christine, THIBAUT Jean-François

*INRA, BP 71627, Nantes cedex 03
bonnin@nantes.inra.fr*

Les pectines sont l'un des principaux polysaccharides présents dans la paroi primaire des végétaux et sont majoritairement constituées d'acide galacturonique et de différents oses neutres (rhamnose, arabinose, galactose) dans des proportions variables. Les fonctionnalités nécessaires à la formation d'un réseau pectique dans la paroi sont liées à la structure chimique des pectines. Les paramètres influents sont par exemple les quantités d'oses acides et neutres, la teneur et la distribution des substituants méthyles et acétyles et la masse molaire de la macromolécule. Les enzymes purifiées peuvent être utilisées pour l'étude de cette structure, mais, du fait de la complexité des pectines, un large spectre d'enzymes est nécessaire à leur dégradation.

Dans ce travail, des pectines de betterave, citron vert et pomme ont été dégradées par des enzymes pures. Une rhamnogalacturonane hydrolase a été utilisée en association avec des pectine méthylestérases, arabinanase et galactanase pour obtenir les sous-unités structurales des pectines [1]. A cet effet, le traitement enzymatique a été suivi du fractionnement des produits par chromatographie échangeuse d'ions. Cela conduit à l'isolement des trois principales sous-unités : oses neutres des chaînes latérales, rhamnogalacturonanes, et homogalacturonanes. La caractérisation chimique de ces fractions a montré que les proportions entre les sous-unités varient peu selon l'origine des pectines. Par contre, la masse molaire des homogalacturonanes est très différente pour ces trois pectines.

Ce fractionnement enzymatique a été appliqué à différentes pectines de citron vert pour en obtenir les homogalacturonanes et ainsi pouvoir étudier la distribution des groupements méthyles. Ces homogalacturonanes ont été soumis à une dégradation par une endopolygalacturonase d'*Aspergillus niger* et les produits d'hydrolyse ont été analysés par HPAEC et spectrométrie de masse. Ce sont essentiellement des acides mono- et digalacturoniques non méthylés, pour les pectines de DM<60, et des oligomères, tétra- (mono- et diméthyl) et penta- (di-méthyl) galacturoniques, pour les pectines de DM>60. Les oligomères de DP 6-14 fortement méthylés sont présents en faible quantité et augmentent avec le DM et la distribution au hasard des groupements méthyles.

Ces résultats montrent que les enzymes sont un outil puissant pour l'analyse structurale des pectines. Dans un futur proche, nous chercherons à corréler ces différences de structure aux différences de fonctionnalités de ces pectines.

[1] E. Bonnin, E. Dolo, A. Le Goff & J.-F. Thibault. *Carbohydr. Res.*, **337** (2002) 1687-1696.