



**Productions Végétales et Industries
Agroalimentaires (PVIA)
Université de Picardie Jules Verne**

NOM : AKISSOE

Prénom : Lorène

Année : 2016-2017

Mémoire de stage de Master 2

Diagrammes d'état de l'amidon et des protéines : Cas du Niébé et des Lentilles



Stage encadré par : Christian Mestres et Aurélien Briffaz

Tuteur universitaire : Annie GUILLER

Nom de l'entreprise : CIRAD-UMR Qualisud

Adresse Entreprise : 73 rue Jean François Breton, 34090
MONTPELLIER



Table des matières

Table des matières	ii
Liste des figures	iii
Liste des tableaux	iv
Liste des abréviations	v
Remerciement.....	1
Introduction	2
Chapitre 1 : Présentation de la structure et du sujet de stage	3
I. Présentation du Centre de coopération International en Recherche Agronomique (Cirad)	3
II. Présentation du département de stage : Performance des systèmes de production et de transformation tropicaux (Persyst)	3
III. Présentation du sujet et de son intérêt pour la structure de stage	5
I. Nature et composition en protéines et en amidon des légumineuses	7
1. Conformation des protéines	7
2. Fractions protéiques du Niébé et des Lentilles.....	7
3. Composition en amidon des légumineuses	8
II. Technique de séparation des protéines par voie sèche	9
III. Techniques de Differential Scanning Calorimetry (DSC)	9
IV. Comportement thermiques de l'amidon et des protéines et Diagrammes de phase.....	10
1. Evolution de la cristallinité de l'amidon	10
2. Dénaturation des protéines	13
3. Transition vitreuse dans les protéines et dans l'amidon.....	13
Chapitre 3 : Matériel et Méthodes.....	15
I. Matériel végétal.....	15
II. Fractionnement des légumineuses.....	15
III. Cinétique de gonflement des graines de lentilles et du niébé et fractions turboséparées	19
1. Gonflement de la graine	19
2. Gonflement des protéines et de l'amidon.....	20
IV. Analyse du comportement thermique des protéines et de l'amidon par Differential Scanning Calorimetry.....	20
1. Préparation des échantillons.....	20
2. Analyses DSC	20
V. Analyse des données	21
Chapitre 4 : Résultats et Discussion	22
I. Séparation par voie sèche de l'amidon et des protéines du Niébé et de la lentille : Turboséparation.....	22
1. Composition physico-chimique des matières premières utilisées.....	22
2. Effet du décorticage et broyage sur le fractionnement des légumineuses.....	23
3. Effet de la vitesse de la turbine sur le fractionnement des légumineuses	26
II. Comportement hydrothermal de l'amidon et des protéines du niébé (Var. Wankoun) et de la lentille	30
1. Températures de transitions de phase des protéines et de l'amidon du Niébé (Wankoun) et de la lentille.....	30
1.1. Gélatinisation de l'amidon et Dénaturation des protéines	30

1.2. Enthalpies de transitions de phase des protéines et de l'amidon du Niébé (Wankoun) et de la lentille.....	31
1.3. Transition vitreuse des protéines.....	32
2. Cinétique de gonflement des graines du Niébé (Var. Wankoun) et de la lentille	33
3. Capacité de gonflement des fractions enrichies en amidon et en protéines du niébé ...	34
3.1. Capacité d'absorption d'eau de la fraction riche en amidon.....	34
3.2. Capacité d'absorption d'eau de la fraction riche en protéines	35
III. Perspectives.....	36
1. Transitions de phases	36
2. Gonflement de l'amidon.....	36
Conclusion.....	37
Références bibliographique.....	38
Webographie	40

Liste des figures

Figure 1 : Organigramme du Centre de coopération internationale en recherche agronomique pour le développement (Cirad)-Source personnel.....	4
Figure 2 : Déroulement du stage	6
Figure 3 : Schéma des différentes fractions du pois.....	9
Figure 4 : Procédé de séparation de l'amidon et des protéines du pois par voie sèche.....	9
Figure 5 : Thermogramme d'amidon de maïs à des différents teneurs en eau.....	11
Figure 6 : Modèle en deux étapes de la gélatinisation de l'amidon proposé par	11
Figure 7 : Diagramme de phase de l'amidon du riz en fonction de la teneur en eau	12
Figure 8 : Schéma récapitulatif du comportement hydrothermique de l'amidon.....	12
Figure 9 : Température de dénaturation des protéines de quelques légumineuses obtenues par DSC	13
Figure 10 : Courbes DSC de l'amidon du blé à l'état natif à différents teneurs en eau	13
Figure 11 : Diagramme de phase du blé en fonction de la teneur en eau.....	14
Figure 12 : Observation de la transition réversible avec deux chauffages.....	14
Figure 13 : Table densimétrique.....	16
Figure 14 : Schéma de séparation de l'amidon et des protéines du Niébé.....	16
Figure 15 : Turboséparateur Hosokawa Alpine	17
Figure 16 : Effet broyage sur le profil granulométrique : Exemple de wankoun.....	23
Figure 17 : Visualisation de la fraction grossière de wankoun au microscope	23
Figure 18 : Profil granulométrique des fractions de lentilles	23
Figure 19 : Fractions fines obtenues avec différentes vitesses de séparation : exemple de population >180µm	25
Figure 20 : Fractions grossières à différentes vitesses.....	25
Figure 21 : Composition et rendement des fractions turboséparées du niébé : Exemple de wankoun (couteaux+ broche)	27
Figure 22 : Profil granulométrique de wankoun broyé directement et de sa fraction grossière à 6500 rpm	27
Figure 23 : Composition et rendement des fractions turboséparées de la lentille.....	28
Figure 24 : Profils DSC de l'amidon et des protéines à différents teneurs en eau (0.4 et 3)..	30

Figure 25 : Températures de dénaturation des protéines et de gélatinisation de l'amidon obtenues par DSC à 10°C/min	30
Figure 26 : Transition vitreuse des protéines de niébé (Variété wankoun) déterminée par différentes méthodes (A=Stepscan et B=2 scans)	32
Figure 27 : capacité d'absorption d'eau des graines de légumineuses	33
Figure 28 : Degré de gélatinisation de l'amidon du niébé en excès d'eau	35
Figure 29 : Gonflement maximum de l'amidon du niébé en fonction de la température et degré de gélatinisation.....	35
Figure 30 : Capacité d'absorption de l'eau des protéines.....	36

Liste des tableaux

Tableau 1: Fractions protéiques de la Lentille, du Niébé.....	8
Tableau 2 : Dimensions et formes des granules d'amidon des légumineuses étudiées	8
Tableau 3 : Tableau récapitulatif du nombre de fractionnements réalisé.....	17
Tableau 4 : Composition physico-chimique du niébé et de la lentille	22
Tableau 5 : Résultats décorticage et broyage (broches direct) des lentilles	24
Tableau 6 : Résultats décorticage et broyage (couteaux + broches) de wankoun.....	24
Tableau 7 : Résultats décorticage et broyage (broches direct) de wankoun	25
Tableau 8 : Résultats décorticage et broyage (couteaux + broches) de Atchawe-Tola.....	25
Tableau 9 : Résultats décorticage et broyage (broches direct) de Atchawe tola.....	25
Tableau 10 : Tableau récapitulatif des manips de turboséparation	29
Tableau 11 : Enthalpies de gélatinisation de l'amidon	31
Tableau 12 : Enthalpies de dénaturation protéines.....	31

Liste des abréviations

ATP : Alpine Turboplex

MS : Masse sèche

BS : Base sèche

DSC : Differential Scanning Calorimetry

FG : Fraction grossière

FF : Fraction fine

RT : Rejet de turboséparation

RPM : Radian par minute

NF : Norme française

EN : European Norm

ISO : International Organization for Standardization

PVIA : Production Végétale et Industries Agroalimentaires

CIRAD : Centre de Coopération Internationale en Recherche Agronomique pour le Développement

UMR : Unité mixte de recherche

INRA : Institut National de la Recherche Agronomique

AOAC : Association of Official Analytical Chemists

Remerciement

Je tiens à remercier le Dr Christian Mestres et le Dr Aurélien Briffaz qui m'ont formée et accompagnée tout au long de cette expérience professionnelle.

Je remercie aussi Madame Brigitte PONS, Monsieur Julien RICCI et la Doctorante Fanny Coffigniez pour leur implication lors de mes différents travaux au Cirad. Je tiens aussi à exprimer toute ma reconnaissance au Dr Valérie Lullien pour ses conseils et son assistance et pour m'avoir permis de réaliser les travaux de fractionnement des légumineuses à L'UMR IATE (INRA-Montpellier).

J'adresse aussi mes remerciements à l'endroit de l'ensemble du personnel de l'UMR Qualisud pour les conseils constructifs qu'ils ont pu me prodiguer au cours de ma période de stage au Cirad

Je remercie également Dr Annie GUILLER, mon tuteur de stage, pour toute l'attention qu'elle m'a accordée dès la période de recherche de stage jusqu'à la rédaction du rapport.

Je remercie enfin tous les enseignants de la formation PVIA, ceux qui nous ont donné des cours tout au long de notre formation en Master.

Introduction

L'étude des sources de protéines dans l'alimentation montre qu'en France environ 60% des apports protéiques sont d'origine animale et 40 % d'origine végétale. Les protéines végétales sont apportées principalement par des aliments comme les légumes secs (haricot, pois chiche, lentille. . .) (Guéguen *et al.*, 2016).

Dans le contexte d'une forte croissance démographique (8,3 à 10,9 Milliards en 2050) et dans une hypothèse tendancielle de la consommation de viande, satisfaire les besoins en protéines animales semble particulièrement difficile. Suivant les tendances actuelles, il faudrait doubler à échéance 2050 la production mondiale de viande (Steinfeld *et al.*, 2006). Cet objectif paraît difficile à atteindre si l'on considère que l'alimentation animale consomme déjà environ les 3/4 de la biomasse produite à l'échelle mondiale (Guéguen *et al.*, 2016). Un alternatif pour améliorer le statut nutritionnel de la population est de compenser les protéines animales par les protéines d'origine végétale (Iqbal *et al.*, 2006). Le remplacement des protéines animales par les protéines végétales conduira également au développement durable sur les plans économique et environnemental (Schutyser et van der Goot, 2011).

Afin de connaître les utilisations alimentaires potentielles qui peuvent être faites à partir de ces protéines végétales, il est nécessaire de maîtriser l'impact des procédés de transformation industrielle sur leurs propriétés physico-fonctionnelles. Ainsi, l'objectif de mon stage réalisé au sein de l'équipe 3 de l'UMR Qualisud du Cirad de Montpellier, a été d'analyser le comportement des principaux composants des légumineuses lors de l'opération thermique en étudiant les différentes transitions de phases et la cinétique de gonflement des graines de légumineuses lorsqu'elles sont soumises à des conditions de températures et de teneur en eau données. Nous nous sommes intéressés particulièrement aux protéines et à l'amidon étant donné que ces constituants sont majoritaires dans les graines des légumineuses.

Il a donc été question de séparer les deux constituants (l'amidon et les protéines) par voie sèche afin de les maintenir dans leur état natif. Ces deux constituants ont été ensuite analysés distinctement par Differential scanning Calorimetry (DSC).

Les travaux réalisés durant cette étude ont donc consisté à mettre en place les diagrammes d'état de l'amidon et des protéines chez les légumineuses au cours du procédé de cuisson. Les légumineuses sur lesquelles les travaux ont été réalisés sont : le Niébé (*Vigna unguiculata*) et la lentille (*Lens culinaris*).

Chapitre 1 : Présentation de la structure et du sujet de stage

I. Présentation du Centre de coopération International en Recherche Agronomique (Cirad)

Le centre de Coopération Internationale en Recherche Agronomique pour le Développement (Cirad) est une structure placée sous la double tutelle du ministère de la Recherche et du ministère des Affaires étrangères.

Les activités du Cirad relèvent des sciences du vivant, des sciences sociales et des sciences de l'ingénieur appliquées à l'agriculture, à l'alimentation, à l'environnement et à la gestion des territoires. Ses activités sont réalisées en partenariat avec plus de 100 pays et 200 institutions. Le Cirad travaille autour de six grands axes thématiques centrés sur la sécurité alimentaire, le changement climatique, la gestion des ressources naturelles, la réduction des inégalités et la lutte contre la pauvreté.

Le Cirad compte environ 13 directions régionales à travers le monde. Il est composé de trois départements scientifiques à savoir :

- Le département Systèmes biologiques (Bios),
- Le département **Performance des systèmes de production et de transformation tropicaux (Persyst)**, qui fut le département dans lequel mon stage a été réalisé.
- Le département Environnement et Sociétés (ES).

Ces trois départements sont constitués de 33 unités de recherche au total.

II. Présentation du département de stage : Performance des systèmes de production et de transformation tropicaux (Persyst)

Le département scientifique « Performances des systèmes de production et de transformation tropicaux » conduit des études sur les productions tropicales (agriculture familiale et production de rente) à l'échelle de la parcelle, de l'exploitation et de la petite entreprise de transformation. Ses travaux sont réalisés en partenariat avec les acteurs locaux de la recherche en Afrique, Asie, Amérique latine et dans les départements français d'outre-mer.

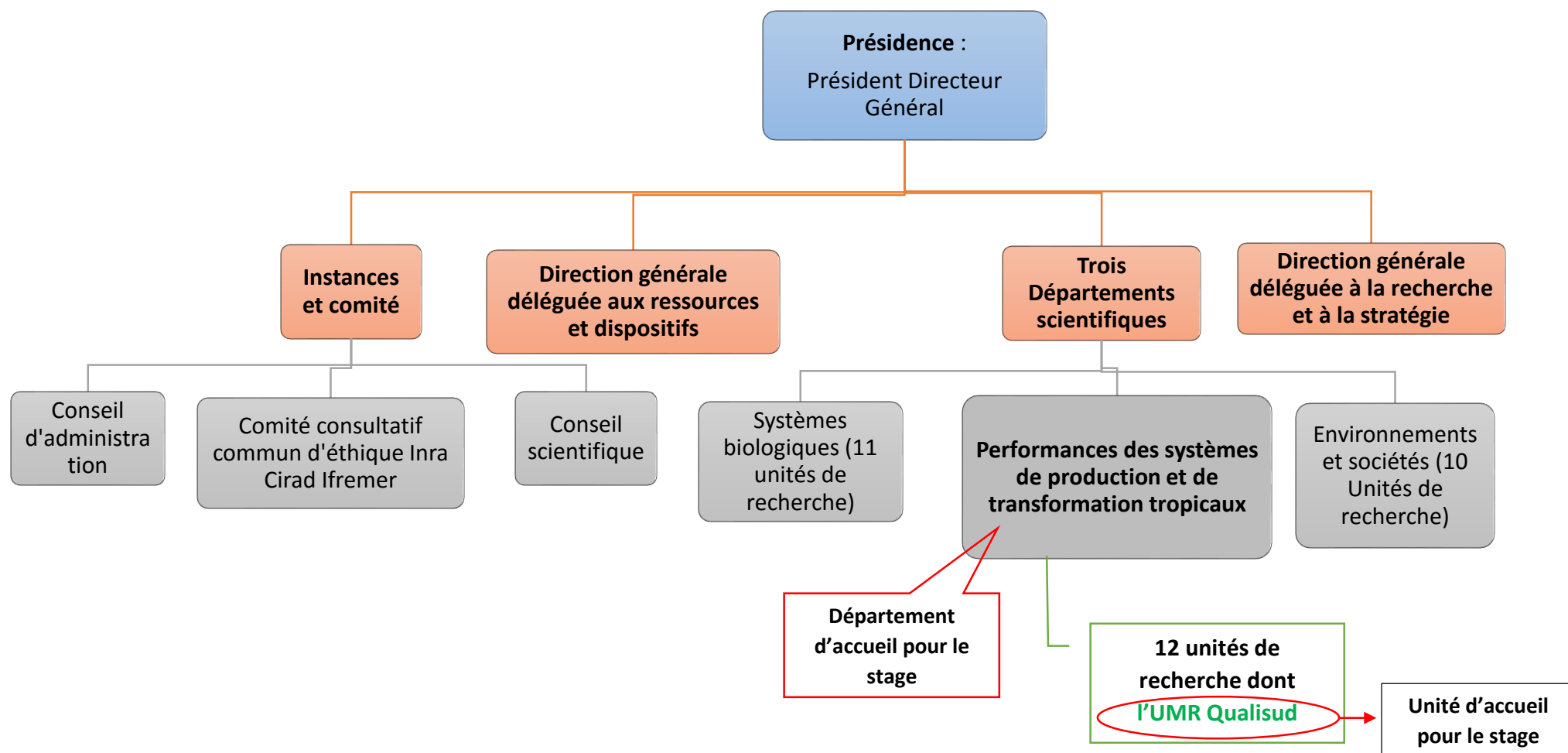


Figure 1 : Organigramme du Centre de coopération internationale en recherche agronomique pour le développement (Cirad)-Source personnelle

Les recherches abordent les champs thématiques de l'agro-écologie et de l'intensification écologique, de l'écologie des sols et de l'environnement, de la durabilité des systèmes de transformation alimentaire et non alimentaire des produits.

Le département Persyst est constitué de plusieurs unités de recherche qui étudient plus précisément les processus de régulation biologiques au sein des systèmes de production, l'efficacité de l'utilisation des ressources (énergie, eau, nutriments), les performances des systèmes de production et de transformation selon des approches multicritères. Mon stage s'est déroulé au sein de l'unité « **Démarche intégrée pour l'obtention d'aliments de qualité (UMR Qualisud)** »

Présentation de l'UMR Qualisud

L'UMR QualiSud est une unité mixte de recherche créée en 2007. Elle a pour objectif de développer une démarche intégrée pour la production et la préservation de produits et d'aliments de qualité organoleptique, sanitaire et nutritionnelle optimales.

L'UMR est constituée de cinq équipes de recherche qui travaillent sur la transformation des produits agricoles tropicaux et méditerranéens d'origine végétale (céréales, racines et tubercules, fruits, cocotier, caféier, cacaoyer, etc.) ou animale (poissons, viandes, etc.). Les équipes de recherches sont :

- **Equipe 1 : Qualité sensorielle des produits frais et transformés**
- **Equipe 2 : Maîtrise des contaminants de la chaîne alimentaire**
- **Equipe 3 : Procédés de transformation et stabilisation de produits agro-alimentaires**

Mon stage s'est déroulé dans cette équipe de recherche. L'enjeu global de l'équipe 3 est de promouvoir, par l'optimisation des procédés et des opérations unitaires qui y sont intégrées, des systèmes de stabilisation et de transformation durables pour des produits agroalimentaires tropicaux et méditerranéens.

- **Equipe 4 : Physiologie de la qualité**
- **Equipe 5 : Effets santé des aliments**

La figure 1 présente l'organigramme du Cirad.

III. Présentation du sujet et de son intérêt pour la structure de stage

Les légumineuses sont d'importantes sources alimentaires de protéines, d'énergie, de fibres alimentaires et de minéraux pour l'Homme et les animaux, particulièrement dans les régions tropicales (Tharanathan et Mahadevamma, 2003). L'utilisation des légumineuses et de leurs constituants dans la formulation des aliments est en croissance dans de nombreux pays développés. Cette croissance est due aux avantages nutritionnels des légumineuses sur la santé, à l'évolution démographique et au développement de nouveaux produits à base de légumineuses.

Cependant, les légumineuses ont tendance à être mal digérées sous leur forme brute en raison de la présence de facteurs antinutritionnels (Mekbungwan, 2007). Les Traitements tels que : le chauffage, le trempage, le décorticage ou la germination, peuvent réduire la présence ou inactiver certains facteurs antinutritionnels tels que les inhibiteurs de la trypsine ou les polyphénols (Rehman et Shah, 2005). Ces traitements appliqués peuvent également impacter la structure des constituants des légumineuses particulièrement la structure des protéines et de l'amidon en entraînant une modification de leur conformation.

Ce sujet de stage intervient dans le cadre d'un projet industriel « **PROVEGGAS** » (site internet 1) et d'un projet collaboratif « **ICOWPEA** » (site internet 2) dont la matrice végétale étudiée est le niébé (*Vigna unguiculata*), une légumineuse consommée principalement en Afrique de l'ouest.

L'objectif du projet « **ICOWPEA** » est d'étudier l'impact du procédé de trempage-cuisson sur le devenir des micronutriments présents dans le niébé en modélisant leur distribution dans la graine. Etant donné que les changements d'état des macronutriments (particulièrement l'amidon et les protéines) ont d'impacts sur le comportement des micro-constituants, sur la structure ainsi que sur le degré de cuisson des légumineuses, une étude des transitions de phases de l'amidon et des protéines s'avère être nécessaire. Il sera donc question de faire une caractérisation des propriétés de gélatinisation de l'amidon ainsi que de dénaturation des protéines durant la cuisson et de relier ces transitions de phase aux potentialités de gonflement de la graine.

