

République Algérienne Démocratique et Populaire  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



**INTITULÉ :**

***CONTRIBUTION A LA CARACTÉRISATION  
PHYSICOCHIMIQUE ET A L'HYDROLYSE D'AMIDON  
DE SORGHO ET DE MIL CHANDELLE CULTIVÉS AU  
SUD DE L'ALGÉRIE***

**BOUDRIES Nadia**

Mémoire

Présenté pour l'obtention du diplôme de Doctorat ès Sciences en  
Génie de l'Environnement  
Option : Biotechnologie

Soutenu le 13 Juin 2010 devant le Jury:

Président	Pr MAMERI	Nabil	ENP, El-Harrach
Rapporteur	Pr NADJEMI	Boubekeur	ENS, Kouba
	Pr BELHANECHÉ	Naima	ENP, El-Harrach
Examineurs	Pr HASSANI	Aicha	ENS, Kouba
	Pr KAMELI	Abdel Krim	ENS, Kouba
	Pr LOUNICI	Hakim	UMM, Tizi Ouzou

## **AVANT-PROPOS**

*Ce travail sur les sorghos et mils cultivés en Algérie revêt une grande importance, vu qu'il comble un manque tant sur le plan documentaire que sur la valorisation de ces céréalicultures. En effet, lorsque nous avons entamé les recherches dans ce domaine, nous avons constaté un manque d'intérêt envers ces céréales à l'échelle nationale malgré leur adaptation aux conditions difficiles du Sahara et les applications potentielles qu'elles offrent.*

*Les travaux sur la prospection et l'inventaire des cultivars de sorgho et de mil cultivés et commercialisés en Algérie sont très rares et ceux sur leur caractérisation et valorisation sont presque inexistants.*

*Encouragés par le regain d'intérêt porté vers ces céréales à l'échelle internationale et conscients de la diversité et de la spécificité des géotypes locaux, un projet a été élaboré par le laboratoire de recherche sur les produits bioactifs et valorisation de la biomasse de l'ENS et réalisé sous la direction du Pr Nadjemi Boubekour, enseignant chercheur à l'ENS avec la collaboration du Pr Belhaneche Naima, enseignante chercheur à l'ENP et l'aide précieuse du Pr Sindic Marianne, enseignante chercheur à l'unité des industries agroalimentaires de Gembloux Agro-Bio Tech (GxABT), Université de Liège, Belgique et de la Coopération Technique Belge qui a financé mes stages en Belgique.*

*Les résultats de ce travail ont permis de monter la pertinence de la valorisation des cultivars locaux de sorgho et de mil chandelle au moment où la sécurité alimentaire est la principale préoccupation de tout pays et présentent d'autres opportunités quant aux nouveaux axes de recherche.*

## REMERCIEMENTS

*Il m'est très agréable d'exprimer ma grande reconnaissance au Pr Nadjemi Boubekeur pour avoir dirigé mes travaux de thèse avec une grande compétence. Sa disponibilité et ses conseils m'ont été d'une aide précieuse. Je suis reconnaissante aussi au Pr Belhaneche-Bensemara Naima pour sa supervision des travaux et ses encouragements constants.*

*Je tiens à remercier, le Pr Sindic Marianne de l'unité des industries agroalimentaires à la l'université de Liège (Gembloux Agro-Bio-Tech), Belgique et le Dr Sinnaeve George du centre de recherches agronomiques (CRA) de Gembloux ainsi que le Pr Mathlouthi Mohamed, responsable du laboratoire de physicochimie de l'université de Reims, France pour m'avoir accueilli au sein de leurs laboratoires et m'avoir permis d'effectuer un travail expérimental.*

*Mes remerciements vont aussi au Pr Mameri Nabil de l'ENP pour avoir accepté d'être le président du jury. Je remercie également le Pr Hassani Aïcha et le Pr Kameli Abdel Krim de l'ENS de Kouba ainsi que le Dr Lounici Hakim de l'université Mouloud Mammeri, Tizi-ouzou d'avoir bien voulu faire parti du jury afin d'examiner cette thèse.*

*Mes remerciements s'adressent aussi à Mokrane Hind, Djabali Djaafar, Lamgharbi Mohamed, Kadri Farida, Mehdi Youcef de l'ENS, Souami Nassim du COMENA, Massaux Carine, Filloco Sandrino, Someville Alain de Gembloux Agro-Bio Tech, Belgique, Lenartz Jonathan du CRA, Gembloux, Belgique et Douglade Jacques de l'université Reims, France pour leur contribution à ce travail.*

*Je remercie particulièrement le Dr Baliouamer Messaoud responsable au COMENA pour son aide matérielle et son soutien inconditionnel et incessant. Ces encouragements m'ont toujours aidé à surmonter les difficultés et à persévérer.*

*Je ne manquerai pas de remercier tous les techniciens qui m'ont apporté leur aide pour réaliser certaines analyses ainsi que toutes mes amies et tous mes amis pour leurs encouragements, leur écoute et leur sympathie, je citerai en particulier, Lakki T., Zouaghi N., Halet F., Ouazene N., Harbili A., Maaquili H., Moustfai A. S., Azoug Y., Azoug H., Azoug I., Ikhlef A., A. Abderahamene, M., Djamel.*

*En fin j'exprime ma profonde gratitude à Mr Taouchiche Radouane qui m'a toujours apporté son soutien et son aide ainsi qu'à Mme Hadji Dalila et sa famille, Mme Lambet Huguette et son époux Edgard et Mme Poels Muriel pour m'avoir accueillie et procurer l'ambiance familiale dont j'avais besoin en Belgique.*

## **DÉDICACES**

*C'est avec plaisir que je dédie ce travail à :*

*Mes parents qui ont tant espéré assister à l'aboutissement de ce travail,*

*Ma famille, en particulier ma sœur Malika et ma grande mère Fatima,*

*Mes deux princesses : Bestani Chaïma Nour el Houda et Bouakaz Amel,*

*Tous les enseignants qui ont participé à ma formation.*

*Je rends un fervent hommage à mes enseignants feu Mme Mameri-Belhocine Djamilia et Mr Lounes Mohamed, Mr Rahali Ahmed ainsi qu'à mon amie Biskri Djahida, qui resteront à jamais dans mon cœur.*

## المخلص

تناول هذا البحث تثمان فئات من الذرة الرفيعة و الدخن المزروعة في منطقة تديكلت و أهقار في الصحراء الجزائرية. تتلخص خطة عمل البحث في عزل النشا من الحبوب و تعيين خصائصه الفيزيائية و الكيميائية و خصائصه الوظيفية و كذا تحويله بالتحلل المائي الإنزيمي.

تم استخلاص النشا المتواجد بنسبة 59.80 إلى 68.75 % باستعمال طريقة النقع في المحلول القاعدي فكانت النقاوة المتحصل عليه مرضية ( 96.74-91.94 %) أما مردود الاستخلاص بقى متوسطا (59.12-61.24 %). تم تعيين الخصائص الفيزيائية (اللون و الشكل و حجم حبيبات النشاء) و التركيب الكيميائي (نسبة الرطوبة و النشا و الأميلوز) و الخصائص الريولوجية (الحلولية و القدرة على الانتفاخ و اللزوجة) للنشا المستخلص.

تم الكشف عن وجود خصائص فيزيائية و كيميائية مميزة لنشاء الحبوب المدروسة. إن تحليل أحجام الحبيبات أظهر توزيعا أحاديا بلغت فيه القيم العظمى للأبعاد الحبيبات (بالميكرومتر) 45 لنشاء الذرة الرفيعة و 25 للدخن؛ و هي تقترب من قيم نشاء القمح و الذرة و درنات المنيهوت (cassava). تراوحت نسبة الأميلوز بين 23.03 و 27.10 % و هي تدل على أن الحبوب المدروسة هي من الحبوب العادية. أظهرت قياسات اللزوجة أنها ذات قيم مرتفعة عند القمة و يتم بلوغها بسرعة و هذا يعود إلى ارتفاع درجة حرارة نضج هذه الحبوب. أما التحليل الحراري فبين أن درجة حرارة تهلم النشاء مرتفعة مقارنة بنشاء مصادر نباتية أخرى. بينت نتائج التحليل بإشاعات X أنها من النوع A المميز للحبوب و سمحت باستنتاج قيم درجة التبلور.

في المرحلة الثانية من أعمال البحث تمت دراسة تحويل النشاء إلى مواد ثمينة (الغلوكوز و المالتوز و الدكسترينات) بالتحلل المائي في وجود إنزيمات من الأميلاز؛ و هي من مصادر بكتيرية و فطرية و حيوانية. سمحت الدراسة الحركية للتفاعل في وجود ركازات نقيه تجارية من تعيين الظروف التجريبية التي تسمح بالكشف عن مختلف العوامل التي تؤثر على الحركة. أما الدراسة الحركية لتفاعل التحلل المائي لركازات الحبوب المدروسة فبينت تأثير المواد المصاحبة للنشاء و مكنت دراستها في ظروف تحقيق نموذج ميخائيل و منتن من تقدير الثوابت الحركية ( $K_M, V_{max}$ ).

كلمات مفتاحيه : الذرة الرفيعة ، الدخن، النشاء، صحراء الجزائر، الخصائص الفيزيائية و الكيميائية، الخصائص الوظيفية، التحلل المائي الإنزيمي، ألفأميلاز.

## RÉSUMÉ

Les amidons de sorgho (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) et de mil chandelle (*Pennisetum glaucum* (L.)) cultivées dans la région du Tidikelt (In Salah) et de l'Ahaggar (Tamanrasset) ont fait l'objet d'une étude de caractérisation physicochimique et fonctionnelle ainsi que d'une valorisation par modification enzymatique. L'approche suivie a consisté à isoler l'amidon, le caractériser et étudier sa modification par hydrolyse enzymatique

Les amidons présents avec un taux de 63,12 à 66,80 %, ont été isolés selon la méthode alcaline. La pureté des amidons obtenus est satisfaisante (91,94-96,74 %), cependant les rendements d'extraction restent moyens (59,12-61,24%). Les propriétés physiques (la couleur, la forme et la taille des granules), la composition chimique (teneur en humidité, amidon et amylose) et les propriétés fonctionnelles (solubilité, pouvoir de gonflement et viscosité) des amidons isolés ont été déterminées.

Des résultats importants ont été obtenus mettant en évidence des propriétés physicochimiques spécifiques de ces amidons. En effet, Les valeurs maximales de la taille des granules ont atteint 45  $\mu\text{m}$  pour le sorgho et 25  $\mu\text{m}$  pour le mil. Ces valeurs sont plus élevées que celle des amidons de cultivars d'autres régions. La taille est voisine de celle des amidons de blé, de maïs et de manioc. La teneur d'amylose comprise entre 23,03 et 27,10 % a révélé que les céréales analysées sont des variétés normales. L'analyse de la viscosité a montré une viscosité au pic très importante atteinte rapidement. L'analyse calorimétrique a révélé des températures de gélatinisation élevées dues aux hautes températures de croissance. Les diffractogrammes aux rayons X présentent le type caractéristique des céréales et ont permis de déduire les degrés de cristallinité.

Les essais d'hydrolyse enzymatique des substrats d'amidon purs commerciaux ont permis de déterminer les conditions expérimentales adéquates pour étudier les cinétiques d'hydrolyse. Les études cinétiques d'hydrolyse des amidons isolés ont montré que les substrats présentent une susceptibilité à l'hydrolyse en présence des amylases, d'origine fongique, bactérienne ou humaine. Cependant cette susceptibilité diffère selon le prétraitement préconisé pour la mouture intégrale et selon le type d'enzyme. Les conditions expérimentales, permettant aux réactions d'hydrolyse enzymatique des amidons isolés d'obéir au modèle de Michaëlis-Menten ont été déterminées et ont permis de calculer les valeurs des constantes cinétiques ( $K_M$  et  $V_{\text{max}}$ ).

**Mots-clés :** Sorgho, Mil chandelle, Amidon, Sahara d'Algérie, Propriétés physicochimiques, Propriétés fonctionnelles, Hydrolyse enzymatique,  $\alpha$ -amylases.

## ABSTRACT

Starches of sorghum (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) and pearl millet (*Pennisetum glaucum* (L.)) cultivated in Tidikelt and Tamanrasset, regions of Algerian Sahara, were the subject of valorization study. The approach consists of the isolation of starches, the determination of physico-chemical and functional characteristics and the study of enzymatic hydrolysis modification.

The starches present with a rates from 63.12 to 66.80 %, were isolated according to the alkaline method. The purity of the starches obtained is satisfactory (91.4-96.74 %), however the extraction yield remains medium (59.12-61.24 %). The physical properties (color, shape and size of the granules), chemical composition (moisture, starch and amylose) and rheological properties (solubility, swelling power and viscosity) of the isolated starches were determined.

Important results were obtained highlighting interesting functional properties of these starches. Indeed, the maximal values of granule size have reached 45  $\mu\text{m}$  for sorghum and 25  $\mu\text{m}$  for pearl millet. These values are higher than those of other regions cultivars. The size is close to that of the of wheat, corn, and cassava starches. The amylose content ranging between 23.03 and 27.10 % revealed that the analyzed cereals are normal varieties. The analysis of viscosity showed a very high peak viscosity reached quickly t. The DSC analysis has revealed higher gelatinization temperatures. It is attributing to high maturity temperatures. The X-rays diffraction patterns present the type A characteristic of cereals and it allowed deducting the relative degrees cristallinity.

The enzymatic hydrolysis essays of pure and commercial starch substrates made it possible to determine the adequate experimental conditions for studying the hydrolysis kinetics.

The hydrolysis kinetic studies of sorghum and pearl millet starches showed that the substrates present susceptibility for hydrolysis in presence of fungal, bacterial and human amylases. However, this susceptibility differs according to treatment used with integral grinding (flour) and to enzyme source.

The experimental conditions allowing reactions of enzymatic hydrolysis of isolated starches to follow the Michaëlis-Menten model are determined and conduced to calculate the Kinetic constants ( $K_M$  and  $V_{\text{max}}$ )

**Keywords :** Sorghum, Pearl millet, Starch, Sahara of Algeria, Physicochemical properties, Functional properties, Enzymatic hydrolysis,  $\alpha$ -amylases.

## LISTE DES FIGURES

	Page
Figure 1.1 : Schéma d'une section longitudinale d'un grain de céréale.....	9
Figure 2.1 : Schéma de la structure d'un granule d'amidon .....	25
Figure 3.1: Schéma de dégradation de l'amidon par les différentes enzymes.....	39
Figure 3.2: Structure $(\beta/\alpha)_8$ (A) ou TIM barrel (B) contenant le site catalytique ( <i>Kuriki et Imanaka, 1999</i> ).....	40
Figure 3.3: Représentation des sites actifs et des sous-sites de l' $\alpha$ -amylase.....	41
Figure 3.4: Mécanismes catalytiques possibles de l' $\alpha$ -amylase.....	41
Figure 4.1: Image du diffractomètre aux rayons X, (Marque : Bruker AXS, Modèle : D8 Advance).....	181
Figure 4.2: Image du microscope électronique à balayage, (Marque : FEI, Modèle : XL-30).....	181
Figure 4.3: Image de l'appareil de calorimétrie différentielle à balayage, (Marque : TA Instrument, Modèle : TA2920 DSC).....	181
Figure 5.1: Sites de prospection et d'échantillonnage des cultivars de sorgho et de mil chandelle ( * : site d'échantillonnage).....	182
Figure 5.2: Sorgho blanc local long de Tidikelt.....	73
Figure 5.3: Sorgho pigmenté local court de Tidikelt.....	73
Figure 5.4: Sorgho introduit à la région de Tidikelt.....	73
Figure 5.5: Sorgho à épi blanc courbé.....	74
Figure 5.6: Sorgho à épi blanc vertical plumé.....	74
Figure 5.7: Sorgho local rouge d'Ahaggar.....	74
Figure 5.8: Epis à soies courtes du mil local de la région de Tidikelt.....	76
Figure 5.9: Epis à soies longues du mil local de la région de Tidikelt.....	76
Figure 5.10: Mil chandelle introduit à Tidikelt de la région d'Essoudane.....	76
Figure 5.11: Mil local d'Ahaggar récolté.....	77
Figure 5.12: Epis de mil local d'Ahaggar.....	77
Figure 5.13: Champs de mil introduit de Tidikelt et cultivé à Ahaggar.....	78
Figure 5.14: Epis de mil introduit de Tidikelt et cultivé à Ahaggar.....	78
Figure 5.15: Mil introduit de Tidikelt avec des épis couverts de soies longues.....	78
Figure 5.16: Mil chandelle introduit des régions d'Essoudane à épis long.....	79
Figure 5.17: photographies des grains de sorgho des différents cultivars sélectionnés.....	183
Figure 5.18: photographies des grains de mil chandelle des différents cultivars sélectionnés.....	184
Figure 5.19: photographies de grains entiers et des coupes longitudinales et transversale de quelques cultivars de sorgho.....	82
Figure 5.20: photographies des grains entiers des coupes longitudinales et transversale de quelques cultivars de mil chandelle.....	83
Figure 6.1 : Diffractogramme des rayons X de l'amidon de sorgho blanc.....	102
Figure 6.2 : Diffractogramme des rayons X de l'amidon de sorgho pigmenté.....	103
Figure 6.3 : Diffractogramme des rayons X de l'amidon de mil chandelle de Tidikelt.....	103
Figure 6.4 : Diffractogramme des rayons X de l'amidon de mil chandelle d'Agadez.....	104

Figure 6.5 : Image des granules d'amidon de cultivars de sorgho blanc (G 40x).....	105
Figure 6.6 : Image des granules d'amidon de cultivars de sorgho pigmenté (G 40x).....	105
Figure 6.7 : Image des granules d'amidon de cultivars de mil local (G 40x).....	106
Figure 6.8 : Image des granules d'amidon de cultivars de mil d'Agadez (G 40x).....	106
Figure 6.9 : Fréquence des granules d'amidon de sorgho blanc local (ASBI04) en fonction des classes de granulométrie.....	107
Figure 6.10 : Fréquence des granules d'amidon de sorgho pigmenté local (ASPI04) en fonction des classes de granulométrie.....	107
Figure 6.11 : Fréquence des granules d'amidon de mil chandelle local (AMI04) en fonction des classes de granulométrie.....	108
Figure 6.12 : Fréquence des granules d'amidon de mil chandelle d'Agadez (AMN04) en fonction des classes de granulométrie.....	108
Figure 6.13 : Image des granules d'amidon de sorgho blanc colorés à l'iode (G 40x).....	109
Figure 6.14 : Image des granules d'amidon de sorgho pigmenté colorés à l'iode (G 40x).....	109
Figure 6.15 : Image des granules d'amidon mil chandelle local colorés à l'iode (G 40x).....	109
Figure 6.16 : Image des granules d'amidon mil d'Agadez colorés à l'iode (G 40x).....	109
Figure 6.17 : Image des granules d'amidon de sorgho blanc sous lumière polarisée (G 40x).....	110
Figure 6.18 : Image des granules d'amidon de sorgho pigmenté sous lumière polarisée (G 40x).....	110
Figure 6.19 : Image des granules d'amidon de Mil local sous lumière polarisée (G 40x).....	111
Figure 6.20 : Image des granules d'amidon mil d'Agadez sous lumière polarisée (G 40x).....	111
Figure 6.21 : Micrographie de granules d'amidon de sorgho blanc (G 300x).....	112
Figure 6.22 : Micrographie de granules d'amidon de sorgho pigmenté (G 300x).....	112
Figure 6.23 : Micrographie de granules d'amidon de mil local (G 300x).....	112
Figure 6.24 : Micrographie de granules d'amidon de mil importé d'Agadez (G 300x).....	112
Figure 6.25 : Micrographie de granules d'amidon de sorgho blanc (G 4800x).....	112
Figure 6.26 : Micrographie de granules d'amidon de sorgho pigmenté (G 2400x).....	112
Figure 6.27 : Micrographie de granules d'amidon de mil local (G 4800x).....	113
Figure 6.28 : Micrographie de granules d'amidon de mil d'Agadez (G 4800x).....	113
Figure 6.29 : Distribution de la taille des granules d'amidon pur de sorgho blanc.....	114
Figure 6.30 Distribution de la taille des granules d'amidon de sorgho pigmenté isolés selon la méthode A et la méthode B.....	115
Figure 6.31: Distribution de la taille des granules d'amidon de mil local.....	115
Figure 6.32: Distribution de la taille des granules d'amidon de mil d'Agadez.....	115
Figure 6.33: Distribution granulométrique des différents amidons de sorgho et de mil.....	116
Figure 6.34: Viscosité des moutures intégrales de graines des cultivars de sorgho et de mil chandelle en présence d'eau.....	120
Figure 6.35: Viscosités des amidons purs des cultivars de sorgho et de mil chandelle en présence d'eau.....	122
Figure 6.36: Pouvoir de gonflement des amidons purs des cultivars de sorgho et de mil chandelle.....	125

Figure 6.37: Indice de solubilité des amidons purs des cultivars de sorgho et de mil chandelle.....	125
Figure 6.38: Thermogrammes des amidons purs des cultivars locaux de sorgho blanc et pigmenté.....	126
Figure 6.39: Thermogrammes des amidons purs des cultivars de mil chandelle local et importé d'Agadez.....	127
Figure 6.40: Viscosité de la mouture intégrale de sorgho blanc en présence d'eau et d'AgNO <sub>3</sub> .....	129
Figure 6.41: Viscosité de la mouture intégrale de sorgho pigmenté en présence d'eau et d'AgNO <sub>3</sub> .....	130
Figure 6.42: Viscosité de la mouture intégrale de mil chandelle local en présence d'eau et d'AgNO <sub>3</sub> .....	130
Figure 6.43 : Viscosité de l'amidon pur de sorgho blanc en présence d'eau et d'AgNO <sub>3</sub> .....	131
Figure 6.44: Viscosité de l'amidon pur de mil local en présence d'eau et d'AgNO <sub>3</sub> .....	131
Figure 7.1: Variation de la concentration en maltose équivalent en fonction de la concentration initiale de l' $\alpha$ -amylase fongique (E <sub>1</sub> ).....	185
Figure 7.2: Variation de la concentration en maltose équivalent en fonction de la concentration initiale de l' $\alpha$ -amylase bactérienne (E <sub>2</sub> ).....	185
Figure 7.3 : Variation de la concentration en maltose équivalent en fonction de la concentration initiale de la Takadiastase (E <sub>3</sub> ).....	185
Figure 7.4: Variation de la concentration en maltose équivalent en fonction de la concentration initiale de l' $\alpha$ -amylase salivaire (E <sub>4</sub> ).....	186
Figure 7.5: Variation de la concentration en maltose équivalent en fonction de la concentration initiale de l'amyloglucosidase (E <sub>5</sub> ).....	186
Figure 7.6: Courbe cinétique de saccharification enzymatique des amidons purs commerciaux en présence de l' $\alpha$ -amylase fongique (E <sub>1</sub> ).....	145
Figure 7.7: Représentation de la transformée de Lineweaver-Burk pour les réactions de saccharification enzymatique des amidons purs commerciaux en présence de l' $\alpha$ -amylase fongique (E <sub>1</sub> ).....	145
Figure 7.8: Représentation de la transformée de Eadie-Hofstee pour les réactions de saccharification enzymatique des amidons purs commerciaux en présence de l' $\alpha$ -amylase fongique (E <sub>1</sub> ).....	146
Figure 7.9 : Courbe cinétique de saccharification enzymatique des amidons purs commerciaux en présence de l' $\alpha$ -amylase bactérienne (E <sub>2</sub> ).....	187
Figure7.10: Représentation de la transformée de Lineweaver-Burk pour les réactions de saccharification enzymatique des amidons purs commerciaux en présence de l' $\alpha$ -amylase bactérienne (E <sub>2</sub> ).....	187
Figure 7.11: Représentation de la transformée de Eadie-Hofstee pour les réactions de saccharification enzymatique des amidons purs commerciaux en présence de l' $\alpha$ -amylase bactérienne(E <sub>2</sub> ).....	187
Figure 7.12: Courbe cinétique de saccharification enzymatique des amidons purs commerciaux en présence de l'amyloglucosidase (E <sub>5</sub> ).....	188
Figure 7.13: Représentation de la transformée de Lineweaver-Burk pour les réactions de saccharification enzymatique des amidons purs commerciaux en présence de l'amyloglucosidase (E <sub>5</sub> ).....	188

Figure 7.14: Représentation de la transformée de Eadie-Hofstee pour les réactions de saccharification enzymatique des amidons purs commerciaux en présence de l'amyloglucosidase (E <sub>5</sub> ).....	188
Figure 7.15: Courbe cinétique de saccharification enzymatique des amidons purs commerciaux en présence de l'α-amylase Termamyl L300 (E <sub>7</sub> ).....	189
Figure 7.16: Représentation de la transformée de Lineweaver-Burk pour les réactions de saccharification enzymatique des amidons purs commerciaux en présence de l'α-amylase Termamyl L300 (E <sub>7</sub> ).....	189
Figure 7.17: Représentation de la transformée de Eadie-Hofstee pour les réactions de saccharification enzymatique des amidons purs commerciaux en présence de l'α-amylase Termamyl L300 (E <sub>7</sub> ).....	189
Figure 7.18: Courbes cinétiques de saccharification enzymatique des amidons des différents cultivars de sorgho en présence de l'α-amylase fongique (E <sub>1</sub> ).....	150
Figure 7.19: Représentation de la transformée de Lineweaver-Burk pour les réactions de saccharification enzymatique des amidons des différents cultivars de sorgho en présence de l'α-amylase fongique (E <sub>1</sub> ).....	150
Figure 7.20: Représentation de la transformée de Eadie-Hofstee pour les réactions de saccharification enzymatique des amidons des différents cultivars de sorgho en présence de l'α-amylase fongique (E <sub>1</sub> ).....	150
Figure 7.21: Courbes cinétiques de saccharification enzymatique des amidons des différents cultivars de sorgho en présence de l'α-amylase bactérienne (E <sub>2</sub> ).....	190
Figure 7.22: Représentation de la transformée de Lineweaver-Burk pour les réactions de saccharification enzymatique des amidons des différents cultivars de sorgho en présence de l'α-amylase bactérienne (E <sub>2</sub> ).....	190
Figure 7.23: Représentation de la transformée de Eadie-Hofstee pour les réactions de saccharification enzymatique des amidons des différents cultivars de sorgho en présence de l'α-amylase bactérienne (E <sub>2</sub> ).....	190
Figure 7.24: Courbes cinétiques de saccharification enzymatique des amidons des différents cultivars de sorgho en présence de l'amyloglucosidase (E <sub>5</sub> ).....	191
Figure 7.25: Représentation de la transformée de Lineweaver-Burk pour les réactions de saccharification enzymatique des amidons des différents cultivars de sorgho en présence de l'amyloglucosidase (E <sub>5</sub> ).....	191
Figure 7.26: Représentation de la transformée de Eadie-Hofstee pour les amidons de sorgho en présence de l'amyloglucosidase (E <sub>5</sub> ).....	191
Figure 7.27: Courbes cinétiques de saccharification des amidons des différents cultivars de sorgho en présence de l'α-amylase Termamyl L300 (E <sub>7</sub> ).....	192
Figure 7.28 : Représentation de la transformée de Lineweaver-Burk pour les réactions de saccharification enzymatique des amidons des différents cultivars de sorgho en présence de l'α-amylase Termamyl L300 (E <sub>7</sub> ).....	192
Figure 7.29: Représentation de la transformée de Eadie-Hofstee pour les réactions de saccharification enzymatique des amidons des différents cultivars de sorgho en présence de l'α-amylase Termamyl L300 (E <sub>7</sub> ).....	192
Figure 7.30: Courbes cinétiques de saccharification enzymatique des amidons des différents cultivars de mil chandelle en présence de l'α-amylase fongique (E <sub>1</sub> ).....	153

Figure 7.31: Représentation de la transformée de Lineweaver-Burk pour les réactions de saccharification enzymatique des amidons des différents cultivars de mil chandelle en présence de l' $\alpha$ -amylase fongique ( $E_1$ ).....	154
Figure 7.32: Représentation de la transformée de Eadie-Hofstee pour les réactions de saccharification enzymatique des amidons des différents cultivars de mil chandelle en présence de l' $\alpha$ -amylase fongique ( $E_1$ ).....	154
Figure 7.33: Courbes cinétiques de saccharification enzymatique des amidons des différents cultivars de mil chandelle en présence de l' $\alpha$ -amylase bactérienne ( $E_2$ ).....	193
Figure 7.34: Représentation de la transformée de Lineweaver-Burk pour les réactions de saccharification enzymatique des amidons des différents cultivars de mil chandelle en présence de l' $\alpha$ -amylase bactérienne ( $E_2$ ).....	193
Figure 7.35: Représentation de la transformée de Eadie-Hofstee pour les réactions de saccharification enzymatique des amidons des différents cultivars de mil chandelle en présence de l' $\alpha$ -amylase bactérienne ( $E_2$ ).....	193
Figure 7.36 : Courbes cinétiques de saccharification enzymatique des amidons des différents cultivars de mil chandelle en présence de l'amyloglucosidase ( $E_5$ ).....	194
Figure 7.37 : Représentation de la transformée de Lineweaver-Burk pour les réactions de saccharification enzymatique des amidons des différents cultivars de mil chandelle en présence de l'amyloglucosidase ( $E_5$ ).....	194
Figure 7.38: Représentation de la transformée de Eadie-Hofstee pour les réactions de saccharification enzymatique des amidons des différents cultivars de mil chandelle en présence de l'amyloglucosidase ( $E_5$ ).....	194
Figure 7.39: Courbes cinétiques de saccharification enzymatique des amidons des différents cultivars de mil chandelle en présence de l' $\alpha$ -amylase Termamyl L300 ( $E_7$ ).....	195
Figure 7.40: Représentation de la transformée de Lineweaver-Burk pour les réactions de saccharification enzymatique des amidons des différents cultivars de mil chandelle en présence de l' $\alpha$ -amylase Termamyl ( $E_7$ ).....	195
Figure 7.41: Représentation de la transformée de Eadie-Hofstee pour les réactions de saccharification enzymatique des amidons des différents cultivars de mil chandelle en présence de l' $\alpha$ -amylase Termamyl ( $E_7$ ).....	195
Figure 7.42: Evolution de la concentration en maltose équivalent en fonction du temps cours de la saccharification enzymatique de l'amidon de sorgho blanc (ASBI06) en présence de l' $\alpha$ -amylase Termamyl L300 à différentes températures d'hydrolyse .....	196
Figure 7.43: Evolution de la concentration en maltose équivalent en fonction du temps cours de la saccharification enzymatique de l'amidon de sorgho pigmenté (ASPI06) en présence de l' $\alpha$ -amylase Termamyl L300 à différentes températures d'hydrolyse .....	196
Figure 7.44: Evolution de la concentration en maltose équivalent en fonction du temps cours de la saccharification enzymatique de l'amidon de sorgho pigmenté Américain (ASPG06) en présence de l' $\alpha$ -amylase Termamyl L300 à différentes températures d'hydrolyse.....	196
Figure 7.45: Evolution de la concentration en maltose équivalent en fonction du temps cours de la saccharification enzymatique de l'amidon de mil chandelle Ouani (AMGI06) en présence de l' $\alpha$ -amylase Termamyl L300 à différentes températures d'hydrolyse.....	197
Figure 7.46: Evolution de la concentration en maltose équivalent en fonction du temps cours de la saccharification enzymatique de l'amidon de mil chandelle Jafo (AMJI06) en présence de l' $\alpha$ -amylase Termamyl L300 à différentes températures d'hydrolyse.....	197

Figure 7.47: Evolution de la concentration en maltose équivalent en fonction du temps cours de la saccharification enzymatique de l'amidon de mil chandelle (AMT06) en présence de l' $\alpha$ -amylase Termamyl L300 à différentes températures d'hydrolyse.....	197
Figure 7.48 : Représentation graphique des constantes $K_M$ en fonction des amylases de différentes sources dans le cas de l'exoaction sur les amidons purs de sorgho.....	162
Figure 7.49 : Représentation graphique des constantes de $K_{cat}/K_M$ en fonction des amylases de différentes sources dans le cas de l'exoaction sur les amidons purs de sorgho.....	162
Figure 7.50 : Représentation graphique des constantes $K_M$ en fonction des amylases de différentes sources dans le cas de l'exoaction sur les amidons purs de mil chandelle.....	162
Figure 7.51 : Représentation graphique des constantes de $K_{cat}/K_M$ en fonction des amylases de différentes sources dans le cas de l'exoaction sur les amidons purs de mil chandelle.....	162
Figure 7.52: Représentation des vitesses initiales de saccharification enzymatique des amidons de sorgho par l' $\alpha$ -amylase Termamyl L300 en fonction de la température d'hydrolyse.....	164
Figure 7.53: Représentation des vitesses initiales de saccharification enzymatique des amidons de mil chandelle par l' $\alpha$ -amylase Termamyl L300 en fonction de la température d'hydrolyse.....	164

## LISTE DES TABLEAUX

	Page
Tableau 1.1 Contenu en éléments nutritifs de la graine entière et de ses fractions .....	12
Tableau 1.2: Composition chimique de génotypes de sorgho et de mil chandelle.....	13
Tableau 1.3: Distribution des fractions protéiques dans les grains de sorgho et de mil (en % des protéines totales).....	14
Tableau 1.4: Composition en acides aminés essentiels (mg/g d'azote).....	15
Tableau 1.5: Superficie cultivée, rendement et production de céréales en Afrique (2001)...	20
Tableau 1.6: Production et utilisation du sorgho dans le monde (10 <sup>3</sup> tonnes).....	21
Tableau 1.7: Utilisation et consommation du mil dans le monde (10 <sup>3</sup> tonnes).....	22
Tableau 2.1: Conditions opératoires de trempage de quelques cultivars .....	27
Tableau 3.1: Régions des acides aminés formant le site catalytique.....	40
Tableau 4.1: Classes des cultivars selon la proportion de la zone farineuse ZF de l'endosperme.....	45
Tableau 4.2: Prétraitements des moutures intégrales de sorgho et de mil chandelle.....	60
Tableau 4.3: Source, fournisseur et solubilité des amidons purs testés.....	60
Tableau 4.4: Source, fournisseur et activité des enzymes étudiées.....	61
Tableau 5.1: Valeurs moyennes mensuelles des températures minimales et maximales (en °C) relevés à la station d'In Salah au cours de la période 2000-2006.....	68
Tableau 5.2: Valeurs moyennes des cumuls mensuels des précipitations (en mm) relevés à la station d'In Salah au cours de la période 2000-2006.....	68
Tableau 5.3: Valeurs moyennes mensuelles des températures minimales et maximales (en °C) relevés à la station de Tamanrasset au cours de la période 2000-2006.....	69
Tableau 5.4: Valeurs moyennes des cumuls mensuels des précipitations (en mm) relevés à la station de Tamanrasset au cours de la période 2000-2006.....	69
Tableau 5.5: Nom scientifique et commun des groupes inventoriés de sorgho et mil.....	72
Tableau 5.6: Caractéristiques morphologiques des sorghos de Tidikelt et d'Ahaggar.....	75
Tableau 5.7: Caractéristiques morphologiques des cultivars de mils chandelle de Tidikelt et d'Ahaggar.....	80
Tableau 5.8: Caractéristiques agronomiques des cultivars de mil chandelle de Tidikelt et d'Ahaggar.....	80
Tableau 5.9: Caractéristiques structurelles des grains de sorgho et de mil analysées.....	82
Tableau 5.10: Dimension des grains de cultivars de sorgho et de mil.....	86
Tableau 5.11: Valeurs moyennes du diamètre géométrique $G_{md}$ , de la sphéricité $\emptyset$ , de la superficie S et du volume V des grains de cultivars de sorgho et de mil chandelle.....	87
Tableau 5.12: pourcentage de grains dans les différentes classes.....	88
Tableau 5.13: Composition chimique des grains de sorgho et de mil chandelle.....	93
Tableau 6.1: Rendement d'extraction des amidons de sorgho et de mil et pureté des extraits.....	94

Tableau 6.2: Taux de matière sèche (%) dans les différentes fractions résiduelles obtenues lors des étapes d'isolement d'amidon.....	96
Tableau 6.3 : Taux d'amidon dans les différentes fractions résiduelles des étapes d'isolement.....	96
Tableau 6.4: Pureté et rendement d'isolement des amidons .....	97
Tableau 6.5: Teneurs en amidon et composés résiduels des extraits.....	97
Tableau 6.6: Teneurs en amylose et amylopectine dans les amidons de sorgho et de mil....	98
Tableau 6.7: Degré d'endommagement de l'amidon selon la valeur du taux d'endommagement d'amidon .....	100
Tableau 6.8: Taux d'endommagement de l'amidon dans les moutures de sorgho et de mil ....	100
Tableau 6.9: Activité de l'eau $a_w$ des différents amidons isolés.....	101
Tableau 6.10: Indice de cristallinité (IC) des différents amidons isolés.....	101
Tableau 6.11: Valeurs minimales et maximales de la taille des granules d'amidons purs des cultivars de sorgho et de mil chandelle.....	116
Tableau 6.12: Valeurs caractéristiques de la granulométrie (en micromètre) des amidons purs de cultivars de sorgho et de mil chandelle.....	116
Tableau 6.13: Paramètres de couleur des amidons purs des cultivars de sorgho et de mil chandelle.....	118
Tableau 6.14: Caractéristiques de viscosité des moutures intégrales des cultivars de sorgho et de mil chandelle dans l'eau.....	121
Tableau 6.15: Caractéristiques de viscosité des amidons de cultivars de sorgho et de mil dans l'eau.....	122
Tableau 6.16: Résultats publiés sur les caractéristiques de viscosité des amidons.....	123
Tableau 6.17: Caractéristiques thermiques des amidons de sorgho et de mil chandelle.....	127
Tableau 6.18: Caractéristiques de viscosité des moutures intégrales des cultivars locaux de sorgho et de mil chandelle en présence d'eau et de $AgNO_3$ .....	131
Tableau 6.19: Caractéristiques de viscosité des amidons purs de cultivars locaux des sorgho et de mil chandelle en présence d'eau et de $AgNO_3$ .....	132
Tableau 7.1: Valeurs des concentrations de l'enzyme $E_1$ ( $\alpha$ -amylase fongique), des rendements et des vitesses initiales de liquéfaction enzymatique des amidons purs commerciaux.....	135
Tableau 7.2: Valeurs des concentrations de l'enzyme $E_2$ ( $\alpha$ -amylase bactérienne), des rendements et des vitesses initiales de liquéfaction enzymatique des amidons purs commerciaux.....	135
Tableau 7.3: Valeurs des concentrations de l'enzyme $E_3$ (Takadiastase), des rendements et des vitesses initiales de liquéfaction enzymatique des amidons purs commerciaux.....	135
Tableau 7.4: Valeurs des concentrations de l'enzyme $E_4$ ( $\alpha$ -amylase salivaire), des rendements et des vitesses initiales de liquéfaction enzymatique des amidons purs commerciaux.....	136

Tableau 7.5: Valeurs des concentrations de l'enzyme E <sub>5</sub> (Amyloglucosidase), des rendements et des vitesses initiales de liquéfaction enzymatique des amidons purs commerciaux.....	136
Tableau 7.6: Valeurs des concentrations de l'enzyme E <sub>6</sub> ( $\alpha$ -amylase thermostable), des rendements et des vitesses initiales de liquéfaction enzymatique des amidons purs commerciaux.....	136
Tableau 7.7: Valeurs des concentrations de l'enzyme E <sub>7</sub> ( $\alpha$ -amylase Termamyl L300), des rendements et des vitesses initiales de liquéfaction enzymatique des amidons purs commerciaux.....	136
Tableau 7.8: Domaines de concentration des enzymes mettant en évidence l'exoaction des différentes $\alpha$ -amylases sur les amidons purs commerciaux.....	138
Tableau 7.9: Concentration des amylases de différentes sources utilisées dans les réactions de liquéfaction des amidons isolés et non isolés.....	140
Tableau 7.10: Rendements de liquéfaction enzymatique des substrats de sorgho et mil chandelle par les différentes amylases.....	141
Tableau 7.11: Vitesses initiales de liquéfaction enzymatique des substrats de sorgho et de mil chandelle par les différentes amylases.....	141
Tableau 7.12 : Concentration d' $\alpha$ -amylases de différentes sources utilisées dans les réactions de saccharification des amidons isolés et non isolés.....	142
Tableau 7.13: Vitesses initiales de saccharification enzymatique des substrats de sorgho et de mil chandelle par les amylases de différentes sources.....	142
Tableau 7.14 : Valeurs des constantes de vitesse K <sub>M</sub> et des vitesses maximales V <sub>max</sub> de l'exoaction des différentes $\alpha$ -amylases sur les amidons purs commerciaux.....	147
Tableau 7.15 : Valeurs des constantes catalytiques K <sub>cat</sub> , et des constantes de spécificité K <sub>cat</sub> /K <sub>M</sub> de l'exoaction des différentes $\alpha$ -amylases sur des amidons purs commerciaux....	148
Tableau 7.16 : Valeurs des constantes de vitesse K <sub>M</sub> et des vitesses maximales V <sub>max</sub> de l'exoaction des différentes $\alpha$ -amylases sur les amidons purs de sorgho.....	151
Tableau 7.17 : Valeurs des constantes catalytiques K <sub>cat</sub> , et des constantes de spécificité K <sub>cat</sub> /K <sub>M</sub> de l'exoaction des différentes $\alpha$ -amylases sur les amidons purs de sorgho.....	152
Tableau 7.18 : Valeurs des constantes de vitesse K <sub>M</sub> et des vitesses maximales V <sub>max</sub> de l'exoaction des différentes $\alpha$ -amylases sur les amidons purs de mil chandelle.....	155
Tableau 7.19 : Valeurs des constantes catalytiques K <sub>cat</sub> , et des constantes de spécificité K <sub>cat</sub> /K <sub>M</sub> de l'exoaction des différentes $\alpha$ -amylases sur les amidons purs de mil chandelle...	156
Tableau 7.20 : Classification des réactions de l'exoaction des amylases sur les amidons de différentes origines botaniques selon le modèle de leur cinétique.....	157
Tableau 7.21 : Paramètres cinétiques de l'exoaction de l' $\alpha$ -amylase fongique (E <sub>1</sub> ) sur les amidons de différentes origines botaniques.....	159
Tableau 7.22 : Paramètres cinétiques de l'exoaction de l' $\alpha$ -amylase bactérienne (E <sub>2</sub> ) sur les amidons de différentes origines botaniques.....	159
Tableau 7.23 : Paramètres cinétiques de l'exoaction de l'amyloglucosidase (E <sub>5</sub> ) sur les amidons de différentes origines botaniques.....	160
Tableau 7.24 : Paramètres cinétiques de l'exoaction de l' $\alpha$ -amylase Termamyl L300 (E <sub>7</sub> ) sur les amidons de différentes origines botaniques.....	161

## LISTE DES ABRÉVIATIONS

Dési.	Désignation
Conc.	concentration
SBI03 :	cultivar de sorgho blanc d'In Salah récolté en 2003
SBI04 :	cultivar de sorgho blanc d'In Salah récolté en 2004
SPI04 :	cultivar de sorgho pigmenté d'In Salah récolté en 2003
SBI06:	cultivar de sorgho blanc d'In Salah récolté en 2006
SPI06:	cultivar de sorgho pigmenté d'In Salah récolté en 2006
SPG06:	cultivar de sorgho pigmenté Américain commercialisé à Ghardaïa en 2006
MI02:	cultivar de mil chandelle d'In Salah récolté en 2002
MI04:	cultivar de mil chandelle d'In Salah récolté en 2004
MI05:	cultivar de mil chandelle d'In Salah récolté en 2005
MJI06:	cultivar de mil chandelle Jafo d'In Salah récolté en 2006
MGI06:	cultivar de mil Ouini d'In Salah récolté en 2006
MT06:	cultivar de mil de Tamanrasset récolté en 2002
MN04:	cultivar de mil de la région d'Agadez du Niger commercialisé à In Salah en 2004
ASBI04:	amidon de sorgho blanc d'In Salah récolté en 2004
ASPI04:	amidon de sorgho pigmenté d'In Salah récolté en 2003
ASBI06:	amidon de sorgho blanc d'In Salah récolté en 2006
ASPI06:	amidon de sorgho pigmenté d'In Salah récolté en 2006
ASPG06:	amidon de sorgho pigmenté Américain commercialisé à Ghardaïa en 2006
AMI04:	amidon de mil d'In Salah récolté en 2004
AMN04:	amidon de mil de la région d'Agadez du Niger commercialisé à In Salah en 2004
AMJI06:	amidon de mil de la nouvelle région agricole Jafo d'In Salah récolté en 2006
AMGI06:	amidon de mil de la région d'Ouini d'In Salah récolté en 2006
AMT06:	amidon de mil de Tamanrasset récolté en 2006
ASPI04-A :	amidon de sorgho pigmenté extrait selon le procédé A (sans blanchiment)
ASPI04-B :	amidon de sorgho blanc extrait selon le procédé B (avec blanchiment par NaOCl)
MSBI04 :	mouture de grains de sorgho blanc d'In Salah récolté en 2004
MSPI04:	mouture de grains de sorgho pigmenté d'In Salah récolté en 2004
MMI04:	mouture de grains de mil chandelle d'In Salah récolté en 2004
MMN04:	mouture de grains de mil chandelle du Niger récolté en 2004
IC:	indice de cristallinité
TEA	taux d'endommagement de l'amidon

- cP : centipoise, unité de mesure de viscosité correspondant au Pascal.sec
- RVU : Rapid viscoanalyser unit, unité de mesure de viscosité, avec 1RVU = 12 cP, pour les liquides Newtonien
- BU : Brabender unit, unité de mesure de la viscosité, (1BU= 2,1 cP),
- RE Rendement d'extraction ou d'isolement de l'amidon  
 $RE = 100 (m_{\text{amidon isolé}} / m_{\text{amidon contenu dans la mouture intégrale}})$
- RH Rendement d'hydrolyse  $RH = 100 (A_0 - A) / A_0$   
 $A_0$  et  $A$  : absorbance de la solution d'amidon témoin et de la solution d'amidon après hydrolyse à 656 nm

## TABLE DES MATIÈRES

	Page
AVANT-PROPOS.....	i
REMERCIEMENTS.....	ii
DÉDICACES.....	iii
RÉSUMÉS.....	iv
LISTE DES FIGURES.....	vii
LISTE DES TABLEAUX.....	x
LISTE DES ABRÉVIATIONS.....	xii
<b>INTRODUCTION.....</b>	<b>1</b>
<b>REMIÈRE PARTIE: SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE</b>	
<b>Chapitre 1 : SORGHO ET MIL CHANDELLE.....</b>	<b>4</b>
1.1 Introduction.....	4
1.2 Origine et taxonomie du sorgho et des mils.....	4
1.3 Structure des grains de sorgho et de mil chandelle.....	8
1.4 Composition chimique et valeur nutritive.....	11
1.5 Production et importance économique.....	18
1.6 Utilisation et transformation.....	20
<b>Chapitre 2 : GENERALITES SUR LES AMIDONS.....</b>	<b>23</b>
2.1 Biosynthèse et structure de l'amidon.....	23
2.2 Méthodes d'isolement des amidons.....	25
2.3 Propriétés des amidons.....	28
2.4 Hydrolyse des amidons.....	31
2.5 Valorisation des amidons.....	32
2.6 Domaines d'intérêt portés sur le sorgho et le mil chandelle et leurs amidons.....	33
<b>Chapitre 3 : MODE D'ACTION DES AMYLASES ET REACTIVITE DES AMIDONS.....</b>	<b>36</b>
3.1 Amylase.....	36
3.2 Activités des amylases.....	37
3.3 Hydrolyse enzymatique des amidons.....	38
3.4 Mode d'action des amylases.....	38
<b>DEUXIÈME PARTIE: METHODOLOGIE EXPERIMENTALE</b>	
<b>Chapitre 4 : MATERIEL ET METHODES.....</b>	<b>42</b>
4.1 Echantillonnage et préparation des échantillons.....	42
4.2 Détermination de la masse de 1000 grains.....	44
4.3 Détermination de la masse volumique.....	44
4.4 Détermination de la taille des grains.....	44
4.5 Détermination de la texture de l'endosperme des grains.....	44
4.6 Dosage de l'humidité.....	45
4.7 Dosage des cendres.....	45
4.8 Dosage de l'amidon.....	45
4.9 Dosage des sucres solubles.....	47
4.10 Dosage des protéines.....	47
4.11 Dosage des lipides totaux.....	49
4.12 Dosage des fibres insolubles.....	50
4.13 Dosage des tanins.....	51
4.14 Isolement de l'amidon à partir des grains de sorgho et de mil chandelle.....	51

4.15 Dosage de l'amylose.....	52
4.16 Détermination de l'amidon endommagé.....	53
4.17 Mesure de l'activité.....	55
4.18 Détermination de la cristallinité.....	55
4.19 Observations aux microscopes des granules d'amidons.....	55
4.20 Détermination de la distribution de la taille des granules d'amidons.....	56
4.21 Détermination de la couleur de l'amidon.....	57
4.22 Mesure de la viscosité (RVA).....	57
4.23 Détermination du pouvoir de gonflement et de l'indice de solubilité.....	58
4.24 Analyse calorimétrique différentielle à balayage DSC.....	59
4.25 Détermination des réactivités des amidons de sorgho et de mil.....	59

### **TROISIÈME PARTIE: RESULTATS ET DISCUSSION**

#### **Chapitre 5 : CARACTERISATION AGROMORPHOLOGIQUE DES PLANTES ET PHYSICOCHIMIQUE DES GRAINS.....67**

5.1 Prospection et échantillonnage.....	67
5.2 Caractérisation agromorphologique de quelques cultivars de sorgho et de mil chandelle.....	72
5.3 Propriétés structurelles des grains de sorgho et de mil chandelle.....	81
5.4 Texture de l'endosperme des grains.....	87
5.5 Composition chimique des grains de sorgho et de mil chandelle.....	89

#### **Chapitre 6 : ISOLEMENT ET PROPRIÉTÉS PHYSICOCHIMIQUES ET FONCTIONNELLES DES AMIDONS DE SORGHO ET DE MIL CHANDELLE .....94**

6.1 Isolement des amidons.....	94
6.2 Composition chimique des amidons isolés.....	97
6.3 Structure cristalline des amidons isolés.....	101
6.4 Structure et propriétés morphologiques des granules d'amidon.....	104
6.5 Couleur des granules d'amidon .....	117
6.6 Propriétés fonctionnelles des amidons isolés .....	119
6.7 Propriétés thermiques des amidons isolés .....	126
6.8 Recherche de l'activité de l' $\alpha$ -amylase endogène .....	128

#### **Chapitre 7 : ÉTUDE CINÉTIQUE DE L'HYDROLYSE ENZYMATIQUE DES AMIDONS DE SORGHO, DE MIL CHANDELLE ET D'AUTRES SOURCES BOTANIQUES .....133**

7.1 Essais d'hydrolyse d'amidon purs commerciaux et d'autres sources botaniques.....	134
7.2 Etude de l'influence de certains constituants du grains sur la cinétique de l'hydrolyse enzymatique des amidons de sorgho et de mil chandelle .....	139
7.3 Détermination des paramètres cinétiques d'hydrolyse enzymatique des amidons de sorgho, de mil chandelle et d'autres sources botaniques .....	143
7.4 Influence de la température sur la cinétique d'hydrolyse de l'amidon de sorgho et de mil chandelle par l' $\alpha$ -amylase Termamyl L300 .....	163

#### **CONCLUSION .....165**

#### **RÉFÉRENCES.....169**

#### **ANNEXES.....177**

Annexe 1 : Rappels sur la cinétique enzymatique.....	177
Annexe 2 : Appareils utilisés dans la caractérisation des amidons.....	181
Annexe 3 : Site d'échantillonnage et photographies des grains de cultivars de sorgho et de mil chandelle sélectionnés.....	182
Annexe 4 : Représentations graphiques.....	185



# INTRODUCTION

## INTRODUCTION

Le sorgho et les mils sont les céréales les plus importantes utilisées dans l'alimentation des habitants des zones tropicales, semi-arides et arides d'Asie et d'Afrique. Ils constituent les principales sources de matières amylacées, de matières protéiques, de vitamines et de sels minéraux pour les millions d'habitants parmi les plus pauvres de ces régions. Ces cultures sont généralement pratiquées dans des écosystèmes où la pluviométrie est faible vu leur tolérance à la sécheresse.

Environ 90% de superficie cultivée en sorgho, et 95% de superficie cultivée en mil se trouvent dans les pays en développement, surtout en Afrique et en Asie.

Dans le monde le sorgho, de son nom scientifique *Sorghum bicolor* (L.) Moench, se classe en cinquième rang des céréales après le blé, le riz, le maïs et l'orge. En Afrique, il se positionne en deuxième rang, après le maïs, où sa production avoisine 16 millions de tonnes, les Etats Unis étant les premiers producteurs avec 20 millions de tonnes représentant le tiers de la production mondiale (Taylor, 2003).

Le mil chandelle, *Pennisetum glaucum*, est la céréale la plus tolérante à la sécheresse (FAO, 1995).

En Afrique, le sorgho et le mil sont utilisés pour l'alimentation humaine et animale. La commercialisation de ces grains reste faible, moins que 5 % de la production sont destinés à l'industrie. Ce constat est dû essentiellement aux rendements faibles et variables vu que les cultures se font encore à l'échelle traditionnelle sans intrants (produits fertilisant et pesticides) et les prix élevés de ces grains qui ne les rendent pas compétitifs devant le maïs et le blé (Rohrbach, 2003).

Les régions sud de l'Algérie comptent un nombre appréciable de cultivars de sorgho et de mil chandelle. Ces cultivars possèdent la particularité de pousser dans des conditions de température élevée, des sols parfois très salés et des eaux d'irrigation souterraines connues aussi pour leur salinité.

L'amidon est le principal biopolymère dans les graines de ces céréales. De nombreux travaux ont montré l'influence de l'environnement du génotype et des méthodes d'isolement sur les propriétés physicochimiques et fonctionnelles des amidons des céréales (Beta et Corke, 2001 ; Matsuki et al., 2003 ; Moorthy, 2002 ; Rhymer, 2005). Ces propriétés qui sont moins étudiées en comparaison aux propriétés agronomiques et phénotypiques influencent la qualité des produits à base d'amidon et régissent par la même les applications des amidons.

Par conséquent, un intérêt grandissant est porté actuellement à l'étude de divers amidons en vue de rechercher des propriétés particulières sous la forme native ou modifiées qui pourront concurrencer les amidons disponibles sur les marchés et pouvant être destinés à des utilisations spécifiques dans les domaines alimentaire, pharmaceutique et industriel (Robyt, 1998).

La finalité visée par ce travail est la valorisation des groupes locaux de sorgho et de mil chandelle cultivés dans les régions hyperarides du Sahara d'Algérie.

L'approche adoptée a consisté à prospecter deux régions du Sahara de l'Algérie : le Tidikelt et l'Ahaggar, d'isoler les amidons des cultivars sélectionnés de sorgho et de mil, déterminer les caractéristiques physicochimiques des grains des cultivars et de leurs amidons isolés et étudier la réactivité et la susceptibilité des ces amidons à l'hydrolyse en présence de différentes amylases.

Les travaux réalisés peuvent être résumés comme suit :

- Prospection, inventaire et échantillonnage des cultivars de sorgho et de mil chandelle des régions de Tidikelt (In Salah) et d'Ahaggar (Tamanrasset), au cours de la période 2000-2006,
- Caractérisation agromorphologique des plantes des cultivars sélectionnés et détermination de certains constituants chimiques et propriétés physicochimiques des grains,
- Isolement des amidons à partir des grains des céréales,
- Détermination de certaines propriétés physicochimiques et fonctionnelles des amidons isolés,
- Essais d'hydrolyse de substrats d'amidons purs commerciaux de différentes sources botaniques, en présence d'amylases d'origine bactérienne, fongique et animale, afin de mettre en évidence les activités des enzymes choisies,
- Détermination des conditions opératoires de l'étude cinétique de l'hydrolyse enzymatique des d'amidons isolés et non isolés de sorgho et de mil chandelle,
- Etudes cinétiques de l'hydrolyse enzymatique des amidons purs de sorgho et de mil afin de déterminer la susceptibilité de ces amidons à l'hydrolyse par les amylases choisies et déterminer l'influence de certains facteurs sur la cinétique de la réaction de dépolymérisation enzymatique des amidons,

La thèse est répartie en quatre grandes parties : une synthèse bibliographique où sont reprises les informations générales sur le sorgho et les mils (origine et taxonomie, structure des grains, composition chimique, valeur nutritive, production et importance économique, utilisation et transformation), sur les amidons (biosynthèse et structure, méthodes d'isolement caractérisation physicochimique et fonctionnelle, hydrolyse, valorisation). En dernier un intérêt particulier a été porté sur les propriétés physicochimiques et fonctionnelles des amidons (gonflement, gélatinisation, gélification, rétrogradation, cristallinité et propriétés rhéologiques) de même que sur le mode d'action des amylases et la réactivité des amidons (enzymes de la famille des amylases, activité des amylases, hydrolyse enzymatique des amidons et mode d'action des amylases)

Dans la deuxième partie, un inventaire détaillé du matériel et des protocoles des méthodes utilisées dans les différentes analyses est donné. La troisième partie a comporté trois chapitres :

- La description agromorphologique des groupes cultivés de sorgho et de mil chandelle et inventoriés suivie d'une caractérisation morphologique et structurale de leurs grains,
- L'isolement des amidons et la détermination de leurs propriétés physicochimiques et fonctionnelles,
- L'étude cinétique de l'hydrolyse enzymatique des amidons isolés et non isolés par des différentes amylases.

La dernière partie fait ressortir les principaux résultats obtenus ainsi que les perspectives.

PREMIÈRE PARTIE  
SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE

## CHAPITRE 1 : SORGHO ET MIL CHANDELLE

### 1.1. Introduction

Le sorgho et les mils sont depuis des siècles d'importantes denrées alimentaires de base dans les régions tropicales, semi-arides et arides d'Asie et d'Afrique. Ils restent les principales sources d'énergie.

Le sorgho et les mils chandelle poussent dans des environnements difficiles où d'autres cultures sont impossibles à mener (BeMiller et Whistler, 2009). Ils sont cultivés par une multitude de petits agriculteurs dans de nombreux pays, avec des ressources en eau limitées et généralement sans application d'engrais ou d'autres intrants.

Comme ils sont essentiellement consommés par les groupes défavorisés, on les appelle souvent «céréales secondaires» ou «cultures du pauvre». En général, ils ne sont pas commercialisés à l'échelle internationale ni même sur les marchés locaux de nombreux pays. Ce qui fait que les agriculteurs ont rarement des débouchés assurés en cas de production excédentaire. Le sorgho et les mils restent les principales sources d'énergie, de protéines, de vitamines et de sels minéraux pour des millions d'habitants parmi les plus pauvres de ces régions.

Ces céréales sont généralement cultivées pour les grains, utilisés en alimentation humaine et animale, et également pour la paille utilisée comme fourrage.

### 1.2. Origine et taxonomie du sorgho et des mils

Le sorgho cultivé appartient à une seule espèce (*sorghum bicolor (L.) Moench*), alors qu'il existe de nombreuses espèces pour le mil.

#### 1.2.1 Le sorgho

Le sorgho, *Sorghum bicolor (L.) Moench*, est connu sous divers noms: grand mil et herbe de Guinée en Afrique de l'Ouest, Kafir en Afrique du Sud, Durra au Soudan, Mtama en Afrique orientale, Jowar en Inde et Kaoliang en Chine. Aux Etats Unis, il est généralement appelé Milo ou Milo-mais (FAO<sup>1</sup>, 1995). En Algérie, le nom de Tafsout est utilisé à Tidikelt, abora (sorgho blanc) et talak (sorgho pigmenté) dans la région d'Ahaggar. Le sorgho cultivé aujourd'hui provient de son ancêtre sauvage appartenant à la sous-espèce *verticilliflorum*.

---

<sup>1</sup> FAO : Food and agricultural organization of the united nations (Organisation des nations unies pour l'alimentation et l'agriculture)

En effet, De Wet a montré que le *Sorghum verticilliflorum* est le premier à être domestiqué il y a 3000 à 5000 ans (House, 1995)

La plus grande variation dans le genre *Sorghum* est observée dans la région comprenant l'Ethiopie, le Soudan et l'Afrique orientale du quart nord-est de l'Afrique (FAO, 1995). Il apparaît que le sorgho est arrivé d'Ethiopie en Afrique orientale aux environs de 200 ans après J.-C. ou même avant (FAO, 1995).

La couleur du grain de sorgho varie de blanc ou jaune pâle à brun-rouge profond, en passant par différentes tonalités de rouge et de brun. La forme du caryopse varie selon la variété, elle est arrondi et présente une pointe; il a de 4 à 8 mm de diamètre et varie en dimension et en forme. Le grain de sorgho qui possède un testa contient du tanin en proportions diverses selon la variété (FAO, 1995).

Le sorgho appartient à la tribu Andropogonae de la famille des graminées Poaceae. Le genre *Sorghum* est caractérisé par des épillets ou spicules portés par paires. Il est traité comme une plante annuelle bien qu'il s'agisse d'une plante pérenne. Dans les tropiques, il peut être récolté plusieurs fois par an.

#### ❖ Classification des espèces cultivées de sorgho

Les espèces cultivées appartiennent à la série Saliva de Snowden. Ce dernier les a répartis en six groupes principaux selon leurs inflorescences et leurs épillets.

- *Drummondii* : épillets sessiles fermés par les glumes à maturité, grains inclus.
- *Guineese* : épillets sessiles ouverts à maturité, grains plus ou moins visibles.
- *Nervosum* : glumes des épillets sessiles (au moins la glume inférieure) peu coriace et à nervures nettement marquées.
- *Dochma* : panicule généralement lâche.
- *Durra* : épillets sessiles largement obovales elliptiques, glumes inférieures avec des extrémités verdâtres striées de nervures.
- *Caffrorum* : épillets sessiles faiblement obovales elliptiques, parfois obovales-oblongs (au moins en fruits), glumes inférieures à nervures peu marquées à l'extrémité.

Comme les variétés cultivées de *Sorghum bicolor* présentent une grande diversité morphologique. Une classification simplifiée en a été établie par Harlan et de Wet (1972). Elle définit cinq races principales, d'après les caractéristiques de la panicule et de l'épillet (House, 1995 ; IBPGR<sup>2</sup> et ICRISAT<sup>3</sup>, 1993 ; www.Brg<sup>4</sup>.prd.fr).

---

<sup>2</sup> IBPGR : International Board for Plant Genetic Resources

- Les *Bicolor* sont les sorghos aux caractères les plus primitifs. On les trouve en Asie, mais aussi dans toute l'Afrique. Leur panicule est lâche et leur grain, petit, est enveloppé par des glumes adhérentes.
- Les *Guinea* sont les sorghos typiques de l'Afrique de l'Ouest, mais on les trouve aussi en Afrique australe. Ils sont généralement grands et photosensibles avec une panicule lâche. Leur grain est elliptique, bien exposé par le bâillement des glumes. Cette race est particulièrement diversifiée. On y distingue plusieurs types, dont le type *margaritifera*, caractérisé par des grains petits et vitreux.
- Les *Durra* se rencontrent essentiellement en Afrique de l'Est, au Moyen-Orient et en Inde. Ils ont une panicule compacte et des grains globuleux souvent portés par un pédoncule crossé.
- Les *Kafir* sont répandus en Afrique australe. Ce sont des sorghos de petite taille et leur panicule est compacte et cylindrique.
- Les *Caudatum* sont surtout cultivés en Afrique du Centre et de l'Est. Leur panicule a une forme variable. Leur grain est dissymétrique, aplati sur la face ventrale et bombé sur la face dorsale. Ils sont, avec les *Kafir*, à l'origine des sorghos-grain cultivés en région tempérée.

Il existe 15 autres races hybrides ou intermédiaires issues des croisements et qui possèdent les caractéristiques des deux races principales dont les *Guinea-Bicolor* (race hybride majoritaire au Nigeria, Tchad et Soudan), les *Caudatum-Bicolor*, les *Kafir-Bicolor*, les *Durra-Bicolor*, les *Guinea-Caudatum*, les *Guinea-Kafir* (race hybride majoritaire en Inde), les *Guinea-Durra*, les *Durra-Caudatum*, les *Kafir-Durra* et les *Kafir-Caudatum* (culture moderne prépondérante aux USA).

### 1.2.2 Le mil chandelle

Le mil est la céréale fondamentale de toute la zone sahélienne ainsi que d'une bonne partie de l'Inde. Il a été également introduit dans d'autres régions du monde, jusqu'aux USA où il constitue une plante fourragère appréciée (Pernes, 1984).

Mil chandelle, mil perlé, mil pénicillaire, *Pennisetum glaucum*, *Pennisetum americanum*, ou encore *Pennisetum typhoides* sont les noms de cette céréale. D'autres appellations comme Mil perlé, Bajra (Inde), Mil à épis, Sétaire et Scirpe sont utilisées (FAO, 1995). Le nom local du mil chandelle est Bachna ou Enélé chez les Touaregs. Le mil est

---

<sup>3</sup> ICRISAT : International Crop Research Institute for Semi-Arid Tropics

<sup>4</sup> Brg : Bureau des ressources génétiques

presque certainement originaire de l'Afrique occidentale tropicale; où l'on trouve le plus grand nombre de formes aussi bien sauvages que cultivées. Il y a environ 2 000 ans, cette culture a été introduite en Afrique orientale et centrale et en Inde où, en raison de son excellente tolérance à la sécheresse, elle s'est établie dans les environnements les plus secs. Le mil peut en effet, être cultivé dans des régions sèches, sur des sols sableux et pauvres, là où le maïs, le sorgho ou les autres céréales ne pourraient pas être cultivées.

La hauteur de la plante peut varier de 0,5 à 4 m, et le grain peut être presque blanc, jaune pâle, brun, gris, bleu ardoise ou pourpre. Les grains ovoïdes sont longs d'environ 2-5,5 mm (Pernes, 1984). La proportion relative du germe par rapport à l'endosperme est plus élevée que dans le sorgho.

En plus du mil chandelle, qui est le plus cultivé, on trouve l'eleusine (*Eleusine coracana*), le millet d'oiseaux (*Setaria italica*), le millet commun (*Panicum miliaceum*), le petit mil (*Panicum sumatrense*), le moha du Japon (*Echinochloa crus-galli*) et le millet indigène (*Paspalum scrobiculatum*).

#### ❖ Classification des espèces cultivées des mils

Brunken (1977) a donné une première classification qui permet de définir trois groupes au sein de l'espèce des *Pennisetum pénicillaire* (IBPGR et ICRISAT, 1993 ; Pernes, 1984) :

- *Americanum* : auquel appartiennent toutes les formes cultivées anciennement décrites sous l'appellation « *Typhoides* ».
- *Monodii* : auquel appartiennent les formes spontanées appelées anciennement *P. violaceum lam.*, *P. mollissimum hochot*, etc...
- *Stenostachyum* : regroupant toutes les formes intermédiaires entre les deux précédentes appelées jusque là « hybrides *Violaceum-Typhoides* »

Brunken et al. (1977) ont identifié la forme de grain comme étant le trait le plus conforme, qui suit le modèle géographique. La forme de base du grain a été utilisée pour une autre classification raciale. Cette classification a permis d'identifier 4 races :

- *Typhoides*

La race *Typhoides* est caractérisée par des caryopses de forme ovoïdale qui sont obtus. Les inflorescences sont généralement de forme cylindrique. Morphologiquement, elle est la plus variable et la plus largement distribuée. Elle se trouve en Afrique entière

et représente la seule race de base qu'on retrouve hors Afrique. C'est la race la plus prédominante cultivée en Inde.

- *Nigritarum*

Dans cette race, le caryopse est angulaire dans la section transversale avec trois et six facettes par grain. Les inflorescences ont la forme de bougie. Le sommet du grain est habituellement de couleur pourpre tronqué et souvent teinté. Le grain mûr est généralement plus long et dépasse les bractées florales. Cette race est généralement cultivée au Soudan occidental et le nord du Nigéria.

- *Globosum*

Le caryopse dans cette race est sphérique avec chacune de ses dimensions étant approximativement égales. La profondeur du grain excède toujours 2,4 mm. Le grain est cylindrique et obtus. Les inflorescences ont la forme de bougie et excèdent souvent 1 m de longueur. C'est la race la plus commune au Nigéria, au Niger, au Ghana, au Togo et au Bénin central.

- *Leonis*

La race leonis est caractérisée par caryopse aigu. Le caractère le plus distinct du grain de leonis est son sommet aigu, qui est terminé par une base fine. A la maturité, environ un tiers du grain dépasse les bractées florales. La forme d'inflorescence ressemble à une bougie. Elle est spécifique à la Sierra Leone mais on la retrouve également au Sénégal et en Mauritanie.

### **1.3. Structure des grains de sorgho et de mil chandelle**

Les grains de céréales ont généralement la même structure représentée à la figure 1.1 ([www.fao.org/docrep/X0081F/X0081F06.GIF](http://www.fao.org/docrep/X0081F/X0081F06.GIF)). Ceux de sorgho et de mil se caractérisent par une diversité considérable de couleurs, de formes, de dimensions et de certains éléments anatomiques. La structure de base des grains est analogue dans le sorgho et les différents mils. Les principaux éléments anatomiques sont le péricarpe, le germe (ou l'embryon) et l'endosperme.

Les grains de sorgho et de mil perlé sont du type caryopse, où le péricarpe est complètement fusionné avec l'endosperme. La distribution relative des trois principaux éléments varie. D'après Hubbard, Hall et Earle, la répartition, selon le poids, chez le sorgho est de 6 % pour le péricarpe, 84 % pour l'endosperme et 10 % pour le germe (FAO, 1995).

Dans le mil chandelle, le péricarpe représente 8,4 %, l'endosperme 75 % et le germe 16,5 % (Abdelrahman et al., 1983). Dans le grain de mil chandelle, le rapport endosperme/germe est de 4,5:1, tandis que celui du sorgho, il est de 8,4:1.

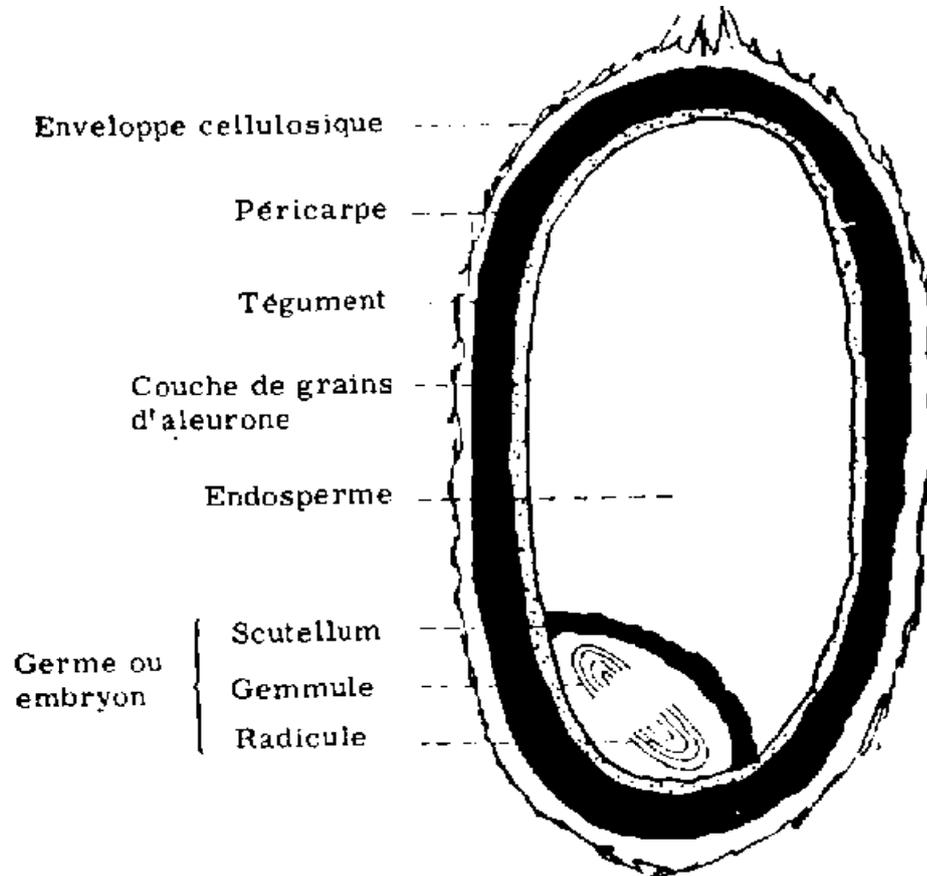


Figure 1.1 : Schéma d'une section longitudinale d'un grain de céréale

### 1.3.1 Le péricarpe

Le péricarpe est la structure extérieure du caryopse et se compose de trois sous-couches: l'épicarpe, le mésocarpe et l'endocarpe. Dans le caryopse du sorgho, l'épiderme est composé de cellules épaisses, allongées et rectangulaires, dont la surface extérieure est revêtue de cutine. Un pigment est souvent présent dans l'épiderme. Le péricarpe du caryopse du mil chandelle se compose aussi d'un épicarpe comportant des couches d'une ou deux cellules, d'un mésocarpe dont l'épaisseur varie selon les facteurs génétiques et d'un endocarpe composé de cellules transversales et tubulaires. La couche du mésocarpe

du mil chandelle ne contient pas de granules d'amidon, contrairement au mésocarpe du sorgho (Serna-Saldivar et Rooney, 1995).

### ***1.3.2 L'enveloppe de la graine***

Juste en dessous de l'endocarpe, on trouve la couche dite enveloppe de la graine ou testa. Dans certains génotypes de sorgho, le testa est fortement pigmenté. La présence de pigment et la couleur représentent un caractère génétique. L'épaisseur de la couche n'est pas uniforme. Elle est épaisse près de la couronne du grain et fine près de l'embryon. Dans certains génotypes. Il existe un testa partiel, tandis que dans d'autres, il est peu visible ou même absent. Chez le mil chandelle, le testa est fin et parfois pigmenté. Chez les autres mils, le testa est toujours pigmenté et n'a qu'une seule couche d'épaisseur (Serna-Saldivar et Rooney, 1995).

### ***1.3.3 L'endosperme***

L'élément le plus volumineux du grain de céréale est l'endosperme, qui est un important tissu de réserve. Il se compose d'une couche d'aleurone ou assise protéique et de zones périphériques cornées et farineuses. Dans tous les mils et le sorgho, l'aleurone est constituée d'une seule couche de cellules riches en sels minéraux, en vitamines du complexe B et en huile; elles contiennent quelques enzymes hydrolytiques.

L'endosperme périphérique se distingue par ses longues cellules rectangulaires. Celles-ci forment un ensemble compact contenant des granules d'amidon et des corps protéiques imbriqués dans la matrice protéique. L'amidon de ces cellules n'est donc pas facilement disponible pour la digestion par les enzymes (FAO, 1995). La matrice protéique est en général une glutéline soluble dans l'alcali, et les corps protéiques sont des prolamines solubles dans l'alcool, qui représentent la plus forte proportion des protéines totales du grain.

Les granules d'amidon de l'endosperme corné sont polyédriques et de taille différente selon les espèces de mil. Dans l'endosperme farineux, les granules d'amidon sont sphériques et relativement plus gros que les granules d'amidon de la zone cornée. Dans la zone farineuse, l'amidon est plus facile à digérer par les enzymes. Chez le mil chandelle et l'éleusine, les granules d'amidon de l'endosperme farineux sont sphériques et gros. L'amidon des mils chandelles est hydrolysé plus lentement que celui du sorgho par l'amylase pancréatique du porc (FAO, 1995).

