

**STABILISATION PAR ENROBAGE D'IMPREGNATION DU POUVOIR
D'INDUCTION DE LA SAVEUR SUCRÉE DU FRUIT DE *RICHA(R)DELLA
DULCIFICA***

**STABILISATION BY IMPREGNATION COATING OF THE SWEETNESS-
INDUCING PROPERTY OF *RICHA(R)DELLA DULCIFICA* FRUIT**

ELOLO G. OSSEYI^{1*}, ADODO KETEV¹, KOFFI TOZO², KOFFI SODOKE¹

¹Département des Sciences et Technologies Alimentaires, Ecole Supérieure des Techniques Biologiques et Alimentaires, (ESTBA) Université de Lomé, BP. 1515 Lomé, Togo.

²Département de Botanique, Faculté des Sciences, (FDS) Université de Lomé, BP. 1515 Lomé, Togo.

Abstract:

The miracle fruit from a wild shrub named *Richa(r)della dulcifica* is so delicate that once picked, it goes immediately through a deterioration process and progressively loses its inductive property of the sweet taste. The search for simple and less expensive methods of preservation of the fruit and the extract of the pulp in order to assure a long period of shelf life has led the present study to submit the whole fruit and the extract of the pulp to different physical and chemical conditions of preservation.

The technique of preservation by impregnation coating has also been tried with natural substrates as gelatin (E441), gum arabic (E414), modified starch (E1420) and tapioca.

The results showed that a limited preservation of the fruit and a relative stabilization of the pulp extract could be reached by combining freezing with soaking in a solution of dilute glycerol and sodium benzoate (E211). The coating by impregnation proved to be an efficient method for a good and long period of preservation of the sweetness-inducing property of the extract of the pulp. These coated products could serve as good substitutes to synthetic and sometimes harmful usual sweeteners.

Résumé:

Le fruit miracle de *Richa(r)della dulcifica* est tellement délicat qu'à la cueillette il entre immédiatement dans un processus de détérioration entraînant la perte progressive de son pouvoir inductif de la saveur sucrée.

La recherche des méthodes simples et moins coûteuses de conservation du fruit ou de l'extrait de pulpe afin d'en assurer une longue durée de conservation a conduit la présente étude à soumettre le fruit intégral et l'extrait de la pulpe à différentes conditions physiques et chimiques de conservation.

La technique de conservation par enrobage d'impregnation a été également essayée avec des supports naturels tels que la gélatine (E441), la gomme arabique (E414), l'amidon modifié (E1420) et le tapioca.

Les résultats ont montré qu'une conservation limitée du fruit et une relative stabilisation de l'extrait de pulpe peuvent être obtenues par la congélation combinée à un court séjour dans une solution de glycérol dilué et de benzoate de sodium (E211). L'enrobage par impregnation s'est révélé une technique efficace pour une bonne et longue durée de conservation du pouvoir d'induction. Ces produits enrobés pourraient donc constituer d'excellents substituts aux synthétiques et parfois nocifs édulcorants classiques.

Keywords : Miracle fruit – Sweet taste – Coating - Stabilization

Mots clés : Fruit miracle – Saveur sucrée – Enrobage - Stabilisation

I. INTRODUCTION

Parmi les fruits sauvages peu connus et encore moins valorisés des savanes et forêts des pays tropicaux, il en existe un du nom de « baie ou fruit miracle » de l'espèce *Richa(r)della dulcifica* ou

* Auteur correspondant : elosseyi@yahoo.com

Synsepalum dulcificum, qui suscite beaucoup d'intérêts à cause de son pouvoir édulcorant énigmatique et surprenant. Le fruit de cet arbuste dont l'aire géographique s'étend du Ghana jusqu'au Congo, a la propriété peu commune de changer une saveur acide en une saveur sucrée (Brouwer *et al.*, 1968 ; Kurihara, 1992). Ce pouvoir inducteur de saveur sucrée est dû à une glycoprotéine du fruit appelée la « miraculine » (Theerasilp *et al.*, 1989 ; Igeta *et al.*, 1990).