Quant au projet « **PROVEGGAS** », il prend en compte les légumineuses suivantes : le pois chiche, la lentille et le haricot. Le projet **PROVEGGAS (Protéines Végétales Gastronomiques)** a pour objectif de rendre attractives les protéines végétales et en particulier les légumineuses, les céréales et le tournesol auprès du plus grand nombre de consommateurs.

Missions

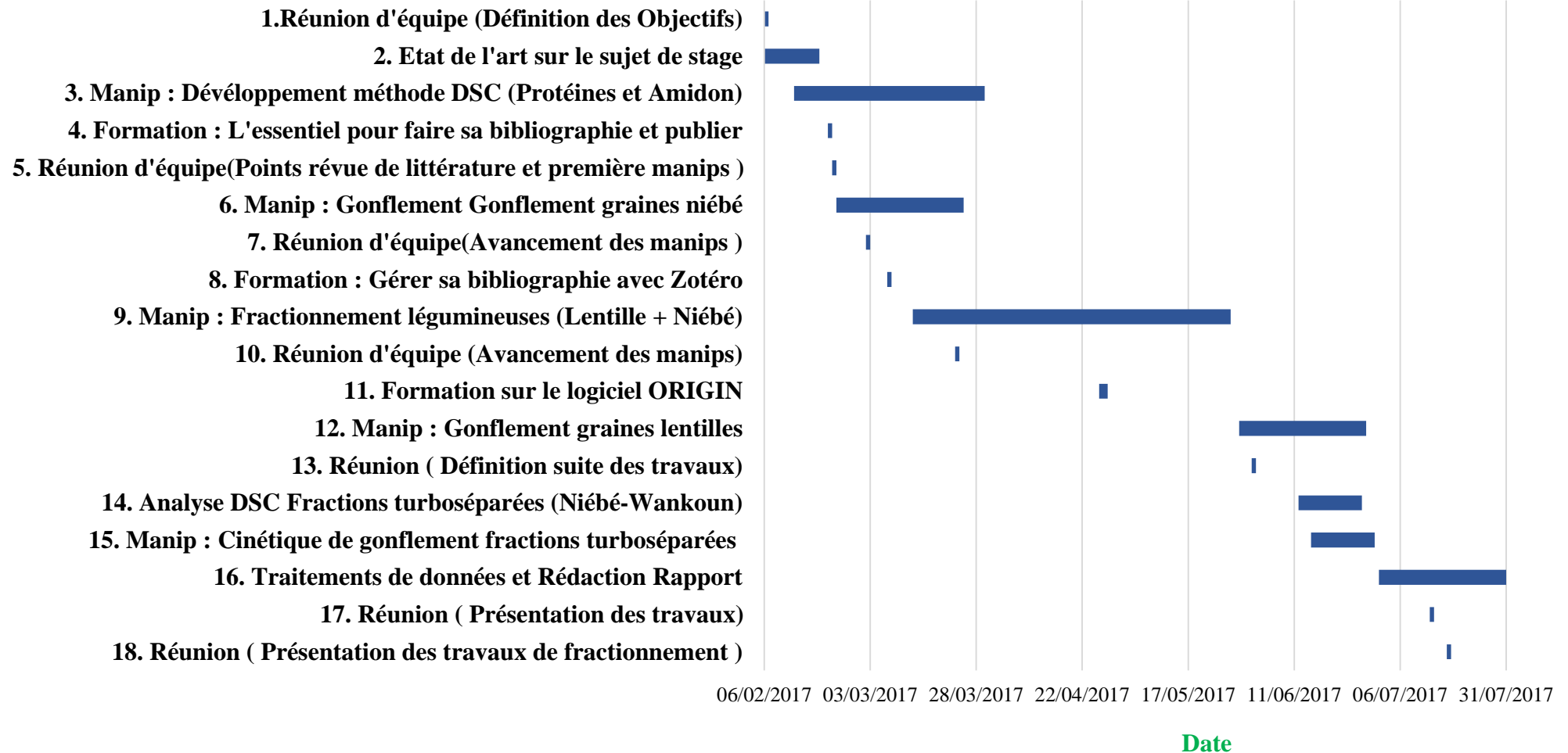


Figure 2 : Déroulement du stage

Ce projet vise à développer de nouvelles gammes de produits alimentaires à base de protéines végétales, ainsi que des procédés et appareils de préparation culinaire. Ceci justifie l'importance de comprendre les différents mécanismes comme les transitions de phases qui se passent au sein de la graine.

Mon travail durant le stage effectué au Cirad a été de réaliser une étude sur le comportement de l'amidon et des protéines des légumineuses au cours du procédé de trempage-cuisson.

De manière plus explicite, une étude de l'impact des traitements thermiques sur la dénaturation des protéines et la gélatinisation de l'amidon du **Niébé (projet Icowpea)** et de la **lentille (projet Proveggas)** a donc été réalisée par caractérisation de leur changement d'état en fonction de la teneur en eau par *Differential Scanning Calorimetry (DSC)*. Les changements d'états des deux composants (dénaturation pour les protéines et gélatinisation pour l'amidon) ont été ensuite analysés par rapport aux potentialités de gonflements des légumineuses.

La figure 2 présente l'ensemble des travaux réalisés au cours du stage. Toute la période de stage a été marquée par des réunions, des formations et des expérimentations en laboratoire.

Chapitre 2 : Revue de littérature

Les légumineuses sont des plantes appartenant à la famille des fabacées. Elles sont intéressantes grâce à leurs graines comestibles et sont cultivées partout dans le monde entier principalement dans les régions tropicales (Iqbal *et al.*, 2006).

Plusieurs travaux ont été réalisés antérieurement afin de mieux comprendre l'impact des traitements thermiques sur les transitions de phase de l'amidon et des protéines des légumineuses. Ce chapitre vise à faire un point sur les informations relatives à notre étude concernant les transitions de phases des protéines et de l'amidon des légumineuses à travers un état de l'art.

I. Nature et composition en protéines et en amidon des légumineuses

1. Conformation des protéines

Du point de vue de la biochimie, la structure des protéines est définie à quatre niveaux. La structure primaire est la séquence d'acides aminés constituant la chaîne protéique. La structure secondaire est constituée de segments de chaîne formant des structures régulières telles que des hélices α ou des feuilles plissées β . La structure tertiaire est le pliage de la chaîne en une forme tridimensionnelle complexe. La structure quaternaire est une chaîne multiple qui interagit pour former une plus grande structure (Bier et al., 2014).

2. Fractions protéiques du Niébé et des Lentilles

On distingue selon leurs propriétés de solubilité 4 grandes familles de protéines :

- ➔ les albumines, solubles dans l'eau,
- ➔ les globulines solubles dans les solutions salines,
- ➔ les prolamines insolubles en milieu aqueux et solubles en solvant hydro-alcoolique (60-70 % alcool v/v),
- ➔ les glutélines solubles en milieu très alcalin (pH > 10).

Les globulines sont surtout présentes (60-90 % des protéines) dans les graines de dicotylédones (légumineuses, oléagineux).

Tableau 1: Fractions protéiques de la Lentille, du Niébé

Fractions protéiques		Lentille (MASSAMA, 2012)	Niébé (Freitas <i>et al.</i> , 2004)
Albumines		16,8	45
Globuline	Légumine 11S	44,8	51
	Viciline 7S	4,2	
Prolamines		11,2	1
Glutélines		--	3

Tableau 2 : Dimensions et formes des granules d'amidon des légumineuses étudiées
(Hoover and Sosulski, 1991a)

Source de l'amidon	Dimensions			Forme
	Largeur (μm)	Longueur (μm)	Non- spécifié (μm)	
Lentille	15-30	10-36	-	Ovale, ronde, Ellipsoïde
Niébé	-	-	4-40	Ovale, sphérique

Les globulines, les prolamines et les glutélines sont des protéines de réserve, qui ont pour fonction de stocker dans la graine, le carbone et surtout l'azote au moment de la germination. Cette fonction leur confère des caractéristiques très particulières de composition en acides aminés, avec des teneurs élevées en amides (glutamine, asparagine) (Guéguen *et al.*, 2016).

La légumine 11S de poids moléculaire de 350 à 400 kDa et **la viciline 7S** (150 à 200 kDa) sont les deux principales globulines retrouvées dans les graines de légumineuses.

La légumine 11S a une structure quaternaire hexamérique. Chaque sous-unité est composée d'un polypeptide acide de masse moléculaire d'environ 40 kDa et d'un polypeptide basique (masse moléculaire \approx 20 kDa) reliés par un pont disulfure. La chaîne acide s'oriente vers la périphérie de l'hexamère tandis que la chaîne basique s'oriente vers le cœur du complexe.

La viciline 7S a une structure trimérique, qui en raison de l'absence de cystéines, ne forme pas de ponts disulfure. Comme la légumine, la viciline a une structure secondaire riche en feuillets β (Boye *et al.*, 2010).

Le tableau 1 montre la composition en fractions protéiques du niébé et de la lentille.

3. Composition en amidon des légumineuses

L'amidon est le principal glucide de la graine des légumineuses, représentant plus de 45% de son poids total. L'amidon est composé de deux constituants majoritaires que sont l'amylose et l'amylopectine.

L'amylose est généralement décrite comme une macromolécule linéaire de résidus D-anhydroglucopyranose associés entre eux par la liaison α [1 \rightarrow 4]. Une extrémité de la chaîne porte le groupement pseudo-aldéhydique réducteur, l'autre, un résidu sans groupement réducteur. Quelques ramifications du type α [1 \rightarrow 6] ont été mises en évidence, au taux d'une liaison pour plusieurs milliers de résidus glucose (Monties, 1980).

L'amylopectine, macromolécule ramifiée, est formée par l'association de résidus D-anhydroglucopyranose reliés entre eux par des liaisons α [1 \rightarrow 4] en des chaînons linéaires ou ramifications greffés les uns sur les autres par des liaisons α [1 \rightarrow 6]. Le nombre de ces liaisons α [1 \rightarrow 6] représente 5 à 6% de l'ensemble des liaisons de l'amylopectine.

L'amidon est présent sous forme de granules semi-cristallins insolubles dans l'eau froide. La forme et la taille des granules dépendent de l'origine végétale (Monties, 1980).

Le tableau 2 présente les caractéristiques morphologiques des granules d'amidon du niébé et de la lentille.

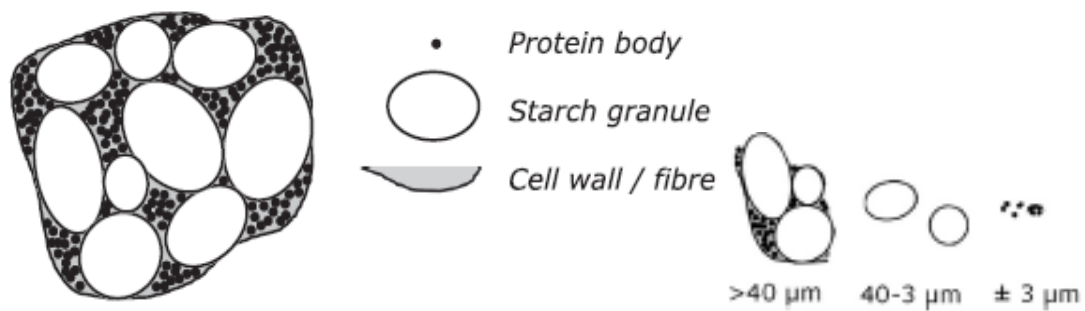


Figure 3 : Schéma des différentes fractions du pois

(Schutyser *et al.*, 2015)

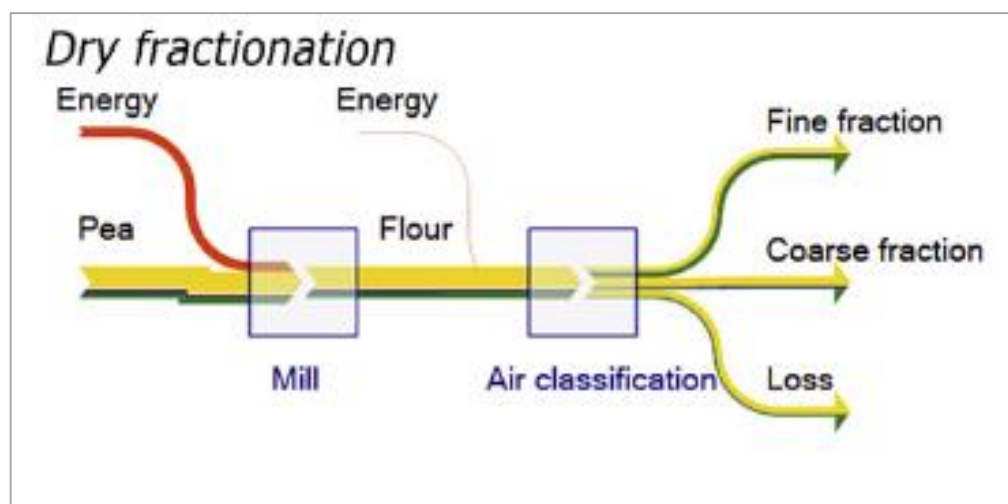


Figure 4 : Procédé de séparation de l'amidon et des protéines du pois par voie sèche

(Schutyser *et al.*, 2015) (Fine fraction = Protéines ; Coarse fraction = Amidon, Loss = Fraction encrassée dans la chambre de classification)

II. Technique de séparation des protéines par voie sèche

Le fractionnement à sec consiste en un broyage suivi d'une séparation de la farine obtenue suivant les propriétés des différentes fractions qui la compose. La méthode généralement utilisée est la séparation à l'air, qui permet d'obtenir suivant la taille et la densité des particules une fraction fine et une fraction grossière (Pelgrom *et al.*, 2014).

Le fractionnement par voie sèche repose sur le principe selon lequel le broyage peut détacher mécaniquement les protéines, les granules d'amidon et d'autres composés cellulaires en farine avec des particules ayant différentes tailles. Dans les légumes riches en amidon, les cotylédons sont constituées de granules d'amidon ($\pm 20 \mu\text{m}$) incorporés dans une matrice de protéines (1-3 μm) entourés d'une paroi cellulaire riche en fibres (Schutyser *et al.*, 2015). Les granules d'amidon sont donc libérés pendant le broyage et la matrice protéique est fragmentée en particules plus petites que le granule d'amidon (figure 3).

La figure 4 montre un schéma récapitulatif du fractionnement par voie sèche qui permet d'obtenir des fractions sans modification de leur structure.

Pour obtenir une meilleure séparation de l'amidon et des protéines, le broyage doit-être effectué de sorte que les fractions fines et grossières soient bien détachées. Cependant un broyage très fin n'est pas très adéquat pour le fractionnement car les particules non protéiques comme les granules d'amidon endommagées peuvent se retrouver facilement dans la fraction fine (Pelgrom *et al.*, 2013).

La vitesse de turboséparation est également importante car elle impacte sur le rendement et la composition des fractions turboséparées. Pelgrom *et al.*, (2013) ont montré que la vitesse de séparation impacte sur le rendement de la fraction fine (qui est dans le cas des légumineuses, la fraction protéique) et sur la composition physicochimique de cette dernière.

III. Techniques de Differential Scanning Calorimetry (DSC)

Parmi les différents types de calorimètres, la Differential Scanning Calorimetry « Calorimètre Différentiel à balayage » (DSC) est la plus utilisée. La DSC est un appareil mesurant les flux de chaleur associés aux transitions qui se passent dans un échantillon soumis à un chauffage ou un refroidissement.

La DSC permet de déterminer dans un échantillon :

- la température de fusion ou de gélatinisation ou de dénaturation en fonction des caractéristiques de la matrice.
- La température de transition vitreuse et le changement de capacité calorifique associé.

Il existe différentes techniques de DSC permettant d'analyser les changements d'états d'un produit donné. On peut citer comme techniques DSC :

- **DSC classique** : Elle consiste à soumettre l'échantillon à un chauffage suivi d'un refroidissement. Ceci permet les changements de phases endothermiques ou exothermiques (gélatinisation de l'amidon, la dénaturation des protéines ou encore la fusion).
- **Le Hyper DSC** : C'est une technique de DSC permettant d'analyser les échantillons à des vitesses de chauffage et de refroidissement extrêmes, généralement de 100 à 500°C/min en un temps relativement court étant donné qu'on chauffe plus rapidement. Elle est généralement utilisée pour déterminer les transitions de phases comme la transition vitreuse par exemple.
- **Modulated DSC ou Stepscan DSC** : Cette technique permet de déterminer à la fois la capacité calorifique spécifique et les flux de chaleur. Elle consiste à appliquer une série de courts intervalles de chauffage et des étapes d'isothermes afin de déterminer le changement de Cp qui correspond à la transition vitreuse.
- **Double scans** : Elle consiste à chauffer deux fois les échantillons à une vitesse donnée. La transition vitreuse étant réversible elle sera visible au cours du deuxième chauffage, tandis que les transitions irréversibles (gélatinisation par exemple) ne seront observables que lors du premier chauffage.

IV. Comportement thermiques de l'amidon et des protéines et Diagrammes de phase

1. Evolution de la cristallinité de l'amidon

Le comportement de l'amidon lors des traitements thermiques résulte des restructurations de leur architecture interne. La gélatinisation, la formation de complexes amylose-lipides et de la rétrogradation sont les phénomènes les plus étudiés au sein des granules d'amidon.

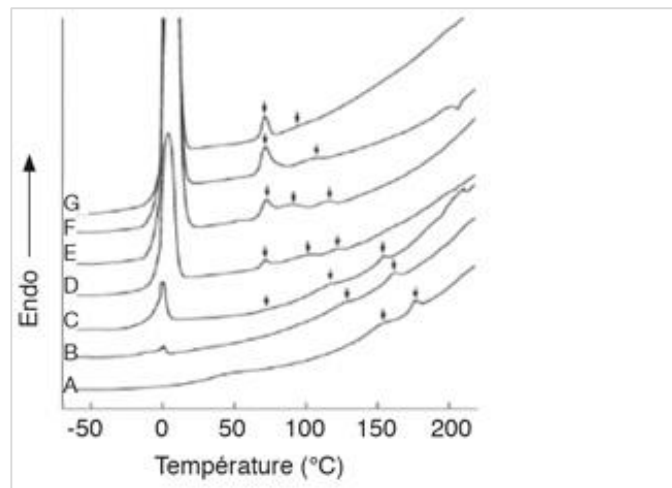


Figure 5 : Thermogramme d'amidon de maïs à des différents teneurs en eau

A : 18.5% ; B : 24.0% ; C : 29.5% ; D : 39.3% ; E : 49.1% ; F : 59.5% et G : 75.9%. (Zhong et Sun, 2005)

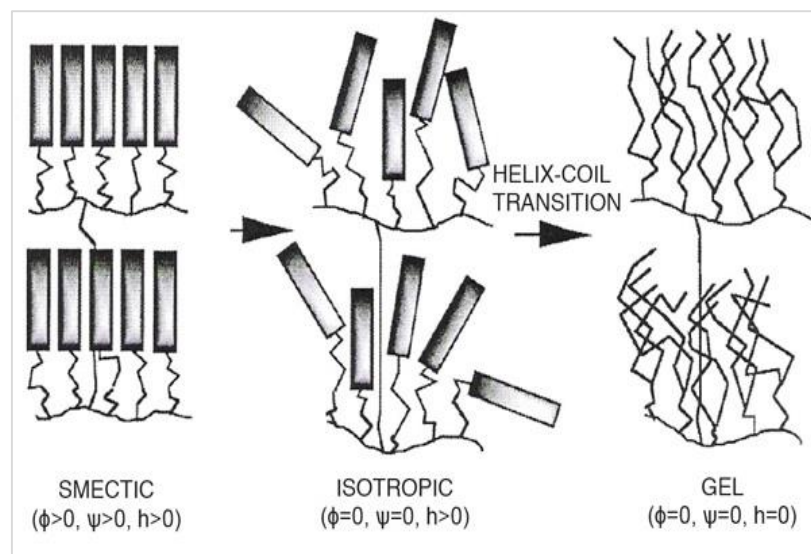


Figure 6 : Modèle en deux étapes de la gélatinisation de l'amidon proposé par

Waigh et al., (2000)

(Φ : rend compte de l'orientation radiale ; Ψ : rend compte de l'existence de la structure lamellaire et h : rend compte de l'hérédité des chaînes d'amylopectines)

a) La gélatinisation de l'amidon

La gélatinisation est la transformation la plus remarquable que subit l'amidon pendant un traitement thermique en milieu aqueux. Elle est caractérisée par la modification irréversible de plusieurs paramètres dont la taille et la cristallinité des granules (Atwell *et al.*, 1988). Du point de vue macroscopique, elle se traduit par la modification de la viscosité et de la texture des empois d'amidon.