La structure de grain du mil est très similaire à celle du sorgho mais présente certaines différences. En effet, le grain du mil est plus petit, un germe plus grand et par conséquent

un endosperme plus petit. La proportion d'endosperme corné et d'endosperme farineux détermine la texture du grain. Elle représente l'un des paramètres les plus importants de la qualité alimentaire et de la transformation du sorgho et du mil chandelle.

#### **1.3.4 Le germe**

L'axe embryonnaire et le scutellum sont les deux parties principales du germe. Le scutellum est un tissu de réserve riche en lipides, protéines, enzymes et sels minéraux. Chez les mils chandelles, la proportion de germe par rapport à l'endosperme est plus forte que dans le sorgho et les grains des autres mils. L'huile présente dans le germe de sorgho est riche en acides gras polyinsaturés et analogue à l'huile de maïs (Rooney, 1978).

#### **1.4. Composition chimique et valeur nutritive**

Le contenu en éléments nutritifs des fractions de grains de sorgho et de mil chandelle est donné au tableau 1.1. Le son de sorgho est faible en protéines et cendres et riche en fibres. La fraction germe du sorgho est riche en cendres, protéines et huile, mais très pauvre en amidon. Plus de 68 % de la matière minérale totale et 75 % de l'huile du grain complet se situent dans la fraction germe, dont la contribution à la teneur en protéines du grain n'est que de 15 %. Le germe de sorgho est également riche en vitamines du complexe B. L'endosperme, partie la plus importante du grain, est relativement pauvre en matières minérales, cendres et huile. Il contient en revanche 80 % des protéines du grain entier, 94 % de l'amidon et jusqu'à 75 % des vitamines du complexe B.

Le son des mils chandelles est également faible en matières minérales, comme celui du sorgho, mais il est remarquablement riche en protéines (17,1 %). Dans les mils chandelles, la fraction germe est relativement importante: 16 % contre 10 % dans le sorgho. Elle est également riche en huile (32 %), protéines (19 %) et cendres (10,4 %). Pratiquement toute l'huile (87 %) du grain complet se situe dans la fraction germe, qui représente également plus de 72 % du total de la matière minérale. La concentration de sels minéraux plus forte dans le germe et le son que dans l'endosperme est caractéristique des grains de céréales (FAO, 1995).

La teneur totale en matière grasse des mils chandelles est relativement plus élevée que chez les autres mils et le sorgho, en raison de la dimension du germe, de sa forte teneur en huiles et des niveaux relativement plus élevés de matière grasse dans la fraction son.

D'importantes variations de la composition du grain dans les génotypes de ces céréales ont été signalées, notamment pour le sorgho et le mil chandelle. Les facteurs génétiques

jouent un rôle majeur dans la détermination de cette composition. Les facteurs environnementaux sont également importants, y compris les pratiques agronomiques (enrichissement par les engrais). Les variations de composition sont clairement montrées par le tableau 1.2.

**Tableau 1.1 : Contenu en éléments nutritifs de la graine entière et de ses fractions**

Fraction	F/G (%)	Protéines (%)	Cendres (%)	Huile (%)	Amidon (%)	Niacine (%mg/g)	Riboflavine (%mg/g)	Pyridoxine (%mg/g)
<b>Sorgho</b>								
Graine	100	12,3	1,67	3,6	73,8	4,5	0,13	0,47
Endosperme	82,3 (80)	12,3 (20)	0,37 (13)	0,6 (94)	82,5 (76)	4,4 (50)	0,09 (76)	0,40
Germe	9,8 (15)	18,9 (69)	10,4 (76)	28,1 (20)	13,4 (17)	8,1 (28)	0,39 (16)	0,72
Son	7,9 (4,3)	6,7 (11)	2,0 (11)	4,9 (4)	34,6	4,4 (7)	0,40 (22)	0,44 (8)
<b>Mil chandelle</b>								
Graine	100	13,3	1,7	6,3				
Endosperme	75	10,9 (61)	0,32 (14)	0,53 (6)				
Germe	17 (31)	24,5 (71)	7,2 (87)	32,2				
Son	8 (10)	17,1 (15)	3,2 (6)	5,0 (36)				

Sources: FAO 1995.

F/G : rapport en pourcentage massique de la fraction et de la graine, Les valeurs entre parenthèses représentent les teneurs dans la graine complète.

Tableau 1.2: Composition chimique de géotypes de sorgho et de mil chandelle

Céréale	Protéines <sup>a</sup> (%)	Matière grasse (%)	Cendres (%)	Fibres brutes (%)	Amidon (%)	Amylose (%)	Sucres solubles (%)	Sucres réducteurs (%)
<b>Sorgho</b>								
Nombre de géotypes	10 479	160	160	100	160	80	160	80
Valeur min	4,4	2,1	1,3	1,0	55,6	21,2	0,7	0,05
Valeur max	21,1	7,6	3,3	3,4	75,2	30,2	4,2	0,53
Moyenne arithmétique	11,4	3,3	1,9	1,9	69,5	26,9	1,2	0,12
<b>Mil chandelle</b>								
Nombre de géotypes	20 704	36	36	36	44	44	36	16
Valeur min	5,8	4,1	1,1	1,1	62,8	21,9	1,4	0,10
Valeur max	20,9	6,4	2,5	1,8	70,5	28,8	2,6	0,26
Moyenne arithmétique	10,6	5,1	1,9	1,3	66,7	25,9	2,1	0,17

Source : Collection mondiale de plasma germinatif de l'ICRISAT<sup>a</sup> (FAO, 1995)

<sup>a</sup> Toutes les valeurs à l'exception des protéines sont exprimées sur la base de la matière sèche.

#### 1.4.1 Les glucides

L'amidon est la principale forme de stockage des hydrates de carbone dans le sorgho et les mils. La teneur en amidon du sorgho s'échelonne entre 55,6 et 75,2 %, avec une valeur moyenne de 69,5 %. L'amidon du sorgho est constitué pour 70 à 80 % environ d'amylopectine; les 20 à 30 % restants sont de l'amylose (FAO, 1995).

Dans les différents géotypes de mil chandelle, la teneur en amidon du grain varie de 62,8 à 70,5 % et celle d'amylose de 21,9 à 28,8 %. Des valeurs plus faibles d'amidon (56,3 à 63,7 %) et d'amylose (18,3 à 24,6 %) ont été trouvées dans certaines variétés indiennes de mil chandelle à haut rendement (FAO, 1995). Klopfenstein et Hosney (1995) donnent un intervalle de 56 à 65 %.

Les sucres solubles varient entre 1,3 et 5,2 %, pour le sorgho et entre 2,16 et 2,78 %, pour le mil. La composante prédominante des sucres solubles totaux étant le sucrose et le raffinose. Les autres sucres détectés en quantités mesurables sont le glucose et le fructose. La proportion relative de sucrose dans le sucre total est plus faible dans les mils chandelles que dans les sorghos (Hosney, 1986).

#### 1.4.2 Les protéines et la qualité nutritionnelle

Le sorgho et les mils sont la source la plus importante de protéines pour les populations d'Afrique (Belton et Taylor, 2004)

Dans le sorgho et le mil, la variabilité est importante. Les fluctuations s'accompagnent généralement de changements de la composition en acides aminés des protéines. Les protéines du sorgho et du mil diffèrent par leur profil en acides aminés essentiels.

Comme le sorgho, le mil chandelle a une teneur en protéine qui se situe généralement entre 9 et 13 %, mais des variations importantes de cette teneur allant de 6 à 21 % ont été signalées. Le profil en acides aminés essentiels montre que la lysine, la thréonine, la méthionine, la cystine et le tryptophane sont plus abondants dans la protéine de mil que dans celle du sorgho et des autres mils (FAO, 1995).

Les protéines des céréales sont classées en quatre grandes fractions selon leurs caractéristiques de solubilité: l'albumine (soluble dans l'eau), la globuline (soluble dans une solution de sel dilué), la prolamine (soluble dans l'alcool) et la glutéline (extractible dans des solutions d'alcali ou d'acide diluées) (House et al., 1995 ; FAO, 1995). La distribution des fractions protéiques dans le sorgho et les mils est donnée par le tableau 1.3.

**Tableau 1.3: Distribution des fractions protéiques dans les grains de sorgho et de mil chandelle (en % des protéines totales)**

Fraction	Sorgho	Mil chandelle	Eleusine
Albumine + globuline	17,1-17,8 (17,4)	22,6-26,6 (25,0)	17,3-27,6 (22,4)
Prolamine	5,2-8,4 (6,4)	22,8-31,7 (28,4)	24,6-36,2 (32,3)
Prolamine réticulaire	18,2-19,5 (18,8)	1,8-3,4 (2,7)	2,5-3,3 (2,78)
Type glutéline	3,4-4,4 (4,0)	4,7-7,2 (5,5)	-
Glutéline	33,7-38,3 (35,7)	16,4-19,2 (18,4)	12,4-28,2 (21,2)
Résidu	10,4-10,7 (10,6)	3,3-5,1 (3,9)	16,1-25,3 (21,3)
Total	91,2-94,0 (92,9)	78,6-87,5 (83,9)	74,7-83,9 (78,7)

Source: FAO, 1995

Les valeurs entre parenthèses correspondent aux moyennes arithmétiques

Les niveaux d'albumine et de globuline sont plus élevés dans les variétés de mil chandelle que dans le sorgho, tandis que la quantité de prolamine à structure réticulaire, bêta-prolamine, est plus grande dans le sorgho que dans les mils chandelles. Les études de composition en acides aminés des fractions de protéines (FAO, 1995) ont montré que les fractions d'albumine et de globuline contiennent de fortes quantités de lysine et de tryptophane et sont en général bien équilibrées dans leur composition en acides aminés

essentiels. En revanche, la fraction de prolamine est extrêmement pauvre en lysine arginine, histidine et tryptophane et contient de fortes quantités de proline, acide glutamique et leucine, comme le montre le tableau 1.4.

Présente sous forme de corps protéique, la prolamine s'est révélée être une fraction protéique prédominante, directement associée à la teneur en protéines du grain. La glutéline, deuxième fraction protéique en importance dans le grain, est un composant structurel, présent en tant que matrice protéique dans l'endosperme périphérique et intérieur du grain de sorgho.

La qualité nutritionnelle du sorgho et des mils, en particulier celle du sorgho, est médiocre. Pour y remédier, plusieurs tentatives ont été effectuées pour enrichir ces céréales avec d'autres céréales et des légumineuses de façon à améliorer les produits finaux du point de vue nutritionnel. La teneur en protéines du mil pénicillaire (mil chandelle), du millet commun et du millet des oiseaux est comparable à celle du blé, de l'orge et du maïs. L'éleusine présente une teneur légèrement inférieure, mais la qualité des protéines est généralement aussi bonne, sinon supérieure, à celle des autres céréales. L'éleusine est riche en calcium et en fer, et contient des niveaux relativement élevés de méthionine, un acide aminé qui fait défaut dans plusieurs céréales tropicales.

En général, chez le sorgho, l'influence du génotype sur la composition en protéines est plus importante que celle des conditions environnementales. Le taux de protéines augmente avec la fertilisation alors que le taux d'amidon diminue (House et al., 1995).

**Tableau 1.4: Composition en acides aminés essentiels (mg/g d'azote)**

Graine	Ile	Leu	Lys	Met	Cys	Phe	Tyr	Thr	Trp	Val
Sorgho	245	832	126	87	94	306	167	189	63	313
Mil chandelle	256	598	214	154	148	301	203	241	122	345
Eleusine	275	594	181	194	163	325	-	263	191	413

Sources: FAO, 1995.

### 1.4.3 La composition lipidique

La teneur en matière grasse brute du sorgho est de 3 % plus élevée que celle du blé et du riz mais reste inférieure à celle du maïs et du mil chandelle (Klopfenstein et Hosoney, 1995). Les éléments qui contribuent le plus à la fraction lipidique sont le germe et l'aleurone. Le germe lui-même contient environ 80 % de la quantité totale de matière grasse. Price et Parson ont signalé que la fraction lipidique neutre était de 86,2 %, les glycolipides

représentant 3,1 % et les phospholipides 10,7 % dans la matière grasse du sorgho (FAO, 1995).

La composition en acides gras de la matière grasse du sorgho (49 % d'acide linoléique, 31 % d'acide oléique, 14 % d'acide palmitique, 2,7 % d'acide linoléique, 2,1 % d'acide stéarique) est analogue à celle du blé, mais plus insaturée (Rooney, 1978).

Parmi les différentes espèces de mil, c'est le mil chandelle qui présente la plus forte teneur en matière grasse. Les principaux acides gras contenus dans la matière grasse sont l'acide palmitique (C16), l'acide linoléique et l'acide oléique (C18).

La composition en acides gras du millet commun et du millet des oiseaux n'est pas différente de celle du sorgho. Le profil des acides gras montre que les acides gras saturés représentent au total de 17,9 à 21,6 % tandis que les acides gras insaturés représentent au total de 78 à 82 % des acides gras.

#### **1.4.4 Les fibres alimentaires**

Le terme de fibre alimentaire est utilisé pour décrire divers polysaccharides végétaux non assimilables: cellulose, hémicelluloses, pectines, oligosaccharides, gommes et divers composés lignifiés. La fibre alimentaire est actuellement définie comme la somme de la lignine et des polysaccharides qui ne sont pas hydrolysés par les enzymes endogènes du tube digestif de l'homme. Kamath et Belavady (FAO, 1995) ont constaté que le principal élément insoluble de fibres dans le sorgho est la cellulose, dont la teneur varie de 1,19 à 5,23 % selon les variétés de sorgho.

Bach Knudsen et Munck (FAO, 1995) ont montré qu'une variété soudanaise de sorgho appelée Dabar, couramment consommée et associée à une faible teneur en tanin, présente une teneur totale en fibre alimentaire de 7,6 %, tandis qu'une variété soudanaise à haute teneur en tanin, *Feterita*, en contient jusqu'à 9,2 %. Dans ces deux variétés, la plus grande partie de la fibre alimentaire totale est insoluble dans l'eau.

La fibre alimentaire totale chez le mil chandelle (20,4 % de fibres totales) et l'éleusine (18,6 %) est plus élevée que dans le sorgho (14,2 %), le blé (17,2 %) et le riz (8,3 %). Le pentosane du mil chandelle, extrait à l'aide de différents solvants, contient sept sucres, dont les prédominants sont l'arabinose, le xylose, le galactose et le rhamnose.

La fibre alimentaire a certains effets négatifs sur la disponibilité de plusieurs éléments nutritifs. Le décorticage de la graine est l'une des méthodes utilisée pour éliminer la fibre (Lestienne et al., 2006 ; Shobana et Malleshi, 2006).

#### **1.4.5 Les sels minéraux**

La composition en sels minéraux des graines de sorgho et de mil est extrêmement variable. Plus que les facteurs génétiques, ce sont les conditions écologiques des régions de culture qui ont une incidence sur la teneur en sels minéraux de ces céréales.

Dans la graine de sorgho, les sels minéraux sont inégalement répartis, et leur concentration est surtout forte dans le germe et le spermoderme d'après Hubbard, Hall et Earler (FAO, 1995).

Il a également été observé que l'assimilation du fer est plus importante à partir d'un cultivar de sorgho sans tanin qu'à partir d'un cultivar à haute teneur en tanin et que l'assimilation du fer avec de la bière fabriquée à partir de sorgho ou de maïs était plus de 12 fois supérieure à celle que l'on obtenait en utilisant du gruau préparé avec ces deux graines (Taylor, 2003).

De fortes variations ont été constatées dans la composition en sels minéraux et oligo-éléments chez le mil et, comme dans le cas du sorgho, on a considéré que la composition du sol et sa nature étaient le principal facteur environnemental qui déterminait la teneur de la graine en sels minéraux (Hoseney, 1986). Le mil s'est cependant révélé pauvre en zinc, en fer et en manganèse disponibles par rapport au sorgho.

Le maltage multiplie la teneur en fer ionisable des mils chandelles et de l'éleusine. Il augmente aussi sensiblement leur teneur en zinc soluble, attestant de l'amélioration de la disponibilité in vitro de ces deux éléments (Adewale et al., 2006).

#### **1.4.6 Les vitamines**

Le sorgho et les mils représentent en général une source importante de la vitamine du complexe B. Certaines variétés de sorgho à endosperme jaune contiennent du bêta-carotène qui pourrait être transformé en vitamine A par le corps humain. D'après Cerighelli (1955), les graines contiennent la thiamine (vitamine B1) la riboflavine (vitamine B2) l'acide pantothénique et la niacine (vitamine PP) ; cette dernière se trouve en plus grande proportion (64,74 mg/kg).

Dans la graine de sorgho des quantités faibles d'autres vitamines solubles dans la matière grasse, à savoir la vitamine D, E et K ont également été détectées.

Le sorgho, tel qu'il est généralement consommé, ne représente pas une source de vitamine C. Lors de la germination, une certaine quantité de cette vitamine est synthétisée dans la graine. Chez les mils, c'est la thiamine et la riboflavine qui ont surtout été déterminés. La teneur en thiamine (3,75-10,06 mg/kg de poids brut) et en riboflavine (1,04 mg/kg) du mil

chandelle, de l'éleusine et d'autres mils secondaires n'est pas très différente de celle du sorgho (Cerighelli, 1955). Dans certaines variétés, cependant, la teneur en niacine est plus faible (FAO, 1995).

#### ***1.4.7 Les phytates***

Les phytates représentent une catégorie complexe de composés naturels du phosphore pouvant avoir une influence notable sur les propriétés fonctionnelles et nutritives des aliments. L'acide phytique possède une forte capacité de liaison et peut donc constituer des complexes avec des protéines et des cations multivalents. La plupart des complexes phytate-métal sont insolubles au pH physiologique et rendent par conséquent plusieurs minéraux biologiquement indisponibles pour les animaux et les humains. Doherty, Faubion et Rooney (FAO, 1995) ont analysé plusieurs variétés de sorgho et ont constaté que dans la graine entière le phosphore phytique varie de 170 à 380 mg pour 100 g. Chez les mils chandelles, les valeurs signalées du phosphore phytique varient de 172 à 327 mg pour 100 g (FAO, 1995).

#### ***1.4.8 Les polyphénols***

Les composés phénoliques du sorgho peuvent être classés en acides phénoliques, flavonoïdes et phénols polymères condensés connus sous le nom de tanins. Ces derniers représentent le composé phénolique le plus abondant dans le sorgho brun résistant aux oiseaux. Ils ont des effets négatifs sur la qualité nutritionnelle de la graine. Dans les méthodes traditionnelles de préparation des sorghos à teneur élevée en tanin, le traitement alcalin préalable de la graine constitue une phase importante.

Parmi les mils, il a été signalé que l'éleusine contient de fortes quantités de tanin condensé (FAO, 1995 ; House et al., 1995).

### **1.5. Production et importance économique**

Les superficies cultivées en sorgho et en mil ont diminué. L'augmentation lente de la productivité et les bas prix payés aux producteurs ont réduit la compétitivité de ces céréales. Dans plusieurs régions, ces cultures ont été remplacées par d'autres plus rentables, ou déplacées sur des terres marginales où leur adaptation aux conditions sèches et moins fertiles leur donne un avantage comparatif.

La sécurité alimentaire est encore le but premier des efforts consentis pour améliorer les économies mondiales du sorgho et du mil. Pour la majorité des paysans, une augmentation

de la production se traduira directement par une consommation plus grande de ces céréales et une meilleure nutrition.

En Afrique, le sorgho cultivé appartient à la seule espèce de *Sorghum bicolor* (L.) Moench. Par contre, il existe un grand nombre d'espèces de mil. L'espèce de mil chandelle (*Pennisetum glaucum* (L.) est la plus répandue et représente 76 % de la production totale des mils (Belton et Taylor, 2004)

### **1.5.1 Le sorgho**

Environ 90 % des superficies cultivées en sorgho dans le monde et 70 % de la production mondiale se trouvent dans les pays en développement. L'Asie et l'Afrique produisent chacune de 25 à 30 % de la production mondiale. Le sorgho est surtout cultivé par des ménages paysans pratiquant une agriculture à petite échelle, comme c'est le cas en Algérie. Les rendements moyens sont bas, moins de 1 tonne/ha, et très variables d'une année à l'autre.

Dans les pays développés comme l'Australie et les pays de la Communauté Européenne, le sorgho est surtout produit pour l'alimentation animale. Les pratiques agricoles sont modernes et les rendements moyens atteignent 3 à 5 tonnes/ha (FAO, 1995). La production mondiale a été estimée à 58 millions de tonnes en 1990, 62 millions de tonnes en 1988, 60 millions de tonnes en 1989 (FAO, 1995) et 60 millions de tonnes en 2003 (Mwithiga et Sifuna, 2006). L'Afrique a participé avec 33,8 %. Les cinq plus grands producteurs au monde sont les Etats Unis d'Amérique, l'Inde, le Mexique, la Chine et le Nigeria. En Afrique, la plus grande production est enregistrée au Nigeria, suivie respectivement par le Soudan, l'Ethiopie et le Burkina Faso (FAO, 1995).

### **1.5.2 Le mil chandelle**

Dans les pays développés, la production du mil est très faible et surtout destinée aux marchés spécialisés des graines pour les oiseaux. De très petites quantités de mil sont introduites sur le marché international. Il représente 5 % des superficies cultivées en céréales dans le monde, mais seulement 1,5 % de la production céréalière mondiale. En Asie, la culture du mil se limite presque exclusivement à deux pays, l'Inde et la Chine. L'Inde est le premier pays producteur du mil au monde. En Afrique, de nombreux pays pratiquent la culture du mil, notamment le Nigeria (40 % de la production régionale), le Niger, le Burkina Faso, le Mali, le Sénégal et le Soudan (FAO et ICRISAT, 1997).

Les données sur la productivité et la culture du sorgho et des mils sont voisines de celles du maïs. Les valeurs enregistrées sont de 26 millions de tonnes en 1979-1981, et 31 millions de tonnes en 1988-1990. En Afrique, la production en 2001 est donnée au tableau 1.5 (Rohrbach, 2003). Elle ne diffère pas beaucoup de celle recensée en 1992 et publiée par la FAO et l'ICRISAT (1997). Les plus grands producteurs de mil au monde sont l'Inde, la Chine, le Nigeria et la Russie. En Afrique, c'est le Nigeria, le Niger, le Mali, l'Uganda et le Burkina Faso (FAO, 1995).

**Tableau 1.5: Superficie cultivée, rendement et production de céréales en Afrique**

Céréale	Superficie cultivée (millions ha)	Rendement (tonne/ha)	Production (millions de tonnes)
Sorgho	21,8	0,8	18,1
Mil	20,0	0,7	13,1
Maïs	21,0	1,3	27,2

Source : Belton et Taylor, 2004.

## I.6. Utilisation et transformation

Géographiquement, la consommation du sorgho et du mil correspond assez bien à sa production. Ces céréales sont en effet consommées essentiellement dans les pays où elles sont cultivées. Les domaines d'utilisation les plus importants sont l'alimentation humaine et l'alimentation animale. Ces céréales sont caractérisées par l'absence de gluten, ce qui les rend très demandées par les personnes qui présentent une intolérance à ces protéines.

En Afrique, le sorgho est surtout valorisé dans la fabrication de bière et dans les produits de malt. Les farines de sorgho et de mil sont utilisées pour préparer des gruaux, cependant leur production à l'échelle industrielle reste encore limitée.

### 1.6.1 Le sorgho

En Afrique et en Asie, le sorgho est utilisé en alimentation humaine. Par contre, dans les pays développés, la presque totalité de la production est destinée à l'alimentation animale. Signalons néanmoins, que la proportion du sorgho destinée à l'alimentation humaine s'est accrue graduellement. Cette croissance est due à une plus forte consommation en Afrique. Le tableau 1.6 (FAO et ICRISAT, 1997) donne les quantités moyennes de production d'utilisation du sorgho durant les années 1992 à 1994.

Le sorgho est consommé sous diverses formes selon les régions. En général, il est consommé sous forme de grain entier ou de farines utilisées dans la préparation de plats traditionnels. On compte quatre groupes principaux d'aliments à base de sorgho :

- Pain plat, généralement sans levain, fait avec une pâte fermentée ou non, consommé en Asie et dans certaines parties d'Afrique;
- Bouillie, fluide ou épaisse, fermentée ou non, consommée surtout en Afrique;
- Produits bouillis semblables à ceux préparés à partir du gruaud de maïs ou du riz;
- Aliments frits à l'huile.

L'utilisation mondiale de sorgho fourrager a augmenté de façon considérable. Cette demande a été le pivot de l'augmentation de la production mondiale et du commerce international du sorgho. Un autre aspect important du sorgho grain, surtout en Afrique, est son utilisation dans la production de boissons alcoolisées. Un intérêt particulier est porté à la production d'aliments adaptés aux enfants en améliorant leur digestibilité. Wambugu et al. (2000) trouvent que les gruaux produits à partir de farines de sorgho fermentées et maltées présentent de faibles viscosités associées à une digestibilité acceptable.

**Tableau 1.6: Production et utilisation du sorgho dans le monde (10<sup>3</sup> tonnes)**

	<b>Production</b>	<b>Utilisation</b>	<b>Alimentation humaine</b>	<b>Alimentation animale</b>
<b>Pays en développement</b>	<b>44239</b>	<b>46679</b>	<b>26371</b>	<b>14762</b>
Afrique	17075	16889	12660	1197
Asie	17975	18089	13244	2973
Amérique centrale et Caraïbe	4954	8265	431	7504
Amérique du sud	4234	3437	36	3088
<b>Pays développés</b>	<b>19659</b>	<b>16805</b>	<b>318</b>	<b>15807</b>
<b>Monde</b>	<b>63898</b>	<b>63484</b>	<b>26689</b>	<b>30569</b>

Source : FAO et ICRISAT, 1997

### 1.6.2 Le mil chandelle

Le mil représente moins de 2 % des céréales utilisées dans le monde. Néanmoins, il est très important dans de nombreux pays des zones tropicales semi-arides, où les faibles précipitations et la pauvreté des sols limitent la pratique d'autres cultures. Le mil est presque exclusivement utilisé dans les pays en développement. Dans la majorité des pays, l'information sur l'utilisation du mil est incomplète mais on estime qu'environ 80 % de la production mondiale (plus de 95 % en Asie et en Afrique) sont utilisés en alimentation

humaine. Le reste de la production sert à l'alimentation animale (7 %) ainsi qu'à d'autres utilisations comme les semences, la fabrication de bière, etc.. (FAO, 1995).

Le mil est un aliment très énergétique, nutritif, particulièrement recommandé pour les enfants et les personnes âgées ou en convalescence. La façon d'apprêter le mil varie d'un pays à l'autre, même à l'intérieur d'un pays donné. Il s'agit surtout de bouillies et de pains ressemblant à des galettes. Cependant, la farine de mil devient rapidement rance et ne peut être conservée que durant une courte période. Traditionnellement, le grain est pilé dans un mortier. Cependant, la préparation mécanique est de plus en plus populaire. Le grain est alors passé dans une décortiqueuse et un moulin à farine. Cette opération permet généralement d'améliorer la qualité de la farine.

Il a également été observé que la fermentation ou les procédés de maltage améliorent la digestibilité des protéines de sorgho et de mil, probablement par la modification de leur structure (Belton et Taylor, 2004).

L'utilisation du grain de mil en alimentation animale est très secondaire. Dans les pays en développement, cette forme d'utilisation est pratiquée en Asie, mais elle est négligeable en Afrique. Le tableau 1.7 (FAO et ICRISAT, 1997) donne les quantités moyennes de mil utilisées durant les années 1992 à 1994.

**Tableau 1.7: Utilisation et consommation du mil dans le monde (10<sup>3</sup> tonnes).**

	<b>Alimentation humaine</b>	<b>Alimentation animale</b>	<b>Autres utilisations</b>	<b>Utilisation totale</b>	<b>Consommation (kg/an/habitant)</b>
<b>Pays en développement</b>	<b>21776</b>	<b>966</b>	<b>3767</b>	<b>26509</b>	<b>5,08</b>
Afrique	8673	187	2328	11188	13,40
Tchad	217	0	41	258	33,73
Asie	13103	748	1433	15284	4,17
Amérique du Sud	0	31	6	37	0,00
<b>Pays développés</b>	<b>513</b>	<b>970</b>	<b>323</b>	<b>1805</b>	<b>0,40</b>
Amérique du Nord	0	180	0	180	0,00
Europe	0	4	1	5	0,00
CEI	504	736	316	1555	1,73
Océanie	0	1	0	1	0,00
<b>Monde</b>	<b>22289</b>	<b>1936</b>	<b>4090</b>	<b>28314</b>	<b>4,00</b>

## **CHAPITRE 2 : GÉNÉRALITÉS SUR LES AMIDONS**

De part ses propriétés chimiques, physiques et nutritionnelles, l'amidon occupe une position privilégiée dans le domaine de la science des polymères. Il est considéré comme matière première pour de nombreuses industries alimentaires et non alimentaires.

### **2.1 Biosynthèse et Structure de l'amidon**

Le saccharose est le sucre le plus communément transporté dans les plantes et représente la source d'unité de glucose utilisée par celle-ci pour la synthèse de l'amidon et son accumulation dans les amyloplastés (Hoseney, 1986).

La biosynthèse du granule d'amidon commence au niveau du hile. Les molécules d'amylose et d'amylopectine se croisent radicalement vers l'extérieur (Jane et Chen, 1993). Chez l'amidon de pomme de terre natif, la teneur en amylose croît avec la taille du granule. Des chaînes branchées plus longues lors du premier stade de développement du granule ont été observées. Quand la taille du granule augmente, les molécules d'amylopectine présentent des chaînes branchées moins longues et deviennent beaucoup plus ramifiées (Jane et Chen, 1993). Le grossissement des granules d'amidon s'effectue par un mécanisme graduel d'apposition (BeMiller et Whistler, 1996).

La biosynthèse de l'amidon implique l'action de plusieurs enzymes telles que l'ADP-glucose pyrophosphorylase, la GBSS1 (granule-bound starch synthase 1), la SSS (soluble starch synthase) et l'enzyme branchante. La synthèse de l'amylose et de l'amylopectine s'effectue simultanément (Buléon et al., 1990).

L'amidon se présente dans les céréales, légumineuses, tubercules et certains fruits sous la forme de granules plus ou moins enchâssés dans la matrice protéique de la cellule. Ces granules ont l'aspect de poudre blanche insoluble dans l'eau froide. Leur forme et leur taille dépendent de leur origine végétale (Mercier, 1982). On retrouve des formes ellipsoïdales (tubercule), sphérique ou polyédrique (igname). Les amidons de céréales sont par contre très polymorphes, de forme lenticulaire (blé, seigle, orge), polyédrique (maïs, riz) ou filamenteux (amylomaïs) et les amidons de légumineuses sont le plus souvent réniformes.

Une grande hétérogénéité dans la taille est observée à l'intérieur d'une même population (Duprat et al, 1980). Elle varie généralement de 1 à 150  $\mu\text{m}$ . Le granule d'amidon se comporte, en lumière polarisée, comme un sphérocrystal et s'illumine en étant traversé d'une croix noire correspondant au phénomène de biréfringence.

L'amidon est constitué de deux macromolécules l'amylose et l'amylopectine (Mercier, 1982). Le rapport amylose/amylopectine varie selon l'origine botanique de l'amidon.

➤ **L'amylose :**

C'est une molécule composée essentiellement de chaînes linéaires de résidus  $\alpha$ -D glucopyrannose liés en  $\alpha$ -(1,4), avec quelques branchements  $\alpha$ -(1,6) à raison de 0,3 à 0,5 % des liaisons. La molécule d'amylose a un poids moléculaire d'environ  $10^6$  Da (BeMiller et Whistler, 1996). Elle ne possède qu'une seule extrémité réductrice (fonction pseudo-aldéhyde). La chaîne d'amylose est linéaire mais non droite puisque les résidus sont disposés le long d'une structure en hélice gauche.

L'amylose peut aussi s'organiser selon une structure en double hélice lorsque différentes hélices simples s'entremêlent. Vers l'intérieur de l'hélice s'orientent uniquement les atomes d'hydrogène rendant le centre de celle-ci lipophile, tandis que les groupements hydroxyles se positionnent vers l'extérieur. Se faisant, l'amylose est capable de fixer en son centre certains alcools, lipides, agents tensioactifs et aussi les molécules d'iode. Cette propriété permet de faire la distinction entre l'amylose et l'amylopectine qui prennent des colorations respectivement bleue et rouge-violet lorsqu'elles sont complexées avec l'iode (Hoseney, 1986).

➤ **L'amylopectine :**

C'est une molécule constituée de courtes chaînes d'amylose liées entre elles par des liaisons  $\alpha$ -(1,6) formant des points de branchement. Le degré de polymérisation (DP) est d'environ  $10^5$  (Colonna et Mercier, 1984). Elle a un aspect buissonnant à cause de sa structure extrêmement ramifiée comportant 4 à 5 % de zones de branchement (Preiss, 2000). Les chaînes constituant l'amylopectine ont été classées en trois types A, B, C :

- Les chaînes de type A : ce sont de courtes chaînes d'amylose liées à la molécule seulement par l'extrémité réductrice.
- Les chaînes de type B : elles sont liées de façon similaire mais substituées sur un ou plusieurs groupements 6-hydroxyles par les chaînes A ou par d'autres chaînes B à l'extrémité réductrice,
- Les chaînes de type C : elles sont substituées à un ou plusieurs groupements 6-hydroxyles, mais ne sont pas substituées à l'extrémité réductrice. Elles portent le seul groupement réducteur de la molécule. Une chaîne C seulement par molécule d'amylopectine est observée.

L'organisation du granule d'amidon n'est pas encore bien connue. Elle dépend de la manière dont les molécules d'amylose et d'amylopectine sont associées par les liaisons

intermoléculaires et intramoléculaires. Plusieurs types d'organisation du granule ont été proposés. Le modèle de French (1984) sert de base à la plupart des modèles actuels.

Dans ce modèle, l'amylopectine est orientée perpendiculairement par rapport à la surface du granule. Ce dernier se développe en couches concentriques correspondant aux différents anneaux de croissance comme le montre la figure 2.1. Ceux-ci atteignent une longueur comprise entre 1200 et 4000 Å et comportent différents petits groupes de 50 à 70 Å de long contenant plusieurs chaînes courtes (chaîne A). Ces derniers s'enroulent par deux en double hélice formant ainsi une région cristalline (BeMiller et Whistler, 1996).

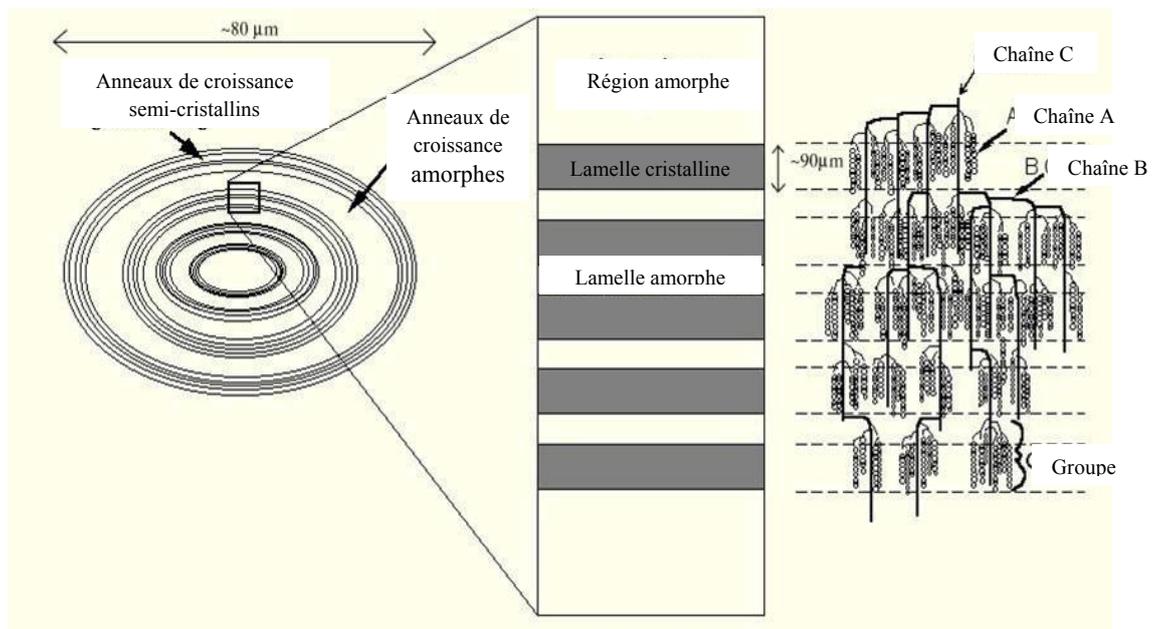


Figure 2.1 : Schéma de la structure d'un granule d'amidon

Des substances non glucidiques sont présentes dans les amidons. Il s'agit de lipides, de protéines et de matières minérales. Ces substances peuvent avoir une influence sur les propriétés de l'amidon.

## 2.2 Méthodes d'isolement des amidons

L'isolement des amidons à partir de plusieurs sources botaniques (céréales, tubercules, racines) a été réalisé industriellement. Le principe consiste à éliminer les enveloppes, les protéines, les lipides et autres composés afin d'en extraire les granules d'amidon. Les méthodes utilisées sont différentes selon (Whistler et Paschall, 1965) :

- le type et la composition chimique de la matière première amylocée,
- les propriétés physicochimiques et fonctionnelles des amidons extraits
- les applications prévues.

Pour le maïs, les grains sont préalablement hydratés pour augmenter leur taux d'humidité jusqu'à 16-22 %, et sont ensuite décomposés. Le germe est récupéré pour la production d'huile et le reste est trempé dans la solution de dioxyde de soufre SO<sub>2</sub> à 0,3% à des températures de 120 à 130 °F (de 49 à 54°C) pendant 2 à 6 h, ensuite un tamisage (50-75 µm) est effectué pour séparer l'amidon. Ce dernier est enfin purifié. Les grains peuvent être trempés en entiers, mais le rendement dans ce cas est relativement plus faible (Wrigley et al., 2004).

Le procédé d'isolement d'amidon à partir du blé diffère par rapport aux autres matières amylacées en raison de sa forte teneur en gluten. Les grains sont broyés à sec, l'eau est mélangée à la farine dans un rapport massique de 40 à 80 %, ensuite les granules sont séparés, par entraînement à l'eau, du gluten qui devient pâteux et élastique. Des solutions d'hydroxyde d'ammonium sont aussi utilisées pour séparer l'amidon (Wrigley et al., 2004 ; Whistler et Paschall, 1965).

Pour la pomme de terre ou le manioc, le procédé utilise moins d'eau, la matière est râpée, une décantation est ensuite effectuée. Le liquide est éliminé et l'amidon est récupéré par entraînement à l'eau. Il est tamisé et concentré par des séparateurs centrifuges (Wrigley et al., 2004).

Pour le sorgho, l'extraction d'amidon se fait selon plusieurs étapes qui sont :

➤ ***mouture des grains***

Deux méthodes sont proposées :

- ✦ *La mouture des grains secs (dry milling)* : elle consiste en un broyage mécanique des grains secs en vue de pulvériser l'endosperme et séparer ses constituants des granules d'amidon.
- ✦ *La mouture des grains humides (wet milling)* : c'est la plus utilisée à l'échelle du laboratoire et industrielle pour le maïs (Petersen, 1975 ; Dailey et al., 2000 ; Haros et al., 2004), le blé (Wang et al., 2000) et de façon moins importante pour le riz et le sorgho. Elle consiste en un broyage mécanique des grains préalablement trempés dans l'eau (Yang et Seib, 1995) ou dans des solutions aqueuses diluées pendant une durée déterminée. Ce trempage a pour but d'éliminer certaines protéines par solubilisation, de rendre le grain tendre donc facile à broyer et d'éviter le développement des microorganismes (Daiely et al., 2000).

Les solutions diluées utilisées sont soit acides, alcalines ou alcooliques (Whistler et Paschall 1965 ; Perez-Siera et Amaiz, 2004 ; Yang et al. 2005). Le choix de la solution,

de la température et du temps de trempage dépend de la composition du grain notamment la nature des protéines de la matière première. Les solutions de trempage sont essentiellement des solutions alcalines de soude NaOH, de potassium KOH, des solutions acides de dioxyde de soufre et/ou d'acide lactique. Le dioxyde de soufre SO<sub>2</sub> accélère la désintégration des protéines et des cellules qui les entourent grâce à sa propriété réductrice (Perez-Siera et Amaiz, 2004). L'acide lactique joue aussi un rôle dans la destruction de la matrice protéique libérant ainsi les granules d'amidon (Dailey et al., 2000). Il améliore le rendement d'extraction d'amidon à partir de l'endosperme corné (Yang et al., 2005 ; Haros et al., 2004). Le tableau 2.1 regroupe les conditions opératoires utilisées par les chercheurs dans cette étape :

**Tableau 2.1: Conditions opératoires de trempage des quelques cultivars**

Cultivar	Solution	Conc. (%)	Température (°C)	Temps	Source
Sorgho (Zimbaoué)	NaOH	0,25	5	24h	Beta et al., 2001 Beta et corke, 2001
-Sorgho cireux -Mil cireux	NaOH	0,25	5	24h	Choi et al., 2004
Sorgho blanc	NaOH	0,25	ambiante	1 nuit	Perez-Siera et Amaiz, 2004
Sorgho rouge	-NaOCl	5,25 %	60	7 min	Perez-Siera et Amaiz, 2004
	+KOH -NaOH	50g 0,25	-ambiante	- 1 nuit	
-Amaranthe -Seigle	NaOH	0,25	25	6h	-Zao et Whistler, 1994 -Verwimp et al., 1994
Riz	NaOH	0,20		3h	Lumdubwong et Seib, 2000
Amaranthe et quinoa	NaOH	0,30	ambiante	1 nuit	Quian et Kuhn, 1999
		0,25	ambiante	24h	Choi et al., 2004 Radosavljevic et al., 1998
Sorgho	SO <sub>2</sub>	0,25	45	65h	Yang et al., 2005
	-acide lactique	-0,5	49-50	48h	Wang et al., 2000
	-SO <sub>2</sub>	-0,15			
	SO <sub>2</sub>	0,20	55	-	Xie et Seib, 2002
Haricot	eau		ambiante	1 nuit	Shimelis et al., 2006

➤ *Séparation des granules d'amidon*

La séparation des granules d'amidon, après mouture, se fait à l'eau. Les granules sont entraînés à travers une série de tamis. On récupère donc l'eau d'extraction chargée d'amidon et le résidu composé de fibres, lipides et protéines reste dans le tamis. Le choix de la série de tamis dépend de la taille des granules d'amidon et des propriétés de la matière première.

Pour le sorgho le diamètre minimum des tamis est de 44 µm selon Subrahmanyam et Hosney (1995), 50 µm selon Wang et al. (2000), 73 µm selon Xie et Seib (2002) et 75 µm

selon Yang et Seib (1995). Pour l'amarante, l'haricot, et le riz, il est respectivement de 63 $\mu$ m (Uriyapongson et Rayas-Duarte, 1994), 106  $\mu$ m (Shimelis et al., 2006), 38  $\mu$ m (Choi et al., 2004) et 75  $\mu$ m (Lumdubwong et Seib, 2000)

➤ ***Purification de l'amidon***

L'amidon est récupéré après décantation et centrifugation répétée. La vitesse de centrifugation est d'autant plus grande que la taille des granules est faible. Elle est de 460 xg-1500 xg (Subrahmanyam et Hosney, 1995 ; Xie et Seib, 2002).

Des lavages de l'extrait d'amidon avec de l'alcool sont préconisés pour une meilleure pureté. L'extrait est purifié en éliminant les composés résiduels par raclage des couches se trouvant au dessus de l'amidon.

➤ ***Séchage de l'amidon***

L'amidon purifié est débarrassé d'eau par séchage à température ambiante ou dans une étuve à 40 °C ou encore par lyophilisation. L'isolement d'amidon à partir du sorgho, malgré que la première extraction à l'échelle industrielle remonte à la deuxième guerre mondiale (Wang et al., 2000), présente des difficultés et des rendements moyens faibles relativement au blé, au maïs et à la pomme de terre. (Yang et Seib, 1995).

### **2.3. Propriétés des amidons**

L'amidon, selon son origine botanique, possède des caractéristiques différentes comme la taille du granule, le rapport amylose/amylopectine (l'amylose constitue les zones amorphe et l'amylopectine comporte des zones cristallines et amorphe), le degré de polymérisation, la structure et l'organisation des chaînes. Ces propriétés lui confèrent des comportements chimiques, physiques et rhéologiques distincts qui peuvent constituer des critères de choix pour leur utilisation. Certaines de ces propriétés physicochimiques et fonctionnelles sont décrites ci-dessous :

#### **2.3.1. Le gonflement**

Les granules d'amidon natifs sont insolubles dans l'eau froide mais présentent une capacité d'absorption de molécules d'eau. Mis en solution, ils peuvent, en effet absorber jusqu'à 40 % de leurs poids sec. L'eau retenue prend place dans les régions amorphes et de nouvelles liaisons hydrogène s'établissent entre les chaînes.

Le gonflement dans ce cas est réversible et les propriétés optiques (biréfringence) sont maintenues. Cependant les caractéristiques physiques des granules changent quand

la suspension est chauffée à plus haute température (MacAllister, 1997). Tester et Morrison (1990) signalent que le gonflement est une propriété de l'amylopectine et, qu'au contraire, l'amylose et les lipides présents l'inhibent fortement.

### **2.3.2. La gélatinisation**

Les changements dus au gonflement des granules d'amidon et la solubilisation des macromolécules (principalement l'amylose) et leur diffusion sont regroupés sous le terme de gélatinisation. C'est aussi la phase de transition des granules d'amidon d'un état ordonné vers un état désordonné lorsqu'ils sont chauffés au delà de leur température de gélatinisation différentes selon le type d'amidon. Pendant la gélatinisation la viscosité du milieu augmente fortement. Le processus peut être décrit par les étapes suivantes :

- hydratation et gonflement des granules d'amidon multipliant leurs volumes,
- perte de la biréfringence,
- augmentation rapide et marquée de la consistance du milieu atteignant un maximum,
- dissolution et diffusion des molécules linéaires,
- après refroidissement, une matrice uniformément dispersée forme un gel.

La méthode la plus largement utilisée pour déterminer le degré de gélatinisation et la température de gélatinisation est basée sur les changements de la viscosité.

### **2.3.3. La gélification**

A des températures élevées, et après désagrégation des granules d'amidon, diffusion de leur contenu dans l'eau et refroidissement, on obtient un gel d'amidon. Ce gel opaque et élastique peut être considéré comme un composite avec des granules gonflés noyés dans une matrice macromoléculaire.

La gélification de l'amylose est achevée dans la limite de 12 heures et la cristallisation de l'amylopectine survient sur une échelle de temps plus longue (Miles et al., 1985). Elle survient après refroidissement de l'empois d'amidon et la réorganisation des molécules d'amidon. La gélification est un processus qui dépend du temps et les caractéristiques rhéologiques du gel changent lorsqu'il vieillit impliquant différents mécanismes.

### **2.3.4 La rétrogradation**

La rétrogradation de l'amidon traduit le phénomène qui se produit au cours du refroidissement et de la conservation des produits amylicés. Elle consiste en l'association suivie de la cristallisation des molécules de l'amidon et se traduit par la formation de gel ou par la précipitation de l'amidon.

Au cours de la rétrogradation, l'amidon passe d'un état amorphe dispersé et solvato à un état cristallin agrégé et insoluble (Buléon et al., 1990). La rétrogradation est donc à la base d'un processus de cristallisation qui peut être détecté par des changements du type diffraction des rayons X. Elle comprend une interaction entre molécules voisines, un alignement mutuel, une expulsion de l'eau et une formation de nouvelles forces intermoléculaires. Elle dépend principalement de l'amylose. Les solutions d'amylopectine sont relativement plus stables (Kitamura et al., 1984).

### **2.3.5 La cristallinité**

Dans la nature, l'amidon se présente sous forme de granules partiellement cristallins. Il contient en effet, des régions amorphes et cristallines. Les zones amorphes sont dues à la fois à l'amylose qui est presque complètement amorphe et à l'amylopectine qui possède des zones amorphes et cristallines. C'est la conformation en double hélice des chaînes courtes (chaînes A) de l'amylopectine qui est responsable de cette cristallinité. Celle-ci est matérialisée par un diagramme caractéristique de diffraction des rayons X (BeMiller et Whistler, 1996 ; Buléon et al., 1990).

Le granule d'amidon est ainsi composé alternativement de parties cristallines et amorphes. En effet, les chaînes d'amylose et d'amylopectine sont associées en couches concentriques autour du hile, formant des zones cristallines et amorphes observables au prisme de Nicol et donnant un réseau de diffraction caractéristique. Cette technique permet de différencier les amidons par leurs diffractogrammes caractéristiques.

Les amidons peuvent présenter des types de diffractogrammes distincts. Le type dépend de l'origine botanique de l'amidon et du traitement qu'il a subi (Banks et Muir, 1980). Les modèles de diffraction des rayons X sont du type A, B, ou C. Le type A est caractéristique des amidons de céréales et le type B caractérise les amidons des tubercules et des racines. Le type C, plus rare, est caractéristique des amidons provenant de la famille des légumineuses. Le modèle de diffraction des rayons X obtenu pour des gels d'amylose est de type B (Rousseau, 1999).

### **2.3.6. Les propriétés rhéologiques**

La rhéologie est l'étude de la relation entre la déformation d'un matériau et la force qui lui est appliquée en fonction du temps. Elle permet de caractériser les propriétés de déformation et d'écoulement de l'amidon lors du chauffage (cuisson- extrusion). Les trois principales caractéristiques rhéologiques sont l'élasticité, la viscosité et la plasticité.

La plupart des comportements des matériaux peuvent s'exprimer en fonction de ces trois comportements principaux (Roudot, 2002).

La viscosité est la mesure physique la plus utilisée pour fournir des informations sur le comportement hydrodynamique des solutions diluées de polymères. Elle dépend du type de polysaccharide notamment du poids moléculaire des polymères, du solvant et de la température.

Le comportement d'écoulement des pâtes d'amidon est étroitement lié à sa structure. Les propriétés de telles pâtes peuvent être attribuées à la viscoélasticité, à la compressibilité des granules et aux interactions entre les macromolécules.

La meilleure méthode pour mesurer les propriétés d'écoulement des pâtes d'amidon est basée sur l'utilisation d'un viscosimètre rotationnel avec des cylindres coaxiaux. Les mesures doivent être prises à des températures élevées, de préférence au delà de 60 °C pour éviter les interférences avec la rétrogradation. La représentation des courbes d'écoulement à partir de l'augmentation et ensuite de la diminution des taux de cisaillement permet une évaluation des propriétés thixotrophiques qui traduisent la sensibilité au cisaillement (Rousseau, 1999).

## **2.4 Hydrolyse des amidons**

L'hydrolyse de l'amidon peut être envisagée comme moyen d'améliorer ses propriétés fonctionnelles ou encore d'obtenir des produits à haute valeur ajoutée tels que l'amylose, les dextrines et les oligosaccharides.

### **2.4.1 Hydrolyse acide**

Quand le granule d'amidon est exposé à l'action d'un acide minéral dilué à température ambiante, les propriétés de cristallinité et de biréfringence sont maintenues. Exposé plus longtemps à température élevée, les macromolécules d'amylose et d'amylopectine s'hydrolysent. Il a été observé que l'amylopectine, de part sa structure cristalline, est plus résistante à l'action de l'acide que l'amylose (Banks et Muir, 1980).

L'hydrolyse par voie acide génère dans les hydrolysats des sels qui sont généralement indésirables et qui oblige à intégrer une étape de purification des produits. L'hydrolyse se fait habituellement par l'acide chlorhydrique ou l'acide sulfurique à température élevée. Robin (1976) a constaté une certaine homogénéité dans les comportements de divers types d'amidon au cours de l'hydrolyse acide. Cette homogénéité est due au fait que le traitement d'hydrolyse acide ménagée de l'amidon se traduit, au niveau macromoléculaire, par un seul et même effet : la concentration de la phase cristalline.

### **2.4.2 Hydrolyse enzymatique**

Ce type d'hydrolyse est plus spécifique. Les réactions peuvent être portées au degré d'hydrolyse désiré à des températures plus faibles relativement à celles utilisées pour l'hydrolyse acide. Elle permet de produire une grande variété de sucres et de mélanges de sucres (MacAllister, 1997).

### **2.5 Valorisation des amidons**

L'utilisation de l'amidon est connue depuis fort longtemps, mais sa production à l'échelle industrielle est récente. Ses domaines d'application sont très nombreux. En effet, l'amidon intervient d'une part pour sa nature macromoléculaire (granule natif ou modifié) et d'autre part pour son monomère (Buléon et al., 1990). Par rapport aux autres matériaux possédant les mêmes propriétés, les amidons présentent l'avantage d'être une ressource renouvelable et biodégradable (Ellis et al., 1998).

Les produits des amidons peuvent être divisés en trois grandes classes : les amidons natifs, les amidons modifiés et les édulcorants (sirops de glucose et dérivés issus des glucoseries). Actuellement, les amidons sont utilisés pour leurs propriétés épaississantes, texturants, gélifiantes, anti-cristallines, lubrifiantes, adhésives, de même que pour leur pouvoir sucrant et fermentescibles (Gordon et william, 1991).

Les amidons procurent 70 à 80 % de calories consommées par les habitants à travers le monde. L'amidon commercialisé est obtenu essentiellement à partir des grains de céréales (maïs, blé et riz) et à partir de tubercules et de racines (pomme de terre, pomme de terre douce et manioc) (BeMiller et Whistler, 1996). Jobling (2004) estime la production mondiale en amidon à 39,4 ; 4,1 et 2,6 millions de tonnes/an, respectivement pour le maïs, le blé et la pomme de terre.

L'industrie alimentaire consomme environ 38 % des composés amylacés et même si l'amidon est utilisé par d'autres industries, ils n'en reste pas moins que de nombreux débouchés potentiels s'offrent en raison des possibilités que procure sa modification chimique et/ou biochimique (Rousseau, 1999).

En effet, l'hydrogénation catalytique est utilisée pour convertir la fonction pseudo-aldéhydique du carbone terminal en groupement alcool secondaire. Elle entraîne l'ouverture du cycle pyranose, et génère des molécules appelées polyols, largement utilisés dans les produits alimentaires (Buléon et al., 1990). Parmi les produits d'hydrolyse, on trouve les sirops de glucose, les sirops de maltose les sirops de maltose-dextrose.

Les amidons et les amidons modifiés constituent aussi une matière première pour de nombreuses industries non alimentaires telles que l'industrie pharmaceutique, chimique, microbiologique ainsi que la papeterie, le textile, les colles, les cosmétiques et les bioénergies.

## **2.6 Domaines d'intérêt portés sur le sorgho, le mil chandelle et leurs amidons**

Bien que le sorgho et le mil soient des céréales cultivées et utilisées depuis fort longtemps, les travaux sur leur valorisation restent très faibles. Satin (2002) a constaté que seulement 3,55 % de publications sont consacrées au sorgho et 1,52 % au mil contre 29,25 %, 28,72 %, 17,41 % consacrées respectivement au maïs, au blé et à la pomme de terre.

Ces dernières années, le grain de sorgho et de mil perlé a connu un regain d'intérêt avec la diffusion de variétés résistantes aux maladies et de meilleure valeur nutritive. Actuellement de nouveaux débouchés sont apparus telles que les fibres de sorgho pour la papeterie, sorgho sucrés pour la production de biocarburant, biofilms et ingrédients alimentaires.

Les Etats Unis ont été les pionniers dans l'amélioration génétique des variétés de sorgho tempéré. Les recherches se sont étalées aux mils et se poursuivent actuellement au sein de nombreux organismes tels que l'ORSTOM<sup>1</sup> (devenu IRD<sup>2</sup>) et le CIRAD<sup>3</sup>, deux organismes français avec le bureau des ressources génétiques BRG<sup>4</sup>, qui jouent un rôle déterminant dans la conservation et l'exploitation des ressources génétiques des espèces. L'ICRISAT<sup>5</sup> conduit, en Inde, d'importants programmes d'amélioration génétique de ces céréales pour les zones semi-arides, de gestion des collections mondiales et de sélection des variétés fixées et hybrides (<http://www.brg.prd.fr/brg/>).

L'IRD a entamé des projets sur la conservation, l'utilisation et la valorisation des ressources génétiques des mils en Afrique de l'Ouest ainsi que sur la sélection participative notamment dans plusieurs pays tels que le Niger, le Nigeria, le Mali et le Burkina Faso

Le BRG et l'INTSORMIL<sup>6</sup> s'intéressent aussi au recensement et à l'étude des variétés de sorgho et de mil. Seulement, vu l'étendue des zones concernées par ces cultures, on peut considérer que les estimations de la production et du nombre de variétés récupérées sont loin de traduire la réalité.

---

<sup>1</sup> ORSTOM: Office de la Recherche Scientifique et Technique Outre-Mer renommé en 1998 et devenu IRD

<sup>2</sup> IRD : Institut de Recherche pour le Développement

<sup>3</sup> CIRAD: Centre de Coopération Internationale en Recherche Agronomique pour le Développement

<sup>4</sup> BRG: Bureau des Ressources Génétiques

<sup>5</sup> ICRISAT : International Crop Research Institute for Semi-Arid Tropics

<sup>6</sup> INTSORMIL : International sorghum and millet

Le WCCR<sup>7</sup> rassemble un nombre important d'équipes de recherche à l'université de Purdue (Etats Unis d'Amérique) qui travaillent sur les carbohydrates (Hamaker, 2005). Il s'intéresse, en particulier, à la modification et à la réactivité des amidons ainsi qu'à l'influence des protéines sur la gélatinisation des amidons, la rhéologie et la modélisation des processus thermiques des amidons (viscoélasticité).

Actuellement des travaux de séquençage des protéines de sorgho sont entrepris. Les propriétés fonctionnelles de ces dernières ne sont pas totalement connues et un des problèmes qu'ils posent est leur faible digestibilité dont le mécanisme n'est pas encore tout à fait élucidé (Belton et Taylor, 2004). La faible présence d'acides aminés essentiels comme la lysine et la méthionine suscite de nombreuses recherches pour l'amélioration génétique afin de produire des variétés riches en ces acides aminés. Les propriétés fonctionnelles, en particulier la digestibilité des protéines, doivent être exploitées en vue de préparer des produits alimentaires intéressants en particulier pour les enfants et les nourrissons. Ce sont aussi les objectifs de l'IRD<sup>8</sup>. D'après Hamaker et ses collaborateurs, les amidons de sorgho pourraient être utilisés pour produire des films biodégradables (Belton et Taylor, 2004).

La substitution des malts de maïs ou d'orge par le malt de sorgho dans le brassage peut s'avérer commercialement rentable. D'autres chercheurs comme Taylor et ses collaborateurs de l'université de Pretoria (Afrique du Sud) se sont fixés comme objectif de valoriser ces céréales par l'amélioration des produits alimentaires et de malterie (Taylor, 2003).

Les recherches sur les variétés de sorgho et de mil perlé qui poussent en Algérie sont presque inexistantes malgré la présence de variétés locales cultivées dans des écosystèmes très spécifiques (écosystème hyperaride, eau d'irrigation et sol très salins). Ce qui confère aux plantes et notamment aux amidons des propriétés physicochimiques et fonctionnelles très intéressantes. De plus, il y a une forte dynamique d'échange avec les pays du Sahel limitrophes. La première allusion aux sorgho et mils locaux a été noté dans l'ouvrage : la nouvelle flore l'Algérie et des régions désertiques méridionales par Quezel et Santa (1962). Bien après, en 1965, Gast et Adrian ont publié des mémoires sur l'étude ethnologique et nutritionnelle des mils et sorgho en Ahaggar où ils font une description des variétés cultivées dans la région, la valeur nutritionnelles de leurs produits de moutures ainsi que leur transformation et utilisation. D'autres travaux font état des préparations culinaires locales à base de sorgho et de mil perlé.

---

<sup>7</sup> WCCR : Whistler Center of Carbohydrates Research. Purdue University, USA.

<sup>8</sup> IRD : Institut de Recherche et Développement

L'Algérie a porté récemment un intérêt particulier à l'inventaire et à la valorisation de la biomasse végétale et s'est engagée après la ratification de la convention sur la diversité biologique signée à Rio de Janeiro en 1992 à élaborer des stratégies nationales de conservation et d'utilisation durable de la diversité biologique à travers les projets nationaux de recherche dans lequel s'inscrit ce travail et la création d'organismes tels que le centre nationale de développement des ressources biologiques, CNDRB créée en 2004 et qui a pour mission, principalement :

- la centralisation de l'ensemble des inventaires de la faune, de la flore, des habitats et des écosystèmes,
- la contribution à l'élaboration des plans de valorisation des ressources biologiques dans le cadre du développement durable,
- la conservation des ressources biologiques.

## **CHAPITRE 3 : MODE D'ACTION DES AMYLASES ET RÉACTIVITÉ DES AMIDONS**

Pendant 120 ans l'amidon a été une importante source de produits sucrés. La conversion de l'amidon en glucose par l'acide sulfurique a été réalisée par le chimiste allemand G.S.Kirchoff en 1811, obtenant un mélange qui remplaça le sucre et ce fut le point de départ pour les différentes conversions acides des amidons pendant presque soixante ans.

La seconde découverte a été réalisée par le chimiste français Anselme Payen, qui en 1833 isola une substance à partir de l'extrait de malt ayant la faculté de convertir l'amidon en sucre et l'appela « diastase » inspiré du mot grec diastasis qui signifie séparation. Le terme enzyme (du grec en, dans et zumê, levain) a été utilisé ultérieurement par le physiologiste allemand Willy Kuhne.

En 1896, Buchner a démontré qu'un extrait cellulaire pouvait fermenter le sucre, et ainsi le potentiel d'enzymes extracellulaires devint apparent. Cependant, les enzymes n'ont été utilisées pour la production des sucres qu'en 1938.

Avec la découverte de l' $\alpha$ -amylase bactérienne thermostable en 1970, l'utilisation des enzymes devint très importante dans l'hydrolyse des amidons et au milieu des années 1980, le sirop de fructose a été commercialisé. A la fin des années 1990, environ 70% des amidons sont transformés en sucres dans plus de 200 usines à travers le monde (Hil et McGregory, 1988).

### **3.1 Amylases**

Les enzymes qui dégradent l'amidon ont été classées en quatre classes selon leur mode d'action (Marc, 2002): les endoamylases, les exoamylases, les enzymes de débranchement et les enzymes qui servent à transférer un groupement d'atomes.

#### **3.1.1 Endoamylases**

Les endoamylases, connues aussi par le terme « enzymes liquéfiantes » sont des enzymes qui coupent les liaisons  $\alpha$ -(1,4) glycosidiques présentes dans les parties internes des chaînes de l'amylose et de l'amylopectine. Les produits d'hydrolyse, qui sont moins visqueux, sont des dextrans et des oligosaccharides avec des chaînes variées ayant une configuration  $\alpha$  en C<sub>1</sub> des unités réductrices du glucose d'où le nom «  $\alpha$ -amylase » (Muralikrishna et al., 2005 ; Kuriki et Imanaka, 1999).

### **3.1.2 Exoamylases**

Les exoamylases coupent toutes les liaisons  $\alpha$ -1,4 glycosidiques comme la  $\beta$ -amylase (EC.3.2.1.2), ou les liaisons  $\alpha$ -(1,4) et  $\alpha$ -(1,6) glycosidiques comme l'amyloglucosidase (la glucoamylase) (EC.3.2.1.3) et l' $\alpha$ -glucosidase (EC.3.2.1.20). Les exoamylases agissent sur les unités de glucoses externes de l'amylose et de l'amylopectine et produisent uniquement du glucose (glucoamylase et  $\alpha$ -glucosidase), ou du maltose et des  $\beta$ -dextrines limitées ( $\beta$ -amylase). La glucoamylase et l' $\alpha$ -glucosidase diffèrent selon leur préférence vis-à-vis des substrats ;

- l' $\alpha$ -glucosidase agit mieux sur les petits malto-oligosaccharides et libère le glucose avec une configuration  $\alpha$ .
- la glucoamylase hydrolyse mieux les chaînes longues de polysaccharide.

Les  $\beta$ -amylases et les glucoamylases sont obtenues à partir d'une grande variété de microorganismes (Pandey et al., 2000). Contrairement à l'action des endoamylases, l'hydrolyse se fait avec une diminution lente de la viscosité (Kuriki et Imanaka, 1999).

### **3.1.3 Enzymes de débranchement**

Cette classe d'enzymes catalyse les réactions d'hydrolyse des liaisons glycosidiques  $\alpha$ -1,6 qui participent à un débranchement des chaînes de glucose de l'amidon. Parmi les enzymes de cette classe, on peut citer l'isoamylase (EC.3.2.1.68) et la pullulanase (EC.3.2.2.48). La première est spécifique aux liaisons de l'amylopectine alors que la deuxième est spécifique aux liaisons de l'amylopectine et du pullulane.

### **3.1.4 Enzymes du quatrième groupe**

Cette classe d'enzymes catalyse la rupture d'une liaison  $\alpha$ -(1,4) dans une molécule donneuse et le transfert d'une partie de la molécule à une autre molécule réceptrice capable de former une nouvelle liaison glycosidique de nature  $\alpha$ -(1,4) ou  $\alpha$ -(1,6). Parmi ces enzymes on peut citer l'amyломaltase (EC.2.4.1.25) et la cyclodextrine glucotransférase (EC.2.4.1.19).

## **3.2 Activité des amylases**

L'activité enzymatique exprime l'efficacité de l'hydrolyse dans les conditions données. Elle peut être évaluée par plusieurs méthodes, telles que l'évolution de la viscosité, de la turbidité, de l'amidon résiduel (méthode colorimétrique à l'iode) et des sucres réducteurs formés (DNS, Somogyi-Nelson) (Southgate, 1976)

Dans les céréales, les  $\alpha$ -amylases constituent 30 % des protéines totales synthétisées durant la germination. Adewale et al. (2006), ont constaté que les amylases extraites à partir

du sorgho présentent la plus faible activité comparée à celle de l'éleusine et du maïs. Néanmoins, elles sont plus résistantes à l'inactivation thermique (50 °C). Ce résultat et le prix élevé des enzymes exogènes pour le brassage, encourage les pays comme le Nigeria à orienter leur production en utilisant le malt de sorgho plutôt que le malt d'orge (Adewale et al., 2006).

Les études faites sur le maltage des différentes céréales ont montré que le blé présente l'activité enzymatique la plus élevée. Elle est atteinte après 6 à 7 jours de fermentation. Pour le mil par contre l'activité maximale est obtenue après 72 heures. Nirmala et al., (2000) rapporte que l'activité de la glucoamylase et de la pullulanase est 20 à 600 fois plus faible que celle de l' $\alpha$ -amylase.

### **3.3. Hydrolyse enzymatique des amidons**

Pour l'obtention de solutions de glucose et/ou maltose, le procédé de production de maltodextrines est suivi d'un traitement enzymatique par addition de glucosidase qui hydrolyse les oligosaccharides en monosaccharides (glucose). Les maltodextrines peuvent être convertis en sirop de maltose. Cette étape nécessite une catalyse enzymatique par la  $\beta$ -amylase. Un système des deux enzymes est utilisé dans le cas de la conversion des maltodextrines en sirop de glucose/maltose.

La composition du produit d'hydrolyse dépend de la quantité d'enzyme utilisée, du temps de réaction et du dextrose équivalent des maltodextrines (Lugi, 2004).

Les propriétés importantes de l'enzyme sont :

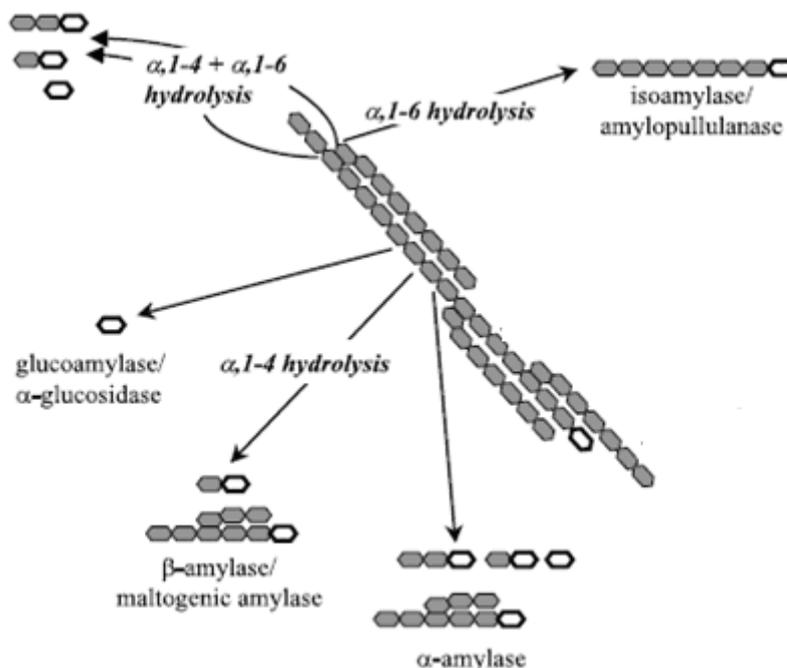
- l'enzyme est retrouvée inchangée à la fin de la réaction d'hydrolyse,
- l'enzyme modifie la vitesse des réactions thermodynamiquement possibles (l'énergie du système réactionnel n'est pas modifiée),
- l'enzyme est stéréospécifique du substrat.

La modélisation de la cinétique enzymatique avec des rappels sur les constantes cinétiques sont donnés en annexe 1.

### **3.4 Mode d'action des amylases**

L'action catalytique des amylases dépend de la nature du substrat, des conditions opératoires ainsi que de la source et de la concentration de l'enzyme. La composition en acides aminées, leur disposition dans la chaîne peptidique ainsi que la structure secondaire et tertiaire de la protéine régissent le mécanisme catalytique.

L'action de l' $\alpha$ -amylase (EC.3.2.1.1) qui est une endoamylase sur les amidons donne lieu à la formation des oligosaccharides avec différentes longueurs de chaînes et des  $\alpha$ -dextrines limitées qui constituent des oligosaccharides branchés selon le schéma représenté à la figure 3.1 (Marc et al., 2002).



**Figure 3.1: Schéma de dégradation de l'amidon par les différentes enzymes.**

*Le cycle ouvert symbolise l'extrémité réductrice de la molécule polyglucose.*

Toutes les enzymes qui dégradent l'amidon possèdent des séquences d'acides aminés similaires : la famille des  $\alpha$ -amylases est la 13<sup>ème</sup> famille dans la classification de Henrissat (1991) basée sur les séquences d'acides aminées. Ce groupe comprend les enzymes qui possèdent les propriétés suivantes :

- Elles agissent sur les liaisons  $\alpha$ -glycosidiques  $\alpha$ -(1,4) ou  $\alpha$ -(1,6) ou les deux) et hydrolysent ces liaisons pour produire des mono et/ ou oligosaccharides sous la forme  $\alpha$ -anomères.
- Elles possèdent la structure  $(\beta/\alpha)_8$  ou TIM barrel (figure 3.2) contenant le site catalytique.
- Elles ont quatre régions conservées dans leur structure primaire (tableau 3.1) (Kuriki et Imanaka, 1999) qui contiennent les acides aminés qui forment le site catalytique, et d'autres acides aminés qui sont essentiels à la stabilité de la topologie de TIM Barrel.

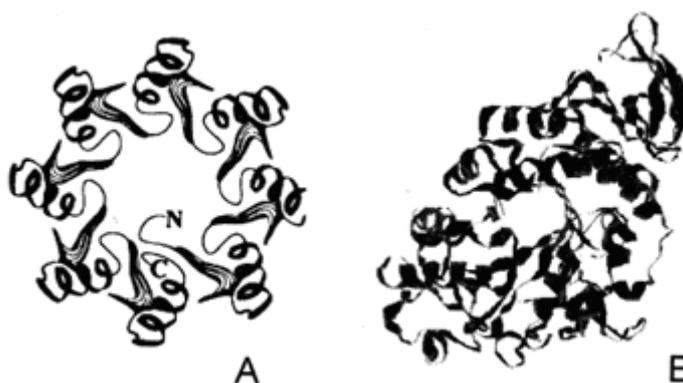


Figure 3.2: Structure  $(\beta/\alpha)_8$  (A) ou TIM barrel (B) contenant le site catalytique (Kuriki et Imanaka, 1999).

Tableau 3.1: Régions des acides aminés formant le site catalytique.

	I $\beta_2$	II $\beta_4$	III $\beta_5$	IV $\beta_7$
Amylomaltase	EALGIRIIGDMPIFVAED	LFHLVRIIDHFRG	VFVLAIDLGVI	VVYTGTHDNDT
Amylosucrase	HEAGISAVVDPIFNHTSN	GVDILRMDAVAP	VFFKSEAIVHP	VNYVRSDDIG
CGTase	HAKNIKVIIDFAPNHTSP	GIDGIRMDAVKH	VFTFGWFLGV	VTFIDNHDMER
CMDase	HDNGIKVIFDAVFNHCGY	DIDGWRLDVANE	AIIVGIVWHDA	FNLLGSHDTER
BE	HQAGIGVILDWVPGHFCK	HVDGFRVDVAN	ILMIAEDSTDW	FILPFSHDEVV
Isoamylase	HNAGIKVYMDVVYNHTAE	GVDGFRFDLASV	LDLFAEPWAIG	INFIDVHDGMT
M.amylase	HQKAIRVMLDAVFNHSGY	DIDGWRLDVANE	AYILGHIWHDA	FNLLGSHDTPR
Pullulanase	HAHGVRVILDGVFNHTGR	GVDGWRLDVPNE	AYIVGHIWEEA	MNLLTSHDTPR
Sucrose Pase	LGECSHLMFDVVCNHMSA	GAEYVRLDAVGF	TVIITITNVPH	FNFLASHDGGIG
BLamylase	HERGMVLMVDVVANHMGY	SIDGLRIDTVKH	VYCIGIVLDGD	GTFVENHDNPR

Le site actif se divise en deux parties représentées à la figure 3.3 ((Muralikrishna et al., 2005) :

- (a) le site de liaisons formées par un nombre de sous-sites,
- (b) le site catalytique formé par 2 à 3 groupes de donneurs de protons (électrophiles) et accepteurs de protons (nucléophiles).

Le nombre de subsistes et leur arrangement en conjugaison avec les groupes catalytiques déterminent le type de produits formés. La rétention de la configuration ayant lieu pendant l'action de l'enzyme suggère un mécanisme à double déplacement avec des intermédiaires covalents.

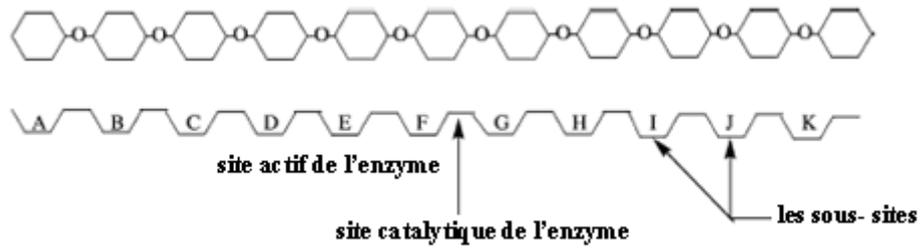


Figure 3.3 : Représentation des sites actifs et des sous-sites de l' $\alpha$ -amylase

Un tel mécanisme est illustré à la figure 3.4 (Kuriki et Imanaka, 1999) qui propose que les liaisons  $\alpha$ -(1,4) et  $\alpha$ -(1,6) sont catalysées de la même manière que celle avec laquelle elles ont été formées.

