

Les alginates et les carraghénanes

Marguerite Rinaudo

Summary

Alginates and carrageenans

Marine algae provide a large number of natural polysaccharides mainly used in food and cosmetic applications. We have described the basic molecular structure of these polymers and mentioned their main characteristics.

Alginates, extracted from brown algae are thickeners (they increase the viscosity of the solvent) or gelling polymers depending on their ionic salt form. The alginates form gels in the presence of divalent counterions such as Ba, Sr, Ca stabilized by a cooperative ionic interaction. Some applications are mentioned.

Agarose, κ - and ι -carrageenans give thermoreversible gels which rigidity depends directly on the molecular structure (especially upon the yield in sulfate substituent). The sol-gel transition is associated with a coil-helix conformational transition. λ -carrageenans are only thickeners.

It is clearly shown that the physical properties of these polymeric systems depend on the molecular structure.

Mots-clés

Alginate, carraghénane, épaississant, gel thermoréversible, reticulation par le calcium.

Key-words

Alginate, carrageenan, thickener, thermoreversible gel, calcium crosslinkage.

Les algues sont une source importante de polysaccharides présentant des structures moléculaires variées et ayant des propriétés originales. Cependant, comme pour les autres sources végétales, les algues présentent une grande variabilité dépendant des conditions environnementales lors de leur croissance. Plus récemment, on a vu se développer des fermes aquicoles qui permettent un meilleur contrôle des productions. Nous chercherons à décrire brièvement pour ces deux familles de polymères, leur origine, leur structure moléculaire et leurs propriétés essentielles en mentionnant aussi quelques applications [1-3].

La majorité des algues appartiennent à l'un des trois groupes : *Chlorophycées* (algues vertes), *Rhodophycées* (algues rouges) et *Phaeophycées* (algues brunes). Seules les deux dernières familles sont exploitées de façon industrielle.

Les alginates

Les alginates sont extraits des algues brunes ; ils peuvent être également produits par voie bactérienne [4]. Les principales algues exploitées relèvent des espèces suivantes : *Laminaria*, *Ascophyllum*, *Fucus*. Elles sont récoltées sur les côtes rocheuses des États-Unis, en Grande-Bretagne, France (Bretagne), Japon, Chine et Norvège (tableau I).

Les alginates existent sous forme de sels de calcium insolubles dans l'algue. Après un pré-traitement acide qui sert à déplacer le calcium, le polymère est extrait par une solution alcaline. La soude conduit au sel de sodium de l'alginate qui est très soluble dans l'eau. On précipite ensuite le polymère par un alcool après filtration de l'extrait aqueux.

La production annuelle mondiale est de l'ordre de 25 à 30 000 t/an.

Il s'agit d'un copolymère linéaire (ou d'une famille de copolymères) constitué de deux unités saccharidiques de base (acides α -L-gulonique, G, et β -D-mannuronique, M) dont le rapport M/G dépend de l'algue de départ. Par ailleurs, la distribution de ces unités le long de la chaîne contrôle également directement les propriétés physico-chimiques. Les acides uroniques forment des blocs d'acide mannuronique liés en β -1 \rightarrow 4, des blocs d'acide guluronique liés en α -1 \rightarrow 4 ou des zones alternées ou irrégulières GM.

Les blocs d'acide L-gulonique sont essentiels dans le mécanisme de gélification par les ions calcium.

La structure de base des alginates est donnée dans la figure 1. Le rapport M/G peut être facilement déterminé par RMN du proton ^1H et la distribution des groupes le long de la chaîne peut être analysée par RMN du carbone ^{13}C . La longueur des différents blocs qui est obtenue par hydrolyse

Tableau I - Origines et caractéristiques de quelques alginates.