La gélatinisation nécessite la présence d'eau en quantité suffisante dans le milieu. Spigno et De Faveri, (2004) ont montré que les énergies d'activation de la gélatinisation diminuent avec l'augmentation de la teneur en eau, pour se stabiliser à partir de 60 % d'eau. Donovan, (1979) ; Biliaderis *et al.*, (1980a) et Malumba *et al.*, (2010) ont montré qu'à faibles teneurs en eau, les amidons gélatinisent à des températures beaucoup plus élevées. Zhong et Sun, (2005) ont montré par calorimétrie différentielle, qu'aux teneurs en eau inférieures à 29,5 %, l'endotherme de gélatinisation se déporte à des températures élevées et se dédouble (figure 5).

Mécanisme de gélatinisation :

La gélatinisation est avant tout un phénomène impliquant la fusion des phases cristallines, constituées par l'empilement ordonné des doubles hélices d'amylopectine structurées en lamelles et une solubilisation de l'amylose préalablement dispersé dans les phases amorphes des granules (Malumba *et al.*, 2011).

Waigh *et al.*, (2000) ont suggéré un scénario de gélatinisation en milieu aqueux durant lequel la disparition de l'arrangement lamellaire des doubles hélices d'amylopectine, associée à la perte de la cristallinité des granules, et la disparition de la structure en double hélice des chaînes d'amylopectine interviennent simultanément.

En étudiant la cristallinité des granules par diffraction des rayons X, la structure en double hélice d'amylopectine par spectroscopie de résonance magnétique nucléaire, ainsi que les enthalpies de gélatinisation des amidons en présence d'un excès d'eau, Cooke et Gidley, (1992) ont observé la concomitance de la perte de la cristallinité et de la disparition de la structure en double hélice d'amylopectine. Ces auteurs attribuent l'enthalpie de gélatinisation observée à la disparition de la structure en double hélice des amylopectines (dédoublement des chaînes d'amylopectines dans les parties cristallines du granule).

Dans un environnement où la teneur en eau du milieu est limitée, Waigh *et al.*, (2000) proposent un autre modèle décomposant la gélatinisation des amidons en deux étapes distinctes (Figure 6).

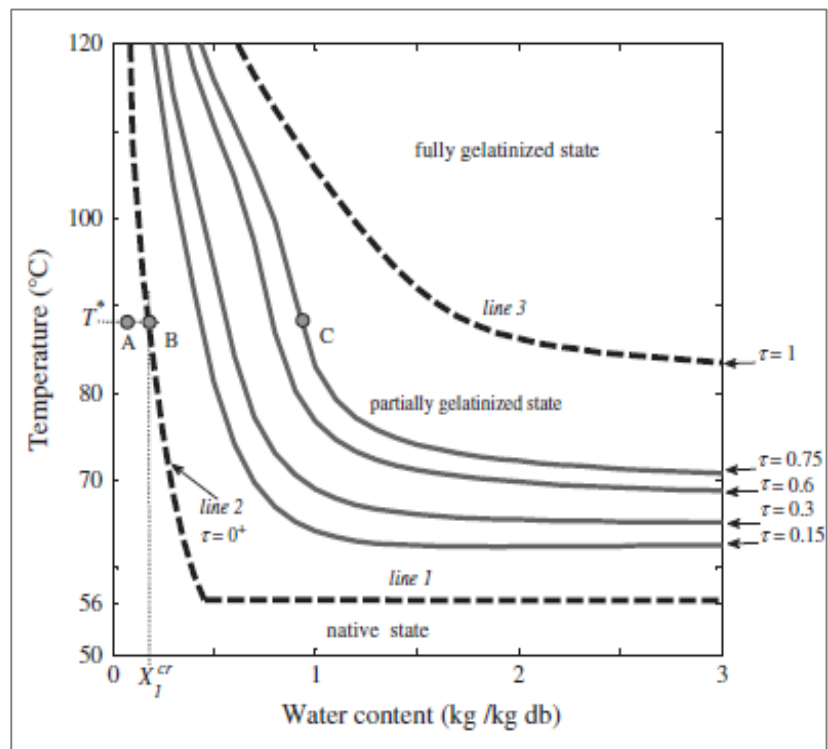


Figure 7 : Diagramme de phase de l'amidon du riz en fonction de la teneur en eau
(Briffaz et al., 2014)

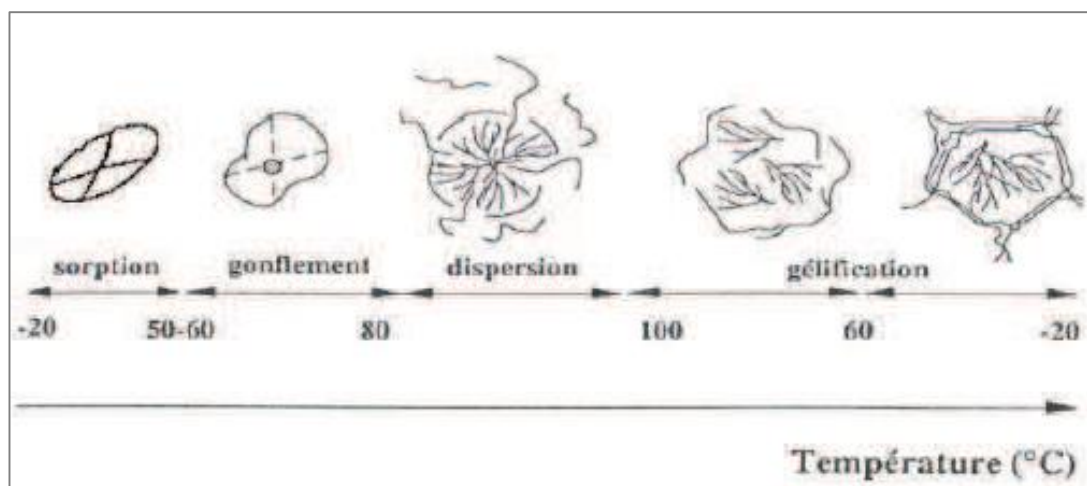


Figure 8 : Schéma récapitulatif du comportement hydrothermique de l'amidon
(Buleon et al., 1990)

La perte de l'arrangement lamellaire (perte de la cristallinité) apparaîtrait en premier lieu (transition smectic-isotropique) pendant la montée en température du système et serait suivie du dédoublement des brins d'amylopectines initialement présents dans les doubles hélices (perte de l'ordre moléculaire) aux températures plus élevées.

Diagramme de phase au cours de la gélatinisation de l'amidon

Un diagramme de phase représente les différents états qui peuvent exister dans un matériau lorsqu'il est soumis à une certaine condition du milieu comme le pH, la température ou la pression qui entraîne une modification de ses propriétés physique.

Briffaz *et al.*, (2014) ont déterminé le diagramme de phase de la gélatinisation de l'amidon de riz en fonction de la température et de la teneur en eau (figure 7).

b) Formation de complexe amylose-lipides

En présence de lipides, le comportement thermique de l'amidon se modifie, avec apparition d'un endotherme réversible qui résulte de la formation d'un complexe attribué à l'amylose et aux acides gras. La complexation de l'amylose par les lipides dépend du degré de polymérisation de celui-ci, de la longueur des acides gras mis en œuvre et des températures de complexation. Les longues chaînes d'amylose induisent la formation de plus de complexes amylose-lipides et améliorent leur thermostabilité (Malumba *et al.*, 2011).

c) La rétrogradation

Pendant la gélatinisation, les granules d'amidon gonflent, deviennent flexibles, certains éclatent et laissent diffuser l'amylose dans le milieu continu. Au cours du refroidissement, les polymères diffusés en milieu continu forment un réseau tridimensionnel, emprisonnant l'eau et les résidus des granules éclatés en leur sein (Malumba *et al.*, 2011). Pendant leur conservation à basses températures, les gels formés à l'empesage durcissent et donnent lieu à des modifications des propriétés texturales (Miles *et al.*, 1985).

La rétrogradation est une cristallisation des composants de l'amidon au cours du refroidissement ou pendant la conservation des empois d'amidon à basses températures (Hermansson et Svegmarm, 1996).

La figure 8 montre les différents changements que subissent les granules d'amidon durant le procédé de trempage-cuisson.

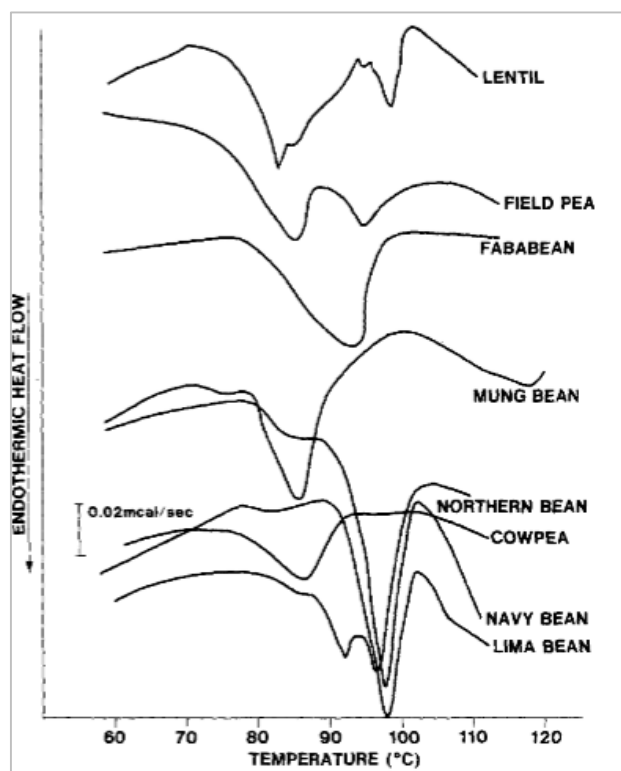


Figure 9 : Température de dénaturation des protéines de quelques légumineuses obtenues par DSC
(Sosulski *et al.*, 1985)

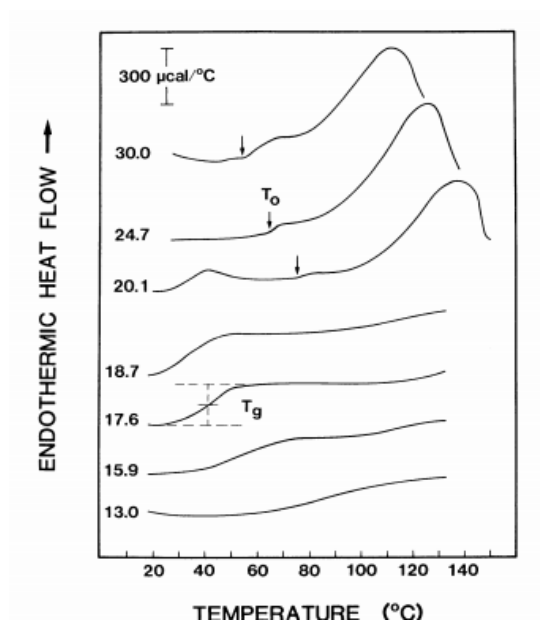


Figure 10 : Courbes DSC de l'amidon du blé à l'état natif à différents teneurs en eau
(Zelevnak et Hoseney, 1987)

2. Dénaturation des protéines

Le chauffage convertit les protéines de leur état natif en un état dénaturé. Ceci est accompagné du dépliement de la chaîne des molécules de protéines et de l'agrégation.

En effet, au cours du processus de dépliement, les molécules d'eau autour de la protéine se réorganisent, restructurent et donnent formation à de nouvelles chaînes latérales (Chôma, 2006).

Lorsque la dénaturation est étudiée par Calorimétrie Différentielle à Balayage (DSC), elle correspond à une réaction endothermique (Kitabatake et al., 1990).

Sosulski *et al.*, (1985) ont déterminé dans les protéines de plusieurs légumineuses des températures de dénaturation qui variaient de 83°C à 98°C (figure 9). Arntfield et Murray, (1981) ont obtenu dans des protéines fractionnées par voie sèche, des températures de dénaturation de 86°C et 88°C respectivement pour le pois et la fève. Ils ont aussi démontré que la dénaturation des protéines était une transition irréversible.

David, (1992) a montré l'effet de la teneur en eau sur la température de dénaturation des protéines. En effet, la température de dénaturation des protéines diminue lorsque la teneur en eau augmente dû à l'effet plastifiant de l'eau.

3. Transition vitreuse dans les protéines et dans l'amidon

La théorie de la transition vitreuse a attiré un grand intérêt ces dernières années, car de nombreux phénomènes liés à la fabrication et à la conservation des aliments peuvent être systématiquement expliqués par la notion de transition vitreuse.

La température de transition vitreuse T_g varie selon la composition et la teneur en eau des aliments. Les aliments vitreux ont une structure métastable amorphe. Cependant, lorsque la teneur en eau ou la température du matériau vitreux augmente, ce dernier passe à un état caoutchouteux (Hitoshi and Hitomi, 2009).

La transition vitreuse est un phénomène dont l'importance technologique est reconnue depuis de très nombreuses années. Elle affecte principalement les substances amorphes ou les zones amorphes des matériaux partiellement cristallins (Malumba et al., 2011) .

Les phénomènes de relaxation traduisent une évolution du matériau vitreux vers un équilibre, sans nécessairement donner lieu à une augmentation significative de la mobilité moléculaire de la phase amorphe.

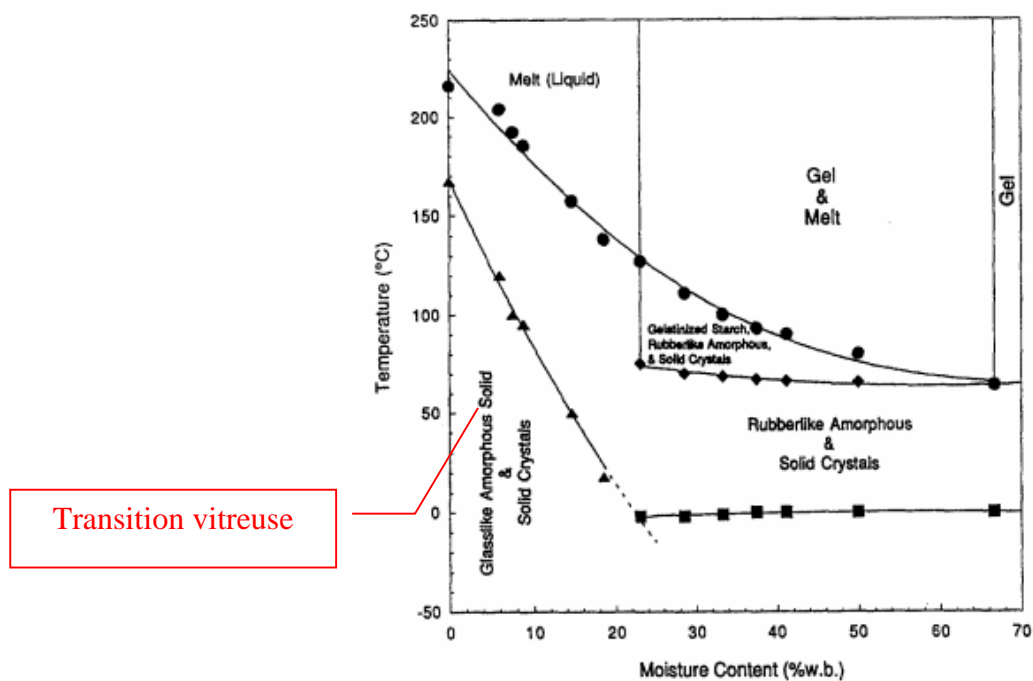


Figure 11 : Diagramme de phase du blé en fonction de la teneur en eau
(Kaletunç and Breslauer, 1996)

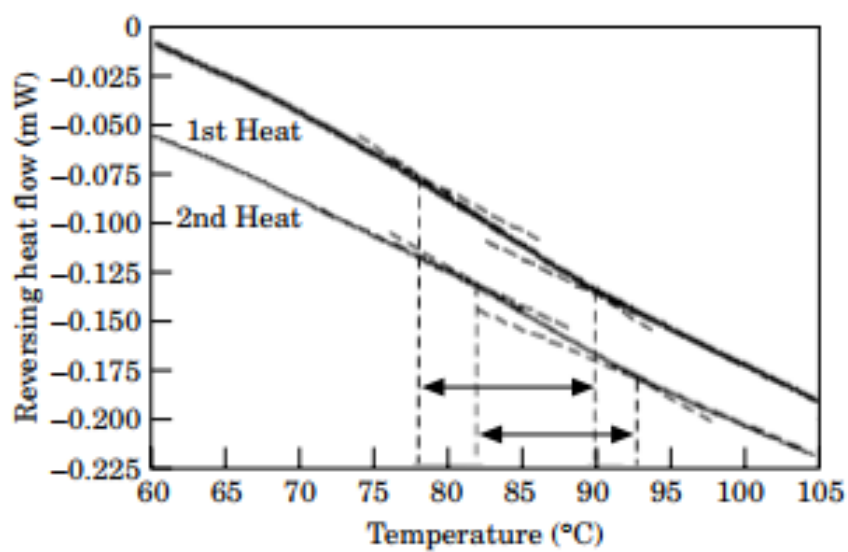


Figure 12 : Observation de la transition réversible avec deux chauffages
(Cuq et Icard-Vernière, 2001)

Plusieurs études ont montré la réversibilité de la transition vitreuse dans les polymères. Plusieurs auteurs ont pu démontrer cela en faisant subir deux chauffages successifs à l'échantillon afin de pouvoir observer la transition vitreuse au cours du deuxième chauffage (Noel *et al.*, 1995 et Roos and Karel, 1991).

Dans l'amidon les transitions vitreuses ne sont pas faciles à mettre en évidence.

En effet, les températures auxquelles elles apparaissent varient avec le degré de polymérisation des constituants des phases amorphes et avec la teneur en eau du produit (Roos, 1995). L'hétérogénéité de la longueur des chaînes d'amylose de la phase amorphe, les chevauchements des transitions thermiques, les variations des conditions d'analyse et la sensibilité limitée des appareils disponibles sont les facteurs qui expliquent que l'identification des températures de transition vitreuse des amidons soit aussi malaisée.

Maurice *et al.*, (1985) ont montré que la transition vitreuse de l'amidon (cas du riz) précède la gélatinisation. La transition vitreuse est bien visible à des teneurs faibles. Une étude réalisée sur le l'amidon du blé (Zeleznak et Hosney, 1987), indique qu'à des teneurs en eau élevées, la température de transition vitreuse coïncide avec la température de début de gélatinisation (figure 10). Mais à des teneurs faibles (13-17% base sèche), elle est nettement déterminée et séparée du pic de gélatinisation qui survient à des températures à températures élevées en eau limitant.

La figure 11 montre les différents états de la farine de blé (Kaletunç and Breslauer, 1996), une matrice contenant des protéines et de l'amidon, lorsqu'elle est soumise à différentes teneurs en eau. A une teneur en eau comprise entre 0-20% (base humide), la température de transition vitreuse diminue de 170°C à 10°C et à une teneur en eau élevée la Tg devient négative.

En appliquant deux de chauffages successifs sur le blé, Cuq et Icard-Vernière, (2001) ont détecté la transition vitreuse au cours des deux chauffages (figure 12).

Chapitre 3 : Matériel et Méthodes

I. Matériel végétal

Les lentilles (lentille verte du Berry) ont été fournies par Brueggen France SNC. Quant au niébé, deux variétés ont été utilisées. Il s'agit des variétés Wankoun et Atchawe-Tola provenant du Bénin. Dès la réception des différentes légumineuses, elles sont conditionnées sous vide et stockées dans une chambre froide à 7°C.

II. Fractionnement des légumineuses

La séparation des protéines et de l'amidon des légumineuses a été effectuée suite à une succession d'opérations à savoir : **le décortilage, le broyage et le tamisage de la farine broyée en se basant sur le profil granulométrique**. Les échantillons résultants de ces différentes opérations intermédiaires ont été également caractérisés du point de vue physico-chimique afin de déterminer les compositions en amidon et en protéines après chaque opération.

a) Décortilage des graines de légumineuses :

Le décortilage des graines de légumineuses a été effectué avec le décortiqueur DMS500. Ce décortiqueur fonctionne par abrasion lors du passage des graines dans un cylindre abrasif horizontal tournant dans une grille cylindrique. Le cylindre abrasif est constitué de l'empilement de meules séparées par des entretoises en caoutchouc. Le fonctionnement en continu de l'appareil permet, en intervenant sur la trappe de sortie, de contrôler en permanence le niveau de décortilage des grains.