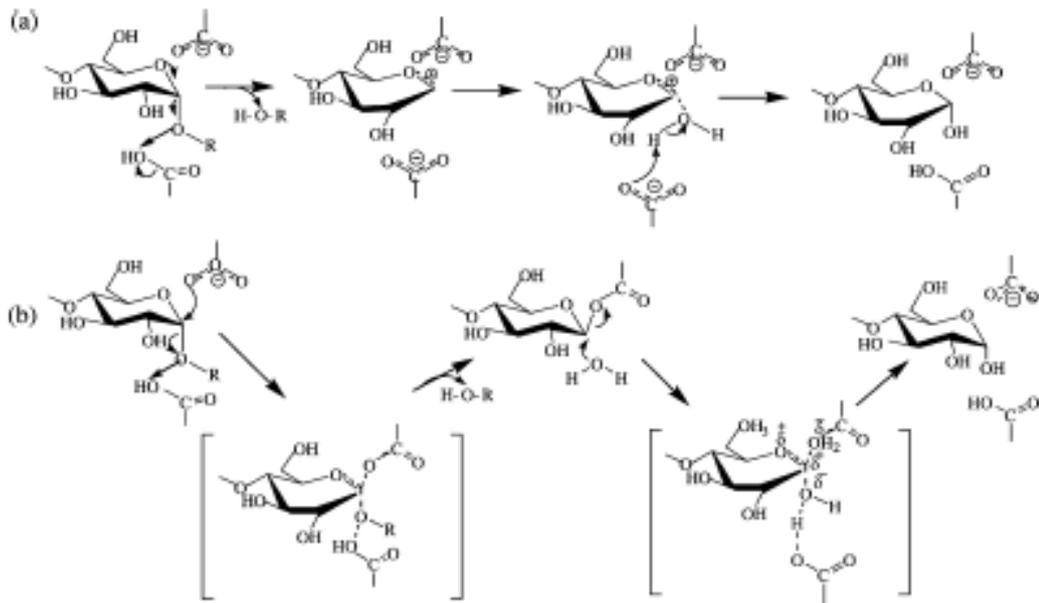


Figure .3.4: Mécanismes catalytiques possibles de l' $\alpha$ -amylase

(a) réaction  $S_N1$  via un ion carbonium intermédiaire. (b) réaction  $S_N2$  via la formation d'un complexe glycosyl-enzyme par liaison covalente.

DEUXIÈME PARTIE

MÉTHODOLOGIE EXPÉRIMENTALE

## CHAPITRE 4 : MATÉRIEL ET MÉTHODES

Des groupes locaux et importés de sorgho de l'espèce *Sorghum bicolor* (L.) Moench et de mil chandelle de l'espèce *Pennisetum glaucum* ont fait l'objet de cette étude de caractérisation.

Nos objectifs consistent dans un premier temps à contribuer à l'étude morphologique des plantes et la caractérisation des grains de certains cultivars en déterminant les caractéristiques structurelles à savoir la forme, la couleur, la masse de 1000 grains et la masse volumique. De même que la composition chimique par l'évaluation des teneurs en humidité, cendres, sucres solubles, amidon, protéines, lipides, fibres et tannins.

Dans un deuxième temps, l'amidon est extrait à partir des grains avec une grande pureté afin de déterminer les propriétés physiques (la couleur, la forme et la taille des granules), la composition chimique (teneur en humidité, amidon, protéines et amylose), les propriétés fonctionnelles (viscosité, solubilité et gonflement) et les propriétés thermiques (température et enthalpie de gélatinisation) des amidons isolés.

Dans un troisième temps, déterminer les conditions opératoires de mise en évidence de l'activité des amylases sur des substrats amylicés des grains de cultivars locaux de sorgho et de mil, étudier l'influence de certains facteurs sur la cinétique enzymatique et déterminer les paramètres cinétiques des réactions catalysées par certaines amylases.

### 4.1 Echantillonnage et préparation des échantillons

#### 4.1.1 Prospection et échantillonnage

Une prospection et un échantillonnage sont effectués au niveau de la région de Tidikelt (In Salah) et d'Ahaggar (Tamanrasset), à partir de l'année 2000.

Dans ces régions, connues par leurs conditions écologiques particulières, divers groupes de le sorgho et de mil chandelle sont cultivés en utilisant encore des méthodes traditionnelles. D'autres groupes sont importés et commercialisés dans les marchés locaux.

#### 4.1.2 Méthode d'échantillonnage

Divers échantillons de plantes, d'épis et de grains sont récoltés. Une sélection d'un nombre de cultivars est effectuée sur la base de la prédominance et de la diversité.

Les échantillons des cultivars suivants sont sélectionnés et examinés :

- cultivars locaux de sorgho blanc ;
- cultivars locaux de sorgho pigmenté ;
- cultivars locaux de mil chandelle ;
- cultivar de mil chandelle importé d'Agadez au Niger et commercialisé à In Salah ;
- cultivar de sorgho, fortement pigmenté, importé des Etats Unis d'Amérique et commercialisé à Ghardaïa

Les grains des différents cultivars sont obtenus après un traitement de décorticage des épis effectué par les agriculteurs en utilisant les méthodes traditionnelles. Les quantités d'échantillons collectés varient entre 0,5 et 5 kg. Elles représentent des lots de quelques dizaines de kilogrammes des récoltes des mêmes agriculteurs.

Pour toutes les analyses, deux essais au moins sont effectués. L'échantillonnage est effectué selon la méthode des quartiers qui consiste à étaler les grains sur une surface carrée et séparer les grains selon les deux diagonales. Les grains des deux parties opposées sont ensuite prélevés. L'opération est répétée jusqu'à l'obtention de la masse de l'échantillon désirée.

#### **4.1.3 Nettoyage des grains**

Les échantillons de grains reçus sont exempts d'odeur et de souillure, le nombre de classes d'impuretés identifiées est limité, elles sont essentiellement composées de glumes, de tiges fines et de sable. Leurs teneurs restent relativement faibles. Néanmoins, un nettoyage des grains de sorgho est effectué en utilisant le nettoyeur séparateur plan (NSP), Triplette et Renaud (France) et faute de disponibilité des grilles de faible taille adaptées au mil, un tamisage à travers un tamis de 1,19 mm est réalisé afin d'éliminer le sable qui constitue l'impureté principale.

#### **4.1.4 Mouture des grains**

Le broyage à sec est effectué à l'aide d'un broyeur électrique IKA, Labortechnik type A10, (Bonn, Allemagne), muni d'un système de refroidissement. Le broyage humide s'est effectué en utilisant un Waring blender de marque Eberbach, (Michigan, USA). Les moutures sèches et humides sont passées à travers des tamis de 500  $\mu\text{m}$  et de 50-1000  $\mu\text{m}$ , respectivement.

#### 4.2 Détermination de la masse de 1000 grains

La détermination de la masse de 1000 grains est faite selon la norme NF V03-702, 1981 (AFNOR, 1991) correspondant aussi à la norme ISO 520.

Une quantité de grains de céréale exempte de toute impureté est pesée. Le nombre de grains est compté et la masse mesurée est rapportée à 1000 grains. Une autre mesure de masse pour toutes les céréales a été faite sur 1000 grains.

#### 4.3 Détermination de la masse volumique

La détermination de la masse de 1l est évaluée par la pesée des grains occupant le volume d'une éprouvette d'une capacité d'un litre.

#### 4.4 Détermination de la taille des grains

La longueur, la largeur et l'épaisseur des grains des cultivars de sorgho et de mil perlé qui correspondent respectivement au diamètre majeur (L) défini par la plus grande longueur du grain, le diamètre intermédiaire (W) défini par la plus longue perpendiculaire au diamètre majeur et le diamètre mineur (T) considéré comme étant la plus longue perpendiculaire aux deux axes, sont mesurées pour un échantillon de 30 grains à l'aide d'un pied à coulisse digital (electronic digital calliper 150 mm (6")) avec une précision de 1/100.

Le diamètre géométrique  $G_{md}$ , la sphéricité  $\emptyset$ , la superficie S et le volume V sont déduits à partir des équations Eq. (4.1), Eq. (4.2), Eq. (4.3) et Eq. (4.4) respectives (Mohsenin, 1986) :

$$G_{md} = (L W T)^{1/3} \quad (4.1)$$

$$\emptyset = G_{md}/L \quad (4.2)$$

$$S = \frac{\pi B L^2}{2L - B} \quad (4.3)$$

$$V = \frac{\pi B^2 L^2}{6(2L - B)} \quad (4.4)$$

B correspond au diamètre de la partie sphérique du grain et il est calculé par l'équation Eq (4.5) suivante :

$$B = (W T)^{1/2} \quad (4.5)$$

#### 4.5 Détermination de la texture de l'endosperme des grains

Les grains au nombre de 100 grains ont subi une coupe longitudinale à l'aide d'une lame. La surface est observée à travers une loupe et la zone farineuse est estimée par rapport à

la surface totale de la coupe. Selon le rapport, trois classes ont été définies et données par le tableau 4.1.

**Tableau 4.1.: Classes des cultivars selon la proportion de la zone farineuse ZF de l'endosperme**

Classe	1	2	3
Proportion de la zone farineuse (ZF) texture	ZF<1/4 corné	1/4 <ZF<3/4 intermédiaire	ZF≥3/4 farineux

#### 4.6 Dosage de l'humidité

La teneur en eau des farines et des amidons isolés est déterminée selon la méthode normalisée de l'AACC (1983) décrite comme suit :

Une masse de 5 g d'échantillon, pesée avec précision dans une conserve, préalablement tarée, est séchée à 130°C dans une étuve Memmert UL-40 (Schwaback, Allemagne) jusqu'à l'obtention d'une masse constante. La teneur en humidité est déterminée selon la formule Eq. (4.6) suivante :

$$\%H = [(M_2 - M_0) / M_1] \cdot 100 \quad (4.6)$$

Avec :

M<sub>0</sub> : masse de la conserve séchée et refroidie dans un dessiccateur, en g,

M<sub>1</sub> : masse de la prise d'essai, en g.

M<sub>2</sub> : masse de la conserve et de la prise d'essai après séchage, en g,

La teneur de la matière sèche est déterminée par la relation Eq. (4.7) suivante :

$$\%MS = 100 - \%H \quad (4.7)$$

#### 4.7 Dosage des cendres

La détermination de la teneur en cendres s'est faite selon la norme NF 03-720 (1981). Les cendres sont assimilées au résidu obtenu après incinération de 5g d'échantillon à 900 ±25 °C dans un four à moufle de marque Epsilon, (Michigan, Etats Unis d'Amérique). Les creusets en porcelaine sont préalablement séchés et conservés à la même température pendant 30 min, refroidi dans un dessiccateur et tarés.

#### 4.8 Dosage de l'amidon

Les méthodes polarimétriques de dosage de l'amidon sont de réalisation facile et s'appliquent particulièrement bien aux céréales et produits céréaliers (Multon 1991), c'est pourquoi la détermination du taux d'amidon s'est faite selon la méthode polarimétrique

d'Ewers modifiée et normalisée, ISO 10520 (1997). Cette méthode comprend en premier lieu la détermination du pouvoir rotatoire de la solution obtenue après traitement de l'échantillon à chaud par l'acide chlorhydrique dilué, défection et filtration. En deuxième lieu, la détermination du pouvoir rotatoire des sucres solubles dans l'éthanol à 40%.

Le protocole consiste à mettre dans une fiole 2,5 g d'échantillon finement pulvérisé en suspension dans 25 ml de solution d'acide chlorhydrique à 1,128% ; homogénéiser et rajouter un volume équivalent de la même solution. La fiole contenant la suspension est placée dans un bain-marie bouillant pendant 15 min avec une agitation énergique au cours des 3 premières min. 10 ml d'eau distillée sont rajoutés et le mélange est refroidi à température ambiante avant d'introduire 15 ml respectivement de la solution de Carrez I (21,9 g d'acétate de zinc dihydrate  $Zn(CH_3COO)_2 \cdot 2H_2O$  et 3 g d'acide acétique glacial dans 100 ml de solution) et de Carrez II (10,6 g de ferrocyanure de potassium  $K_4[Fe(CN)]_6 \cdot 3H_2O$  dans 100 ml de solution) en agitant après chaque ajout. La solution est filtrée et le pouvoir rotatoire est mesuré dans un tube de 2 dm à l'aide d'un polarimètre de type Bellingham Stanley ADP220 (Kent, Angleterre).

Le pouvoir rotatoire spécifique est pris égal à  $184^\circ$  pour les amidons de sorgho et de mil chandelle, valeur attribuée aux amidons autres que le blé, le maïs, et la pomme de terre (Multon, 1991). La formule Eq. (4.8) utilisée est la suivante :

$$\% \text{ amidon} = 9,4 (S/m_1 - S'/m_2 \cdot MS) \quad (4.8)$$

Avec :

S : pouvoir rotatoire total de la solution de l'échantillon,  
S' : pouvoir rotatoire des substances optiquement actives solubles dans l'éthanol à 40%,  
 $m_1$  : masse de la prise d'essai utilisée pour déterminer S,  
 $m_2$  : masse de l'échantillon utilisée pour déterminer S',  
MS : taux de la matière sèche de l'échantillon.

La formule Eq. (4.8) ci-dessus est déduite de la formule Eq. (4.9) suivante :

$$\% \text{ amidon} = [2000 (2N \cdot 0,665) / [\alpha]_D \cdot 100] (S - S') \quad (4.9)$$

Où :

N : poids de saccharose dans 100 ml d'eau donnant sous une épaisseur de 200 mm un pouvoir rotatoire de  $100^\circ$  saccharimétrique égale à 26,00 g. La rotation spécifique du sucrose pour une concentration de 26 g dans 100 ml est de 66,5.

#### 4.9 Dosage des sucres solubles

Les sucres solubles sont extraits à l'alcool et dosés par la méthode de phénol-acide sulfurique. La procédure est donnée par Robyt (1990) et Southgate (1976).

Une masse de 1 g de farine est mélangée à 200ml d'éthanol sous agitation pendant 4h. Le mélange est ensuite filtré. La concentration en sucres solubles dans la solution filtrée est déterminée par la méthode de phénol-acide sulfurique. Le principe de cette méthode consiste à hydrolyser des oligosaccharides en monosaccharides par l'acide sulfurique. Ces derniers sont ensuite condensés grâce au phénol donnant un complexe de couleur orange qui absorbe à la longueur d'onde de 490 nm. La procédure détaillée est comme suit :

Un volume de 0,5 ml d'échantillon est ajouté à 0,5 ml de phénol à 5% et 2,5 ml d'acide sulfurique concentré à 95 %. Le mélange est homogénéisé au vortex et maintenu au bain-marie à une température de 30 °C pendant 20 min. Après une seconde homogénéisation au vortex, la solution est laissée pendant 30 min à température ambiante.

La densité optique est mesurée à la longueur d'onde de 490 nm en utilisant un spectrophotomètre UV-Visible de marque UV-2401 PC Shimadzu (Kyoto, Japon) couplé à un ordinateur (logiciel UVProbe). Les concentrations sont déterminées à l'aide d'une courbe d'étalonnage de 0 à 100 µg de maltose/l.

#### 4.10 Dosage des protéines

##### 4.10.1 Méthode de Kjeldahl

Les teneurs en protéines dans les grains sont déterminées selon la méthode de kjeldahl (ISO 1871-1975). Cette méthode comporte une minéralisation de l'échantillon par l'acide sulfurique concentré en présence d'un catalyseur, suivie d'une distillation et d'un titrage. Le protocole est le suivant :

Une masse de 1g de mouture, pesée avec précision dans un papier filtre, est placée dans un tube en pyrex. Un volume de 20 ml d'acide sulfurique concentré à 98% est ajouté ainsi qu'une tablette de 5 g de catalyseur Missouri (composé de 0,30% de Cu, 48,80% de NaSO<sub>4</sub>, 48,90 % KSO<sub>4</sub>). Le mélange est placé dans un digesteur à 440 °C pendant 4h (2h après l'apparition de la couleur verte). Le digesteur utilisé pour cette analyse est de marque Digestor 2020 Foss Tecator Technology (Hoganas, Suède).

La solution est reprise dans le distillateur de marque Gerhardt vapodest 30 (Bonn, Allemagne), dans lequel de l'eau et de la solution de soude (400 g NaOH et 60 g de Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub> par litre) sont ajoutés automatiquement. Le distillat passe dans 50 ml d'acide borique à 4 % en

présence de l'indicateur coloré, tachiro (mélange de rouge de méthyle et de vert de bromocrésol).

La solution obtenue est titrée par une solution d'acide sulfurique 0,2 N. Le volume de la solution d'acide sulfurique consommé jusqu'à l'obtention du virage (du rouge au vert) est noté pour l'utiliser dans le calcul de la teneur en protéines. Un essai à blanc et un autre en utilisant la glycine (150 mg) sont effectués.

Le taux de protéines, rapporté à 100 g de matière sèche, est calculé à l'aide de la formule Eq. (4.10) suivante en utilisant le facteur de conversion pour les aliments (Jones 1931, Salo-Väänänen 1996).

$$\% \text{ Protéines} = \% N \cdot 6,25 \quad (4.10)$$

Où % N est le taux d'azote. Il est calculé selon la formule Eq. (4.11) suivante :

$$\% N = (V_1 - V_0) \cdot 280/P \quad (4.11)$$

Avec :

$V_1$  : volume de la solution d'acide sulfurique utilisée pour le titrage, en ml,

$V_0$  : volume de la solution d'acide sulfurique utilisée pour le titrage à blanc, en ml,

P : la masse de la prise d'essai sèche, en g,

#### **4.10.2 Méthode de combustion de Dumas**

Les taux de protéines résiduelles dans les amidons isolés sont déterminés par la méthode de combustion de Dumas AOAC (1995) à l'aide d'un système automatisé d'analyse de protéines EAS, VarioMax N/C, ELT (Le gouda, Hollande). Le même facteur de conversion est utilisé.

#### **4.10.3 Méthode de lowry**

Les teneurs des enzymes dans les solutions aqueuses commerciales et préparées au laboratoire sont déterminées par la méthode de Lowry et al. (1951).

Le sulfate de cuivre en milieu alcalin permet la formation de complexe de la protéine par le cuivre. Cette formation du complexe favorise l'oxydation de la protéine par le réactif de Folin (acide mixte phosphomolybdotungstique ( $3\text{H}_2\text{O}-\text{P}_2\text{O}_5-5\text{MoO}_3-10\text{H}_2\text{O}$ )). Ce réactif est un chromogène dont la couleur change du jaune au bleu lors de sa réduction ( $\lambda_{\text{max}} = 750 \text{ nm}$ ).

La méthode consiste à ajouter 500  $\mu\text{l}$  de solution étalon ou échantillon à analyser à 500  $\mu\text{l}$  de solution F (voir ci-dessous) et 2,5 ml de solution D et laisser agir pendant 10 min. 250  $\mu\text{l}$  de solution E sont ensuite ajoutés. Après 30 min à l'abri de la lumière, l'absorbance de

la solution est mesurée à une longueur d'onde de 750 nm. Les solutions utilisées sont préparées comme suit :

Solution A : dissoudre 2% de carbonate de sodium  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  dans une solution d'hydroxyde de sodium NaOH à 0,1N ;

Solution B : sulfate de cuivre pentahydraté  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  à 1% ;

Solution C : tartrate de potassium et de sodium à 2% ;

Solution D : mélange de 0,5 ml de la solution B et de 0,5 ml de la solution C et de 50 ml de la solution A (à ajouter dans l'ordre) ;

Solution E : réactif de Folin ;

Solution F : SDS à 10% ou eau milliQ.

La courbe d'étalonnage est effectuée en utilisant des solutions de protéines bovines BSA à des concentrations différentes comprises entre 0 et 0,2 mg/ml.

#### **4.11 Dosage des lipides totaux**

Les teneurs en lipides des céréales sont déterminées selon la méthode normalisée ISO 3947 (1977). Le principe consiste en l'hydrolyse de la mouture intégrale des grains par l'acide chlorhydrique à l'ébullition, et précipitation des produits insolubles résiduels y compris la matière grasse totale par refroidissement. La séparation de cette dernière se fait par filtration, séchage et isolement par extraction avec un solvant selon le protocole suivant :

Une masse de 10 g de mouture intégrale est mélangée à 20ml d'eau distillée. Un volume de 100 ml d'une solution d'acide chlorhydrique à 4 N chauffée à ébullition est ensuite ajouté à la suspension. Le mélange est porté à ébullition douce pendant 5 min. Après refroidissement du mélange dans un bain d'eau froide durant 30 min en agitant de temps à autre, le mélange est filtré quantitativement à travers un filtre en papier (Schleider et Schull 397 ½). Le résidu est lavé à l'eau distillée à température ambiante jusqu'à atteindre la neutralité, le papier filtre contenant le résidu est séché pendant 1h à 130 °C.

L'extraction des matières grasses est réalisée comme suit :

Le papier filtre avec le résidu est placé dans la cartouche d'extraction en fermant le col avec de l'ouate. La cartouche est placée dans la fiole d'extraction. Un volume de 150 ml d'éther de pétrole 40-60 °C est introduit dans la fiole d'extraction (contenant quelques billes de verre pour homogénéiser la chauffe) préalablement séchée et pesée à 0,1 mg près. La fiole est adaptée au soxtherm de marque Gerhard (Bonn, Allemagne) composé d'un compresseur, d'une unité de commande et d'une unité d'extraction. Après 3 heures et 30 min (durée

de l'opération d'extraction), la fiole est placée dans l'étuve à 103 °C pendant 1 heure. Une fois refroidie dans un dessiccateur, la fiole est pesée et la masse des lipides est déduite en utilisant la formule Eq. (4.12) suivante :

$$\% \text{ lipides} = 100 (m_2 - m_1) / P \quad (4.12)$$

Avec :

$m_1$  : masse de la fiole d'extraction, en g ;

$m_2$  : masse de la fiole d'extraction avec les lipides extraits, en g ;

P : la masse de la prise d'essai sèche, en g,

#### 4.12 Dosage des fibres insolubles

Le dosage des fibres est effectué selon la méthode de VAN SOEST (AOAC 991.43), méthode qui permet de déterminer les fibres insolubles par utilisation d'un détergent neutre NDF (neutral detergent fiber). Le principe consiste à solubiliser le contenu des grains broyé sous l'action du détergent de lauryl sulfate de sodium et les substances pectiniques sous l'action d'un agent chélatant. La matière amyliacée est hydrolysée par l'action respective de l' $\alpha$ -amylase Termamyl 120L et de l'amyloglucosidase (glucoamylase). Le protocole de la méthode est donné ci-dessous :

Une quantité de 0,5 g de farine de sorgho ou de mil est solubilisée dans 50 ml de solution de détergent NDF. 50  $\mu$ l d' $\alpha$ -amylase Termamyl 120L et une cuillerée de sulfite de sodium  $\text{Na}_2\text{S}$  sont ensuite ajoutés. Le mélange est porté rapidement à ébullition et laissé agir 1 h (Van Soest 1991). Le mélange est ensuite filtré à l'aide d'un creuset filtrant N°2 préalablement séché à 130 °C pendant une nuit et taré.

Le filtrat, lavé trois fois respectivement à l'eau distillée chaude et à l'alcool 75 %, est séché toute la nuit dans l'étuve à 130 °C. Il est ensuite refroidi au dessiccateur, et pesé ( $m_1$ ). Le filtrat séché est ensuite introduit dans un four à moufle Epsilon (Michigan, Etats Unis d'Amérique) à 550 °C pendant 3 heures. Il est également refroidi et pesé ( $m_2$ ).

Le détergent NDF est préparé à partir des trois solutions suivantes :

Solution I : dissolution de 18,61 g de triplex III  $\text{C}_{10}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{Na}_2\text{O}_8 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  et 6,81 g de tétraborate de sodium  $\text{NaB}_4\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$  dans de l'eau distillée ;

Solution II : dissolution de 30 g de lauryl sulfate de sodium  $\text{C}_{12}\text{H}_{25}\text{NaO}_4\text{S}$  et 10 ml de 2 éthoxyéthanol  $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{OH}$  dans de l'eau distillée ;

Solution III : dissolution de 4,56 g de di-sodium hydrogénate de phosphate  $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$  dans de l'eau distillée ;

La solution de détergent NDF est obtenue par le mélange respectif de la solution II, I et III, et complétée à 1l avec de l'eau distillée. Le taux des fibres insolubles est donné par la formule Eq. (4.13) suivante :

$$\% \text{ Fibres insolubles} = 100 (m_1 - m_2) / P \quad (4.13)$$

Les valeurs des teneurs en fibres rapportées au produit sec sont corrigées par rapport à la teneur en protéines et en cendres résiduelles après dosage des protéines et des cendres dans le résidu.

#### 4.13 Dosage des tanins

La norme F V 03-751 est appliquée pour le dosage des tanins dans les grains de sorgho et de mil chnadelle. Le principe consiste à extraire les tanins par le diméthylformamide avec agitation. Après centrifugation, addition de citrate d'ammonium et de fer (III) et d'ammoniaque à la partie aliquote du surnageant, l'absorbance de la solution ainsi obtenue est mesurée à 525 nm. La détermination de la teneur en tanins est faite en utilisant une courbe d'étalonnage en utilisant l'acide tannique dans une gamme allant de 0 à 0,5 mg/ml.

#### 4.14 Isolement de l'amidon à partir des grains de sorgho et de mil chandelle

L'extraction des amidons à partir des céréales peut se faire selon deux procédés : le broyage sec ou le broyage humide.

Le broyage sec consiste à obtenir des moutures intégrales qu'on mélange à l'eau. L'amidon est ensuite extrait. Cette méthode nécessite des broyeurs performants. La purification s'avère difficile à cause de la présence des protéines qui restent adhérentes aux granules d'amidon.

Le broyage humide nécessite un trempage préalable. Le but est de rendre les grains tendres afin de faciliter l'opération de broyage et d'éliminer les protéines solubles. Cette procédure peut durer plusieurs jours. Dans ce cas, il est important d'éviter le développement des microorganismes.

Pour nos travaux, guidés par les résultats obtenus par les chercheurs comme Pérez Sira et al. (2004), Beta et al. (2000) et Beta et Corke (2001), nous avons adopté le procédé de broyage humide. Les étapes essentielles sont le trempage, le broyage, le tamisage, la centrifugation et enfin le séchage.

Nous avons appliqué ces étapes pour isoler l'amidon des cultivars sélectionnés selon les trois méthodes suivantes :

➤ *Méthode A (Sorgho blanc et sorgho pigmenté)*

Une quantité de 200 g de grains de sorgho est trempée durant une nuit dans une solution de soude NaOH à 0,25 %. Les grains sont lavés à l'eau jusqu'à atteindre un pH neutre. Ils sont ensuite broyés à l'aide d'un Waring blender de marque Eberbach, (Michigan, Etats Unis d'Amérique) à la vitesse maximale pendant 4 min. Le mélange obtenu est passé à travers une série de tamis (1000, 355, 224, 50 µm). Le filtrat est centrifugé à 5000 tpm pendant 20 min quatre fois en renouvelant l'eau de lavage à chaque fois. La couche de protéines, fibres et lipides est raclée. L'extrait est ensuite séché à 40 °C pendant une nuit.

➤ *Méthode B (sorgho pigmenté)*

Une quantité de 100 g de grains de sorgho pigmenté est trempée dans 467 ml d'une solution d'hypochlorite de sodium NaOCl à 5,25 % et 50 g de potasse KOH et chauffée à 60°C pendant 7 min sous agitation. Le mélange est refroidi à température ambiante. Les grains sont lavés jusqu'à la décoloration et à la neutralité du pH. Ils sont ensuite broyés en présence d'un volume d'eau distillée dans le Waring blender pendant 4 min. Le mélange ainsi obtenu est soumis à une filtration, un lavage, une centrifugation, une purification et un séchage comme précisé précédemment (méthode A).

***Méthode C (mil chandelle)***

Pour l'isolement de l'amidon à partir des grains de mil perlé local et importé, les mêmes étapes de la méthode A sont appliquées à la différence que les grains sont trempés durant une nuit dans une solution de NaOH à 0,20 %.

**4.15 Dosage de l'amylose**

La méthode utilisée est celle de Morrison et Laignelet (1983). Elle est basée sur la détermination colorimétrique de l'amylose selon la couleur du complexe polyiodide. Le principe consiste à dissoudre l'amidon dans une solution d'urée-diméthylsulfoxyde U-DMSO et mesurer l'absorbance du complexe bleu de l'amylose-iodé. Le mode opératoire comporte deux étapes : la solubilisation de l'amidon et le dosage de l'amylose.

➤ *Solubilisation de l'amidon*

Une quantité correspondant à 50 mg de matière sèche d'amidon est pesée avec précision et placée dans un tube à centrifuger Falcon de 10 ml. 5 ml de la solution de U-DMSO sont ajoutés dans un rapport volumique de 1 : 9. Le mélange est homogénéisé à l'aide d'un vortex et placé dans un bain-marie à 95 °C pendant 60 min, avec agitation

régulière jusqu'à solubilisation complète des granules d'amidon. La solution est refroidie à température ambiante en évitant la formation de gel.

➤ *Détermination de la teneur en amylose*

Un prélèvement de 100 µl de l'amidon solubilisé est ajouté à 9,7 ml d'eau distillée et 200 µl d'une solution d'iode I<sub>2</sub>/KI (0,5 g d'iodure de potassium KI et 0,05 g d'iode I<sub>2</sub> dans 25 ml d'eau distillée). Les réactifs sont immédiatement mélangés et placés dans l'obscurité pendant 20 min. L'absorbance du complexe bleu formé est ensuite mesurée à 635 nm à l'aide du spectrophotomètre UV-2401 de marque Shimatzu (Kyoto, Japon).

La mise à zéro (l'étalonnage) de l'appareil se fait en utilisant l'eau dans la cellule de référence et une solution de 100µl d'U-DMSO; 9,7 ml d'eau distillée et 200 µl de la solution I<sub>2</sub>/KI. Une courbe d'étalonnage est préalablement établie avec des solutions standards contenant des proportions de 0 à 30 % d'amylose préparées à partir de mélange d'amylose de pomme de terre 95 % de pureté et d'amylopectine pur de maïs fournis par l'ICN biomedicals Inc (Ohio, Etats Unis d'Amérique).

Suite à la grande sensibilité de la méthode d'analyse, deux essais sont menés, avec deux répétitions pour chacun d'eux, afin d'évaluer le plus précisément possible le taux de l'amylose.

#### **4.16 Détermination de l'amidon endommagé**

L'amidon endommagé est déterminé en utilisant le doseur SD4 Chopin-Dubois. Le principe utilisé est celui de Medcalf et Gilles (1965), qui repose sur la détermination ampérométrique de la cinétique d'absorption d'iode par une suspension très diluée de farine. L'équation chimique de la réaction est la suivante :



Dans une suspension diluée de farine à température constante, on injecte de l'iode qui est absorbé par l'amidon endommagé et la quantité d'iode absorbée est inversement proportionnelle à l'intensité du courant circulant entre deux électrodes d'une sonde ampérométrique. La méthode est donnée par le mode d'emploi (Dubois M., note technique Chopin-Dubois). Nous présentons ci-après l'appareillage utilisé, les étapes de mesure et l'expression des résultats :

➤ *L'appareillage :*

L'appareil SD4 Chopin-Dubois est constitué de :

- une coque-autoporteuse dans laquelle vient s'enchâsser une tôle qui supporte l'alimentation électrique,
- un microprocesseur qui gère la sonde et l'ensemble de servomécanisme,
- un clavier et un afficheur à cristaux liquides
- une tête mobile où sont implantés : un embout de prélèvement, une sonde en platine, et un agitateur.

➤ *Les étapes de mesure :*

- Etalonnage de l'appareil SD4 : exécution de deux à trois essais témoins. Ces essais consistent à remplir le bol de droite avec une solution de  $\text{KIO}_3$  à 0,25 g/l. Dans le bol de gauche, sont versés respectivement 3 ml d'éthanol 90°, 100 ml d'eau distillée décarbonatée, 20 ml de HCl 1 N et 10 ml de KI à 10 g/l. Cette étape doit être effectuée en moins de 3 min après l'incorporation de l'alcool jusqu'au moment où l'essai est lancé. Une fois les deux bols placés dans les socles, l'opération est lancée. La tête de l'appareil descend sur les bols, la micropipette incorporée à l'appareil prélève 3 ml de  $\text{KIO}_3$  avant de déclencher la mise en route de l'agitateur. Au bout de 15 s d'agitation, les 3 ml de  $\text{KIO}_3$  sont injectés dans le bol de dosage (bol de gauche), la réaction est instantanée, tout comme l'initialisation du décompte des 5 min de l'essai.
- Cycle de mesure : consiste à remplir le bol de droite avec une solution de  $\text{KIO}_3$  à 0,5 g/l et dans le bol de gauche introduire précisément  $1 \pm 0,001$  g de mouture intégrale délayée dans 3 ml d'éthanol auquel sont rajoutés respectivement, l'eau distillée décarbonatée, et les solutions d'acide chlorhydrique HCl et d'iodure de potassium KI à 186 g/l avec les mêmes volumes utilisés dans les essais témoins.
- Cycle de nettoyage de la micropipette et de l'injecteur : consiste à laver la micropipette et l'injecteur à l'eau distillée et à l'éthanol 90°, remplir le bol de droite de solution de  $\text{KIO}_3$  0,25 g/l et lancer l'opération de nettoyage.

➤ *Résultats :*

Le résultat de la mesure du taux d'endommagement de l'amidon est systématiquement affiché en UCD (Unité Chopin Dubois) qui peuvent être convertis dans les unités AUD (Audidier), FAR (Farrand) ou AACC.

#### 4.17 Mesure de l'activité de l'eau

L'activité de l'eau dans les échantillons d'amidon, définie comme étant le rapport entre la pression de vapeur de l'eau du matériau et la pression de vapeur pure à la même température, est mesurée selon la norme BS (British Standard) ISO 21807 (2004), par l'appareil AQUALAB CX3 à  $20 \pm 2$  °C. La méthode consiste à remplir une capsule en plastique d'amidon à la moitié de leur capacité, à les disposer dans une chambre muni d'un thermostat réglé sur 20 °C jusqu'à atteindre l'équilibre thermique (1 h). La capsule est introduite dans l'appareil et après quelques minutes, la mesure de l'activité de l'eau s'affiche.

Préalablement, la bonne mesure de l'appareil est vérifiée en préparant de la même façon des capsules contenant les étalons suivants :

- ✓ L'eau,  $a_w=1$
- ✓ La solution de chlorure de lithium LiCl à des concentrations de :
  - 13.41 M,  $a_w = 0,25 \pm 0,003$
  - 08.57 M,  $a_w 0,500 \pm 0,003$

#### 4.18 Détermination de la cristallinité

L'analyse de la cristallinité est réalisée en utilisant un diffractomètre aux rayons X modèle BRUKER D8 ADVANCE (Karlshuhe, Allemagne) (voir figure 4.1 en annexe 2), dans les conditions suivantes : 40 Kv, 40 mA, 1600 W, configuration bragg Brento avec des miroirs parallèles de GOEBEL, équipé d'anticathode en cuivre de longueur d'onde  $\lambda_{CuK\alpha} = 1,54056$  Å, type Th/Th, étape : 0.050, temps : 6 s, température 25 °C.

L'intensité diffractée est mesurée de 5 à 35° en fonction de 2Th. L'indice de cristallinité relative est estimé selon la méthode de Hayakawa (Chakraborty et al., 2004) par la détermination du rapport de l'aire qu'occupent les 5 principaux pics de diffraction et l'aire totale délimitée par la courbe entre 8 et 35° 2Th. Les aires sont déterminés par la pesée des deux sections et rapportées à l'unité de surface en mesurant la masse d'une surface connue (Köksel et al., 1993).

#### 4.19 Observations aux microscopes des granules d'amidon

L'examen des granules d'amidon est effectué grâce aux deux types de microscopes : le microscope optique à lumière polarisé et le microscope électronique à balayage environnemental.

#### **4.19.1 Microscopie optique à lumière polarisée**

Les granules d'amidon sont dispersés dans de l'eau distillée ou une solution d'iode (0,5 g de iodure de potassium, KI et 0,05 g d'iode, I<sub>2</sub> dans 25 ml d'eau distillée). Une goutte de la suspension d'amidon colorées et non colorés est placée, respectivement, entre une lame et une lamelle. Les granules sont observés à la lumière du jour et à la lumière polarisée au microscope optique à lumière polarisé de marque Nikon (Japon) avec un grossissement de 40. L'image est traitée par le logiciel Lucia G.

#### **4.19.2 Microscopie électronique à balayage**

Une quantité infime de granules d'amidon isolés et purifiés est placée sur un ruban conducteur double adhésif afin de fixer les granules qui sont observés au microscope électronique à balayage environnemental (Environmental Scanning Electronic Microscope) modèle XL30 FEG (Field Emission Gun), Electroscan Philips couplé à un ordinateur Brilliance 80P (voir figure 4.2 en annexe 2). Le traitement de l'image s'est fait à l'aide du logiciel de control du microscope (MCL).

#### **4.20 Détermination de la distribution de la taille des granules d'amidon**

La distribution de la taille des granules d'amidon est déterminée à l'aide d'un granulomètre à diffraction laser de marque Malvern (Worcestershire, Angleterre). L'appareil est composé d'une cellule de dispersion hydro 2000S pour la voie humide (cellule utilisée dans l'analyse granulométrique de l'amidon), une autre pour la voie sèche, un appareil de diffractométrie laser et un ordinateur. Le logiciel qui traite les données est le Mastersizer 2000 laser.

Après alignement du rayon laser, la détermination des bruits parasites et du bruit de fond de l'appareil est réalisée. Quelques gouttes d'une suspension d'amidon (environ 10 %) sont versées dans la cellule de mesure. Des ultrasons sont appliqués pour disperser les éventuels amas de granules. La répartition de la taille des granules est ensuite mesurée instantanément.

Le faisceau parallèle de lumière monochromatique est dévié par les particules présentes selon leur dimension. Les résultats expriment la taille des granules en fonction du pourcentage du volume occupé. Les mesures sont répétées 3 fois et avant chaque analyse, 2 à 3 cycles de lavage sont effectués.

#### 4.21 Détermination de la couleur de l'amidon

La couleur des amidons isolés est déterminée à l'aide d'un spectrocolorimètre Miniscan de Hunterlab (Virginia, Etats Unis d'Amérique). Une plaque blanche et une autre noire sont préalablement utilisées pour étalonner l'appareil. L'illuminant utilisé est le D65 qui correspond à la lumière du jour.

#### 4.22 Mesure de la viscosité (RVA)

La viscosité des différents amidons est réalisée à l'aide d'un viscosimètre rotatif muni d'un système de chauffage RVA4 (rapid viscosimeter analyser) selon la norme ICC-Draft-Standard N°162 (1995). Ce viscosimètre, de par son paramétrage et son comportement modulable, constitue un appareil de choix pour l'étude des propriétés rhéologiques de toute une série de matrices. Il mesure la viscosité d'un mélange lors d'un cycle de chauffage et de refroidissement et détermine les propriétés gélifiantes des amidons, farines et moutures intégrales.

➤ *Description de l'appareil :*

L'appareil de marque Newport scientific (Warriewood, Australie) est composé des éléments suivants :

- une tour incluant un dispositif de mesure de la viscosité dans lequel vient se fixer un mélangeur amovible ;
- un système de chauffage et de refroidissement situé sous la tour capable de recevoir un cylindre métallique de mesure lors de l'analyse. Le système de régulation de la température nécessite le raccord de l'appareil à une conduite d'eau ;
- un cylindre métallique (canister) et un mélangeur standardisé Newport (à usage unique) ;
- un cadran digital de visualisation des paramètres de l'analyse ainsi qu'un clavier.

Le RVA est connecté à un PC. Le logiciel Thermocline for Windows permet la programmation des analyses, la visualisation en temps réel des paramètres de mesure, le stockage des données et le traitement des résultats.

➤ *Prises d'essai :*

Les analyses sont effectuées sur les amidons et les moutures intégrales. Des quantités de 3 g d'amidon (matière sèche) sont mises en suspension dans 28 g de solution et 4 g de mouture intégrale (matière sèche) dans 28,5 g de solution. Les amidons les moutures

intégrales pesés à 0,02 g près sont dispersés dans l'eau distillée. Pour certains essais, les échantillons sont mis en suspension dans une solution de nitrate d'argent 2 mM.

➤ *Procédure :*

L'eau distillée est introduite dans le cylindre métallique avec la prise d'essai. Le mélangeur, qui assure homogénéisation, est ensuite fixé sur le système de rotation et le cylindre métallique est placé dans la tour. L'analyse est lancée en poussant le système d'agitation verticalement vers le bas. L'analyse démarre automatiquement. A la fin, le système d'agitation remonte et le cylindre avec le mélangeur sont enlevés. Une autre série de mesures est effectuée pour les moutures intégrales et les amidons isolés en remplaçant l'eau par la solution de nitrate d'argent. Les programmes utilisés sont :

- Le programme VAP (Viscosimeter analyser profil), appliqué aux amidons. Il dure 35 min et le profil de la température est donné ci-dessous :

Chauffage de 50°C à 95°C	10 min,
Isotherme à 95°C	10 min,
Refroidissement de 95°C à 50°C	10 min,
Isotherme à 50°C	5 min.

- Le programme Standard 1, appliqué aux moutures intégrales. Il dure 13 min et le profil de la température est le suivant :

Chauffage de 50°C à 95°C	4,7 min,
Isotherme à 95°C	2,5 min,
Refroidissement de 95°C à 50°C	3,8 min,
Isotherme à 50°C	2,0 min.

La vitesse de rotation est de 960 tpm pendant les premières secondes afin d'homogénéiser le mélange, ensuite elle prend une valeur plus faible et constante de 160 tpm durant toute la durée de l'analyse.

#### **4.23 Détermination du pouvoir de gonflement et de l'indice de solubilité**

Le gonflement et la solubilité sont des phénomènes liés à la granulométrie, à la température de gélatinisation et au rapport amylose/ amylopectine. Le pouvoir gonflant et l'indice de solubilité sont estimés par la méthode de centrifugation (Radosta et al., 1991 ; Tang et al., 2004).

Une suspension d'amidon de l'ordre de 1,7 % (0,1g d'amidon dans 6 ml d'eau) est placée dans un tube Falcon et maintenu dans un bain-marie à différentes températures allant de 55 à 95 °C. Après 30 minutes de chauffage, l'échantillon est refroidi à température ambiante et centrifugé ensuite au moyen d'une centrifugeuse BECKMAN modèle J2-21 (California, Etats-Unis d'Amérique) à 8000 tpm pendant 20 min. Tang et al (2004) ont utilisé la solution de nitrate d'argent  $\text{AgNO}_3$  afin d'inhiber l'activité  $\alpha$ -amylasique. Mais vu que cette activité n'est pas très importante dans les amidons étudiés, nous avons utilisé l'eau distillée.

Le liquide surnageant est transvasé dans une conserve préalablement tarée et sa matière sèche est déterminée par séchage dans l'étuve à 130 °C jusqu'à obtenir une masse constante. Rapportée à 100 g de matière sèche d'amidon, elle donne l'indice de solubilité dans l'eau désigné par WSI (water solubility index).

Le gel formé et sédimenté est pesé. Sa masse, rapportée à la matière sèche de l'amidon utilisé, donne le pouvoir de gonflement désigné par SP (Swelling Power).

#### **4.24 Analyse calorimétrique différentielle à balayage DSC**

Le comportement thermique des échantillons d'amidon est évalué au moyen d'un analyseur enthalpique différentiel DSC 2920 (TA Instruments, New Castle, USA).

L'appareil de mesure DSC (Differential scanning calorimetry) (voir figure 4.3 en annexe 2) est calibré en température et en enthalpie avec l'eicosane ( $T_d = 36,8^\circ\text{C}$  et  $\Delta H_d = 247,4 \text{ J/g}$ ) et l'indium ( $T_d = 156,6^\circ\text{C}$  et  $\Delta H_d = 28,71 \text{ J/g}$ ). Les mesures calorimétriques sont conduites sur des échantillons de masse très voisine de 5 mg dispersés 1 h auparavant dans 10  $\mu\text{l}$  d'eau distillée. Les échantillons, placés dans des capsules hermétiques d'aluminium, sont ensuite soumis à une montée en température de 10 à 120 °C, à la vitesse de 5 °C/min. Une capsule vide est utilisée comme référence. Deux à trois répétitions sont réalisées par échantillon.

La température de début de dénaturation ( $T_d$ ), la température de dénaturation ( $T_{\text{max}}$ ) et l'enthalpie de dénaturation ( $\Delta H_d$ ) sont déterminées par l'analyseur à partir des courbes enregistrées.

#### **4.25 Détermination des réactivités des amidons de sorgho et de mil**

##### **4.25.1 Recherche de l'activité $\alpha$ -amylasique endogène**

Pour mettre en évidence la présence ou l'absence de l'activité de l' $\alpha$ -amylase endogène, des essais de viscosité, selon le mode opératoire cité précédemment (§ 4.22),

sont menés sur les moutures intégrales des amidons de sorgho et de mil chandelle, respectivement en suspension dans l'eau et dans une solution de nitrate d'argent.

#### 4.25.2 Matériel et prétraitements des moutures intégrales des grains de sorgho et de mil

##### ➤ Substrats amylicés testés

Les substrats d'amidon utilisés dans les différents essais sont les moutures intégrales et prétraitées de sorgho blanc, de sorgho pigmenté et de mil chandelle cultivés à In Salah (2004) ainsi que celles du mil chandelle importé d'Agadez (2004). Les méthodes de prétraitements des moutures préconisées pour déprotéiniser, délipider et isoler les amidons sont rassemblées au tableau 4.2 et les amidons purs commerciaux choisis sont donnés au tableau 4.3.

**Tableau 4.2: Prétraitements des moutures intégrales de sorgho et de mil chandelle**

Substrat amylicé	Méthode de prétraitement
Mouture intégrale de sorgho blanc d'In Salah 2004 : MSBI04, Mouture intégrale de mil chandelle d'In Salah 2004 : MMI04	Broyage à sec des grains à l'aide d'un broyeur électrique IKA Laborstechnik A10.
Mouture intégrale MSBI04, MMI04 déprotéinisée	*Hydrolyse de la mouture (4 g) par la pepsine à 4 g/l, pH=2,5 ; T=50°C, filtration, séchage du résidu à 40°C. *Hydrolyse de la mouture par la protéase type XIV (5,8U/mg) à 10g/l, T=37°C, 4h, filtration séchage à 40°C.
Mouture intégrale MSBI04, MMI04 délipidée	Solubilisation des lipides dans 50 ml d'hexane (5 x 10ml) à 35°C, filtration et séchage du résidu à 40°C.
Mouture intégrale MSBI04, MMI04 déprotéinisée et délipidée	Hydrolyse des protéines par la pepsine suivit de la solubilisation des lipides par l'hexane.
Amidon isolé : ASBI04, AMI04	méthode de Siera-Perez (2004) modifiée

**Tableau 4.3: Source, fournisseur et solubilité des amidons purs testés.**

Echantillon	Désignation	Source	Fournisseur	Solubilité
Amidon pur	ST <sub>1</sub>	Pomme de terre	-	Soluble
Amidon pur	ST <sub>2</sub>	Pomme de terre	Merck (A1252)	Soluble
Amidon pur	ST <sub>3</sub>		Labosi (A4725301)	Soluble
Amidon riche en amylose	ST <sub>4</sub>	Maïs	Sigma (S-4180)	Peu soluble
Amylopectine	ST <sub>5</sub>	Maïs	Sigma (S-6976)	Soluble
Amidon pur	ST <sub>6</sub>	Maïs	Prolabo 21145-296	Peu soluble
Amidon pur	ST <sub>7</sub>	Pomme de terre	Fluka 85650	Partiellement soluble
Amidon pur	ST <sub>8</sub>	Blé	Calbiochem Merck	Soluble
Amidon pur	ST <sub>9</sub>		Calbiochem Merck	Très soluble

➤ *Enzymes testées*

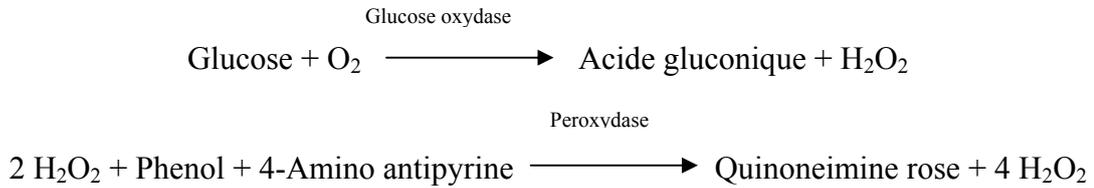
Les amylases testées sur les différents amidons sont données au tableau 4.4 ci-dessous. L' $\alpha$ -amylase salivaire humaine est préparée au laboratoire après nettoyage et rinçage répété de la bouche à l'eau distillée, remplissage de cette dernière à l'eau distillée, maintien de l'eau dans la bouche pendant 2 à 3 min et enfin filtration de la solution à travers une couche de Ouates (Gracheva et al., 1982). La solution initialement préparée, dont la concentration  $[E_4]_{p_0}$  est déterminée par la méthode de Lowry (Lowry et al., 1951) est ensuite diluée.

**Tableau 4.4 : Source, fournisseur et activité des enzymes étudiées**

Enzyme	Dés	Source	Fournisseur	Activité	Unité de l'activité
$\alpha$ -amylase	E <sub>1</sub>	fongique <i>Aspergillus Oryzae</i>	Fluka (10065)	26 U/mg	$\mu$ mole de maltose libéré par minute par mg d'enzyme à pH= 6 ; T= 25 °C
$\alpha$ -amylase	E <sub>2</sub>	bactérienne <i>Bacillus Subtilis</i>	Fluka (10070)	55 U/mg	$\mu$ mole de maltose libéré par minute par mg d'enzyme à pH= 6 ; T= 25 °C
Taka-diaastase	E <sub>3</sub>	fongique <i>Aspergillus Oryzae</i>	Fluka (86250)	1,6 U/mg	$\mu$ mole de maltose libéré par minute par mg d'enzyme à pH= 6 ; T= 25 °C
$\alpha$ -amylase salivaire	E <sub>4</sub>	humaine	-	-	
Amyloglucosidase	E <sub>5</sub>	fongique <i>Rhizopus Mold</i>	Sigma (A7255)	23000 U/g	mg de glucose libéré après 3minutes par g d'enzyme à pH= 4,5 ; T= 55 °C
$\alpha$ -amylase thermostable	E <sub>6</sub>	-	Sigma (A3306)		Maintient plus de 98% de son activité après 60min à pH= 6,2 ; T= 85 °C
$\alpha$ -amylase Termamyl®300L Type DX	E <sub>7</sub>	bactérienne <i>Bacillus Lichenformis</i>	Novozyme s A/S (AYNO33 )	300 KNU/g	Kilo Novo Unit : quantité d'enzyme qui hydrolyse 4870 mg (MS) d'amidon soluble Merck par heure par g d'enzyme à pH= 5,6 ; T= 37 °C et Ca <sup>2+</sup> 0,3 mM

### 4.25.3 Méthode enzymatique de dosage du glucose

La méthode de dosage repose sur l'action de deux enzymes à savoir la glucose oxydase et la peroxydase suivant les deux équation de réactions suivantes :



La méthode consiste à dissoudre le lyophilisat du réactif composé de glucose oxydase 10000 U/l, peroxydase 1000 U/l et amino 4-antipyrine 2,6 mM dans la solution tampon tris pH=7 ; 100 mM et phénol 0,3mM. Le réactif et le tampon sont présentés sous forme de kit pour 1000 tests fournis par Biomagreb.

Un volume de 1ml de la solution préalablement préparée et protégée de la lumière, sont mélangé à 10 µl de standard ou d'échantillon et incubés pendant 10 min à 37 °C ou 30 min à 20-25 °C.

L'absorbance est ensuite lue à 505 nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV-2401. La coloration est stable 30 min. La courbe d'étalonnage est établie pour des solutions de glucose de concentration allant de 0 à 100 µg/ml (Dingeon, 1975).

### 4.25.4 Méthode colorimétrique de dosage des sucres réducteurs

#### 4.25.4.1 Méthode colorimétrique DNS

Ce dosage a été mis au point par Bernfeld en 1955. Il utilise l'acide 3,5-dinitrosalicylique (Acide 2-hydroxy 3,5-dinitrobenzoïque  $\text{C}_7\text{H}_4\text{N}_2\text{O}_7$  ou DNS) à température élevée, en milieu basique (Southgate, 1976). En présence de sucres réducteurs dans ces conditions, l'acide de couleur jaune-orangée est réduit en acide 3- amino-5-nitrosalicylique de couleur rouge orangée.

La méthode consiste à introduire dans des tubes à essais respectivement 1 ml d'eau distillé, un volume de 1 ml d'étalon ou d'échantillon convenablement dilué et 1 ml de réactif DNS. Le mélange est homogénéisé au vortex et maintenu 15 min dans un bain-marie bouillant puis refroidi rapidement pour arrêter la réaction. Un volume de 9 ml d'eau distillée est ensuite rajouté. L'absorbance est lue à 540 nm. Une courbe d'étalonnage est établie pour des solutions de concentrations en maltose allant de 0 à 1 mg/ml.

Le réactif DNS est préparé en mélangeant dans l'ordre 20 ml d'acide dinitrosalicylique à une concentration de 96 mM et 12 g de tartrate de sodium et de potassium

dissous dans 8 ml de solution de soude 2 N. Le mélange est complété à 40 ml par de l'eau distillée. Le réactif ainsi obtenu se conserve à température ambiante et à l'abri de la lumière.

#### 4.25.4.2 Méthode colorimétrique de Somogyi-Nelson

La méthode consiste à ajouter 1 ml d'étalon ou d'échantillon contenant entre 10 à 75 nmoles de sucres réducteurs à 1 ml de réactif D. Le mélange est chauffé dans un bain-marie bouillant pendant 20 min et refroidi ensuite rapidement. 1 ml de réactif C est rajouté et laissé agir pendant 10 min. On complète à l'eau distillée jusqu'à 5 à 25 ml et on mesure l'absorbance à 600 nm. Une courbe d'étalonnage est établie pour des solutions de concentrations en maltose allant de 0 à 1 mg/ml.

Les solutions utilisées sont préparées comme suit :

##### Réactif A :

Dissoudre dans 1 l d'eau distillée les produits suivants :

Carbonate de sodium	25 g
Tartrate de sodium et de potassium	25 g
Bicarbonate de sodium $\text{Na}_2\text{CO}_3$	20 g
Sulfate de sodium $\text{Na}_2\text{SO}_4$	200 g
Eau distillée	qsp 1 l

##### Réactif B

Dissoudre dans 200 ml d'eau distillée les produits suivants :

Sulfate de cuivre pentahydraté	30 g
Acide sulfurique concentré	4 gouttes
Eau distillée	qsp 200 ml

##### Réactif C

Arséniate de sodium $\text{Na}_2\text{HAsO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	3 g	dans 25 ml d'eau distillée
Acide sulfurique concentré	21 ml	
Molybdate d'ammonium	25 g	
Eau distillée	q.s.p.	500 ml

##### Réactif D

Réactif B, 1 ml et réactif A, 25 ml

#### 4.25.5 Méthode colorimétrique de dosage de l'amidon résiduel à l'iode

L'amylose contenu dans l'amidon en présence de l'iode forme un complexe de couleur bleu dont l'absorbance à  $\lambda=656$  nm est linéaire à sa concentration dans un intervalle bien déterminé (Gracheva et al., 1982).

La méthode consiste à ajouter 0,1 ml d'échantillon à 10 ml de la solution d'iode. Le mélange est homogénéisé au vortex et laissé à l'obscurité pendant 20 min. l'absorbance est ensuite lue à 656 nm.

Solution d'iode utilisée est préparée comme suit :

Solution mère :

Diode I <sub>2</sub>	0,5 g
Iodure de potassium KI	5 g
Eau distillée	q.s.p. 200 ml

Solution de travail :

Dilution de 2ml de la solution mère dans 100ml d'acide chlorhydrique 0,1N.  
L'absorbance de la solution doit être égale à  $0,16 \pm 0,01$  à 453 nm.

#### 4.25.6 Méthode de détermination de l'activité enzymatique

##### 4.25.6.1 Prétraitement de la solution d'amidon

La solution de mouture intégrale ou d'amidon avec une concentration de 1% (m/v) d'amidon (matière sèche) de volume égale à 10 ml est maintenue dans un bain-marie bouillant pendant 15 min afin d'assurer la solubilisation de l'amidon et faciliter sa dégradation enzymatique.

##### 4.25.6.2 Essais d'hydrolyse enzymatique

Les essais sont effectués dans un bioréacteur composé d'un tube en pyrex de 50 ml ou de 25 ml de capacité dans lequel se fait la réaction selon les deux méthodes suivantes à température constante grâce à un bain-marie muni d'un thermostat.

##### 4.25.6.3 Méthode de détermination de l'endoaction des amylases

L'activité enzymatique de liquéfaction (endoaction) est évaluée selon la méthode standard de détermination de l'activité amylolytique : Colorimetric Method GOST 20264.4-74 (Gracheva et al., 1982). Le principe de la méthode est basé sur l'hydrolyse enzymatique de l'amidon en dextrines de masses moléculaires variables. L'amidon résiduel est évalué par la méthode colorimétrique à l'iode.

- *Mode opératoire*

Un volume de 10 ml de la solution de mouture intégrale ou d'amidon de concentration en amidon de 1% (m/v) prétraitée, comme cité au § 4.24.6.1 et refroidi à 30 °C est versée dans un tube à essai avec couvercle et placée dans un bain-marie (30,0 ± 0,1 °C) pendant une durée de 5 à 10 min. 5 ml de la solution d'enzyme sont ajoutés et le milieu réactionnel est maintenu à 30°C, pH= 4,7 (tampon acétate) pendant 10 min. Pour le tube témoin la solution d'enzyme est remplacée par de l'eau distillée. Le dosage de l'amidon se fait selon la méthode citée au § 4.24.5.

La quantité d'amidon hydrolysé est déterminée par la formule (Eq. 4.14) suivante:

$$m = 0,1 \left( \frac{A_0 - A}{A_0} \right) \quad (4.14)$$

Avec

A<sub>0</sub>: valeur de l'absorbance de la solution témoin

A: valeur de l'absorbance de la solution après hydrolyse

La formule est valable pour des valeurs de rendement d'hydrolyse comprises dans l'intervalle 20-70 % (m/m) (Gracheva et al., 1982). Afin d'étudier la cinétique dans les conditions convenables et appliquer la formule, nous avons préparé des solutions avec des concentrations d'enzymes qui donnent des rendements d'hydrolyse appartenant à cet intervalle.

Les vitesses initiales sont déterminées selon l'équation (Eq. 4.15) suivante :

$$V_0 = [(A_0 - A) / A_0] * [S]_0 / 10 \quad (4.15)$$

#### 4.25.6.4 Méthode de détermination de l'exoaction des amylases

L'activité enzymatique de saccharification (l'exoaction) est évaluée selon la méthode Sigma (1997). Cette méthode consiste à hydrolyser l'amidon en sucres réducteurs. L'activité est exprimée en µmole de maltose formé par 1 mg d'enzyme par minute à 20 °C et pH= 6,9 (tampon phosphate).

- *Mode opératoire*

Un volume de 1ml de la solution de mouture intégrale ou d'amidon 1 % (m/v) prétraitée comme cité au § 4.24.6.1, est versé dans un tube à essai avec couvercle auquel sont ajoutés 1ml de la solution d'enzyme. Après agitation, le tube est placé dans un bain- marie

à 20 °C pendant 3 min. Dans le tube témoin, la solution d'enzyme a été remplacée par de l'eau distillée.

Un prélèvement de 1ml du mélange réactionnel a été analysé selon la méthode de DNS donnée au §2.24.4.1.

Les vitesses initiales de l'hydrolyse enzymatique (saccharification) sont déterminées selon l'équation (*Eq. 4.16*) suivante

$$V_0 = C_{\text{maltose libéré}}/3 \quad (4.16)$$

TROISIÈME PARTIE  
RÉSULTATS ET DISCUSSION

## **CHAPITRE 5 : CARACTÉRISATIONS AGROMORPHOLOGIQUE DES PLANTES ET PHYSICOCHIMIQUE DES GRAINS**

L'objectif principal a consisté à caractériser et à valoriser des cultivars locaux de sorgho et de mil chandelle par hydrolyse enzymatique de leurs amidons en vue d'obtenir des produits à haute valeur ajoutée (glucose, maltose, dextrines ...).

Une prospection et un échantillonnage dans les régions de Tidikelt (In Salah) et d'Ahaggar (Tamanrasset) a permis de recueillir et de sélectionner, en tenant compte de la disponibilité, la prédominance et la diversité génotypique, un certain nombre de cultivars sur lesquels a été réalisée une caractérisation par l'étude morphologique de la plante, la détermination des caractéristiques structurales, de la composition chimique des grains et par l'étude des propriétés physicochimiques, thermiques et fonctionnelles de leurs amidons isolés.

Une étude cinétique de l'hydrolyse enzymatique des amidons isolés et non isolés a fait l'objet de la deuxième partie par l'étude de leur réactivité vis-à-vis des amylases. Les conditions de mise en évidence des activités enzymatiques, les facteurs influençant la réaction d'hydrolyse et des paramètres cinétiques ont été déterminées.

### **5.1 Prospection et échantillonnage**

#### **5.1.1 Présentation des régions d'échantillonnage**

Les régions d'études sélectionnées sont : le Tidikelt (In Salah) et l'Ahaggar (Tamanrasset). Une description de ces régions, représentées sur la carte d'Algérie présentée en annexe 3 à la figure 5.1, est donnée ci-dessous.

#### **❖ Tidikelt**

C'est une vaste région désertique située à 1300 Km au sud d'Alger dans la wilaya de Tamanrasset. Elle couvre près de 100000 km<sup>2</sup>. L'oasis d'In Salah est la plus importante de la région. Elle est caractérisée par un climat du Sahara central, chaud l'été, tempéré l'hiver et très sec en toute saison. Le vent est quasi-constant et souvent chargé de sable (Mehdi, 2000).

Les moyennes mensuelles de températures maximales et minimales ainsi que les cumuls mensuels des précipitations relevées sous abris par l'ONM<sup>1</sup> (Dar El-Beida) à la station d'In Salah (altitude : 268 m, latitude : 27°14 N, longitude : 02° 30 E) au cours de la période 2000-2006 sont donnés aux tableaux 5. 1 et 5. 2.

---

<sup>1</sup> ONM : Office Nationale de Météorologie

**Tableau 5.1: Valeurs moyennes mensuelles des températures minimales et maximales (en °C) relevées à la station d’In Salah au cours de la période 2000-2006**

Année	Mars	Avri	Mai	Juin	Juil	Aout	Sept	Octo	Nov
2000	14,7-30,8 22,8	19,2-36,0 27,6	24,3-39,0 31,6	27,6-42,5 35,0	30,6-46,2 38,4	29,7-44,3 37,0	26,2-42,0 34,1	18,5-32,6 25,6	12,5-29,4 20,9
2001	15,5-34,3 24,9	16,7-32,8 24,8	22,3-39,2 30,7	28,6-44,7 36,7	29,8-47,1 38,4	29,5-44,4 37,0	27,7-44,0 35,9	23,7-37,7 30,7	13,1-29,0 21,0
2002	14,5-30,7 22,6	18,5-32,7 25,6	24,3-40,0 32,1	28,5-43,4 36,0	31,9-47,5 39,7	31,9-46,5 39,2	27,3-42,1 34,7	20,6-35,3 28,0	11,3-27,4 19,4
2003	14,5-30,2 22,3	18,3-34,1 26,2	24,5-40,8 32,6	28,4-43,2 35,8	31,4-46,4 38,9	29,3-43,6 36,5	26,7-41,4 34,1	22,4-38,7 30,5	13,9-28,1 21,0
2004	14,4-30,7 22,6	17,6-33,2 25,4	19,2-36,2 27,7	27,1-43,4 35,3	30,1-44,9 37,5	30,5-45,7 38,1	25,1-39,9 32,5	22,0-38,1 30,1	13,2-26,5 19,8
2005	14,3-30,1 22,2	19,3-35,8 27,5	26,6-42,4 34,5	28,5-42,7 35,6	31,5-47,3 39,4	28,9-45,5 37,2	26,9-42,0 34,4	22,5-36,9 29,7	15,7-28,9 22,3
2006	13,4-31,5 22,4	20,7-38,0 29,3	25,5-40,3 32,9	29,2-43,9 36,5	30,4-45,3 37,9	30,2-45,8 38,0	25,0-40,3 32,6	20,6-35,8 28,2	13,5-28,8 21,2

**Tableau 5.2: Valeurs moyennes des cumuls mensuels des précipitations (en mm) relevées à la station d’In Salah au cours de la période 2000-2006**

Année	Mars	Avri	Mai	Juin	Juil	Aout	Sept	Octo	Nov	Annuel.
2000	0,1	0,1	2,9	0,0	0,1	0,1	0,0	0,6	0,0	3,9
2001	0,0	10,8	0,0	0,1	0,0	0,0	0,2	0,0	0,0	11,1
2002	0,0	0,2	0,3	0,1	0,2	0,0	0,4	1,0	0,0	2,2
2003	0,1	0,1	0,0	0,2	0,0	1,0	0,2	2,9	3,3	29,3
2004	1,4	3,3	0,2	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,3	9,4
2005	0,1	0,0	0,1	0,0	0,0	0,2	0,1	7,2	6,2	14,1
2006	0,0	0,2	0,8	0,1	0,0	0,0	4,8	0,0	0,0	7,1

Du point de vue hydrogéologique, la région est caractérisée par un aquifère continental intercalaire dit albien parmi les plus grands au monde. Les niveaux aquifères peuvent se résumer en sable, gravier, grès rouge. Cet aquifère peut être libre (exploité par des fougars) ou captive (forage artésien de la région d’Igosten) (Mehdi, 2000). La pluviométrie est très faible, elle ne dépasse pas, en moyenne annuelle, 29,3 mm/an (période 2000-2006) (ONM, Dar el Beida).

#### ❖ *Ahaggar*

L’Ahaggar est une région de la wilaya de Tamanrasset occupée par de nombreuses montagnes. Elle couvre une superficie d’environ 500000 km<sup>2</sup>. Elle est située à 1000 km de la région d’Agades du Niger. Les frontières Algéro-Nigérienne sont à 430 km au sud de Tamanrasset.

L’Ahaggar est caractérisé par un climat saharien : très sec. Les sols ont un caractère sableux, salé, argileux et montagneux. Les moyennes des températures annuelles est de 22°C

l'écart journalier peut atteindre 23 °C. La pluviométrie est faible, elle atteint, en moyenne annuelle, 170 mm/an (période 2000-2006) (ONM, Dar el Beida).

En plus des précipitations, les sources hydriques sont diverses, 95 % sont d'origine souterraine (puits artésiens) et le reste est d'origine superficielle.

Les moyennes mensuelles de températures maximales et minimales ainsi que les cumuls mensuels des précipitations relevées sous abris par l'ONM (Dar El-Beida) à la station de Tamanrasset (altitude : 1362 m, latitude : 22°48 N, longitude : 05° 26 E) au cours de la période 2000-2006 sont donnés aux tableaux 5. 3 et 5. 4 suivants :

**Tableau 5.3: Valeurs moyennes mensuelles des températures minimales et maximales (en °C) relevées à la station de Tamanrasset au cours de la période 2000-2006**

Année	Mars	Avri	Mai	Juin	Juil	Aout	Sept	Oct	Nov
2000	10,2-26,3 18,3	16,9-32,9 24,9	20,7-34,7 27,7	21,8-34,4 28,1	22,5-35,4 28,9	22,3-34,4 28,4	19,6-33,6 26,6	16,9-29,4 23,2	9,8-25,3 17,6
2001	11,3-28,6 20,0	13,4-30,1 21,8	19,2-34,1 26,6	22,5-35,9 29,2	23,0-36,3 29,6	23,1-35,0 29,1	21,5-34,9 28,2	16,1-28,6 22,3	9,9-25,6 17,7
2002	11,7-26,7 19,2	16,0-30,3 23,2	21,6-34,5 28,1	23,0-35,9 29,4	23,6-36,8 30,2	23,6-36,0 29,8	22,6-34,9 28,8	16,4-27,6 22,0	10,1-24,9 17,5
2003	10,1-26,3 18,2	16,2-31,0 23,6	19,9-34,5 27,2	22,5-34,9 28,7	24,4-35,8 30,1	22,6-34,4 28,5	22,1-33,9 28,0	17,6-30,8 24,2	11,6-26,3 19,0
2004	11,3-25,8 18,5	17,1-31,3 24,2	19,1-33,8 26,4	22,5-35,2 28,9	22,5-34,9 28,7	23,3-35,6 29,4	20,1-33,4 26,7	16,9-30,2 23,6	10,5-25,4 18,0
2005	13,5-26,6 20,0	17,6-32,3 24,9	21,2-34,8 28,0	22,4-34,6 28,5	23,9-36,5 30,2	23,0-35,7 29,4	21,7-34,3 28,0	18,0-30,5 24,2	11,7-25,6 18,7
2006	11,1-28,1 19,6	16,8-32,1 24,4	20,3-34,4 27,4	22,8-35,7 29,3	23,1-35,7 29,5	23,5-36,3 29,9	21,4-34,2 27,8	17,4-30,2 23,8	10,1-23,9 17,0

**Tableau 5.4: Valeurs moyennes des cumuls mensuels des précipitations (en mm) relevées à la station de Tamanrasset au cours de la période 2000-2006**

Année	Mars	Avr	Mai	Jui	Juil	Aou	Sept	Octo	Nov	Dec	Annuel.
2000	0,0	0,0	0,1	8,6	8,0	0,9	8,9	1,1	0,0	0,0	27,7
2001	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	7,3	0,6	0,0	0,0	0,0	7,9
2002	0,0	0,8	2,3	0,0	3,0	33,0	1,0	80,2	0,0	0,0	120,3
2003	0,0	0,0	0,0	14,8	1,0	27,1	2,4	1,4	2,3	0,0	49,9
2004	0,0	0,0	0,0	2,9	12,3	6,1	0,0	0,0	0,0	0,6	23,2
2005	33,5	0,1	0,3	68,3	0,0	3,6	11,3	32,1	0,0	0,0	170,4
2006	0,0	0,0	0,1	3,1	26,5	2,2	10,9	11,9	0,0	0,0	60,5

#### ❖ Agadez

C'est la région steppique et désertique du Niger. La pluviométrie pour la période 2000-2007 varie entre 247,3 et 52,8 mm/an, avec une moyenne de 147,0 mm/an d'après l'OMN<sup>2</sup>).

<sup>2</sup> OMN : Office de Météorologie du Niger

Le Niger, zone de domestication du mil, renferme une large diversité génétique pouvant jouer un rôle essentiel dans le développement de cultivars productifs. La variabilité au sein des écotypes locaux pourrait être exploitée dans le développement des pools de gènes avec une large base génétique (Bezançon et Pharm, 2004).

### **5.1.2 Prospection des régions et échantillonnage des cultivars**

Depuis 2000, date du début des travaux de recherche sur la valorisation des biopolymères de céréales locales initiés par notre équipe de recherche, plusieurs visites de prospection et d'échantillonnage ont été effectuées dans les deux régions du sud d'Algérie : le Tidikelt et l'Ahaggar. Des travaux de caractérisation morphologique des plantes et physicochimique des grains ont été effectués in situ et au laboratoire.

Des entretiens avec les cultivateurs et les habitants sur la disponibilité, la diversité génétique (variabilité) et les utilisations des grains dans chaque région ainsi que les pratiques agricoles ont été menés. Les informations recueillies et les observations faites sur place ont révélé l'existence, dans les deux régions, de plusieurs cultivars de sorgho et de mil chandelle.

Des échantillons des cultivars ont été collectés et conservés au laboratoire. Les descripteurs de classification des groupes et des cultivars de sorgho et de mil chandelle dans les deux régions d'études selon les cultivateurs reposent sur les critères suivants :

➤ l'origine des semences (graines) : comporte les régions d'In Salah (Tidikelt), Tamanrasset (Ahaggar), Touat et Essoudane<sup>3</sup>. Selon ce critère, les cultivars de sorgho et de mil recensés à In Salah et Tamanrasset sont classés en groupes locaux et groupes introduits (ou domestiqués). Chaque groupe est constitué de plusieurs cultivars :

- groupes locaux qui sont d'origine locale, connues par les agriculteurs ;
- groupes introduits dans chaque région à partir des zones limitrophes. Nous avons trouvés, à Tidikelt, des cultivars d'origine d'Ahaggar, de Touat et des pays du Sahel désigné par Essoudane. À Ahaggar, des groupes introduits sont d'origine de Tidikelt, de Touat et des pays du Sahel.

➤ la longueur de la tige des sorghos :

- les cultivars à tige longue
- les cultivars à tige courte.

---

<sup>3</sup> Essoudane ou Soudan : désigne la région du Sahel comportant les pays limitrophes du Niger, Mali et Burkina Faso

- la couleur des glumes ou des épis des sorghos:
  - sorgho blanc,
  - sorgho blanc jaunâtre
  - sorgho rouge
  - sorgho mixte (blanc et rouge à rose)
- Longueur des soies des mils chandelle :
  - Cultivars à soies longues
  - Cultivars à soies courtes
- La présence ou l'absence des soies

Des cultivars récoltés dans d'autres pays (Niger, Mali et USA) sont importés et commercialisés dans les régions sud d'Algérie (In Salah, Tamanrasset, Ghardaïa). Nous avons analysé un cultivar de mil chandelle cultivé à Agadez et un cultivar de sorgho fortement pigmenté cultivé aux USA, qui appartient à la race Sudan grass (*Sorghum Bicolor* subsp. *Drummondii*).

Dans les régions visitées, le mil chandelle est destiné à l'alimentation humaine et animale alors que le sorgho est destiné presque totalement à l'alimentation animale. La distinction entre ces groupes locaux et domestiqués s'est faite sur la base des différences des caractéristiques morphologiques, des utilisations préconisées et des appellations données par les habitants. Les appellations les plus fréquentes sont reprises au tableau 5.5.

Dans la littérature, la présence de l'espèce *P. Typhoides* a été signalée en Algérie (Pernes 1984) et décrite par Gast et Adrian (1965) ainsi que la présence du sorgho à balai (Cerighelli, 1955). Les recherches en cours, dans notre laboratoire ont identifié, selon la classification de Harlan et de Wet, l'existence de la race *Durra*, qui est prédominante, la race *Bicolor* et la race intermédiaire *Caudatum-Durra*. La culture des races de *Caudatum*, *Bicolor* et *Durra*, a été déjà rapporté par Cerighelli (1955).