Algues brunes : espèces	Rapports M/G	Pays producteurs
<i>Laminaria hyperborea</i>	feuille	États-Unis, Écosse
	thalle	
<i>Laminaria digitata</i>	1,44	Norvège, Chine France, Japon Australie, Amérique du Sud
<i>Laminaria longicuris</i>	2,03	
<i>Ascophyllum Nodosum</i>	1,77	
<i>Macrocystis Pyrifera</i>	1,56	
<i>Fucus Serratus</i>	1,06	

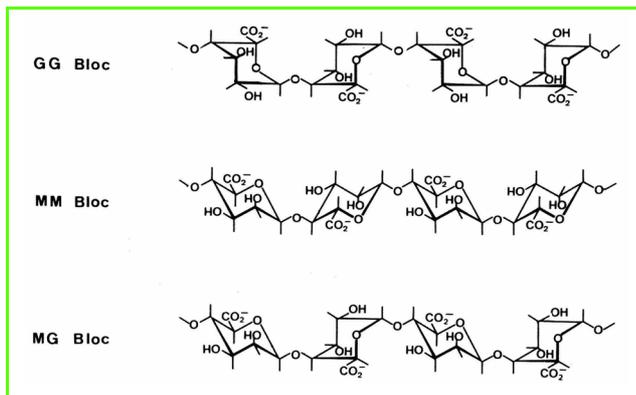


Figure 1 - Structure des différents blocs constituant les alginate. G = acide gulonique ; M = acide mannuronique. Le cation compensateur est plus généralement Na^+ ou Ca^{2+} .

partielle [5-7] est estimée à un degré de polymérisation de 15 à 20.

Les alginate de sodium sont des épaississants en solvants aqueux ; sa référence comme additif alimentaire est E 401. Les formes acide, sels de potassium, d'ammonium et de calcium ont respectivement les références E 400, E 402, E 403 et E 404. En présence de calcium, ils forment des gels. En milieu acide ou pour des teneurs en calcium faibles, le gel peut être partiellement réversible. Au contraire, pour des teneurs en calcium plus élevées, on obtient des gels stables selon le mécanisme de la « boîte à œufs » [8]. Un gel d'alginate de calcium peut être solubilisé par échange d'ions en utilisant par exemple une solution de citrate de sodium. Les alginate présentent une sélectivité ionique dans la série des ions bivalents. En particulier, les ions Ba^{2+} , Ca^{2+} , Sr^{2+} ont la meilleure aptitude à induire la gélification en formant dans une première étape un dimère stabilisé par la fixation coopérative d'ions bivalents. Par opposition, on n'obtient jamais de gel en présence de Mg^{2+} , de même que cet ion ne conduit jamais à la formation de dimère.

Les alginate sont commercialisés par exemple par la société FMC BioPolymer sous les noms de Protanal® Alginate et Protacid™ Alginic acid.

Des applications particulières des alginate de calcium sont la formation de filaments pour la fabrication de pansements, de billes permettant d'encapsuler des levures ou des bactéries pour des applications en biotechnologie. Ces gels servent également de support pour le relargage contrôlé du médicament [9-10].

Les billes sont obtenues par exemple en ajoutant goutte à goutte la solution d'alginate de sodium contenant le microorganisme dans une solution de chlorure de calcium (par exemple 0,05 M).

Pour les applications alimentaires, la texture se met en place instantanément en présence de sel de calcium soluble (chlorure ou acétate). Elle peut être ralentie en présence d'un sel peu soluble tel que le sulfate de calcium et en présence d'un agent complexant comme le phosphate de sodium.