En fonction de la graine de légumineuses, un réglage de l'appareil a été fait afin d'enlever les téguments des graines et d'éviter les pertes de l'albumen.

Pour avoir une bonne pureté des graines décortiquées, un tamisage manuel à l'aide d'un tamis de mailles 2mm a été réalisé afin de retirer les résidus de téguments et le hile des graines.

b) Broyage-Tamisage de la farine-Purification par table densimétrique

Deux différents types de broyeurs ont été utilisés. Il s'agit du broyeur à couteaux RETSCH SM100 et du broyeur à broches HOSOKAWA ALPINE UPZ.



Figure 13 : Table densimétrique

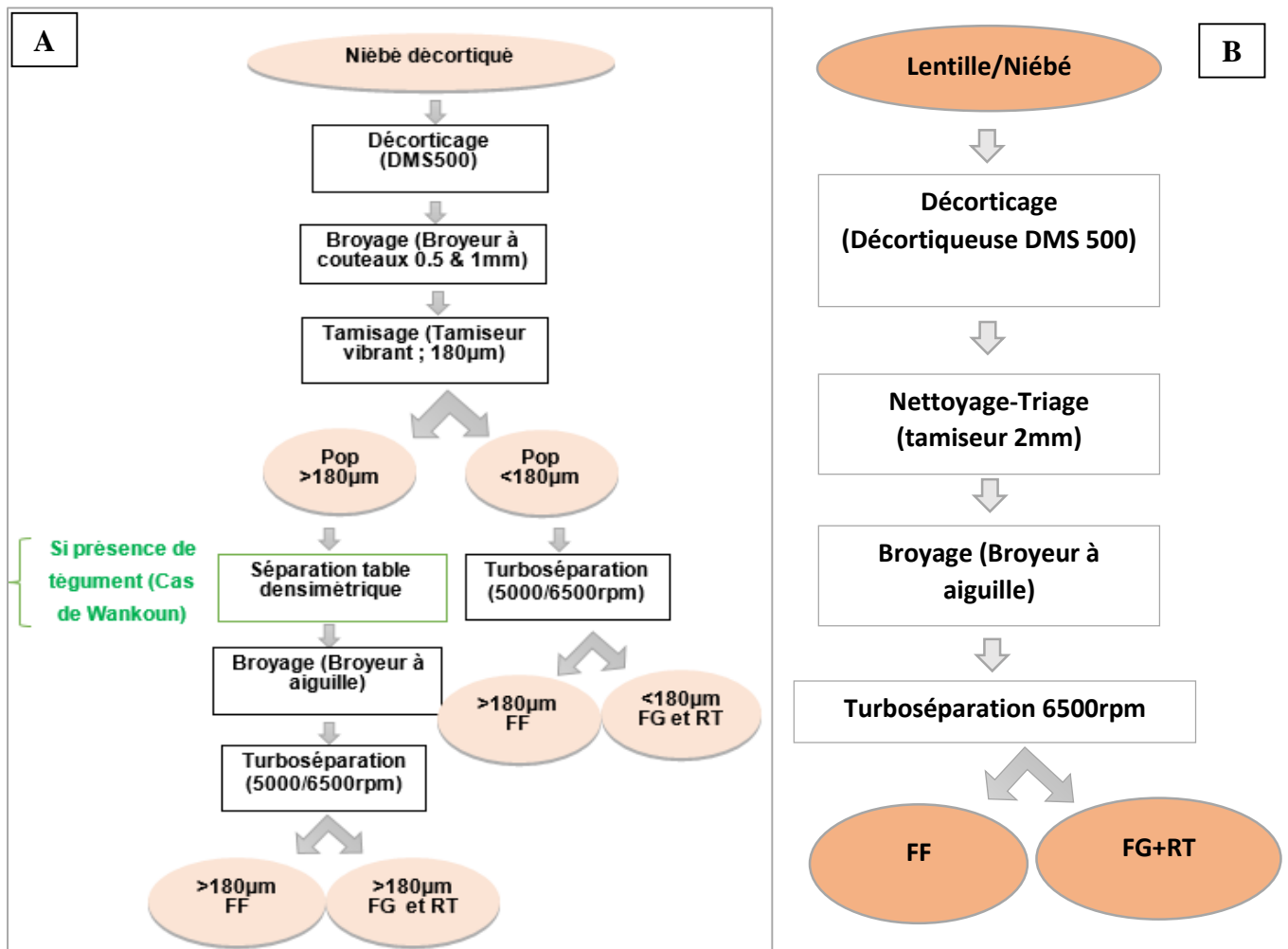


Figure 14 : Schéma de séparation de l'amidon et des protéines du Niébé

FF= Fraction fine ; FG = Fraction grossière et RT=Rejet de turboséparation

Le broyage des lentilles a été effectué directement avec le broyeur à broches

Quant aux deux variétés du niébés, elles ont été broyées soit directement au broyeur à broches soit en utilisant les deux types de broyeurs (Couteaux et Broches). Pour le broyeur à couteaux, les graines ont été broyées deux fois avec des grilles de différentes mailles. Le premier broyage a été réalisé avec une grille de 1mm et le deuxième à l'aide d'une grille de mailles 0.5mm.

En effet, les graines du niébé ont été d'abord broyées au broyeur à couteaux puis la farine obtenue a été tamisée avec un tamis de grille 180µm. Le tamisage est réalisé avec une tamiseuse à vibrations (Fritsch, ANALYSETTE 3 PRO).

Après tamisage, on obtient deux différentes fractions, l'une contenant des particules de tailles inférieures à 180µm et l'autre des particules supérieures à 180µm. La fraction contenant les particules supérieures à 180µm est ensuite rebroyée au broyeur à broches pour obtenir une farine qui peut être turboséparées.

Avant le rebroyage des particules supérieures à 180µm, une séparation des résidus de téguments de la variété Wankoun du niébé a été réalisée sur une table densimétrique (figure 13). La table densimétrique exploite les plus petites différences dans le poids spécifique du produit à séparer.

c) Turboséparation

Le turboséparateur **Hosokawa Alpine** (figure 15) a été utilisé pour le fractionnement des farines en fractions protéique et enrichie en amidon. La séparation a été effectuée en mode ATP (50 ATP : fractionnement de produits ultra fin, 2-120µm). La séparation des particules se fait par flux d'air généré par une turbine.

Deux vitesses de rotation de la turbine, 5000 rpm et 6500 rpm, ont été testées sur les deux variétés du niébé afin d'obtenir une meilleure séparation de l'amidon et des protéines contenus dans les légumes et d'avoir par la même occasion un bon rendement de séparation.

La lentille a été turboséparées directement à 6500 rpm. Cependant, la fraction grossière de la première turboséparation a été rebroyée au broyeur à broches et turboséparées une seconde fois à 6500 rpm en se basant sur la méthode utilisée par Tyler *et al.*, 1981, afin d'augmenter le rendement en fraction fine.

Les figures 14 A et 14 B résument toutes les étapes de fractionnement des protéines et de l'amidon de la lentille et des variétés du niébé.

Certains essais ont été répétés deux fois. L'ensemble des travaux de fractionnement réalisé est récapitulé dans le tableau 3.

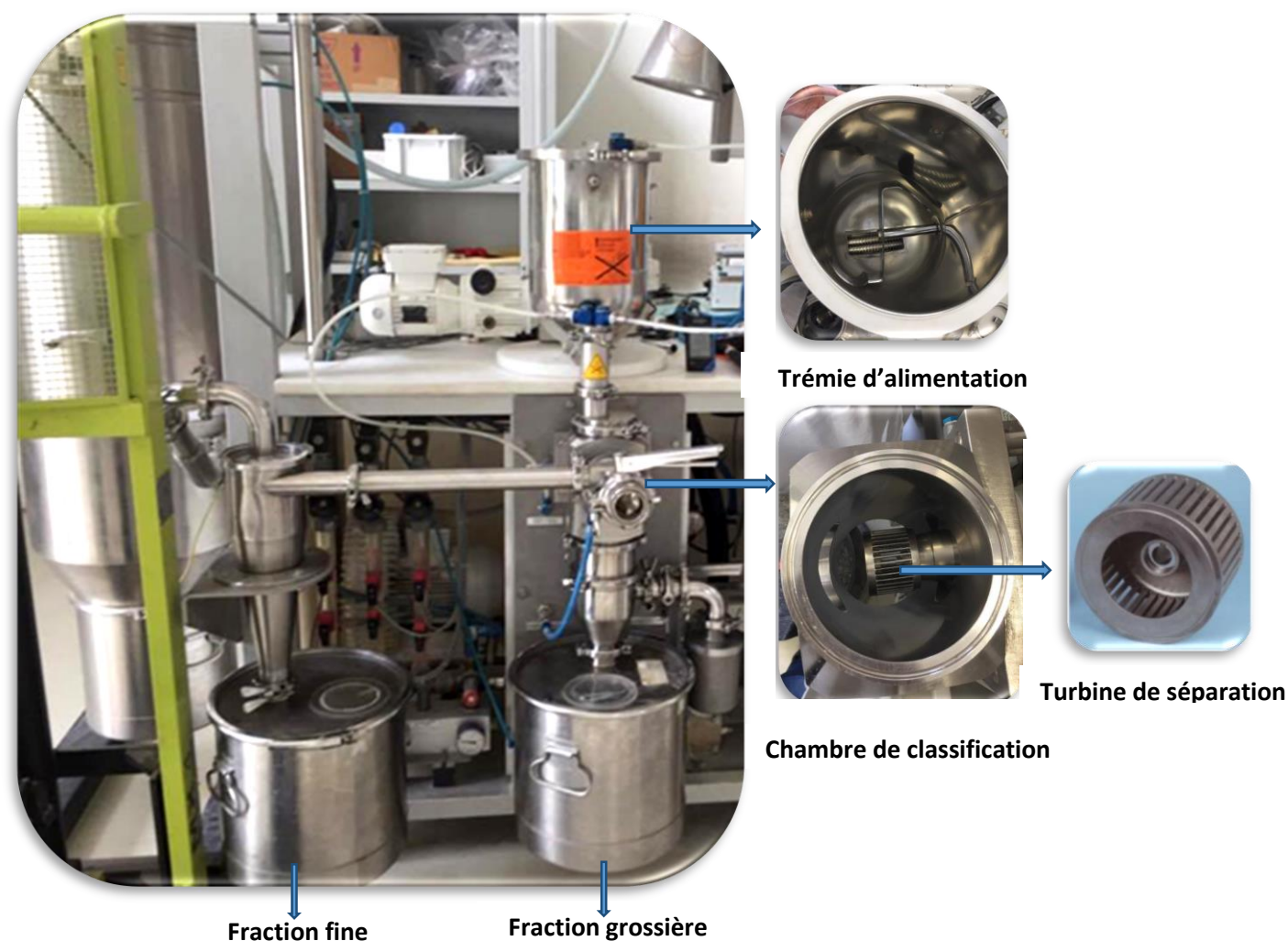


Figure 15 : Turboséparateur Hosokawa Alpine

(Photo prise à INRA-Montpellier-UMR IATE)

Tableau 3 : Tableau récapitulatif du nombre de fractionnements réalisé

Légumineuses	Procédé		
	Broyage (Couteaux+ broches) et Turbo 5000rpm	Broyage (Couteaux+ broches) et Turbo 6500rpm	Broyage broches et Turbo 6500rpm
A. Tola	1		1
Wankoun	2	1	1
Lentille			2

d) Analyse des physico-chimique des légumineuses et des fractions turboséparées

→ Détermination de la matière sèche

La détermination de la teneur en eau dans les échantillons a été réalisée suivant une méthode normative dont la référence est NF EN ISO 712 : 2010. Elle consiste en un séchage pendant 2 heures d'une prise d'essai de 5 g (de granulométrie inférieure à 1,7mm) à une température comprise entre 130°C et 133°C. La teneur en eau est exprimée en pourcentage, base humide.

→ Dosage de l'amidon

Le dosage de l'amidon a été réalisé suivant un protocole adapté à la méthode de HOLM *et al.*, (1985). Cette méthode consiste en une détermination des hydrates de carbone dans l'échantillon par hydrolyse enzymatique. Le dosage se fait en trois étapes :

- ① **Gélatinisation à 99°C (25 min) avec l'α-amylase Termamyl 120 L** : elle permet la réduction de chaîne d'amidon en maltodextrine.
- ② **Incubation à 60°C (30 min) en présence de l'amylo-glucosidase** : elle conduit à l'obtention de molécules de glucose.
- ③ **Détermination du glucose qui correspond à l'amidon libre dans le produit** : elle se fait en présence de deux agents (glucose oxydase et peroxydase) qui vont permettre la coloration rose de l'échantillon après 10 minutes à 37°C. L'absorbance de la solution mesurée à 510nm à l'aide d'un spectromètre permet de calculer la teneur en amidon de l'échantillon.

$$Teneur\ en\ amidon\ (\% \text{ base sèche}) = \frac{(Abs * 0.9 * 10 * 100 * PC) * 100}{(0.05 * 0.5 * 1000 * MS)} - FG$$

Abs : L'absorbance mesurée à 510nm

PC : Pente de la courbe d'étalonnage

0,9 : Facteur de conversion entre le glucose et l'amidon

10 ; 100 ; 0.05 et 0.5 : Facteurs de dilution

MS : Matière sèche

FG : Glucose libre

→ Dosage des protéines

Le dosage des protéines a été réalisé suivant la méthode de Kjeldahl (NF EN ISO 20483). La méthode consiste en une minéralisation de la matière organique par l'acide sulfurique en présence d'un catalyseur, l'alcalinisation des produits de réaction, la distillation de l'ammoniac libéré et la collecte dans une solution d'acide borique, suivie d'un titrage avec une solution d'acide chlorhydrique volumétrique standard. La teneur en protéines est calculée par la formule suivante :

$$\text{Teneur en Protéines (\% base sèche)} = \frac{140 * K * (V_{ech} - V_{blanc}) * Norm}{Weight * MS}$$

Où :

- **Vech**= Volume en mL de H₂SO₄ de l'échantillon
- **Vblanc** = Volume en mL de H₂SO₄ du blanc
- **Norm** = Normalité de HCl (0.1)
- **MS** = Matière sèche de l'échantillon (% base humide)
- **K**= Facteur de conversion (6.25)

→ Dosage des lipides

La méthode utilisée permet la détermination de la teneur en lipides libres (triglycérides, acides gras, ...), extractibles à l'éther éthylique, dans un échantillon donné. Elle s'applique à des produits secs dont la teneur en eau est inférieure à 14% (base humide). Cette procédure s'inspire d'une méthode AOAC (2003.05: Crude Fat in Feeds, Cereal Grains, and Forages).

Il s'agit d'une méthode gravimétrique. Les lipides libres sont extraits par l'éther diéthylique bouillant (34,6°C) sous reflux. Après élimination du solvant, le résidu huileux est séché puis pesé.

III. Cinétique de gonflement des graines de lentilles et du niébé et fractions turboséparées

Les cinétiques d'absorption d'eau des graines de légumineuses, des fractions protéiques et riche en amidon ont été réalisées à l'aide d'un bain-marie thermo-régulé (WB22, Memmert, Hannover, Allemagne) doté d'une agitation.

1. Gonflement de la graine

La capacité d'absorption de l'eau des graines du niébé et de lentilles a été étudiée comme suit : 30g de graines sont placées dans un bécher en aluminium contenant 120ml d'eau distillée (Ratio 1 : 4 ; g/ml). Le bécher est ensuite mis dans le bain-marie avec agitation réglé à une

température donnée. Après le temps de trempage, les graines sont centrifugées à 200tr/min pendant 5 minutes afin d'éliminer l'excès d'eau. Pour mesurer la capacité d'absorption d'eau, les graines sont pesées et placées à l'étuve à 105°C pendant 48heures.

Le gonflement est exprimé en gramme d'eau dans la graine à une température et à un instant « t » donnés par gramme de matière sèche.

2. Gonflement des protéines et de l'amidon

Le gonflement de la fraction protéique et de l'amidon des légumineuses a été réalisé avec 0.3 mg de farine (pesé dans un tube en pyrex de capacité 10ml) dans 5ml d'eau distillée. La suspension a été chauffée à différentes températures (30°C, 40°C, 50°C, 60°C, 70°C, 75°C, 85°C, 95°C) pendant 15 minutes. Les tubes sont ensuite centrifugés à 1500 tr/min pendant 15 min. Le surnageant et le culot sont placés à l'étuve à 105°C pendant 24h.

La capacité d'absorption de l'eau est exprimée en quantité d'eau en gramme retenue par gramme de matière sèche initiale.

IV. Analyse du comportement thermique des protéines et de l'amidon par Differential Scanning Calorimetry

L'analyse des changements d'états dans les échantillons a été réalisée avec la DSC 8500 Perkin Elmer (France).

1. Préparation des échantillons

Les analyses ont été réalisées sur la fraction enrichie en protéines et celle enrichie en amidon du niébé (wankoun) ayant respectivement une teneur en eau de départ de 9,1% et 8,7% en base humide. 40mg de l'échantillon contenant le mélange eau-farine ont été pesés afin d'obtenir des ratios de 0,2, 0,4, 0,6, 0,8, 1, 2, 3 et 4 en base sèche. Les farines sans ajout d'eau ont été également analysées. Les échantillons ont été pesés dans des capsules en inox puis scellés. Ils sont ensuite laissés au repos pendant la nuit pour une meilleure homogénéisation de l'eau dans la farine. Toutes les analyses ont été répétées deux fois.

2. Analyses DSC

- DSC classique :

Le programme appliqué sur les échantillons a été un chauffage de 20°C à 160°C à une vitesse de 10°C/min suivi d'un refroidissement de 20°C à 160°C à 100°C/min

- Le Double scan :

Les échantillons ont été soumis à deux cycles de chauffage à 10°C/min de 20°C à 160°C suivi d'un refroidissement à 100°C/min. Avant le deuxième chauffage, un temps de stabilisation de 5min à 20°C du système a été effectué.

- **Le Stepscan :**

Le chauffage a été réalisé de -20°C à 160°C avec un incrément de 2°C à 5°C/min suivi d'une isotherme de 1 min après chaque saut.

- **Hyper DSC**

Les échantillons ont été chauffés de 20°C à 160°C à une vitesse rapide de 50°C/min suivi d'un refroidissement de 20°C à 160°C à une vitesse de 100°C/min.

V. Analyse des données

L'analyse des résultats a été réalisée avec le logiciel Xlstat. Une analyse de variances des données de gonflement ainsi que de DSC a été faite. Concernant les données de gonflement, les effets combinés de la température, de la durée et du type de légumineuses ont été analysés sur la capacité d'absorption de l'eau des graines des deux différentes légumineuses. Pour les données de DSC, l'impact de la teneur sur la variation des températures et des enthalpies de transitions a été étudié sur chaque matrice distinctement (Protéines et Amidon).

Chapitre 4 : Résultats et Discussion

I. Séparation par voie sèche de l'amidon et des protéines du Niébé et de la lentille : Turboséparation

1. Composition physico-chimique des matières premières utilisées

La composition en protéines, amidon, lipides ainsi que la teneur en eau des deux variétés du niébé et de la lentille est présentée dans le tableau 4.

Le constituant majoritaire dans les trois légumineuses est l'amidon qui représente respectivement 38.5% (base sèche) de la composition de la graine de Wankoun, 43.6% (base sèche) pour Atchawe tola et 37.1% (base sèche) de celle de la lentille.

Les protéines représentent le second constituant des légumineuses avec 25.7% (base sèche), 24.2% (base sèche) et 27.9% (base sèche) respectivement pour les graines de Wankoun, de Atchawe tola et de la lentille.

La composition en lipides des trois légumineuses est relativement faible (environ 1% en base sèche).

Les teneurs en protéines et en amidon élevées de ces trois légumineuses expliquent l'intérêt porté à ces deux constituants dans le cadre de l'analyse du comportement thermique des légumineuses.

Les résultats obtenus sur la composition des trois graines sont proches des données trouvées dans la littérature concernant la composition physico-chimique de ces différentes légumineuses. Huang *et al.*, (2007) ont déterminé des compositions similaires dans le niébé (49,6 % (bs) \pm 01 pour la teneur en amidon et 23,1% (bs) \pm 0,2 pour les protéines). La teneur en protéines et la composition en amidon des graines de lentille sont respectivement 28,6% (bs) \pm 0,6 et 44,3% (bs) (Bhatty *et al.*, 1976).