**Tableau 5.5 : Nom scientifique et commun des groupes inventoriés de sorgho et mil**

Nom scientifique	Nom commun local		Nom commun selon la FAO
	Tidikelt	Ahagggar	
<b>Sorgho</b>			
<i>Sorghum bicolor</i> (L.) Moench	tafsout elbeida In Salah, tafsout lemkhaltta In Salah, tafsout lhamra In Salah	tallak ouan hagggar, tafsout lhamra, abora	sorgho, grand mil, herbe de guinée, kafir, dura, mtama, jowar, cholam, koaliang, milo, milo-maïs
<b>Mil chandelle</b>			
<i>P. glaucum</i> , <i>P. americanum</i> , <i>P. typhoides</i>	cultivars locaux : bechnet In salah, bachna baldia maghrout (sans soies) perlé, bechna baldia maghrout (avec soies), elbachna saffra (sans soies), elbachna saffra (avec soies). cultivars domestiqués : bachnet essoudane mkhaltta (avec soies), bachnet essoudane touila , bachnet essoudane laksira	cultivars locaux : bechnet ouan hagggar, Enélé ouan Targa, ouan hagggar, Enélé ouan Djanet, Enélé ouan Tidikelt. cultivars domestiqués : bechnet ouan Agadèz, bechnet ouan Taboutaqt, bechnet ouan Tahoua, bechnet ouan Damergou	mil chandelle, mil perlé, mil à spicules, bajra, cumbu

## 5.2 Caractérisation agromorphologique de quelques cultivars de sorgho et de mil chandelle

### 5.2.1 Sorgho de la région de Tidikelt et d’Ahagggar:

La plupart des cultivars de sorgho cultivé dans les deux régions appartiennent à l’espèce *Sorghum bicolor* (L.) Moench, plante herbacée annuelle de la famille des poacées. Elle présente une grande diversité morphologique. On distingue dans ces régions deux groupes de sorgho (sorgho local et sorgho introduit).

#### 5.2.1.1 Sorgho de la région de Tidikelt

##### *Sorgho local (Tafsout el beldia)*

Le travail in situ nous a permis de distinguer plusieurs cultivars parmi les cultures locales du sorgho:

##### *a. Groupe de sorgho local long*

Il est appelé localement Tafsout el beldia ettouila (figures 5.2). Il se distingue par la longueur de sa tige qui peut atteindre jusqu’à 2,5 m, un feuillage abondant et des épis de couleurs différentes. Nous avons distingué les cultivars de sorgho local long à épi blanc, sorgho local long à épi rouge et Sorgho local long à épi mixte (blanc et rouge).



**Figure 5.2: Sorgho blanc local long de Tidikelt**



**Figure 5.3 : Sorgho pigmenté local court de Tidikelt**

*b. Groupe de sorgho local court*

Il est appelé localement tafsout el beldia el habta. Il se caractérise par une tige courte inclinée et par des épis de couleurs similaires à celles des cultivars du sorgho local long (figures 5.3) à savoir le sorgho local court à épi blanc, le sorgho local court à épi rouge et le sorgho local court à épi mixte (blanc et rouge).

*Sorgho introduit (Tafsout Essoudane)*

Il est représenté à la figure 5.4, et se caractérise par une tige longue à feuillage abondant et à épi rouge dispersé.



**Figure 5.4 : Sorgho introduit à la région de Tidikelt**

5.2.1.2 Sorgho de la région d'Ahaggar

Nous avons distingué deux groupes locaux différents de part la couleur de leur grains : le sorgho blanc et le sorgho rouge.

*Sorgho local (Tafsout ouan haggar)*

*a. Groupe de sorgho local blanc*

Ce sont des cultivars à épi blanc de différentes formes : sorgho à épi blanc courbé (figure 5.5) et sorgho à épi blanc vertical plumé (figure 5.6).



**Figure 5.5 : Sorgho à épi blanc courbé**



**Figure 5.6 : Sorgho à épi blanc vertical plumé**

*b. Groupe de sorgho local rouge*

C'est un sorgho à épi rouge vertical et un peu plus long que celui du sorgho blanc (Figure 5.7).



**Figure 5.7 : Sorgho local rouge d'Ahaggar**

Les caractéristiques morphologiques des populations de sorgho des deux régions et celles donnée par Cerighelli (1955) sont regroupées au tableau 5.6.

**Tableau 5.6 : Caractéristiques morphologiques des sorghos de Tidikelt et d’Ahaggar**

Région Population	Tidikelt			Ahaggar			Données <sup>c</sup>
	Sorgho local		Sorgho introduit	Sorgho local			
	court	long			épi blanc courbé	épi blanc vertical	épi rouge vertical
Longueur de la tige (m)	1,0 - 1,1	2,2 - 2,4	2 m en moyenne	1- 2	2,5 - 3,0	2,5	0,8-5
Feuillage	abondant	abondant	abondant	-	-	-	
Longueur de la feuille (cm)	45 - 60	55 - 70	50 - 60	-	95 - 110	70	50-80
Largeur de la feuille (cm)	5,0 - 7,5	5,5 -8,5	5,5 - 6,5	-	6,5-8,0	9,0 – 11,0	5-10
Distance entre les nœuds (cm)	7,0 - 8,0	12 -48	5,0 - 8,0	-	11 - 12	-	
La taille d’épi (cm)	10 -25	10 -18	petite	10 - 20	12 - 30	35	dense, compacte, lâche
Couleur de l’épi	blanc, rouge, mixte	blanc, rouge, mixte	rouge dispersé	blanc	blanc	rouge	blanc, rouge et brun +ou- foncé
Longueur de la racine (cm)	longue	28 - 30	23- 26	-	-	-	25-30

<sup>c</sup> : source des données : (Cerighelli, 1955)

Les travaux de Gast et Adrian (1965) ont classé les cultivars de sorgho d’Ahaggar en :

- Tafsout el beida : sorgho blanc, épis de 10-20 cm de haut et 4 à 9 cm d’épaisseur,
- Abora ou Tafsout el hamra : sorgho pigmenté rouge, Tallak : sorgho fortement pigmenté rouge profond, avec des tiges hautes de 2 à 2,50 m et des épis plus chargés en grains. Il est cultivé moins pour son grain, plus petit que celui de l’Abora que pour l’écorce de sa tige, qui séchée et réduite en poudre sert à teindre les peaux.

### **5.2.2 Mil chandelle des régions de Tidikelt et d’Ahaggar**

Le mil chandelle des deux régions d’étude se caractérise par un feuillage abondant et par des épis de couleurs diverses : jaune verdâtre, marron, violet, gris et noir.

#### **5.2.2.1. Mil chandelle de la région de Tidikelt (El bechna)**

D’après leurs caractéristiques et les renseignements recueillis auprès des agriculteurs sur l’origine des mils, on distingue, dans la région de Tidikelt, deux groupes morphologiques :

*Mil chandelle local*

Deux groupes de mil appelé aussi localement el bechna el beldia sont identifiés dans la région et classés selon la taille des soies qui couvrent l'épi en :

- a. *Groupe de mil local à soies courtes* (figure 5.8).
- b. *Groupe de mil local à soies longues*. (figure 5.9)



**Figure 5.8 : Epis à soies courtes du mil local de la région de Tidikelt**



**Figure 5.9 : Epis à soies longues du mil local de la région de Tidikelt**

*Mil chandelle introduit à Tidikelt*

Le mil introduit, appelé bechnet Essoudane (figure 5.10), se caractérise par un feuillage plus important et une taille plus grande, mais selon les informations recueillies auprès des habitants de la région, leurs grains ont une valeur alimentaire et des propriétés gustatives moins appréciables.



**Figure 5.10 : Mil chandelle introduit à Tidikelt de la région d'Essoudane**

5.2.2.2. Mil chandelle de la région d'Ahaggar

On distingue deux groupes : le mil local et le mil introduit

*Mil chandelle local*

Le mil local appelé bechnet Ahaggar, el bechna azzerga ou énélé ouan Ahaggar et représenté à la figure 5.11, se caractérise par des tiges et des épis courts ainsi que des grains gris amers d'où sa faible utilisation dans l'alimentation humaine. On retrouve aussi le mil local appelé el bechna assafra (figure 5.12)



**Figure 5.11 : Mil local d'Ahaggar récolté**



**Figure 5.12 : Epis de mil local d'Ahaggar**

*Mil chandelle introduit*

C'est le mil dont les grains ont été importé de la zone dite Essoudane, de Tidikelt et de Touat et cultivé à Ahaggar . Il se caractérise par des tiges longues dépassant souvent 2 m, par des épis pouvant atteindre 1 m et par des feuilles fines et longues. Le mil introduit est préféré dans la consommation humaine chez les habitants d'Ahaggar. On distingue :

a. *Mil chandelle avec des épis sans soies (El bechna saffra ouan Tidikelt)*

Les mils chandelles de ce groupe sont caractérisés par l'absence de soies sur les épis. Un champ de ces cultivars est représenté à la figure 5.13 et quelques épis de ce mil sont illustrés à la figure 5.14.



**Figure.5.13: Champ de mil introduit de Tidikelt et cultivé à Ahaggar**



**Figure 5.14: Epis de mil introduit de Tidikelt et cultivé à Ahaggar**

- b. *Mil chandelle introduit de Tidikelt avec des épis couverts de soies (El bechna assafra mchaara ouan Tidikelt)*

Ces cultivars représentés à la figure 5.15 sont caractérisés par des épis courts couverts de longues soies.



**Figure 5.15: Mil introduit de Tidikelt avec des épis couverts de soies longues**

- c. *Mil chandelle introduit des régions du Sahel à épis long (Bechnat essoudane touila)*

Ces cultivars ont été introduits à l'Ahaggar de la région d'Essoudane et probablement du Niger. Ils sont caractérisés par des épis très longs (figure 5.16)



**Figure 5.16: Mil chandelle introduit de la région d'Essoudane à épis long**

Le tableau 5.7 donne les caractéristiques morphologiques des mils chandelle des régions de Tidikelt et d'Ahaggar et nous résumons dans le tableau 5.8, les caractéristiques agronomiques déterminées pour ces mils et celles données par Cerighelli (1955) et Pernes (1984).

**Tableau 5.7 : Caractéristiques morphologiques des cultivars de mil chandelle de Tidikelt et d’Ahaggar**

Caractéristiques	Tidikelt			Ahaggar		Données <sup>d,e</sup>
	Mil local à soies courtes	Mil local à soies longues	Mil introduit (d’Esoudane)	Mil local	Mil introduit (de Tidikelt)	
Longueur de la tige (m)	1,50 - 1,95	1,50 - 1,95	2,30 - 2,50	1,00 - 1,20	1,75	atteint 3 m <sup>d</sup>
Feuillage	moyen	moyen	Abondant	Moins abondant	-	
Longueur de la feuille (cm)	50 - 70	40 - 50	50 - 60	-	70 - 75	Souvent $\square$ 100 <sup>e</sup>
Largeur de la feuille cm	-	-	-	-	3,4 - 4,0	max. 7 <sup>e</sup>
Distance entre les nœuds (cm)	6 - 12	6 - 12	12 - 18	-	24	
Taille d’épi (cm)	8 - 23	8 - 23	15 - 88	6 - 10	35 - 110	5 cm à plus de 2m <sup>d</sup>
Couleur de la graine	jaune-grise	jaune-grise	jaune	grise	jaune	Jaune à gris <sup>e</sup>
Longueur de la racine (cm)	20	20	25 - 35	10 - 15	-	

Source : <sup>d</sup>(Cerighelli,1955) ; <sup>e</sup>(Pernes, 1984)

**Tableau 5.8 : Caractéristiques agronomiques des cultivars de mil chandelle de Tidikelt et d’Ahaggar**

Caractéristiques	Mil local de Tidikelt	Mil local d’Ahaggar	Mil introduit à Tidikelt
Germination	4 - 6 jours	3 - 4 jours	6 jours
Tallage	abondant	Moins de tallage	Moins de tallage
Nombre de coupage/an	2 fois/mois avant maturation	4 fois	-
Saison de semailles	Mars-Octobre	Mars-Octobre	Mars-Octobre
Maturation des graines	2 fois/an	2 fois/an	2 fois/an
Irrigation	Tous les 7 jours	Tous les 7 jours	Tous les 7 jours
Effets écologiques	Sensible aux : -froid. -vents. -sols salés et calcaires.	Sensible aux : -froid. -vents. -sols salés et calcaires.	Tolérant au froid. Sensibles aux : -vents. -sols salés et calcaires.

Dans les régions de prospection les mils cultivés sont les plus abondamment présents, les mils sauvages sont rares, ils poussent spontanément dans les champs de mil chandelle et les agriculteurs les éliminent les considérant comme mauvaises herbes. Les mils intermédiaires sont très rares. Selon la classification par races, les mils observés appartiennent à la race *Thyphoides*. Les races *Leonis*, *Globosum* et *Nigritarum* n’ont pas été retrouvées

néanmoins pour cette dernière race, nous soupçonnons l'existence du fait qu'elle est cultivée dans des pays limitrophe.

Selon la prospection effectuée par Gast et Adrian (1965), les différents cultivars locaux sont représentés par : énelé ouan Targa, énelé ouan Djanet et énelé ouan Ahaggar. Par contre les cultivars de mils désignés par : énelé ouan Agadez, énelé ouan Teggeda ou taboutaqit, énelé ouan Damergou et énelé ouan Tahoua sont importés en grains et commercialisés dans les marchés locaux.

### **5.3 Propriétés structurelles des grains de sorgho et de mil chandelle**

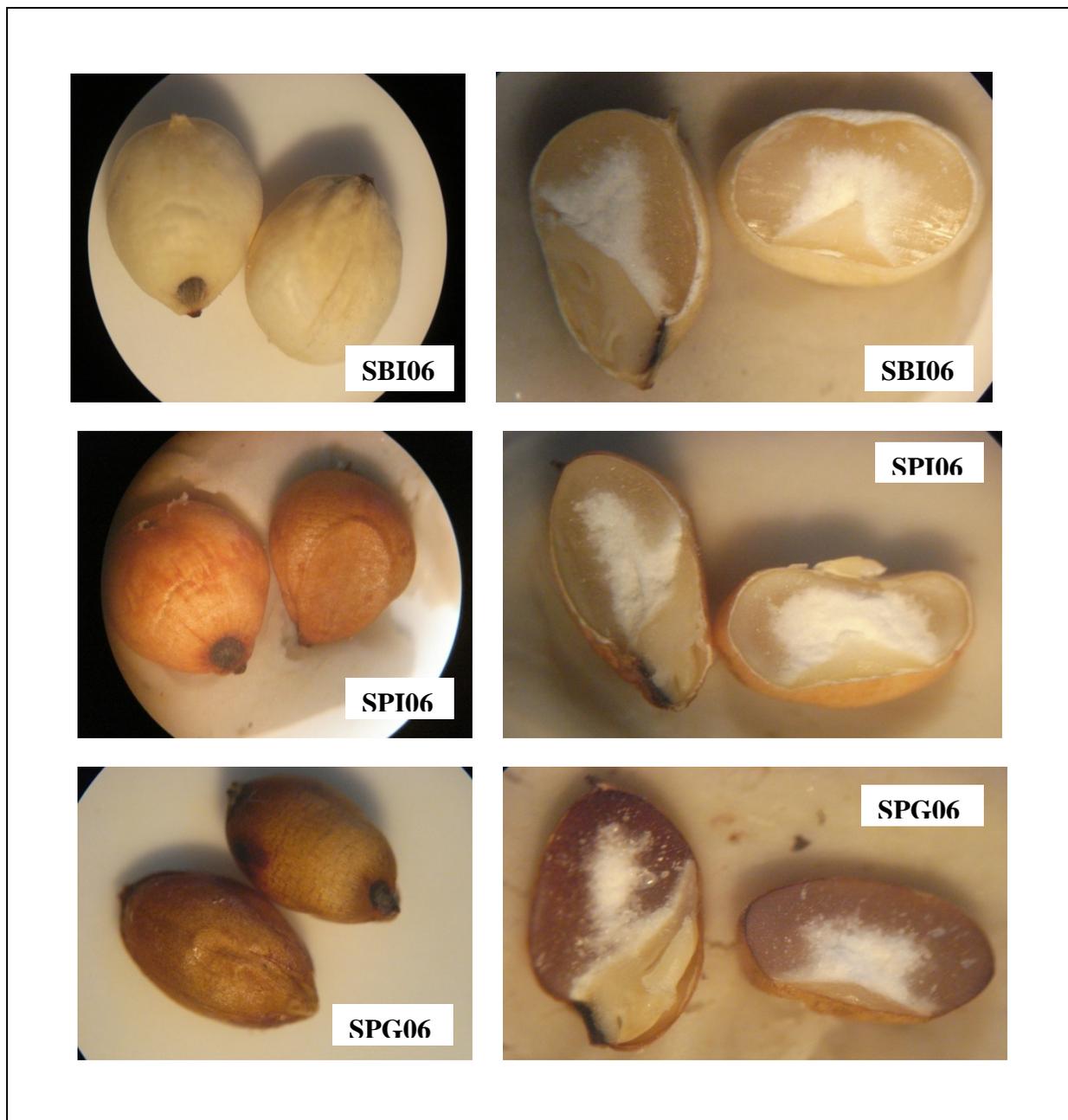
La structure physique et la composition chimique sont deux facteurs très important dans le domaine appliqué surtout à l'alimentation et à la caractérisation des ressources phytogénétiques. Ils manifestent une grande influence sur les propriétés mécaniques, technologiques et sur les phénomènes thermiques et de transfert de matières et de chaleur.

Les grains de sorgho (*Sorghum bicolor (L.) Moench*) et de mil (*Pennisetum glaucum*) se caractérisent par une diversité de couleur, de forme et de dimension. Des échantillons de grains de cultivars de sorgho blanc et pigmenté ainsi que des cultivars de mil de différentes récoltes ont été retenus pour la caractérisation structurelle.

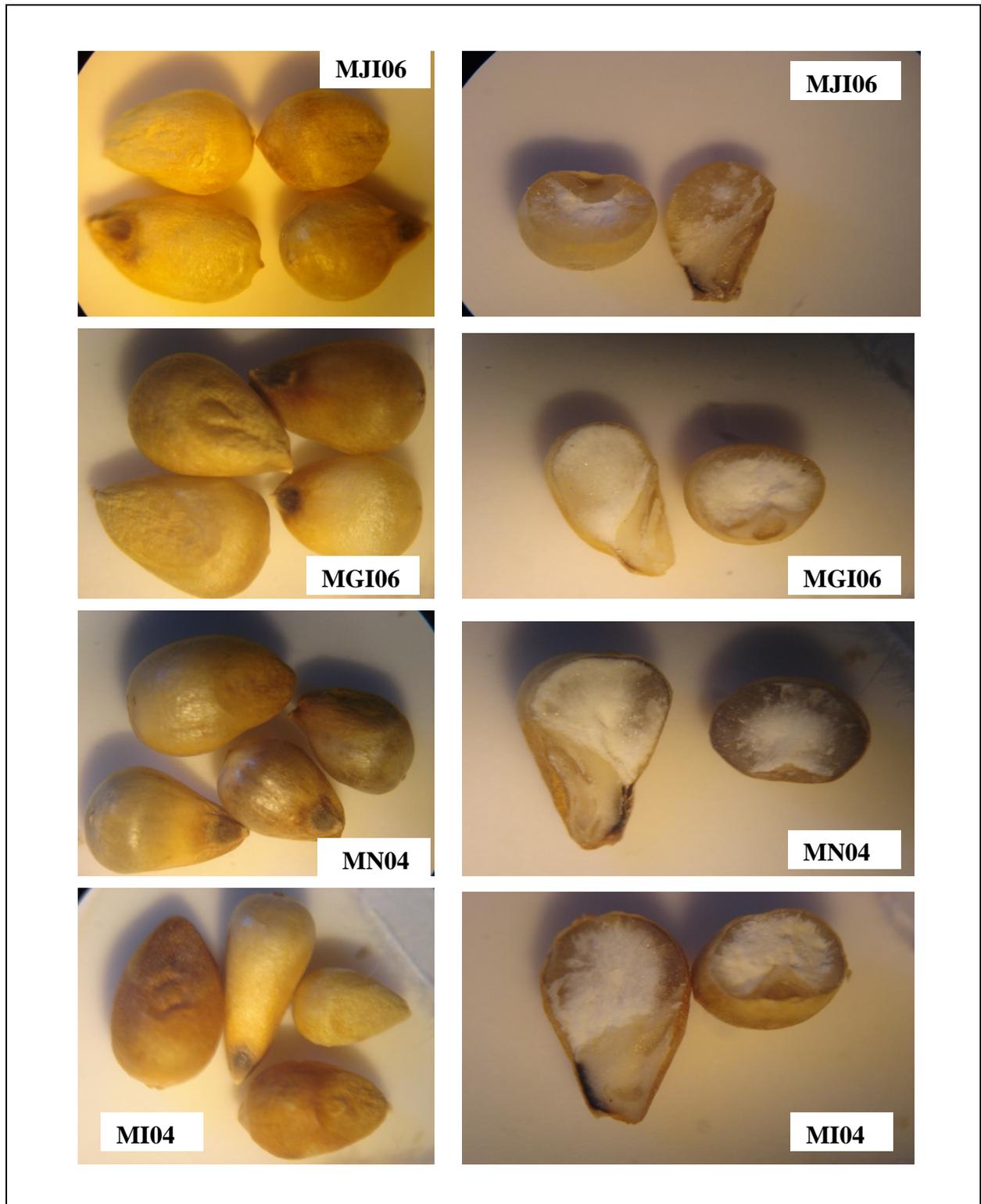
Les grains de tous les cultivars sorgho et de mil chandelle retenus pour nos études de caractérisation physicochimique et de biotransformation sont données en annexe 3, respectivement aux figures 5.17 et 5.18. Les photographies de certains d'entre eux sont présentés respectivement aux figures 5.19 et 5.20. Ces dernières montrent, avec plus de précision, certaines caractéristiques structurelles (aspect de la surface, forme et couleur) ainsi que les différentes parties qui composent les grains de sorgho et de mil chandelle (endosperme, couche d'aleurone, germe et péricarpe).

Les caractéristiques physiques des grains de céréales jouent un rôle important dans leur comportement au cours de leur transformation. Les caractéristiques les plus importantes sont la couleur et l'épaisseur du péricarpe; la forme, la dimension et la dureté du grain; et la texture de l'albumen.

Les caractéristiques physiques ou structurelles des grains de sorgho et de mil chandelle de type caryopse sont déterminées et reportées au tableau 5.9. Les échantillons de grains de cultivars ont été examinés. Ils sont exempts d'odeur et de souillure, le nombre de classes d'impuretés identifiées est limitée, on retrouve essentiellement du sable (impureté minérale), des tiges, grains cassés, déshydratés et endommagés (impuretés céréalières). Les grains parfaitement sains représentent en masse plus de 91 %.



**Figure 5.19 : Photographies de grains entiers et des coupes longitudinale et transversale de quelques cultivars de sorgho**



**Figure 5.20 : Photographies de grains entiers et des coupes longitudinale et transversale de quelques cultivars de mil chandelle**

Tableau 5.9 : Caractéristiques structurales des grains de sorgho et de mil analysés

Désignation	Nom commun	Région	Période de récolte	Couleur des graines	Masse de 1000 grains (g)	Masse volumique (g/l)
<b>Sorgho (<i>Sorghum bicolor</i> (L.) Moench)</b>						
SBI03	Tafsout el beida	In Salah (Tidikelt)	2003	Blanc cassé	32,50±0,71	685,50±4,95
SBI04	Tafsout el beida	In Salah (Tidikelt)	2004	Blanc cassé	33,05±0,15	692,85±0,65
SPI04	Tafsout el hamra	In Salah (Tidikelt)	2004	Rouge foncé (fortement pigmenté)	27,70±0,13	736,55±0,25
SBI06	Tafsout el beida	In Salah (Tidikelt)	2006	Blanche	33,68±0,36	705,50±2,12
SPI06	Tafsout el hamra	In Salah (Tidikelt)	2006	Rouge (faiblement pigmenté)	30,87±0,33	733,00±2,83
SPG06	Tafsout el hamra	USA	2006	marron foncé (fortement pigmenté)	23,18±0,21	728,00±1,41
<b>Mil chandelle (<i>Pennisetum glaucum</i>)</b>						
MI02	Bachnet In salah	In Salah (Tidikelt)	2002	Maron-jaune	8,83 ±0,23	728,50 ±2,12
MI04	Bachnet In salah	In Salah (Tidikelt)	2004	Maron-jaune	8,75 ±0,47	780,85 ±0,45
MI05	Bachnet In salah	In Salah (Tidikelt)	2005	Vert-jaune pâle	9,06 ±0,01	754,00 ±4,24
MJI06	Bachnet Jafo	<sup>a</sup> In Salah (Tidikelt)	2006	Maron clair-jaune	6,13±0,17	713,65 ±5,16
MGI06	Bachnet Ouiani	In salah (Tidikelt)	2006	Maron clair-jaune	7,50 ±0,23	746,00 ±5,66
MT06	Enélé	Ahaggar (Tamanrasset)	2006	Vert-jaune pâle	5,23 ±0,23	805,00 ±1,42
MN04		Agadez (Niger)	2004	Vert-jaune pale	7,45 ±0,63	793,5 ±0,60

<sup>a</sup>: nouvelle région agricole

Le grain de sorgho et de mil chandelle sont des caryopses nus, cependant, certains gardent leur glumes. Leur forme et leur taille varient selon la race (Wrigley, Corke et Walker, 2004). Des différences entre les grains d'une même race ont été observées aussi. La forme du grain est généralement ovoïdale légèrement aplatie sur un côté. Elle influence le degré de décortilage. Il est connu que les grains approximativement sphériques donnent des meilleurs rendements au décortilage (CEA, 1985)

Le poids de 1000 grains de sorgho varie dans une fourchette très étendue qui va de 3 à 80 g (FAO, 1995 ; Serna-Salvador et Rooney, 1995 ; Wrigley, Corke et Walker, 2004). Une moyenne de 23 g est donnée par la CEA (1985).

Les valeurs obtenues pour le sorgho blanc et pigmenté locaux varient entre 23 et 34 g. et sont comprises dans cette fourchette. Pour le mil perlé, la masse de 1000 grains varie de 2,5 à 14 g (FAO, 1995) avec une valeur moyenne de 7 g (CEA, 1985) et 8 g (FAO, 1995). Les mils étudiés (5-9 g) se rapprochent pour la plupart de la valeur moyenne. Les grains de mil de Tamanrasset présentent la plus faible valeur. Cette variation est inhérente au génotype et aux conditions agroclimatiques (Lee, Pedersen et Shelton, 2002).

Comparé aux grains des autres céréales, la masse moyenne de 1000 grains de mil perlé ou de sorgho est la plus faible relativement à celle du riz (27 g), de l'avoine (32 g), du blé et de l'orge (37 g) et de maïs (285 g). Celle du seigle (21 g d'après CEA (1985)) est voisine de celle du sorgho

Les valeurs de la masse volumique (ou le poids d'un litre) des grains de tous les cultivars de sorgho sont comprises dans l'intervalle donné pour le sorgho commercial qui est de 708 à 760 g/l (Wrigley, Corke et Walker, 2004) à l'exception du sorgho blanc d'In Salah récolté en 2003 et 2004 qui sont proches de la valeur minimale. Les valeurs de la masse volumique de tous les mils chandelles sont comprises dans la fourchette donnée par la norme codex pour le mil chandelle en grains entiers et décortiqués (Codex Standard 169-1989) (750-820 g/l) à l'exception du mil d'In Salah de 2002 et 2006.

Les dimensions des grains de sorgho et de mil analysés sont données au tableau 5.10. Les grains des cultivars de sorgho local possèdent des longueurs moyennes comprises entre 4,37 et 4,70 mm, la variation n'est pas très importante. Les grains de l'espèce Sudan grass (SPG06) sont les plus allongés. Chez les mil, la longueur moyenne est relativement plus faible et la variation est plus importante (2,62-3,57 mm).

Le sorgho commercial a, en moyenne, 4 mm de long, 2 mm de large et 2,5 mm d'épaisseur (Serna-Saldivar et Rooney, 1995 ; Wrigley, Corke et Walker, 2004). Pernes (1984) donne des intervalles de 2-5,5 mm ; 1,6-3,2 mm ; 1,2-2,5 mm respectivement pour la longueur, la largeur et l'épaisseur et la CEA (1985) donne des intervalles de 3-5 mm de longueur et 2,5-4,5 mm de largeur. Les grains des cultivars locaux possèdent des largeurs plus élevées.

Mwithiga et Sifuna (2006) ont constaté que la variété Kari-mtama, originaire du Kenya, présente la plus grande taille 5,14 mm de long ; 4,13 mm de large et 2,56 mm d'épaisseur. Ces derniers chercheurs ont également montré que les dimensions du grain du sorgho augmentent linéairement avec le taux d'humidité.

Selon les résultats obtenus pour les mils par Jain et Bal. (1997) donnant les fourchettes respectives de 2,98-3,36 mm, 1,86-2,24 mm, et 1,70-2,00 mm respectivement pour la longueur, la largeur et l'épaisseur, les cultivars locaux d'In Salah Jafo et Ouaini ainsi que ceux de Tamanrasset possèdent des dimensions différentes. La largeur et l'épaisseur sont proches contrairement à la longueur qui est assez distincte. Ce résultat commun à la plupart des sorghos et des mils étudiés indique que les grains ne sont pas sphériques ou rondes.

Actuellement, Très peu d'information sont disponibles sur les corrélations qui existent entre l'effet du génotype et de l'environnement et la taille du grain de sorgho et de mil ainsi qu'entre la taille des grains et la qualité nutritive et les propriétés physicochimiques des moutures, des pâtes et des amidons (Lee et al., 2002).

**Tableau 5.10 : Dimension des grains de cultivars de sorgho et de mil**

<b>Cultivar</b>	<b>Longueur, L (mm)</b>	<b>Largeur, W (mm)</b>	<b>Epaisseur, T (mm)</b>
<b>Sorgho</b>			
SBI03	4,37 ±0,48	4,16 ±0,43	2,47 ±0,30
SBI04	4,52 ±0,39	3,85 ±0,40	2,53 ±0,26
SPI04	4,49 ±0,44	3,53 ±0,41	2,41 ±0,40
SBI06	4,48 ±0,28	3,95 ±0,29	2,58 ±0,23
SPI06	4,70 ±0,28	4,02 ±0,41	2,40 ±0,27
SPG06	3,84 ±0,24	3,47 ±0,20	2,44 ±0,17
<b>Mil chandelle</b>			
MI02	2,87 ±0,20	1,92 ±0,11	1,70 ±0,14
MI04	3,15 ±0,45	2,06 ±0,28	1,82 ±0,22
MI05	2,92 ±0,60	2,14 ±0,30	1,69 ±0,31
MJI06	3,00 ±0,42	2,08 ±0,32	1,65 ±0,22
MGI06	3,57 ±0,47	2,43 ±0,34	2,01 ±0,16
MT06	2,62 ±0,32	1,97 ±0,62	1,66 ±0,61
MN04	3,18 ±0,40	2,09 ±0,23	1,84 ±0,29

Les résultats donnés au tableau 5.11 montrent que les diamètres géométriques des sorghos sont supérieurs à ceux des mils contrairement aux coefficients de sphéricité qui sont relativement voisins. Comparés aux valeurs données par Jain et Bal (1997) ( $\emptyset = 0,937-0,942$ ), la sphéricité des mils locaux est plus faible. La superficie et le volume des grains de sorgho sont de 2 à 3 fois plus grand que ceux des grains de mil. Le volume des grains des mils locaux est inférieur à celui des grains de mils analysés par Jain et Bal (1997) qui sont compris entre 3,79 et 5,79 mm<sup>3</sup> et la plupart des cultivars ont des valeurs de superficie de grains comprises dans l'intervalle 12,48-16,37 mm<sup>2</sup>.

Chez le sorgho, c'est les grains des cultivars de sorgho blanc d'In Salah récoltés en 2003 et 2006 qui présentent les plus grandes valeurs de superficie et de volume. Les grains de cultivars de sorgho d'In Salah 2004 et celui importé des Amériques présentent les valeurs les plus faibles. Chez les mils, ce sont les grains de mil Ouaini d'In Salah qui sont les plus gros, Les grains de mil d'In Salah (2002) et de Tamanrasset 2006 qui sont les plus petits. Rappelons que lors de période de croissance, la température était élevée

**Tableau 5.11 : Valeurs moyennes du diamètre géométrique  $G_{md}$ , de la sphéricité  $\emptyset$ , de la superficie  $S$  et du volume  $V$  des grains de cultivars de sorgho et de mil chandelle**

Cultivar	$G_{md}$ (mm)	$\emptyset$	$S$ (mm <sup>2</sup> )	$V$ (mm <sup>3</sup> )
<b>Sorgho</b>				
SBI03	3,51	0,80	34,73	4,65
SBI04	3,49	0,77	33,84	4,35
SPI04	3,33	0,74	30,42	3,76
SBI06	3,53	0,79	34,90	4,58
SPI06	3,52	0,75	34,25	4,28
SPG06	3,15	0,82	28,18	3,85
<b>Mil chandelle</b>				
MI02	2,09	0,73	11,88	1,44
MI04	2,26	0,72	13,87	1,66
MI05	2,18	0,75	12,96	1,61
MJI06	2,16	0,72	12,67	1,52
MGI06	2,57	0,72	17,94	2,15
MT06	2,03	0,78	11,34	1,47
MN04	2,28	0,72	14,16	1,70

#### **5.4 Texture de l'endosperme des grains**

L'albumen du grain de sorgho est généralement divisé en deux parties: un couche périphérique cornée (ou vitreuse) située immédiatement sous l'aleurone riche en protéines, et un noyau central farineux. Le rapport existant entre les couches cornées et farineuses exerce une influence sur l'aptitude à la mouture des grains et affecte également sa teneur en protéine, celle-ci étant plus élevée dans la partie vitreuse que dans la partie farineuse de l'albumen. Il

détermine aussi la texture du grain qui influence les propriétés technologiques des moutures et la digestibilité in vitro de l'amidon dans les moutures (Wong et al., 2009 ; CEA, 1985).

Dans les grains à texture tendre, il y a plus d'endosperme farineux que d'endosperme corné, en revanche, les grains à texture dure contiennent plus d'endosperme corné et à forte densité que d'endosperme farineux. Avec un endosperme également divisé en zones cornée et farineuse, les grains sont de texture intermédiaire.

La figure 19.5 montre clairement, grâce aux coupes longitudinales effectuées, les parties farineuses riches en amidons et cornées chez les grains de certains cultivars de sorgho. Les classes de grains de sorgho et de mil chandelle sont donnés au tableau 5.12. Chez les grains de sorgho et de mil chandelle analysées, la texture diffère d'un grain à un autre. L'endosperme contient simultanément des zone farineuses et des zones cornées ce qui leur confère une texture intermédiaire. Ce qui diffère de ce qui a été reporté par la FAO (1995) disant que dans les mils chandelles et le sorgho, la texture varie beaucoup, d'un endosperme entièrement farineux à un endosperme entièrement corné,

**Tableau 5.12 : pourcentage de grains dans les différentes classes**

<b>Cultivars</b>	<b>% grains de classe 1 corné</b>	<b>% grains de classe 2 intermédiaire</b>	<b>% de grains de classe3 farineux</b>
SBI04	3	29	68
SPI04	18	60	22
MI04	6	23	71
MN04	9	31	60

En effet, pour le mil local et importé ainsi que le sorgho blanc, plus de 60 % des grains possèdent une texture farineuse très tendre contrairement au sorgho pigmenté qui lui possède une texture intermédiaire.

Les cultivars à endosperme dur donnent moins de grains brisés et plus de grains entiers que ceux à endosperme plus tendre. Avec les procédés de mouture à sec, le rendement de farine est plus élevé dans le type corné que dans le type farineux.

En revanche, dans la mouture humide, le rendement d'amidon est plus élevé dans les génotypes à endosperme tendre.

Les résultats obtenus suggèrent donc que la mouture humide est plus appropriée aux grains de mil local et importé et au sorgho blanc. Cependant la mouture à sec est souhaitable pour le sorgho pigmenté.

La texture du grain est l'un des paramètres les plus importants de la qualité alimentaire et de la transformation du sorgho et des mils. De même, elle influence la forme des granules

d'amidon. Les granules d'amidon de l'endosperme farineux sont sphériques et gros alors que dans l'endosperme corné, les granules sont polyédriques.

### **5.5 Composition chimique des grains de sorgho et de mil chandelle**

La composition chimique est un paramètre important dans la détermination de la valeur nutritive des céréales. Elle permet l'interprétation de certaines caractéristiques fonctionnelles et rhéologiques et possède une influence indéniable sur la qualité des textures et par conséquent sur les procédés de transformation technologique.

Les teneurs des cultivars de sorgho et de mil sélectionnés en humidité, cendres, sucres solubles, amidon, protéines, lipides et fibres sont déterminées. Les résultats sont récapitulés dans le tableau 5.13, signalons que toutes les valeurs sont rapportées à la matière sèche.

- ***L'humidité***

Le taux d'humidité a une influence lors de la cuisson : trop faible, les grains se fissurent lorsqu'ils sont immergés dans l'eau de cuisson, le produit est alors plus collant, plus cohésif et moins dur qu'avec une humidité initiale plus élevée.

Ces céréales possèdent une humidité relativement faible, variant entre 7,43 à 10,12 % et 6,71 à 11,45 % respectivement pour les sorghos et les mils. Ces faibles valeurs par rapport aux autres sorghos et mils cultivés dans d'autres régions (11-12 % (CEA, 1985) s'expliquent par les conditions hyperarides des régions de ces céréalicultures.

Un taux faible d'humidité influe positivement sur la durée de conservation des céréales. En effet, Hosney (1986) estime qu'à des taux d'humidité faibles, il n'y a pas de développement de champignons microscopiques. La valeur recommandée comme critère de qualité spécifique par la norme codex pour le mil chandelle en grains entiers et décortiqués (Codex Standard 169-1989) doit atteindre 13 % au maximum. Des teneurs en humidité élevées, supérieures à 14 %, engendrent une altération plus rapide des grains stockés et réduisent le rendement de mouture sèche.

- ***Les cendres***

Les cendres constituent la fraction minérale des céréales. Ces dernières peuvent constituer une bonne source d'oligoéléments. Chez les mils chandelles, en se référant au tableau 13.5, le taux de cendres avoisine 2 %. Il est légèrement plus élevé dans les sorghos. Il l'est aussi par rapport à d'autres céréales comme le blé qui en contient en moyenne 1,8%. La composition du sol et sa nature sont les principaux facteurs environnementaux qui

déterminent la teneur de la graine en sels minéraux (FAO, 1995). Les régions de culture sont justement riches en sels (Mehdi, 2000). Ces sels analysés dans les grains sont essentiellement le phosphore, le potassium, le calcium, le magnésium, le fer, cuivre et le manganèse (Hoseney, 1986 et FAO, 1995).

- ***Les glucides***

L'amidon est présent dans les cultivars de sorgho et le mil analysés avec un taux appréciable. Ce taux varie entre 65,29 et 67,53 % chez les sorghos avec des valeurs plus élevée chez le sorgho blancs relativement aux sorghos pigmentés. Il est compris entre 59,80 et 68,75 % chez les mils. Nous avons constaté que le taux d'amidon est influencé par la période de culture et le génotype. Dans la littérature, plusieurs intervalles sont cités : la FAO (1995) donne les domaines de 55,6-75,2 % pour le sorgho et 62,8-70,5 % avec des moyennes respectives de 69,5 et 66,7 %. Serna-Saldivar et Rooney (1995) donne un intervalle de 63,1 à 78,5 %.

Les sucres solubles sont présents en faibles teneurs dans les céréales. Pour la plupart des cultivars de sorgho et de mil chandelle étudiés, les teneurs varient entre 3 et 4 %. Ces taux sont proches de ceux trouvés pour le blé (2,8 %). Hoseney (1986) a montré que le taux de sucres solubles dans les mils chandelle était inférieur à celui trouvé dans les sorghos, qui sont compris entre 2,6 et 2,8 %. FAO (1995) propose d'autres intervalles : 2,16-2,78 % pour le mil et 1,3-5,2 % pour le sorgho. Notre étude montre que pour les variétés étudiées, la teneur de sucres solubles est relativement plus élevée dans les mils (3,63 et 3,28 %) et la différence entre le taux de sucres solubles dans les sorghos et les mils n'est pas importante.

- ***Les protéines***

La teneur et la composition des protéines sont des paramètres importants dans l'évaluation de la qualité nutritionnelle et affecte les propriétés des farines et crée la structure des aliments (Chanapamokkhot et Thongngam, 2007).

Les grains de cultivars analysés présentent une quantité appréciable de protéines. Chez les sorghos, les taux sont similaires et estimés à 13 % environ à part le sorgho américain qui présente la valeur la plus faible (11,54 %). Par contre chez les mils chandelles, les teneurs en protéines varient considérablement entre les cultivars de 10,78 % obtenu pour le cultivar de mil de Tamanrasset à 14,44 %, valeur enregistrée pour le mil Jafo d'In Salah.

FAO (1995) donne des intervalles de 4,4-21,1 % et 5,8-20,9 %, respectivement pour le sorgho et le mil. Le taux des protéines chez les cultivars cultivés au sud de l'Algérie semblent être légèrement supérieure aux moyennes respectives (11,4 % et 10,6 %).

La détermination de la composition des protéines permet d'améliorer les procédés d'extraction des amidons. De même, la détermination la composition en acides aminés pour ces cultivars permet de rendre compte de leurs valeurs nutritionnelles et éventuellement les comparer avec les autres variétés de céréales. Il semblerait que la composition en acides aminés du sorgho est similaire à celle du maïs (Hoseney, 1987 ; Serna-Saldivar et Rooney, 1995). Néanmoins, la teneur en lysine dans le sorgho est plus faible, mais le sorgho contient plus de tryptophane.

- ***Les lipides totaux***

La méthode utilisée basée sur l'hydrolyse acide et sur l'extraction à l'éther de pétrole, nous a permis de doser les lipides totaux. Nous constatons qu'il n'y a pas de variation importante de la teneur pour les cultivars de sorgho. Les teneurs obtenues sont de 4,21-4,50 %. Chez le mil chandelle, le taux en lipides est relativement plus grand, il varie entre 5,99 et 7,19 %. Le blé (1,8 %), l'orge (3,3 %) et le riz (3 %) sont relativement moins riches en lipides. Les fractions lipidiques ainsi que la composition en acides gras pour les cultivars analysés restent à déterminer. D'après la littérature (Hoseney, 1987 ; FAO, 1995), le sorgho et le mil contiennent une fraction de lipides libres non polaires, des glycolipides et des phospholipides concentrés dans le germe et la couche d'aleurone. Les mils chandelles sont plus riches en acide oléique (C18 :1) que le blé et les autres céréales (Hoseney, 1987).

- ***Les fibres insolubles***

Plusieurs méthodes de dosage des fibres alimentaires sont proposées, nous avons adopté la méthode de VAN SOEST qui détermine essentiellement la fraction composée de cellulose, d'hémicellulose et de lignine qui sont des polysaccharides non assimilables. Cette méthode nous a permis de déterminer le taux des fibres insolubles concentrées généralement dans la couche d'aleurone (l'enveloppe) et les parois cellulaires. Ces taux présentent des variations importantes chez les différents cultivars de sorgho et de mil chandelle. Ils varient autour de 6%.

Les fibres alimentaires dans le sorgho et le mil sont constituées en majeure partie de cellulose. La teneur dans le sorgho pigmenté est supérieure à celle du sorgho blanc

en raison de la contribution des polyphénols des tannins à la fraction lignine (FAO, 1997). D'après Hosney (1987), le blé, l'orge, le seigle et le maïs présentent des taux plus élevés que ceux des sorghos.

La décortication abrasive réalisée sur le mil chandelle a pour effet de diminuer l'ADF (acide detergent fiber) avec un taux allant de 40 à 56 %. Cette méthode s'avère intéressante, d'autant plus que l'amidon de l'endosperme n'a pas été endommagé et les taux de protéines, de lipides et de zinc n'ont pas varié. Une réduction de l'activité des phytases est cependant observée (Lestienne et al., 2006). Shobana et Malleshi (2006) ont également observé que la décortication de l'éleusine peut améliorer sa texture.

Il serait souhaitable pour la suite du travail de déterminer la fraction des fibres solubles et de doser les différentes fractions des fibres insolubles et d'évaluer l'effet de la décortication sur les teneurs en fibres. Le choix des méthodes, leurs limitations et leurs estimations, est important car d'après la littérature (FAO, 1997), des variations importantes sont observées, dues aux méthodes appliquées.

- ***Les tanins***

Certains cultivars de sorgho possèdent sous le péricarpe une couche fortement pigmentée en brun ou en pourpre appelée testa. Ces pigments contiennent des tanins. Leur présence protège les récoltes de la germination et de l'attaque des insectes et des oiseaux. et diminue la valeur nutritive de 5-15 % et affecte l'activité des enzymes lors du maltage. Cependant ils sont une source importante d'antioxydants (Wrigley, Corke et Walker, 2004).

La teneur en tanins dans les graines de sorgho pigmenté est de  $0,46 \pm 0,08$  g/l et  $0,31 \pm 0,02$  g/l dans le sorgho blanc. Ces teneurs sont supérieures à celles données par BeMiller et Whistler (1996) et comprises entre 0,003 et 0,17 % avec une moyenne de 0,1 %. Elles sont inférieures à 1 %, valeur recommandée par la norme de qualité donnée par l'association générale des producteurs de blé et autres céréales ([www. Agpb.fr](http://www.Agpb.fr)).

Les tanins réagissent avec les protéines au cours de la cuisson, ce qui diminue la valeur nutritionnelle du grain. De plus, ils confèrent aux produits cuits une certaine amertume qui peut affecter leur acceptabilité. La transformation de grain de sorgho pigmenté (anthocyanés) donne de mauvais résultats quantitatifs et qualitatifs (CEA, 1985).

Il ressort que les grains de sorgho et de mils chandelles ont une composition chimique riche en amidon, en protéines, en sel minéraux. Elle est similaire à celle du maïs. Ce qui lui confère une valeur nutritive appréciable. Des analyses plus approfondies sur la composition en protéines et acides aminés ainsi qu'en lipides et acides gras seraient souhaitables.

**Tableau 5.13 : Composition chimique des grains de sorgho et de mil chandelle**

<b>Sorgho (<i>Sorghum bicolor</i>(L.) Moench)</b>							
<b>Cultivar</b>	SBI03	SBI04	SPI04	SBI06	SPI06	SPG06	
<b>Humidité (%)</b>	8,34 ±0,19	7,43 ±0,01	7,87 ±0,07	8,39 ±0,16	10,12 ±0,26	8,40 ±0,28	
<b>Cendres(%)</b>	1,66 ±0,11	1,61 ±0,09	1,47 ±0,03	1,56 ±0,10		1,65 ±0,11	
<b>Sucres solubles (%)</b>	3,35 ±0,06	2,48 ±0,13	3,49 ±0,21	3,51 ±0,36	3,42 ±0,34	3,84 ±0,48	
<b>Amidon (%)</b>	65,34 ±0,42	66,81 ±0,27	65,29 ±0,11	67,53 ±0,95	65,72 ±0,21	65,89 ±0,57	
<b>MGT (%)</b>	4,28 ±0,07	4,37 ±0,09	4,21 ±0,02	4,49 ±0,04	4,39 ±0,08	4,50 ±0,06	
<b>Protéines (%)</b>	13,50 ±0,31	12,27 ±0,18	12,59 ±0,03	13,47 ±0,29	12,58 ±0,37	11,54 ±0,25	
<b>Fibres insolubles (%)</b>		5,52 ±0,23	6,2 ±0,571				
<b>Mil chandelle (<i>Pennisetum glaucum</i>)</b>							
<b>Cultivar</b>	MI02	MI04	MI05	MJI06	MGI06	MT06	MN04
<b>Humidité (%)</b>	11,45 ±0,17	8,01 ±0,09	9,52 ±0,29	9,81 ±0,26	10,06 ±0,18	9,79 ±0,13	6,71 ±0,06
<b>Cendres (%)</b>	2,03 ±0,14	2,04 ±0,01	1,66 ±0,13	1,81 ±0,10	2,34 ±0,13	1,88 ±0,14	2,06 ±0,06
<b>Sucres solubles (%)</b>	3,85 ±0,23	3,63 ±0,16	2,79 ±0,39	3,76 ±0,05	3,41 ±0,28	3,40 ±0,09	3,28 ±0,27
<b>Amidon (%)</b>	65,39 ±0,42	63,12 ±0,15	68,75 ±0,19	59,80 ±0,42	63,09 ±0,30	67,80 ±0,83	63,40 ±0,09
<b>Lipides totaux (%)</b>	6,02 ±0,03	6,64 ±0,11	7,19 ±0,05	6,04 ±0,06	5,99 ±0,05	6,97 ±0,08	6,54 ±0,07
<b>Protéines (%)</b>	11,22 ±0,50	11,17 ±0,02	13,43 ±0,47	14,44 ±0,56	11,27 ±0,38	10,78 ±0,31	12,05 ±0,14
<b>Fibres insolubles (%)</b>		6,64 ±0,37					6,46 ±0,71

## **CHAPITRE 6 : ISOLEMENT ET PROPRIÉTÉS PHYSICOCHIMIQUES ET FONCTIONNELLES DES AMIDONS DE SORGHO ET DE MIL CHANDELLE**

### **6.1 Isolement des amidons**

Nous avons adopté le procédé d'extraction alcaline basé sur le trempage dans la solution alcaline diluée et le broyage humide (wet milling)). Les étapes suivies sont le trempage, le broyage, le tamisage, la centrifugation, la purification et enfin le séchage. Ce procédé a été étudié par de nombreux chercheurs et a donné des extraits d'une pureté appréciable (Pérez Sira et Amaiz (2004); Beta et al. (2000) ; Beta et Corke (2001)).

#### **6.1.1 Essais d'isolement préliminaires et améliorés**

Les premiers essais ont permis d'obtenir des amidons avec une grande pureté. Cependant, les rendements d'extraction obtenus étaient très faibles, comme le montre le tableau 6.1, suite aux difficultés rencontrées lors de l'extraction et la purification des amidons qui résident essentiellement dans :

- la difficulté d'extraire les protéines et les autres composants des grains. En effet les granules présents dans les parties vitreuses du grain sont entourés d'une matrice protéique qui rend difficile leur séparation. Les granules présents dans les parties farineuses sont par contre plus facilement isolés (House et al., 1995).
- l'emploi de grandes quantités d'eau dans l'isolement des granules d'amidon vu l'utilisation de plusieurs tamis (au nombre de quatre).

**Tableau 6.1 : Rendement d'extraction RE des amidons de sorgho et mil et pureté des extraits**

<b>Amidon</b>	<b>RE (%)</b>	<b>Pureté (%)</b>
ASBI04	26,42	93,21
ASPI04-A	19,36	93,85
ASPI04-B	24,34	93,31
AMI04	42,35	91,94
AMN04	37,47	93,10

En vue d'améliorer le rendement et d'identifier les étapes qui influent, le plus, sur le rendement d'extraction, on a effectué un deuxième travail sur le sorgho banc et le mil local en apportant quelques modifications qui consistent en :

- une augmentation de la durée de trempage (deux jours au lieu d'un),
- une réduction de la série de tamisage (deux tamis : 355 et 50 µm),
- une augmentation de la durée du broyage (10 min).

### **6.1.2 Bilan de matière**

Le bilan de matière des opérations d'isolement est calculé. Il a concerné les fractions suivantes:

- *Eaux d'extraction d'amidon* : correspond aux volumes d'eau résiduaire comprenant l'eau de trempage, l'eau de lavage des grains l'eau de filtration lors du tamisage et l'eau de purification par centrifugation. Les volumes d'eau d'extraction utilisés sont respectivement égaux à  $1,640 \pm 0,170$  l et  $1,835 \pm 0,049$  l pour le sorgho blanc et le mil local. Ces volumes représentent environ 1/5 des volumes consommés dans les premiers essais.
- *Résidu du tamisage* : correspond au culot obtenu après passage de la suspension à travers les deux tamis
- *Résidu de purification* : correspond à la masse récupérée en raclant la couche superficielle de protéines après centrifugation et après séchage de l'extrait.
- *Extrait d'amidon* : correspond à la fraction récupérée après purification riche en amidon.

Les teneurs en amidon dans les différentes fractions sont déterminées par la méthode polarimétrique modifiée d'Ewers et sont rapportées à la matière sèche. Cette dernière est déterminée après séchage à  $130\text{ }^{\circ}\text{C}$  jusqu'à obtention d'une masse constante. Les résultats de la matière sèche des eaux d'extraction et des résidus solides, obtenus respectivement après tamisage et purification, pour deux cultivars locaux : sorgho blanc et mil chandelle sont représentés dans le tableau 6.2. Une légère différence entre le taux des fractions de mil et de sorgho est observée. Cela pourrait être dû à la nature des composants et à la structure des grains. Le taux de matière sèche dans les eaux est important et l'extrait d'amidon représente environ la moitié de la matière sèche totale. La fraction des granules d'amidon qui reste après l'épuration est élevée. Elle est estimée à 23,87 et 21,63 % respectivement pour le sorgho blanc et le mil. Cette fraction est riche en amidon alors que celle qui reste après le tamisage est riche en fibres.

Les teneurs en amidon dans les mêmes fractions rapportés à la quantité d'amidon contenue initialement dans les grains de sorgho blanc et de mil sont reportés au tableau 3.6. Une augmentation des pertes d'amidon en fonction de la progression dans les étapes d'extraction est notée. Des extraits d'amidon représentant 59,12 % pour le sorgho et 61,24 % pour le mil local sont récupérés.

Les valeurs du rendement sont très variables selon la source botanique de l'amidon et le procédé d'extraction utilisé. L'isolement de l'amidon à partir de deux cultivars de sorgho de Thaïlande, en utilisant une solution de trempage à 0,25 % de bisulfite de sodium et 0,5 % d'acide lactique à 52 °C pendant 48h a donné des rendements (27,55 et 30,72 %) relativement plus faibles (Chanapamokkhot et Thongngam, 2007). Les valeurs obtenues restent faibles comparées à celles obtenues pour l'extraction de l'amidon à partir du blé et qui dépassent 97 % par le procédé Batter (Massaux et al. 2008) mais supérieures à celles obtenues par Vansteeland et Delcour (1999) qui sont de 24 à 33 %.

**Tableau 6.2 : Taux de matière sèche (%) dans les différentes fractions résiduelles obtenues lors des étapes d'isolement d'amidon**

<b>Fraction résiduelle</b>	<b>SBI04</b>	<b>MI04</b>
Eaux d'extraction	7,65 ±0,80	9,71 ±0,88
Résidu de tamisage	11,37 ±0,70	16,00 ±0,55
Résidu d'épuration	23,87 ±1,95	21,63 ±0,45
Extrait d'amidon	53,75 ±1,67	49,46 ±0,25

Le taux d'amidon perdu est plus élevé dans la fraction récupérée lors de l'épuration de l'extrait d'amidon. Cela est dû aux difficultés rencontrées lors de la séparation de l'amidon des autres constituants composés essentiellement de protéines de fibres. Une purification de cette fraction est effectuée par centrifugation et séchage. Cette opération a permis d'améliorer légèrement le rendement d'extraction d'amidon.

La procédure d'extraction de l'amidon à partir du sorgho et de mil reste une opération très délicate. Les résultats du tableau 6.3 montrent que la perte en amidons la plus importante est observée lors de l'étape de purification, un meilleur procédé est à envisager. Les rendements d'isolement ne sont pas très élevés mais la pureté des extraits d'amidon de sorgho et de mil est très appréciable (tableau 6.4).

**Tableau 6.3 : Taux d'amidon dans les différentes fractions résiduelles des étapes d'isolement**

<b>Fraction résiduelles</b>	<b>SBI04</b>	<b>MI04</b>
Eaux d'extraction	3,44	3,97
Résidu de tamisage	6,3	5,51
Résidu d'épuration	28,63	27,00
Extrait d'amidon	59,12	61,24
Pertes en amidon	2,5	2,30

**Tableau 6.4 : Pureté et rendement d'isolement des amidons**

Amidon	Sorgho		Mil chandelle
	ASBI04	ASPI04	AMI04
Pureté (%)	94,1 ±0,5	93,0 ±0,6	96,7 ±0,8
Rendement (%)	59,1	60,3	61,2

## 6.2 Composition chimique des amidons isolés

### 6.2.1 Amidon et composés résiduels des extraits

La composition chimique en humidité, amidon, et protéines est donnée par le tableau 6.5:

**Tableau 6.5 : Teneurs en amidon et composés résiduels des extraits**

Amidon	Sorgho		Mil chandelle
	ASBI04	ASPI04	AMI04
Humidité (%)	8,11 ±0,42	8,50 ±0,34	7,72 ±0,31
Amidon (%)	94,10± ±0,50	93,03 ±0,61	96,74 ±0,85
Protéines résiduelles (%)	0,43 ±0,01	0,55 ±0,02	0,35 ±0,01

Le taux de protéines résiduel indique la pureté de l'extrait d'amidon, Tester et ses collaborateurs considèrent des amidons purs pour des taux de protéines inférieurs à 0,6 %. Le taux le plus élevé obtenu pour nos extraits est de 0,5 %, cette valeur signifie que nos extraits sont considérés comme des amidons purs. Chanapamokkhot et Thongngam (2007) ont obtenu des taux de 0,26 et 0,31 % en utilisant la méthode de Wang et ses collaborateurs. Beleia et al. (1980) ont obtenu des extraits d'amidon de cinq cultivars de mil d'Uganda avec des teneurs en protéines résiduelles de 0,44 - 0,77 % et en humidité de 10,8 - 14,1% relativement plus élevées.

Il est à signaler que la procédure d'isolement ainsi que les facteurs génétique et environnemental peuvent contribuer aux différences dans la solubilité, le pouvoir de gonflement et les propriétés de viscosité des amidons de sorgho (Singh et al., 2009 ; Srichuwong et al., 2005, Rhymer et al., 2005)

### 6.2.2 Teneur en amylose et amylopectine

L'amylose possède une grande influence sur la structure du granule d'amidon et sur son comportement thermique et rhéologique à savoir la gélatinisation, la rétrogradation, la gélification et la solubilisation (Jenkins et Donald, 1995). Son taux est influencé à la fois par les facteurs génétiques et environnementaux (Srichuwong, 2005).

Les teneurs en amylose dans amidons analysés sont déterminées et récapitulées dans le tableau 6.6. Les teneurs en amylopectine et le rapport amylose/amylopectine sont déduits.

**Tableau 6.6 : Teneurs en amylose et amylopectine dans les amidons de sorgho et de mil**

<b>Amidon</b>	<b>Amylose (%)</b>	<b>Amylopectine (%)</b>	<b>Rapport amylose /amylopectine</b>
ASBI04	27,1±0,6	72,9	0,4
ASPI04	24,8±0,8	75,2	0,3
AMI04	23,0±0,6	77,0	0,3
AMN04	26,8±0,9	73,2	0,4

Les amidons natifs, selon leur origine botanique, possèdent des teneurs en amylose très variables. Ils ont typiquement des valeurs moyennes de 17 % amylose (83 % amylopectine) pour l'amidon de tapioca et 28 % amylose (72 % amylopectine) pour l'amidon de maïs et de blé (Jenkins et Donald, 1995). Il existe également des amidons qui contiennent presque exclusivement de l'amylose (amylo) ou encore exclusivement de l'amylopectine (waxy). L'amylose joue un rôle dans les propriétés de gonflement, de gélatinisation et de fermeté des gels d'amidon (Tester et Morrison, 1990, Chanapamokkhot et Thongngam, 2007)

D'après les résultats obtenus, les variétés sélectionnées de sorgho et de mil sont considérées comme des variétés normales vu que le taux d'amylose varie entre 23 et 27 %. En effet, Beta et Coke (2001) estiment que les variétés qui ont des teneurs en amylose entre 21 et 34 % ne sont pas considérées comme des variétés waxy.

Une différence au sein d'un même groupe de sorgho *bicolor* est constatée. En effet, les taux obtenus sont de 27,1 % et 23,7 % pour le sorgho blanc et pigmenté, respectivement. Singh et al. (2009) a donné un intervalle de 11,2-28,8 % pour les génotypes de sorgho blanc cultivés en Inde. Pour le sorgho rouge cultivé en Afrique du Sud examiné par Beta, Corke et Taylor (2000), le taux d'amylose (26,5 %) est relativement élevé. Chez les cultivars de mil chandelle, il est de 23,0 % et 26,8 %, respectivement pour le cultivar local et importé d'Agadez.

Les taux obtenus par Beta et Corke (2001) pour les variétés de sorgho cultivées au Zimbabwe varient entre 20,9 et 30,2 %. La FAO (1995) donne des intervalles de 21,2-30,2 % et 21,9-28,8 % d'amylose et des moyennes de 26,9 et 25,9 % respectivement pour le sorgho et les mils chandelles. Les grains de cultivars de sorgho de Thaïlande présentent des valeurs d'amylose de 25,35 et 27,18 % (Chanapamokkhot et Thongngam, 2007).

Le sorgho banc et le mil importé présentent une composition en amylose relativement proche de celle du blé et du maïs. Le rapport amylose/amylopectine ne varie pas considérablement, il est compris entre 0,3 et 0,4.

### **6.2.3 Endommagement des amidons**

Le taux d'endommagement des amidons, mesuré par le doseur SD4 Chopin Dubois, nous renseigne sur la proportion de granules blessés ou lésés et qui ont donc perdu leur configuration compacte au cours de leur développement dans le grain ou sous l'action mécanique de la mouture.

Le rôle de ces amidons dits endommagés sur la capacité d'absorption d'eau d'une farine, son aptitude à la fermentation en raison d'une plus grande sensibilité à l'amylolyse et en conséquence sur les propriétés organoleptiques des produits finis a fait l'objet de nombreuses études (Medcalf et Gilles, 1965 ; Berger, 1986).

La connaissance du taux d'endommagement de l'amidon dans les farines revêt une grande importance dans plusieurs domaines. Elle permet en effet :

- ✓ l'amélioration des résultats en panification (hydratation, fermentation),
- ✓ l'adjonction optimale des quantités d'additifs et notamment d' $\alpha$ -amylase,
- ✓ une meilleure appréciation des paramètres de conservation des produits à base d'amidon (influence du taux d'endommagement de l'amidon sur le pourcentage d'eau liée dans les produits à base d'amidon),
- ✓ l'identification de l'influence spécifique de l'endommagement de l'amidon sur les critères organoleptiques et de texture des produits à base d'amidon,
- ✓ l'amélioration, par l'accroissement du taux d'endommagement de l'amidon, de l'amylolyse en facilitant l'action de l' $\alpha$ -amylase et en permettant celle de la  $\beta$ -amylase ce qui a pour conséquence d'activer la fermentation

Selon la valeur du taux d'endommagement de l'amidon, on distingue un endommagement, faible, moyen, fort et élevé comme précisé dans le tableau 6.7.

**Tableau 6.7 : Degré d'endommagement de l'amidon selon la valeur du taux d'endommagement d'amidon**

UCD<13	13<UCD<16	17<UCD<20	UCD ≥ 20
Faiblement endommagé	Endommagement moyen	Fort endommagement	Endommagement élevé

Source : SD4 Chopin-Dubois, mode d'emploi, Dubois M., l'endommagement mécanique de l'amidon dans les farines de blé. Note technique Chopin-Dubois.

Les valeurs du taux d'endommagement des amidons TEA obtenues pour les moutures intégrales des grains des différents cultivars de sorgho et de mil chandelle sont reportés dans le tableau 6.8.

**Tableau 6.8: Taux d'endommagement d'amidon dans les moutures de sorgho et de mil**

Amidon	ASBI04	ASPI04	AMI04	AMN04
TEA en Unité Chopin Dubois (UCD)	7,1 ± 0,3	0,0	6,25 ± 0,2	0,0
TEA en (AACC) %	0,0	0,0	0,0	0,0
TEA en Farrand (FAR)	1,1 ± 0,3	0,0	0,25 ± 0,2	0,0
TEA en Audidier (AUD) %	2,9 ± 0,3	0,0	2,0 ± 0,2	0,0

Selon les résultats, il ressort que dans les moutures intégrales, le taux d'endommagement est nul pour les moutures de sorgho pigmenté et de mil importé et faible pour celles du sorgho blanc et du mil local. Ce qui signifie que toutes les moutures sont faiblement endommagées. Ce résultat important a été confirmé par les observations effectuées par microscopie et traduit une structure assez rigide du granule qui n'est pas affecté lors de sa formation et sous l'action mécanique de la mouture. Il reste donc natif et présente une plus grande difficulté à l'amylolyse par les  $\alpha$ -amylases et  $\beta$ -amylases, de même qu'une réduction des qualités boulangères des moutures (% faible d'eau liée). Cependant, ils présentent une meilleure conservation, ce qui constitue un avantage appréciable. Comparé aux farines de blé évalué à 15,2- 22,1 UCD (Massaux et al., 2008), le taux d'amidon endommagé est très faible dans les moutures de sorgho et de mil chandelle analysés.

#### 6.2.4 Activité de l'eau

L'activité de l'eau d'un matériau est définie par le rapport entre la pression de vapeur de l'eau du matériau et la pression de vapeur pure à la même température. Dans l'industrie agroalimentaire et pharmaceutique, les bactéries représentent un risque pour la qualité des produits. Les micro-organismes ont besoin d'eau pour devenir actifs. Le facteur essentiel de ce processus est le degré de disponibilité, et non pas la quantité d'eau. C'est pourquoi l'activité de l'eau est la grandeur de mesure décisive dans l'évaluation du risque. Les valeurs  $a_w$  mesurées pour les différents échantillons d'amidon sont rassemblées au tableau 6.9.

**Tableau 6.9: Activité de l'eau  $a_w$  des différents amidons isolés**

<b>Amidon</b>	ASBI04	ASPI04	AMI04	AMN04
<b><math>a_w</math></b>	0,534	0,558	0,542	0,533
	±0,002	±0,002	±0,003	±0,002

Dans les produits alimentaires, l'activité de l'eau détermine entre autres la stabilité des couleurs, le goût, la transformabilité, les caractéristiques des produits ainsi que leur conservation. Un risque potentiel existe lorsque les produits alimentaires à forte activité de l'eau ne sont pas suffisamment réfrigérés.

La valeur  $a_w$  a une influence directe sur certaines caractéristiques des produits. Ainsi, les produits à forte activité de l'eau sont sujets à l'altération microbienne. La moisissure se développe en général à partir de valeurs  $a_w$  supérieures à 0,7. Dans le cas des bactéries, les valeurs  $a_w$  minimales observées jusqu'à présent se situent entre 0,86 et 0,9 en fonction du micro-organisme. Les valeurs  $a_w$  des différents amidons sont comprises entre 0,53 et 0,56. Ces valeurs indiquent une bonne stabilité et conservabilité des amidons vu qu'elles sont loin des conditions de développement des microorganismes.

### 6.3 Structure cristalline des amidons isolés

Les diffractogrammes des rayons X des amidons des cultivars de sorgho et de mil chandelle analysés sont illustrés par les figures 6.1, 6.2, 6.3 et 6.4. Ils montrent que les amidons sont tous de type A caractéristique des amidons de céréales. Ils présentent le même profil, l'aire sous l'angle de diffraction  $2\theta$  dans l'intervalle compris entre  $13,0$  et  $25,0^\circ$  indique la cristallinité des amidons. Les pics chez l'amidon du sorgho blanc et pigmenté apparaissent à  $15, 17, 18, 23^\circ$  ( $2\theta$ ). Des pics similaires sont observés dans l'amidon brut de sorgho cireux Coréen à l'exception du pic à  $11,5^\circ$  (Shin et al., 2004). Les pics observés chez les mils chandelles se trouvent à  $15; 18; 23^\circ 2\theta$ .

Les indices de cristallinité (IC) sont évalués et reportés au tableau 6.10.

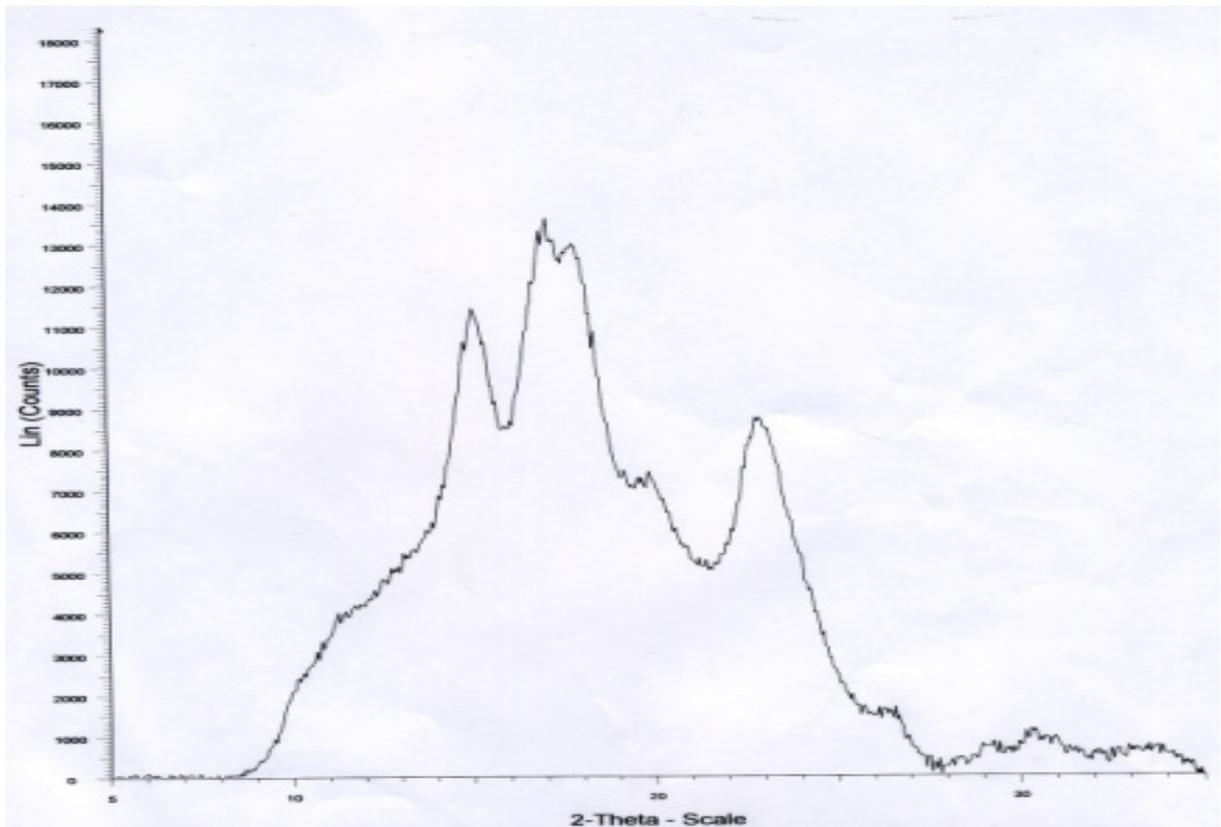
**Tableau .6.10 : Indice de cristallinité (IC) des différents amidons isolés**

<b>Amidon</b>	ASBI04	ASPI04	AMI04	AMN04
<b>IC (%)</b>	22,7	28,9,	27,7	26,1

Les valeurs de l'indice de cristallinité IC des amidons de mil local et importé d'Agadez sont relativement proches. Par contre, un écart important est noté chez les deux sorghos blanc et pigmenté. L'amidon du sorgho pigmenté a montré relativement le plus grand indice. Comparés au blé, les amidons de sorgho et de mil analysés présentent des valeurs de IC deux fois plus élevées. En effet, Chakraborty et al. (2004) a obtenu une valeur variant

entre 10,1 et 15,3 % pour 11 géotypes de blé. Les cultivars d'igname e *Dioscorea opposita* Thunb ont présenté les plus grands indices allant de 34,3 à 43,1% (Shujun et al., 2008). Chez l'amidon de pomme de terre (séché à l'air libre) de type B, il est de 21%.