Une autre application importante est le moulage dentaire. Les pâtes dentaires

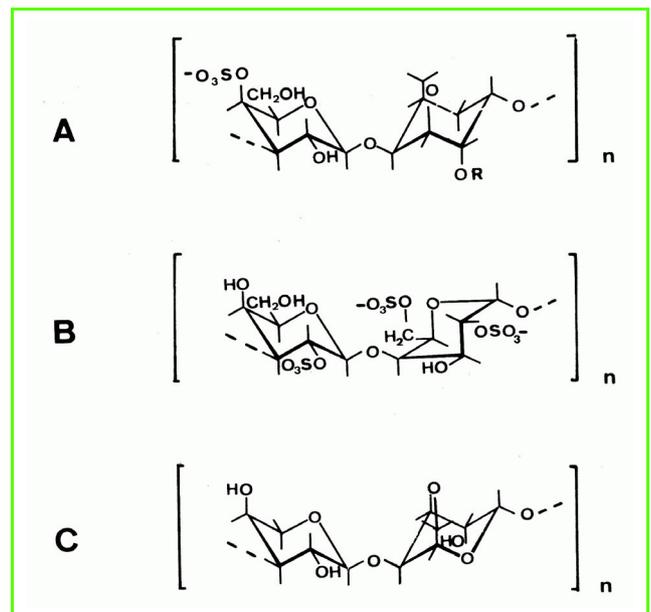


Figure 2 - Structure des κ -carraghénanes (A ; R = H), des λ -carraghénanes (A ; R = $-\text{SO}_3^-$), des γ -carraghénanes (B) et de l'agarose (C).

sont préparées par le praticien. La préparation contient en particulier un sel « réactif » et un sel retardateur (complexant les premiers calcium libérés pour éviter la prise trop rapide). Au moment de l'emploi, le praticien procède à l'hydratation du mélange des constituants pulvérulents qui permettra la gélification de l'alginate au moment de la mise en place du moulage.

Agarose et carraghénanes

Les algues rouges produisent des copolymères linéaires de type alterné de (1→3) β -D-galactose et de (1→4) α -(3,6)anhydro-D ou L-galactose. Il peut y avoir aussi des polymères comportant des substituants (pyruvate, méthyle, sulfate). La figure 2 donne la structure moléculaire des disaccharides constituant l'unité de répétition des principaux polymères de cette famille. Les principales algues d'origine de ces polymères figurent dans le tableau II. Leur structure

Tableau II - Origines des carraghénanes.

Type de polysaccharides	Additif alimentaire	Algues rouges : Espèces	Pays producteurs
κ -carraghénane	E 407	<i>Girgatina Pistillata</i>	États-Unis, Canada
		<i>Hypnea</i>	
λ -carraghénane	E 407	<i>Soleria</i>	France (Bretagne)
		<i>Girgatina</i>	
		<i>Chondrus</i>	
Agar	E 406	<i>Euchema cottonii</i>	Péninsule ibérique
		<i>Euchema spinosum</i>	
Agar	E 406	<i>Gelidium</i>	Philippines
		<i>Gracilaria</i>	
			Indonésie
			Japon
			Portugal
			Espagne
			Amérique du Sud

peut être contrôlée par spectrométrie infrarouge ou RMN [11, 12].

Dans cette série de polymères, la solubilité croît en même temps que la teneur en ester sulfate avec l'ordre : agarose < κ -carraghénane < ι -carraghénane < λ -carraghénane.

En fait, dans l'algue, les unités α -(1→4) peuvent être soit sous forme anhydro, soit sous forme galactose-6-sulfate. Cette dernière forme est appelée « précurseur » et est soluble dans l'eau. Industriellement, on isole

les polymères par diffusion et pressage des algues en suspension dans l'eau ; suit ensuite un traitement alcalin pour transformer les précurseurs en anhydro-polymères qui, dès lors, présentent des propriétés gélifiantes dans des conditions thermodynamiques contrôlées. Les polymères sont récupérés par précipitation à l'alcool (éthanol, isopropanol). La production mondiale de carraghénanes est de l'ordre de 16 500 t/an ; celle d'agar ou d'agar-agar est de 3 500 t/an.

CP Kelco produit un grand nombre de produits à base de ces polymères utilisés dans le domaine alimentaire pour leurs qualités de texture, de stabilisant et de gélifiant (avec par exemple Genulacta®, Genuvisco®, Genugel®).