Tableau 4 : Composition physico-chimique du niébé et de la lentille

Légumineuses	Teneur en eau (%bh ¹)	Protéines (%bs ²)	Amidon (%bs)	Lipides (%bs)
Niébé (Wankoun)	11,5 \pm 0,04 ³	25,7 \pm 0,2	38,5 \pm 0,3	1,65 \pm 0,06
Niébé (A.Tola)	10,6 \pm 0,1	24,2 \pm 0,6	43,6 \pm 1,8	1,48 \pm 0,09
Lentilles	10,1 \pm 0,3	27,9 \pm 0,2	37,1 \pm 0,7	0,90 \pm 0,04

¹ : base humide ; ² : base sèche ; ³ : Moyenne \pm écart type

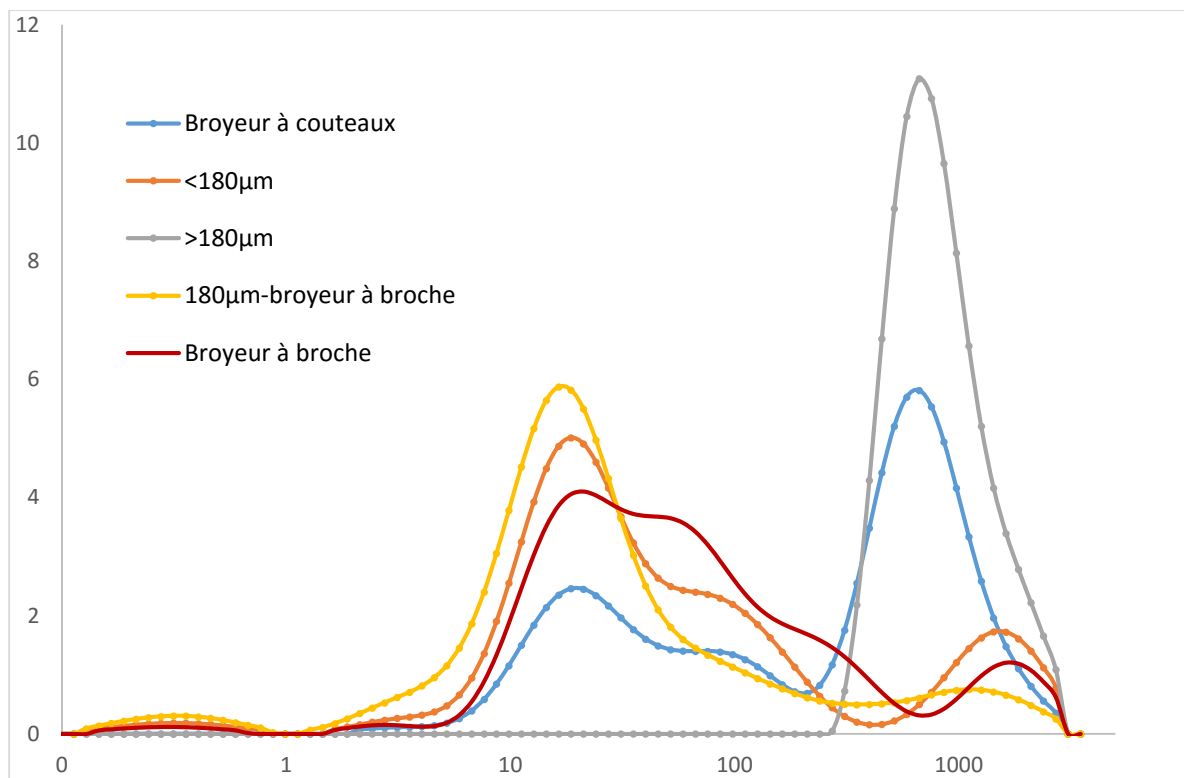


Figure 16 : Effet broyage sur le profil granulométrique : Exemple de wankoun

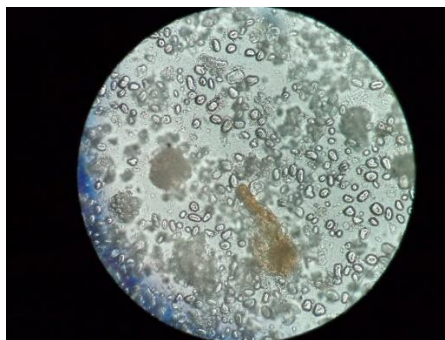


Figure 17 : Visualisation de la fraction grossière de wankoun au microscope

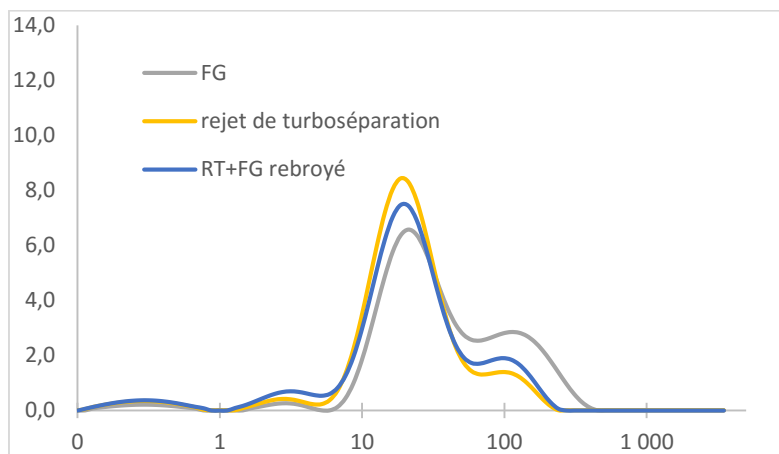


Figure 18 : Profil granulométrique des fractions de lentilles

2. Effet du décortiquage et broyage sur le fractionnement des légumineuses

Le meilleur rendement au décortiquage a été obtenu pour la lentille (82%, Tableau 5) par rapport aux deux variétés du niébé (70 et 77%, tableaux 6-9). Ceci pourrait s'expliquer par la force d'adhésion entre le cotylédon et le tégument des différentes graines. En effet, la relation entre la microstructure des graines et celle de leur tégument permet de mieux comprendre le comportement des légumineuses au cours du décortiquage (Sefa-Dedeh et Stanley, 1979). Le décortiquage s'accompagne d'un enrichissement en protéines (de 2% environ), mais surtout d'un enrichissement en amidon de près de 10 %.

Les deux variétés du niébé ont subi un premier broyage à couteaux suivi d'un tamisage à 180µm des fractions. Le faible rendement obtenu pour wankoun est lié à la séparation sur table densimétrique de la fraction >180µm, réalisée pour éliminer le reste de tégument de la graine, ce qui a entraîné également la perte des particules de poids et de densité faibles sous l'effet de la ventilation générée par la table densimétrique.

Un broyage direct au broyeur à broches après le décortiquage, permet d'améliorer le rendement de 5%, environ, par rapport au double broyage et au tamisage. Ceci est lié aux pertes inhérentes à chaque opération technologique (manipulation, volume mort dans les machines). Le profil granulométrique des farines obtenues par broyage direct contient des particules dont le pic se situe à 35µm pour wankoun, 21.2 µm pour Atchawe tola et 27µm pour les lentilles. Aussi, le rebroyage de la fraction >180µm (courbe jaune, figure 16), obtenue après broyage (broyeur à couteaux) et tamisage à 180µm, donne une fraction dont la taille des particules est de 18µm environ. Le broyeur à broches a permis de passer d'une taille de 665µm (courbe grise) à 18µm sans endommagement des granules d'amidon (0.9% bs d'amidon endommagé).

Cependant le broyage direct peut présenter des inconvénients lors de la turboséparation si le décortiquage des graines, opération préalable pour débarrasser les graines de leur tégument, est mal réalisé car les fibres peuvent se retrouver dans la fraction grossière étant donné leur taille. Nous pouvons citer comme exemple, le cas de la variété wankoun du niébé où la farine obtenue par broyage direct a donné après turboséparation, une fraction grossière contenant assez de tégument (particules colorées ; figure 17).

Un autre inconvénient du broyeur à broches est lié à son faible impact sur les particules d'une farine fine. En effet, la fraction grossière et le rejet de turboséparation de la farine de lentille obtenue par fractionnement à 6500rpm ont été rebroyée au broyeur à broche et la

distribution en taille des particules donne un profil très proche après re-broyage (figure 18), avec seulement une très légère diminution des particules de 100 μm .

Tableau 5 : Résultats décortilage et broyage (broches direct) des lentilles

Procédé	Produit	rendement	Amidon (%bs)	Protéines (% bs)	Pic ¹ (μm)
	graines entières	100	37,1	27,9	
Décortilage	Décortiquée	82,48		29,1	
Broyage	Décortiqué broyé	75,94		29,1	27

Tableau 6 : Résultats décortilage et broyage (couteaux + broches) de wankoun

Procédé	Produit	Rendement (%)	Amidon (%bs)	Protéines (% bs)	Pic (μm)
	graines entières	100,0	38,5	25,7	
Décortilage	graines décortiqué	74,3		27,3	
Broyage	Décortiqué-broyé	67,5		27,3	665
Tamissage	Pop < 180 μm	27,6	49,8	28,4	21.2
	+				
	Pop > 180 μm		48,9	29,5	665.8
	Pop > 180 μm broyé	21,2	48.9	29.5	18.6

¹ : Taille moyenne du pic de granulométrie

Tableau 7 : Résultats décortilage et broyage (broches direct) de wankoun

Procédé	Produit	rendement	Amidon (%bs)	Protéines (% bs)	Pic (µm)
	W graines entières	100	38,5	25,7	
Décortilage	W décortiqué	70,0	39,8	27,3	
Broyage direct	Décortiqué broyée	64,9			35

Tableau 8 : Résultats décortilage et broyage (couteaux + broches) de Atchawe-Tola

Procédé	Produit	Rendement (%)	Amidon (%bs)	Protéines (% bs)	Pic (µm)
	graines entières	100,0	43,6	24,2	
Décortilage	graines décortiqué	79,4		25,2	
Broyage	Décortiqué-broyé)	76,8		25,2	756.4
Tamissage	Pop < 180µm	33,2	53,3	25,3	18.7
	+				
	Pop >180µm		50,1	26,7	665.8
	Pop > 180µm broyé	37,7	50,1	26,7	18

Tableau 9 : Résultats décortilage et broyage (broches direct) de Atchawe tola

Procédé	Produit	rendement	Amidon (%bs)	Protéines (% bs)	Pic (µm)
	graines entières	100	24,2	43.6	
Décortilage	décortiqué	76.9	25,2	38.5	
Broyage	décortiqué broyée	74.7	25,2	38.5	21.2

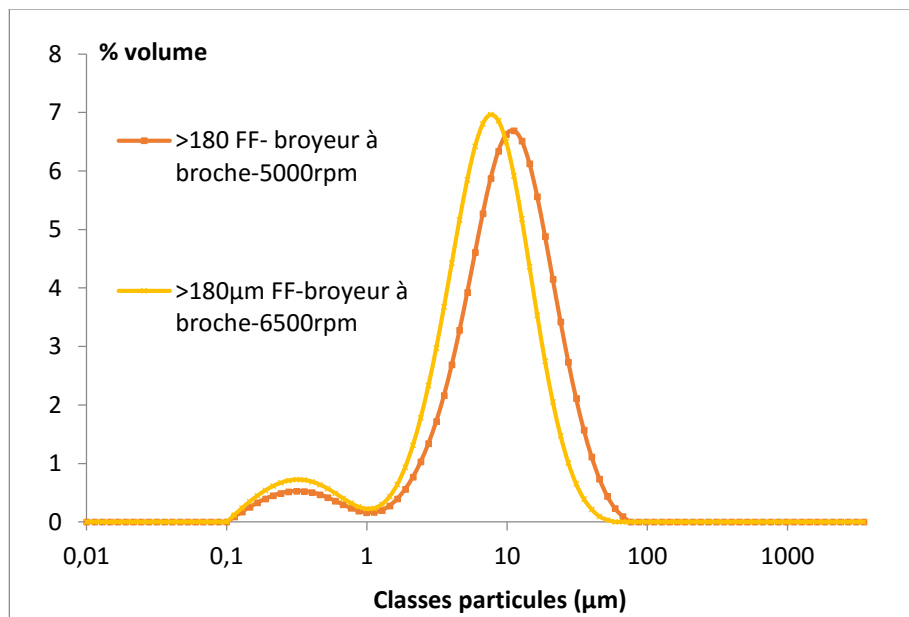


Figure 19 : Fractions fines obtenues avec différentes vitesses de séparation : exemple de population >180μm

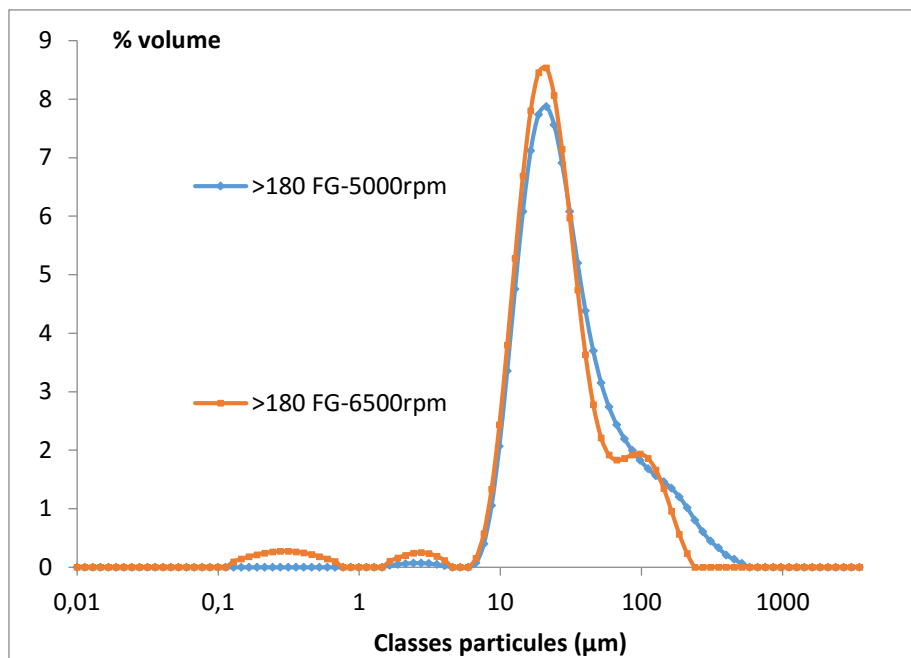


Figure 20 : Fractions grossières à différentes vitesse

3. Effet de la vitesse de la turbine sur le fractionnement des légumineuses

Les résultats de fractionnement des variétés du niébé à 6500rpm et 5000rpm montrent l'influence de la vitesse de séparation sur le profil granulométrique des fractions fines obtenues. La taille du pic de la fraction fine fractionnée à 6500 rpm est légèrement plus faible (7,6 μm , exemple de population $>180\mu\text{m}$ de wankoun) par rapport à celle des particules obtenue à 5000 rpm (9,9 μm) (Figure 19). Mais dans la fraction grossière, on n'observe pas d'impact de la vitesse de séparation sur le profil granulométrique (Figure 20).

En effet, les vitesses de séparation élevées permettent aux particules dans la gamme de taille des protéines de traverser la turbine de classification (Pelgrom et al., 2013b) pour se retrouver dans la fraction fine. Ceci permet alors une meilleure pureté de la fraction protéique. Comme exemple nous pouvons prendre le cas de la variété wankoun du niébé dont la fraction fine turboséparée à 6500 rpm contient plus de protéines (gain de 8%) et moins d'amidon (diminution de 10%) par rapport à la fraction fine obtenue à 5000 rpm (figure 21 A). Mais ceci se fait au prix d'une diminution du rendement massique de la fraction fine à vitesse élevée.

La vitesse de séparation n'a pas d'influence significative sur la composition de la fraction grossière (figure 21 B). Ces résultats rejoignent nos données de granulométrie sur les fractions grossières fractionnées à 5000rpm et 6500rpm où les profils granulométriques étaient similaires.

De plus, bien que le fractionnement à 6500rpm permet une meilleure pureté de la fraction fine, elle peut avoir d'impact sur la fraction grossière si les opérations unitaires préliminaires tels que le décorticage et le type de broyage effectué n'ont pas permis l'élimination des impuretés comme les téguments. A titre d'exemple, nous pouvons citer le cas de wankoun broyé directement au broyeur à broche et qui a donné une farine contenant assez de tégument. Les profils granulométriques montrent une même allure de la fraction grossière et de la farine initiale avec des pics observés à 40 μm et 1848 μm (figure 22).

Il faut noter que pour toutes les légumineuses, le rejet de turboséparation a été ajouté à la fraction grossière car les deux fractions avait les mêmes profils granulométriques (exemple figure 18) et des compositions en amidon et en protéines proches.

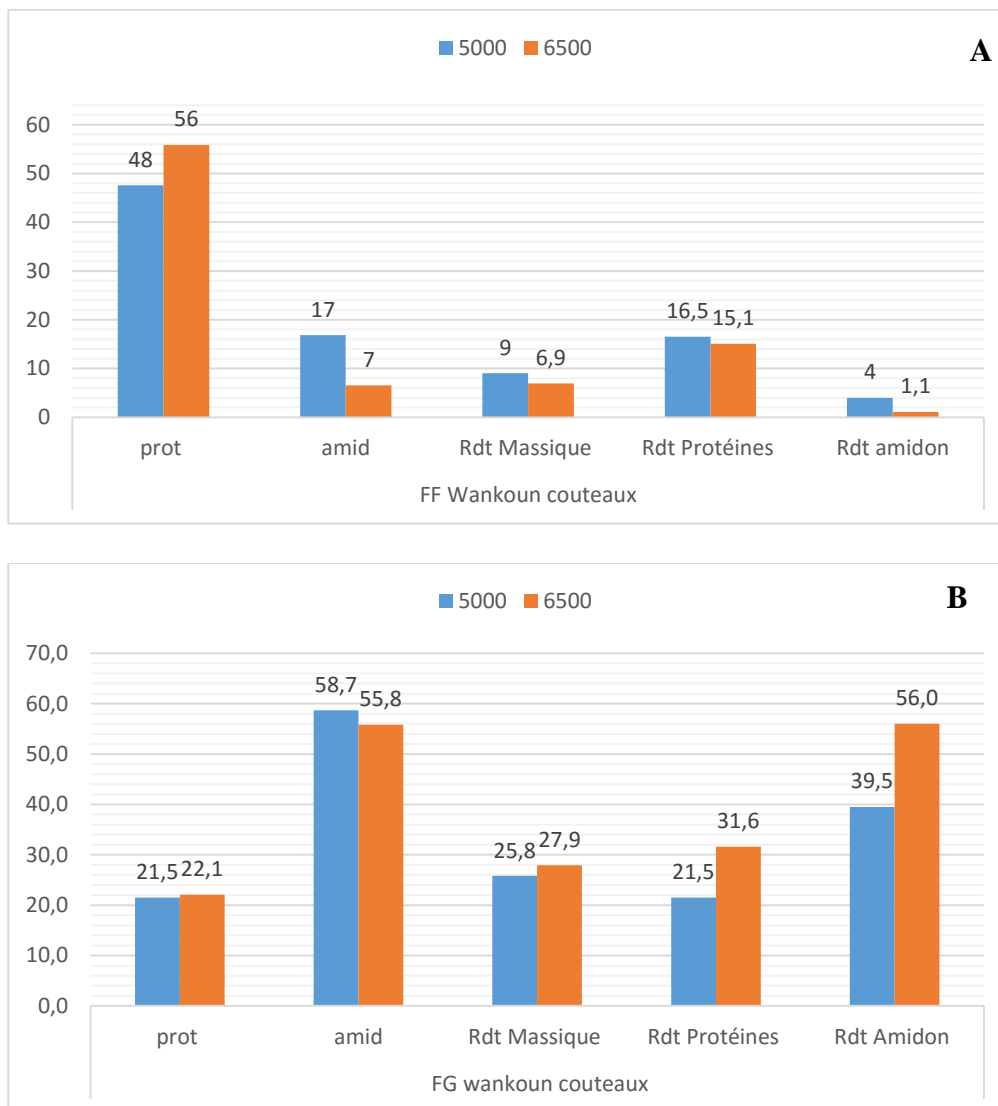


Figure 21 : Composition et rendement des fractions turboséparées du niébé : Exemple de wankoun (couteaux+ broche)

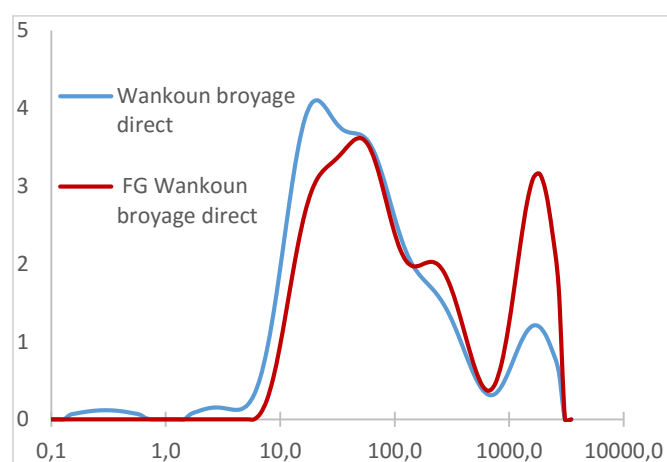


Figure 22 : Profil granulométrique de wankoun broyé directement et de sa fraction grossière à 6500 rpm

Le fractionnement de la lentille à 6500 rpm a montré également une meilleure séparation des protéines et de l'amidon. La fraction fine obtenue contient 65% (base sèche) de protéines qui représentent 29% des protéines initialement présentes dans la graine entière. La fraction grossière quant à elle, contient 61% d'amidon qui représente 72% de l'amidon de la graine entière (figure 23).