La variabilité dans le pourcentage de cristallinité peut être expliquée par la différence dans la solubilité et l'absorption de l'eau (Radley, 1968). Il a été reporté que cet indice est un des facteurs les plus important qui détermine la digestibilité des amidons (Benmoussa et al., 2006 ; Radley, 1968). Selon Tester et Morrison, il est lié à la structure moléculaire de l'amylopectine (longueur des chaînes) (Bao, 2004). Cependant, il n'existe aucune étude expérimentale qui exclue la présence de l'amylose dans les zones cristallines. L'amylose peut cristalliser sous certaines conditions : rétrogradation ou préparation du cristal novo de l'amylose A, B et V (Buléon et al., 1990)



**Figure 6.1 : Diffractogramme des rayons X de l'amidon de sorgho blanc**

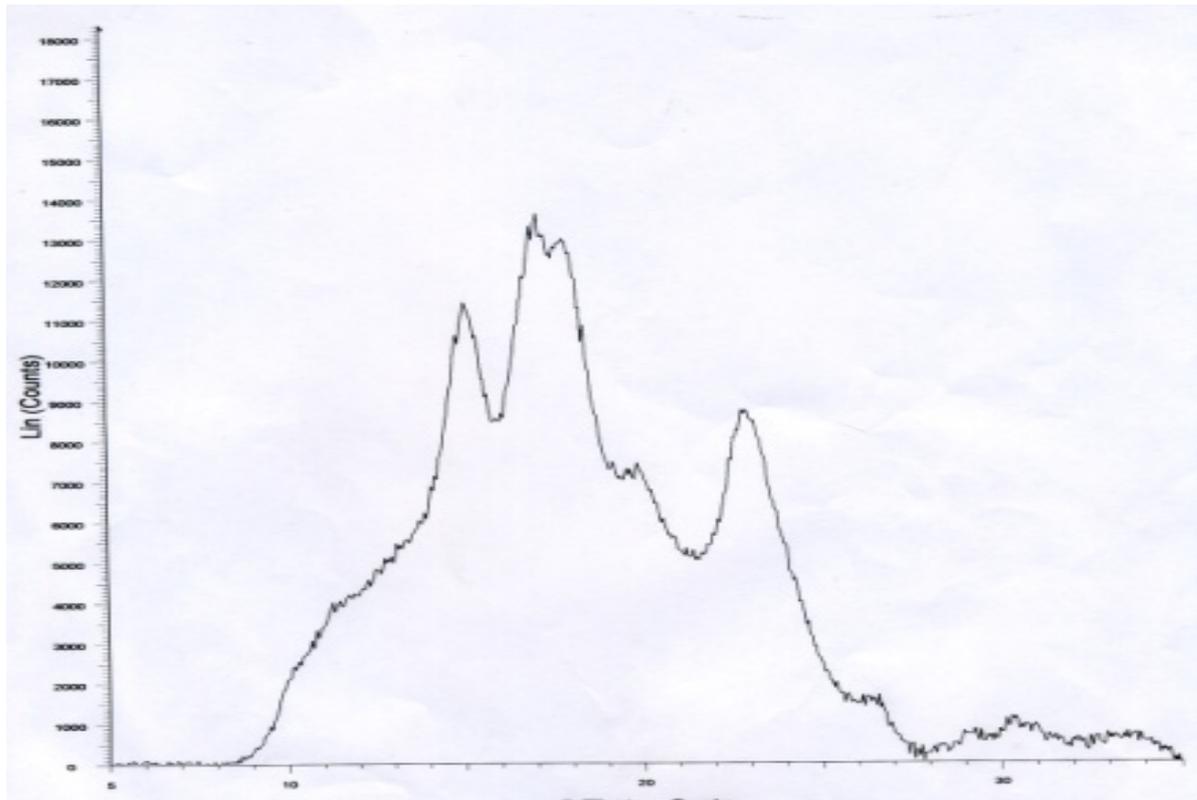


Figure 6.2 : Diffractogramme des rayons X de l'amidon de sorgho pigmenté

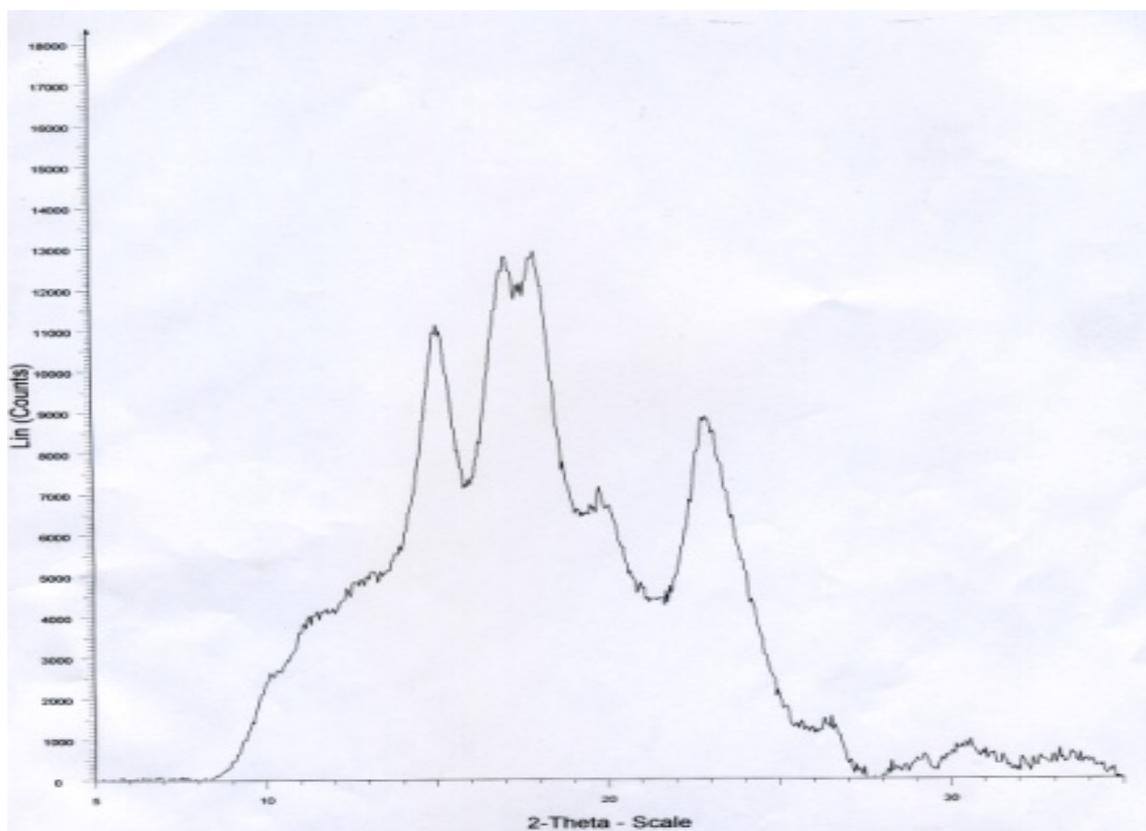
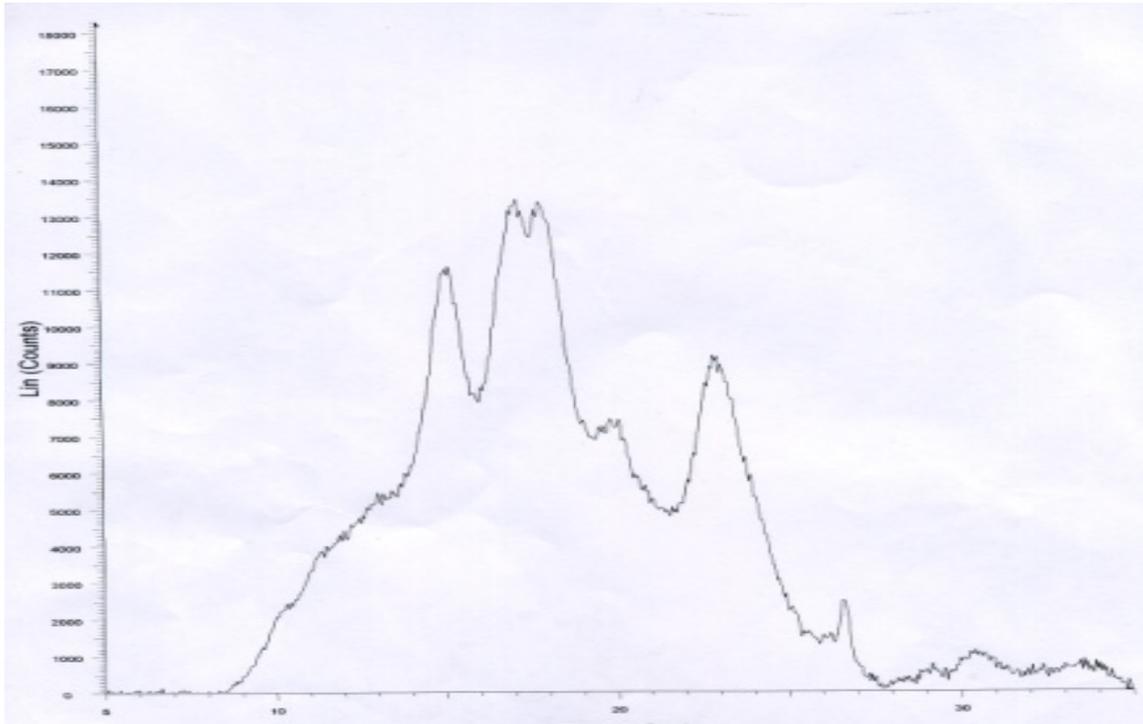


Figure 6.3 : Diffractogramme des rayons X de l'amidon de mil chandelle de Tidikelt



**Figure 6.4: Diffractogramme des rayons X de l'amidon mil chandelle d'Agadez**

#### **6.4 Structure et propriétés morphologiques des granules d'amidon**

L'examen de la structure et des propriétés morphologiques des granules d'amidon est réalisé à l'aide de la microscopie optique à la lumière du jour et à la lumière polarisée pour les granules dans l'eau et dans la solution d'iode ( $KI/I_2$ ) et de la microscopie électronique à balayage. Cet examen, a permis grâce au système de camera et de logiciel de traitement de l'image, de caractériser l'amidon et d'obtenir des informations très intéressantes inhérentes à la forme, à la taille, à l'aspect de la surface des granules, à la présence de l'amylose grâce à la coloration par la solution d'iode et à la nativité des granules (la présence de la biréfringence).

##### **6.4.1 Forme et taille des granules d'amidon par microscopie optique**

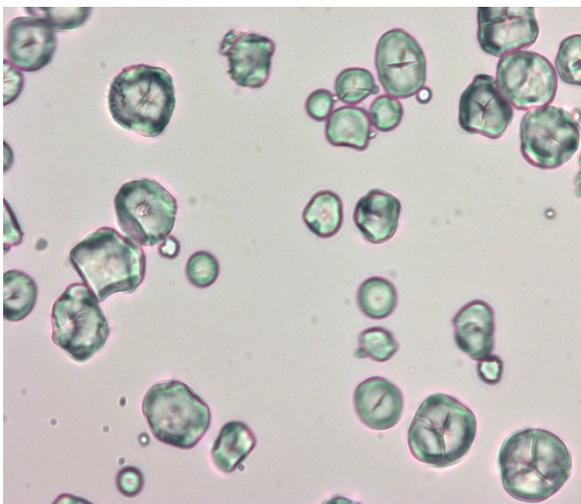
Il est vrai qu'à l'heure actuelle, il n'existe pas de méthodes automatiques objectives pour la caractérisation tridimensionnelle afin d'évaluer la forme et la taille du granule. Cependant, on arrive à distinguer que tous les échantillons d'amidon examinés présentent une hétérogénéité de forme et de taille des granules, comme le montrent les figures 6.5, 6.6, 6.7 et 6.8. Cette hétérogénéité pourrait être expliquée par la différence de localisation

des granules d'amidon (péricarpe, endosperme farineux ou vitreux) et les déformations provoquées par la matrice protéique lors de leur biosynthèse.

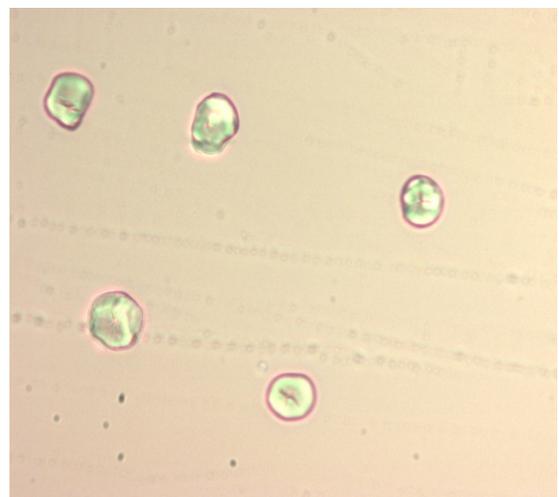
Les granules d'amidon de sorgho blanc et de sorgho pigmenté possèdent une forme polygonale, certains ont une forme ovoïdale et sphérique. Des formes irrégulières, d'anneaux, polyédriques, polygonaux et sphériques ont été rapporté par Singh et al. (2009) pour les 15 génotypes de sorgho cultivés en Inde.

Les granules de mil local et de mil d'Agadez ont une forme polyédrique à angle faiblement marqué, certains sont sphériques, leur taille est plus petite que celles des granules de sorgho. Les observations sont semblables à celles faites par d'autres auteurs (Radley, 1974 et Hosoney, 1986). Lindeboom et al. (2004) trouvent que la forme polygonale très irrégulière caractérise les granules de petites tailles.

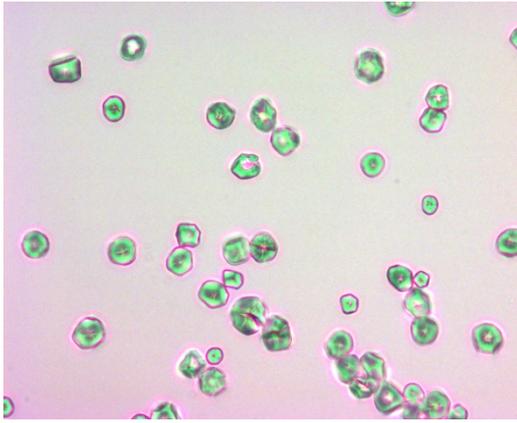
Il a été constaté que les granules d'amidon de l'endosperme corné sont polyédriques et de taille différente selon les espèces de mil. Dans l'endosperme farineux, les granules d'amidon sont sphériques et relativement plus gros que les granules d'amidon de la zone cornée. Dans la zone farineuse, l'amidon est plus facile à digérer par les enzymes. Chez le mil, les granules d'amidon de l'endosperme farineux sont sphériques et gros (FAO, 1995). D'autres chercheurs ont noté que plus le taux d'amylose contenu dans le granule augmente plus l'irrégularité de la forme augmente (Wong et al., 2009).



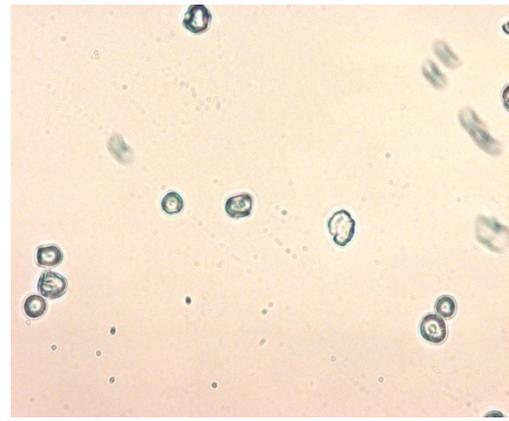
**Figure 6.5 : Image des granules d'amidon de cultivars de sorgho blanc (G 40x)**



**Figure 6.6 : Image des granules d'amidon de cultivars de sorgho pigmenté (G 40x)**



**Figure 6.7 : Image des granules d'amidon de cultivars de mil local (G 40x)**



**Figure 6.8 : Image des granules d'amidon de cultivars de mil d'Agadez (G 40x)**

Concernent les amidons d'autres sources botaniques, il a été observé que les granules de tubercules et de racines ont une forme ovoïdale, bien que certains sont, sphériques, polygonales et des granules de formes irrégulières existent aussi. Les granules de petite taille dans la fraction d'amidon de blé, d'orge, de seigle et de triticales ont une morphologie différente de celle de grande taille. Les granules d'amidon d'haricot et de pois sont caractérisés par de gros disques et ceux des fruits ont des formes très variées et peu communes (Lindeboom et al., 2004).

L'observation a permis de déceler pour tous les échantillons analysés une seule population de granules d'amidon ce qui traduit une distribution unimodale, ce résultat est en accord avec celui donné par tous les travaux effectués sur les différents cultivars de sorgho et de mil analysés jusqu'à présent.

La taille du granule a été mesurée sur les images prises par le microscope optique par rapport à son axe le plus long. La fréquence des tailles des granules en fonction des classes de granulométrie est représentée pour tous les amidons des cultivars analysés aux figures 6.9, 6.10, 6.11 et 6.12. La distribution suit la courbe de Gauss, ce qui confirme l'existence d'une seule population de granule et les tailles des granules sont de 10 à 60  $\mu\text{m}$  pour le sorgho blanc, de 10 à 70  $\mu\text{m}$  pour le sorgho pigmenté, de 5 à 40  $\mu\text{m}$  pour le mil d'In Salah et le mil d'Agadez.

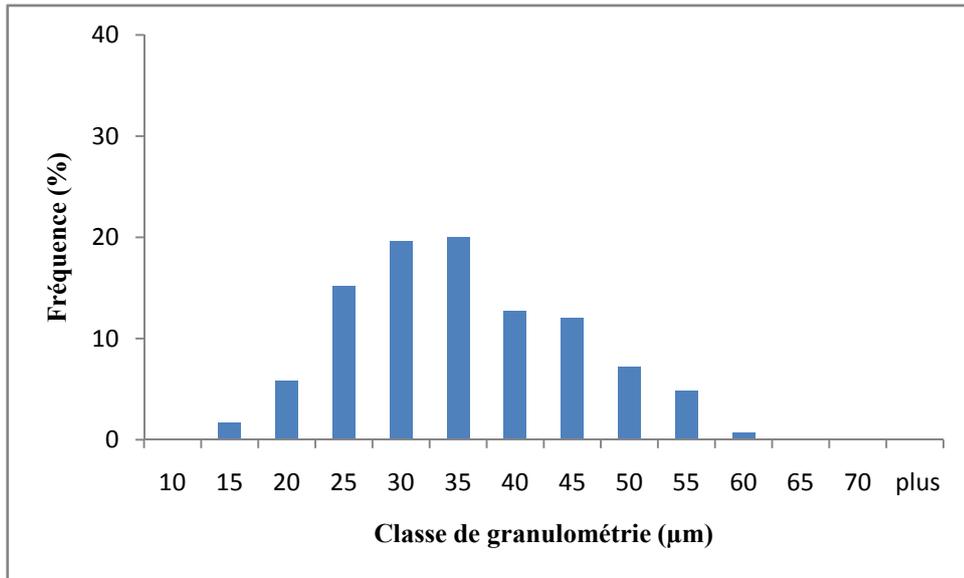


Figure 6.9 : Fréquence des granules d'amidon de sorgho blanc local (ASBI04) en fonction des classes de granulométrie

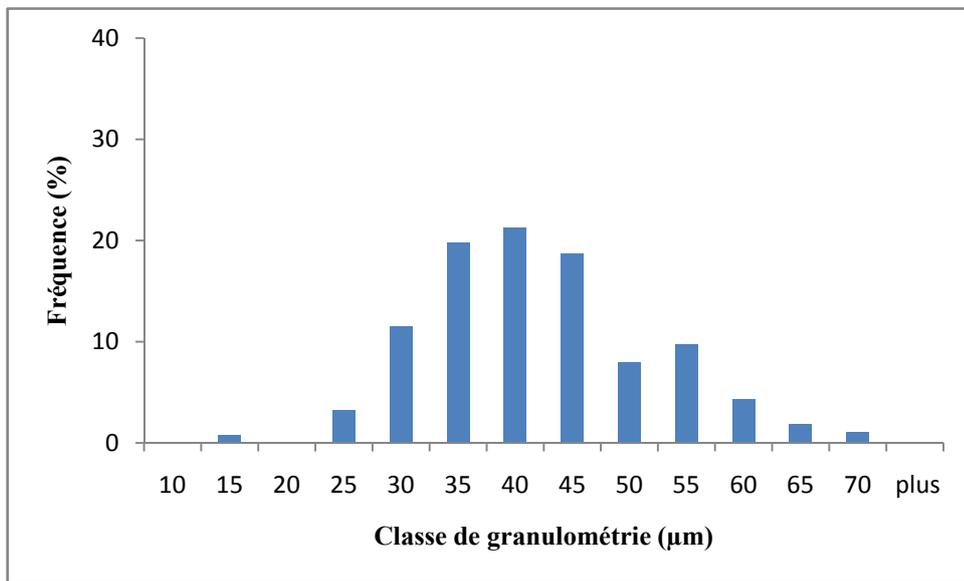
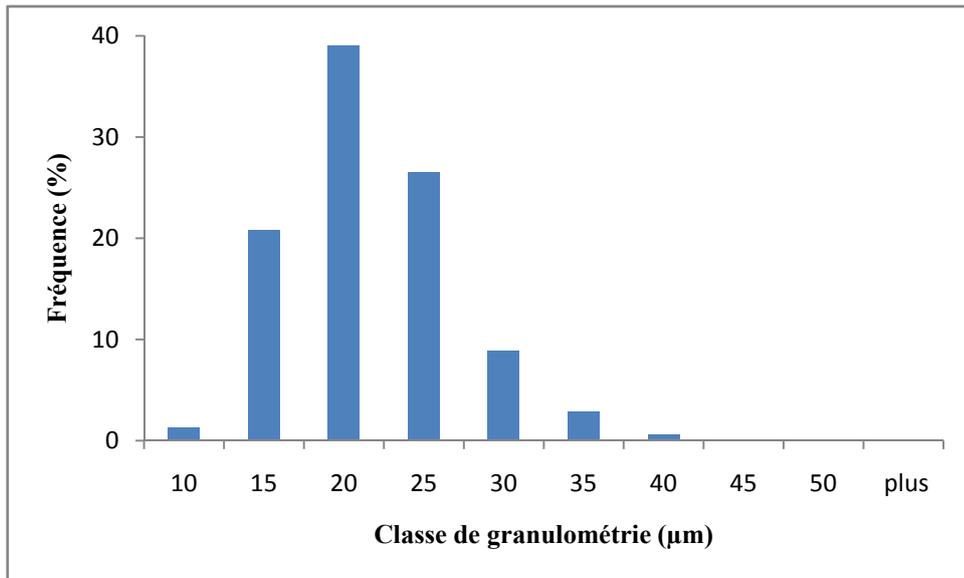
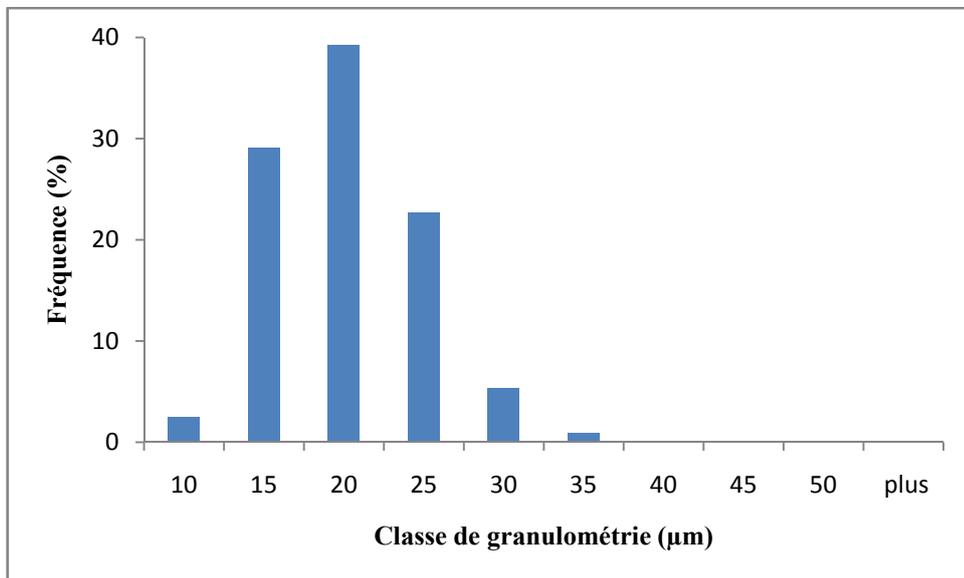


Figure 6.10 : Fréquence des granules d'amidon de sorgho pigmenté local (ASPI04) en fonction des classes de granulométrie



**Figure 6.11 : Fréquence des granules d'amidon de mil chandelle local (AMI04) en fonction des classes de granulométrie**

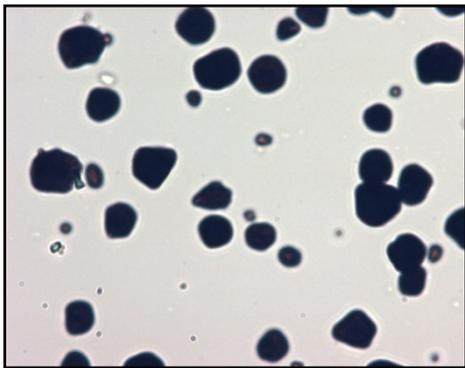


**Figure 6.12 : Fréquence des granules d'amidon de mil chandelle d'Agadez (AMN04) en fonction des classes de granulométrie**

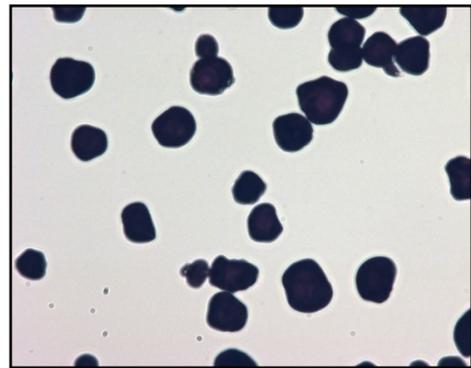
**✚ Observation au microscope optique avec coloration de l'amidon**

L'examen microscopique des granules coloré par l'iode donne des informations concernant l'amylose et l'amylopectine.

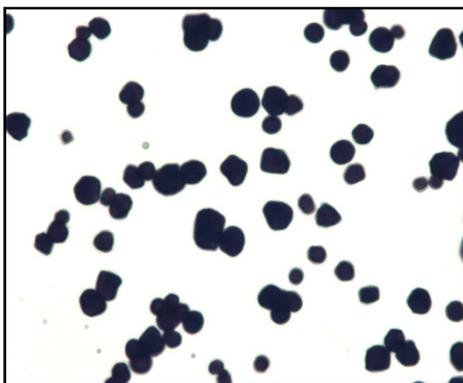
Il a été observé qu'en fonction des teneurs en amylose et amylopectine, la couleur des granules intacts varie du bleu au brun rougeâtre. La couleur dépend du complexe formé quand l'iode est inclus dans les hélices formée par les chaînes de l'amidon. Quand les hélices sont longues le complexe est bleu, par contre, si elles sont courtes, la couleur est pourpre ou brune rougeâtre. La présence d'embranchements dans l'amidon comme ceux présents dans l'amylopectine ou les amidons cireux (waxystarch) donne avec l'iode la couleur brune rougeâtre et une structure avec plus d'hélices d'amylose donne la couleur bleu. Le trempage des granules d'amidon des cultivars analysés de sorgho et de mil dans la solution d'iode leur confère une couleur bleu violacée (figure 6.13, 6.14, 6.15 et 6.16). Ceci traduit une forte présence d'amylose avec hélices d'amylose vraisemblablement composées de courtes chaînes.



**Figure 6.13 : Image des granules d'amidon de sorgho blanc colorés à l'iode (G 40x)**



**Figure 6.14 : Image des granules d'amidon de sorgho pigmenté colorés à l'iode (G 40x)**



**Figure 6.15 : Image des granules d'amidon mil chandelle local colorés à l'iode (G 40x)**

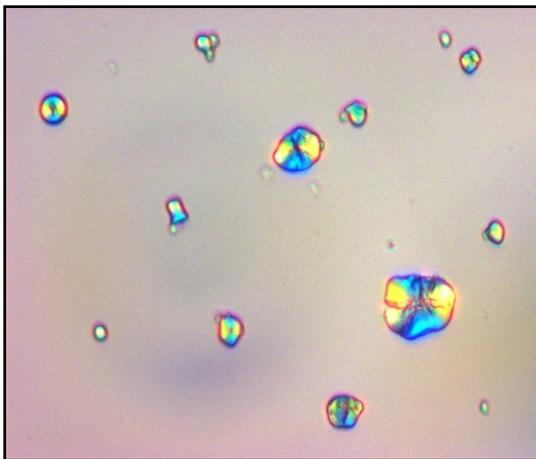


**Figure 6.16 : Image des granules d'amidon mil d'Agadez colorés à l'iode (G 40x)**

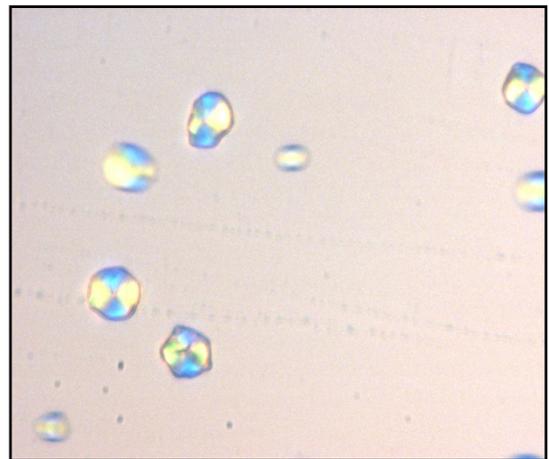
**✚ Observation au microscope optique à lumière polarisée**

Exposés à la lumière polarisée, les granules d'amidon des échantillons de sorgho et de mil brillent et une croix noire apparaît clairement à la surface des granules du au phénomène de biréfringence à la lumière polarisée (figure 6.17, 6.18 6.19 et 6.20). Ce phénomène indique le degré de l'ordre dans le granule et a lieu quand la lumière polarisée interagit avec la structure hautement ordonnée ou stable. La croix est créée par la rotation de la lumière polarisée par les régions cristallines ou hautement ordonnées dans l'amidon et indique une distribution radiale des éléments submicroniques dans le granule et peut être liée au motif structural et attribuée à la distance régulière et répétée entre les clusters adjacents des points d'embranchement dans la structure de l'amylopectine (Barsby et al., 2001).

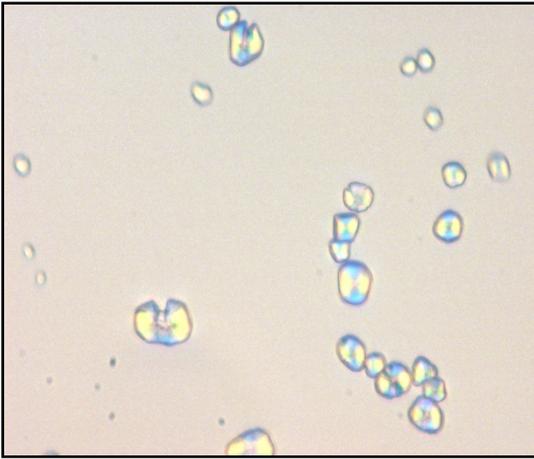
La biréfringence dans les amidons étudiés montre que les granules d'amidon isolés sont natifs et suggère une structure granulaire très ordonnée et stable. Sa perte est étroitement associée au phénomène de gélatinisation et donc, elle est souvent utilisée pour indiquer le phénomène de gélatinisation et évaluer la température de gélatinisation des amidons. Le hile et les stratifications ne sont pas très apparents.



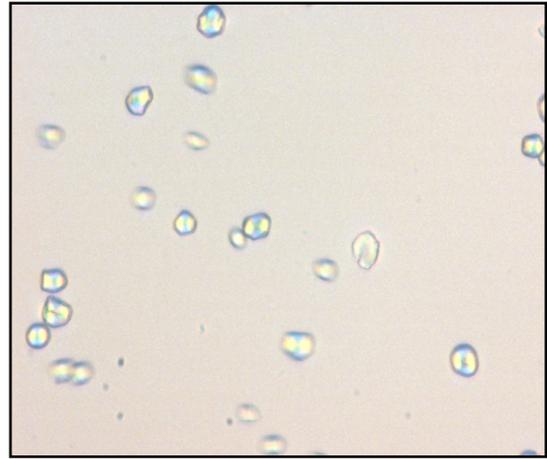
**Figure 6.17 : Image des granules d'amidon de sorgho blanc sous lumière polarisée (G 40x)**



**Figure 6.18 : Image des granules d'amidon de sorgho pigmenté sous lumière polarisée (G 40x)**



**Figure 6.19 : Image des granules d'amidon de Mil local sous lumière polarisée (G 40x)**



**Figure 6.20 : Image des granules d'amidon mil d'Agadez sous lumière polarisée (G 40x)**

#### ***6.4.2 Forme, taille et surface des granules d'amidon par microscopie électronique à balayage***

En plus de l'observation de la forme déjà effectuée à l'aide de la microscopie optique, la microscopie électronique à balayage a permis de voir qu'il n'y avait pas de distinction entre les formes et la distribution des formes chez les granules des deux génotypes de sorgho et les deux génotypes de mil (figures 6.21, 6.22, 6.23 et 6.24). De même, grâce au grossissement plus élevé, cet examen a permis d'observer la surface des granules qui montre un aspect assez lisse avec la présence de nombreuses crevasses peu profondes et de pores ou canaux « pinholes » chez certains granules d'amidon de sorgho et de mil chandelle, comme le montre les Figures 6.25, 6.26, 6.27 et 6.28,. La présence de ces pores ou canaux qui pénètrent le granule de la surface externe vers la cavité du hile et dont la profondeur varie d'un granule à un autre à été constaté par, Benmoussa et al. (2006) et Singh et al. (2009). D'après certains auteurs la formation de ces pores est due à une détérioration provoquée par les enzymes endogène lors de la formation des granules ou au cours de l'isolation de l'amidon. Les granules à surface poreuses sont plus abondants dans le mil local que dans le mil importé d'Agadez et sont plus nombreux dans les génotypes de sorgho que dans ceux des mil. La présence de ces pores dans les granules facilite l'accessibilité aux amylases lors de la digestion enzymatique. Il a été constaté que l'amidon du mil est hydrolysé plus lentement que celui du sorgho par l'amylase pancréatique du porc (FAO, 1995).

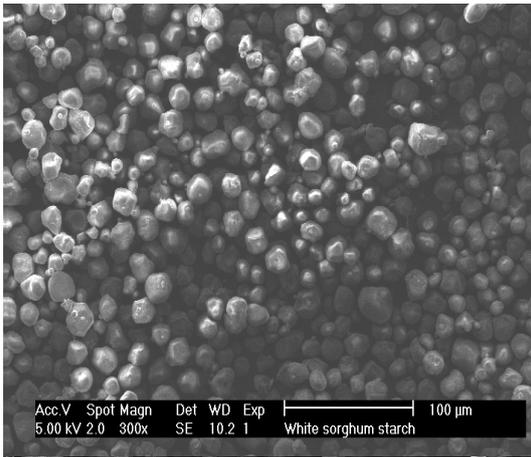


Figure 6.21 : Micrographie de granules d'amidon de sorgho blanc (G 300x)

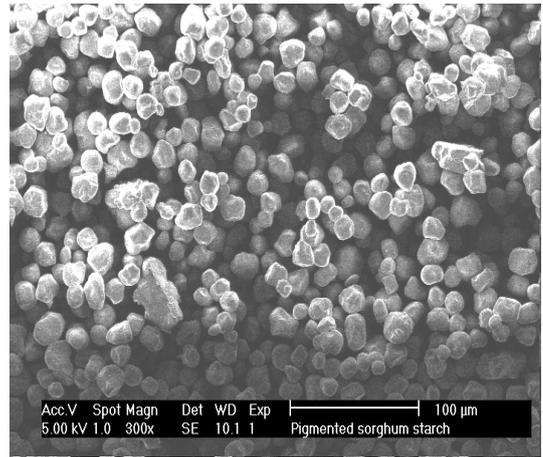


Figure 6.22 : Micrographie de granules d'amidon de sorgho pigmenté (G 300x)

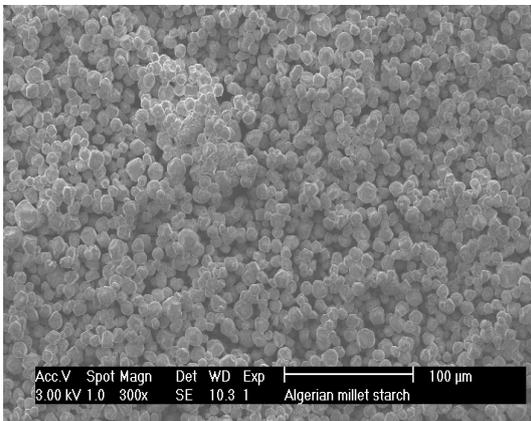


Figure 6.23 : Micrographie de granules d'amidon de mil local (G 300x)

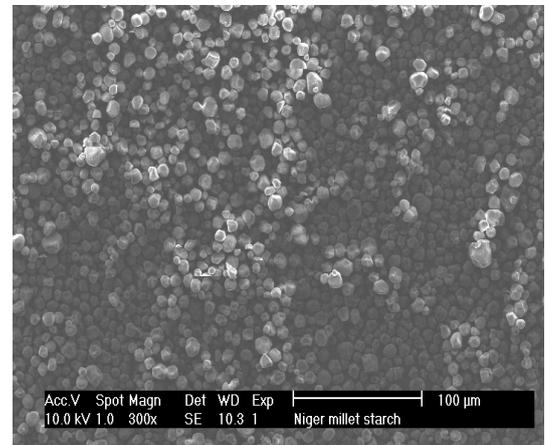


Figure 6.24 : Micrographie de granules d'amidon de mil d'Agadez (G 300x)

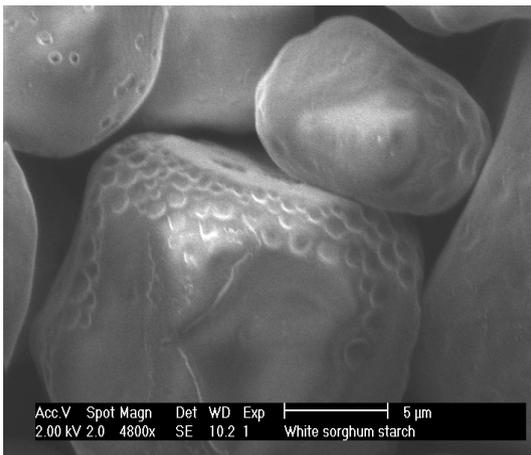


Figure 6.25 : Micrographie de granules d'amidon de sorgho blanc (G 4800x)

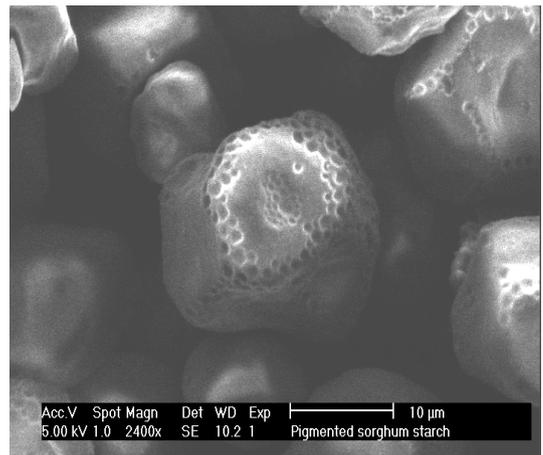
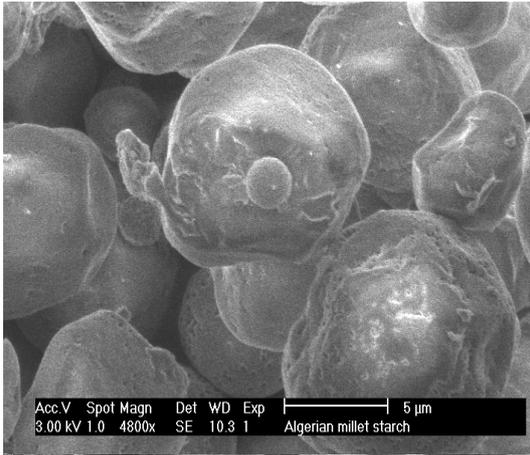
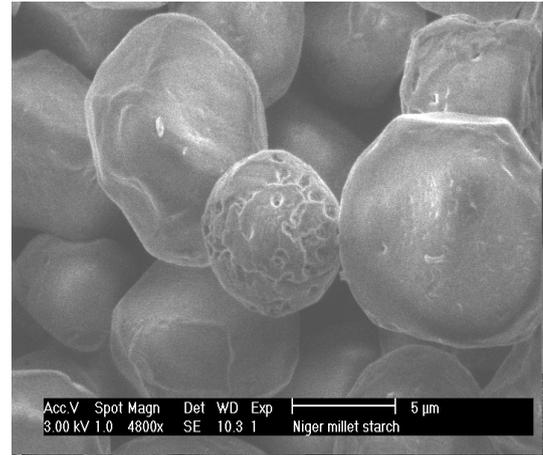


Figure 6.26 : Micrographie de granules d'amidon de sorgho pigmenté (G 2400x)



**Figure 6.27 : Micrographie de granules d'amidon de mil local (G 4800x)**



**Figure 6.28 : Micrographie de granules d'amidon de mil d'Agadez (G 4800x)**

#### 6.4.3 Distribution de la taille des granules d'amidon

Une deuxième méthode est adoptée pour l'analyse granulométrique à savoir la méthode par diffraction des rayons laser. Elle consiste à analyser l'atténuation de l'intensité de ces rayons. L'importance de la granulométrie se fait sentir dans les domaines de caractérisation des produits pulvérulents en vue de voir sa spécificité quant à son application potentielle.

La taille du granule est une caractéristique de l'amidon. Elle joue un rôle important dans les propriétés organoleptiques des aliments riches en amidon (Jane et al., 1992) et affecte certaines propriétés fonctionnelles telles que le gonflement, la solubilité, et la digestibilité. Une corrélation négative de la taille du granule et la susceptibilité à l'amylase et la dégradation acide a été observée (Moorthy, 2002).

Les résultats obtenus montrent tout d'abord, qu'il existe une homogénéité des échantillons d'amidon car les courbes de distribution de tailles des granules obtenues pour un même amidon se superposent convenablement.

Les amidons de toutes les variétés sélectionnées possèdent une seule population de granule comme le montrent les graphes obtenus et présentés aux figures (la taille des granules est donnée avec une échelle logarithmique) 6.29, 6.30, 6.31 et 6.32.

La taille des granules d'amidon de sorgho blanc varie entre 6,325 et 39,905  $\mu\text{m}$ , celle de l'amidon du sorgho pigmenté varie de 7,096 à 44,774  $\mu\text{m}$ .

La taille des amidons des mils est plus faible que celle des sorghos, elle varie de 3,17 à 25,179  $\mu\text{m}$  pour le mil chandelle local et de 2,825 à 22,44  $\mu\text{m}$  pour le mil chandelle d'Agadez.

Les intervalles de diamètre de granules d'amidon de sorgho et de mil étudiés sont plus larges que ceux donnés par la FAO (1995) et qui sont de 20-30  $\mu\text{m}$  pour le sorgho et 10-12  $\mu\text{m}$  pour le mil chandelle

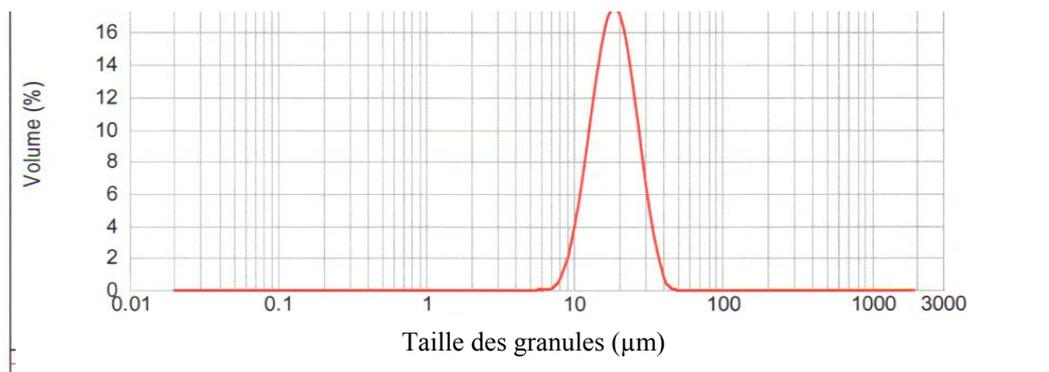
Jobling (2004) estime la granulométrie du maïs à 2-30  $\mu\text{m}$ , celle du blé à 1-45  $\mu\text{m}$  et celle de la pomme de terre à 5-100  $\mu\text{m}$  et celle de manioc à 4 -34  $\mu\text{m}$ .

Se basant sur la taille des granules, les amidons de sorgho et de mil peuvent par conséquent remplacer les amidons de maïs, de blé et de manioc dans les procédés dans le cas où l'influence des autres caractéristiques physicochimiques n'est prise en compte.

Des chercheurs dans le domaine de l'utilisation des granules d'amidon dans la fabrication de films plastiques biodégradables ont montré une corrélation linéaire entre l'épaisseur du film et la taille du granule ainsi qu'une corrélation linéaire inverse entre la résistance du film et la taille du granule (Jane et al., 1992). Ce domaine d'application pourrait être envisagé pour les amidons extraits à partir des cultivars locaux

A signaler que les amidons de sorgho pigmenté extraits selon les méthodes A et B ne montrent aucune différence quant à la taille des granules d'amidon.

Les courbes de distribution granulométriques sont superposées dans la figure 6.33 où une translation des courbes de sorghos et de mils est observée. Entre les variétés de la même espèce, la distinction est moins marquée, que ce soit pour le mil ou pour le sorgho.



**Figure 6.29 : Distribution de la taille des granules d'amidon pur de sorgho blanc**

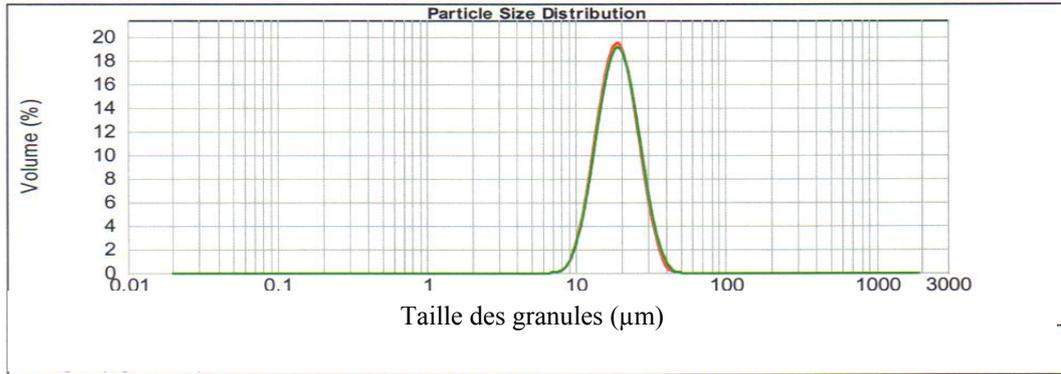


Figure 6.30 Distribution de la taille des granules d'amidon de sorgho pigmenté isolés selon la méthode A (—) et la méthode B (—)

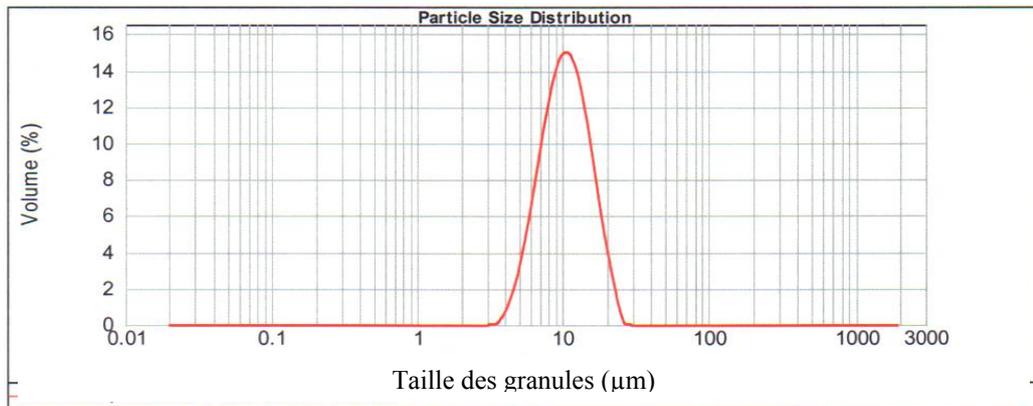


Figure 6.31: Distribution de la taille des granules d'amidon de mil local

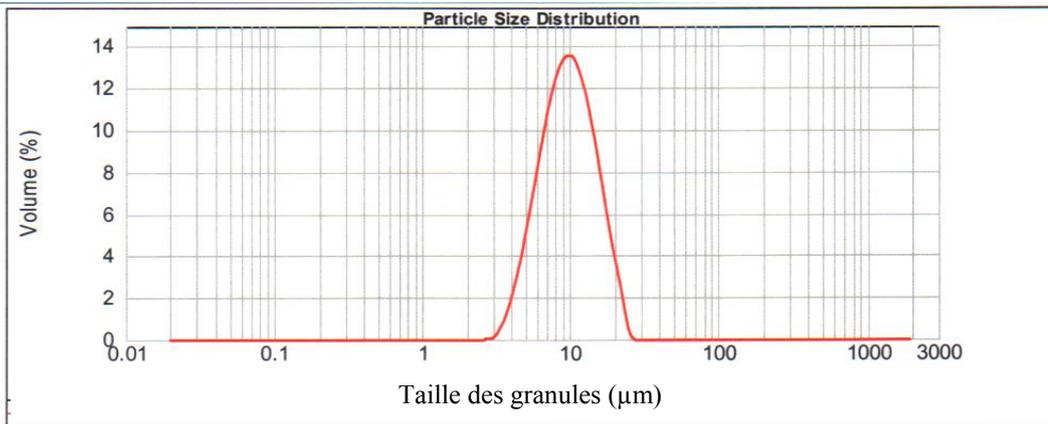
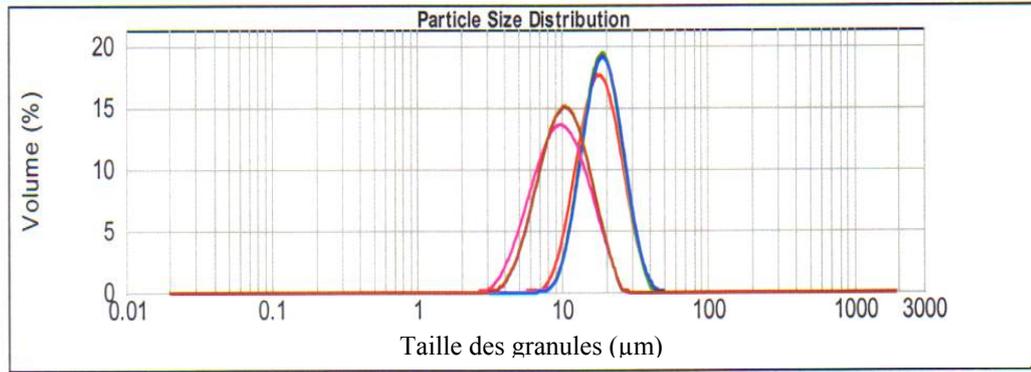


Figure 6.32: Distribution de la taille des granules d'amidon de mil importé d'Agadez



**Figure 6.33 : Distribution de la taille des granules d'amidons purs des cultivars de sorgho et de mil chandelle**

Les résultats de l'analyse granulométrique sont repris dans les tableaux 6.11 et 6.12

**Tableau 6.11: Valeurs minimales et maximales de la taille des granules d'amidons purs des cultivars de sorgho et de mil chandelle**

Amidon	Taille minimale (µm)	Taille maximale (µm)
ASBI04	6,32	39,90
ASPI04-A	7,10	44,77
ASPI04-B	7,10	44,77
AMI04	3,17	25,18
AMN04	2,82	22,44

Les valeurs de  $d(0,1)$ ,  $d(0,5)$  et  $d(0,9)$  correspondant respectivement aux diamètres dont 10, 50 et 90 % des granules ont des diamètres en dessous.

**Tableau 6.12: Valeurs caractéristiques de la granulométrie (en micromètre) des amidons purs des cultivars de sorgho et de mil chandelle**

Amidon	$d(0,1)$	$d(0,5)$	$d(09)$
ASBI04	11,81±0,21	18,21±0,38	27,78±0,53
ASPI04-A	12,59±0,01	18,64±0,12	27,39±0,19
ASPI04-B	12,80±0,06	19,08±0,10	28,31±0,18
AMI04	6,20±0,01	10,32±0,04	16,78±0,08
AMN04	5,55±0,06	9,76±0,15	16,87±0,49

Les caractéristiques de granulométrie donnent la taille moyenne des granules qui est la même pour les amidons de sorgho blanc et pigmenté et voisines pour les amidons de mil chandelle local et importé. Ces deux cultivars de mils analysés peuvent être caractérisés par de petits granules d'amidon vu que la taille de 50 % des granules est inférieure à 10 µm et que les granules d'amidons de sorgho sont considérés comme large. Les petits granules sont très appréciés dans la fabrication des plastiques biodégradables et les aérosols (Moorthy, 2002) et sont recherchés par l'industrie cosmétique, pharmaceutique et de textile.

- **Analyse de la variance**

Afin de voir si les différences de la de taille entre les cultivars sont significatives, une analyse de la variance par ANOVA à un facteur contrôlé est réalisée.

Pour la taille des granules d'amidon et les valeurs caractéristiques de la granulométrie, l'analyse a montré une différence très hautement significative entre les amidons de mil chandelle et de sorgho  $P < 0,01$

Pour l'amidon de sorgho pigmenté prétraité selon deux méthodes différentes, l'analyse a montré que la différence n'est pas significative pour  $d(0,1)$  et  $d(0,5)$ ; Des valeurs de P sont respectivement de 0,107 et 0,061. Par contre, pour le  $d(0,9)$ , la différence est significative  $P < 0,05$  ( $P = 0,038$ ). Quant à la taille des granules d'amidon, la différence n'est pas significative.

Pour les variétés de même espèce, la différence est significative  $P < 0,05$ . Il peut être déduit que le génotype et les conditions agroclimatiques, ont une influence sur la granulométrie. De nombreux chercheurs ont constaté que la taille du granule est plus faible durant les saisons sèches et l'attribue au pourcentage élevé de granules de petite taille durant ces périodes (Moorthy 2002). Dans les régions locales de culture, les températures de maturité des grains de sorgho et de mils sont élevées ce qui a permis de générer des granules d'amidon de petite taille.

L'étude comparative de la méthode de détermination de la granulométrie à partir de l'image des granules et celle qui utilise des rayons laser a permis de déduire que la première méthode donne des intervalles de granulométrie plus larges. Une grande différence dans la valeur de la taille maximale allant jusqu'au double est notée. Ceci pourrait être expliqué par le fait que des qu'il est difficile de distinguer les granules seuls. En effet, puisque l'image est prise à deux dimensions, on mesure la taille de deux granules ou plus partiellement superposés, en plus de l'incertitude sur la mesure. Il faut donc être très prudent dans les interprétations des résultats

### **6.5 Couleur des granules d'amidons**

La couleur d'un objet est la combinaison des longueurs d'onde de la lumière réfléchi par la surface de cet objet. Le spectromètre mesure et quantifie la lumière réfléchi (ou transmise) par l'objet à chaque longueur d'onde du spectre visible. Cette mesure est quantifiée par des systèmes à trois composantes: le système CIE (1993) correspondant aux composantes (RVB) et donné par les valeurs XYZ, le système Hunterlab (1958) donné par L,

a et b où encore le système CIELAB donné par L\*, a\* et b\* (il existe des relations mathématiques qui permettent de déterminer ces paramètres dans un autre système).

Pour l'analyse effectuée sur les échantillons d'amidons isolés, le système Hunterlab est choisi et les valeurs de L, a et b sont données par le tableau 6.13 suivant:

**Tableau 6.13: Paramètres de couleur des amidons purs des cultivars de sorgho et de mil chandelle**

<b>Paramètre de couleur</b>	ASBI04	ASPI04-A	ASPI04-B	AMI04	AMN04
<b>L</b>	92,91 ±0,00	90,02 ±0,00	91,06 ±0,04	90,52 ±0,08	89,66 ±0,00
<b>a</b>	-0,26 ±0,00	0,11 ±0,01	-0,48 ±0,02	-0,24 ±0,00	-0,25 ±0,00
<b>b</b>	3,58 ±0,03	4,14 ±0,02	4,15 ±0,00	3,42 ±0,03	4,43 ±0,01

**L**: la clarté ou la luminosité (100= couleur blanche et 0= couleur noire),

**a**: vert au rouge (a+ vers le rouge et a- vers le vert),

**b**: bleu au jaune (b+ vers le jaune et b- vers le bleu).

Il ressort de cette analyse que les amidons extraits ont une grande clarté, les valeurs de L sont comprises entre 89,66 et 92,91. Ceci peut supposer que les extraits sont relativement purs. Pérez Sira et Amaiz (2004), en utilisant le même procédé de trempage, ont obtenu une valeur voisine pour l'amidon de sorgho blanc (91,3) mais inférieure pour l'amidon de sorgho pigmenté (78,4). Wang et al. (2000) estiment qu'une valeur supérieure à 90 donne une blancheur satisfaisante pour les amidons et que la couleur est une caractéristique qui peut être utilisée pour étudier l'influence de la méthode de trempage sur la pureté des amidons.

Les valeurs de **b** varient de 3,42 à 4,43, elles expriment une tendance de couleur vers le jaune. Ces valeurs sont plus faibles que celles trouvées par Pérez Sira et Amaiz. (2004) qui sont de 10,6 pour l'amidon de sorgho blanc et de 23,09 pour celui du sorgho pigmenté, laissant supposer que nos variétés possèdent moins de pigment jaune et que le taux de protéines et lipides résiduels est plus faible.

Les valeurs de **a** sont négatives et presque égales pour les amidons de sorgho blanc, mil local et mil importé, ce qui se traduit par une nuance allant légèrement vers le vert. Par contre, dans le cas de l'amidon de sorgho pigmenté extrait après trempage dans la solution alcaline, la valeur de **a** est positive, ce qui signifie que la nuance de la couleur tend légèrement vers le rouge. Il est donc certain que les pigments constitués de tanins n'étaient pas complètement éliminés au cours de l'extraction. Leur présence avec les granules d'amidon est responsable de la tendance de la couleur vers le rouge.

L'amidon isolé à partir des grains d'haricot de Thaïlande en procédant à un trempage à l'eau, un broyage, un tamisage (425 ; 106  $\mu\text{m}$ ) et un lavage de l'extrait avec des solutions de NaOH et  $\text{NaN}_3$  a donné des valeurs de L, a, et b respectivement comprises dans les intervalles suivants : 1,26-88,42 ; 0,29-0,72 et 10,85-16,61 (Shimelis et al., 2006) traduisant une coloration relativement moins appréciée.

Pour l'amidon de sorgho pigmenté extrait après trempage en présence d'hypochlorite de sodium. La valeur enregistrée est négative montrant que la couleur vire vers le vert et que la couleur rouge a disparu. Un résultat important peut être déduit de cette analyse : l'ajout d'hypochlorite de sodium à la solution de trempage a eu pour effet de blanchir les amidons. Il ressort aussi que la composition chimique des grains et le procédé d'extraction de l'amidon affecte la couleur de l'amidon extrait.

## **6.6 Propriétés fonctionnelles des amidons isolés**

### ***6.6.1 Propriétés rhéologiques de viscosité des amidons isolés et non isolés***

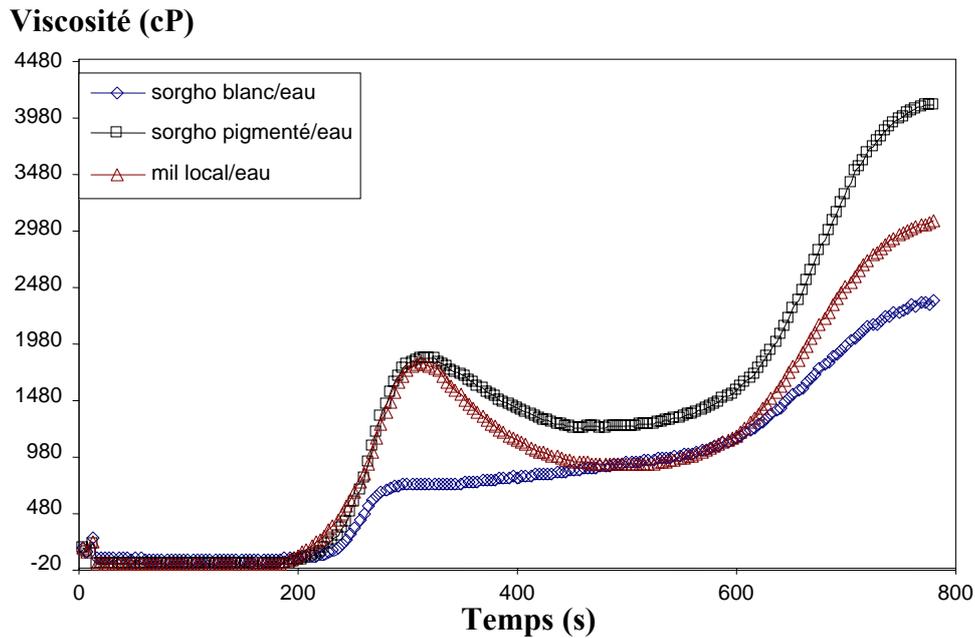
La viscosité est considérée comme indicateur des caractéristiques technologiques, elle permet de déterminer les propriétés de gélatinisation des amidons, des farines, des moutures intégrales ainsi que des préparations en mesurant l'évolution de la viscosité des suspensions lors d'un cycle de chauffage et de refroidissement. Les variations de la viscosité sont induites par une augmentation ou une diminution de la température et également par l'action mécanique et l'effet de liquéfaction du aux activités des  $\alpha$ -amylases endogènes.

#### ***6.6.1.1 Propriétés rhéologiques de viscosité des moutures intégrales***

Les courbes de viscosité obtenues pour les moutures intégrales sont représentées par la figure 6.34. La viscosité augmente avec la température, du fait du gonflement des granules d'amidon. Cette augmentation se poursuit jusqu'à atteindre la viscosité maximale. Cette valeur est une mesure du pouvoir épaississant de l'amidon. Lorsque la cuisson continue, les forces de cohésion à l'intérieur des granules sont rompues et la viscosité de la masse diminue. Cette partie indique la résistance à la cuisson et au cisaillement (Roudot, 2002). La dernière partie indique le comportement en cours de refroidissement.

L'allure de la courbe du sorgho blanc est différente de celle du sorgho pigmenté et du mil local. Son comportement est similaire à celui du blé. Il atteint le pic de viscosité le plus rapidement mais la viscosité au pic est relativement plus faible. Le sorgho pigmenté

et le mil local présentent le même pic de viscosité, mais ils sont différents par rapport à la viscosité finale qui est plus élevée chez le sorgho pigmenté (4120,50 cP).



**Figure 6.34 : Viscosité des moutures intégrales des cultivars de sorgho et de mil chandelle en présence d'eau**

A partir des courbes de viscosité, différentes valeurs des caractéristiques suivantes ont été déterminées et reportées au tableau 6.14:

- viscosité au pic (peak viscosity) : la viscosité maximale qui est atteinte avant l'étape de refroidissement du test (PV), elle correspond au point d'équilibre entre le gonflement et la diffusion des polymères hors granule ce qui a pour effet d'augmenter la viscosité. A ce moment, la rupture et l'alignement des polymères a pour effet de diminuer la viscosité. Elle indique la capacité de l'amidon ou le mélange amylicé à fixer l'eau. Elle souvent liée à la qualité finale du produit.
- la viscosité minimale (holdind strength) : la viscosité minimale atteinte après le pic de viscosité (HS), au cours de la décroissance de la viscosité, les granules d'amidon sont détruits et le contenu diffuse dans la solution,
- la viscosité finale (final viscosity) : viscosité atteinte à la fin du test (FV),
- le temps de pic (peak time) : temps au bout duquel la viscosité au pic est atteinte PT,
- la température de gélatinisation (Pasting temperature) : température de début de gélatinisation correspondant à la perte de la réfringence (Tg), elle indique la

température minimale requise pour la cuisson de l'échantillon ce qui implique la stabilité des autres composés de la formulation et indique aussi la consommation d'énergie.

Les valeurs de breakdown et de setback ont été calculées :

- Breakdown : représenté par BD, il correspond à la différence entre la viscosité maximale et la viscosité minimale,  $BD = PV - HPV$
- Setback : représenté par SB, il correspond à la différence entre la viscosité finale et la viscosité minimale,  $SB = FV - HPV$

**Tableau 6.14: Caractéristiques de viscosité des moutures intégrales des cultivars de sorgho et de mil chandelle dans l'eau**

Echantillon	PV (cP)	HPV (cP)	BD (cP)	FV (cP)	SB (cP)	PT (s)	Tg (°C)
CSBI04	690,00 ±1,41	693,00 ±11,31	57,50 ±4,95	2344,50 ±16,26	1205,50 12,02	301,50 ±9,19	81,87 ±1,73
CSPI04-B	1831,50 ±14,84	1275,50 ±2,12	30,00 ±4,24	4120,50 ±40,30	1171,00 ±18,38	310,00 ±5,65	84,70 ±1,06
CMI04	1775,00 ±2,83	891,00 ±16,97	254,50 ±2,12	3060,00 ±19,80	295,5 ±4,95	326,00 ±19,80	76,70 ±1,13

Le sorgho pigmenté présente les valeurs de viscosités (minimale, finale et au pic) les plus élevées comparées à celles du sorgho blanc et du mil local. Le sorgho blanc présente les valeurs les plus faibles. Les temps au pic de viscosité sont relativement très proches pour les trois céréales analysées.

#### 6.6.1.2 Propriétés rhéologiques de viscosité des amidons isolés

Les amylogrammes obtenus et illustrés dans la figure 6.35 sont caractéristiques des amidons. Ils présentent des allures différentes de ceux des moutures intégrales. Ce qui suppose que les granules dans la mouture n'ont par conséquent pas le même comportement que quand ils sont isolés et que la présence des autres constituants comme les lipides, les fibres et les protéines ont une influence non négligeable. La viscosité croit très rapidement pour atteindre le pic. C'est une caractéristique qui se révèle très intéressante à valoriser.

D'après l'examen des amylogrammes, l'amidon du mil local se distingue des autres qui sont très semblables. La viscosité au pic chez cet amidon est relativement plus faible. La viscosité finale pour tous les amidons est par contre très proche.

Les amylogrammes des amidons de sorgho pigmenté prétraités différemment sont confondus, Ceci montre que le prétraitement à l'hypochlorite de sodium n'influe pas sur la viscosité des amidons extraits à partir du sorgho pigmenté.

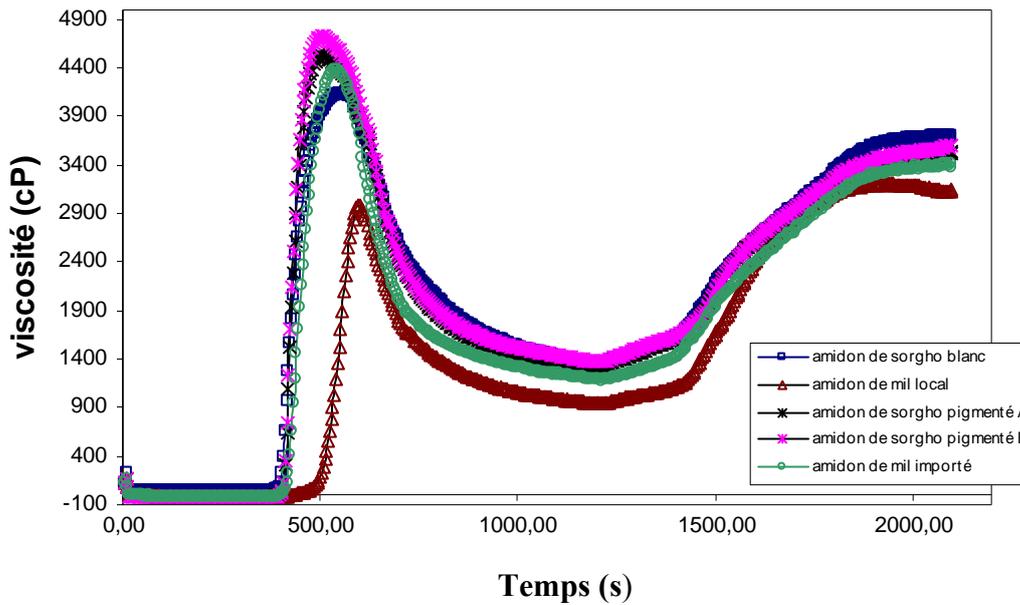


Figure 6.35 : Viscosités des amidons purs des cultivars de sorgho et de mil chandelle en présence d'eau

Les valeurs caractéristiques de viscosité pour les amidons extraits à partir des différentes céréales sélectionnées sont rassemblées dans le tableau 6.15.

Tableau 6.15: Caractéristiques de viscosité des amidons purs des cultivars de sorgho et de mil chandelle dans l'eau

Echantillon	PV (cP)	HPV (cP)	BD (cP)	FV (cP)	SB (cP)	PT (s)	Tg (°C)
ASBI04	4093,0 ±9,9	1330,0 ±15,5	2763,0 ±25,5	3718,5 ±14,8	2388,0 ±30,4	576,0 ±5,6	73,8 ±0,4
ASPI04	4731,0 ±36,5	1372,0 ±42,4	3359,0 ±9,4	3593,0 ±43,1	2221,0 ±27,7	510,0 ±00	74,7 ±0,6
AMI04	2985,0 ±5,66	967,0 ±31,11	2018,0 ±16,97	3147,5 ±6,3	2180,0 ±58,69	598,0 ±2,8	83,7 ±0,7
AMN04	4379,0 ±11,31	1185,0 ±16,40	3194,0 ±9,90	3413,0 ±12,02	2228,0 ±6,01	540,0 ±0,0	75,6 ±0,5

Les amidons de sorgho blanc et pigmenté ne présentent pas une grande variation dans les valeurs de la viscosité au pic, la viscosité minimale et finale. Contrairement aux sorghos les amidons de mils se distinguent par la différence de la viscosité au pic. Elle est plus faible dans le cas du mil local (2985 cP), cependant la viscosité minimale et finale sont relativement voisines pour les deux variétés. La variation du temps au pic n'est pas très importante pour les différents amidons. Beta et al. (2000) ont obtenu, pour les quatre variétés de sorgho cultivées au Zimbabwe, des temps de pic voisins (300-450 s).

L'étude comparative avec des viscosités des amidons de sorgho de différentes régions de culture et d'autres sources botaniques dont les résultats sont reportés au tableau 6.16 montre que les amidons des cultivars de sorghos locaux présentent une viscosité au pic, un beakdown et un setback relativement plus élevée que celle des sorghos et des autres céréales déjà étudiés ce qui revêt une grande importance quant à son application. Selon Singh et al. (2009), une valeur de viscosité élevée au pic peut être attribuée à l'absence des lipides et indique la capacité des granules à gonfler librement avant d'être physiquement détruit.

La température de gélatinisation des amidons des céréalicultures locale de sorgho est plus élevée que celle des sorghos cultivés au Zimbabwe et proche de celle des amidons de sorghos originaire d'Inde et de Nigeria. Le génotype et les conditions environnementales, en particulier la température de maturité peuvent expliquer cette différence.

**Tableau 6.16 : Résultats publiés sur les caractéristiques de viscosité des amidons**

<b>Cultivars</b>	<b>PV</b>	<b>HPV</b>	<b>BD</b>	<b>FV</b>	<b>SB</b>	<b>Tg (°C)</b>	<b>Source</b>
Sorgho (15) Inde	2541-4689 (cP)	919-2629 (cP)	911-2645 (cP)	2314-4743 (cP)	1067-2114 (cP)	75,2-80,9	Singh et al., 2009
Sorgho (10) Zimbabwe	3984 (cP)	1392 (cP)	2592 (cP)		1536 (cP)	69-70,3	
Sorgho Nigeria	2004 (cP)		144 (cP)		1476 (cP)	82,6	
Sorgho (5) Zimbabwe	2970-3320 (cP)						Beta et al., 2000
Sorgho Barnard Red Afrique du Sud	343 <sup>a</sup> (RVU)	110 <sup>a</sup> (RVU)			113 <sup>a</sup> (RVU)		Beta, Corke et Taylor, 2000
Sorgho Chine	279 (RVU)	113 (RVU)			129 (RVU)		
Maïs Sigma chemical	247 (RVU)	140 (RVU)			111 (RVU)		
Manioc (7) Inde						52,6-63,7	Moorthy, 2000
Blé tendre (26) Europe	160,3-321 (BU)		34,0-89,3 (BU)	253,0-539 (BU)	166,0-285,5 (BU)		Massaux et al., 2008

*Le nombre entre parenthèse indique le nombre de génotypes analysés.*

*<sup>a</sup> : valeur moyenne*

### **6.6.2 Pouvoir de gonflement et indice de solubilité dans l'eau des amidons isolés**

Le pouvoir de gonflement des amidons SP reflète l'habilité de l'amidon à interagir avec l'eau (Tester et Morrison, 1995) et la solubilité est un indicateur du degré de dispersion des molécules dans le granule d'amidon après chauffage. Elle peut être liée à la diffusion de l'amylose hors du granule d'amidon lors du gonflement.

L'amidon absorbe très peu d'eau à des températures proches de la température ambiante, son pouvoir gonflant est par là même très faible. Il a été remarqué que l'absorption d'eau croît avec la température. Engorgés d'eau, les amidons perdent leur structure granulaire. L'amylose et l'amylopectine se solubilisent pour former un gel.

Le comportement, au cours du traitement thermique des différents amidons est relativement différent comme le montre la figure 6.36. Une augmentation du pouvoir gonflant quand la température varie de 50 à 75 °C est remarquée pour tous les amidons. Au delà de cette température, Nous remarquons presque un palier pour les amidons de mil importé et le sorgho pigmenté. Pour l'amidon de mil local la variation du pouvoir gonflant est presque linéaire.

L'influence du génotype est très marquée pour le sorgho et le mil. Pour les amidons de sorgho pigmenté ayant subis des prétraitements différents, la variation n'est pas importante.

D'après les résultats de Radosta et al. (1991), le comportement chez l'amidon de blé, de maïs et de pomme de terre est différent. Ils ont observé un palier entre 60 et 85 °C suivi d'une croissance rapide.

L'indice de solubilité dans l'eau et dont les courbes sont représentées à la figure 6.37, présente des allures similaires à celles du pouvoir gonflant. Les mêmes observations sont notées à savoir une augmentation de l'indice de solubilité avec la température. En chauffant les granules absorbe l'eau qui solubilise les petites chaînes de polysaccharides et autres composés. Les paliers peuvent s'expliquer par le fait qu'au delà de 75 °C pour le mil et 85 °C pour les autres amidons, la solubilisation est ultime.

Le pouvoir de gonflement dépend de la capacité des molécules d'amidon à capter l'eau par des liaisons hydrogènes. Il est influencé par la teneur en amylopectine et par la granulométrie. D'après Tang et al. (2004), plus la taille des granules est faible plus le gonflement est grand.

Comparé aux indices de solubilité des autres amidons à savoir le blé, le maïs et la pomme de terre. Des constatations identiques à celles faites pour le pouvoir gonflant sont valables pour l'indice de solubilité.

Il a été signalé que la pomme de terre possède l'indice le plus élevé, environ 25 % à 95 °C (Radosta 1991). Une grande solubilité indique une grande diffusion de l'amylose (Chanapamokkhot et Thongngam, 2007). Vansteelandt et al. (1999) ont obtenu un pouvoir de gonflement et un indice de solubilité respectivement de 11,3 g/g et 13,3 % pour le blé. Cette dernière valeur est proche de celle obtenue pour le mil du Niger et du sorgho blanc.

Les résultats de viscosité et de solubilité des amidons de cultivars locaux de sorgho et de mil, peuvent suggérer que la structure de ces amidons se caractérise par des chaînes courtes.

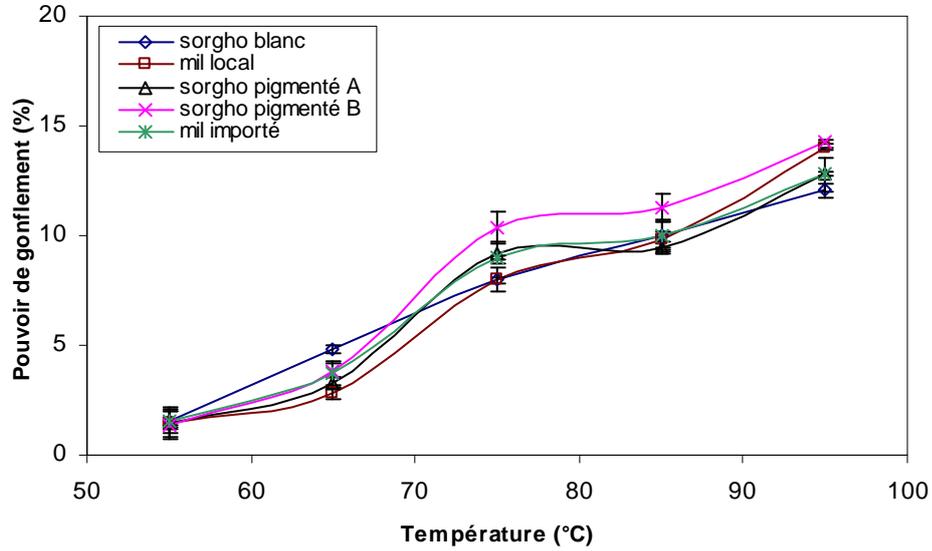


Figure 6.36 : Pouvoir de gonflement des amidons purs des cultivars de sorgho et de mil chandelle

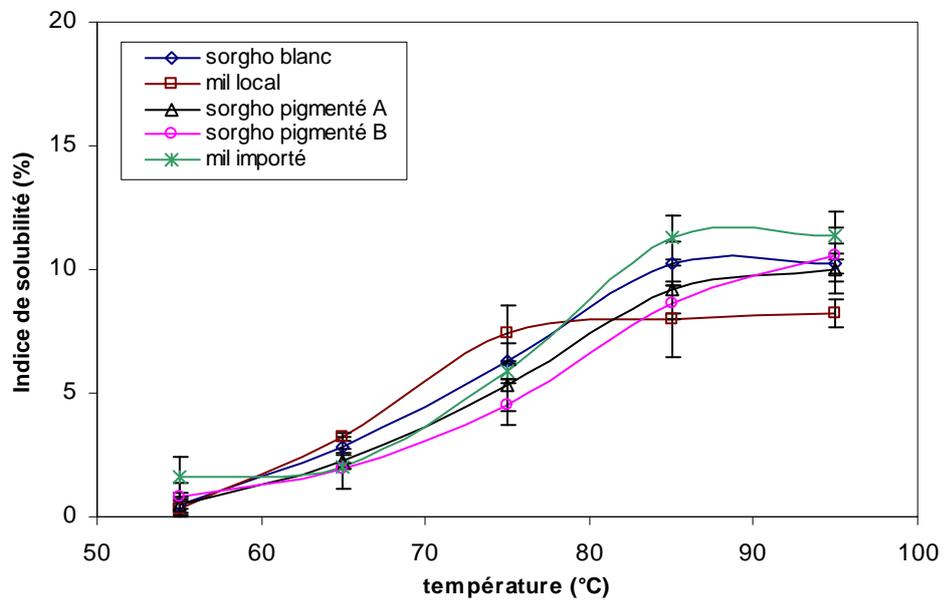


Figure 6.37 : Indice de solubilité des amidons purs des cultivars de sorgho et de mil chandelle

### 6.6.3 Comparaison des deux méthodes de prétraitement du sorgho pigmenté

Suite à l'influence de la présence des tanins dans le sorgho pigmenté sur les propriétés physiques de l'amidon, un essai supplémentaire a été mené en ajoutant de l'hypochlorite de sodium à la solution de trempage. La comparaison entre les deux traitements a montré que l'hypochlorite de sodium permet d'améliorer la couleur de l'amidon extrait. Il donne une meilleur blancheur à l'amidon tout en gardant les propriétés fonctionnelles identiques (distribution granulométrique, viscosité, pouvoir de gonflement et de solubilité dans l'eau comme le montrent les figures 6.30, 6.35, 6.36 et 6.37. Signalons qu'il a été rapporté que les produits chimiques tels les acides, dioxyde de soufre, et les agents de blanchiment utilisés pour améliorer la couleur affecte négativement la qualité de l'amidon (Moorthy 2002).