Le fruit miracle est saisonnier, se raréfie et se conserve mal à la maturité. Une fois cueilli, il commence à se détériorer et perd progressivement son pouvoir inductif de la saveur sucrée. Ce pouvoir est détruit par la chaleur, les solvants organiques et grandement réduit par exposition aux pH au-dessus de 12.0 ou au-dessous de 2.5 à la température ambiante (Kurihara, Beidler, 1968). L'extraction, la purification et la cristallisation sont laborieuses et requièrent des techniques sophistiquées et coûteuses avec des résultats mitigés (Giroux and Henkin, 1974 ; Theerasilp *et al.*, 1989). La tendance actuelle est de produire génétiquement de la miraculine à partir des plantes plus usuelles afin de la rendre plus disponible et accessible. Ainsi le gène codant pour la miraculine a pu être isolé et transféré dans la tomate (Masuda and Kitabatake, 2006) et laitue (Sun *et al.*, 2006) transgéniques qui ont produit de grandes quantités de miraculine dans les feuilles. Néanmoins, la recherche des méthodes plus simples et peu coûteuses demeure opportune pour assurer la disponibilité et la stabilité de la baie miracle et la miraculine dans les milieux ne disposant pas encore de la haute technicité. Dans cette optique, la présente étude a testé différentes conditions chimiques et physiques de conservation du fruit et de l'extrait de la pulpe. La technique d'enrobage d'imprégnation de l'extrait de la pulpe sur divers supports a également été expérimentée afin d'assurer la stabilité et un durable effet du principe actif.

II . METHODOLOGIE

II . 1 Conservation du fruit intégral

Le matériel végétal est constitué de fruits cueillis délicatement ou achetés aux marchés dans les régions Maritime et des Plateaux au Togo. Ces fruits sont lavés et repartis en quatre portions sur lesquelles différentes conditions de conservation ont été testées afin de déterminer la durée de conservation avant l'apparition d'une altération physique et/ou la disparition de la capacité d'induction de la saveur sucrée. Une portion est laissée à la température ambiante du laboratoire (20 °C). La seconde est gardée dans l'eau et réfrigérée (4 °C). La troisième est soumise à la congélation (- 12 °C) et la quatrième est trempée dans une solution de glycérol diluée à 10% avant d'être conservée à la température ambiante pour une partie et à la congélation pour l'autre.

II . 2 Préparation de l'extrait de pulpe

Les fruits lavés subissent un dépelliculage avant d'être trempés dans une solution acide de NaCl (0.5 M) à raison de 20 ml pour 100 g de fruits. Le mélange est trituré pour faciliter la dissolution du principe actif du fruit de nature protéique (Theerasilp *et al.*, 1989). L'extrait est alors soumis à une concentration sous vide (40 °C, 2 h) pour donner un extrait concentré de pulpe.

II . 3 Préservation de l'activité de l'extrait de pulpe concentré

L'effet du conservateur chimique : le benzoate de sodium (C₆H₅COONa) (E 211) (0,1%), a été également testé sur l'extrait de pulpe suivi d'une conservation à la température ambiante et au réfrigérateur. Une portion d'extrait sans conservateur a servi de témoin.

II . 4 Stabilisation de l'extrait par enrobage d'imprégnation

Quatre agents épaississants et gélifiants: la gélatine, la gomme arabique, l'amidon modifié et le tapioca ont servi de supports d'enrobage sur lesquels a été piégé l'extrait concentré de pulpe par dispersion ou imprégnation.

II . 4 . 1 La gélatine E441

La gélatine alimentaire utilisée est d'origine porcine (100%) et achetée dans le commerce. Elle se présente sous forme de feuillets translucides. Ces derniers sont trempés dans l'eau froide (5 - 10 min)

pour provoquer leur gonflement puis fondus dans une petite quantité d'eau chaude avant d'y incorporer l'extrait concentré de pulpe par brassage.

II . 4 . 2 Amidon modifié E1420

L'amidon acétylé se présente sous forme de poudre blanche. Il a d'abord été mélangé à l'extrait concentré de pulpe (10 g /100mL d'extrait) pour donner une pâte qui est ensuite soumise à l'évaporation sous vide (40 °C, 4 h) afin de reconstituer une poudre imprégnée de l'extrait de pulpe.

II . 4 . 3 Gomme arabique E 414

La gomme arabique, sécrétion ou exsudat naturel de l'acacia (*Acacia verek*), a été achetée au Niger. Elle a subi une dissolution à chaud suivie d'une filtration et d'un séchage à l'étuve (100 °C, 3-4 h) jusqu'à la reconstitution d'une gomme malléable. L'extrait concentré de pulpe y est incorporé par malaxage et l'ensemble est séché à l'étuve (40 °C, 2h) pour atteindre une consistance permettant le moulage en diverses formes.