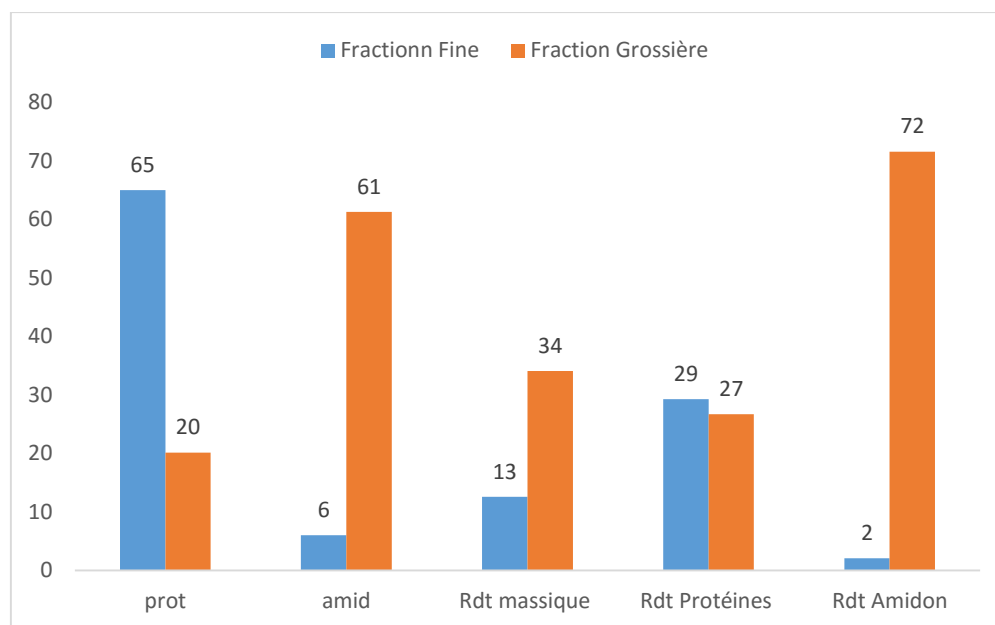


Figure 23 : Composition et rendement des fractions turboséparées de la lentille

Le tableau 10 présente la composition, le rendement massique et les rendements en protéines et en amidon de chaque légumineuse. On constate que le type de broyage effectué impacte sur le rendement massique des fractions obtenues mais pas sur leur composition. Le facteur ayant d'influence sur la composition des fractions est la vitesse de la turbine. Aussi, on note une différence d'une légumineuse à une autre quelle que soit la vitesse de séparation.

Tableau 10 : Tableau récapitulatif des manips de turboséparation

		5000 rpm					6500 rpm				
		Rdt ² massique	Prot ³	Amid ⁴	Rdt Prot	Rdt amidon	Rdt massique	Prot	Amid	Rdt Prot	Rdt amidon
WANKOUN couteaux + broches	FF	9	47,67	16,83	16,75	4,00	6,9	56,6	5,6	15,1	1,1
	FG	25,85	21,49	58,69	21,55	39,35	36,20	22,40	48,41	31,6	56
A. Tola couteaux + broche	FF	15,7	43,32	19,64	28,00	7,10					
	FG	30,8	17,86	60,17	22,70	42,60					
WANKOUN broches	FF						6,3	55,1	7,51	13,6	1,2
	FG						63,9	25,59	54,98	63,6	69,8
A. Tola broches	FF						8,20	51,60	8,6	17,6	1,6
	FG						65,00	21,99	55,2	59,10	62,20
Lentille broches	FF						12,55	65,00	6,0	29,3	2,1
	FG						43,315	20,11	61,3	31,25	71,6

² Rendement

³ Protéines

⁴ Amidon

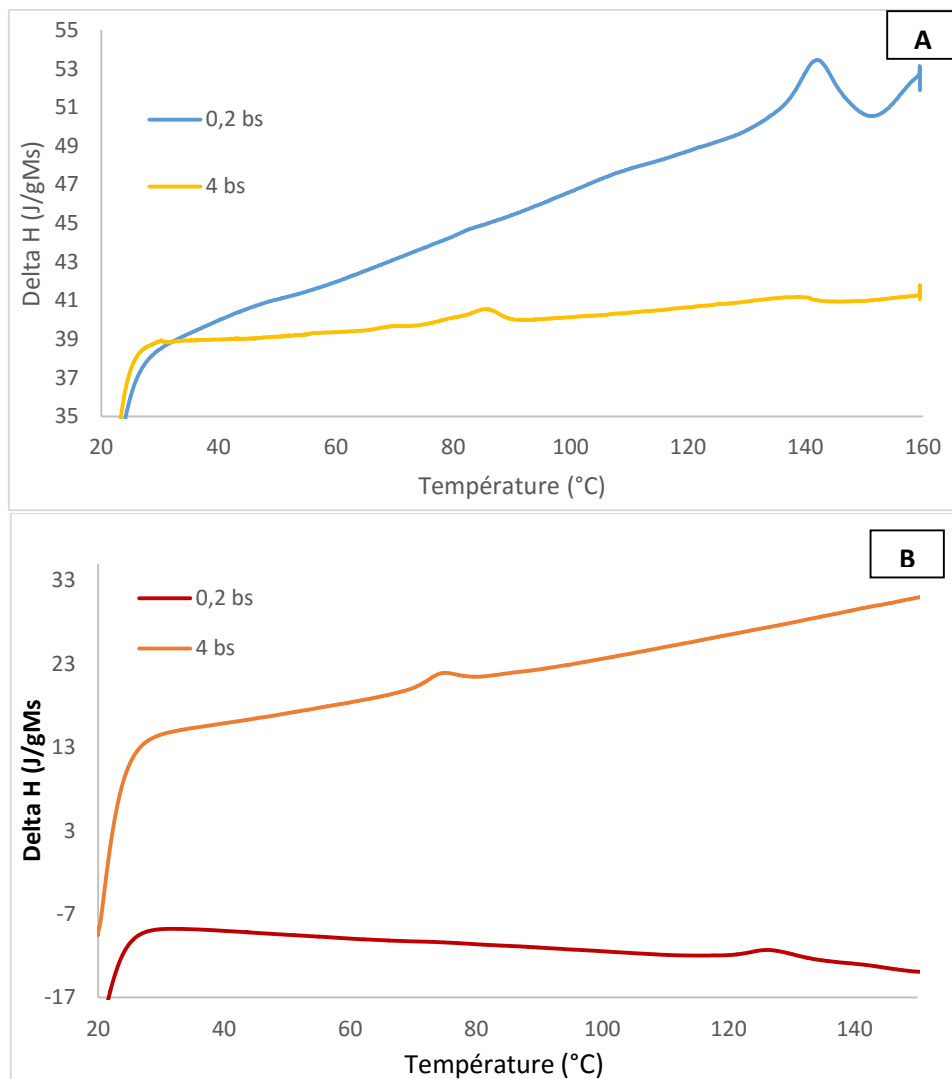


Figure 24 : Profils DSC de l'amidon et des protéines à différentes teneurs en eau (0.4 et 3)
(A = Protéines et B=Amidon)

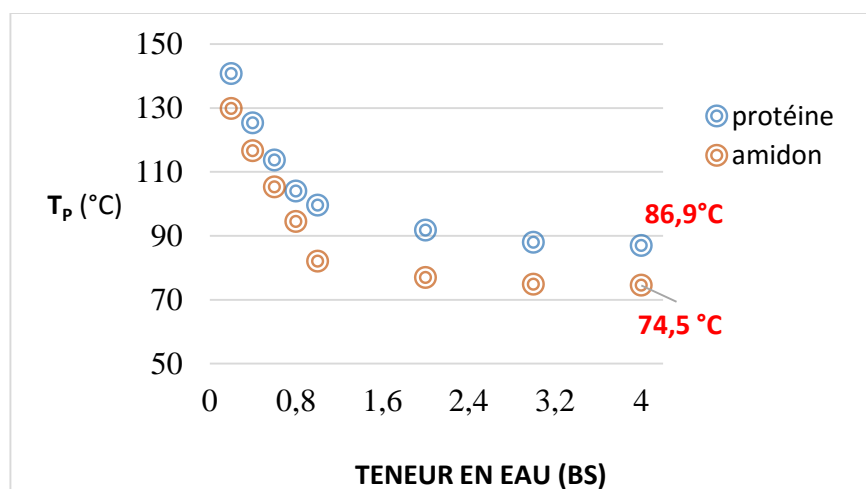


Figure 25 : Températures de dénaturation des protéines et de gélatinisation de l'amidon
obtenues par DSC à 10°C/min

II. Comportement hydrothermal de l'amidon et des protéines du niébé (Var. Wankoun) et de la lentille

Pour la suite des travaux, les transitions de phases et les cinétiques de gonflement des graines et des fractions enrichies en amidon et en protéines ont été étudiées uniquement dans une seule variété du niébé (wankoun). Les fractions protéiques et celles riches en amidon utilisées sont celles turboséparées à 6500 rpm. Un mélange des produits obtenus pour les deux types de broyages a été réalisé (Tableau 10, produits dont les valeurs sont en rouge).

Dans le cas de la lentille, seulement la cinétique de gonflement de la graine a été réalisée au cours de mes travaux.

1. Températures de transitions de phase des protéines et de l'amidon du Niébé (Wankoun) et de la lentille

1.1. Gélatinisation de l'amidon et Dénaturation des protéines

Les figures 24A et 24B montrent les courbes obtenues par DSC respectivement dans les fractions enrichies en protéines et en amidon.

La dénaturation des protéines observée est une réaction endothermique. En effet, lorsque les protéines sont chauffées, elles absorbent la chaleur et elle se déplie sur une plage de température, ce qui donne lieu à une réaction endothermique (Chôma, 2006).

La gélatinisation de l'amidon est aussi un phénomène endothermique qui correspond à la perte de cristallinité de granules d'amidon dans des conditions de chauffage et de teneur en eau données (Briffaz *et al.*, 2012).

Les températures de gélatinisation de l'amidon et de dénaturation des protéines correspondent à la température du pic de l'endotherme qui varie en fonction de la teneur en eau (figure 24 A et 24 B). Les enthalpies de transitions sont déterminées par intégration de l'aire sous la courbe.

La figure 25 présente les températures de transition de phase des protéines et de l'amidon en fonction de la teneur en eau. Les ratios « eau-échantillon » étudiés varient entre 0,2 et 4 base sèche.

En excès d'eau (Ratio =4 en base sèche), la température de dénaturation des protéines du niébé est à 87°C et la température de gélatinisation de l'amidon est à 75°C. La température de dénaturation des protéines (en excès d'eau) observée correspond à ce qui est dans la littérature concernant les protéines riches en viciline et en légumine (Shand *et al.*, 2007) comme le niébé.

Tableau 11 : Enthalpies de gélatinisation de l'amidon

Ratio	Moyenne	Groupes	
0.09	2,3		B
0.2	3,07		B
0.4	10,7	A	
0.6	10,9	A	
0.8	10,3	A	
1	10,1	A	
2	10,03	A	
3	10,7	A	
4	10,6	A	

Tableau 12 : Enthalpies de dénaturation protéines

Ratio	Moyenne	Groupes			
0.09	1,3				D
0.2	5,4		B	C	
0.4	8,3	A			
0.6	6,9		B		
0.8	6,8		B		
1	6,4		B		
2	5,6		B	C	
3	4,5			C	
4	4,5			C	

Huang *et al.*, (2007) ont obtenu une température de gélatinisation de l'amidon du niébé isolé par voie humide à 70°C.

On observe également une croissance de la température de transition des protéines ainsi que de l'amidon lorsque la teneur en eau de l'échantillon diminue. Mais, quelle que soit la teneur en eau, les températures de transitions de phase des protéines sont supérieures à celles des granules d'amidon (figure 25).

Une différence significative a été notée entre les températures de dénaturation des protéines dans les échantillons dont les ratios sont compris entre 0,2 et 2 base sèche ($R^2=0.99$, intervalle de confiance de 95%). Pour les ratios en eau de 3 et 4, il n'y a pas de différence entre leur température de transition.

Concernant la gélatinisation de l'amidon, de 0.09 à 0.8 (base sèche), les températures de transition sont significativement différentes (Tableau 10), mais appartiennent au même groupe de 1 à 4 de teneur en eau en base sèche ($R^2=0.96$, intervalle de confiance de 95%).

1.2. Enthalpies de transitions de phase des protéines et de l'amidon du Niébé (Wankoun) et de la lentille

L'enthalpie de gélatinisation de l'amidon est supérieure à l'enthalpie de dénaturation des protéines quelle que soit la teneur en eau (tableaux 11 et 12).

L'enthalpie de gélatinisation de l'amidon augmente lorsqu'on est à forte teneur en eau (Tableau 11). On observe une valeur d'enthalpie élevée et constante ($\approx 10 \text{ J/g Ms}$) pour les ratios en eau compris en 0,4 et 4 bs. A 0,09 et 0,2, les enthalpies obtenues sont significativement plus faibles à $2,3 \text{ J/g Ms}$ et $3,07 \text{ J/g Ms}$, respectivement. À faible teneur en eau, la valeur de ΔH (enthalpie) représente principalement l'enthalpie de fusion des cristallites d'amidon. A des teneurs en eau élevées, la valeur de ΔH peut expliquer le gonflement des granules et la fusion des cristallites (Biliaderis et al., 1980b).

Un plus faible degré de désordre de l'amidon durant le chauffage à faible teneur en eau a été reporté comme la cause de la diminution de l'enthalpie de transition de phase (Stevens et Elton, 1971).

Dans le cas des protéines, on observe une augmentation significative de l'enthalpie lorsque la teneur en eau diminue. L'enthalpie de transition de phase est maximale ($8,3 \text{ J/g MS}$) à 0.4 base sèche. Aux ratios élevés (3 et 4, base sèche), on observe des valeurs plus faibles ($4,5 \text{ J/g MS}$). Arntfield et Murray, (1981) ont obtenu

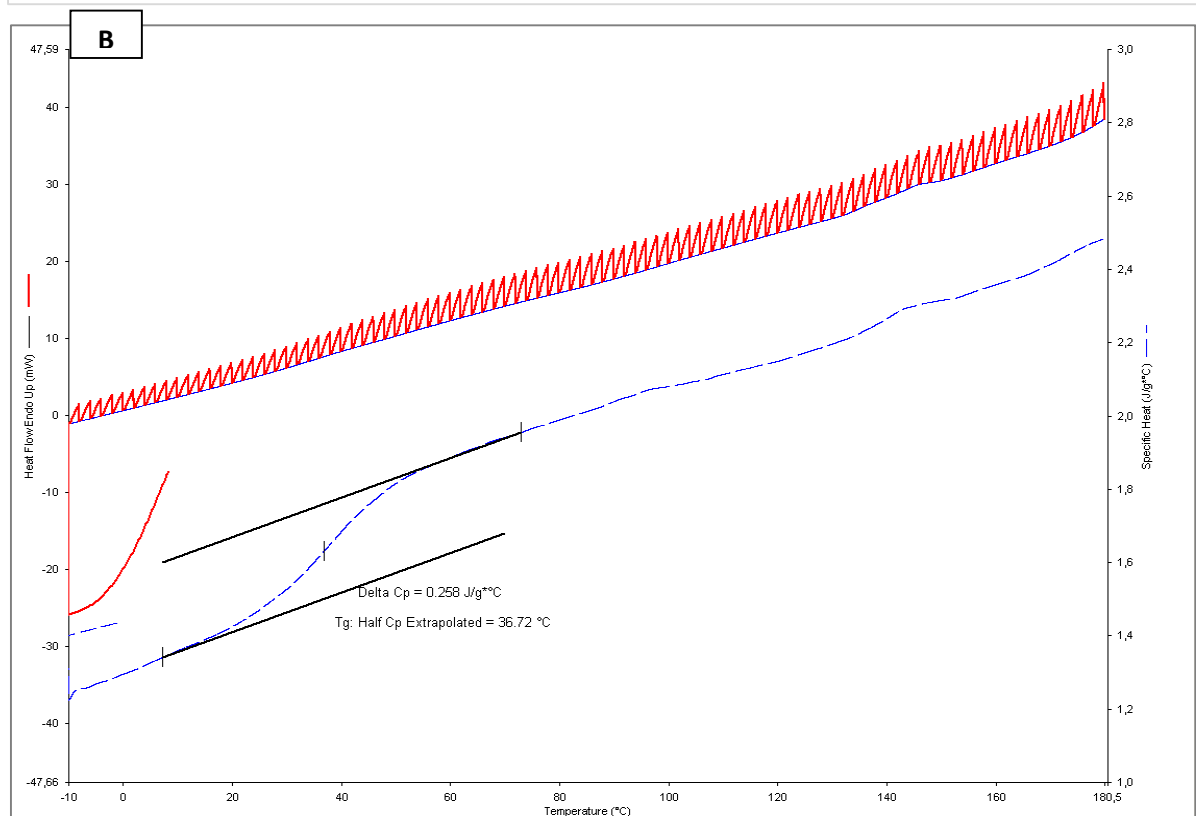
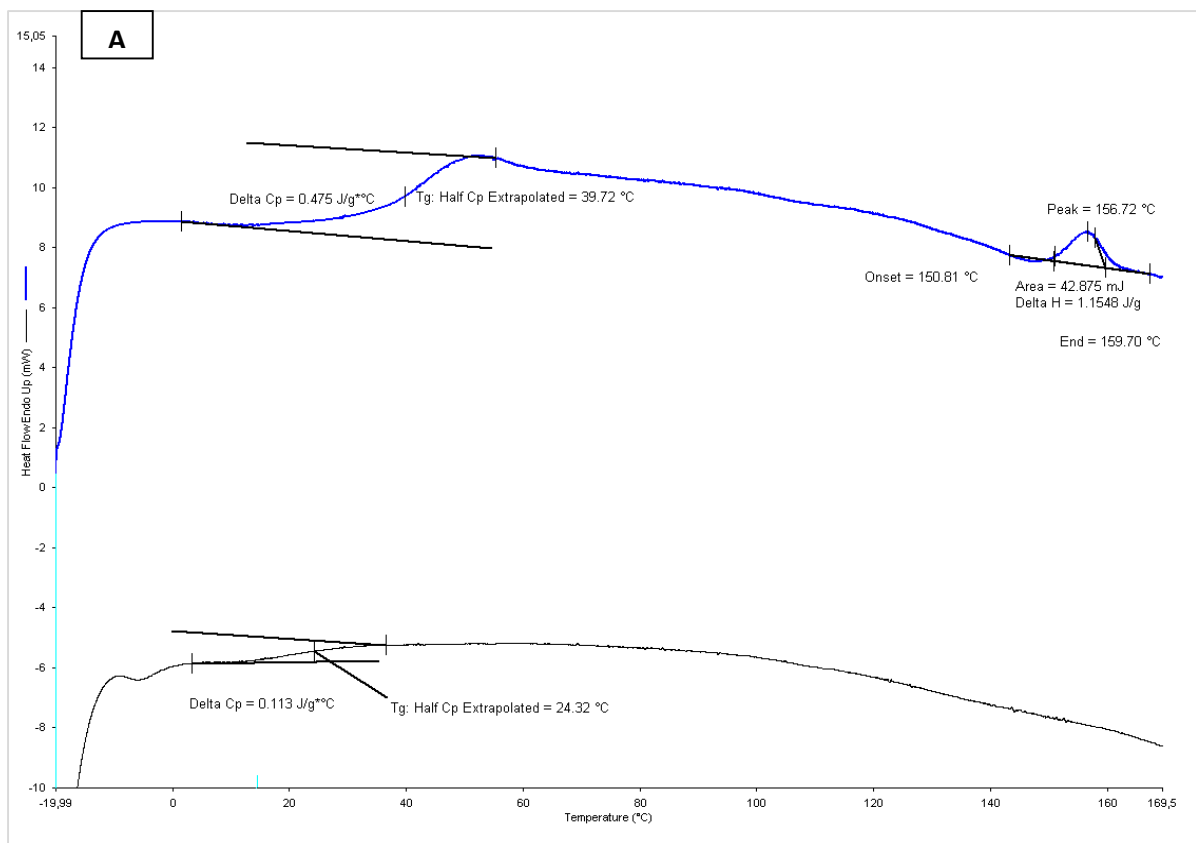


Figure 26 : Transition vitreuse des protéines de niébé (Variété wankoun) déterminée par différentes méthodes (A=Stepscan et B=2 scans)

des valeurs similaires dans les protéines en excès d'eau (3.7 J/g MS et 4.4 J/g MS dans les fractions protéiques du pois et de la féverole respectivement). Sosulski *et al.*, (1985) ont aussi déterminé dans les protéines (en excès d'eau) de plusieurs légumineuses des enthalpies de variant entre 1.5-4.3 J/g MS.