### 6.7 Propriétés thermiques des amidons isolés

Les courbes d'évolution du flux de chaleur en fonction de la température sont représentées par les figures 6.38 et 6.39.

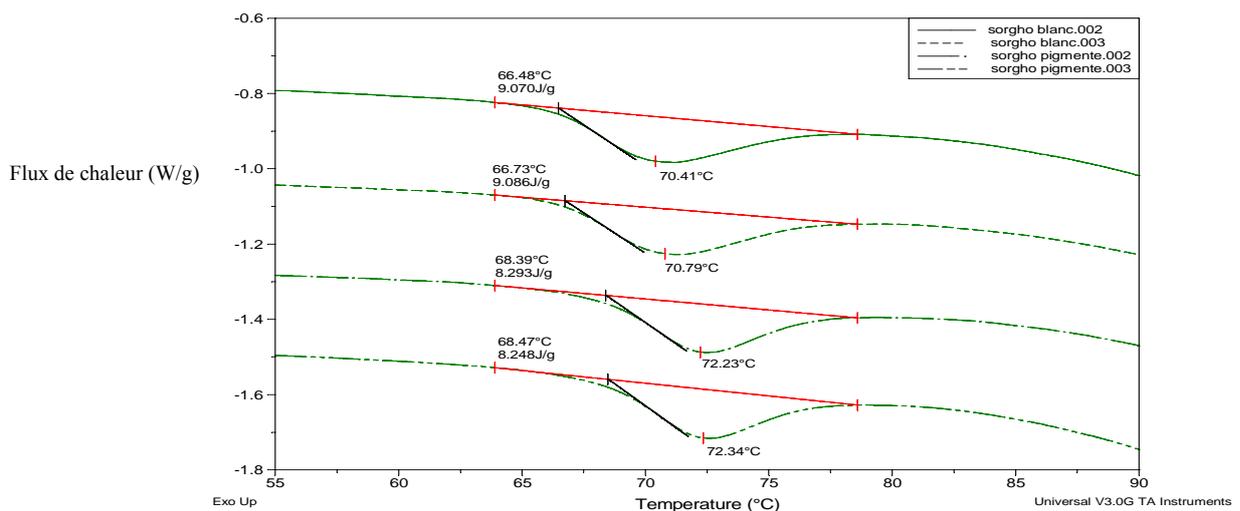
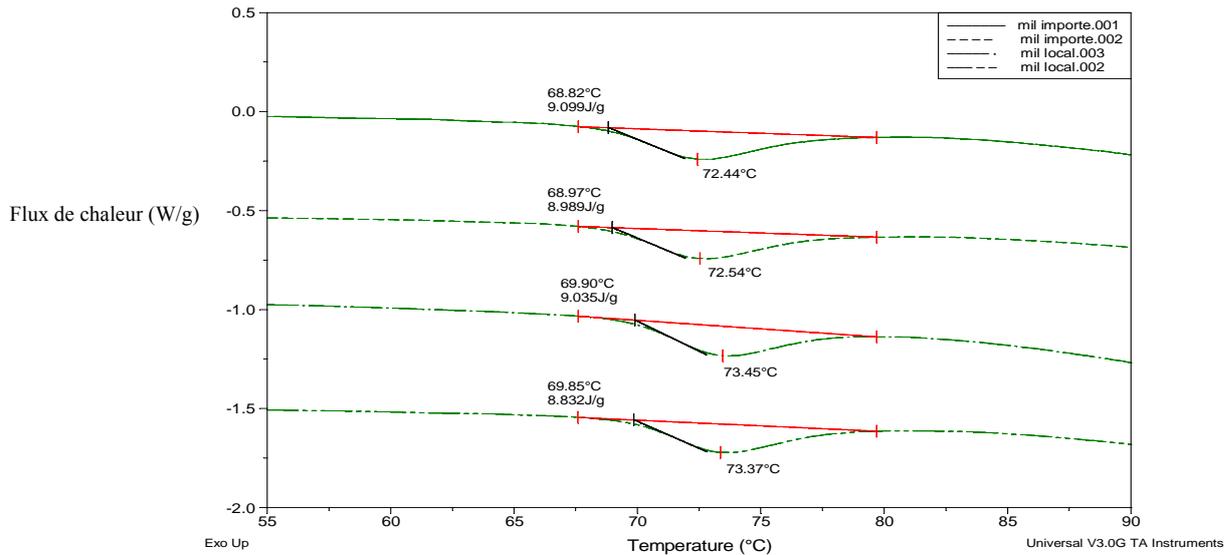


Figure 6.38 : Thermogrammes des amidons purs des cultivars locaux de sorgho blanc et pigmenté



**Figure 6.39 : Thermogrammes des amidons purs des cultivars de mil chandelle local et importé d'Agadez**

Les températures de gélatinisation [ $T_o$  (onset),  $T_p$  (pic) et  $T_c$  (conclusion)] et l'enthalpie de gélatinisation  $\Delta H$  des amidons de sorgho et de mil déterminées à partir des courbes sont données au tableau 6.17.

**Tableau 6.17 : Caractéristiques thermiques des amidons de sorgho et de mil chandelle**

Amidon	ASBI04	ASPI04	AMI04	AMN04
$T_o$ (°C)	66,60 ±0,18	68,42 ±0,06	69,88 ±0,04	68,89 ±0,12
$T_p$ (°C)	70,60 ±0,27	72,29 ±0,08	73,44 ±0,04	72,49 ±0,07
$T_c$ (°C)	76,78 ±0,06	77,09 ±0,04	78,24 ±0,24	77,62 ±0,11
$\Delta H$ (J/g)	9,087 ±0,011	8,27 ±0,032	8,93 ±0,143	9,044 ±0,078

Des différences significatives de températures de gélatinisation et d'enthalpie sont observées entre les différents amidons. L'amidon de sorgho pigmenté a montré une température de gélatinisation plus élevée et une enthalpie plus faible. Comparés aux résultats obtenus par Jenkins et Donald (1998), Jane et al. (1999), Singh et al. (2003), pour les amidons d'autres sources botaniques telles que l'amidon de pomme de terre, de maïs, de riz, et de blé, l'amidon de sorgho est caractérisé par une plus grande température de début de gélatinisation  $T_o$  et au pic et une plus faible enthalpie de gélatinisation.

Des températures de gélatinisation de 67–73 °C ont été rapportées pour les amidons de sorgho cultivés en Afrique du sud, de 71-81 °C pour ceux cultivés en Inde (Taylor, 2006) et 73,2 °C pour l'amidon de sorgho cireux de Corée (Choi et al., 2004). La température de gélatinisation est influencée par plusieurs facteurs, en particulier, la longueur des chaînes dans la molécule d'amylopectine. Elle augmente avec la longueur des chaînes (Taylor, 2006). Moorthy (2002) a constaté qu'une température de gélatinisation élevée peut indiquer une grande stabilité des réseaux cristallins dans les molécules d'amidon et que l'enthalpie de gélatinisation dépend des liaisons intermoléculaires dans la structure cristalline ainsi que des facteurs génétique et environnementaux. Il peut être déduit, par conséquent que l'environnement hyperaride des régions sud de l'Algérie a affecté de façon significative les propriétés de gélatinisation des amidons de sorgho et de mil, ce qui pourrait expliquer les valeurs élevée de température de gélatinisation.

Des observations similaires ont été faites pour l'amidon de blé et d'autre céréales, cependant, les enthalpies obtenues étaient plus importante (Matsuki et al., 2003) contrairement aux résultats obtenus pour les cultivars locaux.

#### **6.8. Recherche de l'activité de l' $\alpha$ -amylase endogène**

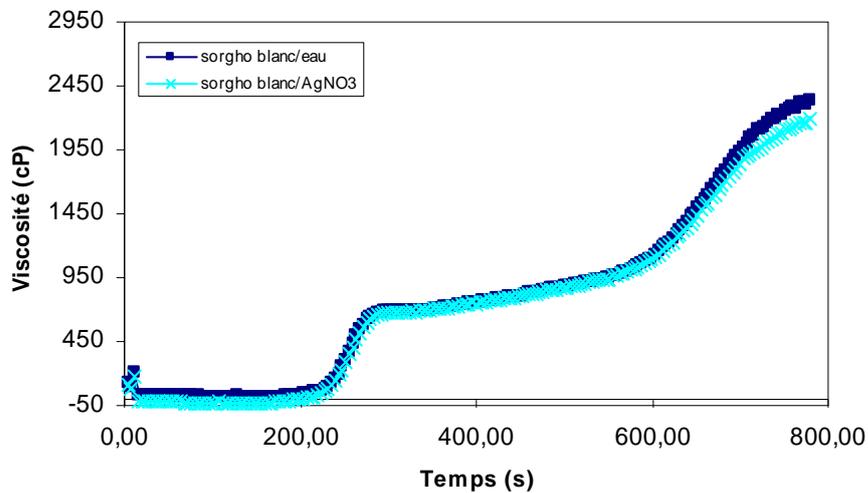
Pour la mise en évidence la présence ou l'absence de l'activité  $\alpha$ -amylasique endogène dans les grains des cultivars locaux étudiés, des essais de viscosité ont été effectués sur les moutures intégrales des amidons de sorgho et de mil chandelle, en suspension dans une solution de nitrate d'argent.

Le nitrate d'argent est connu pour son action inhibitrice de l'activité des  $\alpha$ -amylases comme le rapportent plusieurs auteurs Baston et al. (1993) et Bhattacharya et al. (1996). Ils ont utilisé respectivement des concentrations de 9 mM et 0,5 mM. Abdel-Aal (2002) a également utilisé le nitrate d'argent, comme agent inhibiteur de l'action amylolytique des  $\alpha$ -amylases, avec une concentration de 85 mg/500 ml. La solution de nitrate d'argent utilisée pour ce travail est celle optimisée par l'équipe de recherche du centre de recherche en agronomie de Gembloux, Belgique (CRA). Elle est égale à 2 mM.

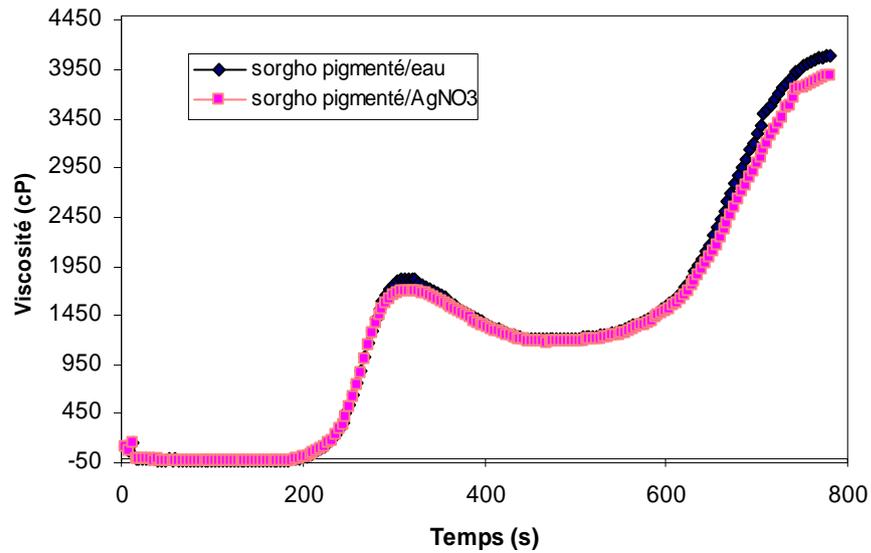
L'approche suivie est de déterminer l'influence des  $\alpha$ -amylases endogènes sur la viscosité des moutures et des amidons des céréales dans l'eau et dans la solution de nitrate d'argent

**6.8.1 Influence de l'activité de l' $\alpha$ -amylase endogène sur la viscosité des moutures intégrales.**

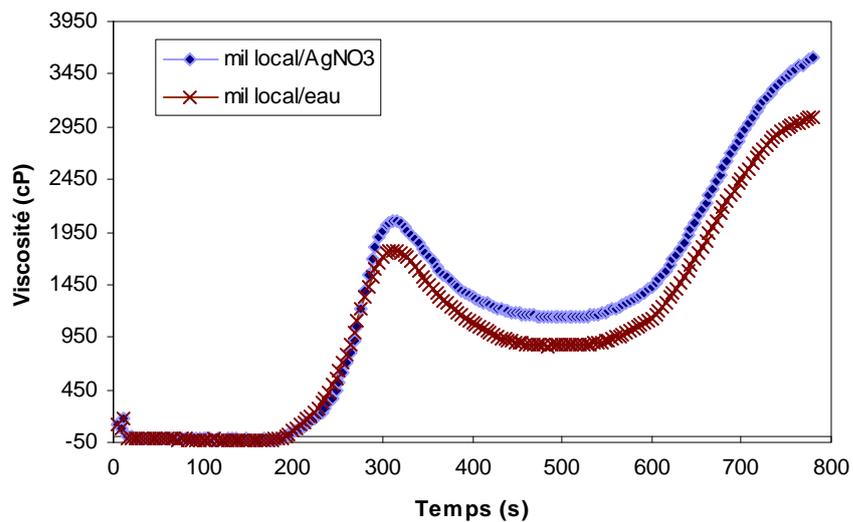
Les résultats de la viscosité en présence d'inhibiteur d' $\alpha$ -amylase obtenus pour les moutures intégrales de sorgho blanc et pigmenté ainsi que de mil chandelle cultivés à Tidikelt, sont très intéressants. Les courbes de viscosité présentées aux figures, 6.40, 6.41 et 6.42 montrent que les courbes de viscosité obtenues sont confondues pour les variétés de sorgho. Une légère différence au cours de la phase de refroidissement est observée pour le mil chandelle. Ceci signifie que l'activité  $\alpha$ -amylasique est très peu significative dans les moutures intégrales de ces céréales. Les teneurs en ces enzymes liquéfiantes doivent être très faibles.



**Figure 6.40 : Viscosité de la mouture intégrale de sorgho blanc en présence d'eau et d'AgNO<sub>3</sub>**



**Figure 6.41 : Viscosité de la mouture intégrale de sorgho pigmenté en présence d'eau et d'AgNO<sub>3</sub>**



**Figure 6.42 : Viscosité de la mouture intégrale de mil chandelle local en présence d'eau et d'AgNO<sub>3</sub>**

La variation de la viscosité au pic et le temps au bout duquel elle est atteinte sont de très bon indicateurs de l'activité des  $\alpha$ -amylases, et dans le but de mieux apprécier l'activité des  $\alpha$ -amylases endogènes, ces deux caractéristiques de la viscosité ont été déterminées et reportées au tableau 6.18.

Il ressort effectivement que les variations entre les viscosités au pic pour les suspensions de sorgho blanc et pigmenté dans l'eau et dans la solution de nitrate d'argent ne sont pas importantes. Les valeurs de l'écart type correspondantes sont faibles. Pour le mil

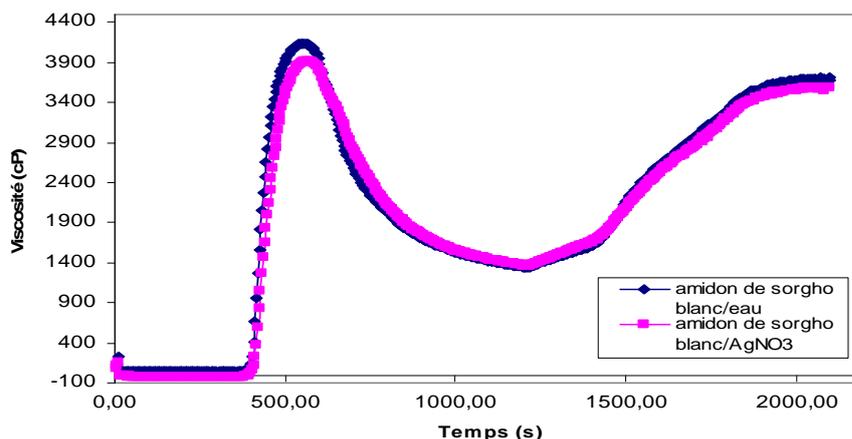
local une légère différence est observée. Le temps au pic est relativement le même pour les moutures en présence d'eau et de nitrate d'argent.

**Tableau 6.18 : Caractéristiques de viscosité des moutures intégrales des cultivars locaux de sorgho et de mil chandelle en présence d'eau et de AgNO<sub>3</sub>**

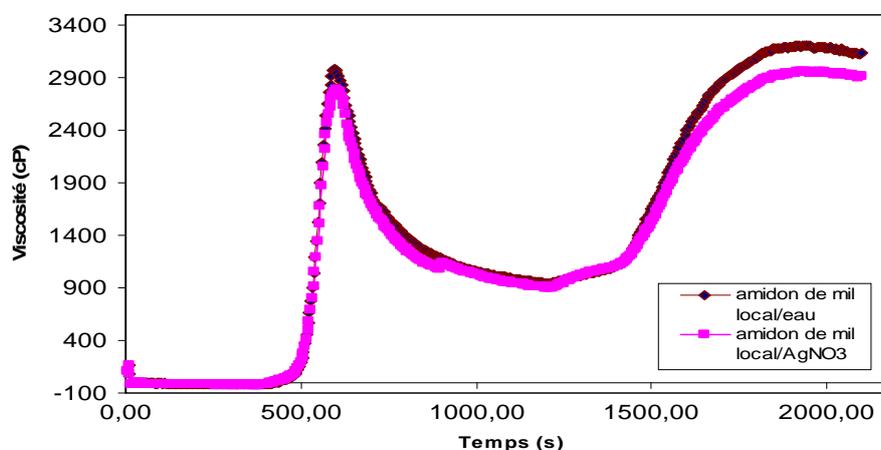
Cultivars	Mouture intégrale dans l'eau		Mouture intégrale dans la solution d'AgNO <sub>3</sub>		Ecart type	
	PV (cP)	PT (s)	PV (cP)	PT (s)	PV (cP)	PT (s)
CSBI04	689	295	627	288	43,84	4,95
CSPI04	1823	315	1819	320	2,83	3,53
CMI04	1777	312	2051	316	193,74	2,83

### 6.8.2. Influence de l'activité de l' $\alpha$ -amylase endogène sur la viscosité des amidons

La viscosité des amidons de sorgho blanc, de mil chandelle local a été analysée pour des suspension dans l'eau et dans la solution de nitrate d'argent. Les amylogrammes obtenus sont représentés aux figures 6.43 et 6.44.



**Figure 6.43 : Viscosité de l'amidon pur de sorgho blanc en présence d'eau et d'AgNO<sub>3</sub>**



**Figure 6.44 : Viscosité de l'amidon pur de mil local en présence d'eau et d'AgNO<sub>3</sub>**

Comme pour les moutures, les courbes de viscosité d'amidon de sorgho blanc se confondent. Un léger écart dans la phase de refroidissement est noté pour l'amidon de mil chandelle local.

Les caractéristiques de viscosité, reportées dans le tableau 6.19, montrent que l'écart type associé à la viscosité au pic et au temps de pic est faible. Ce résultat est prévisible, puisque l'activité des  $\alpha$ -amylases endogènes n'était pas importante dans les moutures intégrales.

Comparativement aux viscosités des amidons de sorgho et mil analysés, l'amidon de pomme de terre montre un comportement similaire. Ils présentent un pic de viscosité très importante relativement à celui du blé, dont le pic est quasi inexistant, en revanche la perte de viscosité est ensuite bien supérieure pour les amidons de sorgho, de mil et de pomme de terre (Roudot, 2002).

**Tableau 6.19 : Caractéristiques de viscosité des amidons purs de cultivars locaux de sorgho et de mil chandelle en présence d'eau et de  $\text{AgNO}_3$**

Amidon	Amidon dans l'eau		Amidon dans la sol.d' $\text{AgNO}_3$		Ecart type	
	PV (cP)	PT (s)	PV (cP)	PT (s)	PV (cP)	PT (s)
ASBI04	4086	580	3887	588	140,71	5,66
AMI04	2981	596	2789	604	135,76	5,66

## **CHAPITRE 7 : ETUDE CINÉTIQUE DE L'HYDROLYSE ENZYMATIQUE DES AMIDONS DE SORGHO, DE MIL CHANDELLE ET D'AUTRES SOURCES BOTANIQUES.**

Ce chapitre présente les résultats des travaux qui ont pour objet la contribution à l'étude cinétique de l'hydrolyse enzymatique de substrats d'amidon en présence d'amylases et ce par l'étude de la cinétique de deux étapes de la réaction à savoir l'étape de dépolymérisation des chaînes glycosidiques longues en chaînes courtes appelée aussi dextrinisation ou liquéfaction du fait de la diminution rapide de la viscosité et l'étape de production des sucres réducteurs constitués d'oligosaccharides ou de produits simples de maltose et de glucose.

Les amylases possèdent deux activités différentes pour catalyser les deux étapes et qui sont :

- ❖ L'activité désignée par l'endoaction et qui consiste en une catalyse de la réaction d'hydrolyse des liaisons  $\alpha$ - (1,4) glycosidiques présentes dans les parties internes des chaînes de l'amylose et de l'amylopectine.
- ❖ L'activité désignée par l'exoaction et qui consiste en une catalyse de la réaction de formation des sucres réducteurs produits de l'hydrolyse des liaisons  $\alpha$ - (1,4) des unités de glucose externe de l'amylose et de l'amylopectine proches des extrémités réductrices.

Les buts visés consistent à déterminer

- Les conditions opératoires permettant d'étude cinétique de l'hydrolyse enzymatique des amidons et l'application du modèle de Michaëlis-Menten qui conduit à l'évaluation des constantes cinétiques,
- la susceptibilité des amidons isolés et non isolés des cultivars locaux de sorgho et de mil chandelle à l'hydrolyse en présence d' $\alpha$ -amylases de différentes sources et sa comparaison avec celle des amidons purs commerciaux de maïs et de pomme de terre à l'hydrolyse en présence des mêmes amylases,
- l'influence de la source d'enzyme et de l'origine botanique de l'amidon sur l'endoaction et l'exoaction qui permettent respectivement de produire les dextrans et les sucres réducteurs.

Dans cette étude, nous avons utilisé des amidons purs commerciaux de maïs de blé et de pomme de terre solubles dans l'eau, amidon de maïs riche en amylose peu soluble et amylopectine soluble. Ces amidons sont différents de part leurs origines botaniques,

leur solubilité et leur composition en amylose et amylopectine ainsi que des amidons purs isolés au laboratoire à partir des grains de cultivars de sorgho et de mil chandelle de différentes régions (In Salah, Tamanrasset, Agadéz et USA), de différentes récolte et de différents génotypes. Certaines de leurs caractéristiques sont données respectivement aux tableaux 4.3, p. 59 et 5.9, p. 83.

Les enzymes retenues sont : l' $\alpha$ -amylase fongique (*Aspergillus Oryzae*) et l' $\alpha$ -amylase bactérienne (*Bacillus Subtilis*), qui possèdent une activité (endoaction) importante, Takadiastase (*Aspergillus Oryzae*),  $\alpha$ -amylase salivaire humaine, l'Amyloglucosidase fongique (*Rhizopus Mold*) qui est une exo-enzyme, l' $\alpha$ -amylase bactérienne Termamyl®300L Type DX (*Bacillus Lichenformis*) et l' $\alpha$ -amylase thermostable et dont les caractéristiques sont reportés au tableau 4.4, p. 60.

### **7.1 Essais d'hydrolyse d'amidons purs commerciaux et d'autres sources botaniques**

Les essais de liquéfaction et de saccharification enzymatique des amidons purs commerciaux, de différentes origines botaniques en présence d'amylase de différentes sources (fongique, bactérienne et animale) ont pour but :

- la mise en évidence des activités des amylases choisies,
- la détermination des conditions opératoires optimales nécessaires pour étudier la cinétiques des réactions d'hydrolyse enzymatique des amidons isolés et non isolés de cultivars de sorgho et de mil chandelle.

#### ***7.1.1 Essais de liquéfaction ou de dextrinisation des amidons purs commerciaux par différentes enzymes***

Les essais sont effectués dans les mêmes conditions opératoires d'évaluation de l'endoaction des amylases, selon la méthode standard de détermination de l'activité amylolytique : Colorimetric Method GOST 20264.4-74, (Gracheva et al., 1982).

Les valeurs de la concentration initiale de l'amidon, du pH, de la température et du temps de la réaction sont respectivement :  $[S]_0 = 7\text{mg/ml}$ ,  $\text{pH} = 4,7$  ;  $T = 30^\circ\text{C}$  ;  $t = 10\text{ min}$ .

D'après le protocole expérimental de cette méthode, la formule de calcul de la vitesse initiale de liquéfaction de l'amidon (§ 4.24.6.3 p. 64) est valable pour des valeurs de rendement d'hydrolyse comprises dans l'intervalle 20-70 % (m/m). Afin d'étudier la cinétique dans les conditions convenables et appliquer la formule de calcul des vitesses initiales, nous avons effectué les dilutions nécessaires pour obtenir des concentrations d'enzymes qui donnent des rendements d'hydrolyse appartenant à l'intervalle cité ci-dessus.

Les tableaux de 7.1 à 7.7 présentent les valeurs des concentrations des différentes enzymes  $[E_i]$  obtenues expérimentalement, des rendements RH de liquéfaction des amidons commerciaux ST<sub>j</sub> en présence des différentes enzymes et des vitesses initiales des réactions  $V_0$ .

**Tableau 7.1 : Valeurs des concentrations de l'enzyme E<sub>1</sub> ( $\alpha$ -amylase fongique), des rendements et des vitesses initiales de liquéfaction enzymatique des amidons purs commerciaux.**

Amidon	$[E_1]_0$ (mg/ml)	RH (%)	$V_0$ (mg.ml <sup>-1</sup> min <sup>-1</sup> )
ST <sub>1</sub>	0,01	30	0,20
ST <sub>2</sub>	0,01	20	0,13
ST <sub>3</sub>	0,05	70	0,47
ST <sub>4</sub>	0,03	63	0,42
ST <sub>5</sub>	0,05	70	0,47
ST <sub>6</sub>	0,01	20	0,13
ST <sub>7</sub>	0,05	57	0,38

**Tableau 7.2 : Valeurs des concentrations de l'enzyme E<sub>2</sub> ( $\alpha$ -amylase bactérienne), des rendements et des vitesses initiales de liquéfaction enzymatique des amidons purs commerciaux.**

Amidon	$[E_2]_0$ (mg/ml)	RH (%)	$V_0$ (mg.ml <sup>-1</sup> min <sup>-1</sup> )
ST <sub>1</sub>	0,03	70	0,47
ST <sub>2</sub>	0,01	20	0,13
ST <sub>3</sub>	0,03	60	0,48
ST <sub>4</sub>	0,01	30	0,20
ST <sub>5</sub>	0,05	66	0,44
ST <sub>6</sub>	0,03	50	0,33
ST <sub>7</sub>	0,05	48	0,32

**Tableau 7.3 : Valeurs des concentrations de l'enzyme E<sub>3</sub> (Takadiastase), des rendements et des vitesses initiales de liquéfaction enzymatique des amidons purs commerciaux.**

Amidon	$[E_3]_0$ (mg/ml)	RH (%)	$V_0$ (mg.ml <sup>-1</sup> min <sup>-1</sup> )
ST <sub>3</sub>	0,4	55	0,37
ST <sub>4</sub>	0,4	52	0,35
ST <sub>5</sub>	0,4	70	0,47
ST <sub>6</sub>	0,4	34	0,23
ST <sub>7</sub>	0,4	54	0,36

**Tableau 7.4 : Valeurs des concentrations de l'enzyme E<sub>4</sub> (α-amylase salivaire), des rendements et des vitesses initiales de liquéfaction enzymatique des amidons purs commerciaux.**

Amidon	[E <sub>4</sub> ] <sub>0</sub>	RH (%)	V <sub>0</sub> (mg.ml <sup>-1</sup> min <sup>-1</sup> )
ST <sub>1</sub>	0,1 [E <sub>4</sub> ] <sub>p0</sub>	14	
ST <sub>2</sub>	0,1 [E <sub>4</sub> ] <sub>p0</sub>	36	0,24
ST <sub>3</sub>	0,2 [E <sub>4</sub> ] <sub>p0</sub>	64	0,43
ST <sub>4</sub>	0,4 [E <sub>4</sub> ] <sub>p0</sub>	70	0,47
ST <sub>5</sub>	0,1 [E <sub>4</sub> ] <sub>p0</sub>	23	0,15
ST <sub>6</sub>	0,1 [E <sub>4</sub> ] <sub>p0</sub>	30	0,20
ST <sub>7</sub>	0,4 [E <sub>4</sub> ] <sub>p0</sub>	68	0,45

[E<sub>4</sub>]<sub>p0</sub>: concentration initiale de la préparation de la solution de l'α-amylase salivaire

**Tableau 7.5 : Valeurs des concentrations de l'enzyme E<sub>5</sub> (amyloglucosidase), des rendements et des vitesses initiales de liquéfaction enzymatique des amidons purs commerciaux.**

Amidon	[E <sub>5</sub> ] <sub>0</sub> (mg/ml)	RH (%)	V <sub>0</sub> (mg.ml <sup>-1</sup> min <sup>-1</sup> )
ST <sub>2</sub>	0,05	70	0,47
ST <sub>4</sub>	0,20	48	0,52
ST <sub>5</sub>	0,20	70	0,47

**Tableau 7.6 : Valeurs des concentrations de l'enzyme E<sub>6</sub> (α-amylase thermostable), des rendements et des vitesses initiales de liquéfaction enzymatique des amidons purs commerciaux.**

Amidon	[E <sub>6</sub> ] <sub>0</sub> (mg/ml)	RH (%)	V <sub>0</sub> (mg.ml <sup>-1</sup> min <sup>-1</sup> )
ST <sub>2</sub>	0,0005	49,58	0,33
ST <sub>4</sub>	0,0005	24,44	0,16
ST <sub>8</sub>	0,0005	33,55	0,22
ST <sub>9</sub>	0,0005	52,48	0,34

**Tableau 7.7 : Valeurs des concentrations de l'enzyme E<sub>7</sub> (α-amylase Termamyl L300), des rendements et des vitesses initiales de liquéfaction enzymatique des amidons purs commerciaux.**

Amidon	[E <sub>7</sub> ] <sub>0</sub> (mg/ml)	RH (%)	V <sub>0</sub> (mg.ml <sup>-1</sup> min <sup>-1</sup> )
ST <sub>2</sub>	0,0005	31,09	0,20
ST <sub>4</sub>	0,0005	22,22	0,15
ST <sub>9</sub>	0,0005	39,18	0,26

Les concentrations des différentes enzymes donnant des rendements d'hydrolyse d'amidon entre 20-70 % sont obtenues pour les différents amidons purs commerciaux. Cela montre que toutes les amylases sélectionnées, d'origine fongique, bactérienne ou humaine, thermostable ou thermolabile sont capables de catalyser les réactions d'hydrolyse des amidons purs choisis. Les valeurs des réactivités d'hydrolyse des substrats d'amidons purs

commerciaux, de différentes sources botaniques, sont différentes en présence d'amylases choisies.

Pour obtenir des valeurs de rendement d'hydrolyse allant de 20 à 70% après un temps égale à dix minutes, les solutions d'enzymes employées sont diluées avec des facteurs de 1 à 2/1000 pour les enzymes thermostables et de 1/10, 1/5 et 1/2,5 pour l' $\alpha$ -amylase salivaire. Des concentrations de 0,01; 0,03 et 0,05 mg/ml pour l' $\alpha$ -amylase fongique et bactérienne, de 0,4 mg/ml pour la Takadiastase, de 0,05 et 0,2 mg/ml pour l'amyloglucosidase sont utilisées.

Les enzymes d' $\alpha$ -amylases thermostables, sigma A3306 et Termamyl L300 ainsi que d' $\alpha$ -amylases salivaire sont fournies sous forme de solutions liquides. Leurs concentrations sont déterminées selon la méthode de Lowry (Lowry et al., 1951) et sont évaluées respectivement à 121,22 ; 115,57 et 0,18 mg/ml. Il faut signaler que la valeur de la concentration de l'enzyme salivaire peut légèrement varier d'une préparation à une autre ou encore d'un manipulateur à un autre.

Les résultats obtenus montrent que la source d'enzyme et l'origine botanique de l'amidon et son pouvoir de solubilité influent sur la cinétique d'hydrolyse enzymatique en dextrines (la liquéfaction). La susceptibilité à l'hydrolyse des amidons par la même enzyme varie sensiblement. Elle est plus élevée pour les amidons purs de pomme de terre et les amidons solubles.

Ces mêmes résultats nous permettent de déterminer les conditions opératoires pour la mise en évidence de l'activité enzymatique donnant lieu à la formation de dextrines, à savoir l'endoaction et de choisir les conditions expérimentales optimales nécessaires pour effectuer les études cinétiques des réactions d'hydrolyse des amidons isolés et non isolés des grains de sorgho et de mil chandelle, en présence de toutes les amylases choisies.

### ***7.1.2 Essais de saccharification des amidons commerciaux purs par les différentes enzymes***

Trois amidons commerciaux purs sont retenus pour les essais des réactions de saccharification. Les amidons choisis sont l'amidon de pomme de terre soluble, (ST<sub>2</sub>); l'amidon de maïs riche en amylose (ST<sub>4</sub>) et l'amylopectine de maïs (ST<sub>5</sub>). Le premier est utilisé comme substrat pour évaluer l'activité de saccharification (éxoaction) par les  $\alpha$ -amylases. Les réactions d'hydrolyse sont effectuées en présence des différentes enzymes, dans les conditions suivantes:  $[S]_0 = 5$  mg/ml ; pH= 6,9 ; T= 20 °C ; t= 3 min. Les figures de 7.1 à 7.5 (annexe 4), représentent les résultats des concentrations des sucres réducteurs, en

équivalent maltose, produits après trois minutes de réaction en présence des différentes concentrations préparées et diluées des amylases choisies.

Les résultats nous montrent que les conditions de mise en évidence de l'activité des enzymes en vue de produire des sucres réducteurs sont différentes. Des relations linéaires entre les concentrations d'enzymes et les concentrations de maltose sont observées pour les différentes enzymes et par conséquent des activités constantes pour un même système amylase-amidons purs.

Le tableau 7. 8 suivant regroupe les valeurs des domaines de concentration d'enzymes capable d'assurer une linéarité entre les valeurs des concentrations des produits de saccharification après trois minutes et les valeurs de la concentration initiale des enzymes utilisées.

Les valeurs de la vitesse moyenne dans les domaines de linéarité sont égales aux valeurs de la vitesse initiale des réactions de saccharification. Les résultats obtenus nous montrent l'influence de la source d'enzyme et du type d'amidon utilisé sur la saccharification de l'amidon au cours de la réaction d'hydrolyse enzymatique.

**Tableau 7.8 : Domaines de concentration des enzymes mettant en évidence l'exoaction des différentes  $\alpha$ -amylases sur les amidons purs commerciaux**

<b>Amidon</b>	<b>[E<sub>1</sub>]<sub>0</sub> (mg/ml)</b>	<b>[E<sub>2</sub>]<sub>0</sub> (mg/ml)</b>	<b>[E<sub>3</sub>]<sub>0</sub> (mg/ml)</b>	<b>[E<sub>4</sub>]<sub>0</sub></b>	<b>[E<sub>5</sub>]<sub>0</sub> (mg/ml)</b>
ST <sub>2</sub>	0,2 - 0,6	0,025 - 0,5	0,5 - 1	0,2[E <sub>4</sub> ] <sub>p0</sub> - [E <sub>4</sub> ] <sub>p0</sub>	0,025 - 0,1
ST <sub>4</sub>	0,3 - 1,2	0,025 - 0,9	0,5 - 4	0,2[E <sub>4</sub> ] <sub>p0</sub> - [E <sub>4</sub> ] <sub>p0</sub>	0,025 - 0,1
ST <sub>5</sub>	0,2 - 0,6	0,025 - 0,9	0,5 - 2	0,2[E <sub>4</sub> ] <sub>p0</sub> - [E <sub>4</sub> ] <sub>p0</sub>	0,025 - 0,1

Toutes les enzymes testées sont capables d'hydrolyser les différents types d'amidon en sucres réducteurs. Les conditions opératoires qui permettent la mise en évidence de l'activité enzymatique donnant lieu à la formation de maltose, à savoir l'exoaction, peuvent être déterminées. Les cinétiques de réaction de saccharification des amidons isolés et non isolés des cultivars locaux de sorgho et le mil, seront testées et étudiées dans ces mêmes conditions

D'après les tableaux 7.7, 7.6 et 7.5 les réactivités au cours de l'hydrolyse, dans les conditions initiales, des amidons purs de pomme de terre ST<sub>2</sub> et d'amidon de maïs riche en amylose ST<sub>4</sub> sont relativement proches en présence de toutes les enzymes testées respectivement à savoir l' $\alpha$ -amylase fongique E<sub>1</sub> et bactérienne E<sub>2</sub>, Takadiastase E<sub>3</sub>,

amylase salivaire E<sub>4</sub>, ou l'amyloglucosidase E<sub>5</sub>. La réactivité de l'amylopectine se distingue des autres amidons en présence de l' $\alpha$ -amylase bactérienne ou l'amyloglucosidase. Elle est relativement plus élevée. Cependant, les amidons ST<sub>2</sub> et ST<sub>4</sub> et ST<sub>5</sub> présentent des réactivités similaires en présence des amylases fongique, salivaire et Takadiastase respectivement. La structure de l'amidon influence donc l'activité de l'amylase.

La susceptibilité à l'hydrolyse par les différentes amylases varie selon le type d'amidon. La plus grande susceptibilité à l'hydrolyse est obtenue pour l'amidon soluble suivi de l'amylopectine en présence de l' $\alpha$ -amylase fongique et la Takadiastase. Cependant, en présence de l' $\alpha$ -amylase bactérienne et salivaire, la réactivité de l'amylopectine est légèrement plus élevée. La réactivité de l'amidon de maïs riche en amylose est la plus faible avec les différents enzymes. Toute fois on remarque que les susceptibilités à l'hydrolyse des trois substrats sont très voisines en présence de l'amyloglucosidase. Ce dernier résultat confirme le choix de l'utilisation de cette enzyme dans les nouvelles méthodes d'hydrolyse enzymatique pour la détermination de l'amidon total dans les agroressources (Multon, 1991 ; Southgate, 1979 et Robyt, 1990)

## **7.2 Etude de l'influence de certains constituants du grain sur la cinétique de l'hydrolyse enzymatique des amidons de sorgho et de mil chandelle**

La réactivité ou la susceptibilité des amidons de sorgho et de mil chandelle à l'hydrolyse en présence des amylases et l'influence de certains constituants du grain (protéines, lipides et fibres) sur la réaction d'hydrolyse sont évaluées suite à l'étude cinétique des deux étapes suivantes de la réaction d'hydrolyse: l'étape de liquéfaction de l'amidon ou l'endoaction des amylases correspondant à l'hydrolyse de l'amidon en dextrans et l'étape de saccharification ou de l'exoaction des amylases correspondant à l'hydrolyse des amidons et des dextrans en oligosaccharides.

### **7.2.1 Cinétique de la liquéfaction enzymatique des amidons de sorgho et de mil chandelle isolés et non isolés**

Les études cinétiques de la liquéfaction des différents substrats de mil et de sorgho sont effectuées dans les mêmes conditions opératoires de détermination de l'activité amylasique : pH=4,7 ; T= 30 °C et un temps de réaction de à 10 min (Gracheva et al., 1982). Les concentrations des substrats sous forme d'amidon isolé et non isolé sont estimées à [S]<sub>0</sub> =7 mg/ml. Les concentrations des enzymes de différentes sources sont données par le

tableau 7.9. Ces concentrations sont évaluées à partir des résultats des essais de liquéfaction des amidons purs obtenus précédemment (§ 7.1.1 p. 132)

**Tableau 7.9 : Concentration des amylases de différentes sources utilisées dans les réactions de liquéfaction des amidons isolés et non isolés**

Enzyme	E <sub>1</sub>	E <sub>2</sub>	E <sub>3</sub>	E <sub>4</sub>	E <sub>5</sub>	E <sub>6</sub>	E <sub>7</sub>
Concentration (mg/ml)	0,05	0,05	0,4	0,4[E <sub>4</sub> ] <sub>p0</sub>	0,2	0,001	0,001

Les valeurs des rendements de liquéfaction des substrats amylicés de sorgho et de mil en présence des différentes enzymes et les vitesses initiales des réactions sont rassemblées respectivement aux tableaux 7.10 et 7.11. Les résultats montrent que les substrats de sorgho et de mil présentent une susceptibilité à l'hydrolyse en dextrines en présence de toutes les enzymes testées. Cependant cette susceptibilité diffère selon le prétraitement préconisé pour la mouture intégrale et selon la source d'enzyme.

De même, il ressort que la susceptibilité à l'hydrolyse en dextrines est faible pour l'amidon en présence des autres constituants de la graine qui sont essentiellement les protéines, les lipides et les fibres et croit considérablement quand il est isolé de ces constituants. Les vitesses moyennes sont augmentées de 3 à 7 fois dans le cas où les protéines et les lipides sont isolés.

En présence de l' $\alpha$ -amylase bactérienne, de l' $\alpha$ -amylase salivaire et de l'amyloglucosidase, le sorgho possède une meilleure susceptibilité à l'hydrolyse en dextrines que le mil. Par contre, en présence de l' $\alpha$ -amylase fongique et de la Takadiastase, elle ne diffère pas entre les deux céréales.

Les résultats de comparaison des réactivités des substrats amylicés du sorgho et du mil étudiés avec celles des substrats purs commerciaux en présence des mêmes enzymes, montrent l'influence de la source botanique des amidons sur leurs réactivités.

Les rendements d'hydrolyse de l'amidon de mil en dextrines qu'il soit isolé ou dans la mouture intégrale prétraitée en présence de toutes les amylases sont plus faibles que ceux obtenus pour les amidons purs de pomme de terre, de maïs et d'amylopectine. En effet, il ne dépasse pas 60 % alors que pour les amidons préalablement cités, les rendements varient entre 70 et 95 %. Comparés à l'amylose, les taux d'hydrolyse sont similaires.

Concernant l'amidon de sorgho, le taux d'hydrolyse en dextrines est aussi plus faible que celui d'amidon pur de pomme de terre en présence de toutes les amylases et voisin de celui de l'amidon de maïs et de l'amylopectine en présence de l' $\alpha$ -amylase fongique, bactérienne, salivaire et de l'amyloglucosidase. Il est aussi voisin de celui de l'amylose

en présence de l' $\alpha$ -amylase fongique, bactérienne et salivaire. Des valeurs maximales de rendement voisines de 80 % sont obtenues pour l'amidon de sorgho isolé et liquéfié par l' $\alpha$ -amylase bactérienne et salivaire alors que la plus petite valeur (33%) est obtenue en utilisant la Takadiastase.

Les rendements de liquéfaction de l'amidon de mil chandelle isolé en présence de toutes les  $\alpha$ -amylases sont de 60% à l'exception de l' $\alpha$ -amylase fongique qui donne le rendement le plus faible (50%) et les amylase thermostables A3306 et Termamyl L300 qui donnent les rendement les plus élevés (68 et 80% respectivement)

**Tableau 7.10 : Rendements de liquéfaction enzymatique des substrats de sorgho et mil chandelle par les différentes amylases**

Substrat	RH (%)						
	E <sub>1</sub>	E <sub>2</sub>	E <sub>3</sub>	E <sub>4</sub>	E <sub>5</sub>	E <sub>6</sub>	E <sub>7</sub>
MSBI04	38	38	30	49	38	71	58
MSBI04 déprotéinée	65	64	54	76	62	78	80
MSBI04 délipidée	45	50	49	60	70	63	80
MSBI04 déprotéinée et délipidée	65	64	50	72	68	63	86
ASBI04	69	79	54	82	73	33	64
MMI04	39	10	45	38	19	88	72
MMI04 déprotéinée	43	39	44	51	53	43	56
MMI04 délipidée	55	22	55	46	59	33	68
MMI04 déprotéinée et délipidée	50	30	50	56	55	33	68
AMI04	60	50	60	61	60	68	80

**Tableau 7.11 : Vitesses initiales de liquéfaction enzymatique des substrats de sorgho et de mil chandelle par les différentes amylases**

Substrat	V <sub>0</sub> (mg.ml <sup>-1</sup> min <sup>-1</sup> )						
	E <sub>1</sub>	E <sub>2</sub>	E <sub>3</sub>	E <sub>4</sub>	E <sub>5</sub>	E <sub>6</sub>	E <sub>7</sub>
MSBI04	0,25	0,25	0,20	0,33	0,25	0,47	0,38
MSBI04 déprotéinée	0,43	0,43	0,36	0,51	0,41	0,52	0,53
MSBI04 délipidée	0,30	0,33	0,33	0,40	0,47	0,41	0,53
MSBI04 déprotéinée et délipidée	0,43	0,43	0,33	0,48	0,45	0,41	0,56
ASBI04	0,46	0,53	0,36	0,55	0,49	0,22	0,42
MMI04	0,25	0,07	0,30	0,25	0,13	0,58	0,47
MMI04 déprotéinée	0,29	0,25	0,29	0,34	0,35	0,28	0,37
MMI04 délipidée	0,37	0,15	0,37	0,31	0,39	0,22	0,45
MMI04 déprotéinée et délipidée	0,33	0,20	0,33	0,37	0,37	0,22	0,45
AMI04	0,40	0,33	0,40	0,40	0,40	0,45	0,53

### **7.2.2 Cinétique de la saccharification enzymatique des amidons de sorgho et de mil chandelle isolés et non isolés**

Les études cinétiques de la saccharification des différents substrats de sorgho et de mil chandelle sont effectuées dans les conditions opératoires suivantes : pH= 6,9 ; T= 20°C ; [S]<sub>0</sub>= 5 mg/ml et un temps de réaction de 3 min (Méthode Sigma, 1997). Les concentrations des enzymes de différentes sources, choisies à partir des résultats précédents (tableau 7.8), sont données par le tableau 7.12 et les valeurs des vitesses initiales de la saccharification des substrats amylicés de sorgho et de mil perlé en présence des différentes amylases sont rassemblées au tableau 7.13

**Tableau 7.12 : Concentration d'α-amylases de différentes sources utilisées dans les réactions de saccharification des amidons isolés et non isolés**

<b>Enzyme</b>	<b>E<sub>1</sub></b>	<b>E<sub>2</sub></b>	<b>E<sub>3</sub></b>	<b>E<sub>4</sub></b>	<b>E<sub>5</sub></b>	<b>E<sub>6</sub></b>	<b>E<sub>7</sub></b>
<b>Concentration (mg/ml)</b>	0,5	0,05	0,5	0,4 [E <sub>4</sub> ] <sub>p0</sub>	0,1	0,001	0,001

**Tableau 7.13 : Vitesses initiales de saccharification enzymatique des substrats de sorgho et de mil chandelle par les amylases de différentes sources**

<b>Substrat</b>	<b>V<sub>0</sub> (mg.ml<sup>-1</sup>min<sup>-1</sup>)</b>						
	<b>E<sub>1</sub></b>	<b>E<sub>2</sub></b>	<b>E<sub>3</sub></b>	<b>E<sub>4</sub></b>	<b>E<sub>5</sub></b>	<b>E<sub>6</sub></b>	<b>E<sub>7</sub></b>
MSBI04	0,47	0,11	0,06	0,57	0,63	0,29	0,32
MSBI04 déprotéinée	0,59	0,27	0,07	0,69	0,83		
MSBI04 délipidée	0,48	0,26	0,23	0,61	0,80		
MSBI04 déprotéinée et délipidée	0,90	0,34	0,24	0,89	1,25	0,80	2,40
ASBI04	0,85	0,28	0,26	0,74	1,00	2,15	1,03
MMI04	0,36	0,11	0,11	0,32	0,43	0,32	0,38
MMI04 déprotéinée	0,56	0,16	0,13	0,46	0,70		
MMI04 délipidée	0,34	0,11	0,11	0,42	0,56		
MMI04 déprotéinée et délipidée	0,66	0,25	0,21	0,45	0,90	0,49	0,89
AMI04	0,66	0,31	0,25	0,80	0,77	2,06	0,41

### **7.3 Détermination des paramètres cinétiques d'hydrolyse enzymatique des amidons de sorgho, de mil chandelle et d'autres sources botaniques**

L'étude cinétique et l'évaluation des paramètres cinétiques de l'hydrolyse enzymatique au cours de l'étape de la saccharification ou de l'exoaction des amylases de différentes sources sur des amidons de différentes origines botaniques a pour objet la détermination de :

- la susceptibilité des amidons isolés et non isolés des cultivars locaux et importés de sorgho et de mil chandelle à l'hydrolyse (saccharification) en présence d'amylases de différentes sources et sa comparaison avec celle des amidons purs commerciaux de maïs et de pomme de terre à l'hydrolyse en présence des mêmes amylases,
- l'influence de la source d'amylase et de l'origine botanique de l'amidon sur l'exoaction.

La méthodologie suivie a consisté à évaluer les vitesses initiales dans des domaines de concentration d'amidon et d'enzyme bien déterminés et dans des conditions opératoires normalisées.

Les courbes cinétiques de saccharification enzymatique traduisant la relation entre de la vitesse initiale de la réaction d'hydrolyse de l'amidon en sucres réducteurs et les concentrations initiales des différents amidons sont établies.

L'exploitation des résultats a visé, en premier lieu, la mise en évidence des systèmes (amidon-enzyme) qui obéissent au cours de l'hydrolyse au modèle de Michaëlis-Menten dans les conditions expérimentales choisies. Ce modèle décrit l'évolution de la réaction d'hydrolyse enzymatique dans deux états à savoir l'état quasi-équilibre et l'état pré-stationnaire. Il est exprimé par deux équations similaires qui sont respectivement, l'équation de Michaëlis-Menten et l'équation de Briggs-Haldane. L'application du modèle de Michaëlis-Menten se fait par la représentation graphique des transformées linéaires de l'équation de Michaelis-Menten qui devraient illustrer des droites. Dans cette étude, nous avons adopté la représentation de Lineweaver-Burk appelée aussi la représentation des doubles inverses (l'inverse de la vitesse initiale en fonction de l'inverse de la concentration initiale de l'amidon) et la représentation d'Eadie-Hofstee (vitesse initiale en fonction du rapport entre la vitesse initiale et la concentration initiale de l'amidon).

Dans un second lieu et à partir des représentations graphiques, l'évaluation des constantes cinétiques suivantes :

- la vitesse initiale maximale  $V_{\max}$ ,
- la constante de Michaëlis  $K_M$  qui correspond à concentration en substrat pour laquelle la vitesse initiale mesurée est égale à la moitié de la vitesse initiale maximale,  $V_{\max}$ , ou la constante de dissociation du complexe substrat-enzyme  $K_s$ ,
- la constante catalytique  $K_{\text{cat}}$
- la constante de vitesse d'ordre 2 (deux),  $K_{\text{cat}}/K_M$  appelée aussi constante de spécificité.

Les amidons purs commerciaux retenus sont l'amidon soluble de pomme de terre ST<sub>2</sub>, l'amidon de maïs riche en amylose ST<sub>4</sub> et l'amylopectine de maïs ST<sub>5</sub>.

Les amidons de céréales sélectionnés sont isolés à partir des grains de cultivars de sorgho blanc, ASBI06 ; de sorgho pigmenté, ASPI06, d'In Salah et de sorgho américain fortement pigmenté commercialisé à Ghardaïa, ASG06 ; et à partir des grains de cultivars de mil chandelle de Tamanrasset, AMT06 et de mil chandelle d'In Salah, AMJI06 et AMGI06.

Les amidons de sorgho et de mil chandelle locaux et importés sont isolés au laboratoire et soumis pour la première fois à l'étude cinétique dans les conditions opératoires déterminées.

Les enzymes retenues sont : l' $\alpha$ -amylase fongique (*A. Oryzae*) et l' $\alpha$ -amylase bactérienne (*B. Subtilis*), l'Amyloglucosidase fongique (*R. Mold*) et l' $\alpha$ -amylase bactérienne Termamyl®300L Type DX (*B. Lichenformis*). Les essais sont effectués dans les conditions opératoires appliquées dans la détermination de l'activité enzymatique pour chaque amidon purs commercial et les concentrations initiales d'enzyme qui assure une relation linéaire entre les valeurs de la vitesse initiale d'hydrolyse et les concentrations initiales de l'enzyme.

La méthode adoptée est la méthode normalisée Sigma, (1997) donné au §4.24.6.4 p. 64. Les concentrations des sucres réducteurs en équivalent maltose sont déterminées en utilisant la méthode DNS (§4.24.4.1 p. 61) et les concentrations des substrats amylicés utilisés sont les suivantes :  $[S]_0 = 2,5; 5,0; 7,5; 10,0; 15,0; 20,0$  g/l (ou encore 0,25; 0,5; 0,75; 1; 1,5; 2,0 %).

### **7.3.1 Paramètres cinétiques de la saccharification enzymatique des amidons purs commerciaux**

Les conditions de saccharification des amidons purs commerciaux en présence des différentes amylases sont choisies à partir des résultats des essais d'hydrolyse donnés au §7.1.2.

La courbe cinétique représentant les valeurs de vitesses initiales de saccharification par l' $\alpha$ -amylase fongique  $E_1$  en fonction des concentrations initiales des amidons purs commerciaux choisis est illustrée à la figure 7.6 ci-dessous. Les courbes cinétiques obtenues en utilisant les autres enzymes à savoir l' $\alpha$ -amylase bactérienne  $E_2$ , l'amyloglucosidase  $E_5$  et l' $\alpha$ -amylase Termamyl L300  $E_7$  sont représentées en annexe 4 par les figures 7.9, 7.12, 7.15 respectives.

La figure 7.6 montrent que les courbes cinétiques obtenues pour les amidons  $ST_2$ ,  $ST_4$  et  $ST_5$  sont des hyperboles distinctes pour une même enzyme et les représentations graphiques de Lineweaver-Burk et Eadie-Hofstee sont des droites pour la plupart des amidons purs commerciaux.

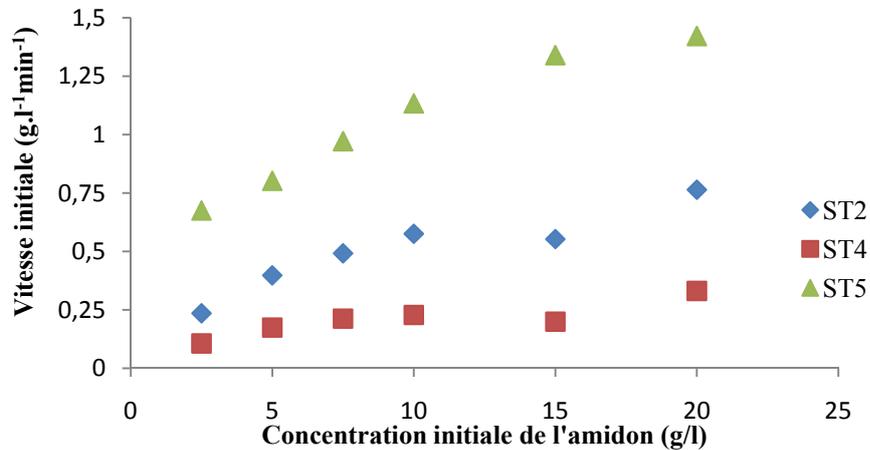


Figure 7.6 : Courbe cinétique de saccharification enzymatique des amidons purs commerciaux en présence de l' $\alpha$ -amylase fongique ( $E_1$ )

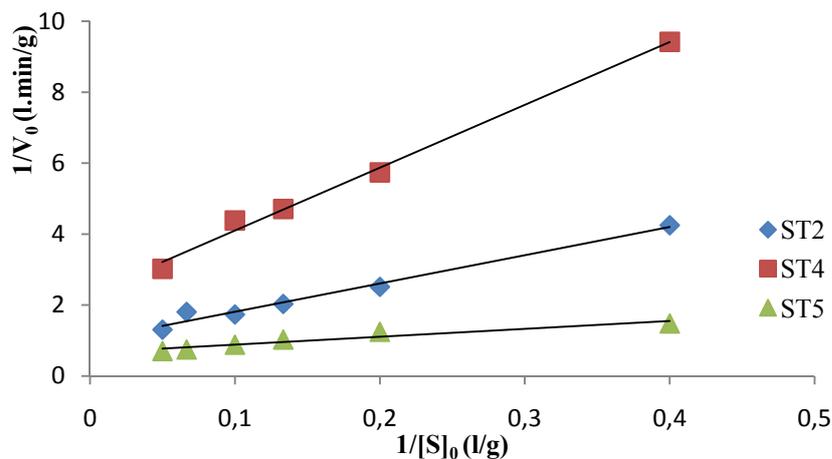
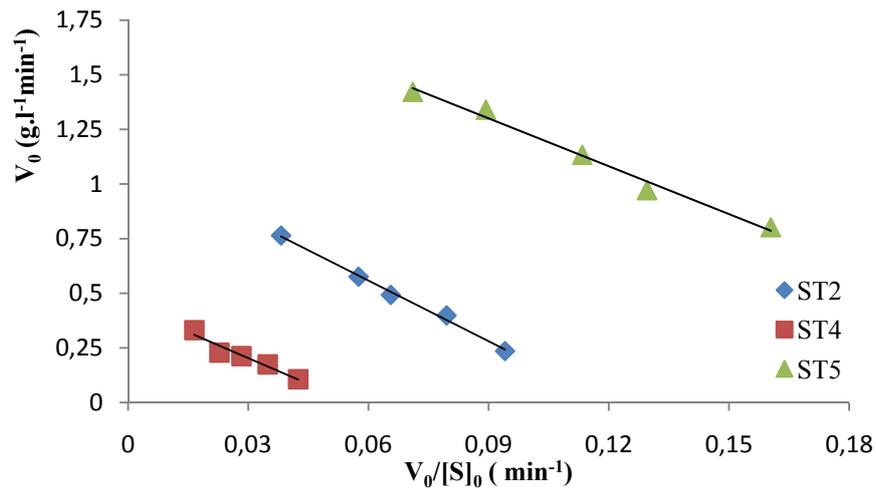


Figure 7.7 : Représentation de la transformée de Lineweaver-Burk pour les réactions de saccharification enzymatique des amidons purs commerciaux en présence de l' $\alpha$ -amylase fongique ( $E_1$ )



**Figure 7.8 : Représentation de la transformée de Eadie-Hofstee pour les réactions de saccharification enzymatique des amidons purs commerciaux en présence de l'α-amylase fongique (E<sub>1</sub>)**

Il ressort que dans l'intervalle de concentration des amidons et des enzymes utilisées, les réactions d'hydrolyse (formation d'oligosaccharides) obéissent aux équations de vitesses données par le modèle proposé par Michaëlis-Menten. C'est le cas de l'hydrolyse de tous les amidons utilisés en présence de l'α-amylase fongique (figures 7.7 et 7.8) et en présence de l'α-amylase bactérienne (figures 7.10 et 7.11, en annexe 4). Par contre, les cinétiques d'hydrolyse de l'amylopectine dans les conditions choisies et en présence de l'amyloglucosidase (figures 7.13 et 7.14 en annexe 4), et de l'amidon riche en amylose et l'amylopectine en présence d'α-amylase Termamyl L300 (figures 7.16 et 7.17 en annexe 4) sont non michaëlienne. Les représentations graphiques de Lineweaver-Burk et Eadie-Hofstee ne sont pas linéaires

Les valeurs des constantes apparentes de Michaëlis-Menten et des vitesses maximales initiales de saccharification des amidons purs commerciaux en présence de E<sub>1</sub>, E<sub>2</sub>, E<sub>5</sub> et E<sub>7</sub> sont déterminées à partir des transformées linéaire de Lineweaver-Burk et Eadie-Hofstee et récapitulées au tableau 7.14.

L'affinité de l'α-amylase bactérienne, E<sub>2</sub> à l'exoaction sur les trois types d'amidon est plus faible relativement à celles de l'α-amylase fongique de l'amyloglucosidase, E<sub>5</sub> et l'α-amylase Termamyl L300, E<sub>7</sub>, dans les concentrations d'enzymes utilisées. Par contre, les vitesses maximales sont plus élevées à l'exception de l'amylopectine qui donne une valeur de V<sub>max</sub> plus élevée en présence de l'α-amylase fongique. Cette exception peut s'expliquer par le fait que l'hydrolyse est réalisée en utilisant une concentration initiale d'enzyme plus élevée.

**Tableau 7.14 : Valeurs des constantes de vitesse  $K_M$  et des vitesses maximales  $V_{max}$  de l'exoaction des différents  $\alpha$ -amylases sur les amidons purs commerciaux**

Enzyme	[E] <sub>0</sub> (mg/ml)	Amidon	L-B		E-H	
			$K_M$ (g/l)	$V_{max}$ (g.l <sup>-1</sup> min <sup>-1</sup> )	$K_M$ (g/l)	$V_{max}$ (g.l <sup>-1</sup> min <sup>-1</sup> )
E <sub>1</sub>	0,4	ST <sub>2</sub>	9,39	1,12	9,26	1,11
	0,7	ST <sub>4</sub>	8,33	0,46	8,54	0,46
	4,5	ST <sub>5</sub>	7,24	1,94	7,30	1,95
E <sub>2</sub>	0,25	ST <sub>2</sub>	20,96	2,03	20,50	2,00
		ST <sub>4</sub>	10,98	0,63	10,86	0,63
		ST <sub>5</sub>	14,86	1,27	15,23	1,29
E <sub>5</sub>	0,05	ST <sub>2</sub>	4,48	0,15	4,61	0,15
		ST <sub>4</sub>	4,77	0,13	4,76	0,13
E <sub>7</sub>	0,01	ST <sub>2</sub>	7,66	0,03	7,58	0,03

Les valeurs de la vitesse initiale maximale et de la constante de Michaëlis sont respectivement très voisines dans le cas de l'hydrolyse de l'amidon de pomme de terre soluble, ST<sub>2</sub> et l'amidon riche en amylose, ST<sub>4</sub> pour une même concentration initiale de l'amyloglucosidase.

L' $\alpha$ -amylase Termamyl L300, avec une concentration initiale 40 fois plus faible présente une constante de Michaëlis, pour l'amidon de pomme de terre, proche de celle de l' $\alpha$ -amylase fongique. Elles ont donc relativement la même affinité. Cependant la vitesse initiale maximale est relativement plus faible. Ce résultat peut être le fait que l'amylase de part sa nature thermostable est plus rapide à des températures plus élevées que 20°C.

Les valeurs des constantes catalytiques  $K_{cat}$  et des constantes de spécificité  $K_{cat}/K_M$  de l'exoaction des différents  $\alpha$ -amylases sur les amidons purs commerciaux sont déduites et rassemblées au tableau 7.15 ci-après :

La comparaison des valeurs de  $K_{cat}$  et  $K_{cat}/K_M$  montre que les constantes des vitesses de dépolymérisation en sucres réducteurs et de formation du complexe ST<sub>2</sub>-E<sub>1</sub> résultant de la liaison entre le substrat d'amidon de pomme de terre soluble ST<sub>2</sub> et l' $\alpha$ -amylase fongique sont de 4 à 6 fois supérieure à celles obtenues dans le cas de l'amidon riche en amylose, ST<sub>4</sub> et de l'amylopectine, ST<sub>5</sub> et c'est ce qui justifie l'utilisation de concentrations plus élevées de cet enzyme pour l'étude cinétique de l'hydrolyse des amidons ST<sub>4</sub> et ST<sub>5</sub>.

**Tableau 7.15 : Valeurs des constantes catalytiques  $K_{cat}$ , et des constantes de spécificité  $K_{cat}/K_M$  de l'exoaction des différents  $\alpha$ -amylases sur les amidons purs commerciaux**

Enzyme	Amidon	L-B		E-H	
		$K_{cat}$ ( $\text{min}^{-1}$ )	$K_{cat}/K_M$ ( $\text{l.g}^{-1}\text{min}^{-1}$ )	$K_{cat}$ ( $\text{min}^{-1}$ )	$K_{cat}/K_M$ ( $\text{l.g}^{-1}\text{min}^{-1}$ )
E <sub>1</sub>	ST <sub>2</sub>	2,80	0,30	2,78	0,30
	ST <sub>4</sub>	0,66	0,08	0,60	0,08
	ST <sub>5</sub>	0,43	0,06	0,43	0,06
E <sub>2</sub>	ST <sub>2</sub>	5,08	0,34	5,16	0,34
	ST <sub>4</sub>	8,12	0,39	8,00	0,39
	ST <sub>5</sub>	2,52	0,23	2,52	0,23
E <sub>5</sub>	ST <sub>2</sub>	3,00	0,67	3,00	0,65
	ST <sub>4</sub>	2,60	0,54	2,60	0,55
E <sub>7</sub>	ST <sub>2</sub>	2,50	0,33	2,50	0,33

Dans le cas de l' $\alpha$ -amylase bactérienne, les valeurs de  $K_{cat}$  et  $K_{cat}/K_M$  sont relativement proches. Des valeurs plus faibles sont observées pour l'amidon riche en amylose ST<sub>4</sub> peu soluble, ce qui confirme sa faible susceptibilité à l'hydrolyse en sucres réducteurs relativement aux autres amidons. Les valeurs de constante catalytique et de constante de spécificité sont très proches. Ce résultat permet de déduire que la susceptibilité aux différentes étapes d'hydrolyse des deux amidons en sucres réducteurs par l'amyloglucosidase sont similaires et que cette enzyme ne présente donc pas de spécificité vis-à-vis des deux amidons ST<sub>2</sub> ST<sub>4</sub>. Ce comportement de l'amyloglucosidase si distingue de celui de l' $\alpha$ -amylase fongique et bactérienne.

Les valeurs du rapport  $K_{cat}/K_M$  déduit pour l' $\alpha$ -amylase Termamyl L300 avec l'amidon de pomme de terre sont similaires à celles obtenues dans le cas de l' $\alpha$ -amylase fongique et bactérienne ce qui pourrait signifier que ces amylases présente la même activité vis-à-vis de l'amidon de pomme de terre.

Il ressort de tous ces résultats que tous les amidons purs commerciaux utilisés comme substrats sont susceptibles à l'hydrolyse par l' $\alpha$ -amylase fongique, l' $\alpha$ -amylase bactérienne donnant lieu à la formation de sucres réducteurs dans les conditions opératoires utilisées, permettant ainsi la mise en évidence et l'évaluation de l'exoaction de ces enzymes sur les trois amidons ST<sub>2</sub> ST<sub>4</sub> ST<sub>5</sub>. Ce résultat confirme que la concentration de l' $\alpha$ -amylases fongique l' $\alpha$ -amylases bactérienne permet d'effectuer une étude cinétique de la réaction d'hydrolyse selon un des deux modèles cinétiques proposés par Michaëlis-Menten et Briggs-Haldane

puisque l'activité de cet amylase reste stable dans l'intervalle de concentration initiale de substrat choisi.

Dans le cas de l'hydrolyse par l'amyloglucosidase et l' $\alpha$ -amylase Termamyl L300, les conditions opératoires utilisées permettent l'étude cinétique selon les modèles cités ci-dessus uniquement pour l'amidon de pomme de terre et l'amidon riche en amylose l'amylopectine (pour l'amyloglucosidase) l'amidon de pomme de terre (pour l' $\alpha$ -amylase Termamyl L300). Pour les autres substrats, il convient donc de déterminer d'autres concentrations initiales de substrat (plus faibles) et d'enzyme (plus élevées).

### ***7.3.2. Paramètres cinétiques de la saccharification enzymatique des amidons purs de sorgho***

Les conditions de saccharification des amidons purs des différents cultivars de sorgho en présence des différentes amylases sont choisies à partir des résultats des essais d'hydrolyse donnés au §7.2.2.

Les courbes cinétiques de la saccharification des amidons isolés à partir des cultivars de sorgho sont représentées par la figure 7.18 suivante en présence de l' $\alpha$ -amylase fongique et par les figures 7.21, 7.24 et 7.27 (en annexe 4), respectivement pour  $E_2$ ,  $E_5$  et  $E_7$ .

Les courbes cinétiques obtenues sont des hyperboles pour la plupart des systèmes amidon pur de sorgho-amylase. Les représentations graphiques transformées linéaires obtenus pour l' $\alpha$ -amylase fongique,  $E_1$ ; l' $\alpha$ -amylase bactérienne,  $E_2$ ; l'amyloglucosidase,  $E_5$  et l' $\alpha$ -amylase Termamyl L300,  $E_7$  sont illustrées à la figure 7.19 et aux figures 7.22, 7.25 et 7.28, en annexe 4, respectivement selon la représentation de Lineweaver-Burk et à la figure 20.7 et aux figures 7.23, 7.26, 7.29, en annexe 4, respectivement selon la représentation d'Eadie-Hofstee.

Les représentations obtenues sont des droites pour les amidons purs de tous les cultivars de sorgho hydrolysés par l' $\alpha$ -amylase fongique et bactérienne. Ce qui traduit des cinétiques michaéliennes, dans les conditions de concentrations initiales d'amidon et d'enzyme utilisées. Cependant, la cinétique d'hydrolyse par  $E_7$  suit le modèle de Michaëlis-Menten uniquement pour l'amidon pur de sorgho fortement pigmenté Américain, ASPG06. L'emploi de l'amyloglucosidase est régit par des cinétiques non michaélienne avec tous les amidons purs de sorgho

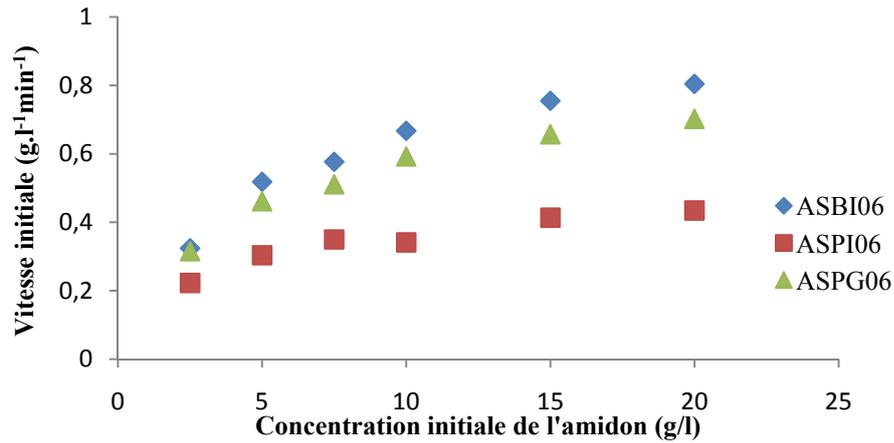


Figure 7.18 : Courbes cinétiques de saccharification enzymatique des amidons des différents cultivars de sorgho en présence de l' $\alpha$ -amylase fongique ( $E_1$ )

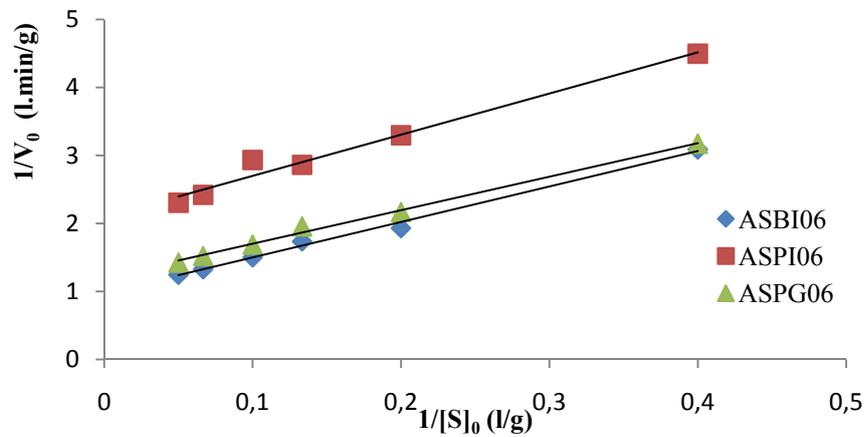


Figure 7.19 : Représentation de la transformée de Lineweaver-Burk pour les réactions de saccharification enzymatique des amidons des différents cultivars de sorgho en présence de l' $\alpha$ -amylase fongique ( $E_1$ )

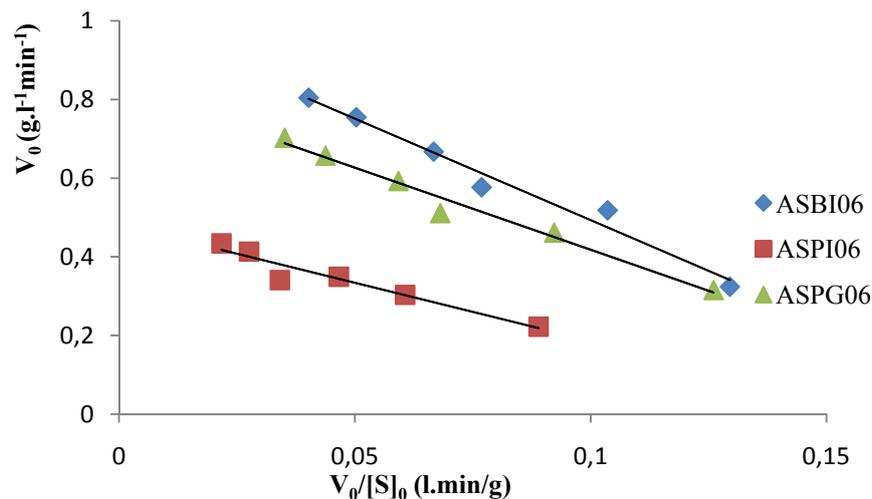


Figure 7.20 : Représentation de la transformée de Eadie-Hofstee pour les réactions de saccharification enzymatique des amidons des différents cultivars de sorgho en présence de l' $\alpha$ -amylase fongique ( $E_1$ )

Les valeurs de la constante de Michaëlis  $K_M$  et de la vitesse maximale  $V_{max}$  de la réaction d'hydrolyse enzymatique des amidons de sorgho sont déterminées et regroupées au tableau 7.16 ci-dessous :

**Tableau 7.16 : Valeurs des constantes de vitesse  $K_M$  et des vitesses maximales  $V_{max}$  de l'exoaction des différentes  $\alpha$ -amylases sur les amidons purs de sorgho**

Enzyme	[E] <sub>0</sub> (mg/ml)	Amidon	L-B		E-H	
			$K_M$ (g/l)	$V_{max}$ (g.l <sup>-1</sup> min <sup>-1</sup> )	$K_M$ (g/l)	$V_{max}$ (g.l <sup>-1</sup> min <sup>-1</sup> )
E <sub>1</sub>	0,4	ASBI06	5,34	1,02	5,16	1,01
		ASPI06	3,11	0,50	3,16	0,50
		ASPG06	4,19	0,84	4,19	0,84
E <sub>2</sub>	0,25	ASBI06	10,13	1,51	10,43	1,53
		ASPI06	16,53	1,80	16,52	1,80
		ASPG06	14,45	2,06	14,49	2,06
E <sub>7</sub>	0,01	ASPG06	0,87	0,02	0,80	0,02

L'évolution de la vitesse initiale de l'hydrolyse par E<sub>1</sub> en fonction de la concentration initiale de l'amidon isolé pour les trois amidons de sorgho possède la même allure et la variation entre les valeurs des constante  $K_M$  et entre celles de  $V_{max}$  n'est pas très importante, ce qui signifie que la susceptibilité des trois amidons purs de sorgho, ASBI06, ASPI06 et ASPG06 à l'hydrolyse est similaire.