FMC Biopolymer fournit également des matières premières sous le nom de Danagel™, Gelcarin®, Isagel™, Lactogel®, SeaGel®...

L'agarose et les κ - et ι -carraghénanes forment des gels physiques par des liaisons secondaires (ponts H). Il s'agit là de leur principale caractéristique. La rigidité des gels est directement reliée à la structure moléculaire et décroît quand la teneur en sulfate augmente. La séquence par rigidité décroissante est donc :

agarose > κ -carraghénane > ι -carraghénane.

Ces gels sont également stables en présence de non-solvant des polymères ; plongés dans l'éthanol ou l'acétone, ces gels ne subissent aucun changement de volume pour l'agarose, un faible changement pour le κ -carraghénane, mais un changement plus important pour un gel de ι -carraghénane suivant l'ordre de solubilité [13].

Les λ -carraghénanes ne forment pas de gel (pas de pont anhydro-galactose et 3 sites sulfate par disaccharide) et sont considérés comme des épaississants (*tableau III*).

Les gels se forment à des concentrations en polymère très faibles (de l'ordre de 1 g/L) en solution aqueuse et en présence de certains ions (*tableau III*) ; les ions K^+ et mieux Rb^+ conduisent aux gels les plus stables. Une concentration totale en ions est nécessaire pour induire la gélification (soit $7,5 \times 10^{-3} M$ pour les κ -carraghénanes sous forme K^+ en présence de KCl) [14-15].

Ces gels sont thermoréversibles (comme l'est la gélatine). A une température caractéristique qui dépend de la force ionique, de la nature des ions, de la concentration en polymère..., le système subit une transition sol-gel (en descente de température) ; cette température est une température de gélification (T_g). En montée de température, la transition gel-sol survient à une température dite de fusion (T_f), supérieure à T_g . La largeur de l'hystérèse ($T_f - T_g$) dépend directement de la structure du polymère (densité de charge) et de la régularité structurale. Généralement, la largeur de l'hystérèse décroît en allant dans l'ordre : agarose > κ -carraghénane > ι -carraghénane

Tableau III - Caractéristiques des carraghénanes en milieu aqueux.

	κ -carraghénane	ι -carraghénane	λ -carraghénane
Effet du cation	Forme des gels Sélectivité ionique importante pour les ions monovalents	Faible sélectivité ionique avec les ions monovalents mais gel plus fort avec Ca^{2+}	Ne forme pas de gel
Qualité du gel	Gel rigide et cassant avec synérèse Gel thermoréversible	Gel élastique Gel thermoréversible	Ne forme pas de gel
Stabilité à la congélation/décongélation	Non	Stable	Non

soit l'ordre inverse de la solubilité ou de la densité de charge. Le gel d'agarose par exemple fond à $T_f \approx 90^\circ C$ quand le polymère est non substitué.

Le changement de phase est associé à un changement conformationnel. En effet, le gel ne se forme que par association de doubles hélices stabilisées à basse température ou en présence d'excès de sel [14]. L'agrégation coopérative des doubles hélices, qui peut être assimilée à une microséparation de phase, forme ce que l'on appelle les zones de jonction qui sont les nœuds de réticulation du réseau ou gel [16-17].

En relation avec la dimension des zones de jonction, l'agarose donne des gels rigides et turbides alors que les κ - et ι -carraghénanes forment des gels clairs.

La présence de saccharose, par exemple, augmente la stabilité des gels. On peut également en application faire des mélanges de κ - et ι -carraghénanes ou κ -carraghénane et xanthane qui donnent moins de synérèse qu'avec le κ -carraghénane pur. Les principales applications des carraghénanes relèvent des domaines alimentaire et cosmétique. Une application particulière concerne l'utilisation du κ -carraghénane dans les gels désodorants ; l'agar et les κ -carraghénanes sont également utilisés pour encapsuler des microorganismes.