Cependant, les faibles valeurs d'enthalpies (valeurs colorées en rouge, tableau 12) observées à 0.09 et 0.2 peuvent être dues à une erreur d'estimation de l'air sous la courbe étant donné qu'à des teneurs en faibles, la température de dénaturation se décale vers des températures très élevées. Et comme le programme de chauffage appliqué aux échantillons s'arrête à 160°C, la totalité de l'air des pics à 0.09 et à 0.2%bs n'a pas été bien évaluée.

1.3. Transition vitreuse des protéines

Le phénomène de transition vitreuse des protéines du niébé a été observé par utilisation de deux différentes techniques de DSC à savoir : le Stepscan et le double scan (figure 26A et 26B). La transition vitreuse (T_g) observée est associée au changement de capacité calorifique Cp ayant une allure sigmoïdale.

Les deux différentes méthodes utilisées indiquent que la température de transition vitreuse (T_g) est entre 20°C-36°C dans les protéines du niébé sans ajout d'eau et dont la teneur en eau en base sèche est de 9%. Cette température est faible par rapport à la température de transition vitreuse des protéines natives du blé à cette même teneur qui est aux alentours de 75°C (Micard and Guilbert, 2000).

La transition vitreuse étant un phénomène dont la température (T_g) diminue lorsque la teneur en eau de l'échantillon augmente, c'est donc difficile de l'évaluer dans les protéines du niébé à forte teneur en eau car elle sera observée dans les températures négatives.

L'endotherme observé à 140°C sur le thermogramme du Stepscan correspond à la relaxation endothermique qui est le résultat de l'arrangement moléculaire secondaire subi par les polymères amorphes à l'état vitreux (Roos and Karel, 1991). En double scans (figure 26b), cet endotherme n'est plus observée au cours du deuxième chauffage traduisant l'irréversibilité de la transition que subissent les protéines au-delà de leur T_g.

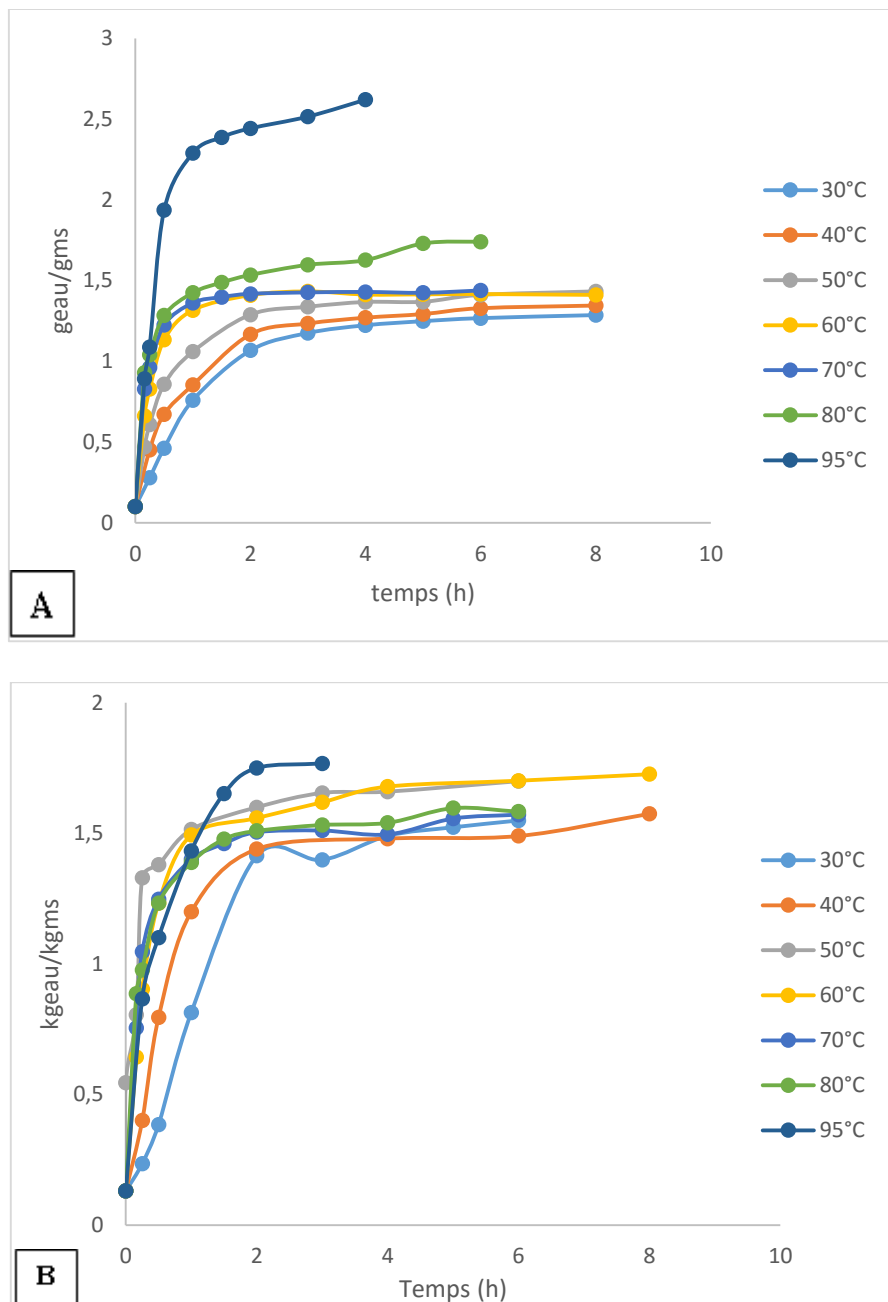


Figure 27 : capacité d'absorption d'eau des graines de légumineuses
Lentilles (A) et du niébé-Var. Wankoun(B)

2. Cinétique de gonflement des graines du Niébé (Var. Wankoun) et de la lentille

Les cinétiques de gonflement des graines de lentille et du niébé (Variété wankoun) sont présentés au niveau des figures 27A et 27B.

Les phénomènes d'absorption d'eau s'effectuant en deux phases, la phase de diffusion de l'eau dans la graine et la phase de relaxation (phase d'équilibre) ; la vitesse d'absorption d'eau est dans un premier temps élevée puis s'annule après une certaine durée (Sharanagat *et al.*, 2016). On observe ce phénomène dans les graines de lentille et du niébé quelle que soit la température. L'analyse des données montre l'effet de la température sur la moyenne de gonflement des graines du niébé et de lentilles où on observe une augmentation en de la capacité d'absorption d'eau de la graine lorsqu'on monte en températures ($R^2=0.99$) avec la moyenne des gonflements à 60°C et 70°C qui n'est pas significativement différente. Cependant la capacité d'absorption de l'eau aux différentes températures étudiées diffère en fonction de la graine. Une différence significative a été trouvée pour la capacité d'absorption de l'eau des deux raines avec le gonflement des lentilles qui est à supérieur par rapport à celui du niébé ($P < 0,0001$).

La capacité d'absorption d'eau des graines de lentilles (figure 27A) augmente de 30°C à 50°C et à 60°C et 70°C, on observe une superposition des deux courbes qui pourrait être associé à la dénaturation des protéines entraînant un ralentissement de la capacité d'absorption de l'eau. Au-delà de 70°C, c'est-à-dire à 80°C et à 95°C, la graine gonfle plus et son volume d'absorption d'eau double à 95°C. Ce phénomène est lié au comportement de l'amidon lorsqu'il est chauffé à température élevée en excès d'eau.

Dans la graine du niébé on observe un phénomène inverse (figure 27B). La graine gonfle moins à 80°C et 70°C qu'à 60°C et 50°C. Le ralentissement de gonflement à 70°C et 80°C peut être aussi expliqué par le changement de phase des protéines à l'état dénaturé. Et en comparant le diagramme de phases des protéines du niébé (Variété wankoun) obtenues par DSC, les résultats sont en adéquation car la température de dénaturation des protéines en excès d'eau est à 87°C et la plage de dénaturation se situe entre 65°C et 90°C. A 30°C et 40°C, le gonflement est faible par rapport aux températures élevées. A 95°C, on observe une augmentation du gonflement comme dans le cas des lentilles.

En comparant la cinétique de gonflement des deux graines à 95°C, on observe une différence significative de leur capacité d'absorption d'eau. A 95°C, les lentilles gonflent plus

que le niébé de 30 min à 4h (1,9-2,6 gH₂O/g MS). Tandis que dans le cas du niébé, on observe des valeurs en dessous ($\approx 1,7$ gH₂O/g MS).

3. Capacité de gonflement des fractions enrichies en amidon et en protéines du niébé

3.1. Capacité d'absorption d'eau de la fraction riche en amidon

Les données expérimentales de gonflement de l'amidon ont été ajustées à partir d'un modèle de gélatinisation et d'un modèle de gonflement, comme proposé par (Briffaz *et al.*, 2013).

Le degré de gélatinisation de l'amidon à une teneur en eau et une température donnée est défini par :

$$\alpha_{Exp} = \frac{\Delta H(X, T)}{\Delta H(X, T_{max})} \quad \text{(Equation 1)}$$

Où $\Delta H(X, T)$ est l'enthalpie totale calculée du début de gélatinisation jusqu'à une température T donnée (T appartenant à la plage du pic de gélatinisation) et $\Delta H(X, T_{max})$ est l'enthalpie totale de la transition à une teneur en eau X donnée.

Le degré de gélatinisation α de l'amidon a été modélisé à l'aide d'une fonction sigmoïdale :

$$\alpha_{model} = \left[\frac{1}{1 + \exp\left(-\frac{(T-\theta)}{\lambda}\right)} \right] \quad \text{(Equation 2)}$$

Où α_{model} est le modèle utilisé pour ajuster α_{exp} , θ est la température de gélatinisation en excès d'eau, λ un paramètre de forme et T , la température. Les valeurs de θ et λ ont été obtenues avec solveur de Excel de sorte que la somme des carrées des écarts entre les résultats expérimentaux et les données prédites soit minimisée.

La capacité d'absorption d'eau maximum des granules d'amidon est donnée par l'équation suivante :

$$X^{\infty}(T) = X_n^{\infty} * (1 - \alpha) + X_g^{\infty} * \alpha \quad \text{(Equation 3)}$$

Où X^{∞} est le gonflement maximum à une température T donnée, X_n^{∞} est le gonflement maximum des granules d'amidon à l'état natif et X_g^{∞} le gonflement maximum lorsque l'amidon est complètement gélatinisé. Les valeurs de X_n^{∞} et X_g^{∞} ont été déterminées avec le

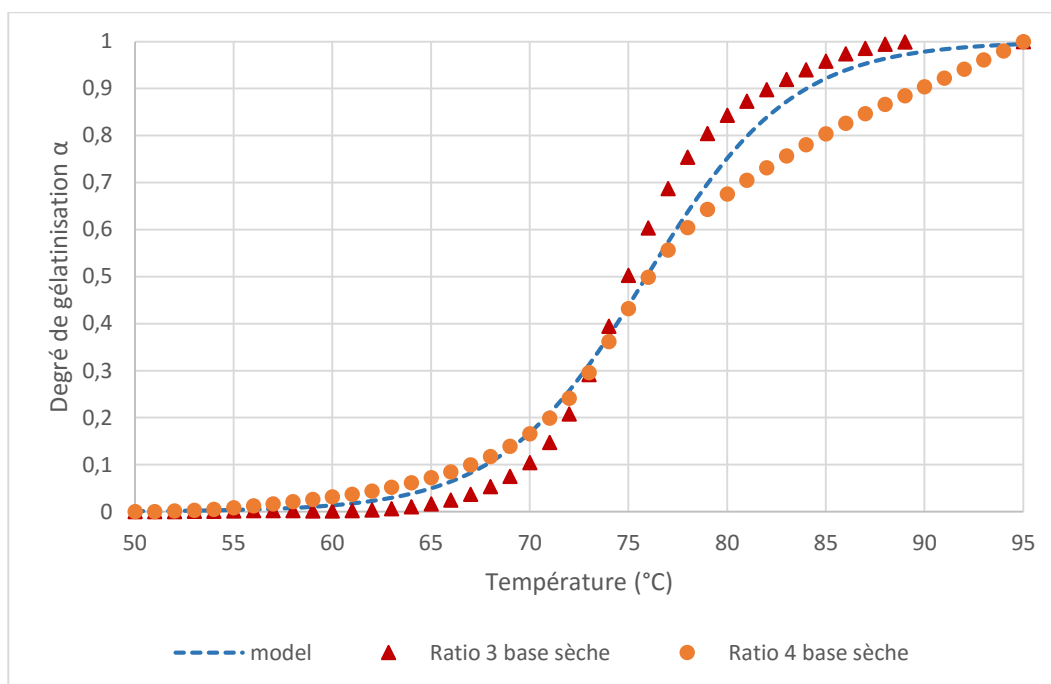


Figure 28 : Degré de gélatinisation de l'amidon du niébé en excès d'eau

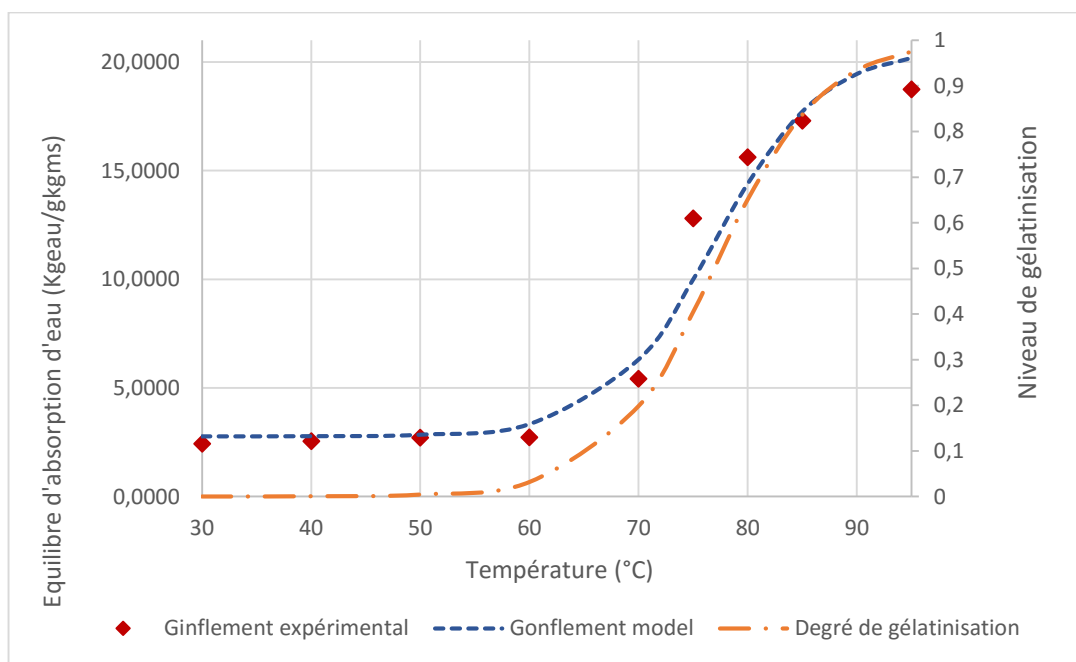


Figure 29 : Gonflement maximum de l'amidon du niébé en fonction de la température et degré de gélatinisation

solveur de Excel de sorte que la somme des carrés des écarts entre les résultats expérimentaux et les données prédites soit minimisée.

La figure 28 montre le degré de gélatinisation de l'amidon de ratios de teneur en eau 3 et 4 (base sèche). Le modèle utilisé (Equation 2) s'ajuste bien avec les données expérimentales avec un $R^2=0,99$ et la somme des carrés des écarts entre les données expérimentales et le modèle est égale à 0.02.

A température comprise entre 30°C-50°C (figure 29), les granules d'amidon ont une capacité d'absorption d'eau comprise entre 2.4-2.7 kgH₂O/kgms. Dans la littérature, le gonflement de l'amidon pur est plus faible. Briffaz *et al.*, (2013) ont déterminé dans le riz à 50°C, une capacité d'absorption d'eau de 0.46 kgH₂O/kgms. Les fortes valeurs de gonflement observées dans la fraction de enrichie en amidon du niébé peut être dues au gonflement des protéines étant donné que la composition en protéines de cette fraction est de 22% (base sèche).

La capacité d'absorption des granules d'amidon augmente graduellement entre 60°C et 70°C de 2,7 kgH₂O/kgms à 5,4 kgH₂O/kgms. A 75°C, les granules d'amidon gonflent deux fois plus qu'à 70°C (12,8 kgH₂O/kgms), indiquant qu'à la température de gélatinisation, les granules d'amidon subissent un gonflement rapide. Le volume de gonflement le plus élevé est observé à 95°C. Lorsque l'amidon est chauffé en excès d'eau, les liaisons d'hydrogènes stabilisant la structure des double hélices dans les cristallites sont cassées et forment des liaisons avec de l'eau (Tester and Karkalas, 1996), ce qui entraîne le gonflement des granules d'amidon. Le modèle de gonflement calculé sur la base du taux de gélatinisation (équation 3) s'ajuste ainsi bien aux données expérimentales, comme pour le riz (Briffaz *et al.*, 2013).