II . 4 . 4 Tapioca

Le tapioca est moulu et mélangé à l'extrait concentré de pulpe jusqu'à l'obtention d'une pâte assez consistante. La pâte est ensuite séchée à l'étuve (40 °C, 8-10 h).

II . 5 Tests sensoriels

Les 4 types de produits obtenus après enrobage par imprégnation, ont été soumis au test sensoriel de la « comparaison par paire » avec des supports d'enrobage ne contenant pas de l'extrait de pulpe comme témoins. Pour chaque échantillon, 3 essais ont été réalisés et le panel est constitué de 40 personnes. Le test de Student a été utilisé pour les comparaisons d'effet inductif du goût sucré et les différences sont considérées significatives à $p < 0.05$.

III . RESULTATS – DISCUSSION

Lors de la cueillette du fruit miracle (Fig. 1), il a été constaté que les contusions et traumatismes peuvent accélérer la perte du pouvoir d'induction de la saveur sucrée.



Figure 1 : Fruit de *Richa(r)della dulcifica*

III. 1 Conservation du fruit

Les essais de conservation (Tableau I) ont révélé que le fruit et son pouvoir inducteur du goût sucré peuvent être conservés pendant 1 mois par la congélation à - 12 °C et plus de 3 mois par la combinaison du trempage dans une solution de glycérol dilué et la congélation. La congélation simple a engendré une perte manifeste de l'intensité du goût sucré induit. Ce constat s'accorde un peu avec celui des travaux antérieurs (Dastoli and Harvey, 1974). Le glycérol jouerait le double rôle d'agent cryoprotecteur et de stabilisateur potentiel de la miraculine (Achel, 1996). La conservation des fruits dans l'eau fraîche et à la température ambiante s'est révélée infructueuse.

Tableau I : Résultats des essais de conservation du fruit.

Traitements	Durée de Conservation du fruit	Induction de saveur sucrée	Remarques
Température ambiante	4-5 jours	Perte de saveur induite	Fruit altéré
Réfrigération	2-3 jours	Perte de saveur induite	Début de détérioration
Congélation	1 mois	Saveur induite	Faible
Trempe dans glycérol+congélation	≥ 3 mois	Saveur induite	Intense

III . 2 Préservation de l'activité de l'extrait concentré de pulpe

L'extrait concentré de pulpe obtenu est incolore et insipide. Son pouvoir inductif de la saveur sucrée est comparable à celui du fruit naturel.

Pour tous les traitements testés (Tableau II), le suc de pulpe a conservé son pouvoir inductif de goût sucré mais pour des durées très variables. Seul l'extrait additionné de benzoate de sodium et réfrigéré a pu garder son effet pendant 3 mois. Ces résultats montrent que l'effet du suc peut être altéré par la putréfaction du fruit d'où la nécessité de combiner conservateur chimique et réfrigération pour préserver le pouvoir inductif.

Tableau II : Résultats des essais de conservation de l'extrait de pulpe.

Traitements	Durée de stabilité de l'extrait	Induction de saveur sucrée	Remarques
Extrait sans benzoate de sodium (20 °C)	2 jours	Saveur induite	Altération du fruit
Extrait sans benzoate de sodium (4 °C)	5 jours	Saveur induite	Début d'altération
Extrait avec benzoate de sodium (20 °C)	4 jours	Saveur induite	Instable
Extrait avec benzoate de sodium (4 °C)	≥ 3 mois	Saveur induite	Très stable

III . 3 Conservation de l'activité d'induction par l'enrobage d'imprégnation

La technique d'enrobage par imprégnation a révélé après évaluation sensorielle, que les 4 types de substrats testés constituent des supports efficaces (Tableau III) pour la préservation du pouvoir inductif de la saveur sucrée de l'extrait de pulpe. Cependant, il a été noté une légère baisse du degré de la saveur sucrée induite par rapport à celle de l'extrait brut. Cette atténuation d'effet serait due à la dilution de l'extrait dans les supports. La gélatine (Fig. 2) et le tapioca (Fig. 3) se sont révélés les meilleurs supports d'enrobage en conservant le pouvoir inductif de la saveur sucrée plus longtemps (≥ 4 mois) que l'amidon modifié (Fig. 4) et la gomme arabique (Fig. 5). La gélatine à l'état de gel aux températures de réfrigération, présente l'inconvénient de fondre à la température ambiante avec une possibilité de provoquer l'instabilité du pouvoir inductif.