Les valeurs obtenues font ressortir une plus grande affinité de l' $\alpha$ -amylase fongique pour les différents substrats de sorgho relativement à l' $\alpha$ -amylase bactérienne. L' $\alpha$ -amylase Termamyl L300 présente la meilleure affinité vis-à-vis de l'amidon sorgho fortement pigmenté Américain comparé aux amylases thermolabiles avec une vitesse initiale maximale plus petite.

Les valeurs des constantes catalytiques  $K_{cat}$  et des constantes de spécificité  $K_{cat}/K_M$  de l'exoaction des différentes  $\alpha$ -amylases sur les amidons purs des différents cultivars de sorgho sont déduites et reportées au tableau 7.17.

Les valeurs de la constante de spécificité,  $K_{cat}/K_M$  dans le cas de l'hydrolyse par E<sub>1</sub> ne sont pas très variables pour les amidons des trois cultivars de sorgho blanc et pigmenté et sont relativement faible, ce qui traduit une même activité de l' $\alpha$ -amylase fongique pour les différents amidons de sorgho. De même dans le cas de l'hydrolyse par E<sub>2</sub>, les valeurs de  $K_{cat}$  pour les différents amidons, ASBI06 : ASPI06 :ASPG06 se trouvent dans un rapport de 1,4 : 1,1:1. Ce résultat peut prévoir que les mécanismes d'hydrolyse seraient semblables.

**Tableau 7.17 : Valeurs des constantes catalytiques  $K_{cat}$ , et des constantes de spécificité  $K_{cat}/K_M$  de l'exoaction des différentes  $\alpha$ -amylases sur les amidons purs de sorgho**

Enzyme	Amidon	L-B		E-H	
		$K_{cat}$ ( $\text{min}^{-1}$ )	$K_{cat}/K_M$ ( $\text{l.g}^{-1}\text{min}^{-1}$ )	$K_{cat}$ ( $\text{min}^{-1}$ )	$K_{cat}/K_M$ ( $\text{l.g}^{-1}\text{min}^{-1}$ )
E <sub>1</sub>	ASBI06	2,55	0,48	2,53	0,49
	ASPI06	1,25	0,40	1,25	0,40
	ASPG06	2,1	0,50	2,10	0,50
E <sub>2</sub>	ASBI06	6,04	0,60	6,12	0,59
	ASPI06	7,2	0,44	7,20	0,44
	ASPG06	8,24	0,57	8,24	0,57
E <sub>7</sub>	ASPG06	0,46	0,53	0,46	0,58

Les figures 7.25 et 7.25 (en annexe 4) montrent que, dans les conditions opératoires utilisées, les cinétiques d'hydrolyse par l'amyloglucosidase n'obéissent pas au modèle cinétique de Michaëlis-Menten. Cet écart du modèle est le résultat de l'intervalle de concentrations initiales des amidons purs de sorgho utilisé et qui a permis de donner des valeurs de vitesses initiales d'hydrolyse proches des vitesses initiales maximales et des valeurs de constantes de Michaëlis très faibles.

L' $\alpha$ -amylase Termamyl L300 présente la valeur de constante catalytique la plus faible mais une constante de spécificité vis-à-vis de l'amidon de sorgho pigmenté Américain, ASPG06 proches de celle des amylases fongique et bactérienne.

Il ressort de tous ces résultats que tous les amidons purs isolés à partir des grains des différents cultivars sont susceptibles à l'hydrolyse par l' $\alpha$ -amylase fongique, l' $\alpha$ -amylase bactérienne donnant lieu à la formation de sucres réducteurs et la cinétique d'hydrolyse obéit au modèle de Michaëlis-Menten dans les conditions opératoires utilisées, permettant ainsi la mise en évidence et l'évaluation de l'exoaction de ces enzymes sur les amidons purs de sorgho. Cependant dans les conditions opératoires employées, la cinétique d'hydrolyse par l'amyloglucosidase, E<sub>5</sub> et l' $\alpha$ -amylase Termamyl L300 E<sub>7</sub>, n'est pas michaelienne pour les amidons de tous les cultivars de sorgho exception faite pour le système ASPG06- E<sub>7</sub>.

### 7.3.3 Paramètres cinétiques de la saccharification enzymatique des amidons purs de mil chandelle

Les conditions de saccharification des amidons purs des différents cultivars de mil chandelle en présence des différentes amylases sont choisies à partir des résultats des essais d'hydrolyse donnés au §7.2.2.

Les courbes cinétiques de la saccharification des amidons isolés à partir des cultivars de mil chandelle en présence de l' $\alpha$ -amylase fongique,  $E_1$  sont représentées à la figure 7.30 suivante et aux figures 7.33, 7.36, 7.39 (en annexe 4), respectivement en présence de l' $\alpha$ -amylase bactérienne,  $E_2$ , l'amyloglucosidase,  $E_5$  et l' $\alpha$ -amylase Termamyl L300,  $E_7$ .

Les courbes cinétiques obtenues sont des hyperboles. Les transformées linéaires obtenus pour les réactions d'hydrolyse des différents amidons de mil chandelle par  $E_1$ ,  $E_2$ ,  $E_5$  et  $E_7$  sont représentées à la figure.7.31 suivante et aux figures 7.34, 7.37 et 7.40 en annexe 4, respectivement selon la représentation de Lineweaver-Burk et à la figure 7.32 et aux figures 7.35, 7.38, 7.41 en annexe 4, respectivement selon la représentation d'Eadie et Hofstee.

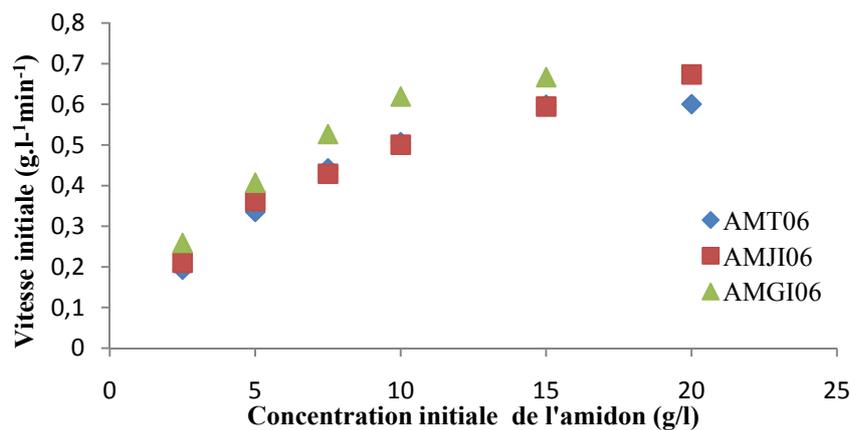
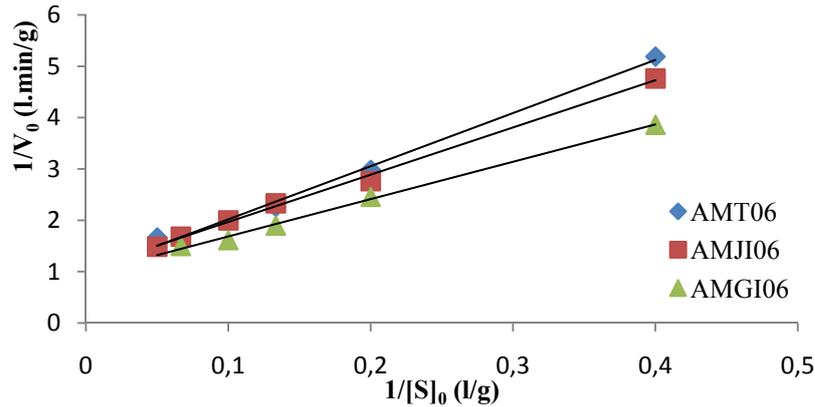
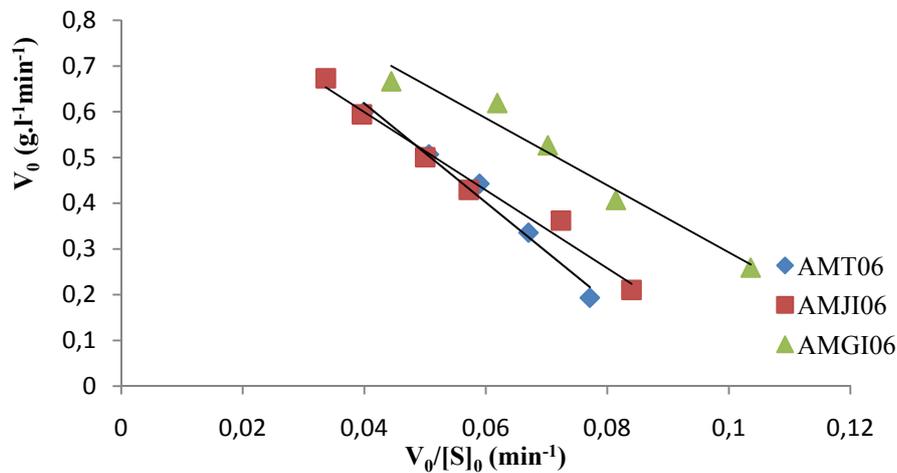


Figure 7.30 : Courbes cinétiques de saccharification enzymatique des amidons des différents cultivars de mil chandelle en présence de l' $\alpha$ -amylase fongique ( $E_1$ )



**Figure 7.31 : Représentation de la transformée de Lineweaver-Burk pour la réaction de saccharification enzymatique des amidons des différents cultivars de mil chandelle en présence de l' $\alpha$ -amylase fongique ( $E_1$ )**



**Figure 7.32 : Représentation de la transformée de Eadie-Hofstee pour la réaction de saccharification enzymatique des amidons des différents cultivars de mil chandelle en présence de l' $\alpha$ -amylase fongique ( $E_1$ )**

Dans les domaines des concentrations des substrats et des enzymes utilisés, les cinétiques de saccharification des amidons purs des trois cultivars de mil chandelle en présence de l' $\alpha$ -amylase fongique suivent le modèle de Michaëlis-Menten. Le même résultat est constaté pour la saccharification des amidons de mil Jafo d'In Salah, AMJI06 et de mil de Tamanrasset, AMT06 en présence des autres amylases utilisées. Cependant la cinétique de l'exoaction sur l'amidon de mil chandelle Ouani d'In Salah AMGI06 adopte un comportement non michaëlien car les vitesses initiales sont déterminées dans un cas proche de la saturation de l'enzyme par le substrat.

Une similitude de l'évolution de la vitesse initiale  $V_0$  de saccharification des amidons de mil par  $E_1$  en fonction de la concentration initiale d'amidon  $[S]_0$  est observée.

Les valeurs de la constante de Michaëlis  $K_M$  et  $V_{max}$  sont proches dans le cas de l'exoaction de l' $\alpha$ -amylase Termamyl sur AMJI06 et AMT06 traduisant des activités similaires de cette amylase vis-à-vis des amidons des deux cultivars récoltés dans deux régions différentes : In Salah et Tamanrasset.

Les valeurs des constantes de vitesse  $K_M$  et des vitesses maximales  $V_{max}$  déterminées et regroupées au tableau 7.18.

**Tableau 7.18 : Valeurs des constantes de vitesse  $K_M$  et des vitesses maximales  $V_{max}$  de l'exoaction des différents  $\alpha$ -amylases sur les amidons purs de mil chandelle**

Enzyme	[E] <sub>0</sub> (mg/ml)	Amidon	L-B		E-H	
			$K_M$ (g/l)	$V_{max}$ (g.l <sup>-1</sup> min <sup>-1</sup> )	$K_M$ (g/l)	$V_{max}$ (g.l <sup>-1</sup> min <sup>-1</sup> )
E <sub>1</sub>	0,4	AMGI06	8,14	1,09	7,34	1,02
		AMJI06	8,75	0,94	8,53	0,94
		AMT06	11,86	1,11	10,82	1,05
E <sub>2</sub>	0,25	AMJI06	15,49	1,16	15,15	1,15
		AMT06	38,92	3,38	32,16	2,89
E <sub>5</sub>	0,05	AMJI06	2,13	0,30	2,04	0,29
		AMT06	1,56	0,17		
E <sub>7</sub>	0,01	AMJI06	2,48	0,04	2,50	0,04
		AMT06	2,07	0,05	2,01	0,05

Les résultats montrent que la meilleure affinité à la saccharification des amidons de mil chandelle Jafo d'In Salah AMJI06 et celui de Tamanrasset AMT06 est obtenue pour l'amyloglucosidase et l' $\alpha$ -amylase Termamyl L300 comme biocatalyseur. Néanmoins, les vitesses maximales d'hydrolyse sont plus faibles.

Les valeurs des constantes catalytiques  $K_{cat}$  et des constantes de spécificité  $K_{cat}/K_M$  de l'exoaction des différentes  $\alpha$ -amylases sur les amidons purs de mil chandelle sont déduites et rassemblées au tableau 7.19.

Les valeurs des constantes  $K_{cat}$  et  $K_{cat}/K_M$  sont très proches dans le cas de la saccharification des amidons de différents cultivars locaux de mil chandelle par l' $\alpha$ -amylase fongique ce qui montre une similitude de leur susceptibilités à la dépolymérisation en sucres réducteurs. Ce n'est pas le cas pour l'exoaction de l' $\alpha$ -amylase bactérienne qui présente des valeurs de vitesse initiale maximale et de constante catalytique différentes avec un rapport de 1 :3 (AMJI06 : AMT06) et des valeurs de constante spécifique  $K_{cat}/K_M$  relativement voisines comme le confirme le rapport 1 :1,2 (AMJI06 : AMT06), ceci montre que la distinction entre les réactions de saccharification est due à la vitesse de dissociation du complexe E<sub>2</sub>-amidon

**Tableau 7.19 : Valeurs des constantes catalytiques  $K_{cat}$ , et des constantes de spécificité  $K_{cat}/K_M$  de l'exoaction des différentes  $\alpha$ -amylases sur les amidons purs de mil chandelle**

Enzyme	Amidon	L-B		E-H	
		$K_{cat}$ ( $\text{min}^{-1}$ )	$K_{cat}/K_M$ ( $\text{l.g}^{-1}\text{min}^{-1}$ )	$K_{cat}$ ( $\text{min}^{-1}$ )	$K_{cat}/K_M$ ( $\text{l.g}^{-1}\text{min}^{-1}$ )
E <sub>1</sub>	AMGI06	2,72	0,23	2,55	0,35
	AMJI06	2,35	0,27	2,35	0,28
	AMT06	2,78	0,23	2,63	0,24
E <sub>2</sub>	AMJI06	4,64	0,30	4,60	0,30
	AMT06	13,52	0,35	11,56	0,36
E <sub>5</sub>	AMJI06	6,00	2,82	5,80	2,84
	AMT06	3,40	2,81		
E <sub>7</sub>	AMJI06	3,60	1,45	3,70	1,48
	AMT06	5,00	2,42	5,00	2,49

L'activité (l'exoaction) de l'amyloglucosidase sur les amidons de mil est faible relativement aux  $\alpha$ -amylases fongique et bactérienne. En effet, les vitesses initiales maximales sont faibles. Cependant les valeurs de la constante  $K_{cat}/K_M$  sont relativement plus élevées ce qui signifie que la constante de vitesse de la réaction d'ordre 2 de formation du complexe E<sub>5</sub>-amidon de mil est plus élevée que dans celui de la formation des complexes à partir de l' $\alpha$ -amylase fongique ou bactérienne.

De tous les résultats précédant, on relève que tous les amidons purs des différents cultivars de mil chandelle utilisés sont susceptibles à l'hydrolyse par l' $\alpha$ -amylase fongique, et par l' $\alpha$ -amylase bactérienne donnant lieu à la formation de sucres réducteurs dans les conditions opératoires utilisées et la cinétique de la réaction d'hydrolyse obéit au modèle cinétique de Michaëlis-Menten.

Les résultats de la partie inhérente à la cinétique de l'hydrolyse enzymatique des amidons purs commerciaux et de ceux isolés à partir des cultivars de sorgho et de mil chandelle montrent qu'ils présentent tous, dans les conditions de pH, de température et de concentration de substrat et d'amylase, une susceptibilité à l'hydrolyse donnant lieu à la formation de dextrans ou de sucres réducteurs en présence de différentes amylases thermolabiles ( $\alpha$ -amylase fongique, bactérienne et amyloglucosidase) et thermostable ( $\alpha$ -amylase Termamyl L300). Par conséquent, ils ont permis de déterminer les conditions opératoires de mise en évidence des deux activités enzymatique et qui sont l'exoaction et l'endoaction.

Le traitement des résultats de l'étude de l'exoaction des amylases par la représentation graphique des courbes cinétiques a permis de distinguer les systèmes (amylase-amidon) qui obéissent au modèle de Michaelis-Menten au cours de leur transformation en sucres réducteurs. Pour les systèmes où la cinétique est michaelienne, l'application des transformées linéaires de Lineweaver-Burk et d'Eadie-Hofstee a donné des constantes cinétiques qui sont très proches et souvent égales.

Les résultats obtenus nous ont permis donc de classer les réactions d'hydrolyse des amidons purs de différentes origines botaniques, selon leurs mécanismes en 2 classes (tableau 7.20) :

- ❖ Classe I : réactions d'hydrolyse dont la cinétique suit le modèle de Michaelis-Menten et dont les constantes cinétiques apparentes de Michaelis  $K_M$  et les vitesses initiales maximales  $V_{max}$  sont déterminées,
- ❖ Classe II : réactions d'hydrolyse dont la cinétique ne suit pas le modèle Michaelis-Menten et dont il est impossible de déterminer les constantes cinétiques. La cinétique de l'hydrolyse pour ces systèmes s'écarte de ce modèle vu que les conditions de concentration de substrat et d'amylase utilisées conduisent à la saturation de l'enzyme par le substrat ou bien pour certains systèmes la cinétique obéit à d'autres modèles cinétiques.

**Tableau 7.20 : Classification des réactions de l'exoaction des amylases sur les amidons de différentes origines botaniques selon le modèle de leur cinétique**

Substrat		Enzyme			
		E <sub>1</sub>	E <sub>2</sub>	E <sub>5</sub>	E <sub>7</sub>
Amidons purs commerciaux	ST <sub>2</sub>	I	I	I	I
	ST <sub>4</sub>	I	I	I	II
	ST <sub>5</sub>	I	I	II	II
Amidons purs de sorgho	ASBI06	I	I	II	II
	ASPI06	I	I	II	II
	ASPG06	I	I	I	I
Amidons purs de mil chandelle	AMGI06	I	II	II	II
	AMJI06	I	I	I	I
	AMT06	I	I	I	I

(I : cinétique michaëlienne, II : cinétique non michaëlienne)

Une lecture du tableau ci-dessus, révèle que dans les conditions opératoires utilisées, le mécanisme des réactions d'hydrolyse en sucres réducteurs des amidons des cultivars de sorgho par les amylases fongique ou bactérienne suit le modèle de Michaëlis-Menten. Par contre avec l'amyloglucosidase et l'amylase Termamyl L300, il est non michaëlien pour l'hydrolyse des amidons des cultivars locaux. Il révèle aussi que la saccharification des amidons de mil chandelle Javo d'In Salah, AMJI06 et de Tamanrasset, AMT06 est michaëlienne pour toutes les amylases et non michaëlienne pour l'amidon de mil Ouini d'In Salah AMGI06, exception faite pour AMGI06-E<sub>2</sub>.

### ***7.3.4 Influence de l'origine botanique de l'amidon sur l'hydrolyse enzymatique des amidons purs***

L'étude cinétique a impliqué des amidons purs de nombreuses origines botaniques : pomme de terre, et différents cultivars de maïs (amylomaïs, waxymaïs), de sorgho (blanc, pigmenté et fortement pigmenté) et de mil chandelle (jaunâtre et verdâtre) différents de par leurs régions de culture, la morphologie et la composition chimique de leurs grains. Elle a montré une variation des valeurs des constantes cinétiques de l'exoaction de la même amylase sur les amidons purs de différentes origines. Dans cette partie nous avons récapitulé les valeurs de ces constantes pour les différents amidons afin d'étudier l'influence de l'origine botanique de l'amidon sur la biocatalyse par les quatre amylases respectivement.

#### ***7.3.4.1 Hydrolyse des différents amidons par l' $\alpha$ -amylase fongique, E<sub>1</sub>***

Le tableau 7.21 reprend les valeurs des constantes cinétiques de Michaëlis,  $K_M$ , catalytique,  $K_{cat}$  et de spécificité,  $K_{cat}/K_M$  de l'exoaction de l' $\alpha$ -amylase fongique (E<sub>1</sub>) sur les amidons de différentes origines botaniques.

Nous constatons que pour la même concentration de l'amylase (0,4 mg/ml), les constantes  $K_{cat}$ ,  $K_M$  et  $K_{cat}/K_M$  varient dans les intervalles respectifs 1,25-2,8 min<sup>-1</sup>, 3,11-11,86 g/l et 0,26-0,50 l.g<sup>-1</sup>min<sup>-1</sup>. La relation entre  $K_{cat}$  et  $K_M$  suit une corrélation positive pour les amidons purs de sorgho, de mil et de pomme de terre ST<sub>2</sub>, ce qui traduit une grande susceptibilité de ces amidons à l'hydrolyse en sucres réducteurs. Une susceptibilité plus faible est notée pour l'amidon de maïs riche en amylose (amylomaïs) ST<sub>4</sub>. Il ressort que les caractéristiques qui influent sur l'hydrolyse enzymatique sont différentes pour ces amidons.

**Tableau 7.21 : Paramètres cinétiques de l'exoaction de l' $\alpha$ -amylase fongique ( $E_1$ ) sur les amidons de différentes origines botaniques**

Exoaction de l' $\alpha$ -amylase fongique ( $E_1$ )					
Substrat	Désignation	[ $E_1$ ] (mg/ml)	$K_M$ (g/l)	$K_{cat}$ ( $\text{min}^{-1}$ )	$K_{cat}/K_M$ ( $\text{l.g}^{-1}\text{min}^{-1}$ )
Amidon pur commercial	ST <sub>2</sub>	0,4	9,39	2,80	0,30
	ST <sub>4</sub>	0,7	8,33	0,66	0,08
	ST <sub>5</sub>	4,5	7,24	0,43	0,06
Amidon pur de sorgho	ASBI06	0,4	5,34	2,55	0,48
	ASPI06		3,11	1,25	0,40
	ASPG06		4,19	2,1	0,50
Amidon pur de mil chandelle	AMGI06	4,0	8,14	0,24	0,03
	AMJI06		8,75	2,35	0,27
	AMT06		11,86	2,78	0,23

7.3.4.2 Hydrolyse des différents amidons par l' $\alpha$ -amylase bactérienne,  $E_2$

Le tableau 7.22 reprend les valeurs des constantes cinétiques de Michaëlis,  $K_M$ , catalytique,  $K_{cat}$  et de spécificité,  $K_{cat}/K_M$  de l'exoaction de l' $\alpha$ -amylase bactérienne ( $E_2$ ) sur les amidons de différentes origines botaniques.

Pour la même concentration de l' $\alpha$ -amylase bactérienne (0,25 mg/ml), les constantes  $K_{cat}$ ,  $K_M$  et  $K_{cat}/K_M$  varient dans les intervalles respectifs 2,52-13,52  $\text{min}^{-1}$ , 10,13-38,92 g/l et 0,23-0,59  $\text{l.g}^{-1}\text{min}^{-1}$ . L'écart entre les valeurs des constantes cinétique n'est pas très grand pour les amidons de différentes sources. Nous obtenons la plus grande susceptibilité pour l'amidon de mil de Tamanrasset, par contre la plus faible est obtenue pour l'amylomaïs ST<sub>4</sub>.

**Tableau 7.22 : Paramètres cinétiques de l'exoaction de l' $\alpha$ -amylase bactérienne ( $E_2$ ) sur les amidons de différentes origines botaniques**

Exoaction de l' $\alpha$ -amylase bactérienne ( $E_2$ )					
Substrat	Désignation	[ $E_2$ ] (mg/ml)	$K_M$ (g/l)	$K_{cat}$ ( $\text{min}^{-1}$ )	$K_{cat}/K_M$ ( $\text{l.g}^{-1}\text{min}^{-1}$ )
Amidon pur commercial	ST <sub>2</sub>	0,25	20,96	2,80	0,30
	ST <sub>4</sub>		10,98	0,66	0,08
	ST <sub>5</sub>		14,86	0,43	0,06
Amidon pur de sorgho	ASBI06	0,25	10,13	6,04	0,60
	ASPI06		16,53	7,2	0,44
	ASPG06		14,45	8,24	0,57
Amidon pur de mil chandelle	AMJI06	0,25	15,49	4,64	0,35
	AMT06		38,92	13,52	2,82

7.3.4.3 Hydrolyse des différents amidons par l'amyloglucosidase,  $E_5$

Le tableau 7.23 reprend les valeurs des constantes cinétiques de Michaëlis,  $K_M$ , catalytique,  $K_{cat}$  et de spécificité,  $K_{cat}/K_M$  de l'exoaction de l'amyloglucosidase ( $E_5$ ) sur les amidons de différentes origines botaniques.

Pour la même concentration de l'amyloglucosidase (0,05 mg/ml), les constantes  $K_{cat}$ ,  $K_M$  et  $K_{cat}/K_M$  sont obtenues uniquement pour les amidons purs de pomme de terre, de l'amylomais et pour les amidons des cultivars de mil Jafo d'In Salah et de Tamanrasset. La relation entre les constantes  $K_{cat}$ ,  $K_M$  suit une corrélation négative. Ce qui s'explique par l'augmentation de la susceptibilité à l'hydrolyse en sucres réducteurs dans le cas de l'augmentation de la force d'association du substrat et d'amyloglucosidase.

Les valeurs  $K_{cat}/K_M$  augmentent pour les amidons de mil relativement à aux amidons de pomme de terre  $ST_2$  et l'amylomais  $ST_4$ . Ce qui traduit une vitesse de formation du complexe substrat-amylase plus élevée.

**Tableau 7.23 : Paramètres cinétiques de l'exoaction de l'amyloglucosidase ( $E_5$ ) sur les amidons de différentes origines botaniques**

Exoaction de l'amyloglucosidase ( $E_5$ )					
Substrat	Désignation	$[E_5]$ (mg/ml)	$K_M$ (g/l)	$K_{cat}$ ( $\text{min}^{-1}$ )	$K_{cat}/K_M$ ( $\text{l.g}^{-1}\text{min}^{-1}$ )
Amidon pur commercial	$ST_2$	0,05	4,48	3,00	0,67
	$ST_4$		4,77	2,60	0,54
Amidon pur de mil chandelle	AMJI06	0,05	2,13	6,00	2,82
	AMT06		1,56	3,40	2,17

7.3.4.4 Hydrolyse des différents amidons par l' $\alpha$ -amylase Termamyl L300,  $E_7$

Le tableau 7.24 récapitule les valeurs des constantes cinétiques de Michaëlis,  $K_M$ , catalytique,  $K_{cat}$  et de spécificité,  $K_{cat}/K_M$  de l'exoaction de l' $\alpha$ -amylase Termamyl L300, ( $E_7$ ) sur les amidons de différentes origines botaniques.

Pour la même concentration de l' $\alpha$ -amylase Termamyl L300 (0,05 mg/ml), il ressort que les amidons des cultivars de mil, ont relativement une meilleure susceptibilité à l'exoaction par cette amylase et que la formation du complexe substrat-amylase est plus rapide. Le rapport  $K_{cat}/K_M$  est plus de 3 fois celui déterminé pour les amidons de sorgho Américain et pomme de terre.

La plus faible susceptibilité est observée pour l'amidon de pomme de terre et de l'amylomais comme c'est le cas en utilisant l' $\alpha$ -amylase.

**Tableau 7.24 : Paramètres cinétiques de l'exoaction de l' $\alpha$ -amylase Termamyl L300 (E<sub>7</sub>) sur les amidons de différentes origines botaniques**

Exoaction de l' $\alpha$ -amylase Termamyl L300 (E <sub>7</sub> )					
Substrat	Désignation	[E <sub>7</sub> ] (mg/ml)	K <sub>M</sub> (g/l)	K <sub>cat</sub> (min <sup>-1</sup> )	K <sub>cat</sub> /K <sub>M</sub> (l.g <sup>-1</sup> min <sup>-1</sup> )
Amidon pur commercial	ST <sub>2</sub>	0,01	7,66	2,50	0,33
Amidon pur de sorgho	ASPG06		0,87	0,46	0,53
Amidon pur de mil chandelle	AMJI06		2,48	3,60	1,45
	AMT06		2,07	5,00	2,42

### 7.3.5 Influence de la source d'amylase sur l'hydrolyse des amidons purs

Il est bien connu que la source de l'amylase influence l'hydrolyse de l'amidon. L'objectif de cette partie de l'étude est d'évaluer cette influence sur les constantes cinétiques de l'hydrolyse de certains amidons purs de sorgho et de mil chandelle par des amylases de différentes sources, E<sub>1</sub>, E<sub>2</sub>, E<sub>5</sub> et E<sub>7</sub> suivants le modèle cinétique de Michaelis-Menten.

De ces graphiques, il découle que le mécanisme de l'exoaction se distingue selon la source de l'amylase. Pour les différents substrats, l' $\alpha$ -amylase fongique a une plus grande affinité pour l'amidon de sorgho pigmenté d'In Salah ASPI06 que celui d'Amérique fortement pigmenté ASPG06 et du sorgho blanc ASBI06. Cependant l' $\alpha$ -amylase bactérienne présente la meilleure activité vis-à-vis de ces deux derniers amidons. De même, l' $\alpha$ -amylase fongique possède une meilleure affinité pour les amidons de mil. Par contre c'est l'amyloglucosidase qui présente la meilleure activité suivie de l' $\alpha$ -amylase Termamyl L300.

L'exoaction des amylases fongique et bactérienne sur les amidons des différentes origines botaniques est michaélienne traduisant un équilibre pré-stationnaire ou quasi-équilibre, ce qui signifie que le mécanisme d'hydrolyse par ces deux amylases n'est pas affecté par le type d'amidon, exception faite pour AMGI06-E<sub>2</sub>. Cependant, le mécanisme de l'exoaction de l'amyloglucosidase et de l'amylase Termamyl L300 diffère pour les amidons d'une même céréale.

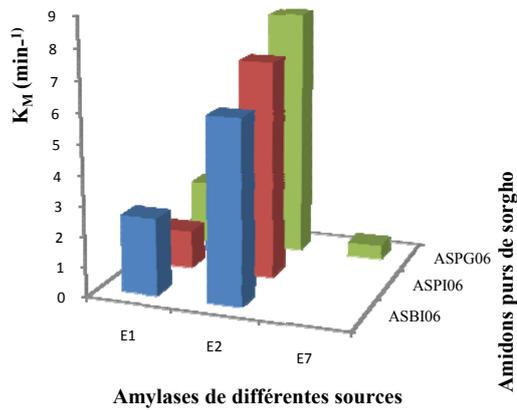


Figure 7.48 : Représentation graphique des constantes  $K_M$  en fonction des amylases de différentes sources dans le cas de l'exoaction sur les amidons purs de sorgho

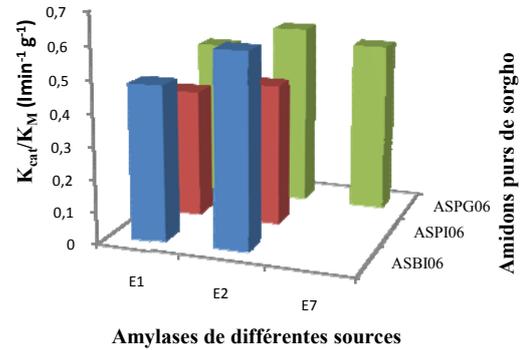


Figure 7.49 : Représentation graphique des constantes de  $K_{cat}/K_M$  en fonction des amylases de différentes sources dans le cas de l'exoaction sur les amidons purs de sorgho

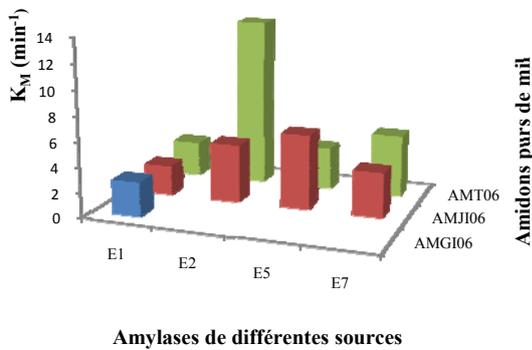


Figure 7.50 : Représentation graphique des constantes  $K_M$  en fonction des amylases de différentes sources dans le cas de l'exoaction sur les amidons purs de mil chandelle

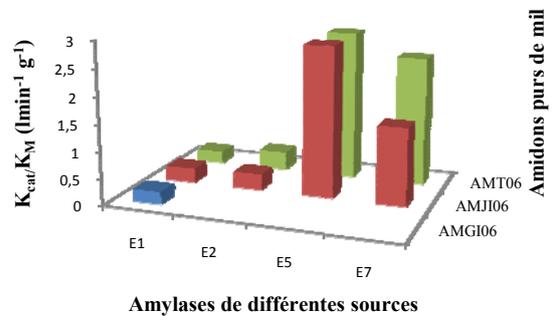


Figure 7.51 : Représentation graphique des constantes de  $K_{cat}/K_M$  en fonction des amylases de différentes sources dans le cas de l'exoaction sur les amidons purs de mil chandelle

D'après les résultats déjà publiés, Gorinstein (1993) a rapporté des valeurs de  $K_M$  plus faibles variant entre 0,0045 et 0,033 g/l pour la pomme de terre et 0,38 g/l pour le manioc en utilisant l'amylase Termamyl 60L, des valeurs plus élevées sont obtenues pour l' $\alpha$ -amylase de *Bacillus Subtilis* à savoir 7,83 ; 8,94, 7,79 ; 12,54 g/l respectivement pour l'amidon soluble, le riz, la pomme de terre et le maïs. Les vitesses maximales  $V_{max}$  sont évaluées respectivement à 0,170 ; 0,166 ; 0,186 ; 0,139 g/l/min (Konsula 2004). Rousseau (1999), en utilisant la pullulanase Promozyme 200L, a obtenu pour l'amidon de blé des valeurs de  $K_M$  égales à 110 g/l selon L-B et de 104 g/l selon E-H et pour l'amidon de pois  $K_M = 83$  g/l (L-B),  $K_M = 87$  g/l, (E-H) et des constantes de vitesse encore plus élevées.

Les résultats de plusieurs auteurs, sur la cinétique d'hydrolyse de l'amidon par l'enzyme libre sont conformes au modèle de Michaëlis (Fujii et Kawamura, 1985 ; Park et Rollings, 1994 ; Gorinstein, 1993) comme il a été obtenu dans la plupart de nos essais et les paramètres cinétiques trouvés sont fonctions des origines botaniques des amidons ainsi que de leurs prétraitements.

Pour l'hydrolyse des amidons par l'amylase immobilisée, la plupart des résultats montrent une augmentation de  $K_M$  et une diminution de  $V_{max}$  ; ce qui est justifié par des phénomènes de diffusion qui ralentissent la rencontre du substrat avec l'enzyme et par des changements structuraux des enzymes immobilisées (Kumar, 2006 ; Hasirci, Aksoy et Tumturk, 2006). Cependant, quelques auteurs ont trouvé des valeurs  $V_{max}$  plus grandes pour l'amylase immobilisée (Kara et al., 2005 ; Changa et al., 2005).

Les résultats des constantes cinétiques obtenues dans notre étude et ceux publiés montrent l'influence de l'origine botanique de l'amidon et donc sa structure et ses propriétés physicochimiques et fonctionnelles ainsi que celle de la source d'enzyme sur son affinité vis-à-vis de l'amidon.

#### **7.4 Influence de la température sur la cinétique d'hydrolyse de l'amidon de sorgho et de mil chandelle par l' $\alpha$ -amylase Termamyl L300**

Afin d'étudier l'influence de la température d'hydrolyse sur la cinétique d'hydrolyse des amidons de sorgho et de mil chandelle par l' $\alpha$ -amylase thermostable : Termamyl L300, nous avons effectué des essais à des températures comprises entre 75 et 100 °C dans les conditions opératoires suivantes :  $[S]_0 = 5$  g/l ;  $[E_7] = 0,01$  mg/ml ; pH= 6,9.

Les courbes de l'évolution de la concentration du maltose équivalent en fonction du temps pour les amidons des différents cultivars de sorgho (ASBI06, ASPI06, ASPG06)

et de mil (AMGI06, AMJI06, AMT06) sont données respectivement aux figures 7.42, 7.43, 7.44, 7.45, 7.46, 7.47 en annexe 4. Les valeurs des vitesses maximales  $V_{max}$  sont déterminées et représentées aux figures 7.48 et 7.49 respectivement pour la saccharification de l'amidon de sorgho et de mil.

La vitesse initiale d'hydrolyse de l'amidon de sorgho fortement pigmenté de Ghardaïa semble être légèrement affectée par la température d'hydrolyse contrairement aux amidons de sorgho blanc et sorgho pigmenté où la vitesse initiale maximale est observée respectivement à 100°C et 90°C. Pour les amidons de mil, les vitesses initiales maximales sont obtenues à 90 et 100°C. Par contre la vitesse maximale d'hydrolyse de l'amidon de mil de Tamanrasset est plus élevée que celle de l'amidon des deux cultivars de d'In Salah qui elles sont proches.

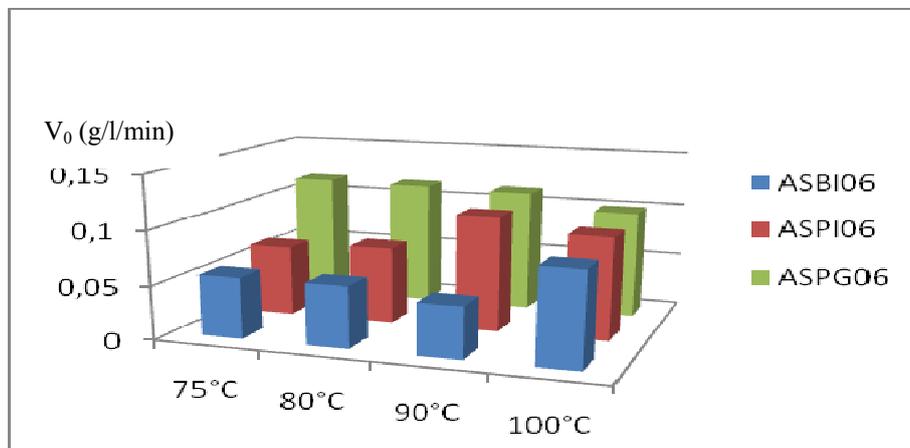


Figure 7.52 : Représentation des vitesses initiales de saccharification enzymatique des amidons de sorgho par l' $\alpha$ -amylase Termamyl L300 en fonction de la température d'hydrolyse

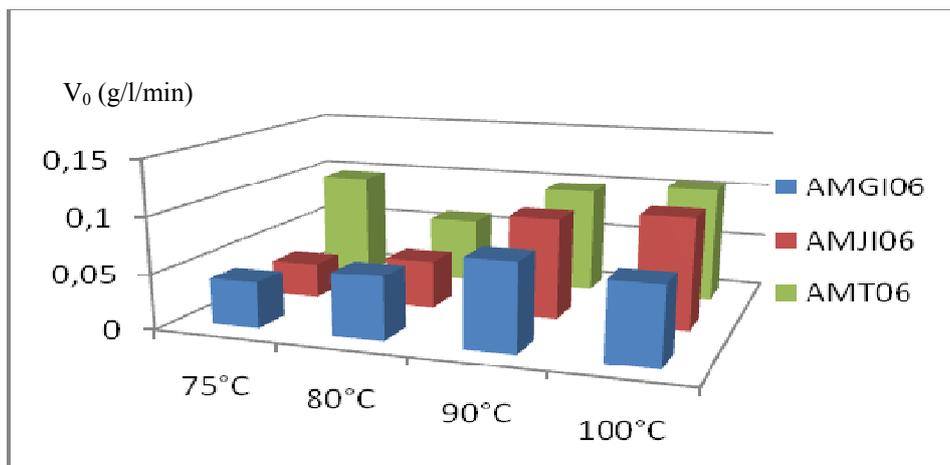


Figure 7.53 : Représentation des vitesses initiales de saccharification enzymatique des amidons de mil chandelle par l' $\alpha$ -amylase Termamyl L300 en fonction de la température d'hydrolyse

# CONCLUSION

## CONCLUSION

Le sorgho et les mils restent l'aliment de base pour les populations de nombreuses régions dans le monde. Adaptées, à la sécheresse, elles sont considérées comme des cultures de subsistance. Au sud de l'Algérie, plusieurs cultivars sont cultivées à l'échelle traditionnelle, certains ont fait l'objet de notre recherche.

La prospection dans les deux régions d'étude à savoir le Tidikelt et l'Ahaggar et les informations recueillies auprès des agriculteurs ont révélé l'existence de deux groupes de mil et deux groupes de sorgho ; un groupe local et un groupe domestiqué et que le mil est destiné à l'alimentation humaine et à l'alimentation animale, alors que le sorgho est destiné presque totalement à l'alimentation animale. La caractérisation agro-morphologique a révélé l'existence de plusieurs cultivars pour chaque groupe de céréale.

La caractérisation structurelle a montré des différences au niveau des propriétés physiques des grains, même entre cultivars de même groupe.

La composition chimique ressemble à celle des autres variétés (races) de sorgho et de mil déjà étudiées. Les teneurs des différents constituants sont comprises dans les intervalles établis par les organismes spécialisés (FAO, ICRISAT) et publiés par de nombreux chercheurs (Hoseney (1986) et Klopfenstei et Hoseney (1995)). Elle a révélé des résultats intéressants. Les mils sont riches en cendres, les teneurs en protéines (environ 12 %) et lipides (4,21-6,64 %) sont élevées par rapport aux autres céréales, ce qui pourrait leur conférer une bonne valeur nutritionnelle.

Ces céréales constituent une source non négligeable d'amidon, les taux obtenus varient entre 63,12 et 66,80 %. Les sorghos locaux sont en outre plus riches que les mils chandelles local et importé. L'amidon a été isolé avec une grande pureté (94,10 et 96,74 %)., cependant les rendements d'extraction restent moyens (59,12 et 61,24 %). L'étape de la purification des amidons se révèle très délicate, une meilleure amélioration de l'isolement nécessite une bonne connaissance des interactions entre les amidons et les autres constituants de la graine, essentiellement les protéines, les fibres et les lipides.

Les amidons isolés sont caractérisés par un taux d'endommagement et une activité de l'eau très faibles. Ceci traduit une meilleure aptitude à la conservation et une résistance à leur digestibilité à l'état natif.

L'analyse morphologique des granules d'amidon a montré que les amidons de sorgho et de mil sélectionnés possèdent une distribution unimodale. Les valeurs maximales de la taille des granules ont atteint 45  $\mu\text{m}$  pour le sorgho et 25  $\mu\text{m}$  pour le mil. Ces valeurs sont

plus élevées que celle des amidons de cultivars d'autres régions. La taille des granules d'amidons de sorgho est plus élevée que celle des amidons de mils, elle est proche de celle des amidons de blé, de maïs et de manioc.

La forme de ces granules est multiple, elle varie de la forme polygonale et ovoïdale pour les variétés de sorgho à la forme polyédrique et sphériques pour le mil. La microscopie électronique à balayage a permis d'observer la présence de pores « pinholes » chez certains granules d'amidon de sorgho et de mil chandelle.

Les variétés de sorgho et de mil étudiées sont des variétés normales, c'est le résultat qui ressort de l'analyse de l'amylose. En effet, cette analyse a donné des taux en amylose variant entre 23,0 et 27,1 %. Les diffractogrammes de rayons X des amidons du sorgho blanc et pigmenté ainsi que du mil local et importé du Niger obtenus sont de type A caractéristiques des amidons de céréales. L'analyse thermique a révélé des températures de gélatinisation élevé par rapport aux amidons d'autres sources botaniques.

Les valeurs caractéristiques de viscosité, à savoir le pic de viscosité, viscosité minimale, la viscosité finale et le temps du pic de viscosité pour les amidons extraits ont montré que les amidons de sorgho blanc et pigmenté ne présentent pas une grande variation dans les valeurs de la viscosité au pic, la viscosité minimale et finale. Contrairement aux sorghos, les amidons de mil se distinguent par la différence de la viscosité au pic. Elle est plus faible dans le cas du mil local (2985 cP), cependant les viscosités minimale et finale sont relativement voisines pour les deux variétés. La variation du temps au pic n'est pas très importante pour les différents amidons. Les valeurs obtenues pour le pic de viscosité et la viscosité finale sont plus élevées que celles publiés jusqu'à présent dans la littérature scientifique. Le génotype et surtout les conditions environnementales peuvent être la cause de cette différence

Les essais d'hydrolyse enzymatique des substrats d'amidon purs commerciaux ont montré que les amylases choisies de source fongique, bactérienne ou humaine ont été capables d'hydrolyser les amidons purs de différentes origines botaniques. Les résultats de l'étude cinétique obtenus ont montré l'influence de la source de l'enzyme et de l'origine botanique de l'amidon sur l'hydrolyse enzymatique en dextrines et en sucres réducteurs (oligosaccharides) et ils ont permis de déterminer les conditions opératoires qui permettent la mise en évidence des activités des enzymes utilisés à savoir l'endoaction (liquéfaction) donnant lieu à la formation de dextrines et l'exoaction (saccharification) donnant lieu à la formation de sucres réducteurs,

Les résultats de l'hydrolyse enzymatique des amidons de sorgho et de mil chandelle montrent que les substrats présentent une susceptibilité à l'hydrolyse en dextrines en présence des cinq enzymes testées. Cependant cette susceptibilité diffère selon le prétraitement préconisé pour la mouture intégrale et selon l'amylase utilisé.

Il ressort que cette susceptibilité à l'hydrolyse est faible pour l'amidon en présence des autres constituants, comme les protéines, les lipides et les fibres et croît considérablement quand il est séparé de ces constituants. Les vitesses moyennes ont été augmentées de 3 à 7 fois dans le cas où les protéines et les lipides ont été isolés.

Nous avons réussi à déterminer les conditions expérimentales, permettant aux réactions d'hydrolyse enzymatique de nos amidons d'obéir au modèle de Michaëlis-Menten. L'étude cinétique des réactions a permis de déduire les valeurs des constantes cinétiques ( $K_M$ ,  $V_{max}$ ,  $K_{cat}$  et  $K_{cat}/K_M$ ).

De plus, les propriétés physicochimiques et fonctionnelles des amidons de sorgho et de mil chandelle obtenues ont permis de relever des propriétés intéressantes liées notamment à la granulométrie et aux propriétés rhéologiques qui pourraient présager certaines applications spécifiques (alimentaire, cosmétique, textile, pharmaceutique, biofilms, ect...). Ils ont montré aussi l'influence des effets du génotype et de l'environnement hyper-aride dont la température de maturité est très élevée.

La connaissance des conditions expérimentales, permettant de calculer les valeurs des constantes cinétiques, nous a permis de distinguer les systèmes amylase-amidon dont les réactions d'hydrolyse suivent le modèle de Michaëlis-Menten et évaluer, d'une manière quantitative, l'influence des différents facteurs influençant la cinétique de la saccharification enzymatique notamment l'origine botanique de l'amidon et la source de l'amylase.

En effet, les courbes cinétiques d'hydrolyse des différents amidons de sorgho, de mil, de maïs et de pomme de terre sont des hyperboles et les représentations graphiques des transformées de Lineweaver-Burk et Eadie-Hofstee sont des droites pour la plupart des amidons en présence des différentes enzymes utilisées. Ces résultats signifient que la cinétique de saccharification dans ces cas est Michaëllienne, et que le système réactionnel est dans un état pré-équilibre ou quasi-stationnaire.

Il ressort aussi de cette étude que la réactivité de l'amidon présente une variabilité quand à son hydrolyse en oligosaccharides en fonction de la source d'enzyme. Les différentes enzymes agissent avec des affinités et des activités distinctes pour un même amidon.

De même, l'amylase présente une variabilité quand à son exoaction sur les amidons de différentes origines botaniques. Ceci pourrait être du à la différence dans la composition chimique en amylose et amylopectine, aux propriétés physicochimiques et fonctionnelles à la structure fine de l'amidon.

Les  $\alpha$ -amylases thermolabiles fongique et bactérienne ont une meilleure susceptibilité à hydrolyser les amidons de maïs et de pomme de terre utilisés relativement aux amidons de sorgho et de mil chandelle contrairement à l'amyloglucosidase et l' $\alpha$ -amylase Termamyl L300, qui ont de meilleures affinités pour les substrats d'amidon de mil local

Actuellement, la culture du sorgho et des mils reste traditionnelle et faible en attendant de mieux valoriser ces céréalicultures en trouvant de nouveaux débouchés qu'ils soient liés aux fourrages, aux graines et leurs moutures ou à leurs biopolymères natifs ou modifiés notamment les amidons et les protéines qui révèlent des propriétés physicochimiques et biologiques spécifiques très intéressantes. Ce qui aura pour conséquence d'encourager et intensifier ce type de céréaliculture afin d'assurer un développement socioéconomique de ces régions

Des stratégies à l'échelle locale et internationale doivent être lancées afin de préserver et valoriser les génotypes de sorgho locaux qui peuvent constituer des agroressources importantes pour la sécurité alimentaire en Afrique et en d'autres régions du monde.

# REFERENCES

## RÉFÉRENCES

- Abel-Aal, E.S., Hucl, P., Han, R.N. & Demeke, T. 2002. Physical and structural characteristics of flours and starches from waxy and non waxy wheat. *Cereal chemistry*, 79 (3): 458-464.
- Abdelrahman, A., Hosoney, R.C. & Varriano-Marston, E. 1983. Milling process to produce low-fat grits from pearl millet. *Cereal chemistry*, 60:189-191.
- Adewale, I.O., Agumanu, E.N. & Oti-Okoronwo, F.I. 2006. Comparative studies on  $\alpha$ -amylases from malted maize (*Zea mays*), millet (*Eleusine corana*) and sorghum (*Sorghum bicolor*). *Carbohydrate polymers*, 66 (1) : 71-74.
- AGPG, www. Agpb.fr, consulté en Septembre 2009.
- Banks, W. & Muir, D.D. 1980. Structure and chemistry of starch granule. In: The biochemistry of plants. A comprehensive treatise. (Vol. 3): Carbohydrates structure and function, p 321-417. Edited by Jack Preiss. Academic press Inc. New York.
- Bao, J. 2004. The functionality of rice starch. In: Starch in food. Structure, function and application, 258-289. Edited by Ann-Charlotte Eliasson. Woodhead Publishing.
- Barsby, T.L., Donald, A.M. & Fraz, P.J. 2001. Starch advances in structure and function. The royal society of chemistry, Cambridge, UK, 223 p.
- Baston, M. L., Ronalds, J.A, Wrigley, C.W. & Hubbard, L.J. 1993. Testing for sprout in malting barley using the Rapid Visco-Analyser. *Cereal chemistry*, 70 (3): 269-272.
- Beleia, A., Varriano-Marston, E. & Hosoney, C. 1980. Characterization of starch from pearl millets. *Cereal chemistry*, 57 (5): 300-303.
- Belton, P.S. & Taylor, J.R.N. 2004. Sorghum and millets: protein sources for Africa. *Trends in food science and technology*, 15 (2): 94-98.
- BeMiller, J.N. & Whistler, R.L. 1996. Carbohydrates. Fennema, O.R. and Dekker, M. eds. Food Chemistry, New York. 991 p.
- BeMiller, J. & Whistler, R. 2009. Starch, Chemistry and Technology. 3<sup>rd</sup> edition, Food science and technology international series, USA. 900 p.
- Benmoussa, M., Suhendra, B., Aboubacar, A. & Hamaker, B.R. 2006. Distinctive sorghum starch granule morphologies appear to improve raw starch digestibility. *Starch/ Stärke*, 58: 92-99.
- Beta, T. & Corke, H. 2001. Genetic and environmental variation in sorghum starch properties. *Journal of cereal science*, 34:261-268.
- Beta, T., Corke, H., Rooney, L. & Taylor, J.R.N. 2000. Starch properties as affected by sorghum grain chemistry. *Journal of the science of food and agriculture*, 81: 245-251.
- Beta, T., Corke, H. & Taylor, J.R.N. 2000. Starch properties of Barbard red, a South Africa red sorghum variety of significant in traditional African brewing. *Starch/Stärke*, 52 : 467-470.
- Bezançon, G. & Pharm, J.L. 2004. Ressources génétiques des mils en Afrique de l'Ouest. Diversité, conservation et valorisation. IRD collection de colloques et séminaires. Paris, 192 p.
- Bezançon, G. 2005. Evolution et dynamique de la diversité des mils au Niger: Influence des facteurs naturels et anthropiques. [www.ird.ne/presentation\\_gille\\_bezancon\\_fichiers](http://www.ird.ne/presentation_gille_bezancon_fichiers). consulté en Mai 2006.

- Bhattacharya, M. & Corke, H. 1996. Selection of desirable starch pasting properties in wheat for use in white salted or yellow alkaline noodles. *Cereal chemistry*, 73 (6): 721-728.
- Boudries, N., Belhaneche, N., Nadjemi, B., Deroanne, C., Mathlouthi, M., Roger, B. & Sindic, M. 2009. Physicochemical and functional properties of starches from sorghum cultivated in the Sahara of Algeria. *Carbohydrate polymers*, 78, 3: 475-480.
- Brunken, J. 1977. A systematic study of *Pennisetum* sect. *Pennisetum* (Graminea). *American Journal of botany*, 64: 161-176.
- Brunken, J., de Wet, J.M.J. & Harlan, J.R. 1977. The morphology and domestication of pearl millet. *Economic botany*, 31 : 163-174.
- Buléon, A., Colonna, P. & Leloup, V. 1990. Les amidons et leurs dérivés dans les industries des céréales. Industries alimentaires et agricoles: Juin : 515-531.
- CEA. 1985. Précis technique sur les farines composées. Commission économique pour l'Afrique des Nations Unies. Adis Abeba. Imprimé par PUDOC. Wageningen Pays-Bas.
- Cerighelli, R. 1955. Cultures tropicales. I- Plantes vivrières. Edition librairie J.-B. Baillière et fils, Paris, 635 p.
- Colonna, P., & Mercier, C. 1984. Macromolecular structure of wrinkled and smooth pea starch components. *Carbohydrate research*, 126: 233-247.
- Chakraborty, M., Matkovic, K., Grier, D.G., Jarabek, E.L., Berzonsky, W.A., McMullen, M.S. & Doehlert, D.C. 2004. Physico-chemical and functional properties of tetraploid and hexaploid waxy wheat starch. *Starch/ Stärke*, 56: 339-347.
- Chanapamokkhot, H. & Thongngam, M. 2007. The chemical and physico-chemical properties of sorghum starch and flour. *Kasetsart Journal (Nature. Science)* 41: 343-349
- Changa, M.Y. & Juang, R.S. 2005. Activities, stabilities, and reaction kinetics of three free and chitosan-clay composite immobilized enzymes. *Enzyme and microbial technology*, 36: 75-82.
- Choi H., Kim, W. & Shin, M. 2004. Properties of Korean Amaranth starch compared to waxy millet and waxy sorghum starches. *Starch/ Stärke*, 56: 469-477
- Dailey, O.D., Dowd, M.K. & Mayorga, J.C. 2000. Influence of lactic acid on the solubilization of protein during corn steeping. *Journal of agricultural chemistry*, 48: 1352-1357.
- Duprat, F., Allant, D., Guilbot, A., Mercier, C. & Robin, J.A. 1980. L'amidon. In: Les polymères végétaux. Edition Gauthier-Villard, Bordas, Paris.
- Ellis, R. P., Cochrane, M.P., Dale, M.F., Duffus, C.M, Lynn, A., Morrison, I.M., Prentice, R.D.M., Swanston, J.S. & Tiller, S.A. 1998. Starch Production and industrial use. *Journal of science and food agriculture*: 289-311.
- FAO. 1979. Nutrition humaine en Afrique tropicale. Manuel pour le personnel de santé. <http://www.fao.org/docrep/X0081F/X0081F0h.htm>. consulté en Septembre 2009.
- FAO. 1995. Le sorgho et les mils dans la nutrition humaine, [http://www.fao.org/documents/show\\_cdr.asp?url\\_file=/docrep/T0818F/T0818F03.htm](http://www.fao.org/documents/show_cdr.asp?url_file=/docrep/T0818F/T0818F03.htm) consulté en Juin 2005.
- FAO & ICRISAT. 1997. L'économie Mondiale du Sorgho et du Mil: Faits, tendances et perspectives. <<http://www.fao.org/docrep/W1808F/W1808F00.htm>> consulté en Juin 2005.
- Fujii, M. & Kawamura, Y. 1985. Synergistic action of  $\alpha$ -amylase and glucoamylase on hydrolysis. *Starch. Biotechnology and Bioengineering*, 27: 260-265.

- Gast, M. & Adrian, J. 1965. Mils et sorgho en Ahaggar. Etude ethnologique et nutritionnelle. Edition Art et Métiers graphiques, Paris. 78 p.
- Gordon, B. & William, C. 1991. Les industries de premières transformations des céréales. Edition Lavoisier- APRIA. Paris. 679 p.
- Gorinstein, S. 1993. Kinetic studies during enzyme hydrolysis of potato and cassava starches. *Starch/ Stärke*, 45, 3: 91-95.
- Gracheva, Y., Mosyvech, M. C, Boruscenko, E.G., Bogatkov, C. B. & Guernet, M. V. 1982. Travaux pratiques de technologie des enzymes. Industrie légère et alimentaire. 240 p. (version en langue russe).
- Hamaker, B. 2005. Annual reports. Purdue University's Whistler Center for Carbohydrate Research(WCCR).USA  
<[http://www.whistlercenter.purdue.edu/annual\\_reports.htm](http://www.whistlercenter.purdue.edu/annual_reports.htm)> consulté en Avril 2006
- Harlan, J.R. & de Wet, J.M. 1972. A simplified classification of cultivated sorghum. *Crop Science*, 12: 172- 176.
- Haros, M., Pérez, O.E. & Rosell, C.M. 2004. Effect of steeping corn with lactic acid on starch properties. *Cereal chemistry*, 37: 101-109.
- Hasirci, N., Aksoy, S.& Tunturk, H. 2006. Activation of poly(dimer acid-co-alkyl polyamine) particles for covalent immobilization of  $\alpha$ -amylase. *Reactive and functional polymers*, 66: 1546-1551.
- Henrissat, B. 1991. A classification of glycosyl hydrolases based on amino acid sequence similarities. *Biochemistry Journal*, 280: 309-324.
- Hil, R. D. & McGregory, A.W. 1988. In: Y. Pomeranz. Advances in cereal science and technology. Vol. 9, 217-261. Minnesota, USA, AACC.
- Hoseney, R. C. 1986. Principles of cereal science and technology. A general reference on cereal foods. Minnesota, USA, AACC, 327p.
- House, L. R. 1995. Sorghum and millets: History, Taxonomy and Distribution. In: D.D.A.V, ed. Sorghum and millets chemistry and technology, Minnesota, USA, AACC: 1-9.
- House, L.R., Osmanzai, M., Gomez, M.I., Monyo, E.S. & Gupta, S.C. 1995. Agronomic principles. In D. D.A.V. ed. Sorghum and millets chemistry and technology. AACC, Minnesota, USA: 27-64.
- IBPGR & ICRISAT, 1993. Descriptors for SORGHUM, [*Sorghum bicolor* (L.) Moench], Patancheru, Inde.
- IBPGR & ICRISAT, 1993. Descriptors for PEARL MILLET, [*Pennisetum glaucum* (L.) R. Br.], Patancheru, Inde.
- Jain, R. K., Bal, S. 1997. Properties of pearl millet. *Journal of agricultural engineering research*, 66: 85-91.
- Jane, J.L., Shen, L., Wang, L. & Maningat, C.C. 1992. Preparation and properties of small-particles corn starch. *Cereal chemistry*, 69. (3): 280-283.
- Jane, J.L., & Chen, J.J. 1993. Internal structure of the potato starch granule revealed by chemical gelatinisation. *Carbohydrate Research*, 247: 279-290.
- Jenkins, P. J. & Donald, A.M. 1995. The influence of amylose on starch granule structure. *International journal of biochemical macromolecules*, 17: 315-321.
- Jobling, S. 2004. Improving starch for food and industrial application. *Current opinion in plant biology*, 7: 210-218.

- Jones, D. B. 1931. Factors for converting percentages of nitrogen in foods and feeds into percentages of protein. USDA Circ. N° 183: 1-21.
- Kara, A., Osman, B., Handan, Y., Avuz, H., Besirli, N., Denizl, A. 2005. Immobilization of  $\alpha$ -amylase on  $\text{Cu}^{2+}$  chelated poly(ethylene glycol dimethacrylate-*n*-vinyl imidazole) matrix via adsorption. *Reactive and functional polymers*, 62: 61-68.
- Karakatsanis, A., Liakoupoulou-Kiriakide, M. & Thessaloniki, M. 1998. Comparative study of hydrolysis of various starches by  $\alpha$ -amylase and glucoamylase in PEG-dextran and PEG-Substrate aqueous two phase systems. *Starch/Stärke*, 8: 349-353.
- Klopfenstein, C.F. & Hosney, R.C. 1995. Nutritional properties of sorghum and millets. In: D.D.A.V. Sorghum and millets chemistry and technology. Ed AACC, Minnesota USA: 125-157.
- Kitamura, S., Yoneda, S. & Kuge, T. 1984. Study of retrogradation of starch. I- Particles size and its distribution of amylase retrograded from aqueous solutions. *Carbohydrate polymers*, 4: 127-136.
- Köksel, H., Sahbaz, F. & Özboy, Ö. 1993. Influence of wheat-drying temperatures on the birefringence and X-ray diffraction patterns of wet-harvested wheat starch. *Cereal Chemistry*, 70 (4): 481-483.
- Konsula, Z. & Liakopoulou-Kyriakides, M. 2004. Hydrolysis of starches by the action of an  $\alpha$ -amylase from *Bacillus subtilis*. *Process biochemistry*, 39, 11, 1745-1749.
- Kumar, R.S.S., Vishwanath, K.S., Singh, S.A. & Rao, A.G.A. 2006. Entrapment of  $\alpha$ -amylase in alginate beads: Single step protocol for purification and thermal stabilization. *Process Biochemistry*, 41: 2282-2288.
- Kuriki, T. & Imanaka, T. 1999. The concept of  $\alpha$ -amylase family: Structural similarity and common catalytic mechanism. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 87: 557-565.
- Lee, W.J., Pedersen, J.F. & Shelton, D.R. 2002. Relationship of sorghum kernel size to physicochemical, milling, pasting and cooking properties. *Food research international*, 35: 643-649.
- Lestienne, I., Buisson, M., Lullien-Pellerin, V., Picq, C. & Trèche, S. 2006. Losses of anti-nutritional factors during abrasive decortications of two pearl millet cultivars (*Pennisetum glaucum*). *Food chemistry*, 100 (4): 1316-1323.
- Lindeboom, N., Chang, P.R., Tyler, R.T. 2004. Analytical, biochemical and physicochemical aspects of starch granule size, with emphasis on small granule starches. A review. *Starch/ Stärke*, 56: 89-99.
- Lowry, O.H., Rosebrough, Nira, J., Farr, Lewis, A. & Randal Rose, J. 1951. Protein measurement with the folin phenol reagent. *Journal of biological chemistry*.
- Lumdubwong, N. & Seib, P.A. 2000. Rice starch isolation by alkaline protease digestion of wet-milled rice flour. *Journal of cereal science*, 31: 63-74.
- Lurgi, AG company. 2004. Starch saccharification technology. <[www.lurgi-lifescience.com](http://www.lurgi-lifescience.com)> consulté en Janvier 2005.
- MacAllister, R.V. 1997. Nutritive sweeteners made from starch. *Advances in carbohydrate chemistry and biochemistry*, 36: 15-17.
- Marc, J.E.C., Maarel, V., Van der Veen, B., Uitdehaag, J.C.M., Leemhuis, H. & Dijkhuizen, L. 2002. Properties and applications of starch-converting enzymes of the  $\alpha$ -amylase family. Review article. *Journal of Biotechnology*, 94: 137-155.

- Massaux, C., Sindic, M. Lenartz, J. Sinnaeve, G. Bodson, B., Falisse, A. Dardenne, P. & Deroanne C. 2008. Variation in physicochemical and functional properties of starches from European soft wheat (*Triticum aestivum* L.): The importance to preserve the varietal identity. *Carbohydrate polymers*, 71, 32-41.
- Matsuki J., Yasui, T., Kohyama, K. & Sasaki, T. 2003. Effects of environmental temperature on structure and gelatinisation properties of wheat starch. *Cereal Chemistry*, 80(4): 476-480.
- Medcalf, D. & Gilles, K. 1965. Detremation of starch damaged by rate of iodine absorption. *Cereal chemistry*, 42.
- Mehdi, Y. 2000. Etude préliminaire d'un sol agricole dans la région de Tidikelt (In Salah) pour amendement physico-chimique (phosphogypse et gypse). Congrès scientifique arabe, El Oued, Algérie
- Mercier, C. 1982. L'amidon et les enzymes en sucrochimie. Industries alimentaires et agricoles, 99: 787-796.
- Miles, M.J., Morris, V.J. & Orford, P.D. 1985. The roles of amylose and amylopectin in the gelation and retrogradation of starch. *Carbohydrate research*, 135: 271-281.
- Mohsenin, N.N. 1986. Physical properties of plant and animal materials. 1st Edn., Gordon and Breach Science Publishers, New York, ISBN-10: 0677213700
- Moorthy, S.N. 2002. Physico-chemical and functional properties of tropical tuber starch: A review. *Starch/ Stärke*, 54: 559-592.
- Morrison, W.R., & Laignelet, B. 1983. An improved colorimetric procedure for determining apparent and total amylose in cereal and other starches. *Journal of cereal science* 1: 9-20.
- Multon, J.L. 1991. Techniques d'analyse et de contrôle dans les industries agro-alimentaires. Vol. 4: Analyse des constituants alimentaires. Lavoisier. APRIA, Paris, 450 p.
- Muralikrishna, G., Nirmala, M. & Muralikrishna, G. 2005. Cereal  $\alpha$ -amylases, an overview. *Carbohydrate Polymers*, 60: 163-173.
- Mwithiga, G. & Sifuna, M. M. 2006. Effect of moisture content on the physical properties of three varieties of sorghum seeds. *Journal of food engineering*, 75. (4): 480-486.
- Nirmala, M., Subba Rao, M.V.S.S.T. & Muralikrishna, G. 2000. Carbohydrates and their degrading enzymes from native and malted finger millet (Ragi, *Eleusine coracana*, Indaf-15). *Food chemistry*, 69: 175-180.
- Pandey, A., Nigam, P., Soccol, C. R., Soccol, V.Y., Singh, D. & Mohan, R. 2000. Advances in microbial amylases. *Biotechnological. Applied Biochemistry*, 31: 135-152.
- Park, J.T. & Rollings, J.E. 1994. Effects of branching characteristics on kinetics of enzymatic depolymerization of mixed linear and branched polysaccharides: I. Amylose/Amylopectin by  $\alpha$ -amylase. *Biotechnology and bioengineering*, 44: 792-800.
- Pérez Sira, E. & Amaiz, M. L. 2004. A laboratory scale method for isolation of starch from pigmented sorghum, *Journal of food engineering*, 64: 515-519.
- Pernes, J. 1984. Gestion des ressources génétiques des plantes. Technique et documentation, Lavoisier, Tome 1. Paris, 211p.
- Petersen, N.B. 1975. Edible starches and starch-derived syrups. Noyes Data Corporation, New Jersey, 418 p.
- Preiss, J. 2000. Plant starch synthesis. In: starch in food. Structure, function and application. Edited by Ann-Charlotte Eliason CRC, Press WP. Cambridge, England, 605p.

- Quezel, P. & Santa, S. 1962. La nouvelle flore l'Algérie et des régions désertiques méridionales. Tome 1, CNRS, Paris, 565p.
- Radley, J. A. 1968. Starch and its derivatives. Chapman et Hall 4<sup>ème</sup> édition, 527 p.
- Radley, J.A. 1974. Examination and analysis of starch and starch product. LTD, London, 211p.
- Radosta, S., Kettlitz, B., Schierbaum, F., Rehbrucke, B. & Gernat, C. 1991. Studies on rye starch properties and modification, Part II: swelling and solubility behaviour of rye starch granules. *Starch/stake*, 43: 331-339.
- Rhymer, C., Ams, N., Malcolmson, L., Brown D. & Duguid, S. 2005. Effect of genotype and environment on the starch properties and end-product quality of oats. *Cereal chemistry*, 82 (2) : 197-203
- Robin, J.P. 1976. Comportement du grain d'amidon à l'hydrolyse acide ménagée. Etude physico-chimique et enzymatique de la fraction insoluble. Thèse de doctorat. Université de Pierre et Marie Curie. Paris, 159 p.
- Robyt, J.F. 1990. Biochemical techniques: Theory and practice. Waveland press Inc. London: 213-109.
- Robyt, J.F. 1998. Le marché boude les amidons tropicaux. Agriculture 21. <<http://www.fao.org/ag/fr/magazine/9809/spot3.htm>> consulté en Janvier 2006.
- Rohrbach, D.D. 2003. Improving the commercial viability of sorghum and pearl millet in Africa. <<http://www.afripro.org.uk/papers/Paper22Rohrbach.pdf>> consulté en Mai 2006
- Rooney, L.W. 1978. Sorghum and pearl millet lipids. *Cereal chemistry*, 55: 584-590.
- Roudot, A.C. 2002. Rhéologie et analyse de texture des aliments. Paris, 199 p.
- Rousseau, B. 1999. Contribution à l'étude de la cinétique enzymatique de l'hydrolyse de l'amidon en milieu complexe. Thèse de doctorat, Université de Reims Champagne-Ardenne, France, 194 p.
- Salo-Väänänen, P. P. & Koivistoinen, P. E. 1996. Determination of protein in foods: comparaison of net protein and crude protein (Nx6.25) value. *Food Chemistry*, 57, 1: 27-31.
- Santacruz, S., Andersson, R., Åman, P. 2005. Characterization of potato leaf starch with iodine-staining. *Carbohydrate Polymers*, 59: 397-400.
- Satin, M. 2002. Starch as functional food. Report of business briefing: innovative food ingredients.
- Serna-Sadiviar, S., & Rooney, L.W. 1995. Structure and chemistry of sorghum and millets. In: Sorghum and millets chemistry and technology. D.D.A.V, ed AACC, Minnesota USA: 69-108.
- Shin, S.I., Choi, H.J., Chung, K.M., Hamaker, B.R., Park, K.H. & Moon, T.W. 2004. Slowly digestible starch debranched waxy sorghum starch preparation and properties. *Cereal Chemistry*, 8(3): 404-408.
- Singh, H., Sodhi, N.S. & Singh, N. 2009. Characterization of starches separated from sorghum cultivars grown in India. *Food Chemistry*, doi: 10.1016/j.foodchem.2009.05.086.

- Shimelis, E., Meaza, M. & Rakshit, S. 2006. Physico-chemical properties, pasting behaviour and functional characteristics of flours and starches from improved bean (*Phaseolus vulgaris L.*) varieties grown in East Africa. *Agricultural engineering international: the CIGR Ejournal*. Vol VIII.
- Shobana, S. & Malleshi, N.G. 2006. Preparation and functional properties of decorticated finger millet (*Eleusine coracana*). *Journal of food engineering*, 79 (2), 529-538.
- Shujun, W., Jinglin, Y., Jiugao, Y., Xiaxia, C., Jiping, P. & Hongyan, L. 2008. Partial characterization of starches from *Dioscorea* opposite Thunb cultivars. *Journal of food engineering*, 88: 287-293.
- Sigma method. 1997. Enzymatic Assay of  $\alpha$ -Amylase (EC 3.2.1.1), 1-4
- Sims, K. A. & Munir Cheryan, M. 1992. Continuous production of glucose Syrup in an ultrafiltration reactor. *Journal of Food Science*, 57: 163-166.
- Soest, P.J.V., Robertson, J.B. & Lewis, B.A. 1991. Symposium: carbohydrate methodology, metabolism, and nutritional implication in dairy cattle. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. *Journal of dairy science*, 74: 3583-3597.
- Southgate, D.A.T. 1976. Determination of food carbohydrates. Applied science, LTD, London. 178 p.
- Srichuwong, S., Sunarti, T.C., Mishima, T., Isono, N., Hisamatsu, M. 2005. Starches from different botanical sources II: Contribution of starch structure to swelling and pasting properties. *Carbohydrate polymers*, 62: 25-34.
- Subramanian, V. & Hosney, R. C. 1995. Shear thinning properties of sorghum starch. *Cereal chemistry*, 72: 7-10.
- Tang, H., Mitsunaga, T. & Kawamura, Y. 2004. Relationship between functionality and structure in barley starches. *Carbohydrate polymers*, 57: 145-152.
- Taylor, J.R.N. 2003. Overview: importance of sorghum in Africa <<http://www.afripro.org.uk/papers/Paper01Taylor.pdf>> consulté en Mai 2006
- Tester, R.F. & Morrison, W.R. 1990. Swelling and gelatinization of cereal starches. I. Effects of amylopectin, amylose and lipids. *Cereal chemistry*, 67: 551-557.
- Uriyapongson, J. & Rayas-Duarte, P. 1994. Comparison of yield and properties of amaranth starches using wet and dry-wet milling processes. *Cereal chemistry*, 71: 571-577.
- Vansteelandt, J. & Delcour, J.A. 1999. Characterization of starch from durum wheat (*Triticum durum*). *Starch/Strärke*, 51. (2-3). S: 73-80
- Verwin, T., Vandeputte, G. E., Marrant, K. & Delcour, J.A. 2004. Isolation and characterization of rye starch. *Journal of cereal science*, 39: 85-90.
- Wall, J. S. & Ross, W M. 1970. Sorghum production and utilization. Major feed and food crops in agriculture and food series. The AVI Publishing Company, INC, Westport Connecticut, USA.
- Wambugu, S.M., Taylor, J.R.N. & Dewar, J. 2006. Effect of addition of malted and fermented sorghum flours on the proximate composition, viscosity, pH and consumer acceptability of extruded sorghum weaning porridges. *International Journal for Food Chemistry, Biochemistry, Microbiology, Technology and Engineering*. (in press)
- Wang, F.C., Chung, D.S., Seib, P.A. & Kim, Y.S. 2000. Optimum steeping process for wet milling of sorghum. *Cereal chemistry*, 77: 478-483.
- Whistler, R. & Paschall, E.F. 1965. Starch: chemistry and technology. Vol. I. Academic press, New York and London.