3.2.Capacité d'absorption d'eau de la fraction riche en protéines

Les données expérimentales du gonflement de la fraction protéique ont été également ajustées avec le modèle cardinal et le gamma concept [Equation 4 et 5](Rosso *et al.*, 1995). Ces deux modèles ont permis d'évaluer l'effet de la température sur la capacité d'absorption de l'eau des protéines et de déterminer le gonflement maximum à chaque température.

$$Y(T) = \frac{(T-T_{\min})^n * (T-T_{\max})}{(T_{\text{opt}}-T_{\min})^{n-1} * [(T_{\text{opt}}-T_{\min}) * (T-T_{\text{opt}}) - (T_{\text{opt}}-T_{\max})[(n-1)T_{\text{opt}}+T_{\min}-nT]]} \quad (\text{Equation 4})$$

$$Y_{\max} = Y_{\text{opt}} * Y(T) + Y_0 \quad (\text{Equation 5})$$

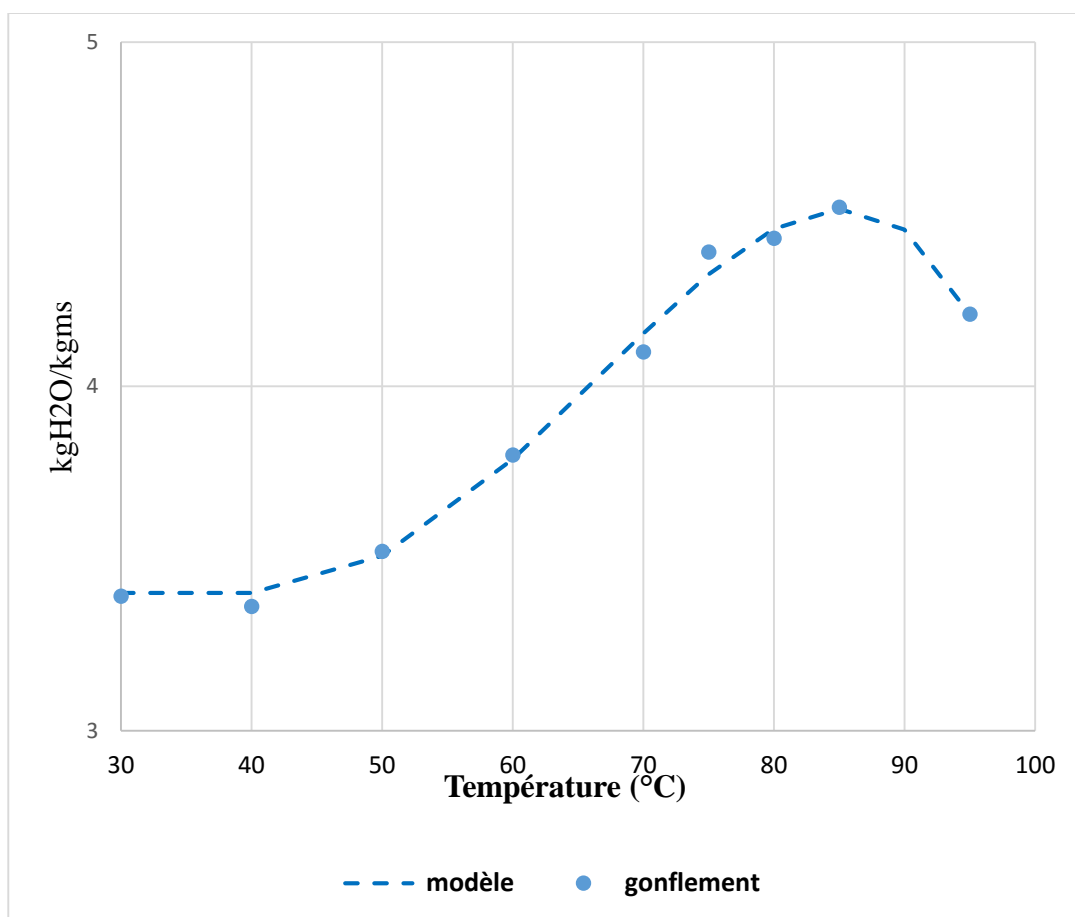


Figure 30 : Capacité d'absorption de l'eau des protéines

Où T est la température ; T_{\min} la température minimale de gonflement ; T_{\max} est la température maximale de gonflement ; T_{opt} la température optimale de gonflement pour laquelle Y_{\max} atteint sa valeur optimale Y_{opt} et n est un paramètre de forme.

Ce sont des modèles généralement utilisés pour prédire l'évolution des micro-organismes dans les aliments (de J. C. Munanga *et al.*, 2016) et ont récemment été utilisés pour modéliser l'activité enzymatique des amylases (Mestres *et al.*, 2017).

A température inférieure ou égale à 50°C, la capacité d'absorption de l'eau des protéines (figure 30) est supérieure à celle de la fraction enrichie en amidon (3,4 kgH₂O/kgms pour les protéines et 2,7 kg H₂O/kgms pour les l'amidon).

De 50°C à 85°C, on observe une augmentation de la capacité de gonflement de 3,4 kgH₂O/kgms à 4,5 kgH₂O/kgms. A 95°C, on observe une décroissance significative de la capacité d'absorption de l'eau (4,21 kgH₂O/kgms), ce qui pourrait être expliqué par le fait de la dénaturation des protéines à 88°C.

III. Perspectives

1. Transitions de phases

La suite des travaux sur les transitions de phases consistera à faire une analyse plus approfondie des thermogrammes pour évaluer la part d'enthalpie de chacune des transitions (en particulier gélatinisation et fusion de l'amidon) afin de modéliser chaque transition.

2. Gonflement de l'amidon

Afin de déterminer la capacité d'absorption de l'eau de l'amidon lorsqu'il est soumis à différentes températures, il faudra procéder à une purification de l'amidon en voie humide afin d'obtenir un amidon pur pratiquement exempt de protéines. Nous pourrons alors modéliser plus finement le gonflement des protéines et de l'amidon lors de la cuisson des légumineuses.

Conclusion

Dans ces travaux nous avons étudié les différentes transitions de phases de l'amidon et des protéines des légumineuses au cours du trempage et cuisson. Notre étude a été réalisée sur le niébé et la lentille. Dans un premier temps l'amidon et les protéines des différentes graines de légumineuse ont été séparés à l'état natif par turboséparation. Les dosages physicochimiques et la détermination des profils granulométriques ont été réalisées sur les fractions turboséparées afin de valider les travaux de fractionnement et de disposer des fractions purement riche en protéines ou en amidon. Les transitions de phases dans les fractions protéiques ainsi que dans l'amidon du niébé ont ensuite été déterminées par DSC à différentes teneurs. Dans le cas de l'amidon du niébé nous avons observé comme transition la gélatinisation et la dénaturation en ce qui concerne les protéines. Dans les protéines, nous avons également étudiées la transition vitreuse en utilisant deux différentes méthodes de DSC. Les cinétiques de gonflement des graines, des fractions protéiques et de l'amidon ont ensuite été déterminées. Les données expérimentales de gonflement des protéines et de l'amidon ont été ajustées avec des modèles mathématiques qui répondent aux approches des différents mécanismes qui se passent au sein des différentes matrices étudiées. La capacité d'absorption d'eau des protéines et de l'amidon des légumineuses ont ensuite été reliées à leur diagramme de phase respectif pour comprendre l'effet de chaque matrice, c'est-à-dire les protéines et les granules d'amidon, sur le comportement des graines de légumineuses lorsqu'elles sont soumises au traitement thermique.

Références bibliographique

- Arntfield, S.D. and Murray, E.D.** (1981) The Influence of Processing Parameters on Food Protein Functionality I. Differential Scanning Calorimetry as an Indicator of Protein Denaturation. *Canadian Institute of Food Science and Technology Journal*, **14**, 289–294.
- Atwell, W.A. (Pillsbury R. and D.L., Hood, L.F., Lineback, D.R., Varriano-Marston, E. and Zobel, H.F.)** (1988) The terminology and methodology associated with basic starch phenomena. *Cereal foods world (USA)*. Available at: <http://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=US8933107> [Accessed June 5, 2017].
- Bhatty, R.S., Slinkard, A.E. and Sosulski, F.W.** (1976) Chemical composition and protein characteristics of lentils. *Canadian Journal of Plant Science*, **56**, 787–794.
- Bier, J.M., Verbeek, C.J.R. and Lay, M.C.** (2014) Thermal Transitions and Structural Relaxations in Protein-Based Thermoplastics. *Macromol. Mater. Eng.*, **299**, 524–539.
- Biliaderis, C.G., Maurice, T.J. and Vose, J.R.** (1980a) Starch gelatinization phenomena studied by differential scanning calorimetry. *Journal of food science*, **45**, 1669–1674.
- Biliaderis, C.G., Maurice, T.J. and Vose, J.R.** (1980b) Starch Gelatinization Phenomena Studied by Differential Scanning Calorimetry. *Journal of Food Science*, **45**, 1669–1674.
- Boye, J., Zare, F. and Pletch, A.** (2010) Pulse proteins: Processing, characterization, functional properties and applications in food and feed. *Food Research International*, **43**, 414–431.
- Briffaz, A., Bohuon, P., Méot, J.-M., Dornier, M. and Mestres, C.** (2014) Modelling of water transport and swelling associated with starch gelatinization during rice cooking. *Journal of Food Engineering*, **121**, 143–151.
- Briffaz, A., Mestres, C., Escoute, J., Lartaud, M. and Dornier, M.** (2012) Starch gelatinization distribution and peripheral cell disruption in cooking rice grains monitored by microscopy. *Journal of Cereal Science*, **56**, 699–705.
- Briffaz, A., Mestres, C., Matencio, F., Pons, B. and Dornier, M.** (2013) Modelling starch phase transitions and water uptake of rice kernels during cooking. *Journal of Cereal Science*, **58**, 387–392.
- Buleon, A., Colonna, P. and Leloup, V.** (1990) Les amidons et leurs dérivés dans les industries des céréales. *Industries alimentaires et agricoles*, **107**, 515–532.
- Chôma, C.T.** (2006) Characterizing Protein Stability by DSC. *Calorimetry Sciences Corporation: Lindon, UT, USA*. Available at: <http://www.tainstruments.com/pdf/literature/M130.pdf> [Accessed July 29, 2017].
- Cooke, D. and Gidley, M.J.** (1992) Loss of crystalline and molecular order during starch gelatinisation: origin of the enthalpic transition. *Carbohydrate research*, **227**, 103–112.
- Cuq, B. and Icard-Vernière, C.** (2001) Characterisation of Glass Transition of Durum Wheat Semolina using Modulated Differential Scanning Calorimetry. *Journal of Cereal Science*, **33**, 213–221.
- David, J.** (1992) Hydration Effects on the Thermal Stability of Proteins in Cracked Soybeans and Defatted Soy Flour. , **25**, 365–370.
- Donovan, J.W.** (1979) Phase transitions of the starch–water system. *Biopolymers*, **18**, 263–275.
- Freitas, R.L., Teixeira, A.R. and Ferreira, R.B.** (2004) Characterization of the Proteins from Vigna unguiculata Seeds. *J. Agric. Food Chem.*, **52**, 1682–1687.
- Guéguen, J., Walrand, S. and Bourgeois, O.** (2016) Les protéines végétales : contexte et potentiels en alimentation humaine. *Cahiers de Nutrition et de Diététique*, **51**, 177–185.
- Hermansson, A.-M. and Svegmark, K.** (1996) Developments in the understanding of starch functionality. *Trends in Food Science & Technology*, **7**, 345–353.
- Hitoshi, K. and Hitomi, K.** (2009) Glass Transition of Foods and Water's Effect on It. , **214**.
- HOLM, J., BJORCK, I., ASP, N., SJOBERG, L. and LUNDQUIST, I.** (1985) Starch Availability In Vitro and In Vivo After Flaking, Steam-cooking and Popping of Wheat. *Journal of Cereal Science*, 193–206.
- Hoover, R. and Sosulski, F.W.** (1991a) Composition, structure, functionality, and chemical modification of legume starches: a review. *Can. J. Physiol. Pharmacol.*, **69**, 79–92.
- Hoover, R. and Sosulski, F.W.** (1991b) Composition, structure, functionality, and chemical modification of legume starches: a review. *Can. J. Physiol. Pharmacol.*, **69**, 79–92.

- Huang, J., Schols, H., Vansoest, J., Jin, Z., Sulmann, E. and Voragen, A. (2007) Physicochemical properties and amylopectin chain profiles of cowpea, chickpea and yellow pea starches. *Food Chemistry*, **101**, 1338–1345.
- Iqbal, A., Khalil, I.A., Ateeq, N. and Sayyar Khan, M. (2006) Nutritional quality of important food legumes. *Food Chemistry*, **97**, 331–335.
- J. C. Munanga, B. de, Loiseau, G., Grabulos, J. and Mestres, C. (2016) Modeling Lactic Fermentation of Gowé Using *Lactobacillus* Starter Culture. *Microorganisms*, **4**, 44.
- Kaletunç, G. and Breslauer, K.J. (1996) Construction of a wheat-flour state diagram. *Journal of Thermal Analysis*, **47**, 1267–1288.
- Kitabatake, N., Tahara, M. and Doi, E. (1990) Thermal Denaturation of Soybean Protein at Low Water Contents. *Agricultural and Biological Chemistry*, **54**, 2205–2212.
- Malumba, P., Janas, S., Deroanne, C., Masimango, T. and Béra, F. (2011) Structure de l'amidon de maïs et principaux phénomènes impliqués dans sa modification thermique. *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.* Available at: <http://popups.ulg.ac.be/1780-4507/index.php?id=7567> [Accessed June 5, 2017].
- Malumba, P., Janas, S., Roiseux, O., Sinnaeve, G., Masimango, T., Sindic, M., Deroanne, C. and Béra, F. (2010) Comparative study of the effect of drying temperatures and heat-moisture treatment on the physicochemical and functional properties of corn starch. *Carbohydrate Polymers*, **79**, 633–641.
- MASSAMA, E.P. (2012) *IMPACT DES TRAITEMENTS THERMIQUES SUR LA STRUCTURE DES PROTÉINES DE LENTILLES ET LEUR DIGESTIBILITÉ*. UNIVERSITÉ LAVAL QUÉBEC.
- Maurice, T.J., Slade, L., Sirett, R.R. and Page, C.M. (1985) Polysaccharide-Water Interactions — Thermal Behavior of Rice Starch. In *Properties of Water in Foods*. NATO ASI Series. Springer, Dordrecht, pp. 211–227. Available at: https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-94-009-5103-7_13 [Accessed July 27, 2017].
- Mekbungwan, A. (2007) Application of tropical legumes for pig feed. *Animal Science Journal*, **78**, 342–350.
- Mestres, C., Bettencourt, M. de J.C., Loiseau, G., Matignon, B., Grabulos, J. and Achir, N. (2017) Modeling cereal starch hydrolysis during simultaneous saccharification and lactic acid fermentation; case of a sorghum-based fermented beverage, gowé. *Food Research International*. Available at: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0963996917303113> [Accessed July 24, 2017].
- Micard, V. and Guilbert, S. (2000) Thermal behavior of native and hydrophobized wheat gluten, gliadin and glutenin-rich fractions by modulated DSC. *International Journal of Biological Macromolecules*, **27**, 229–236.
- Miles, M.J., Morris, V.J., Orford, P.D. and Ring, S.G. (1985) The roles of amylose and amylopectin in the gelation and retrogradation of starch. *Carbohydrate research*, **135**, 271–281.
- Monties, B. (1980) *LES POLYMERES VEGETAUX*. *Polymères pariétaux et alimentaires non azotés - Bernard Monties, Collectif*, Available at: <https://www.decitre.fr/livres/les-polymeres-vegetaux-9782040104801.html> [Accessed May 10, 2017].
- Noel, T.R., Parker, R., Ring, S.G. and Tatham, A.S. (1995) The glass-transition behaviour of wheat gluten proteins. *International journal of biological macromolecules*, **17**, 81–85.
- Pelgrom, P.J.M., Berghout, J.A.M., Goot, A.J. van der, Boom, R.M. and Schutyser, M.A.I. (2014) Preparation of functional lupine protein fractions by dry separation. *LWT - Food Science and Technology*, **59**, 680–688.
- Pelgrom, P.J.M., Vissers, A.M., Boom, R.M. and Schutyser, M.A.I. (2013) Dry fractionation for production of functional pea protein concentrates. *Food Research International*, **53**, 232–239.
- Rehman, Z. and Shah, W.H. (2005) Thermal heat processing effects on antinutrients, protein and starch digestibility of food legumes. *Food Chemistry*, **91**, 327–331.
- Roos, Y. and Karel, M. (1991) Phase transitions of mixtures of amorphous polysaccharides and sugars. *Biotechnology Progress*, **7**, 49–53.
- Roos, Y.H. (1995) *Phase Transitions in Foods* 1st ed., Steve Taylor.
- Rosso, L., Lobry, J.R., Bajard, S. and Flandrois, J.P. (1995) Convenient Model To Describe the Combined Effects of Temperature and pH on Microbial Growth. *Appl Environ Microbiol*, **61**, 610–616.

- Schutyser, M.A.I. and Goot, A.J. van der** (2011) The potential of dry fractionation processes for sustainable plant protein production. *Trends in Food Science & Technology*, **22**, 154–164.
- Schutyser, M.A.I., Pelgrom, P.J.M., Goot, A.J. van der and Boom, R.M.** (2015) Dry fractionation for sustainable production of functional legume protein concentrates. *Trends in Food Science & Technology*, **45**, 327–335.
- Sefa-Dedeh, S. and Stanley, D.W.** (1979) Microstructure of Cowpea Variety Adua Ayeral. *Cereal Chemistry*, **56**, 367–371.
- Shand, P.J., Ya, H., Pietrasik, Z. and Wanasundara, P.K.J.P.D.** (2007) Physicochemical and textural properties of heat-induced pea protein isolate gels. *Food Chemistry*, **102**, 1119–1130.
- Sharanagat, V.S., Kansal, V. and Kumar, K.** (2016) Modeling the effect of temperature on the hydration kinetic whole moong grain. *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences*. Available at: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1658077X16300406> [Accessed July 25, 2017].
- Sosulski, F.W., Hoover, R., Tyler, R.T., Murray, E.D. and Arntfield, S.D.** (1985) Differential Scanning Calorimetry of Air-Classified Starch and Protein Fractions from Eight Legume Species. *Starch/Stärke*, **37**, 257–262.
- Spigno, G. and De Faveri, D.M.** (2004) Gelatinization kinetics of rice starch studied by non-isothermal calorimetric technique: influence of extraction method, water concentration and heating rate. *Journal of Food Engineering*, **62**, 337–344.
- Steinfeld, H., Gerber, P., Wassenaar, T., Castel, V., Rosales, M. and Haan, C. de** (2006) Livestock's long shadow. Available at: <http://www.fao.org/docrep/010/a0701e/a0701e00.HTM> [Accessed May 7, 2017].
- Stevens, D.J. and Elton, G. a. H.** (1971) Thermal Properties of the Starch/Water System Part I. Measurement of Heat of Gelatinisation by Differential Scanning Calorimetry. *Starch/Stärke*, **23**, 8–11.
- Tester, R.F. and Karkalas, J.** (1996) Swelling and gelatinization of oat starches. *Cereal Chemistry*, **73**, 271–277.
- Tharanathan, R. and Mahadevamma, S.** (2003) Grain legumes—a boon to human nutrition. *Trends in Food Science & Technology*, **14**, 507–518.
- Tyler, R.T., Young, C.G. and Sosulski, F.W.** (1981) Air classification of legumes. I Separation efficiency, yield and composition of the starch and proteins fractions. *Cereal Chemistry*, **58**, 144–148.
- Waigh, T.A., Gidley, M.J., Komanshek, B.U. and Donald, A.M.** (2000) The phase transformations in starch during gelatinisation: a liquid crystalline approach. *Carbohydrate Research*, **328**, 165–176.
- Zeleznek, K. and Hoseney, R.** (1987) The glass transition in starch. *Cereal Chemistry*, **64**, 121–124.
- Zhong, Z. and Sun, X.S.** (2005) Thermal characterization and phase behavior of cornstarch studied by differential scanning calorimetry. *Journal of Food Engineering*, **69**, 453–459.

Webographie

Site internet 1 : <https://www.vitagora.com/vitagora/actus-media/proveggas-proteines-vegetales-innovaton-fui/>

Site internet 2 : <https://umr-qualisud.cirad.fr/principaux-projets/icowpea>

Résumé

Pour comprendre le comportement hydrothermal des légumineuses au cours de la cuisson, les transitions de phase des protéines et de l'amidon et la capacité d'absorption d'eau de la graine entière sont nécessaires d'être étudiées. Dans cette étude, les protéines et l'amidon du niébé et de la lentille ont été séparés à l'état natif par turboséparation. La meilleure séparation des fractions protéiques et de l'amidon a été obtenue à une vitesse de 6500rpm. L'analyse des transitions de phases des protéines et de l'amidon du niébé (obtenus par turboséparation à 6500rpm) par DSC, montre respectivement des températures de transitions de phase à 87°C et 75°C lorsqu'ils sont chauffés en excès d'eau. La cinétique d'absorption d'eau des protéines et de l'amidon a montré des phénomènes inverses après la température de transition de chacun d'eux. A des températures supérieures à la température de dénaturation des protéines, une diminution du gonflement des protéines a été observée. Tandis que dans le cas de l'amidon, après la température de gélatinisation, la capacité d'eau devient élevée jusqu'à forte température. Ces différents phénomènes observés dans les protéines et l'amidon ont permis de comprendre le comportement de la graine lorsqu'elle est soumise à différentes température en excès d'eau.

Mots clés : Turboséparation, légumineuses, protéines, amidon et gonflement.

Abstract

In order to understand the hydrothermal behavior of legumes during cooking, the phase transitions of proteins and starch and the swelling capacity of legumes seed are needed to be study. In this work, proteins and starch of cowpea and lentils have been separated in the native state using dry fractionation. The best fractionation of proteins and starch was obtained at the speed of 6500 rpm. DSC analysis of proteins and starch fractions shows respectively the temperatures of phase transition at 87° C (denaturation temperature of proteins). and 75 ° C (gelatinization temperature of starch) in excess of water. The kinetics of water absorption of proteins and starch showed opposite phenomena after the transition temperature of each of them. At temperatures above the protein denaturation temperature, a decrease of water absorption capacity of proteins fractions was observed. In the case of starch, after the gelatinization temperature, the water absorption capacity increase. These different phenomena observed in proteins and starch allowed to understand the behavior of the seed when it is heated in excess of water.

Keywords : Dry fractionation, legumes, proteins, starch and swelling capacity.