Figure 2 : Gélatine imprégnée de l'extrait de pulpe du fruit miracle

Tableau 3 : Résultats de l'enrobage par imprégnation

Support	Aspect	Effet de miraculine	Temps d'efficacité de miraculine	Observation
<i>Gélatine</i>	Gel incolore	Très intense	≥ 4 mois	Fonte à température ambiante
<i>Amidon modifié</i>	Poudre blanche	Atténué	1 mois	Brunissement avec le temps
<i>Gomme arabique</i>	Gel brun	intense	≥ 2 mois	Difficilement malléable
<i>Tapioca</i>	Granulés blanchâtres	Très intense	≥ 4 mois	Granules durs



Figure 3 : Granulés de tapioca imprégnés de l'extrait de pulpe du fruit miracle



Figure 4 : Amidon modifié imprégné de l'extrait de pulpe du fruit miracle



Figure 5 : Boulettes de gomme arabique imprégnées de l'extrait de pulpe du fruit miracle

IV . CONCLUSION

Il ressort de cette étude que le fruit miracle est délicat et perd vite son intégrité et l'effet de son principe actif dès qu'il est détaché de la plante. Les contusions et les traumatismes lors de la cueillette sont susceptibles d'accélérer le phénomène. Une relative conservation du fruit et de stabilisation de l'extrait de pulpe peut être obtenue par l'action combinée du froid et des traitements avec une solution de glycérol dilué et de benzoate de sodium.

La technique d'enrobage par imprégnation s'est révélée efficace de même que les supports utilisés pour la préservation du pouvoir inductif de la saveur sucrée de l'extrait de pulpe. Les diabétiques et les personnes sous un régime sans-sucre peuvent tirer profit de cet inducteur non calorigène de la saveur sucrée. Il suffirait de sucer au préalable ces enrobages d'extrait de pulpe puis d'acidifier légèrement son jus de fruit, sa bouillie, son yaourt ou son thé non sucrés pour les rendre plaisants au goût.

Remerciements : Cette étude a bénéficié d'un « financement CURS » alloué aux « Petits Projets de Recherche » par l'Université de Lomé à travers sa Sous-commission Scientifique et sa Direction de Recherche.

V . RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- [1] Brouwer JN, van der Wel H, Francke A, Henning, GJ. Miraculin, the Sweetness Inducing Protein from Miracle Fruit. *Nature*. 220 (1968), 373-375.
- [2] Kurihara Y. Characteristics of antisweet substances, sweet proteins and sweetness-inducing proteins. *Critical Review In : Food Science and Nutrition*. 32:3 (1992), 221-252.
- [3] Giroux, E. L., Henkin R. I. - Purification and Some Properties of Miraculin, a Glycoprotein from *Synsepalum dulcificum* which Provokes Sweetness and Blocks Sourness. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*. 22 (1974), 595-601.
- [4] Theerasilp S, Hitotsuya H, Nakajo S, Nakaya K, Nakamura Y, Kurihara Y. Complete amino acid sequence and structure characterization of the taste-modifying protein, miraculin. *Journal of Biological Chemistry*. 264 (1989), 6655-6659.
- [5] Igeta H, Tamura Y, Nakaya K, Nakamura Y, Kurihara Y. Determination of disulphide array and subunit structure of taste modifying protein miraculin. *Biochimica et Biophysica Acta*(1991), 303: 1079.
- [6] Kurihara Y, Beidler, LM. Isolation and mechanism of action of taste modifiers: Taste-modifying protein and gymnemic acid. *Olfaction and Taste III*. (1968), New York. : Plaffmann, ed. Rockefeller Univ. Press. 450-469.



- [7] Masuda T, Kitabatake N. Genetically stable expression of functional miraculin, a new type of alternative sweetener, in transgenic tomato plants. *Journal of Bioscience and Bioengineering*. 102 (2006), 375–389.
- [8] Sun HJ, Cui ML, Ma B, Ezura H. Functional expression of the taste-modifying protein, miraculin, in transgenic lettuce. *Federation of European Biochemical Societies Letters*. 23; 580:2 (2006), 620-626.
- [9] Dastoli FR, Harvey RJ. Miracle fruit concentrate. *In: Symposium on sweetness*. Inglette GE, (1974). *ed. Avi Publishing Co. Inc. West Port Conn.*
- [10] Achel DG. Isolation, purification, and partial characterisation of Miraculin from *R. Dulcifica*. M. Phil. Thesis, Department of biochemistry. (1996), University of Ghana, Legon.