- Wong, J. H., Lau, T., Cai, N., Singh, J., Pedersen, J.F., Vensel, W.H., Hurkman, W.J., Wilson, J.D., Lemaux, P.G. & Buchanan, B.B. 2009. Digestibility of protein and starch from sorghum (*Sorghum bicolor*) is linked to biochemical and structural features of grain endosperm. *Journal of Cereal Science*, 49: 73-82.
- Wrigley, C., Corke, H. & Walker, C.E. 2004. Encyclopedia of grain science. Vol. 3. Elsevier Academic Press, 1<sup>ère</sup> édition.
- Xie, J. & Seib, P.A. 2002. Laboratory wet-milling of grain sorghum with abbreviated steeping to give two products. *Starch/Strärke*, 54: 169-178.
- Yong, P. & Seib, P.A. 1995. Low-input wet milling of grain sorghum for readily accessible starch and animal feed. *Cereal chemistry*, 72: 498-503.
- Yong, P., Haken, A.E., Niu, Y., Chaney, S.R., Hicks, K.B., Eckhoff, S.R., Tumbleson, M.E. & Sing, V. 2005. Effect of steeping with sulfite salts and adjunction acid on corn wet-milling yield and starch properties. *Cereal chemistry*, 82: 420-424.
- Zaho, J. & Whistler, R.L. 1994. Isolation and characterization of starch from amaranth flour. *Cereal chemistry*, 71: 392-393.

**Les sites Web consultés.**

[www.lurgi-lifescience.com](http://www.lurgi-lifescience.com)

[www.fao.org](http://www.fao.org)

[www.intsormil.org](http://www.intsormil.org)

[www.ird.ne](http://www.ird.ne)

[www.whistlercenter.purdue.edu](http://www.whistlercenter.purdue.edu)

[www.cirad.org](http://www.cirad.org)

# ANNEXES

## ANNEXE 1 : RAPPELS SUR LA CINÉTIQUE ENZYMATIQUE

### 1.1 Cinétique enzymatique

Comme dans tout procédé catalytique, il est important, avant d'utiliser une enzyme d'en connaître le comportement cinétique. L'approche cinétique de l'étude de l'hydrolyse permet donc de mieux comprendre les interactions enzyme-substrat (amidon) dans des conditions spécifiques et le mode d'action.

#### 1.1.1 Modèle de base de la cinétique enzymatique

En 1902, Victor Henri et Adrian Brown suggèrent indépendamment que dans la réaction enzymatique, l'hypothèse de la formation d'un complexe enzyme-substrat était nécessaire pour interpréter la forme hyperbolique des courbes de vitesses initiales en fonction de la concentration initiale de substrat.

##### 1.1.1.1 Modèle de Michaelis-Menten

En 1913, suite aux travaux de Victor Henri, Maud Menten et Leonor Michaëlis résolurent le système réactionnel en posant les hypothèses simplificatrices suivantes :

- 1) concentrations de produit très faibles
- 2) concentration totale du substrat est grande devant celle de l'enzyme.
- 3) dès l'addition de l'enzyme dans la solution du substrat, il s'établit un équilibre rapide entre les formes libres de l'enzyme, du substrat et du complexe.



$$v = V_{\max} [S]_0 / (K_S + [S]_0) \quad \text{Equation de Michaëlis- Menten}$$

Avec :  $K_S = K_{-1} / K_1$

##### 1.1.1.2 Modèle de Briggs-Haldane

En 1925, George Briggs et John Haldane ont montré que l'on obtenait une équation similaire à celle de Michaëlis-Menten avec des hypothèses moins restrictives : il n'est pas nécessaire de poser l'hypothèse (3). Le système réactionnel est considéré dans un état stationnaire (ou quasi-stationnaire).

$$v = V_{\max} [S]_0 / (K_M + [S]_0) \quad \text{Equation de Briggs-Haldane}$$

Avec:  $K_M = (K_{-1} + K_2) / K_1$

Cette équation de Briggs-Haldane est traditionnellement appelée Equation de Michaëlis- Menten. La constante  $K_M$  est appelée constante de Michaëlis. Pour  $K_2$  est petit devant  $K_{-1}$ , l'équation de Briggs-Haldane est identique à celle de Michaëlis- Menten.

### **1.1.2 Constantes cinétiques**

#### **1.1.2.1 Vitesse maximale**

La vitesse maximale initiale est atteinte pour la concentration d'enzyme  $[E]_0$  et pour une concentration de substrat très grande de  $[S]_0$  devant  $K_M$ .

#### **1.1.2.2 Constante de Michaëlis**

La constante de Michaëlis  $K_M$  traduit l'affinité du substrat pour l'enzyme. L'affinité du substrat pour l'enzyme est d'autant plus grande que la valeur de la constante de Michaëlis est petite. Lorsque  $[S]_0 = K_M$ , la vitesse initiale s'écrit :  $v = V_M/2$ . Elle est définie donc comme étant la concentration en substrat pour laquelle la vitesse initiale mesurée est égale à la moitié de la vitesse initiale maximale,  $V_{max}$

#### **1.1.2.3 Constante catalytique**

$K_{cat}$  (ou  $K_2$ ) représente la fréquence à laquelle l'enzyme accomplit l'acte catalytique lorsque l'enzyme est saturé en substrat  $K_{cat} = V_M/[E]_0$ . Elle est définie comme étant le nombre de molécules de substrats convertis en produits par unité de temps par chaque site actif quand l'enzyme est saturée. Elle est exprimée par l'équation suivante :  $K_{cat} = V_{max}/[E]_T$  où  $[E]_T$  est la concentration totale de l'enzyme.

Dans les réactions possédant un mécanisme de type Michaëlis-Menten,  $1/K_{cat}$  est la durée d'un cycle catalytique lorsque l'enzyme est saturé en substrat. Il donne le temps requis pour convertir une molécule de substrat en produits

#### **1.1.2.4 Constante de spécificité ou rapport ( $K_{cat} / K_M$ )**

Une enzyme qui fixe bien un substrat ( $K_M$  faible) peut catalyser très lentement la réaction ( $k_{cat}$  faible). Inversement, une enzyme peut difficilement être saturée par le substrat ( $K_M$  élevé) mais dès que le complexe enzyme - substrat est formé, l'acte catalytique a toujours lieu ( $k_{cat}$  élevée).

On voit donc que l'un ou l'autre de ces deux paramètres ne permettent pas de caractériser une enzyme. Il faut à la fois une fixation facile et une catalyse rapide : c'est donc le rapport

$(k_{cat} / K_M)$  qui reflète l'efficacité d'une enzyme à catalyser une réaction.

On remarque que la valeur maximale du rapport  $(k_{cat} / K_M)$  :

$$\frac{k_{cat}}{K_M} = k_1 \left( \frac{k_{cat}}{k_{-1} + k_{cat}} \right)$$

est obtenue quand :

$$\frac{k_{cat}}{k_{-1} + k_{cat}} = 1$$

La limite du rapport  $(k_{cat} / K_M)$  est donc la constante de vitesse d'association enzyme - substrat,  $k_1$ .

Cette constante a elle-même pour limite la vitesse de diffusion des macromolécules dans le milieu réactionnel ( $10^8 - 10^9 \text{ M} \cdot \text{s}^{-1}$ ).

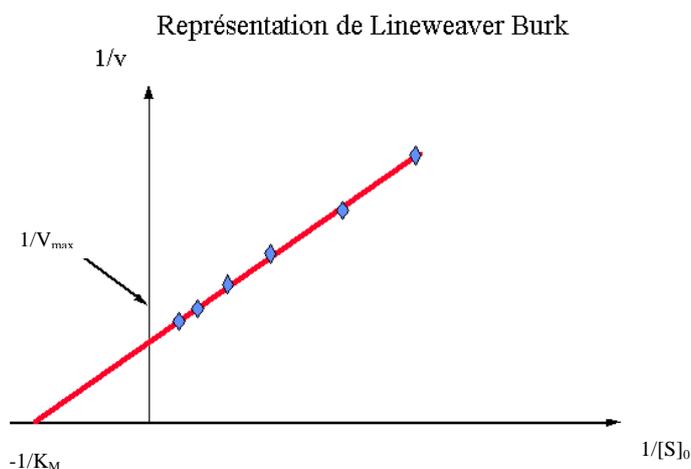
### 1.1.3 Détermination des constantes cinétiques

#### ➤ Représentation hyperbolique (Michaëlis- Menten)

A partir des résultats expérimentaux, les vitesses initiales sont déterminés pour chaque concentration totale de substrat  $[S]_0$ , pour une concentration donnée d'enzyme.  $v = f([S]_0)$  est une hyperbole. L'asymptote horizontale de l'hyperbole pour les grandes concentration de valeur de  $[S]_0$  permet d'avoir la valeur de  $V_M$  et la valeur de  $K_M$  qui est la valeur de  $[S]_0$  pour  $v = V_M/2$

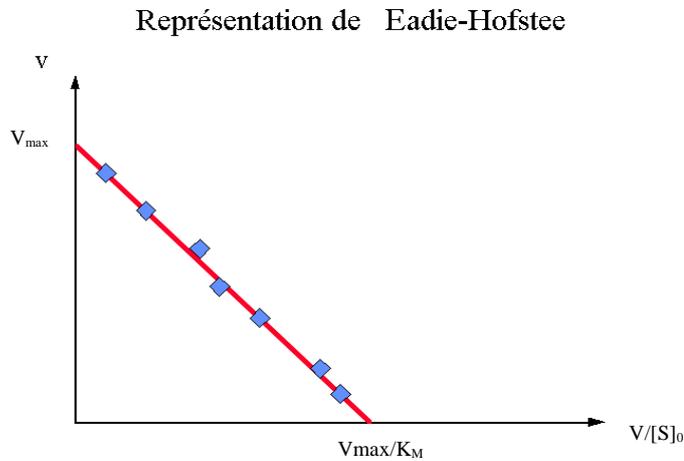
#### ➤ Représentation de Lineweaver-Burk

C'est la représentation la plus utilisée qui fût publiée en 1935 par Hans Lineweaver et Dean Burk :  $1/v = f(1/[S]_0)$ . Cette représentation est une droite qui coupe l'axe des  $1/v$  au point  $1/V_M$  et l'axe des  $1/[S]_0$  au point  $-1/K_M$ .



#### ➤ Représentation Eadie-Hofstee

Cette représentation fût publiée par George Eadie en 1942 et Baren Hofstee en 1959 :  $v = f(v/[S]_0)$ . Cette représentation est une droite de pente  $(-K_M)$  et qui coupe l'axe des  $v$  au point  $V_M$ .



➤ **Représentation de Hanes-Woolf**

Cette représentation fût publiée par Charles Hanes et Barnet Woolf en 1932 :

$[S]_0/v = f([S]_0)$ . Cette représentation est une droite de pente  $1/V_M$  et qui coupe l'axe des  $[S]_0$  au point  $(-K_M)$ .

➤ **Représentation Eisenthal et Cornish-Bowden**

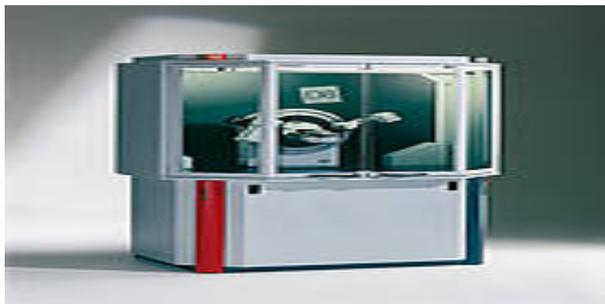
Cette représentation fût publiée par Robert Eisenthal et Athelstan Cornish-Bowden en 1974. Pour chaque couple de vitesse initiale de substrat  $(v_j, [S]_{0,j})$ , la droite, définie par le couple  $(j)$  de point  $[(-[S]_{0,j}, 0) : (0, v_j )$ , est tracée dans le repère cartésien  $(v, [S])$ . Les droites concourent dans un petit triangle dont le milieu des cotés détermine  $(K_M, V_M)$ .

**1.1.4 Constante catalytique**

C'est donc l'inverse d'un temps ou une fréquence : la fréquence à laquelle l'enzyme accomplit l'acte catalytique (ou "turn-over").

C'est la raison pour laquelle cette constante est appelée constante catalytique ou  $k_{cat}$ .

**ANNEXE 2 : APPAREILS UTILISES DANS LA CARACTERISATION DES AMIDONS**



**Figure 4. 1: Image du diffractomètre aux rayons X  
(Marque : Bruker AXS, Modèle : D8 Advance)**



**Figure 4. 2: Image du microscope électronique à balayage  
(Marque : FEI, Modèle : XL-30)**



**Figure 4 .3: Image de l'appareil de calorimétrie différentielle à balayage  
(Marque : TA Instrument, Modèle : TA2920 DSC)**

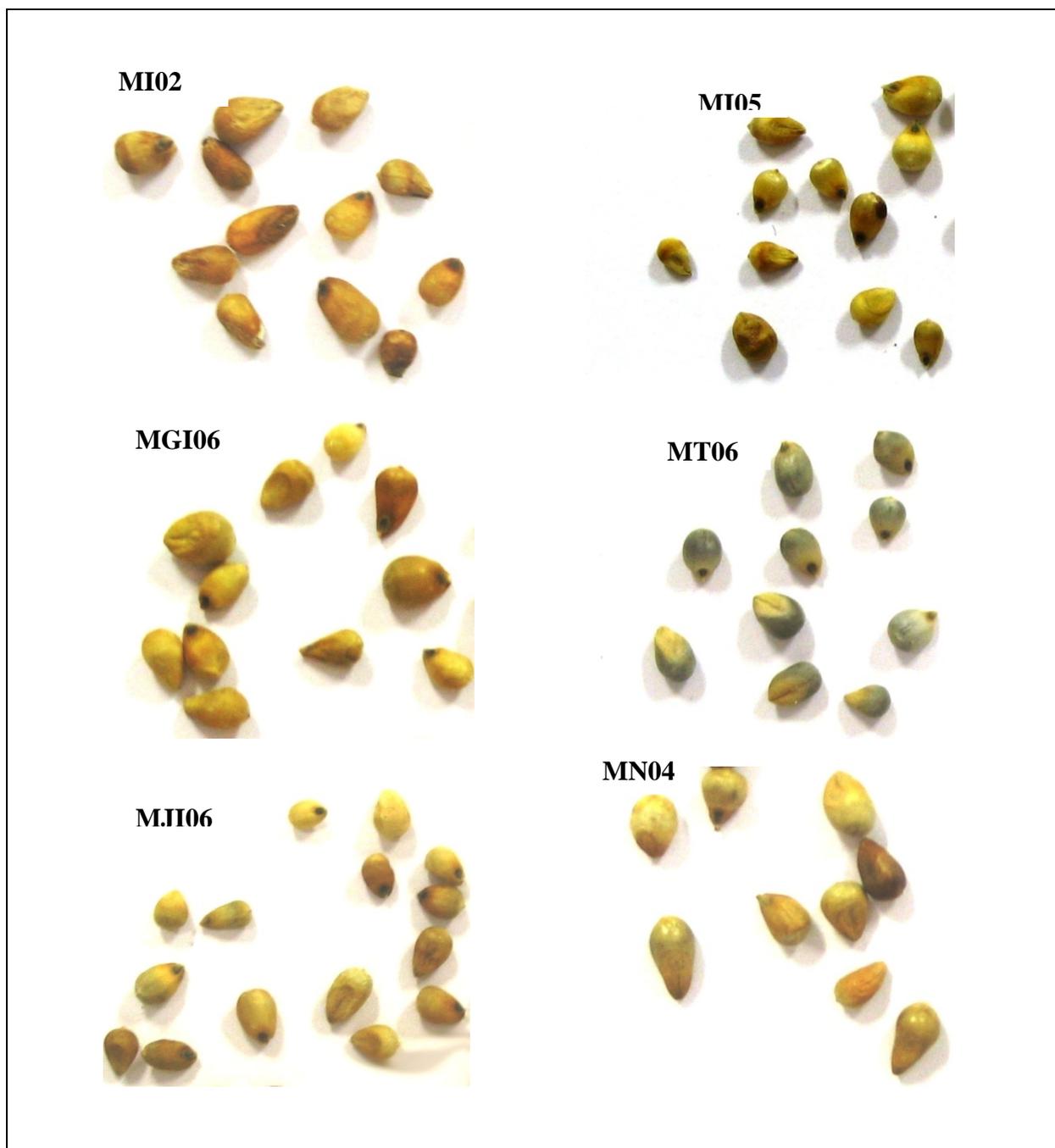
**ANNEXE 3 : SITES D'ÉCHANTILLONNAGE ET PHOTOGRAPHIES DES GRAINS DE CULTIVARS DE SORGHO ET DE MIL CHANDELLE SÉLECTIONNÉS**



**Figure 5.1: Sites de prospection et d'échantillonnage (★) des cultivars de sorgho et de mil chandelle**



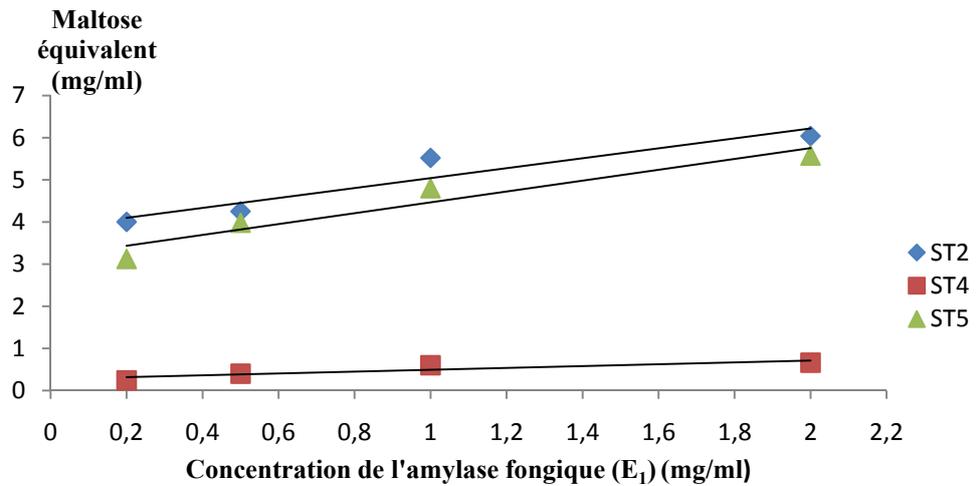
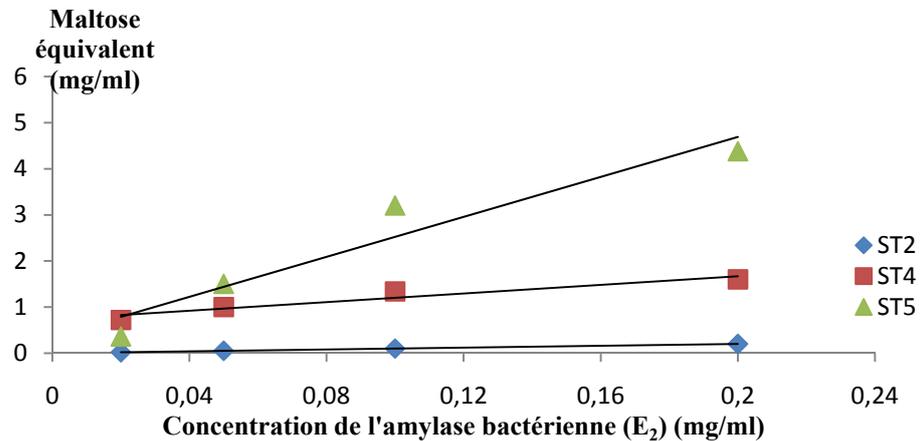
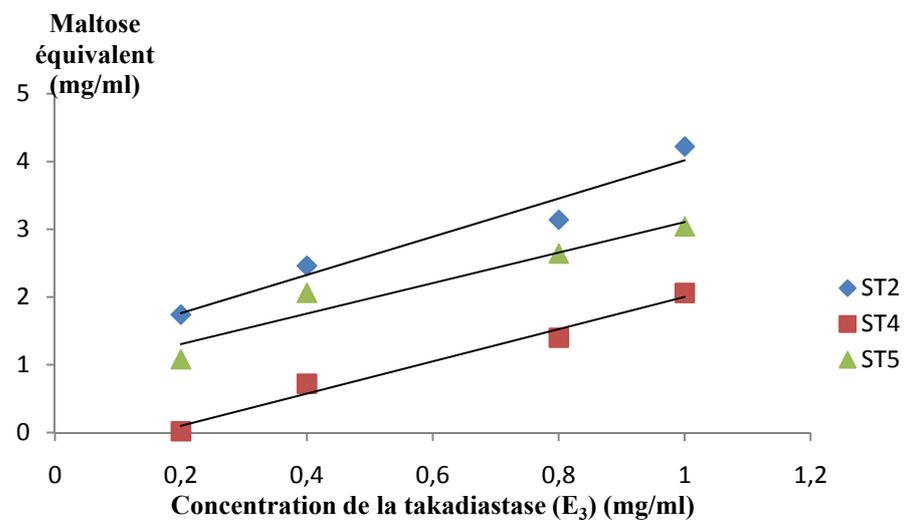
**Figure.5.17: Photographies des grains de sorgho des différents cultivars sélectionnés**



**Figure 5.18: Photographies des grains de mil chandelle des différents cultivars sélectionnés**

## ANNEXE 4 : REPRESENTATIONS GRAPHIQUES

## 4.1 Détermination graphique des domaines de linéarité de la concentration en maltose équivalent en fonction de la concentration initiale de l'enzyme

Figure 7.1 : Variation de la concentration en maltose équivalent en fonction de la concentration initiale de l' $\alpha$ -amylase fongique ( $E_1$ )Figure 7.2 : Variation de la concentration en maltose équivalent en fonction de la concentration initiale de l' $\alpha$ -amylase bactérienne ( $E_2$ )Figure 7.3 : Variation de la concentration en maltose équivalent en fonction de la concentration initiale de la Takadiastase ( $E_3$ )

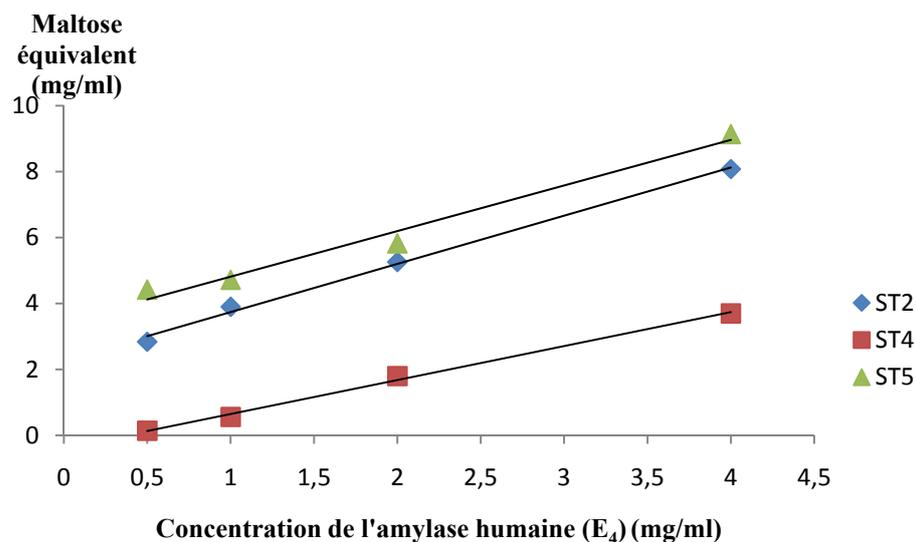


Figure 7.4 : Variation de la concentration en maltose équivalent en fonction de la concentration initiale de l' $\alpha$ -amylase salivaire ( $E_4$ )

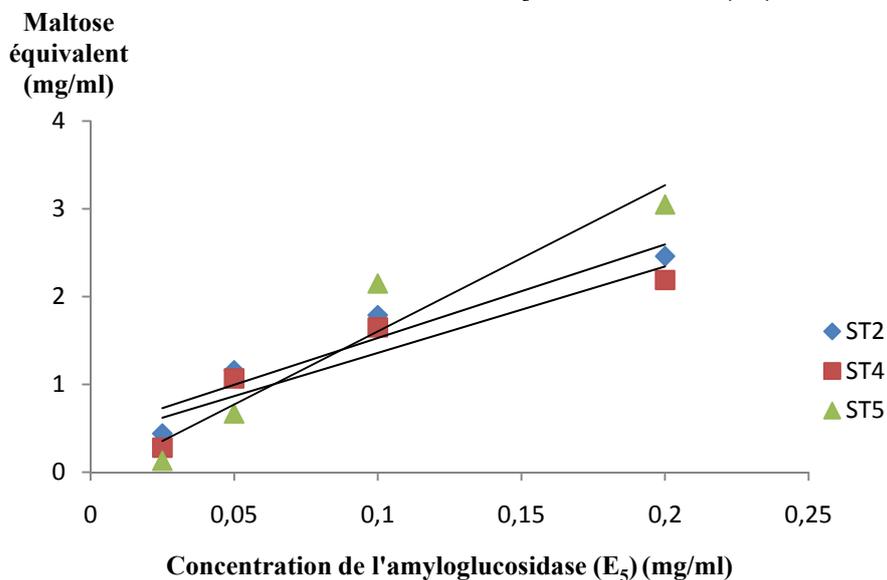


Figure 7.5 : Variation de la concentration en maltose équivalent en fonction de la concentration initiale de l'amyloglucosidase ( $E_5$ )

## 4.2 Représentations graphiques des courbes cinétiques et des transformées linéaires de Lineweaver-Burk et Eadie-Hofstee de la saccharification des amidons de sorgho, de mil chandelle et d'autres sources botaniques en présence des amylases

### 4.2.1 Représentations graphiques des courbes cinétiques et des transformées linéaires de Lineweaver-Burk et Eadie-Hofstee de la saccharification des amidons purs commerciaux en présence des amylases

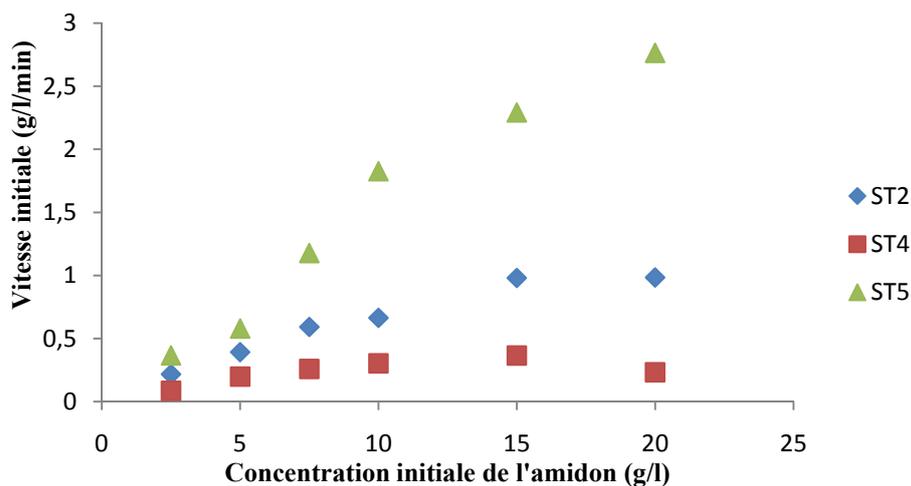


Figure 7.9 : Courbes cinétiques de saccharification enzymatique des amidons purs commerciaux en présence de l' $\alpha$ -amylase bactérienne ( $E_2$ )

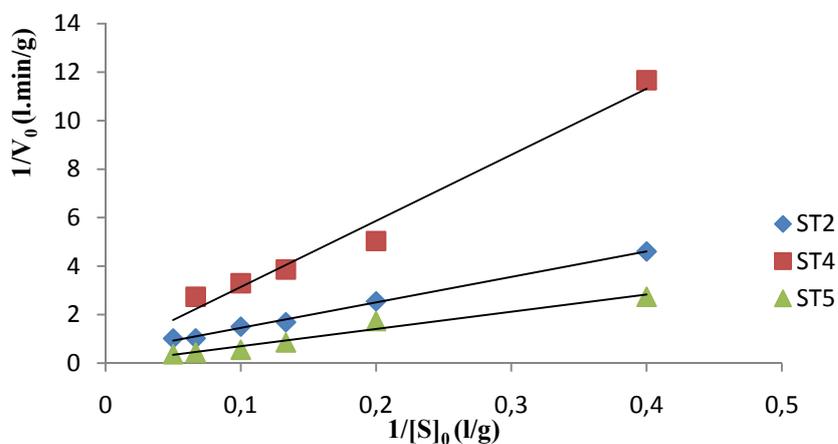


Figure 7.10 : Représentation de la transformée de Lineweaver-Burk pour les réactions de saccharification enzymatique des amidons purs commerciaux en présence de l' $\alpha$ -amylase bactérienne ( $E_2$ )

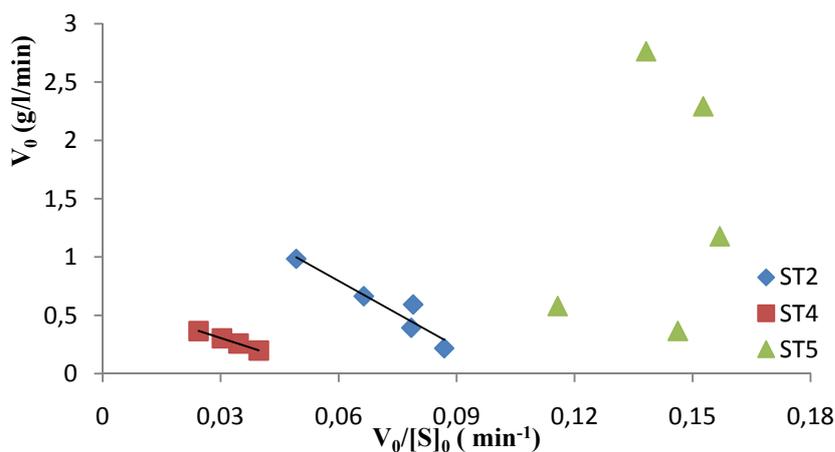


Figure 7.11 : Représentation de la transformée de Eadie-Hofstee pour les réactions de saccharification enzymatique des amidons purs commerciaux en présence de l' $\alpha$ -amylase bactérienne ( $E_2$ )

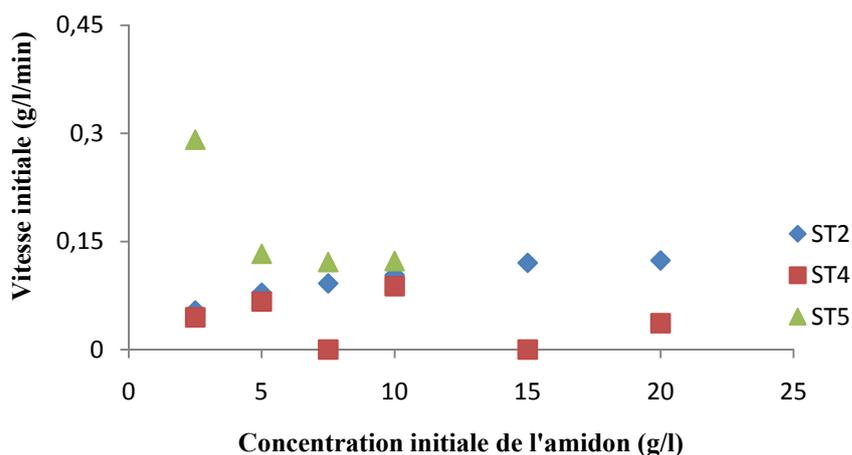


Figure 7.12 : Courbes cinétiques de saccharification enzymatique des amidons purs commerciaux en présence de l'amyloglucosidase (E<sub>5</sub>)

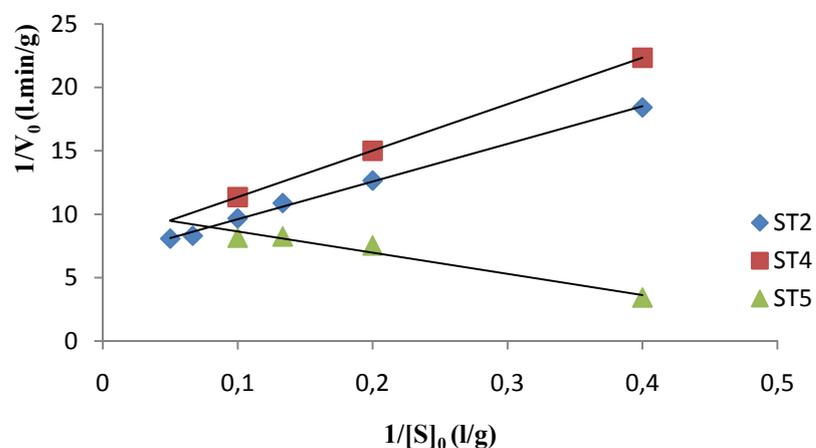


Figure 7.13 : Représentation de la transformée de Lineweaver-Burk pour les réactions de saccharification enzymatique des amidons purs commerciaux en présence de l'amyloglucosidase (E<sub>5</sub>)

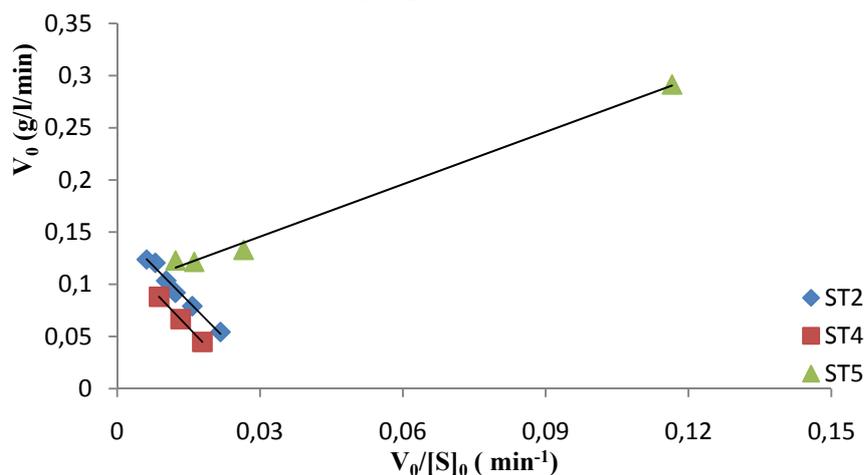


Figure 7.14 : Représentation de la transformée de Eadie-Hofstee pour les réactions de saccharification enzymatique des amidons purs commerciaux en présence de l'amyloglucosidase (E<sub>5</sub>)

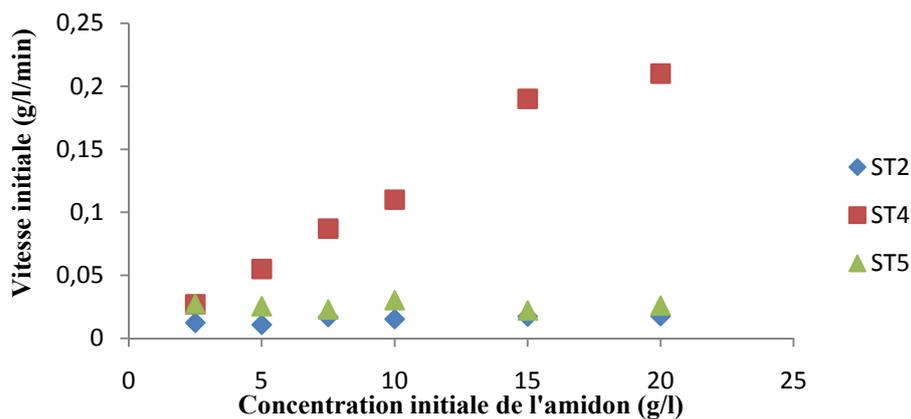


Figure 7.15 : Courbes cinétiques de saccharification enzymatique des amidons purs commerciaux en présence de l' $\alpha$ -amylase Termamyl L300 (E<sub>7</sub>)

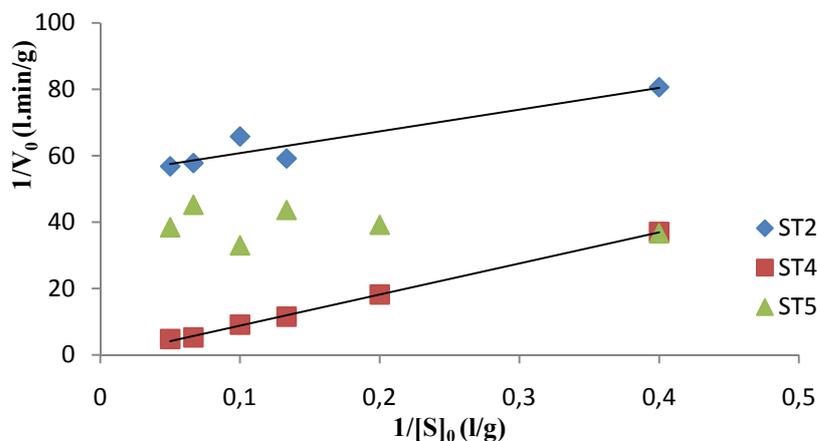


Figure 7.16 : Représentation de la transformée de Lineweaver-Burk pour les réactions de saccharification enzymatique des amidons purs commerciaux en présence de l' $\alpha$ -amylase Termamyl L300 (E<sub>7</sub>)

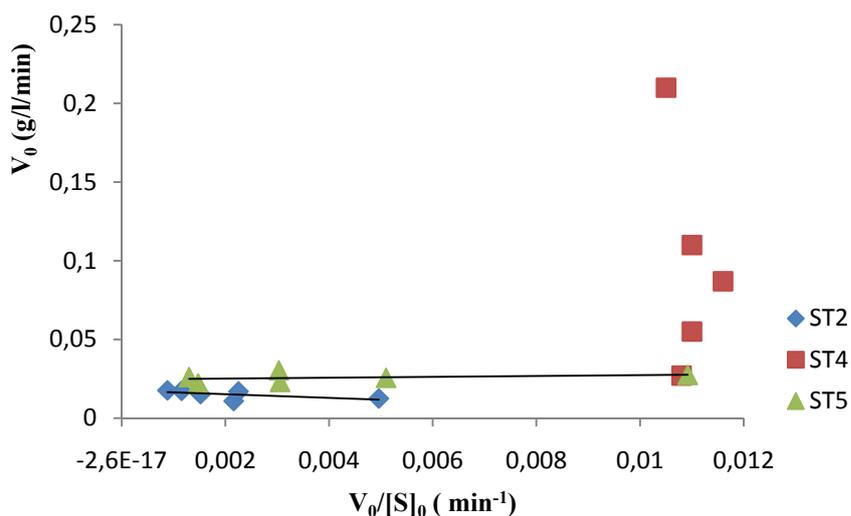
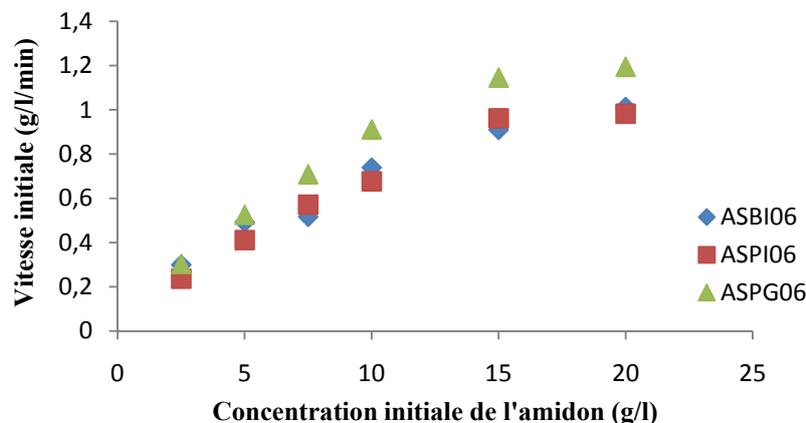
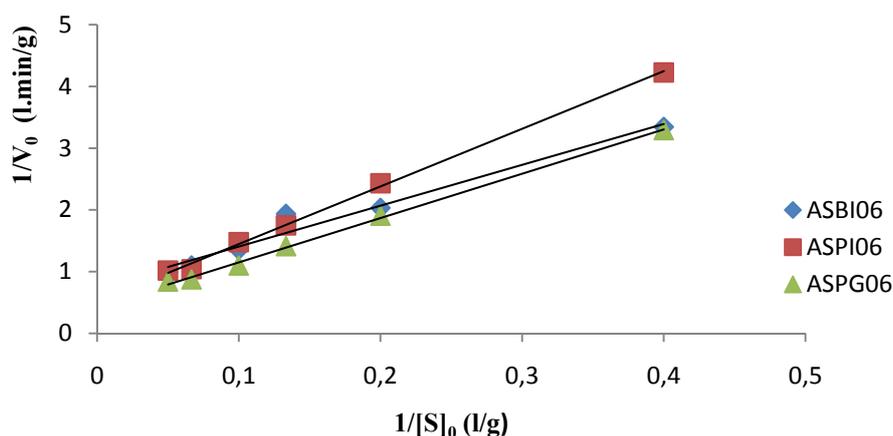


Figure 7.17 : Représentation de la transformée de Eadie-Hofstee pour les réactions de saccharification enzymatique des amidons purs commerciaux en présence de l' $\alpha$ -amylase Termamyl L300 (E<sub>7</sub>)

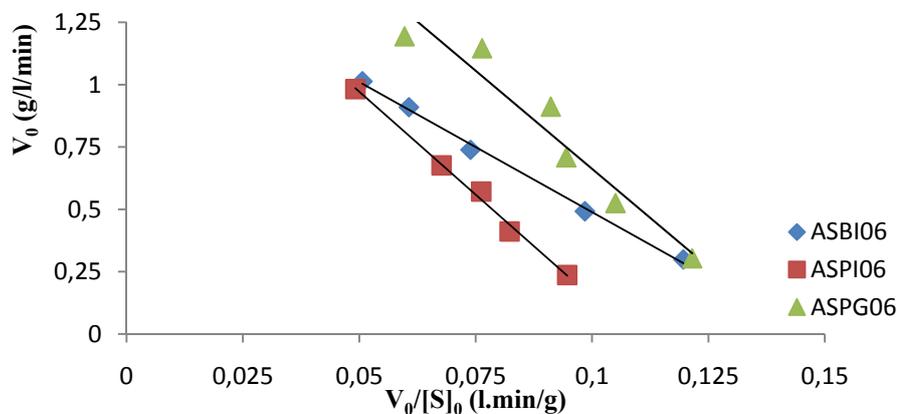
**4.2.2 Représentations graphiques des courbes cinétiques et des transformées linéaires de Lineweaver-Burk et Eadie-Hofstee de la saccharification des amidons de sorgho en présence des différentes amylases**



**Figure 7.21 : Courbes cinétiques de saccharification enzymatique des amidons des différents cultivars de sorgho en présence de l'α-amylase bactérienne (E<sub>2</sub>)**



**Figure 7.22 : Représentation de la transformée de Lineweaver-Burk pour les réactions de saccharification enzymatique des amidons des différents cultivars de sorgho en présence de l'α-amylase bactérienne (E<sub>2</sub>)**



**Figure 7.23 : Représentation de la transformée de Eadie-Hofstee pour les réactions de saccharification enzymatique des amidons des différents cultivars de sorgho en présence de l'α-amylase bactérienne (E<sub>2</sub>)**

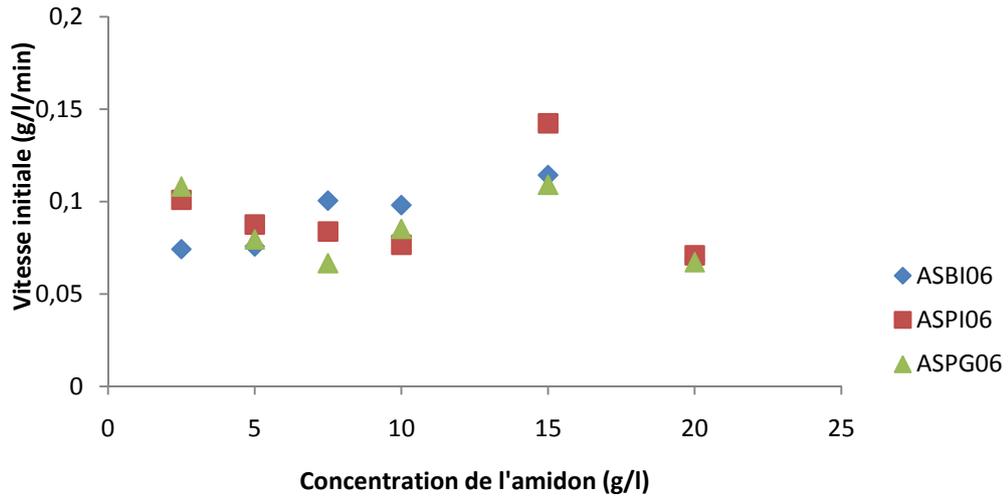


Figure 7.24 : Courbes cinétiques de saccharification enzymatiques des amidons des différents cultivars de sorgho en présence de l'amyloglucosidase ( $E_5$ )

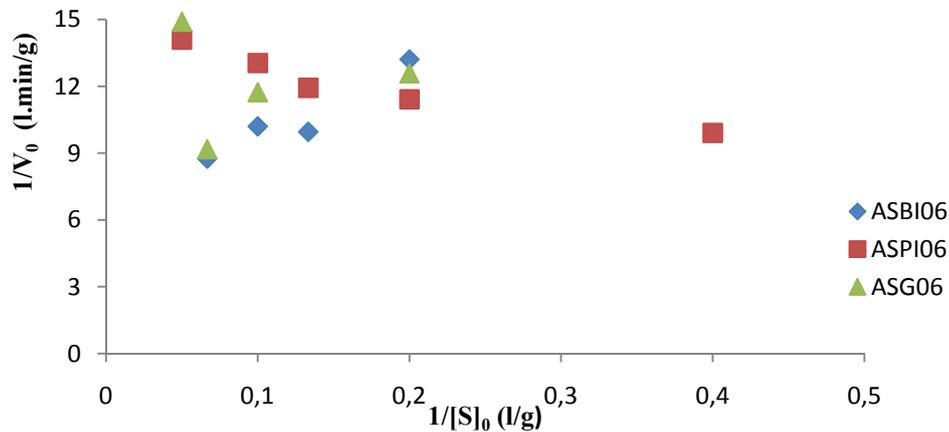


Figure 7.25 : Représentation de la transformée de Lineweaver-Burk pour les réactions de saccharification enzymatique des amidons des différents cultivars de sorgho en présence de l'amyloglucosidase ( $E_5$ )

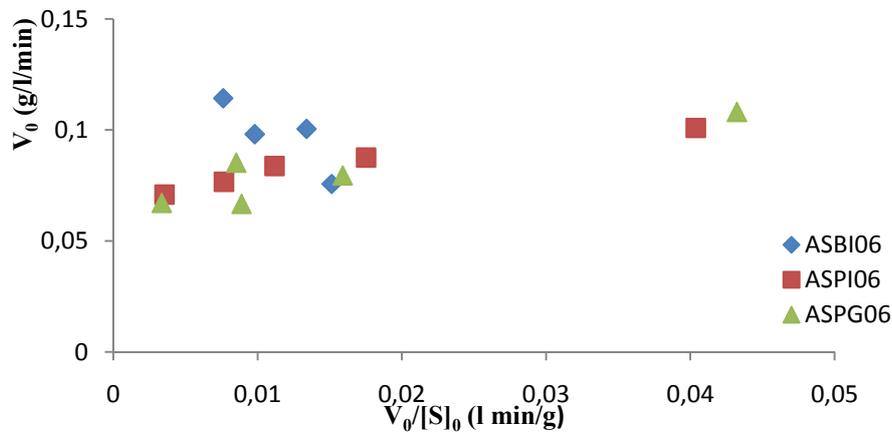


Figure 7.26 : Représentation de la transformée de Eadie-Hofstee pour les réactions de saccharification enzymatique des amidons des différents cultivars de sorgho en présence de l'amyloglucosidase ( $E_5$ )

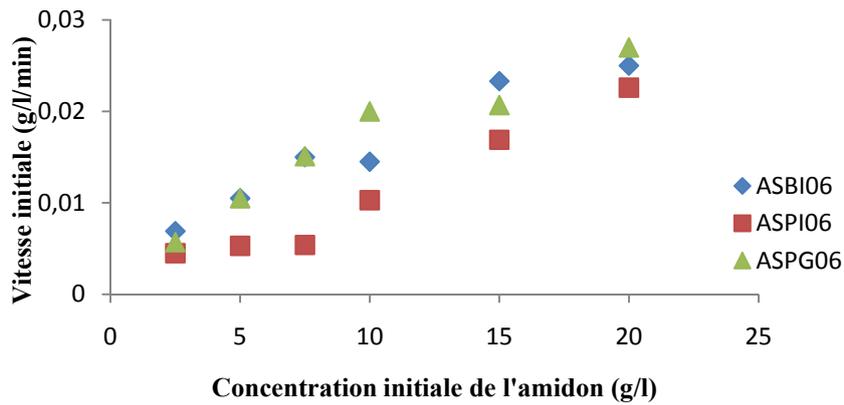


Figure 7.27 : Courbes cinétiques de saccharification enzymatique des amidons des différents cultivars de sorgho en présence de l' $\alpha$ -amylase Termamyl L300 (E<sub>7</sub>)

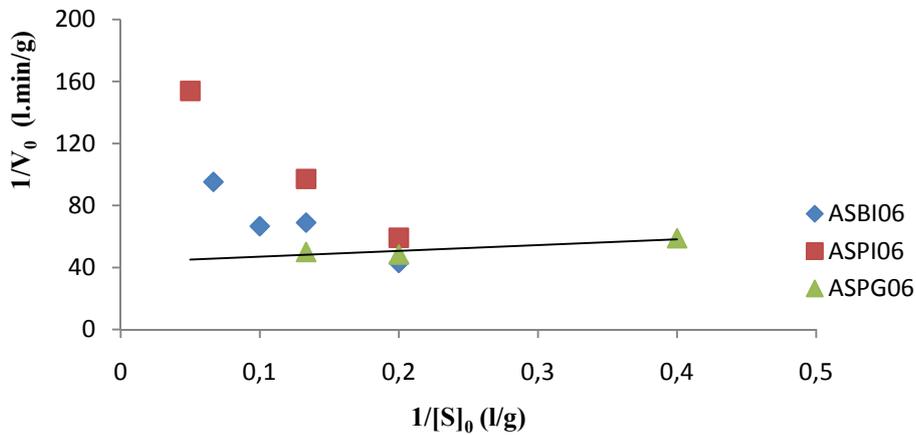


Figure 7.28 : Représentation de la transformée de Lineweaver-Burk pour les réactions de saccharification enzymatique des amidons des différents cultivars de sorgho en présence de l' $\alpha$ -amylase Termamyl L300 (E<sub>7</sub>)

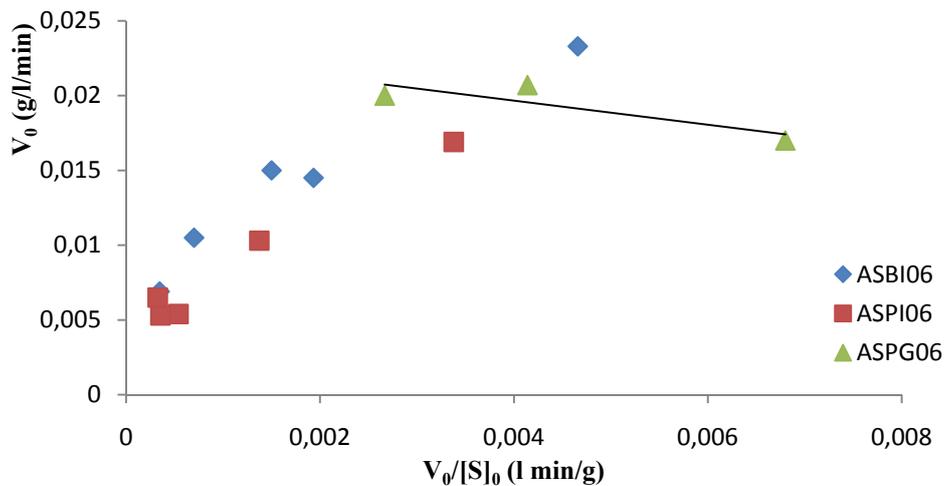


Figure 7.29 : Représentation de la transformée de Eadie-Hofstee pour les réactions de saccharification enzymatique des amidons des différents cultivars de sorgho en présence de l' $\alpha$ -amylase Termamyl L300 (E<sub>7</sub>)

4.2.3 Représentations graphiques des courbes cinétiques et des transformées linéaires de Lineweaver-Burk et Eadie-Hofstee de la saccharification des amidons de mil chandelle et en présence des amylases

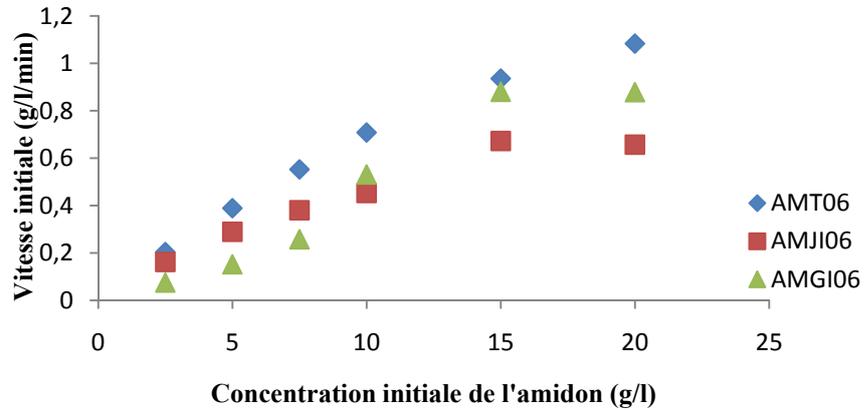


Figure 7.33 : Courbes cinétiques de saccharification enzymatique des amidons des différents cultivars de mil chandelle en présence de l' $\alpha$ -amylase bactérienne ( $E_2$ )

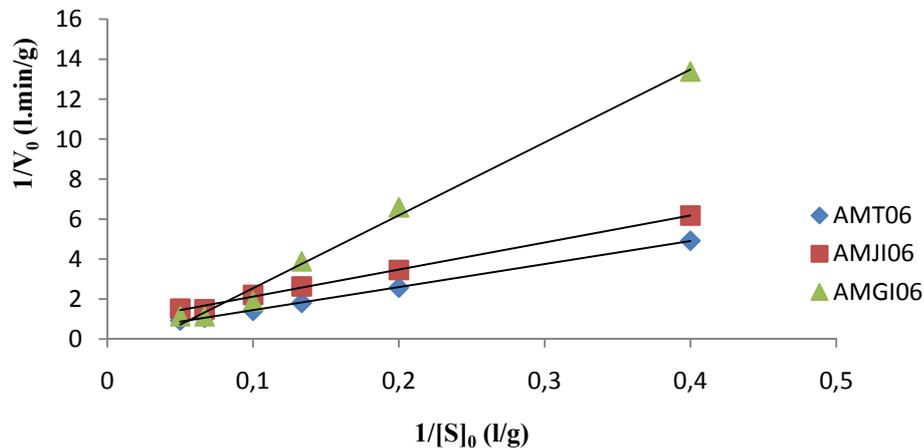


Figure 7.34 : Représentation de la transformée de Lineweaver-Burk pour les réactions de saccharification enzymatique des amidons des différents cultivars de mil chandelle en présence de l' $\alpha$ -amylase bactérienne ( $E_2$ )

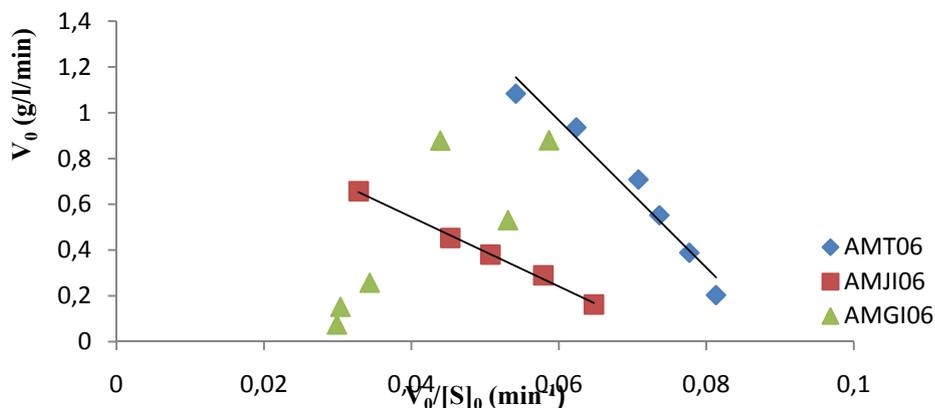


Figure 7.35 : Représentation de la transformée de Eadie-Hofstee pour les réactions de saccharification enzymatique des amidons des différents cultivars de mil chandelle en présence de l' $\alpha$ -amylase bactérienne ( $E_2$ )

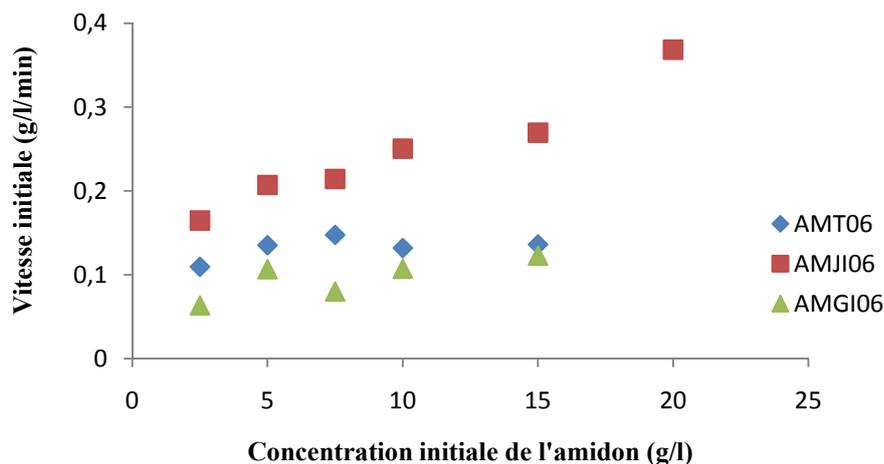


Figure 7.36 : Courbes cinétiques de saccharification enzymatique des amidons des différents cultivars de mil chandelle en présence de l'amyloglucosidase ( $E_5$ )

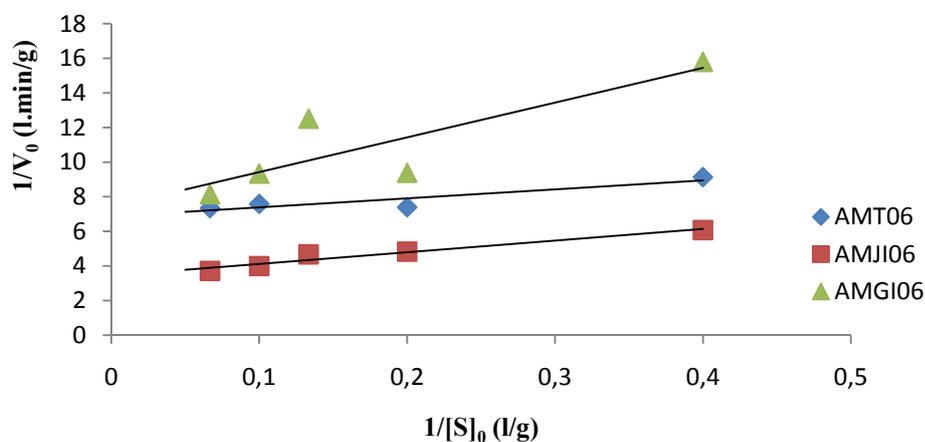


Figure 7.37 : Représentation de la transformée de Lineweaver-Burk pour les réactions de saccharification enzymatique des amidons des différents cultivars de mil chandelle en présence de l'amyloglucosidase ( $E_5$ )

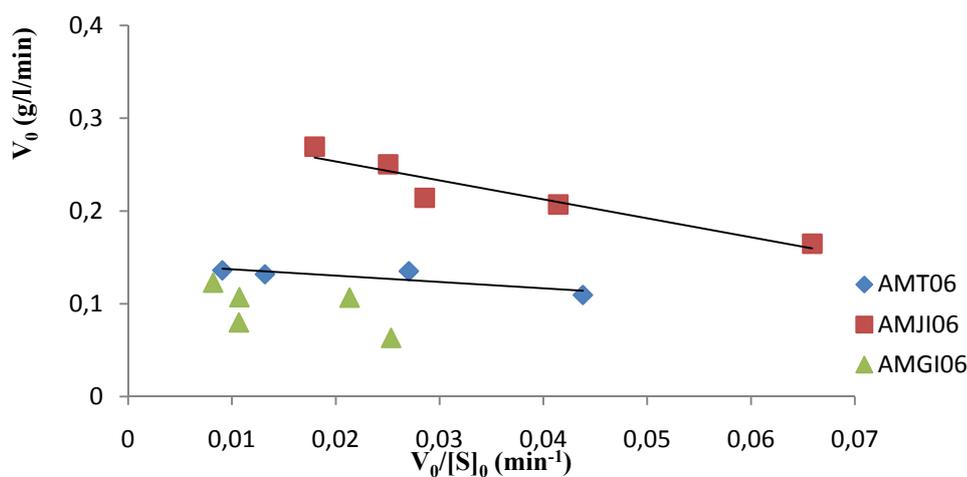


Figure 7.38 : Représentation de la transformée de Eadie-Hofstee pour les réactions de saccharification enzymatique des amidons de différents cultivars mil chandelle en présence de l'amyloglucosidase ( $E_5$ )

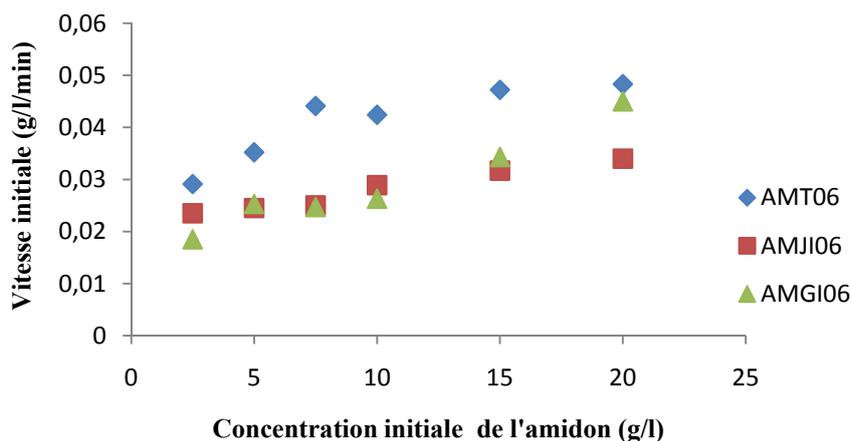


Figure 7.39 : Courbes cinétiques de saccharification enzymatique des amidons des différents cultivars de mil chandelle en présence de l' $\alpha$ -amylase Termamyl L300 (E<sub>7</sub>)

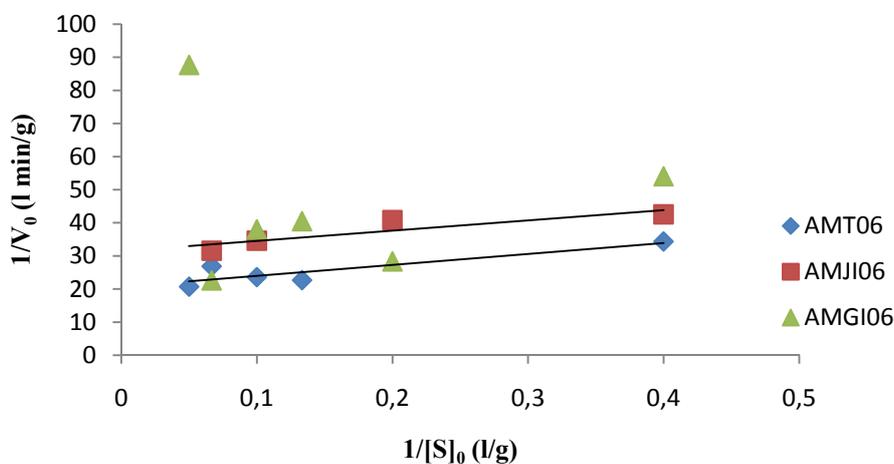


Figure 7.40 : Représentation de la transformée de Lineweaver-Burk pour les réactions de saccharification enzymatique des amidons des différents cultivars de mil chandelle en présence de l' $\alpha$ -amylase Termamyl (E<sub>7</sub>)

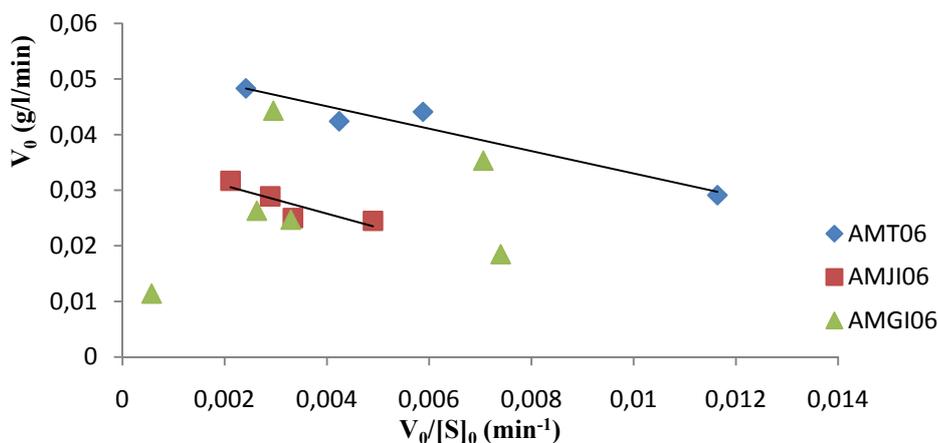


Figure 7.41 : Représentation de la transformée de Eadie-Hofstee pour les réactions de saccharification enzymatique des amidons des différents cultivars de mil chandelle en présence de l' $\alpha$ -amylase Termamyl (E<sub>7</sub>)

### 4.3 Courbes cinétiques de la saccharification des amidons de sorgho et de mil chandelle en présence de l' $\alpha$ -amylase Termamyl L300 à différentes températures

#### 4.3.1 Courbes de l'évolution de la saccharification enzymatique des amidons de sorgho au cours du temps en présence de l' $\alpha$ -amylase Termamyl L300 à différentes températures

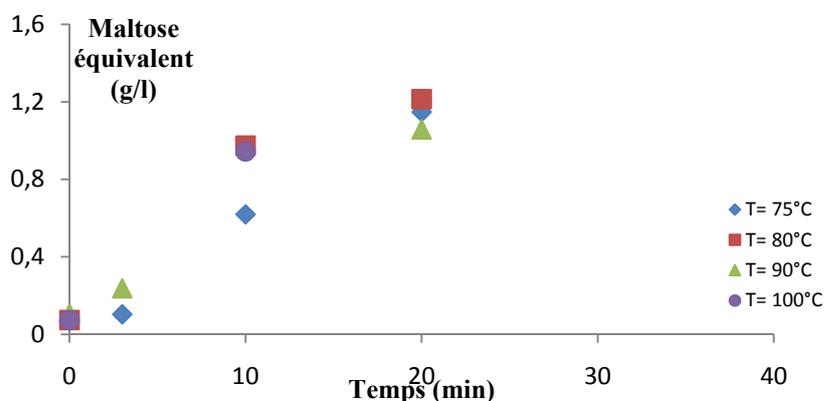


Figure 7.42 : Evolution de la concentration en maltose équivalent en fonction du temps au cours de la saccharification enzymatique de l'amidon de sorgho blanc (ASBI06) en présence de l' $\alpha$ -amylase Termamyl L300 à différentes températures d'hydrolyse

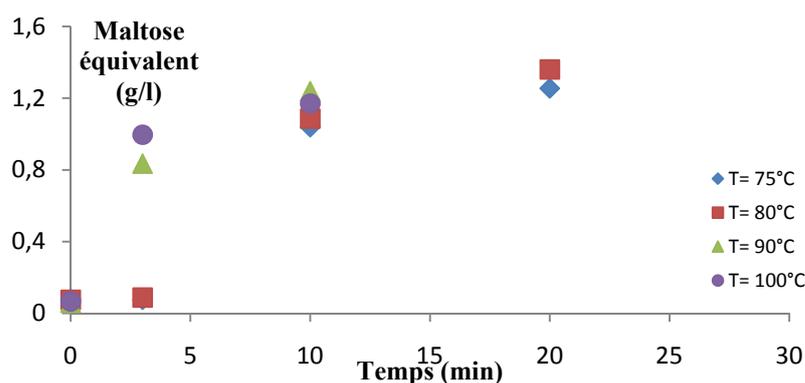


Figure 7.43 : Evolution de la concentration en maltose équivalent en fonction du temps au cours de la saccharification enzymatique de l'amidon de sorgho pigmenté (ASPI06) en présence de l' $\alpha$ -amylase Termamyl L300 à différentes températures d'hydrolyse

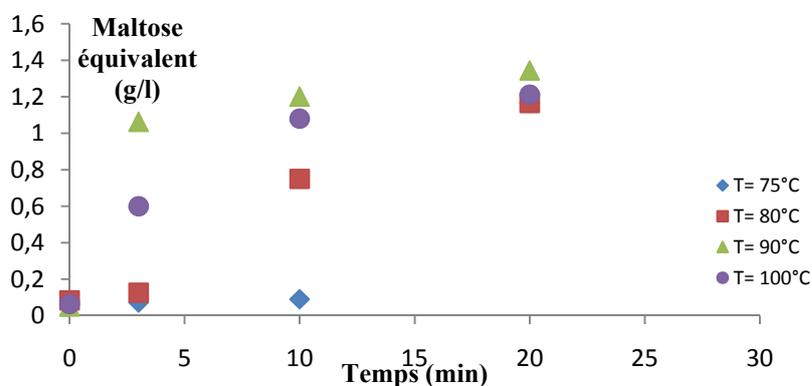


Figure 7.44 : Evolution de la concentration en maltose équivalent en fonction du temps au cours de la saccharification enzymatique de l'amidon de sorgho pigmenté Américain (ASPG06) en présence de l' $\alpha$ -amylase Termamyl L300 à différentes températures d'hydrolyse

### 4.3.2 Courbes cinétiques de saccharification enzymatique des amidons de mil chandelle en présence de l' $\alpha$ -amylase Termamyl L300 à différentes températures

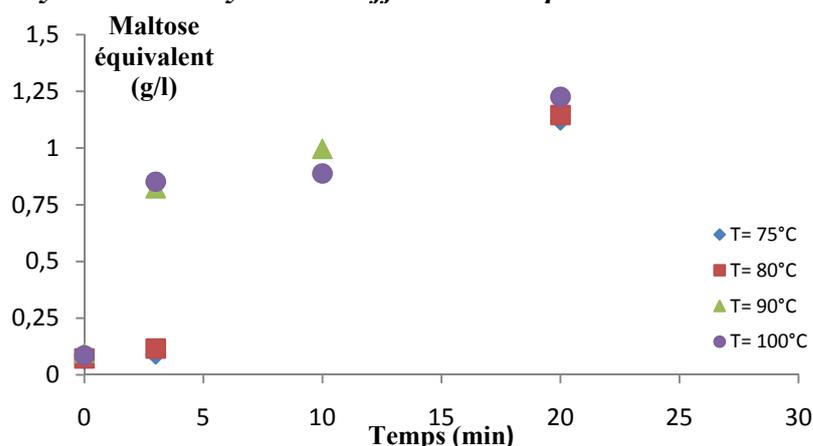


Figure 7.45 : Evolution de la concentration en maltose équivalent en fonction du temps au cours de la saccharification enzymatique de l'amidon de mil chandelle Ouani (AMGI06) en présence de l' $\alpha$ -amylase Termamyl L300 à différentes températures d'hydrolyse

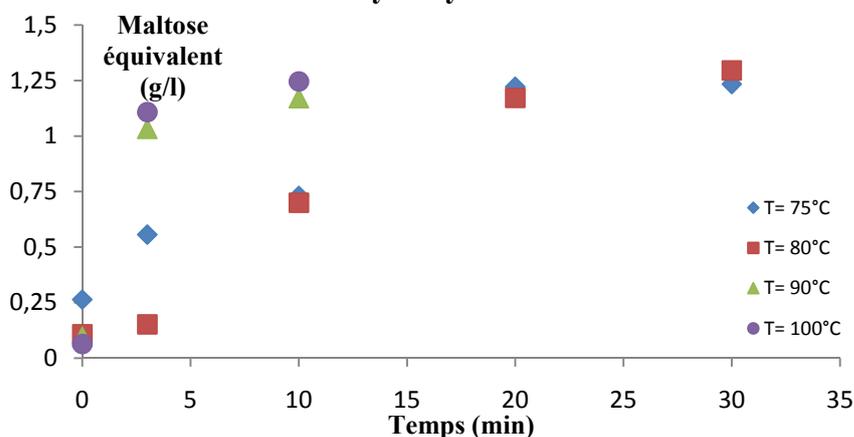


Figure 7.46 : Evolution de la concentration en maltose équivalent en fonction du temps au cours de la saccharification enzymatique de l'amidon de mil chandelle Jafo (AMJI06) en présence de l' $\alpha$ -amylase Termamyl L300 à différentes températures d'hydrolyse

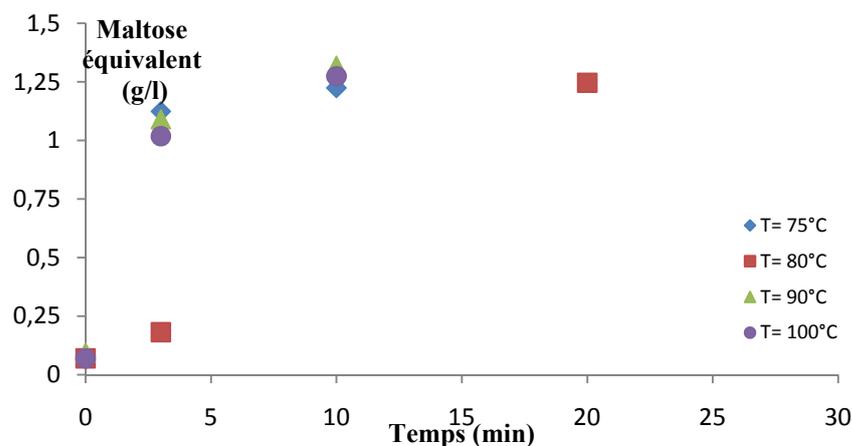


Figure 7.47 : Evolution de la concentration en maltose équivalent en fonction du temps au cours de la saccharification enzymatique de l'amidon de mil chandelle (AMT06) en présence de l' $\alpha$ -amylase Termamyl L300 à différentes températures d'hydrolyse