Conclusion

Les carraghénanes, l'agarose et les alginates (sel de sodium) sont des polymères hydrosolubles abondamment utilisés comme agents épaississants, gélifiants, stabilisants d'émulsions ou de suspensions dans les applications alimentaires (crème glacée, fromage fondu, confitures, crème pâtissière, stabilisation de boissons de fruits, charcuterie ou dans les gels à l'eau au Japon). Les κ -carraghénanes sont en particulier utilisés pour stabiliser les préparations lactées.

L'agarose est utilisé dans les laboratoires de bactériologie comme support de culture de microorganismes ; son importante rigidité et la grande dimension des pores du gel ont conduit à leur utilisation comme support d'électrophorèse ou de chromatographie liquide en perméation sur gel des acides nucléiques.

Les alginates sont à la fois épaississants et gélifiants. Ils sont utilisés dans les produits cosmétiques, des vernis pour automobiles, des peintures, des pâtes pour moulage dentaire ou pour l'encapsulation de microorganismes. Ils permettent d'obtenir des fibres biocompatibles stabilisées par les ions calcium.

Cette présentation montre quelques exemples de la diversité des structures moléculaires disponibles dans les produits naturels et la relation avec quelques propriétés originales en relation avec leurs applications.

Références

- [1] Heyraud A., Rinaudo M., Rochas C., Physical and chemical properties of phycocolloids, *Introduction to Applied Phycology*, Ed. Akatsuka, SPB Acad. Publishing, **1989**, p. 59.
- [2] Rinaudo M., *J. Intell. Mater. Syst. Struct.*, **1993**, 4, p. 210.
- [3] Stephen A.M., *Food polysaccharides and their Applications*, Chap. 7-9, Marcel Dekker Inc., New York, **1995**.
- [4] Skjak-Braek G., Grasdalen H., Larsen B., *Carbohydr. Res.*, **1986**, 154, p. 239.
- [5] Haug A., Larsen B., *Acta Chem. Scand.*, **1962**, 16, p. 1908.
- [6] Haug A., Larsen B., Smidsrod O., *Acta Chem. Scand.*, **1966**, 20, p. 83.
- [7] Grasdalen H., Larsen B., Smidsrod O., *Carbohydr. Res.*, **1981**, 89, p. 179.
- [8] Morris E.R., Rees D.A., Thom D., *Carbohydr. Res.*, **1978**, 66, p. 145.
- [9] Fundueanu G., Esposito E., Mihai D., Carpov A., Desbrières J.M., Rinaudo M., Nastruzzi C., *Int. J. Pharm.*, **1998**, 170, p. 11.
- [10] Fundueanu G., Nastruzzi C., Carpov A., Desbrières J.M., Rinaudo M., *Biomaterials*, **1999**, 20, p. 1427.
- [11] Rochas C., Rinaudo M., Vincendon M., *Int. J. Biol. Macromol.*, **1983**, 5, p. 111.
- [12] Mackie W., *Carbohydr. Res.*, **1971**, 20, p. 413.
- [13] Rinaudo M., Landry S., *Polym. Bull.*, **1987**, 17, p. 563.
- [14] Rochas C., Rinaudo M., *Biopolymers*, **1984**, 23, p. 735.
- [15] Ciancia M., Milas M., Rinaudo M., *Int. J. Biol. Macromol.*, **1997**, 20, p. 35.
- [16] Rochas C., Rinaudo M., Landry S., *Carbohydr. Polym.*, **1989**, 10, p. 115.
- [17] Rochas C., Rinaudo M., Landry S., *Carbohydr. Polym.*, **1990**, 12, p. 255.

**Marguerite Rinaudo**

est professeur à l'université Joseph Fourier de Grenoble*.

* Centre de recherches sur les macromolécules végétales, CERMAV-CNRS, BP 53, 38041 Grenoble Cedex 9.
Tél. : 04 76 03 76 27. Fax : 04 76 54 72 03.
E-mail : marguerite.rinaudo@cermav.cnrs.fr

